

# Nanopartículas

en la industria, la medicina,  
la odontología y la producción  
de hidrógeno

- Aspectos bioéticos
- El principio de precaución
- Evaluación de nanotoxicidad en ecosistemas acuáticos y terrestres

Mundo Nano  
Revista Interdisciplinaria en  
Nanociencias y Nanotecnología

Universidad Nacional Autónoma de México



# Mundo Nano Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología

---

Vol. 17, Núm. 33, julio–diciembre 2024

[www.mundonano.unam.mx](http://www.mundonano.unam.mx)

# DIRECTORIO

## UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Leonardo Lomelí Vanegas  
Rector  
Patricia Dolores Dávila Aranda  
Secretaria General  
Hugo Alejandro Concha Cantú  
Abogado General

Miguel Armando López Leyva  
Coordinador de Humanidades  
María Soledad Funes Argüello  
Coordinadora de la Investigación Científica  
Jorge Vázquez Ramos  
Coordinador de Vinculación y Transferencia  
Tecnológica

Ma. Herlinda Montiel Sánchez  
Directora ICAT  
Mauricio Sánchez Menchero  
Director CEIICH  
Fernando Rojas Íñiguez  
Director CNYN

Mundo Nano • <https://www.mundonano.unam.mx>

### Editor en jefe

Rodolfo Zanella Specia • <https://orcid.org/0000-0002-2118-5898> • [rodolfo.zanella@icat.unam.mx](mailto:rodolfo.zanella@icat.unam.mx)

### Editores

Gian Carlo Delgado Ramos • <https://orcid.org/0000-0001-6851-9309> • [giandelgado@unam.mx](mailto:giandelgado@unam.mx)

Leonel Cota Araiza • [leonel@ens.cny.n.unam.mx](mailto:leonel@ens.cny.n.unam.mx)

### Editor asociado

Mario Rogelio López Torres • [mrlt@unam.mx](mailto:mrlt@unam.mx)

## COMITÉ CIENTÍFICO

María Elena Álvarez-Buyllá  
<https://orcid.org/0000-0002-7938-6473>  
• [eabuylla@gmail.com](mailto:eabuylla@gmail.com)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Rodolfo Omar Arellano Aguilar  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Simone Arnaldi  
• [simonearnaldi@gmail.com](mailto:simonearnaldi@gmail.com)  
Universidad de Padova. Italia

Sergio Fuentes Moyado  
• [fuentes@ens.cny.n.unam.mx](mailto:fuentes@ens.cny.n.unam.mx)  
<https://orcid.org/0000-0002-9843-408X>  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Jesús González Hernández  
• [jesus.gonzalez@cidesi.edu.mx](mailto:jesus.gonzalez@cidesi.edu.mx)  
<https://orcid.org/0000-0002-6906-5465>  
Centro de Ingeniería y Desarrollo Industrial.  
México

Emmanuel Haro Poniatowski  
• [haro@xanum.uam.mx](mailto:haro@xanum.uam.mx)  
Universidad Autónoma Metropolitana.  
México

Isaac Hernández Calderón  
<https://orcid.org/0000-0002-7606-4807>  
• [Isaac.Hernandez@fis.cinvestav.mx](mailto:Isaac.Hernandez@fis.cinvestav.mx)  
Centro de Investigación y de Estudios  
Avanzados. México  
Catherine Louis  
Sorbonne Université, UPMC Univ Paris 06.  
Francia

Eugenio R. Méndez Méndez  
<https://orcid.org/0000-0002-7042-8622>  
• [emendez@cicese.mx](mailto:emendez@cicese.mx)  
Centro de Investigación Científica y de  
Educación Superior de Enseñada. México

Luis Mochán Backal  
<https://orcid.org/0000-0003-0418-5375>  
• [mochan@em.fis.unam.mx](mailto:mochan@em.fis.unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

José Saniger Blesa  
<https://orcid.org/0000-0001-8024-2541>  
• [jose.saniger@icat.unam.mx](mailto:jose.saniger@icat.unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Pedro Serena Domingo  
Consejo Superior de Investigaciones  
Científicas. España

Roger Strand  
<https://orcid.org/0000-0001-6159-1586>

• [roger.strand@svt.uib.no](mailto:roger.strand@svt.uib.no)  
Universidad de Bergen. Noruega

Julia Tagüeña Parga  
• [jtp@ier.unam.mx](mailto:jtp@ier.unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Sergio Ulloa  
<https://orcid.org/0000-0002-3091-4984>  
• [ulloa@ohio.edu](mailto:ulloa@ohio.edu)  
Universidad de Ohio. Estados Unidos

Fern Wickson  
<https://orcid.org/0000-0002-2841-4155>  
GenPh Center for Biosafety. Noruega

Miguel José Yacamán  
<https://orcid.org/0000-0001-5124-7116>  
• [miguel.yacaman@utsa.edu](mailto:miguel.yacaman@utsa.edu)  
Universidad de Texas en Austin. Estados  
Unidos

José Roberto Vega-Baudrit  
<https://orcid.org/0000-0002-2002-1744>  
• [jvegab@gmail.com](mailto:jvegab@gmail.com)  
Universidad Nacional Heredia.  
Costa Rica

## COMITÉ EDITORIAL

Norma Blazquez Graf  
• [blazquez@unam.mx](mailto:blazquez@unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Ricardo Castaño  
Universidad Distrital Francisco José de  
Caldas. Colombia

Gabriela Alicia Díaz Guerrero  
<https://orcid.org/0000-0003-2160-2732>  
• [diaz@fisica.unam.mx](mailto:diaz@fisica.unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Roberto Escudero Derat  
• [escu@unam.mx](mailto:escu@unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Ruben J. Lazos Martínez  
• [rlazos@cenam.mx](mailto:rlazos@cenam.mx)  
Centro Nacional de Metrología. México

Louis Lemkow  
• [Louis.Lemkow@uab.es](mailto:Louis.Lemkow@uab.es)  
Universidad Autónoma de Barcelona. España

Sofía Liberman Shkolnikoff  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Paulo Martins  
• [marpaulo@ipt.br](mailto:marpaulo@ipt.br)  
Instituto de Pesquisas Tecnológicas do  
Estado de São Paulo. Brasil

Aquiles Negrete Yankelovich  
• [aqny@unam.mx](mailto:aqny@unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Gerko Oskam  
Instituto Politécnico Nacional. México

Fernando Rojas Íñiguez  
• [frojas@ens.cny.n.unam.mx](mailto:frojas@ens.cny.n.unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Noboru Takeuchi Tan  
• [takeuchi@ens.cny.n.unam.mx](mailto:takeuchi@ens.cny.n.unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Joaquín Tutor Sánchez  
Universidad Pontificia Comillas. España

Isauro Uribe Pineda • [isauribe@unam.mx](mailto:isauribe@unam.mx)  
Editor técnico (CEIICH-UNAM)  
Concepción Alida Casale Núñez  
Cuidado de la edición (CEIICH-UNAM)



Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología, Vol. 17, Núm. 33, julio–diciembre 2024: Nanopartículas en la industria, la medicina, la odontología y la producción de hidrógeno, es una publicación semestral, en versión electrónica, editada por la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, México, a través del Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología (ICAT), el Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNYN) y el Centro de Investigaciones Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades (CEIICH), Torre II de Humanidades, 5º piso, Circuito Escolar, Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, <https://www.mundonano.unam.mx>, mundonano@unam.mx.

Editores responsables: Gian Carlo Delgado Ramos y Mario Rogelio López Torres. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo Núm. 04-2015-06251212 2500-203, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor, ISSN 2448-5691. Responsable de la última actualización de este número: Isauro Uribe Pineda. Fecha de la última actualización: 27 de junio de 2024. Servicios que indexan a Mundo Nano: Latindex, Periódica, Biblat, REDIB, CONAHCYT, SciELO-México, Dialnet, Redalyc, DOAJ.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura de los editores. Prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin la previa autorización por escrito de los editores responsables.



Atribución-NoComercial (CC BY-NC 4.0 Internacional)

# CONTENIDO / CONTENTS

Vol. 17, Núm. 33, julio–diciembre 2024  
DOI: <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2024.33>

## **Nanopartículas en la industria, la medicina, la odontología y la producción de hidrógeno**

1e-3e **EDITORIAL / EDITORIAL**

### **ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN / RESEARCH ARTICLES**

- 1e-16e **Implicaciones bioéticas en la aplicación de nanopartículas de plata (AgNPs) para el manejo de fitopatógenos**  
Graciela Dolores Ávila-Quezada, María Cecilia Valles-Aragón,  
Denisse Yatzely Mercado-Meza
- 1e-17e **Nanodispersion of TiO<sub>2</sub> in hypochlorous acid and its antimicrobial effect against oral pathogens**  
Juan Rafael Morales-Noriega, Christian Andrea López-Ayuso,  
Laura Susana Acosta-Torres, Ravichandran Manisekaran
- 1e-13e **H<sub>2</sub>S removal at downhole conditions using iron oxide nanoparticles**  
Luis A. Meléndez Santana, Julia T. Guerra Hernández,  
Claudio G. Olivera-Fuentes
- 1e-24e **Catalytic nanomedicine for chronic wounds in diabetic patients: physiology, pathophysiology, and a success story**  
Tessy López-Goerne, Francisco J. Padilla-Godínez, Alba Arévalo
- 1e-18e **Environmental safety of energy storing devices using carbon nanotubes: possible impacts of waste in aquatic and terrestrial environments**  
Paulo José Balsamo, Silvia Pierre Irazusta, Larissa Solano de Almeida

### **ARTÍCULOS DE REVISIÓN / REVIEW ARTICLES**

- 1e-16e **Una revisión de nanopartículas de oro: características fisicoquímicas y su respuesta celular en macrófagos**  
Williams de Jesús Jiménez-Martínez, Juan Carlos Vázquez-Lira
- 1e-49e **Usos de las nanopartículas de plata (AgNPs) en odontología**  
Verónica Gasga Tapia, Aída Hamdan-Partida, Teresa Leonor Sánchez Pérez,  
Francisco Javier Martínez Ruiz, Jaime Bustos-Martínez
- 1e-32e **El principio de precaución ante los posibles riesgos de la nanotecnología y sus derivados**  
Laura Saldívar Tanaka

- 1e-27e **Producción fotocatalítica de hidrógeno empleando semiconductores modificados con nanopartículas metálicas**  
David Ramírez Ortega, Diana Guerrero Araque, Próspero Acevedo Peña, Rodolfo Zanella
- 1e-12e **Reconocimiento de nanomateriales por el sistema inmunológico**  
Salma López Rodríguez, Karla Oyuky Juárez Moreno
- 1e-6e **POLÍTICA EDITORIAL / EDITORIAL POLICY**

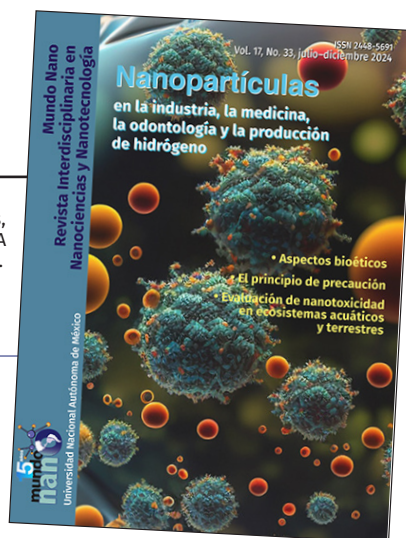
---

DISEÑO DE PORTADA: Martha Laura Martínez Cuevas, con una imagen de nanopartículas generada con IA por *VicenSanh*, con licencia de Adobe Stock.

---

**CORRESPONDENCIA:**

*Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*  
Centro de Investigaciones Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades,  
Torre II de Humanidades, 5º piso, Circuito Escolar, Ciudad Universitaria,  
Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México.  
Correo-e: mundonano@unam.mx



# Editorial

En este nuevo número de *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* se abordan temas de actualidad relacionados principalmente con la nanomedicina y las aplicaciones biológicas de los nanomateriales, las implicaciones éticas y bioéticas de su uso, así como las aplicaciones de los nanomateriales en la remediación ambiental y la generación de energías limpias y sustentables. Estos temas se tratan en cinco artículos de investigación y cinco de revisión.

En el primer artículo de este número se discuten las implicaciones bioéticas de la aplicación de nanopartículas de plata en la agricultura para el manejo de fitopatógenos, y está enfocado en la evaluación de sus riesgos potenciales para el medio ambiente y la salud humana. El trabajo presenta una revisión de los principios de autonomía, justicia, no maleficencia y beneficencia en relación con el uso de estas nanopartículas en el manejo de fitopatógenos, y se proponen sugerencias para el manejo de la plata en forma nanométrica en este tipo de aplicaciones.

En otro artículo se describe el uso de una nanodispersión de  $\text{TiO}_2$  en ácido hipocloroso y su efecto antimicrobiano frente a patógenos orales. Se detalla la síntesis del material y su evaluación utilizando diferentes cepas, asimismo, se evalúan los efectos citotóxicos. Los resultados muestran que la nanodispersión estudiada presenta un buen efecto antimicrobiano y alta estabilidad, se concluye poder utilizarse como un agente antimicrobiano prometedor para el tratamiento de patógenos dentales.

Otra contribución aborda el uso de nanopartículas de óxido de hierro en la remoción de ácido sulfhídrico presente en crudos pesados en un ambiente que simula las condiciones de presión y temperatura de un yacimiento. Se informan las condiciones de síntesis del nanomaterial, las condiciones empleadas para realizar las pruebas y el rendimiento de remoción del contaminante en las condiciones utilizadas.

En otro estudio de investigación se informa sobre el uso de la nanomedicina catalítica para la cicatrización de heridas crónicas en pacientes diabéticos. Se describe el uso de bionanocatalizadores para la desinfección, inhibición de microorganismos y la preservación del tejido sano. El estudio se centra en la patología del pie diabético y presenta un interesante caso de estudio de una herida tratada con nanomedicina catalítica.

El último artículo de investigación de este número versa sobre la toxicidad acuática y terrestre de nanotubos de carbono de pared múltiple, utilizados en condensadores eléctricos de doble capa, los cuales sirven como dispositivos de almacenamiento de energía. Se discuten los posibles efectos de

estos nanomateriales al estar en contacto con el agua y el suelo, y los impactos que pueden generar sobre los organismos a lo largo de diferentes niveles tróficos. Se muestra cómo inhiben la biomasa de algas los nanotubos de carbono y cómo este efecto depende de la concentración de los nanotubos. En el caso del suelo, la presencia de nanotubos de carbono no causó mortalidad en las lombrices de tierra, pero resultó en una reducción significativa de la masa de los organismos expuestos después de dos semanas.

En cuanto a los trabajos de revisión, el primero de los artículos informa sobre el efecto del tamaño y la morfología de nanopartículas de oro en la resonancia del plasmón de superficie y el uso de este fenómeno en el diagnóstico, marcaje y terapias tumorales. Asimismo, se presentan estudios celulares realizados con este tipo de nanopartículas en cultivos de macrófagos en función de sus concentraciones, concluyendo sobre su potencial aplicación médica.

En un segundo artículo de revisión se abordan los usos de las nanopartículas de plata en odontología, debido a sus excelentes propiedades antimicrobianas, las cuales permiten su incorporación en diversas áreas de la odontología, como materiales dentales, ortodoncia, endodoncia, periodoncia y prostodoncia. De la amplia revisión realizada por los autores de este trabajo, se desprende el mostrar este tipo de partículas una muy buena actividad antibacteriana cuando se combinan con materiales dentales, y se enfatiza la importancia de evaluar la toxicidad en estudios *in vitro* y clínicos.

Un tercer artículo de revisión expone los postulados del principio de precaución y la importancia de utilizarlo en la regulación y gestión de los productos de la nanotecnología. Para ello, se realiza un estudio sobre el estado del arte del tema, basado en el análisis y discusión de un número significativo de textos, y se presentan conclusiones interesantes respecto a la pertinencia o no de usar este principio en nanotecnología.

Un artículo más de revisión se centra en la producción de hidrógeno verde a partir del agua, utilizando fotocatalizadores nanométricos. Se presentan diferentes estrategias para disminuir la recombinación de los pares electrón-hueco y lograr una mayor eficiencia de estos nanomateriales en los procesos fotocatalíticos. Además, se describen ampliamente las técnicas electroquímicas y fotoelectroquímicas para la caracterización de fotocatalizadores, con el fin de comprender los procesos de transferencia de carga involucrados en la reacción de división de la molécula de agua y diseñar nanomateriales más eficientes para llevar a cabo dicha reacción, lo cual es de gran importancia para la producción de hidrógeno, considerado un vector energético más limpio y sustentable.

Finalmente, se presenta un artículo de revisión en torno al estudio de los nanomateriales y sus interacciones con los organismos biológicos, en particular con el sistema inmunológico. Se muestra cómo a partir de estas interacciones pueden desencadenarse mecanismos de nanoimmunotoxicidad y cómo las reacciones involucradas en los mismos pueden emplearse en técnicas de inmunoterapia para contribuir a la solución de problemas de salud pública.



Como podrán constatar nuestros amables lectores, el número 33 de *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* presenta contribuciones sumamente interesantes y de gran actualidad. Los invitamos a adentrarse en esta nueva entrega y profundizar en los diferentes aspectos desarrollados en los artículos tanto de revisión como de investigación.

El número 34 de la revista estará dedicado al tema de bionanomateriales, por lo cual extendemos una cordial invitación para enviar trabajos tanto de investigación como de revisión para ser considerados en ese número temático.





# Implicaciones bioéticas en la aplicación de nanopartículas de plata (AgNPs) para el manejo de fitopatógenos

## Bioethical implications in the application of silver nanoparticles (AgNPs) for the management of phytopathogens

Graciela Dolores Ávila-Quezada,\* María Cecilia Valles-Aragón,\*  
Denisse Yatzely Mercado-Meza\*<sup>†</sup>

**ABSTRACT:** Silver nanoparticles (AgNPs) have gained significant popularity as versatile nanomaterials due to their antimicrobial properties. They are increasingly considered as a promising tool in agriculture for the phytopathogens management. Unlike traditional agrochemicals, AgNPs offer the advantage of *in situ* application in small quantities. Given the increasing use of AgNPs in recent years, it is important to evaluate their potential environment and human health risks. The aim of this study was to describe the bioethical implications associated with the application of AgNPs in the management of plant pathogens. We conducted a comprehensive review examining the principles of autonomy, justice, non-maleficence, and beneficence concerning the use of AgNPs in the management of phytopathogens. Our approach involved a systematic analysis of qualitative information, drawing data from academic sources indexed in Google scholar, Scopus, and Scielo, with a publication date from 2015 to 2023. We managed this data in Mendeley Web and Desktop®. Scientific information suggests that AgNPs represent a promising option for effectively phytopathogens management due to their antimicrobial properties. However, it is important to study the mechanisms governing their migration to prevent the potential damage to human health and environment. Equally crucial is an adherence to established limits set by the European Food Safety Authority (EFSA) for the acceptable daily intake for this metal.

**KEYWORDS:** nanotechnology, antimicrobial agent, autonomy, justice, bioethics.

**RESUMEN:** Las nanopartículas de plata (AgNPs) han ganado gran popularidad como nanomateriales versátiles debido a sus propiedades antimicrobianas. Se consideran cada vez más como una herramienta prometedora en la agricultura para el manejo de fitopatógenos. A diferencia de los agroquímicos tradicionales, las AgNPs ofrecen la ventaja de su aplicación *in situ* en pequeñas cantidades. Dado el uso cada vez mayor de las AgNPs en los últimos años, es importante evaluar sus riesgos potenciales para el medio ambiente y la salud humana. El objetivo de este estudio fue describir las implicaciones bioéticas asociadas con la aplicación de AgNPs en el manejo de fitopatógenos. Realizamos una revisión exhaustiva que examina los principios de autonomía, justicia, no maleficencia y beneficencia relacionados con el uso de AgNPs en el manejo de fitopatógenos. Nuestro enfoque implicó un análisis sistemático de la información cualitativa, extrayendo datos de fuentes académicas indexadas en Google académico, Scopus y Scielo, con fecha de publicación de 2015 a 2023. Manejamos estos datos en Mendeley Web y

Recibido: 20 de junio, 2023.

Aceptado: 25 de septiembre, 2023.

Publicado: 15 de diciembre, 2023.

\* Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, México.

<sup>†</sup> Autora de correspondencia: p282210@uach.mx



Desktop®. La información científica sugiere que las AgNPs representan una opción prometedor para para el manejo eficaz de fitopatógenos debido a sus propiedades antimicrobianas. Sin embargo, es importante estudiar los mecanismos que rigen su migración para prevenir posibles daños a la salud humana y al medio ambiente. Igualmente crucial es el cumplimiento de los límites establecidos por la European Food Safety Authority (EFSA) para la ingesta diaria aceptable (IDA) de este metal.

**PALABRAS CLAVE:** agricultura, nanotecnología, autonomía, justicia, beneficencia, no maleficencia, bioética.

## Introducción

La creciente población mundial indudablemente demanda el abasto de alimentos de manera sostenible, por lo tanto, son necesarias nuevas herramientas para asegurar la producción inocua de frutas a nivel global. En la búsqueda de nuevas alternativas para la agricultura en las que se aplique menor cantidad de insumos, se han propuesto estrategias novedosas para potencializar aplicaciones y desarrollos nanotecnológicos como el uso de nanopartículas para la fabricación de nanofertilizantes (Ávila-Quezada *et al.*, 2022; Kumar y Nagesh, 2019; Preetha y Balakrishnan, 2017), nanosensores (Kulabhusan, Tripathi y Kant 2022), y transporte de ingredientes activos (Chaud *et al.*, 2021).

Las nanopartículas metálicas se caracterizan por tener un tamaño nanométrico menor a 100 nm, contener de 15,000 a 20,000 átomos aproximadamente, y presentar mayor relación área-volumen (Tehri *et al.*, 2022; Yin *et al.*, 2020). En particular, las nanopartículas de plata (AgNPs) poseen propiedades antimicrobianas de amplio espectro (Ávila-Quezada, *et al.*, 2022) y son adecuadas para el manejo de fitopatógenos. Su tamaño pequeño y su carga positiva les permite interactuar eficazmente con las cargas negativas de la pared celular bacteriana, generando desestabilización de la membrana y la fuga del citoplasma (Bruna *et al.*, 2021). Además, las AgNPs tienen la capacidad de interactuar con los grupos fosfato y sulfato que se encuentran en las proteínas y ADN, grupos tiol presentes en las enzimas, y también pueden aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno, induciendo apoptosis (Ali *et al.*, 2020). Asimismo, las AgNPs se unen a la pared celular de los hongos por atracción electrostática, una vez dentro del citoplasma celular aumenta el estrés oxidativo que desencadena en apoptosis (Mussin y Giusiano, 2022). Se ha demostrado que las AgNPs interactúan con las proteínas de la superficie de virus extracelulares ocasionado la pérdida de su integridad (Al-Radadi y Abu-Dief, 2022).

En relación con la síntesis de NP, los métodos tradicionales de AgNPs físicos y químicos son limitados por sus altos requerimientos de energía y su alta toxicidad (Islam *et al.*, 2021). El utilizar extractos de plantas para la biosíntesis de AgNPs es menos tóxico, mas rápido y económico (Rastogi *et al.*, 2017). Los extractos vegetales reducen el nitrato de plata a nanopartículas por medio de los metabolitos secundarios vegetales (Saravanan *et al.*, 2021). Por lo tanto, las AgNPs y otras NP metálicas están presentes en el ambiente incluyendo el suelo de manera natural por la reducción de plata geogénica por

materia orgánica y algunos microorganismos del suelo (MacCuspie *et al.*, 2011; Kadar *et al.*, 2014)

Por otro lado, el tamaño nanométrico de las AgNPs les permite ingresar por la raíz y pueden translocarse dentro de la planta a través de los vasos xilématicos (Huang *et al.*, 2022). Mientras que para los fitopatólogos, esto es un éxito porque las NP podrían entrar en contacto con patógenos del xilema y floema y reducir sus poblaciones (Ávila-Quezada *et al.*, 2022), para la población en general esto puede causar preocupación no solo por su probable presencia en la cadena alimentaria por translocarse hasta los órganos comestibles de la planta, sino por su migración dentro del ecosistema. Al respecto ya se han reportado efectos controversiales en el medio ambiente, la salud animal y la salud humana, como el aumento de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las células (Hsiao *et al.*, 2015). Se ha estudiado la administración de AgNPs en células HeLa por medio del mecanismo del caballo de Troya (You *et al.*, 2018)). Este es un mecanismo utilizado en la investigación farmacológica para la administración de nuevos medicamentos, con el fin de que estos últimos lleguen al sitio objetivo de manera silenciosa tras atravesar las barreras presentes en el camino (Gécsi *et al.*, 2023).

Jiang *et al.* (2015) proponen el mecanismo del caballo de Troya para explicar la toxicidad de las AgNPs; al ingresar a la célula comienza la liberación gradual de iones de Ag<sup>+</sup>, disminuye la actividad mitocondrial y finalmente la célula muere.

Para robustecer este interesante tema, es importante analizar los cuatro principios de la bioética en la aplicación de AgNPs. El objetivo de este estudio fue describir las implicaciones bioéticas asociadas con la aplicación de AgNPs en el manejo de fitopatógenos.

## Metodología

En este trabajo se analizó la problemática de la aplicación de las nanopartículas de plata en la agricultura desde la perspectiva de la bioética. El estudio es de tipo documental, con enfoque cualitativo de los cuatro principios de la bioética (Caicedo-López *et al.*, 2021) y la aplicación de nanopartículas de plata en la agricultura.

La búsqueda de información se basó en artículos indexados en Google Académico, Scopus y Scielo, en inglés y en español. Las principales palabras utilizadas fueron “bioética, nanopartículas de plata, toxicidad de nanopartículas de plata, agricultura”, cumpliendo con los siguientes requisitos: a) documentos indexados a editoriales reconocidas; b) los documentos deben estar publicados en el periodo 2015-2023; c) abordar conceptos de nanopartículas de plata, toxicidad de AgNPs, agricultura y bioética. Todos los documentos se recopilaron con Mendeley Web y Desktop<sup>®</sup>. La revisión documental se realizó de la siguiente manera: i) se buscaron alrededor de 100 documentos en inglés y español, y se seleccionaron 64 documentos con los conceptos de nanopartí-

culas de plata, bioética, toxicidad de nanopartículas de plata y agricultura; ii) se analizó la información de cada documento para resaltar los posibles usos de las AgNPs en la agricultura, y, iii) se discutieron los posibles usos de las AgNPs con base en los cuatro principios de la bioética.

## **Análisis bioético de la aplicación de AgNPs para el manejo de fitopatógenos**

### **Aplicación de las AgNPs y su relación con el principio de autonomía**

Los agentes responsables de la pérdida de la producción de alimentos son, generalmente, hongos bacterias y virus (Fang y Ramasamy, 2015). Desafortunadamente, al tratar de combatirlos se han aplicado una gran cantidad de agroquímicos, generando daños a la salud humana, al medio ambiente, además de resistencia antimicrobiana (Lira-Saldivar *et al.*, 2018). Es por esto que se requieren nuevas herramientas sustentables y de fácil aplicación apegándose al principio de autonomía y justicia. La agricultura por sí sola es una práctica autónoma, en la cual, los productores agrícolas convencionalmente eligen los insumos a utilizar en sus cultivos para el combate de organismos fitopatógenos (Caicedo-López *et al.*, 2021) de entre la gama de productos autorizados por los ministerios de agricultura de los países.

Debido a la resistencia que generan los agroquímicos convencionales en los fitopatógenos, deben explorarse nuevas opciones de manejo, basadas en investigación científica (Rajwade, Chikte y Paknikar, 2020). Una de las posibles soluciones la ofrece la nanotecnología, específicamente la aplicación de AgNPs (figura 1), mismas que se pueden aplicar mediante aspersión foliar, o aplicación a la raíz, involucrando su internalización dentro de las plantas y su posible translocación para combatir fitopatógenos, ya sea localmente o en los vasos xilemáticos (Ávila-Quezada y Rai, 2023; Huang *et al.*, 2022;).

Adicionalmente, las biosíntesis de AgNPs a partir de extractos de plantas es más amigable con el medio ambiente, son más económicas y de fácil acceso en el mercado, a comparación de los métodos de síntesis tradicionales físicos y químicos que generan compuestos tóxicos (Rastogi *et al.*, 2017). Sin embargo, su actividad antimicrobiana depende de la concentración a la cual se utilicen, tamaño, forma y liberación gradual de iones de plata  $Ag^+$  (Ávila-Quezada, Golinska y Rai, 2022). Por consiguiente, para resultar en una práctica completamente autónoma, se requieren más trabajos de investigación agrícola para determinar una aplicación autónoma y sustentable en campo. No obstante, la autorización para la comercialización de estos productos depende de los reglamentos de cada país.

### **Aplicación de las AgNPs y su relación con el principio de justicia**

Debido a la creciente población mundial y a la consecuente demanda de alimentos, se requieren nuevas alternativas como nanopartículas metálicas para aumentar la producción de alimentos y el manejo de plagas y enfermeda-

des (Ávila-Quezada, Golinska y Rai, 2022). Es importante analizar desde la perspectiva de la bioética el principio de justicia sobre la aplicación de AgNPs en la agricultura, así como se muestra en la figura 1.

Al ingresar en las células vegetales, las AgNPs desencadenan la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo cual, posteriormente, estimula los mecanismos de defensa de la planta. Investigaciones recientes han demostrado que las AgNPs, cuando se aplican en concentraciones bajas de 0.1 a 1 mg kg<sup>-1</sup>, pueden estimular y provocar una respuesta positiva (Liu *et al.*, 2017). Sin embargo, es necesario señalar que cuando las AgNPs se emplean en altas concentraciones, específicamente < 10 µg kg<sup>-1</sup>, pueden ser tóxicas para las plantas e impactar negativamente en el ambiente (Chen *et al.*, 2022). Además, las ROS presentan un comportamiento dualista, en línea con el fenómeno de hormesis. En altas concentraciones pueden provocar daño oxidativo, subrayando el papel fundamental de la producción de ROS inducida por AgNPs en la toxicidad ocasionada a la planta (Gandin, Dizengremel y Jolivet, 2021).

En el contexto de la migración y presencia de AgNPs en el suelo, en un estudio se estableció un límite de AgNPs presentes en suelo de 0.01 a 1 mg kg<sup>-1</sup> para impedir la alteración y no generar resistencia de su microbiota (Grün *et al.*, 2018). Aun así, debemos considerar los mecanismos de detoxificación de los microorganismos del suelo.

Indudablemente, estamos expuestos a este tipo de NPs de manera natural y antropogénica, y ahora sabemos que las AgNPs se han internalizado en la cadena alimentaria, por lo mismo, se requiere robustecer este tema científico con estudios de toxicidad, buscando establecer los límites ante su exposición y consumo.

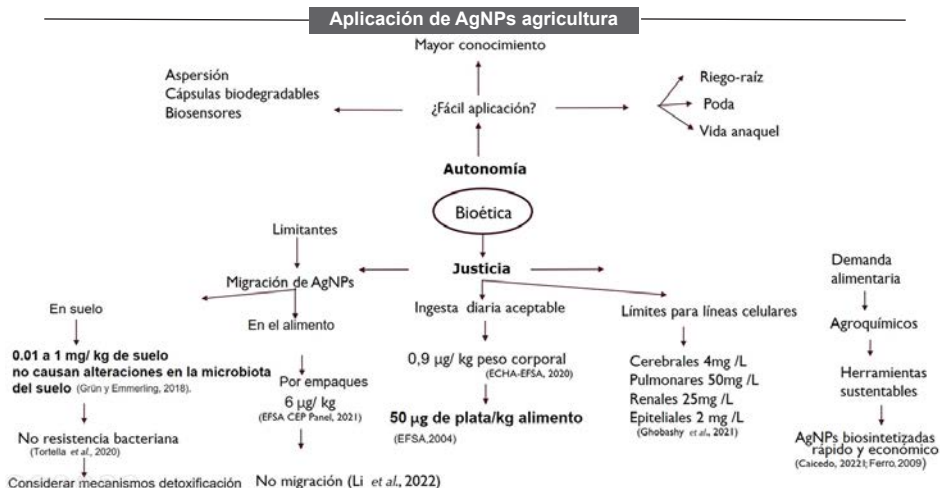
El reglamento de la Unión Europea (UE) N.º 1169/2011 exige que los nanomateriales de ingeniería utilizados como ingredientes alimentarios sean detectados y etiquetados.

En 2004, la European Food Safety Authority (EFSA) estableció un límite diario para el consumo de iones de plata limitándolo a 50 µg de plata/kg alimento. Posteriormente, en 2021, un esfuerzo conjunto entre la European Chemicals Agency (ECHA) y la EFSA determinó una ingesta diaria aceptable (IDA) de 0.9 µg de iones de plata/kg de peso corporal. Ese mismo año, el panel sobre Food Contact Materials, Enzymes and Processing Aids (EFSA CEP) emitió un informe indicando que la incorporación de AgNPs en los envases de alimentos, a una concentración de 6 µg/kg de alimento, no sobrepasa el límite aceptable de ingesta diaria de iones de plata. Recientemente, un estudio que utilizó espectrofotometría de masas evaluó la migración de AgNPs en envases de leche materna. Los hallazgos concluyeron que no hubo migración detectable de AgNPs desde el envase hacia la leche (Li *et al.*, 2022).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha indicado que no existen datos suficientes para atribuir beneficios a la salud por el consumo de agua potable enriquecida con AgNPs, declaró que un límite inferior de 0.1 mg L<sup>-1</sup> no tiene efectos nocivos en la salud humana (Ghobashy *et al.*, 2021).

En estudios *in vitro* ya se han establecido límites de toxicidad de AgNPs para líneas celulares, cerebrales de  $4\text{mg L}^{-1}$ , pulmonares  $50\text{mg L}^{-1}$ , renales  $25\text{mg L}^{-1}$ , y epiteliales  $2\text{mg L}^{-1}$  (Ghobashy *et al.*, 2021). Asimismo, se han realizado estudios *in vivo* en ratones y se ha demostrado que la inhalación o ingesta de AgNPs después de 90 días es tóxica para el pulmón, hígado y cerebro (Ferdous y Nemmar, 2020). En otro ensayo, en ratas, se observó daño renal significativo tras la exposición a AgNPs durante 90 días a  $50\text{ppm}$  (Tiwari *et al.*, 2017).

FIGURA 1. Aplicación de AgNPs y su relación con el principio de bioética: justicia y autonomía.



Fuente: Elaboración de los autores.

## Aplicación de las AgNPs y su relación con el principio de bioética: maleficencia

Indudablemente, las AgNPs ya son parte de nuestra vida diaria, esto involucra la exposición de animales y humanos a estas nanopartículas (Tortella *et al.*, 2020).

En el ecosistema, se pueden formar naturalmente las AgNPs, al reaccionar los iones de  $\text{Ag}^+$  geogénica con materia orgánica, ácidos húmicos, fúlvicos, iones sulfuro y microorganismos presentes en el suelo y agua, capaces de reducir los iones de plata a plata elemental (Tortella *et al.*, 2020; Wimmer *et al.*, 2018).

Debido a la necesidad de búsqueda de nuevas tecnologías, las AgNPs han sido ampliamente utilizadas como antimicrobianos en diversas áreas como la industria alimentaria, textil y medicina, principalmente (Shousha *et al.*, 2019). Se estima una producción anual de 450 toneladas de AgNPs para satisfacer la demanda del mercado mundial (McGillicuddy *et al.* 2017). Generalmente, la síntesis de AgNPs se basa en métodos fisicoquímicos, los cuales, la-



mentablemente, generan residuos tóxicos y contribuyen a la dispersión en el medio ambiente. Además, se proyecta que aproximadamente  $9.68 \mu\text{g kg}^{-1}$  de AgNPs llegarán finalmente al suelo y al agua (Kulikova, 2021).

Retomando el principio bioético fundamental de no maleficencia (figura 2), por cuestión de seguridad alimentaria, es indispensable incrementar los estudios sobre los efectos tóxicos ocasionados por la migración de las AgNPs en cada experimento reportado. Así se expandiría nuestro conocimiento del destino final de las NP metálicas y/o su degradación en el tiempo. Por otro lado, la síntesis de las AgNPs tanto en los procesos naturales como en las actividades humanas forma parte de la cadena alimentaria. No obstante, abordar esta preocupación exige el establecimiento de protocolos homologados internacionalmente, incluido el estricto cumplimiento de los límites propuestos por las instituciones gubernamentales, y la búsqueda de métodos de aplicación más sostenibles para evitar la contaminación. En entornos naturales, las AgNPs pueden experimentar varias transformaciones, incluyendo agregación, oxidación, sulfatación y cloración, haciendo que su toxicidad dependa de factores ambientales, patrones de migración y de su estado de transformación (Fletcher *et al.*, 2019; Sharma *et al.*, 2019).

Diversos modelos biológicos han sido estudiados sobre los posibles mecanismos de toxicidad ocasionados por las AgNPs, lo cual ha llevado a sugerir que su acumulación en los diversos ecosistemas es perjudicial (Yaning Yang *et al.*, 2019). En ambientes acuáticos la toxicidad de las AgNPs depende del pH, la fuerza iónica y la materia orgánica. Los iones de plata se pueden aglomerar o reaccionar con sulfatos y cloruros para formar sales (Ghobashy *et al.*, 2021).

Uno de los modelos biológicos más conocidos en estudios toxicológicos es el del pez cebra (Tsang *et al.*, 2017). En un estudio *in vitro* se observó anormalidad de los circuitos neuronales durante la embriogénesis del pez cebra, un fenómeno atribuido a la liberación gradual de  $\text{Ag}^+$  (Zhao *et al.*, 2019).

Las AgNPs en el suelo pueden presentar aglomeración, disolución, desestabilización y oxidación (Yang *et al.*, 2019). En un suelo con suficiente oxígeno, las AgNPs se oxidan, lo cual parece ser bastante tóxico para *E. coli* (Ouay y Stellacci, 2015). Una vez presentes en el suelo, las AgNPs pueden ingresar por la raíz de las plantas y translocarse a los diversos órganos (Ávila-Quezada, Golinska Rai, 2022). La toxicidad en las plantas depende de la dosis aplicada; por otro lado, la irradiación solar provoca la agregación irreversible de estas Nps, disminuyendo su toxicidad (Yang *et al.*, 2021). La presencia de estas NPs en los cultivos hortofrutícolas nos lleva a pensar sobre su presencia en los alimentos que consumimos diariamente.

Las principales vías de entrada de las AgNPs al cuerpo humano son la inhalación, ingestión y contacto dérmico; una vez dentro, las AgNPs pueden transportarse por el torrente sanguíneo, provocando estrés oxidativo (Ferdous y Nemmar, 2020).

En un estudio realizado por Cueva *et al.* (2019), se evaluaron *in vitro* los efectos potenciales de las AgNPs estabilizadas con glutatión, a una concentra-

ción de  $7.6 \mu\text{g mL}^{-1}$ , al pasar por las diferentes zonas del tracto digestivo (estómago, intestino delgado y colon), utilizando un simulador del tracto digestivo sigmi®. Después de un tiempo de incubación de 48 h, se descartaron cambios estructurales en la microbiota. Sin embargo, las AgNPs sufrieron cambios estructurales dentro de las distintas zonas del simulador sigmi® (Cueva *et al.*, 2019).

Es importante destacar hallazgos previos que demuestran que las AgNPs con un tamaño inferior a 40 nm pueden atravesar la pared celular y la membrana citoplasmática. Una vez dentro de la célula se produce una liberación gradual de los iones de plata, lo cual induce el mecanismo de toxicidad del “caballo de Troya” (El-Batal *et al.*, 2018; Gliga *et al.*, 2014; You *et al.*, 2018). El concepto de caballo de Troya hace referencia al silencioso transporte de las AgNPs al atravesar las diversas barreras físicas (pared celular, membrana, etc.) hasta que comienza la liberación gradual de iones de  $\text{Ag}^+$  y, por consiguiente, los macrófagos, al fagocitar las AgNPs, inician una respuesta inflamatoria, que conduce a una mayor producción de ROS (Park *et al.*, 2010). Esto, sumado al daño del ADN resultante de la interacción electrostática, finaliza en la apoptosis (muerte celular programada) (Mikhailova, 2020).

### Aplicación de las AgNPs y su relación con el principio de beneficencia

Con la revolución “verde” se ha impulsado el uso de agentes amigables con el medio ambiente y no tóxicos impulsando la búsqueda de nuevos métodos de síntesis. La biosíntesis de AgNPs a partir de plantas ofrece una alternativa novedosa y potencial frente a los métodos de síntesis fisicoquímicos: i) agente estabilizante natural; ii) más rentable y fácil de conseguir la materia prima, y, iii) los compuestos fitoquímicos aumentan el rendimiento de las AgNPs (Jadhav *et al.*, 2022).

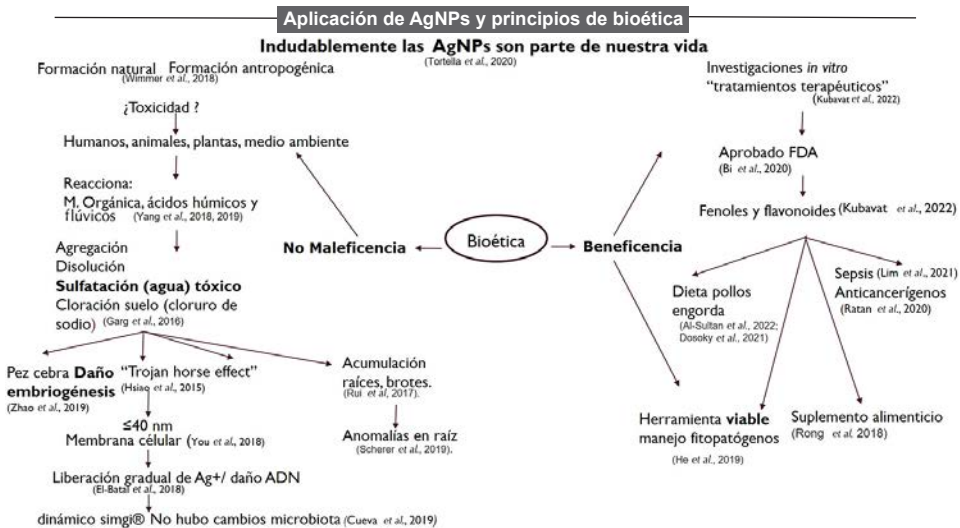
Las AgNPs han sido ampliamente estudiadas por sus propiedades antibacterianas, antivirales, antifúngica y antiinflamatorias (Kale *et al.*, 2021): en el campo de la medicina por su posible aplicación como apósitos para heridas, instrumentos quirúrgicos, prótesis (Xu *et al.*, 2020), posibles tratamientos con base en AgNPs contra células cancerígenas (Ratan *et al.*, 2020) y sepsis bacterianas (Lim *et al.*, 2021). Por otro lado, se ha estudiado la aplicación de AgNPs en la purificación de agua (Yu *et al.*, 2022) y gestión de la calidad de aire (Yang *et al.*, 2020), a través de nanosensores para detección temprana de enfermedades de plantas (Ávila-Quezada, Golinska y Rai, 2022). Además, en estudios *in vitro*, las AgNPs biosintetizadas con extractos de plantas ricos en fenoles y flavonoides han demostrado tener un papel importante en tratamientos terapéuticos (Yaqoob *et al.*, 2020; Kubavat *et al.*, 2022), suplementos alimenticios y tratamientos homeopáticos (Rong *et al.*, 2018).

Asimismo, según algunos estudios *in vivo*, la inclusión de AgNPs en la dieta de pollos de engorda es una opción prometedora, aumenta el crecimiento, mejora el funcionamiento del sistema inmune y reduce la tasa de

mortalidad de las aves, sin embargo, se requieren más estudios para evaluar los posibles efectos secundarios de la incorporación de AgNPs a la dieta (Dosokey *et al.*, 2021; Al-Sultan *et al.*, 2022).

En los sistemas de producción hortofrutícola, las AgNPs pueden ser aplicadas para el manejo de plagas, desarrollo de cápsulas de lenta liberación de nutrientes e ingredientes activos y nanosensores para la detección temprana de plagas y enfermedades (Rai *et al.*, 2021). Incluso, pueden ser parte del desarrollo de nanofertilizantes y nanopesticidas, formar parte de los empaques de productos hortofrutícolas para mejorar la vida de anaquel. No obstante, la forma en la cual estas Nps migran al ecosistema no está clara, se requieren más estudios para comprender estos mecanismos (Avila-Quezada, Golinska y Rai, 2022; Castillo-Henríquez *et al.*, 2020; He *et al.*, 2019). El principio de beneficencia se muestra en la figura 2.

FIGURA 2. Aplicación de AgNPs y su relación con el principio bioético de beneficencia o no maleficencia.



Fuente: Elaboración de los autores.

La resolución de las necesidades agrícolas demanda el desarrollo de herramientas innovadoras (Avila-Quezada, Golinska y Rai, 2022; Avila y Rai, 2023). De acuerdo con trabajos de investigaciones científicas recientes, las nanopartículas de plata son una opción viable para el manejo de fitopatógenos debido a sus propiedades antimicrobianas (Kale *et al.*, 2021), sin embargo, desde la perspectiva de los cuatro principios de la bioética, su aplicación se apega al principio de autonomía, y beneficencia por sus propiedades antimicrobianas y aplicación *in situ*. No obstante, es importante evitar la migración de estas NPs para impedir daños a la salud humana y contaminación del ambiente (Huang *et al.*, 2022).

Una opción para mitigar la migración de AgNPs y el daño a la salud en el uso de las NP podría dirigirse al control de fitopatógenos en cultivos no comestibles como el algodón, pues la investigación sobre las posibles consecuencias negativas en caso de consumir NP en los frutos llevará más años de investigación, además de conocer y respetar los límites permisibles en los alimentos, para no sobrepasar los límites de la ingesta diaria aceptable.

## Conclusión

La aplicación de AgNPs en la agricultura para el manejo de fitopatógenos se ha promovido recientemente como una opción innovadora y sustentable. Indudablemente, estamos expuestos a AgNPs de manera natural y antropogénica, sin embargo, los mecanismos de migración de estas NPs deben ser estudiados, así como la implementación de límites sobre su concentración en suelo y agua principalmente para mitigar los posibles daños a la salud humana y al medio ambiente.

## Referencias

- Al-Radadi, Najlaa S., Ahmed M. Abu-Dief. (2022). Silver nanoparticles (AgNPs) as a metal nano-therapy: possible mechanisms of antiviral action against COVID-19. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*. <https://doi.org/10.1080/24701556.2022.2068585>.
- Al-Sultan, Saad Ibrahim, Abdel Rahman Taha Hereba, Khaled M. A. Hassanein, Sherief M. S. Abd-Allah, Usama T. Mahmoud, Sherief M. Abdel-Raheem. (2022). The impact of dietary inclusion of silver nanoparticles on growth performance, intestinal morphology, caecal microflora, carcass traits and blood parameters of broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, 21(1). <https://doi.org/10.1080/1828051X.2022.2083528>.
- Ali, Md Arshad, Temoor Ahmed, Wenge Wu, Afsana Hossain, Rahila Hafeez, Md Mahidul Islam Masum, Yanli Wang, Qianli An, Guochang Sun, Bin Li. (2020). Advancements in plant and microbe-based synthesis of metallic nanoparticles and their antimicrobial activity against plant pathogens. *Nanomaterials*. <https://doi.org/10.3390/nano10061146>.
- Ávila-Quezada, Graciela Dolores, Patrycja Golinska, Mahendra Rai. (2022). Engineered nanomaterials in plant diseases: can we combat phytopathogens? *Applied Microbiology and Biotechnology* 106(1): 117-29. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11725-w>.
- Ávila-Quezada, Graciela Dolores, Mahendra Rai. (2023). Novel nanotechnological approaches for managing phytophthora diseases of plants. *Trends in Plant Science*.
- Bruna, Tamara, Francisca Maldonado-Bravo, Paul Jara, Nelson Caro. (2021). Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms22137202>.

- Caicedo-López, Laura Helena, Ana Laura Villagómez Aranda, Diana Sáenz de la O, Carlos Eduardo Zavala Gómez, Estefanía Espinoza Márquez, Hilda Romero Zepeda. (2021). Elicitores: implicaciones bioéticas para la agricultura y la salud humana. *Revista Bioética*, 29(1). <https://doi.org/10.1590/1983-80422021291448>.
- Castillo-Henríquez, Luis, Karla Alfaro-Aguilar, Jeisson Ugalde-álvarez, Laura Vega-Fernández, Gabriela Montes de Oca-Vásquez, José Roberto Vega-Baudrit. (2020). Green synthesis of gold and silver nanoparticles from plant extracts and their possible applications as antimicrobial agents in the agricultural area. *Nanomaterials*. <https://doi.org/10.3390/nano10091763>.
- Chaud, Marco, Eliana B. Souto, Aleksandra Zielinska, Patricia Severino, Fernando Batain, Jose Oliveira-Junior, Thais Alves. (2021). Nanopesticides in agriculture: benefits and challenge in agricultural productivity, toxicological risks to human health and environment. *Toxics*. <https://doi.org/10.3390/toxics9060131>.
- Chen, Si, Xin Yan, Jose R. Peralta-Videa, Ziyao Su, Jie Hong, Lijuan Zhao. (2022). Biological effects of AgNPs on crop plants: environmental implications and agricultural applications. *Environmental Science: Nano*. <https://doi.org/10.1039/d2en00801g>.
- Cueva, Carolina, I. Gil-Sánchez, Alba Tamargo, Beatriz Miralles, Julian Crespo, Begoña Bartolomé, M. Victoria Moreno-Arribas. (2019). Gastrointestinal digestion of food-use silver nanoparticles in the dynamic SIMulator of the gastrointestinal tract (Simgi®). Impact on human gut microbiota. *Food and Chemical Toxicology*, 132. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110657>.
- Dosoky, Waleed M., Moustafa M. G. Fouda, Ali B. Alwan, Nader R. Abdelsalam, Ayman E. Taha, Rehab Y. Ghareeb, M. R. El-Aassar, Asmaa F. Khafaga. (2021). Dietary supplementation of silver-silica nanoparticles promotes histological, immunological, ultrastructural, and performance parameters of broiler chickens. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83753-5>.
- El-Batal, Ahmed I., Farag M. Mosallam, Gharieb S. El-Sayyad. (2018). Synthesis of metallic silver nanoparticles by fluconazole drug and gamma rays to inhibit the growth of multidrug-resistant microbes. *Journal of Cluster Science*, 29(6). <https://doi.org/10.1007/s10876-018-1411-5>.
- Fang, Yi, Ramaraja P. Ramasamy. (2015). Current and prospective methods for plant disease detection. *Biosensors*. <https://doi.org/10.3390/bios5030537>.
- Ferdous, Zannatul, Abderrahim Nemmar. (2020). Health impact of silver nanoparticles: a review of the biodistribution and toxicity following various routes of exposure. *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms21072375>.
- Fletcher, Nathaniel D., Heather C. Lieb, Katherine M. Mullaugh. (2019). Stability of silver nanoparticle sulfidation products. *Science of the Total Environment*, 648. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.239>.
- Gandin, Anthony, Pierre Dizengremel, Yves Jolivet. (2021). Integrative role of plant mitochondria facing oxidative stress: the case of ozone. *Plant Physiology and Biochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.12.019>.

- Géczi, Zoltán, Ivett Róth, Zsófia Kóhidai, László Kóhidai, Khaled Mukaddam, Péter Hermann, Dániel Végh, Tivadar Zelles. (2023). The use of Trojan-horse drug delivery system in managing periodontitis. *International Dental Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.identj.2022.08.003>.
- Ghobashy, Mohamed Mohamady, Mohamed Abd Elkodous, Soha Hamdy Shabaka, Sherif A. Younis, Dalal Mohamed Alshangiti, Mohamed Madani, Samera Ali Al-Gahtany *et al.* (2021). An overview of methods for production and detection of silver nanoparticles, with emphasis on their fate and toxicological effects on human, soil, and aquatic environment. *Nanotechnology Reviews*. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2021-0066>.
- Gliga, Anda R., Sara Skoglund, Inger Odnevall Wallinder, Bengt Fadeel, Hanna L. Karlsson. (2014). Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: the role of cellular uptake, agglomeration and ag release. *Particle and Fibre Toxicology*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/1743-8977-11-11>.
- Grün, Anna Lena, Susanne Straskraba, Stefanie Schulz, Michael Schloter, Christoph Emmerling. (2018). Long-term effects of environmentally relevant concentrations of silver nanoparticles on microbial biomass, enzyme activity, and functional genes involved in the nitrogen cycle of loamy soil. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 69. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.04.013>.
- He, Xiaojia, Hua Deng, Huey min Hwang. (2019). The current application of nanotechnology in food and agriculture. *Journal of Food and Drug Analysis*. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.12.002>.
- Hsiao, I. Lun, Yi Kong Hsieh, Chu Fang Wang, I. Chieh Chen, Yuh Jeen Huang. (2015). Trojan-horse mechanism in the cellular uptake of silver nanoparticles verified by direct intra- and extracellular silver speciation analysis. *Environmental Science and Technology*, 49(6). <https://doi.org/10.1021/es504705p>.
- Huang, Danyu, Fei Dang, Yingnan Huang, Ning Chen, Dongmei Zhou. (2022). Uptake, translocation, and transformation of silver nanoparticles in plants. *Environmental Science: Nano*. <https://doi.org/10.1039/d1en00870f>.
- Islam, Anti, Chanchal Mandal, Ahsan Habib. (2021). Antibacterial potential of synthesized silver nanoparticles from leaf extract of moringa oleifera. *Journal of Advanced Biotechnology and Experimental Therapeutics*, 4(1). <https://doi.org/10.5455/jabet.2021.d108>.
- Jadhav, Vikram, Arun Bhagare, Ismat H. Ali, Akshay Dhayagude, Dnyaneshwar Lokhande, Jayraj Aher, Mohammed Jameel, Mycal Dutta. (2022). Role of moringa oleifera on green synthesis of metal/metal oxide nanomaterials. *Journal of Nanomaterials*. <https://doi.org/10.1155/2022/2147393>.
- Jiang, Xiumei, Teodora Miclăuș, Liming Wang, Rasmus Foldbjerg, Duncan S. Sutherland, Herman Autrup, Chunying Chen, Christiane Beer. (2015). Fast intracellular dissolution and persistent cellular uptake of silver nanoparticles in CHO-K1 cells: implication for cytotoxicity. *Nanotoxicology*, 9(2). <https://doi.org/10.3109/17435390.2014.907457>.
- Kadar, Enikő, Michael Cunliffe, Andrew Fisher, Björn Stolpe, Jamie Lead, Zongbo Shi. (2014). Chemical interaction of atmospheric mineral dust-derived nanoparti-

- cles with natural seawater – EPS and sunlight-mediated changes. *Science of the Total Environment*, 468-469. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.059>.
- Kale, S. K., Parishwad, G. V., Patil, A. S. H. A. S. (2021). Emerging agriculture applications of silver nanoparticles. *ES Food & Agroforestry*, 1-22. [https://www.espublisher.com/uploads/article\\_pdf/esfaf438.pdf](https://www.espublisher.com/uploads/article_pdf/esfaf438.pdf).
- Kubavat, Kinjal, Pooja Trivedi, Hafsa Ansari, Anita Kongor, Manthan Panchal, Vinod Jain, Gaurang Sindhav. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using dietary antioxidant rutin and its biological contour. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s43088-022-00297-x>.
- Kulabhusan, Prabir Kumar, Anugrah Tripathi, Krishna Kant. (2022). Gold nanoparticles and plant pathogens: an overview and prospective for biosensing in forestry. *Sensors*, 22(3): 1-18. <https://doi.org/10.3390/s22031259>.
- Kulikova, N. A. (2021). Silver nanoparticles in soil: input, transformation, and toxicity. *Eurasian Soil Science*, 54(3). <https://doi.org/10.1134/S1064229321030091>.
- Kumar, Aravinda, Baburai Nagesh. (2019). Foliar application of nanofertilizers in agricultural crops – A review of foliar application of nanofertilizers in agricultural crops – A review. *J. Farm Sci.*, 32(3).
- Li, Bin, Sew Lay Chua, Dingyi Yu, Sheot Harn Chan, Angela Li. (2022). Detection, identification and size distribution of silver nanoparticles (AgNPs) in milk and migration study for breast milk storage bags. *Molecules*, 27(8). <https://doi.org/10.3390/molecules27082539>.
- Lim, Jaesung, Yun Young Lee, Young Bin Choy, Wooram Park, Chun Gwon Park. (2021). Sepsis diagnosis and treatment using nanomaterials. *Biomedical Engineering Letters*. <https://doi.org/10.1007/s13534-021-00200-0>.
- Lira-Saldivar, Ricardo Hugo, Bulmaro Méndez Argüello, Gladys de los Santos Villareal, Ileana Vera Reyes. (2018). Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta Universitaria*, 28(2): 9-24. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1575>.
- Liu, Guangfu, Meng Zhang, Yujian Jin, Xiaoji Fan, Jiahui Xu, Youchao Zhu, Zhengwei Fu, Xiangliang Pan, Haifeng Qian. (2017). The effects of low concentrations of silver nanoparticles on wheat growth, seed quality, and soil microbial communities. *Water, Air, and Soil Pollution*, 228(9). <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3523-1>.
- MacCuspie, Robert I., Kim Rogers, Manomita Patra, Zhiyong Suo, Andrew J. Allen, Matthew N. Martin, Vincent A. Hackley. (2011). Challenges for physical characterization of silver nanoparticles under pristine and environmentally relevant conditions. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(5). <https://doi.org/10.1039/c1em10024f>.
- McGillicuddy, E., I. Murray, S. Kavanagh, L. Morrison, A. Fogarty, M. Cormican, P. Dockery, M. Prendergast, N. Rowan, D. Morris. (2017). Silver nanoparticles in the environment: sources, detection and ecotoxicology. *Science of the Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.041>.
- Mikhailova, Ekaterina O. (2020). Silver nanoparticles: mechanism of action and probable bio-application. *Journal of Functional Biomaterials*. <https://doi.org/10.3390/jfb11040084>.

- Mussin, Javier, Gustavo Giusiano. (2022). Biogenic silver nanoparticles as antifungal agents. *Frontiers in Chemistry*. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.1023542>.
- Ouay, Benjamin Le, Francesco Stellacci. (2015). Antibacterial activity of silver nanoparticles: a surface science insight. *Nano Today*. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2015.04.002>.
- Park, Eun Jung, Jongheop Yi, Younghun Kim, Kyunghee Choi, Kwangsik Park. (2010). Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism. *Toxicology in Vitro*, 24(3). <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.12.001>.
- Preetha, P. Selva, N. Balakrishnan. (2017). A review of nano fertilizers and their use and functions in soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(12). <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.612.364>.
- Rai, Mahendra, Avinash P. Ingle, Joanna Trzcińska-Wencel, Magdalena Wypij, Shital Bonde, Alka Yadav, Gabriela Kratošová, Patrycja Golińska. (2021). Biogenic silver nanoparticles: what we know and what do we need to know? *Nanomaterials*. <https://doi.org/10.3390/nano11112901>.
- Rajwade, Jyutika M., R. G. Chikte, K. M. Paknikar. (2020). Nanomaterials: new weapons in a crusade against phytopathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10334-y>.
- Rastogi, Anshu, Marek Zivcak, Oksana Sytar, Hazem M. Kalaji, Xiaolan He, Sonia Mbarki, Marian Brestic. (2017). Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: a critical review. *Frontiers in Chemistry*. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00078>.
- Ratan, Zubair Ahmed, Mohammad Faisal Haidere, Md Nurunnabi, Sadi Md Shahriar, A. J. Saleh Ahammad, Youn Young Shim, Martin J. T. Reaney, Jae Youl Cho. (2020). Green chemistry synthesis of silver nanoparticles and their potential anticancer effects. *Cancers*. <https://doi.org/10.3390/cancers12040855>.
- Rong, Hongyan, Shikha Garg, Paul Westerhoff, T. David Waite. (2018). *In vitro* characterization of reactive oxygen species (ROS) generation by the commercially available Mesosilver™ dietary supplement. *Environmental Science: Nano*, 5(11). <https://doi.org/10.1039/c8en00701b>.
- Saravanan, A., P. Senthil Kumar, S. Karishma, Dai Viet N. Vo, S. Jeevanantham, P. R. Yaashikaa, Cynthia Susan George. (2021). A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications. *Chemosphere*, 264. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128580>.
- Sharma, Virender K., Christie M. Sayes, Binglin Guo, Suresh Pillai, Jason G. Parsons, Chuanyi Wang, Bing Yan, Xingmao Ma. (2019). Interactions between silver nanoparticles and other metal nanoparticles under environmentally relevant conditions: a review. *Science of the Total Environment*, 653. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.411>.
- Shousha, Wafaa G., Wael M. Aboulthana, Alaa H. Salama, Mahmoud H. Saleh, Ehab A. Essawy. (2019). Evaluation of the biological activity of moringa oleifera leaves extract after incorporating silver nanoparticles, *in vitro* study. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1). <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0221-8>.



- Tehri, Nimisha, Amit Vashishth, Anjum Gahlaut, Vikas Hooda. (2022). Biosynthesis, antimicrobial spectra and applications of silver nanoparticles: current progress and future prospects. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 52(1): 1-19. <https://doi.org/10.1080/24701556.2020.1862212>.
- Tiwari, Ratnakar, Radha Dutt Singh, Hafizurrahman Khan, Siddhartha Gangopadhyay, Sandeep Mittal, Vikas Singh, Nidhi Arjaria *et al.* (2017). Oral Subchronic exposure to silver nanoparticles causes renal damage through apoptotic impairment and necrotic cell death. *Nanotoxicology*, 11(5). <https://doi.org/10.1080/17435390.2017.1343874>.
- Tortella, G. R., O. Rubilar, N. Durán, M. C. Diez, M. Martínez, J. Parada, A. B. Seabra. (2020). Silver nanoparticles: toxicity in model organisms as an overview of its hazard for human health and the environment. *Journal of Hazardous Materials*. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121974>.
- Tsang, Benjamin, Hifsa Zahid, Rida Ansari, Richard Chi Yeung Lee, Aman Partap, Robert Gerlai. (2017). Breeding zebrafish: a review of different methods and a discussion on standardization. *Zebrafish*. <https://doi.org/10.1089/zeb.2017.1477>.
- Wimmer, Andreas, Anna Kalinnik, Michael Schuster. (2018). New insights into the formation of silver-based nanoparticles under natural and semi-natural conditions. *Water Research*, 141. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.015>.
- Xu, Li, Yi Yi Wang, Jie Huang, Chun Yuan Chen, Zhen Xing Wang, Hui Xie. 2020. Silver nanoparticles: synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*. <https://doi.org/10.7150/thno.45413>.
- Yang, Wenxiu, Lin Li, Shuo Wang, Jinshu Liu. (2020). Preparation of multifunctional AgNPs/PAN nanofiber membrane for air filtration by one-step process. *Pigment and Resin Technology*, 49(5). <https://doi.org/10.1108/PRT-08-2019-0075>.
- Yang, Yaning, Shengmin Xu, Guangmin Xu, Rui Liu, An Xu, Shaopeng Chen, Lijun Wu. (2019). Effects of ionic strength on physicochemical properties and toxicity of silver nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 647. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.064>.
- Yang, Yi, Shimei Zheng, Ruixuan Li, Xin Chen, Kunkun Wang, Binbin Sun, Yinqing Zhang, Lingyan Zhu. (2021). New insights into the facilitated dissolution and sulfidation of silver nanoparticles under simulated sunlight irradiation in aquatic environments by extracellular polymeric substances. *Environmental Science: Nano*, 8(3). <https://doi.org/10.1039/d0en01142h>.
- Yaqoob, Asim Ali, Khalid Umar, Mohamad Nasir Mohamad Ibrahim. (2020). Silver nanoparticles: various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications – A review. *Applied Nanoscience (Switzerland)*. <https://doi.org/10.1007/s13204-020-01318-w>.
- Yin, Iris Xiaoxue, Jing Zhang, Irene Shuping Zhao, May Lei Mei, Quanli Li, Chun Hung Chu. (2020). The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *International Journal of Nanomedicine*. <https://doi.org/10.2147/IJN.S246764>.

- You, Fang, Wenqin Tang, Lin Yue Lanry Yung. (2018). Real-time monitoring of the Trojan-horse effect of silver nanoparticles by using a genetically encoded fluorescent cell sensor. *Nanoscale*, 10(16). <https://doi.org/10.1039/c7nr05975b>.
- Yu, Yuanyuan, Zhongbo Zhou, Guocheng Huang, Hong Cheng, Le Han, Shanshan Zhao, Yucheng Chen, Fangang Meng. (2022). Purifying water with silver nanoparticles (AgNPs)-incorporated membranes: recent advancements and critical challenges. *Water Research*. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118901>.
- Zhao, Guang, Zi Yang Wang, Lian Xu, Cheng Xing Xia, Jing Xia Liu. (2019). Silver nanoparticles induce abnormal touch responses by damaging neural circuits in zebrafish embryos. *Chemosphere*, 229. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.223>.

# Nanodispersion of TiO<sub>2</sub> in hypochlorous acid and its antimicrobial effect against oral pathogens<sup>◇</sup>

## Nanodispersión de TiO<sub>2</sub> en ácido hipocloroso y su efecto antimicrobiano frente a patógenos orales

Juan Rafael Morales-Noriega,\* Christian Andrea López-Ayuso,\*\*,\*\*\*, Laura Susana Acosta-Torres,\*\*\* Ravichandran Manisekaran\*\*\*

**ABSTRACT:** The continuous and inappropriate use of antimicrobial agents, traditionally used in dentistry, has caused the emergence of multidrug-resistant (MDR) bacterial strains, as well as the mutation of microorganisms. This problem has led to the development of several nanoparticles to combat resistant pathogens. Titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles have been attractive antimicrobial agents because of their chemical stability, non-toxicity, and inexpensive precursors. Therefore, TiO<sub>2</sub>-based nanodispersions were explored by preparing them with well-known antimicrobial agents, such as hypochlorous acid (HOCl), to enhance the antimicrobial effect. In this study, sol-gel-based TiO<sub>2</sub> NPs-HOCl nanodispersions were synthesized and characterized. The antimicrobial effect was assessed by a microdilution assay using *S. mutans*, *S. aureus*, *E. faecalis*, and *C. albicans* strains by incubating different concentrations of the nanodispersions. To evaluate the cytotoxic effects, stem cells from the apical papilla (SCAPs) were inoculated and evaluated using the MTT assay. The nanodispersion exhibited an enhanced antimicrobial effect, with almost no cytotoxicity. The HOCl-based nanodispersion exhibited a greater antimicrobial effect and high stability. Thus, it can be used as a promising antimicrobial agent for the treatment of various dental pathogens.

**KEYWORDS:** TiO<sub>2</sub> nanoparticles, HOCl, antimicrobial effect, cytotoxic effect, SCAPs.

**RESUMEN:** El uso continuo e inadecuado de agentes antimicrobianos, tradicionalmente utilizados en odontología, ha provocado el surgimiento de cepas bacterianas multirresistentes (MDR, por sus siglas en inglés), así como la mutación de microorganismos. Esta problemática ha propi-

Received: August 7, 2023.

Accepted: November 6, 2023.

Published: December 15, 2023.

<sup>◇</sup> Ravichandran Manisekaran acknowledges the financial support from DGAPA-UNAM-PA-PIIT (N° TA200123). The authors would like to thank the technical help of Hugo Alvarado Garnica (LII-NyB, ENES-UNAM) for cytotoxic assays and Marina Vega González (CGEO-UNAM) for SEM.

\* Universidad Nacional Autónoma de México, Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León, León, Guanajuato, México (estudiante de la licenciatura en odontología).

\*\* Universidad Nacional Autónoma de México, Programa de Doctorado en Ciencias Odontológicas.

\*\*\* Universidad Nacional Autónoma de México, Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León, Interdisciplinary Research Laboratory (LII), Nanostructures and Biomaterials Area, León, Guanajuato, México.

<sup>♠</sup> Correspondence author: manisekaran@enes.unam.mx



ciado el desarrollo de varias nanopartículas para combatir patógenos resistentes; las nanopartículas de dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) han sido agentes antimicrobianos atractivos debido a su estabilidad química, no toxicidad y precursores económicos. Por lo tanto, las nanodispersiones basadas en  $\text{TiO}_2$  se exploraron preparándolas con agentes antimicrobianos bien conocidos, como el ácido hipocloroso (HOCl), para mejorar el efecto antimicrobiano. En este estudio, se sintetizaron y caracterizaron nanodispersiones de  $\text{TiO}_2$  NPs-HOCl basadas en sol-gel. El efecto antimicrobiano se evaluó mediante un ensayo de microdilución utilizando cepas de *S. mutans*, *S. aureus*, *E. faecalis* y *C. albicans* mediante la incubación de diferentes concentraciones de las nanodispersiones. Para evaluar los efectos citotóxicos, se inocularon células madre de la papila apical (SCAP) y se evaluaron mediante el ensayo MTT. La nanodispersión exhibió un efecto antimicrobiano mejorado, casi sin citotoxicidad. La nanodispersión basada en HOCl exhibió un mayor efecto antimicrobiano y alta estabilidad, por lo cual se puede utilizar como un agente antimicrobiano prometedor para el tratamiento de diversos patógenos dentales.

**PALABRAS CLAVE:** nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ , HOCl, efecto antimicrobiano, efecto citotóxico, SCAPs.

## Introduction

In recent years, excessive use of antimicrobial agents has caused the emergence of microbial resistance and mutations in antibiotics, thus causing major burdens in the medical sector and affecting the patient's life. (Alvarracin-Baculima *et al.*, 2021; Dicastillo *et al.*, 2020). Currently, there is an indiscriminate administration of commercially available antimicrobial chemicals that is associated with numerous bottlenecks that cause cytotoxicity in tissues (Eslami *et al.*, 2021). For example, chlorhexidine is the gold standard in dentistry as an antimicrobial agent that can be adsorbed on dental surfaces, destabilize the cell membrane, and osmosis, leading to microbial cell lysis. At low concentrations, it is bacteriostatic, whereas at high concentrations it is bactericidal (Moaddabi *et al.*, 2022; Panpaliya *et al.*, 2019). However, prolonged use can cause tooth discoloration, deterioration of the mechanical properties, detrimental effects on the oral microflora, and bad taste, which can cause xerostomia (Bianchi *et al.*, 2020).

For this reason, nanotechnology has been chosen because nanoparticles are currently used in various branches of dentistry seeing that they provide excellent mechanical characteristics and antimicrobial properties comparable to those of conventional materials (Kaladhar *et al.*, 2018; Kochan *et al.*, 2022). Nanoparticles (1-100 nm) have completely different mechanisms of bactericidal action than antibiotics, and it is easier for them to enter microorganisms by damaging the cell wall with greater interaction with microorganisms, where they can release metal ions (Besinis *et al.*, 2014).

Metal oxide NPs are often synthesized and investigated for various applications, from biomedical to environmental, owing to their greater reactivity and efficiency. Cerium oxide, zinc oxide, aluminum oxide,  $\text{TiO}_2$ , magnetite, maghemite, and silicon dioxide are frequently synthesized as they exhibit exceptional characteristics when compared to metallic NPs (Foong *et al.*, 2020).

Recently, nanometer-sized antibacterial materials have attracted a lot of attention in the field of dentistry, specifically metal oxide nanoparticles, because of their strong and broad-spectrum antibacterial activity against dif-

ferent types of microorganisms, strengthening the mechanical properties of the materials, and preventing the development of caries (Nizami *et al.*, 2021). This is because of the release of metal ions that induce oxidative stress and non-oxidative mechanisms. For this reason, several studies have used metal oxide NPs to develop antimicrobial dental materials for resin restoration, endodontic therapy, and orthodontic treatment, such as implant surface repair and removable prostheses, and have found that the antibacterial properties of nano-sized materials are significantly enhanced, and their production is easily scalable (Wang *et al.*, 2020).

Metal oxide nanoparticles (NPs) have gained increasing attention in dentistry, and one of the most interesting NPs is TiO<sub>2</sub>. TiO<sub>2</sub> NPs are considered outstanding antimicrobial compounds because of their chemical stability, non-cytotoxicity, and use of inexpensive precursors for synthesis (Ch-Th *et al.*, 2021). Generally, TiO<sub>2</sub> NPs are recognized as safe, with good erosion resistance, corrosion, high refractive resistance, easy control, and excellent surface morphology (Khan *et al.*, 2002). Furthermore, several studies have also revealed that it demonstrates excellent antibacterial properties against various strains of microorganisms, such as Gram-positive and Gram-negative bacteria, as well as antifungal properties (Giti *et al.*, 2022).

Hypochlorous acid (HOCl) is a non-antibiotic agent used to inhibit infections, decrease inflammation, and stimulate wound healing with minimal unfavorable effects and is effective against a wide range of microorganisms (Lafaurie *et al.*, 2018). It is an ideal disinfectant and sanitizer, which is non-cytotoxic, low-cost, and ideal for disinfecting surfaces. As it is non-corrosive in nature, it is effective in various ways, and low-cost, as HOCl is an endogenous substance in all mammals and is effective against a wide range of microorganisms, in addition to being a powerful oxidizing/deproteinizing agent in aqueous solutions. It also has both pro-inflammatory and anti-inflammatory properties that appear to play an important role in the immune system, as they are classified within the group of reactive oxygen species (ROS) that are produced by cells of the immune system, such as neutrophils and macrophages, during an immunological and biological stage known as “respiratory burst” (Block & Rowan, 2020).

HOCl is used to prevent disease, decrease inflammation, and enhance wound healing, with fewer adverse side effects. To date, there have been numerous reports on the microbicidal activity of HOCl in environmental disinfection and antisepsis. *In vitro* studies have also shown that HOCl is an excellent non-antibiotic antimicrobial agent with significant effects on the following oral pathogens: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, and *Campylobacter rectus*, which live in dental biofilms from teeth and dental implants (Tazawa *et al.*, 2023).

Thus, TiO<sub>2</sub> NPs and HOCl have an oxidizing effect and are capable of producing molecules called reactive oxygen species (ROS), whereby HOCl is obtained by means of the cells of the immune system (neutrophils and macro-

phages) through an immunological process known as “respiratory burst,” during the process of phagocytosis of antigens (Castillo *et al.*, 2015; Choi *et al.*, 2009). In contrast, the antimicrobial action mechanism of TiO<sub>2</sub> NPs is linked to their ROS, which damages bacterial cells and leads to their apoptosis (Huang *et al.*, 2016). Therefore, the combination of two antimicrobial agents with these particularities may have a broad-spectrum activity against Gram-negative, Gram-positive bacteria and fungi, which will be of great importance in overcoming MDR and microorganism mutations (Vatansever *et al.*, 2013).

Biomedical and dental applications require nanoparticles to be in their colloidal form in water or liquid media because they allow much better interaction with a biological interface. Their colloidal form allows them to be more accessible to remote targets such as organs, cells, and subcellular compartments, and is easy to use (Jana, 2019). Therefore, very few studies have reported the production of nanodispersions based on metal oxides and HOCl to decrease the microbial load without being cytotoxic (Shirkavad & Moslehifard, 2014).

Currently, there is no line of research on HOCl solutions with TiO<sub>2</sub> NPs; instead, there are similar products or studies that use HOCl, but with different types of NPs that can be metallic or metallic oxides in different types of microorganisms, as well as with different applications. Büyükcınal, *et al.* 2022 made a dispersion of HOCl with NPs of CuO, ZnO, AgO, which is of size 100 nm and evaluated with an agar-diffusion assay for the following microorganisms: *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Dublin*, *Salmonella Infanti* as a surface disinfectant. Kuwabara *et al.* (2020) used AgNPs with an average size of  $5.17 \pm 1.92$  nm with the HOCl solution compounded and tested in an *in-vivo* model of diabetic mice against the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. In addition, there is a commercial product named GS Nano Silver + HAW <https://product.statnano.com/product/12471/gs-nano-silver-haw> (hypochlorous-acid-water) that have an antibacterial, antiviral effect can be used as a disinfectant. Based on the aforementioned research and product, it gives us the guideline to follow a similar line of research but following an approach in the field of dentistry using TiO<sub>2</sub> NPs and HOCl due to their properties and antimicrobial effect.

In this study, we used a nanodispersion of TiO<sub>2</sub> NPs in HOCl and characterized it by UV-visible spectroscopy and scanning electron microscopy. Later, it was evaluated as an antimicrobial agent against three bacterial and one fungal pathogen, which are very common in the oral cavity. Cytotoxicity was assessed using SCAPs.

## Materials

### List of chemicals and reagents

- Titanium chloride IV (Fluka, Analytical Monterrey, N. L, Mexico)
- Ethyl alcohol (Karl, Leon, Gto., Mexico)

- Hypochlorous acid, COT brand (Translational Dental Consortium, Toluca, State of Mexico)
- Chlorhexidine (FGM, Joinville, Santa Catarina, Brazil)
- Sterile Injectable Water (PISA Laboratories, Guadalajara, Jalisco, Mexico)

#### *Microbial strains & cell line*

- *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) – clinical isolate
- *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) – clinical isolate
- *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) – clinical isolate
- *Candida albicans* (*C. albicans*) – ATCC 90028
- SCAPs cells – clinical isolate

#### *Cell culture supplies*

- Supplemented culture medium  
Minimum essential medium Eagle (MEM), 10% fetal bovine serum, 1% penicillin-streptomycin, and 1% glutamine were obtained from Sigma-Aldrich. Louis, MO, USA).

#### *Microbial culture reagents*

- Mueller Hinton Broth (Sigma – Aldrich Saint Louis, MO, USA)
- Mueller Hinton Agar (Becton Dickins, Cuamatla State of Mexico, Mexico)
- Sabouraud Dextrose Agar (Becton Dickins, Cuamatla, Cuautitlan Izcalli, State of Mexico, Mexico)
- Enterococcus Selective Agar (Sigma – Aldrich Saint Louis, MO, USA)
- RPMI Medium 1640 (Gibco, Grand Island, New York, USA)

#### *MTT & XTT reagents*

- Tetrazolium bromide (Sigma -Aldrich, Saint Louis, MO, USA)
- Dimethyl sulfoxide (MEYER, Tláhuac, Mexico)
- XTT sodium salt (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO US)
- Phenazine methosulfate (PMS, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO US)

#### *List of equipment*

- Centrifuge (Beckman, J2-MC, Indianapolis, USA)
- Incubator (Binder, Tuttlingen, Germany)
- UV-Visible Spectroscopy (Thermo Scientific, Grand Island, New York, USA)
- IKA C-MAG HS7 magnetic stirrer (IKA Works, Wilmington, USA)
- Analytical balance (Denver Instrument, Colorado, US)
- Vortex (Genie 2 Daigger, Vernon Hills, Illinois, US)
- Densitometer (Grant-bio, Grant Instruments, Cambridge, United Kingdom)



- Shaking incubator (VORTEMP 1550 LABNET, Edison, New Jersey, US)
- Autoclave (Tuttnauer, Hauppauge, New York, USA)
- Optical microscope (LEICA DM IL LED, Wetzlar, Germany)
- Muffle furnace (Thermo Scientific, Grand Island, New York, USA)
- Ultrasonic bath (Branson Ultrasonics 2800, USA)

### *Plastic disposables*

- 6 & 10-cm Petri dishes (Thermo Scientific, Richardson, TX, USA)
- 96-well microplates (Thermo Scientific, Denver, CO, USA)

## Methods

### *Synthesis of TiO<sub>2</sub> NPs*

To synthesize anatase-TiO<sub>2</sub> NPs, we chose the sol-gel method. The process was as follows: 60 mL of ethyl alcohol was placed in a beaker and then placed on a magnetic stirrer hot plate mixer with continuous stirring at a temperature of 90 °C for 5 min, after which 6 mL of TiCl<sub>4</sub> (Titanium tetrachloride) precursor was added. The light-yellow solution was maintained in the stirrer for 1 h and allowed to gelatinize. The resulting dry gel was calcined in a muffle furnace at a temperature–500-550 °C for 1 h to eliminate the organic components of the precursor. Finally, the powder obtained during the gelling stage was crushed using a mortar and pestle. The coarse grains of the powder were further finely crushed to obtain anatase anatase-TiO<sub>2</sub> NPs. (Zhu *et al.*, 2000).

### *Dispersion of TiO<sub>2</sub> NPs in HOCl – Nanodispersion*

To prepare a 1 mg/mL nanodispersion solution, 25 mg of TiO<sub>2</sub> NPs were weighed and dispersed in 25 mL of HOCl using a 50 mL Falcon tube. The tube was then vortexed for 15 min until a homogeneous mixture was formed. The tubes were then placed in an ultrasonic bath and sonicated for 1 h. The obtained solution was stored in a refrigerator until further use. Before each experiment, the tube was vigorously shaken and sonicated for 15-30 minutes to ensure that there was no sedimentation of the particles, and a homogeneous solution was formed.

### *Microdilution assay*

To obtain the microbial susceptibility data and determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of the different nanodispersion concentrations, we performed microdilution tests in 96-well microplates for each microbial strain and repeated the experiments in triplicate.

### *Bacterial growth and culture*

First, Mueller Hinton agar (MH agar) was used to grow the bacterial cultures (*S. mutans* and *S. aureus*), and in the case of *E. faecalis*, Enterococcus Selective Agar was used. An aliquot from -80 °C was processed and inoculated in



a 6 cm autoclaved agar petri plate and placed in a 37 °C incubator overnight to obtain a young culture of each strain.

MH liquid broth (100 mL) was prepared, 15 mL of broth medium was added to a 50 mL falcon tube, and three to five bacterial colonies were selected from the young culture of each bacterium. The Falcon tubes containing bacteria were shaken overnight and incubated at a constant temperature of 37 °C (overnight from 16 to 18 h). The overnight culture was adjusted to a 0.5-McFarland scale for each bacterium. The working solution was prepared at a dilution factor of 1:1000 to obtain a final working solution of  $1 \times 10^4$  CFU/mL.

In a 96-well microplate, the nanodispersion solution was used at different concentrations (100, 75, 50, 25, 12.5 & 6.25 µg/ml), with 100 µL of culture added along with positive and negative controls. The plates were then incubated at 37 °C for 24 h under agitation.

After 24 h of incubation, bacterial inhibition was evaluated using an MTT reagent, which was dissolved in MH broth and studied at 570 nm. The protocol is described in the cytotoxicity assay section.

### *Fungal growth and culture*

Sabouraud Dextrose agar (SD agar) was made for *C. albicans* fungal culture. The whole process is very similar to bacterial culture; RPMI (Roswell Park Memorial Institute) medium 1640 was used instead. After 24 h, the 2, 3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2 H-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT) assay was carried out as described below.

### *XTT assay*

The XTT solution was prepared as follows. Solution A (10 mg) was weighed and dissolved in 10 mL of RPMI medium 1640. Solution B: Phenazine methosulfate (PMS, 3 mg) was weighed and added to 1 mL of PBS. Mix 10 µL of solution B with 4 mL of solution A in a sterile tube and shaken for 30-60 seconds until a homogeneous solution is formed. Then, 100 µL of XTT solution was added to each well, and the microplate was incubated for 3 h at 37 °C. The absorbance was measured using a spectrophotometer at a wavelength of 510 nm.

## **Cell culture & cytotoxicity assay**

### *SCAPs cells subculture process*

Stem cells from the human dental apical papilla (SCAPs) were sub-cultured in a culture dish at a density of  $8 \times 10^5$ , which was counted using a Neubauer counter under a light microscope until the SCAPs cells reached a confluence greater than 80%. Subsequently, the culture medium was removed from the 3 cm dish and washed three times with 0.5 mL of PBS (phosphate buffer solution); 0.05% EDTA-2Na was added and incubated for 5 min at 37 °C, 95%

humidity, and 5% CO<sub>2</sub>. The cells were then transferred to a new culture dish, and 2 mL of supplemented MEM culture medium was added. The cells were then detached using trypsin and the cell number was adjusted to the desired concentration. Finally, 100 µL of the medium containing the cells was placed in a 96-well plate and incubated for 24 h to allow the culture to be well established for inoculation with TiO<sub>2</sub> NPs.

### *Inoculation of NPs with SCAPs*

Fresh medium (100 µL) was placed in a 96-well cell culture microplate, and 100 µL of known concentrations of the nanodispersion (0.5, 1.5, 10, 20, 30, 40, 50, and 100 µg/mL) was added to the wells in triplicate. The positive control (only cells) and two negative controls, such as CHx (chlorhexidine digluconate, 2%) and HOCl without NPs were considered. The microplate was then incubated at 37 °C with 5% CO<sub>2</sub> and 95% relative humidity for 24 h.

### *Cytotoxicity assay*

After the indicated time, the relative number of viable cells was determined using the MTT assay [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] by preparing 0.2 mg/mL of stock solution dissolved in culture medium. 100 µL solution (0.2 mg/mL) was added to each well and incubated for 3 h at 37 °C with 5% CO<sub>2</sub> and 95% relative humidity. After 3 h, 100 µL of DMSO was added to dissolve the formazan crystals, which were analyzed using a spectrophotometer at a wavelength of 570 nm.

### *Data analysis & plotting*

All experiments were performed in triplicate, that is, three independent experiments (n = 9). All graphs were plotted using Origin software, 2018 SR1.

## **Results**

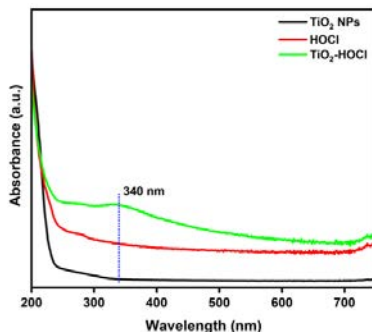
### *Optical study: UV-Vis spectroscopy*

UV-Vis analysis is a widely used technique as it provides a non-invasive and rapid evaluation in real time of the size, concentration, and state of NPs aggregation through absorption. UV-Vis analysis was used to evaluate the nanodispersion of TiO<sub>2</sub> NPs in HOCl, as shown in figure 1. The image shows the optical characterization of HOCl, TiO<sub>2</sub> NPs, and the nanodispersion. It can be seen that TiO<sub>2</sub> NPs have an absorbance in the entire visible region (400-700 nm) and HOCl has a slight absorption at 285 nm; however, when HOCl is added to the NPs, it forms a peak at 340 nm, which refers to the hypochlorite ion (ClO<sup>-</sup>), due to the photolysis of chlorine (Kishimoto 2019).

### *Structural characterization: SEM*

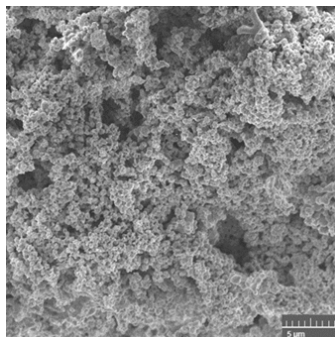
For structural realization, SEM microscopy was used, in which a high-energy electron beam is used that generates a variety of signals within the surface



**FIGURE 1.** Depicts the optical absorption of the TiO<sub>2</sub> NPs, HOCl, and nanodispersions.

Source: Author's elaboration.

of samples that are to be analyzed, in which the signals are derived from the sample-electron interactions that represent the information about the sample that includes the external morphology, such as the chemical composition, crystalline structure, and orientation of the materials that make up the sample. Figure 2 depicts detailed images of the surfaces of NPs, where the NPs have a size of 10-15 nm with negligible aggregation of a spherical morphology.

**FIGURE 2.** SEM analysis of TiO<sub>2</sub> NPs synthesized by the sol-gel method. The particles were nearly spherical in shape with minor aggregation.

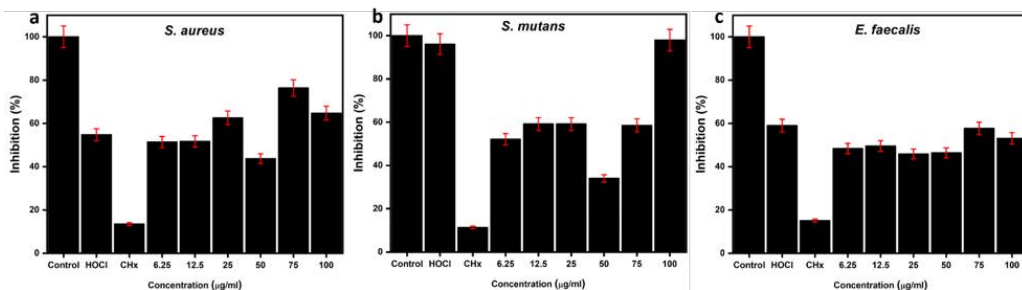
Source: Author's elaboration.

### *Microdilution assay for antibacterial study: MTT assay*

To determine the antibacterial property of the TiO<sub>2</sub>-HOCl nanodispersion, it was incubated with three different bacterial species and evaluated using an MTT test that was carried out for a period of 24 h. The existence of metabolically active bacteria was verified by measuring the optical density at 570 nm for *S. aureus*, *S. mutans* and *E. faecalis*. Figure 3 (a, b, & c) shows the results for *S. mutans*, *S. aureus*, and *E. faecalis*, respectively. The obtained re-

sults demonstrated the significant impact of nanodispersion by inhibiting bacterial growth. However, most interestingly, each bacterial inhibition response towards the nanodispersion was different. For instance, in the case of *S. aureus* and *S. mutans*, the effect was dose-dependent as the concentration increased, and growth was not affected. In the case of *E. faecalis*, we observed more than 50% inhibition at all concentrations.

**FIGURE 3.** Antibacterial effect of nanodispersion: a. *S. aureus*; b. *S. mutans*, and, c. *E. faecalis*. (Concentration refers to the nanodispersion solution).

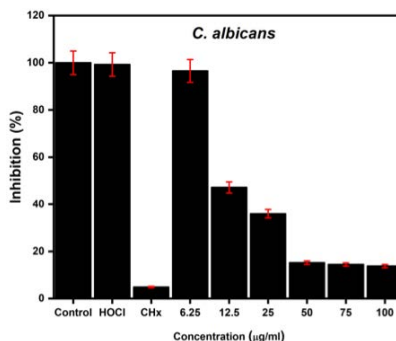


Source: Author's elaboration.

#### Microdilution assay for antifungal study: XTT assay

The antifungal effect against *C. albicans* was studied, and the XTT test was carried out after 24 h to determine whether there were metabolically active fungi after incubation with the NPs. The readings were recorded at an optical density of 510 nm. Figure 4, where the results of the assay are observed, shows very similar results when acting against the fungi. For fungi, nanodispersion enhanced inhibition in a dose-dependent manner. More than 90% of the growth was inhibited within 24 h.

**FIGURE 4.** Antifungal effect of the nanodispersion on *C. albicans*. (Concentration refers to the nanodispersion solution).



Source: Author's elaboration.

**TABLE 1.** The percentage inhibition of the antimicrobial effect for each microorganism was evaluated using nanodispersion.

Nanodispersion concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	Microbial inhibition (%)			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>
100	64 $\pm$ 15.07	78 $\pm$ 14.4	53 $\pm$ 8.12	13 $\pm$ 2.5
75	76 $\pm$ 9.6	53 $\pm$ 17.9	57.71 $\pm$ 10.14	14 $\pm$ 1.4
50	43 $\pm$ 21.4	30 $\pm$ 16.8	46 $\pm$ 13.6	15 $\pm$ 2.9
25	62 $\pm$ 10.4	32 $\pm$ 12.5	45 $\pm$ 9.9	35 $\pm$ 9.8
12.5	51 $\pm$ 10.9	53 $\pm$ 24	49 $\pm$ 5.2	47 $\pm$ 10.07
6.25	51 $\pm$ 11.6	47 $\pm$ 3.6	48 $\pm$ 3.2	96 $\pm$ 7.5

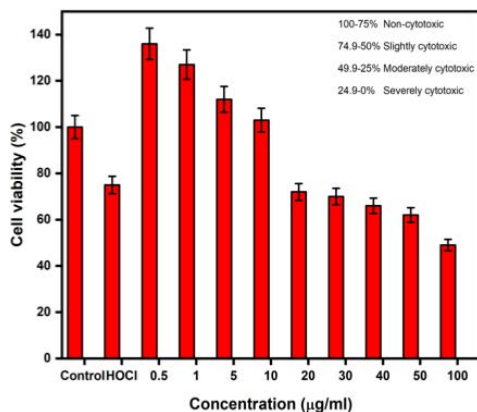
Source: Author's elaboration.

The numerical data from table 1 show clear evidence of the inhibitory effect of nanodispersion, which is enhanced in the case of fungal species.

### Cytotoxicity assay

The cytotoxicity of the nanodispersion was evaluated using the MTT assay following the established protocol. In this assay, we observed two important factors: 1. At very low concentrations (0.5 - 10  $\mu\text{g/mL}$ ), an increase in cells was observed, that is, cell proliferation was superior to that of the positive control within 24 h. 2. When increasing the concentration, a slight dose-dependent cytotoxicity was observed, but at all concentrations (0.5 - 100  $\mu\text{g/mL}$ ), more than 50% cell viability was observed, as shown in figure 5. From table 2, it can be seen that the toxicity of  $\text{TiO}_2$  NPs is size-, synthesis-, dosage-, and cell-dependent.

**FIGURE 5.** Cytotoxic effects of the  $\text{TiO}_2$ -HOCl nanodispersion on SCAPs cells.



Source: Author's elaboration.

**TABLE 2.** TiO<sub>2</sub> NP-based cytotoxic effects of different cell lines and their concentrations.

Author & year	Synthesis methodology	Size (nm)	Cell line	Cytotoxicity level (L, M & H)
Brandão <i>et al.</i> (2020)	Sol-gel	25	Lung cells (A549) Liver cells (HepG2) Glial cells (A172) Neurons (SH-SY5Y)	L
Madhubala <i>et al.</i> (2019)		30	Human monocytic leukemia cell (THP-1) Human mast cell (HMC-1)	L: 1 - 10 µg/ml M: 20 - 50 µg/ml
Wang <i>et al.</i> (2022)		18-24	Lung epithelial cells (A549)	L
Wang <i>et al.</i> (2022)		100	Corneal endothelial cells	H
Prokopiuk <i>et al.</i> (2023)	Hydrolysis	5	Primary fibroblast cultures	L

Obs.: Low-L; moderate-M; high-H.  
 Source: Author's elaboration.

## Discussion

In the present study, we evaluated the antimicrobial and cytotoxic effects of TiO<sub>2</sub>-HOCl nanodispersions. Currently, there is not enough scientific evidence of a nanodispersion that combines HOCl with TiO<sub>2</sub> NPs with the characteristics evaluated in this study. The discussion of this study is as follows:

- **Reactive oxygen species (ROS) production:**

One of the major characteristics of both TiO<sub>2</sub> NPs and HOCl is their antimicrobial action mechanism. Leung *et al.*, explain that TiO<sub>2</sub> NPs exhibit a high oxidative potential, leading to the production of ROS and affecting bacterial cells by different mechanisms, leading to their death (Leung *et al.*, 2016). Priyanka *et al.* also explained that the generation of ROS has a greater advantage when things are at the nanoscale level because its nanometric nature implies a significant increase in the surface area/volume ratio, which provides maximum contact with water and oxygen in the environment. As nanomaterials can easily penetrate the cell wall, which is the first defense barrier against oxidative damage, they are first affected by ROS and later by the cell membrane, which allows an increase in intracellular oxidation. It was verified in the bacterial MTT and antifungal XTT experiments that the experimental TiO<sub>2</sub> NPs managed to have a greater effect, due to their size and less aggregation, which allows it to easily penetrate the cell wall and with the synergistic effect of HOCl, which also has the ability to release ROS, intensifies the possibilities affecting the cell wall on a larger scale, thereby disrupting nucleic acids, proteins, and synthesis (Priyanka *et al.*, 2016).

- **Microbial cell membrane damage:**

In contrast, Maher *et al.* (2023) demonstrated that HOCl is capable of penetrating bacterial cell membranes, leading to intracellular damage and cell death, is effective at low concentrations, has a short contact time, and is effective against a variety of bacteria, including resistant strains as well as fungal pathogens. From our experiment, the nanodispersion of TiO<sub>2</sub>-HOCl, an inhibitory effect was observed with the strains of *S. aureus*, *E. faecalis*, and *S. mutans*, but was more evident with *C. albicans*, since they are the most common pathogens in the oral cavity. In addition, at very low concentrations, we observed excellent antibacterial and antifungal effects that were not cytotoxic using the MTT assay with a certain rate of SCAPs proliferation.

In a study by Argueta-Figueroa *et al.*, (2018) TiO<sub>2</sub> NPs at low and intermediate concentrations were not cytotoxic against some of the cell lines derived from the oral cavity. It has also been considered by several researchers that TiO<sub>2</sub> NPs can act as a potential candidate to stimulate cell proliferation. Thus, they are currently used in bone and dental implant coatings in dentistry.

- **Non-cytotoxic effect:**

Therefore, we verified the biocompatibility of the nanodispersion using an MTT assay by incubating the cells for 24 h. This confirmed that TiO<sub>2</sub>-HOCl was non-cytotoxic at low and intermediate concentrations. Another study by Sismanoglu *et al.* compared the effects of various endodontic irrigants, such as chlorhexidine and sodium hypochlorite, on dental mesenchymal stem cells. As a result, HOCl was demonstrated to have greater viability, which was verified by the TiO<sub>2</sub>-HOCl nanodispersion cytotoxicity assay, providing guidelines for its use as an irrigant in endodontics (Argueta-Figueroa *et al.*, 2018; Sismanoglu & Ercal, 2022).

- **Synergistic effect:**

Thus, from our study, it is very clear that the synergistic antimicrobial effect of TiO<sub>2</sub>-HOCl nanodispersion can be potentially used in the field of dentistry.

## Conclusions

Summing up, the nanodispersion of the experimental TiO<sub>2</sub> NPs with HOCl exhibited high stability and enhanced antimicrobial effects. Characterization analysis confirmed that the effect was due to the NPs size that allowed the release of ions and the synergistic effect of HOCl. Thus, experimental NPs against the pathogens were confirmed by a microdilution assay and evaluated using bacterial MTT and fungal XTT assays. The cytotoxicity assay showed negligible toxicity in SCAPs cells exposed to a nanodispersion concentration of 100 µg/mL. At lower concentrations, a significant finding was observed in the proliferation of cells that exceeded that of the positive control.

Therefore, based on this investigation suggest that TiO<sub>2</sub> NPs can enhance the antibacterial and antifungal activity of a non-antibiotic antimicrobial agent, such as HOCl, through nanodispersion and can be used as a promising antimicrobial agent in the treatment of various dental pathogens. Thus, non-toxic nanodispersion can be used as an effective alternative because it does not cause antimicrobial resistance, similar to other antibiotics or antimicrobial agents for dental use.

## References

- Alvarracin-Baculima, M., Cuenca-León, K., & Pacheco-Quito, E. M. (2021). Nanopartículas antimicrobianas en odontología: estado del arte. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 40(8): 839-847. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.5791388>.
- Argueta-Figueroa, L., Torres-Gómez, N., Scougall-Vilchis, R. J., & García-Contreras, R. (2018). Biocompatibility and nanotoxicology of titanium dioxide in the oral cavity: systematic review. *Investigación Clínica (Venezuela)*, 59(4): 352-368. <https://doi.org/10.22209/IC.v59n4a06>.
- Besinis, A., De Peralta, T., & Handy, R. D. (2014). The antibacterial effects of silver, titanium dioxide and silica dioxide nanoparticles compared to the dental disinfectant chlorhexidine on *Streptococcus mutans* using a suite of bioassays. *Nanotoxicology*, 8(1): 1-16. <https://doi.org/10.3109/17435390.2012.742935>.
- Bianchi, S., Fantozzi, G., Bernardi, S., Antonouli, S., Adelaide Continenza, M., & Macchiarelli, G. (2020). Commercial oral hygiene products and implant collar surfaces: scanning electron microscopy observations. *Canadian Journal of Dental Hygiene*, 54(1), 26. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7533810/>.
- Block, M. S., & Rowan, B. G. (2020). Hypochlorous acid: a review. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 78(9): 1461-1466. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2020.06.029>.
- Brandão, F., Fernández-Bertólez, N., Rosário, F., Bessa, M. J., Fraga, S., Pásaro, E., Teixeira, J. P., Laffon, B., Valdíglesias, V., & Costa, C. (2020). Genotoxicity of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in four different human cell lines (A549, HEPG2, A172 and SH-SY5Y). *Nanomaterials*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/nano10030412>.
- Büyükkunal, S. K., Muratoglu, K., & Koluman, A. (2022). The *in vitro* effect of hypochlorous acid-metal nanoparticles combination on Salmonella under different temperature conditions. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 46(3): 439-444. <https://doi.org/10.55730/1300-0128.4214>.
- Castillo, D. M., Castillo, Y., Delgadillo, N. A., Neuta, Y., Jola, J., Calderón, J. L., & Lafaurie, G. I. (2015). Viability and effects on bacterial proteins by oral rinses with hypochlorous acid as active ingredient. *Brazilian Dental Journal*, 26(5): 519-524. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201300388>.
- Choi, J. Y., Chung, C. J., Oh, K. T., Choi, Y. J., & Kim, K. H. K. (2009). Photocatalytic antibacterial effect of TiO<sub>2</sub> film of TiAg on *Streptococcus mutans*. *Angle Orthodontist*, 79(3): 528-532. <https://doi.org/10.2319/012108-169.1>.



- Ch-Th, T., Manisekaran, R., Santoyo-Salazar, J., Schoefs, B., Velumani, S., Castaneda, H., & Jantrania, A. (2021). Graphene oxide decorated TiO<sub>2</sub> and BiVO<sub>4</sub> nanocatalysts for enhanced visible-light-driven photocatalytic bacterial inactivation. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 418: 113374. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2021.113374>.
- Dicastillo, C. L. de, Correa, M. G., Martínez, F. B., Streitt, C., & Galotto, M. J. (2020). Antimicrobial effect of titanium dioxide nanoparticles. *Antimicrobial Resistance – A One Health Perspective*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.90891>.
- Eslami, N., Fasihi, F., Jamalinasab, A., & Ahrari, F. (2021). Biocompatibility of several colloidal solutions containing nanoparticles on human gingival fibroblasts. *Dental Research Journal*, 18(1). <https://doi.org/10.4103/1735-3327.310037>.
- Foong, L. K., Foroughi, M. M., Mirhosseini, A. F., Safaei, M., Jahani, S., Mostafavi, M., Ebrahimpoor, N., Sharifi, M., Varma, R. S., & Khatami, M. (2020). Applications of nano-materials in diverse dentistry regimes. *RSC Advances*, 10(26): 15430-15460. Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/d0ra00762e>.
- Giti, R., Firouzmandi, M., Zare Khafri, N., & Ansarifard, E. (2022). Influence of different concentrations of titanium dioxide and copper oxide nanoparticles on water sorption and solubility of heat-cured PMMA denture base resin. *Clinical and Experimental Dental Research*, 8(1), 287-293. <https://doi.org/10.1002/cre2.527>.
- Huang, Y. Y., Choi, H., Kushida, Y., Bhayana, B., Wang, Y., & Hamblin, M. R. (2016). Broad-spectrum antimicrobial effects of photocatalysis using titanium dioxide nanoparticles are strongly potentiated by addition of potassium iodide. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(9): 5445-5453. <https://doi.org/10.1128/AAC.00980-16>.
- Jana, N. R. (2019). Colloidal nanoparticles: functionalization for biomedical applications. *Colloidal Nanoparticles*. <https://doi.org/10.1201/9780429165603>.
- Kaladhar Reddy, Kambalyal, P. B., Shanmugasundaram, K., Rajesh, V., Donthula, S., & Patil, S. R. (2018). *Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of silver, titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles against streptococcus mutans*. 18(1). <https://doi.org/10.4034/PBOCI.2018.181.88>.
- Khan, S. U. M., Al-Shahry, M., & Ingler, W. B. (2002). Efficient photochemical water splitting by a chemically modified n-TiO<sub>2</sub>. *Science*, 297(5590): 2243-2245. <https://doi.org/10.1126/science.1075035>
- Kishimoto, N. (2019). State of the art of UV/chlorine advanced oxidation processes: their mechanism, by products formation, process variation, and applications. *Journal of Water and Environment Technology*, 17(5):302-335. Japan Society on Water Environment. <https://doi.org/10.2965/jwet.19-021>.
- Kochan, O., Boitsaniuk, S., Levkiv, M., Przystupa, K., Manashchuk, N., Pohoretska, K., Chornij, N., Tsyvntarna, I., & Patskan, L. (2022). Emergence of nano-dentistry as a reality of contemporary dentistry. *Applied Sciences (Switzerland)*, 12(4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/app12042008>.
- Kuwabara, M., Sato, Y., Ishihara, M., Takayama, T., Nakamura, S., Fukuda, K., Murakami, K., Yokoe, H., & Kiyosawa, T. (2020). Healing of *Pseudomonas aeruginosa*

- sa-infected wounds in diabetic db/db mice by weakly acidic hypochlorous acid cleansing and silver nanoparticle/chitin-nanofiber sheet covering. *Wound Medicine*, 28. <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2020.100183>.
- Lafaurie, G. I., Zaror, C., Díaz-Báez, D., Castillo, D. M., De Ávila, J., Trujillo, T. G., & Calderón-Mendoza, J. (2018). Evaluation of substantivity of hypochlorous acid as an antiplaque agent: a randomized controlled trial. *International Journal of Dental Hygiene*, 16(4): 527-534. <https://doi.org/10.1111/idh.12342>.
- Leung, Y. H., Xu, X., Ma, A. P. Y., Liu, F., Ng, A. M. C., Shen, Z., Gethings, L. A., Guo, M. Y., Djurišić, A. B., Lee, P. K. H., Lee, H. K., Chan, W. K., & Leung, F. C. C. (2016). Toxicity of ZnO and TiO<sub>2</sub> to *Escherichia coli* cells. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep35243>.
- Madhubala, V., Pugazhendhi, A., & Thirunavukarasu, K. (2019). Cytotoxic and immunomodulatory effects of the low concentration of titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub> NPs) on human cell lines – An *in vitro* study. *Process Biochemistry*, 86: 186-195. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.08.004>.
- Maher, M. A. (2023). Hypochlorous acid has emerged as a potential alternative to conventional antibiotics due to its broad-spectrum antimicrobial activity. *International Journal of Clinical Microbiology and Biochemical Technology*, 6(1): 001–004. <https://doi.org/10.29328/journal.ijcmbt.1001026>.
- Moaddabi, A., Soltani, P., Rengo, C., Molaei, S., Mousavi, S. J., Mehdizadeh, M., & Spagnuolo, G. (2022). Comparison of antimicrobial and wound-healing effects of silver nanoparticle and chlorhexidine mouthwashes: an *in vivo* study in rabbits. *Odontology*, 110(3): 577-583. <https://doi.org/10.1007/S10266-022-00690-Z>
- Nizami, M. Z. I., Xu, V. W., Yin, I. X., Yu, O. Y., & Chu, C. H. (2021). Metal and metal oxide nanoparticles in caries prevention: a review. *Nanomaterials*, 11(12). MDPI. <https://doi.org/10.3390/nano11123446>.
- Panpaliya, N. P., Dahake, P. T., Kale, Y. J., Dadpe, M. V., Kendre, S. B., Siddiqi, A. G., & Maggavi, U. R. (2019). *In vitro* evaluation of antimicrobial property of silver nanoparticles and chlorhexidine against five different oral pathogenic bacteria. *The Saudi Dental Journal*, 31(1): 7683. <https://doi.org/10.1016/J.SDENTJ.2018.10.004>.
- Priyanka, K. P., Sukirtha, T. H., Balakrishna, K. M., & Varghese, T. (2016). Microbicidal activity of TiO<sub>2</sub> nanoparticles synthesised by sol-gel method. *IET Nanobiotechnology*, 10(2): 81-86. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2015.0038>
- Prokopiuk, V., Yefimova, S., Onishchenko, A., Kapustnik, V., Myasoedov, V., Maksimchuk, P., Butov, D., Bepalova, I., & Tkachenko, A. (2023). Assessing the cytotoxicity of TiO<sub>2</sub>-x nanoparticles with a different Ti<sup>3+</sup>(Ti<sup>2+</sup>)/Ti<sup>4+</sup> ratio. *Biological Trace Element Research*, 201(6): 3117-3130. <https://doi.org/10.1007/s12011-022-03403-3>.
- Shirkavad, S., & Moslehi-fard, E. (2014). Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on tensile strength of dental acrylic resins. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 8(4): 197-203. <https://doi.org/10.5681/joddd.2014.036>.
- Sismanoglu, S., & Ercal, P. (2022). The cytotoxic effects of various endodontic irrigants on the viability of dental mesenchymal stem cells. *Australian Endodontic*

- Journal: The Journal of the Australian Society of Endodontology Inc*, 48(2): 305-312. <https://doi.org/10.1111/AEJ.12570>.
- Tazawa, K., Jadhav, R., Azuma, M. M., Fenno, J. C., McDonald, N. J., & Sasaki, H. (2023). Hypochlorous acid inactivates oral pathogens and a SARS-CoV-2-surrogate. *BMC Oral Health*, 23(1): 111. <https://doi.org/10.1186/s12903-023-02820-7>.
- Vatanserver, F., de Melo, W. C. M. A., Avci, P., Vecchio, D., Sadasivam, M., Gupta, A., Chandran, R., Karimi, M., Parizotto, N. A., Yin, R., Tegos, G. P., & Hamblin, M. R. (2013). Antimicrobial strategies centered around reactive oxygen species - bactericidal antibiotics, photodynamic therapy, and beyond. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(6): 955-989. Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12026>.
- Wang, M., Li, J., Zhang, S., You, Y., Zhu, X., Xiang, H., Yan, L., Zhao, F., & Li, Y. (2022). Effects of titanium dioxide nanoparticles on cell growth and migration of A549 cells under simulated microgravity. *Nanomaterials*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/nano12111879>.
- Wang, W., Gu, J., Peng, G., Li, J., Meichen, W., Kai, J., & Niu, L. (2020). *Progress in the application of metal and metal oxide nanoparticles in the antibacterial modification of dental materials*, 28(8). <https://doi.org/10.12016/j.issn.2096.1456.2020.08.012>.
- Yang, J., Liu, J., Wang, P., Sun, J., Lv, X., & Diao, Y. (2021). Toxic effect of titanium dioxide nanoparticles on corneas *in vitro* and *in vivo*. *Aging*, 13(4): 5020-5033. <https://doi.org/10.18632/aging.202412>.
- Zhu, Y., Zhang, L., Gao, C. *et al.* (2000). The synthesis of nanosized TiO<sub>2</sub> powder using a sol-gel method with TiCl<sub>4</sub> as a precursor. *Journal of Materials Science*, 35: 4049-4054. <https://doi.org/10.1023/A:1004882120249>.



# H<sub>2</sub>S removal at downhole conditions using iron oxide nanoparticles<sup>◇</sup>

## Remoción de H<sub>2</sub>S en condiciones de fondo de pozo empleando nanopartículas de óxido de hierro

Luis A. Meléndez Santana,<sup>\*†</sup> Julia T. Guerra Hernández,<sup>\*</sup> Claudio G. Olivera-Fuentes<sup>\*</sup>

**ABSTRACT:** The objective of the present work is the study of H<sub>2</sub>S removal from heavy oil, using iron oxide nanoparticles in a controlled environment that simulates the pressure and temperature conditions of a reservoir and the aqua-thermolysis process during enhanced oil recovery with steam injection. Since molecular diffusion of H<sub>2</sub>S plays an important role during the removal process, its measurement through experimental tests was also a major goal. The research divides into three stages: 1) preparation of nanoparticles; 2) diffusion tests, and, 3) H<sub>2</sub>S removal tests. The procedure for nanoparticle preparation from a microemulsion and a metal precursor salt was successful in yielding nanoparticle sizes less than 100 nm. The diffusion coefficient of H<sub>2</sub>S in heavy oil, measured in a stainless steel PVT cell, varied between  $8.3 \times 10^{-9}$  and  $8.9 \times 10^{-9}$  m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> over the range of test temperatures. Finally, over 65% of the H<sub>2</sub>S was removed when 500 ppm of nanoparticles were used.

**KEYWORDS:** iron oxide nanoparticles, preparation, H<sub>2</sub>S, diffusion, *in situ* removal, enhanced oil recovery (EOR).

**RESUMEN:** El objetivo del presente trabajo es el estudio de la remoción de H<sub>2</sub>S de crudos pesados empleando nanopartículas de óxido de hierro en un ambiente controlado que simula las condiciones de presión y temperatura de un yacimiento y el proceso de acuatermolisis durante la recuperación mejorada de petróleo con inyección de vapor. Dado que la difusión molecular del H<sub>2</sub>S tiene un rol importante en el proceso de remoción, su medición experimental fue también un objetivo principal. La investigación se desarrolló en tres etapas: 1) preparación de las nanopartículas; 2) ensayos de difusión, y, 3) ensayos de remoción de H<sub>2</sub>S. El protocolo de síntesis de las nanopartículas a partir de una microemulsión y una sal metálica precursora generó exitosamente nanopartículas de tamaños inferiores a 100 nm. El coeficiente de difusión del H<sub>2</sub>S en el crudo pesado, medido en una celda PVT de acero inoxidable, varió entre  $8.3 \times 10^{-9}$  y  $8.9 \times 10^{-9}$  m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> en el rango de temperaturas de las pruebas. Finalmente, más del 65% del H<sub>2</sub>S fue removido al usar 500 ppm de nanopartículas.

**PALABRAS CLAVE:** nanopartículas de óxido de hierro, síntesis, H<sub>2</sub>S, difusión, remoción *in situ*, recuperación mejorada de petróleo (EOR).

Received: August 2, 2022.

Accepted: November 17, 2023.

Published: January 22, 2024.

<sup>◇</sup> The authors are grateful to the Venezuelan Institute of Petroleum Technology (INTEVEP) for provision of the research facilities where the experimental stages of this work carried out. The leading author, Luis A. Meléndez Santana, acknowledges the constant support and encouragement of PhD Susana Martínez at INTEVEP.

<sup>\*</sup> Universidad Simón Bolívar, Departamento de Termodinámica y Fenómenos de Transferencia, Caracas, Venezuela.

<sup>†</sup> Correspondence author: luissantana123@gmail.com



## Introduction

Steam injection as an enhanced oil recovery (EOR) method for heavy and extra heavy oil involves several challenges. One of them is handling the  $H_2S$  produced by the rupture of C-S bonds at high temperatures and pressures (greater than 200 °C and 1000 psig) prevailing at the bottom of the well. This process, known as aqua-thermolysis (Husein *et al.*, 2010), generates  $H_2S$  and other pollutants such as  $CO_2$ , which poses risks to the health of workers, the environment, the facilities, and the surface equipment that transports the crude from the well to the separation and treatment units. The  $H_2S$  concentration can exceed 3,000 ppm, depending on the reservoir and the characteristics of the crude (Zhu *et al.*, 2010). In the specific case of developments in the Orinoco Oil Belt, Venezuela, this has prompted the development of previous  $H_2S$  production and management studies (Mi *et al.*, 2017).

The removal of  $H_2S$  has been extensively studied and there are mature technologies for treatment and conversion to elemental sulphur downstream of oil production. Reversible processes based on liquid sorbents use mainly mono-, di- and tri-ethanolamines (MEA, DEA, TEA), while non-reversible technologies based on solid sorbents employ metal oxides. The first developments in  $H_2S$  scavenging with metallic oxides were based on copper compounds added to water-based drilling muds, which caused the precipitation of  $H_2S$  as insoluble copper sulphide; however, their use is seriously limited by corrosion problems that they cause in ferrous materials. As an alternative, the use of zinc oxide and zinc carbonate also showed good performance over a wide pH range, but high zinc ion concentrations are required to achieve high removal efficiency, and this affects the rheological properties of the drilling mud, so its use is limited. Iron compounds such as magnetite and ferrous gluconate could offer better performance at low pH values (Amosa *et al.*, 2010).

Using iron oxide nanoparticles for *in situ*  $H_2S$  removal offers an alternative to mitigate  $H_2S$  production. The reaction process does not generate by-products, and, because of the large specific surface area of the nanoparticles, they can be used at low concentrations and there is no need to recover them (Martínez and Bastidas, 2017). Although zinc oxide in drilling fluids reacts faster than iron oxide, the latter yields higher amount of  $H_2S$  removed per unit mass, especially at lower pH values (Evers and Olson, 1983). However, since the rate of diffusion of  $H_2S$  in heavy oil is very low, a poor distribution of the iron oxide in the crude oil would decrease the probability of collisions between  $H_2S$  molecules and nanoparticles during oil production. For this reason, it is important to achieve good dispersion of the nanoparticles, to avoid possible limitations on the process efficiency because of the diffusion velocity of  $H_2S$  in the oil (Nassar *et al.*, 2010).

The present work involves assess the removal of  $H_2S$  in heavy crude oils by using iron oxide nanoparticles injected downhole. The  $H_2S$  reacts with

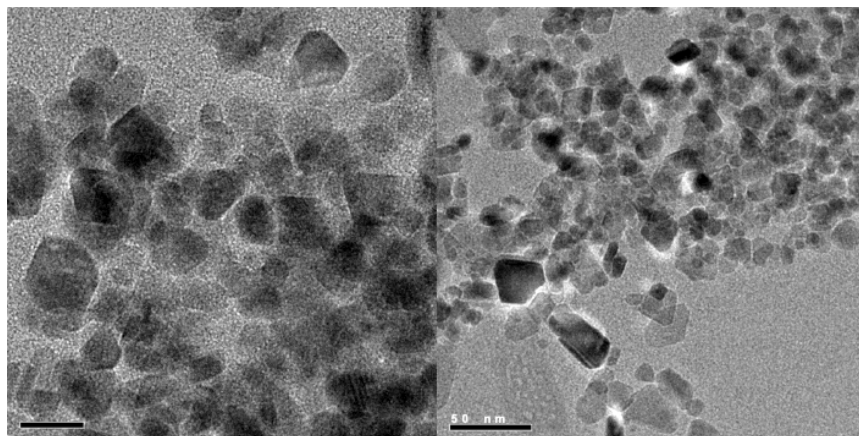
nanoparticles in such a way that they form stable compounds, which safely, during the entire process of transporting crude oil to the processing plants can handled.

## Preparation of nanoparticles

Nanoparticles were synthesised using a procedure described by Capek (2004) and Martínez & Bastidas (2017). A microemulsion was prepared in a batch reactor using a mixture of aromatic solvents, a metal precursor salt was added to it, and the reaction temperature was adjusted between 200 and 280 °C for 24 h. The nanoparticles obtained by this process had sizes less than 100 nm and were characterized by high-resolution transmission electron microscopy (HRTEM). Figure 1 shows an HRTEM image of the nanoparticle solution. Variable sizes below 20 nm were observed.

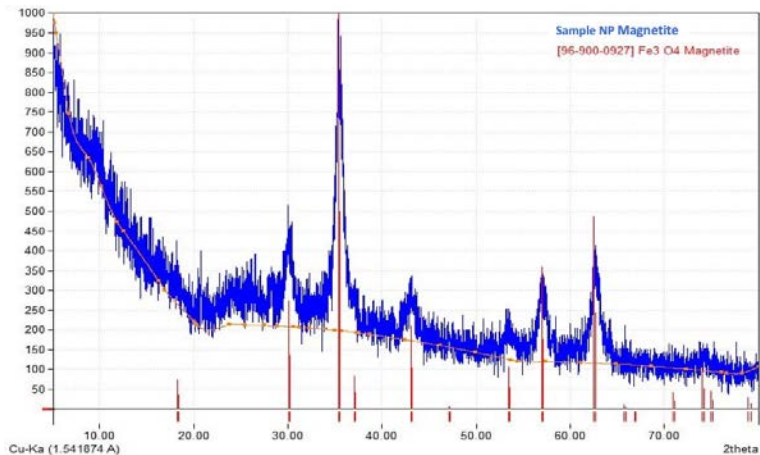
An X-ray diffraction analysis (XRD) was carried out to determine the crystallographic structure of the nanoparticles. The diffraction pattern obtained was compared with the database associated with the Match application in its free version (International Centre for Diffraction Data, 2023), which uses the ICDD database for XRD of powders, so that it was possible to corroborate the coincidence of the lines of highest intensity with the pattern reported with #96-900-0927 corresponding to a cubic Magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), the coincidence of lines was 100%, thus indicating that there is a pure phase of the solid (figure 2). The signal's low intensity and bandwidth indicate the presence of highly dispersed nanometric particles in the reaction medium. These results are consistent with the shown by HRTEM analysis where particle sizes between 20-50 nm were achieved (figure 1).

**FIGURE 1.** Transmission electron microscopy (MET AR) high resolution of nanoparticles.



Source: Author's elaboration.

FIGURE 2. Diffractogram DRX of nanoparticles sample.



Source: <https://www.crystalimpact.com/news/20231010a.htm>.

## Diffusion tests

A stainless steel PVT cell was manufactured with a height of 10 cm and an internal diameter of 4.5 cm. Pure H<sub>2</sub>S and 8.5°API heavy oil were used. The cell was placed in vertical position and tests were carried out at four different temperatures (40, 50, 60, and 70 °C). The temperature remained constant throughout the test.

The diffusion coefficient of the dissolved H<sub>2</sub>S was inferred by an indirect method proposed by Riazi (1996). This involved monitoring the pressure decrease of the gas, which depends on the rate of mass transfer across the gas-liquid interface. Assuming the validity of the penetration model for unsteady-state one-dimensional diffusion in a liquid region of finite constant depth, Fick's second law is written as:

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = D_{Am} \frac{\partial^2 c_A}{\partial z^2} \quad (1)$$

With initial and boundary conditions:

$$\begin{aligned} c_A &= 0 \quad @ \quad t = 0, \text{ all } z \\ c_A &= c_{A,sat} \quad @ \quad t > 0, z = z_0 \\ \frac{\partial c_A}{\partial z} &= 0 \quad @ \quad t > 0, z = 0 \end{aligned} \quad (2)$$

Where  $0 \leq z \leq z_0$  is the liquid height,  $c_A$  is the molar concentration of the dissolved gas,  $c_{A,sat}$  is its composition at saturation (solubility), and  $D_{Am}$  is its effective diffusivity in the liquid at the cell temperature  $T$  and pressure  $P$ .



In principle, the height  $z_0$  of the liquid phase could increase as the gas dissolves, because its total mass goes up and its density goes down (swelling effect). However, the solubility of  $H_2S$  in heavy crude oil is low, therefore this effect was considered negligible in the present case. The solution of Eq (1) subject to Eq (2) is well known, e.g. Crank (1975). Of particular interest is the composition gradient at the interface, given by

$$\left. \frac{\partial c_A}{\partial z} \right|_{z=z_0} = \frac{2c_{A,sat}}{z_0} \sum_{n=0}^{\infty} \exp \left[ - \left( \frac{(2n+1)\pi}{2z_0} \right)^2 D_{Am} t \right] \quad (3)$$

The pressure change in the gas phase follows from a molar balance (Zhang *et al.*, 2000) as

$$\frac{d}{dt} \left( \frac{PhA}{ZRT} \right) = -D_{Am} A \left. \frac{\partial c_A}{\partial z} \right|_{z=z_0} \rightarrow dP = - \frac{ZRT}{h} D_{Am} \left. \frac{\partial c_A}{\partial z} \right|_{z=z_0} dt \quad (4)$$

where  $h$  is the height of the gas space above the liquid,  $Z$  is the gas compressibility factor, and  $A$  is the cell cross-sectional area, all of which are taken to be constant. At sufficiently long times, the series in Eq (3) can be approximated by its leading term, and integration of Eq (4) from such large values of  $t$  up to infinity yields

$$\ln [P(t) - P_{sat}] = \ln \frac{8ZRTz_0c_{A,sat}}{\pi^2 h} - \frac{\pi^2 D_{Am}}{4z_0^2} t \quad (5)$$

Which has the form:  $f(t) = A + Bt$ .

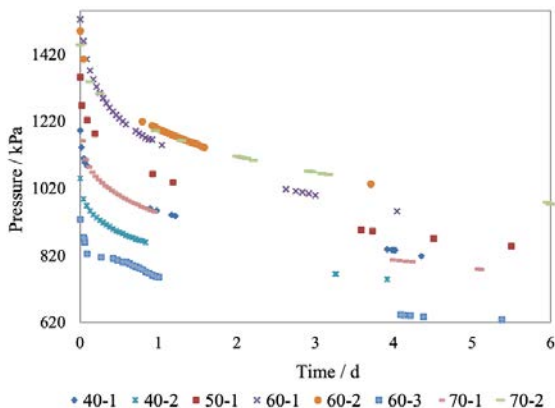
Given the liquid height  $z_0$  in the cell, the diffusion coefficient can thus be determined from the end slope of the line obtained by plotting the experimental pressure data against time according to Eq (5). No detailed knowledge of the parameters that make up the intercept  $A$  is necessary. The saturation pressure  $P_{sat}$  must be known, however, but this is the limiting pressure observed at equilibrium after appropriately long run times (4 days in the present work.) The slope of the curve is sensitive to small changes in the saturation pressure (Zhang *et al.*, 2000), so measurements should be replicated whenever possible.

Shown in figure 3 is the pressure behaviour *versus* time. Eight tests were carried out at 40, 50, 60, and 70 °C. Initially, when the gas and the oil come into contact, the pressure drops rapidly, about a quarter or a third of the overall change. This is known as the “incubation period”, and was observed during the first 30 to 60 min, time necessary for  $H_2S$  to dissolve at the gas/liquid interface, establish the boundary condition, and diffuse down to create the composition profile over the entire liquid depth. The slope of the curve described in Eq (5) should remain linear until  $H_2S$  reaches the opposite end of the PVT cell. The truncated form of Eq (3) cannot described the high curvature in these early stages, and is as well visible in the linearized coordinates of Eq (5), as shown in figure 4. Points in the incubation period were therefore omitted from the statistical analysis of the data. Pomeroy *et*

*al.* (1933) showed that this assumption is reasonable and introduces negligible uncertainties in the interpretation of the data.

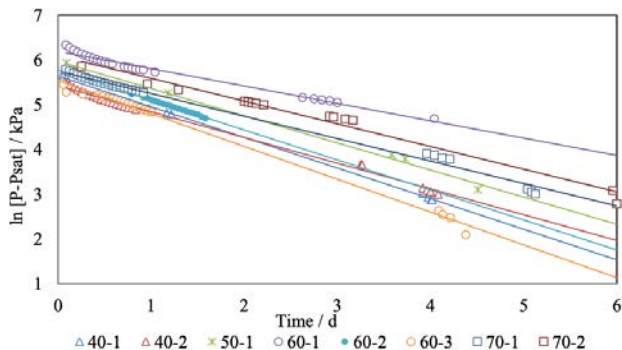
The data in the incubation period could possibly be analysed by an alternative “penetration” model, that treats the liquid phase as an infinitely deep pool, but this was unnecessary because the diffusivity of H<sub>2</sub>S in the crude oil could be obtained directly from the linear regression, as described in the literature cited and confirmed in our work. Least squares regression using the MATLAB® tool yielded linear fits with regression coefficients better than 0.980. The initial and final pressures, and the computed diffusion coefficients are listed in table 1. The pressure change was 426 kPa on average. Mean diffusivities vary between  $8.3 \times 10^{-9}$  and  $8.9 \times 10^{-9} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$  from 40 to 70 °C, with a low outlier from a single run at 50 °C. These values are consistent with those reported for the diffusivity of other gases in heavy oil fractions, e.g. CO<sub>2</sub> (Upreti and Mehrotra, 2000) and CO, CH<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>, N<sub>2</sub> (Upreti and Mehrotra, 2002).

**FIGURE 3.** Gas pressure as a function of time. Diffusion tests at 40, 50, 60 and 70 °C.



Source: Author's elaboration.

**FIGURE 4.** Linear fit of pressure data as a function of time (for 40, 50, 60 and 70 °C).



Source: Author's elaboration.

**TABLE 1.** H<sub>2</sub>S-oil diffusion coefficient as a function of temperature.

Test run	T / °C	P(t = 0) / kPa	P <sub>sat</sub> / Pka	10 <sup>9</sup> D <sub>Am</sub> / m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>	10 <sup>9</sup> D <sub>Am,ave</sub> / m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>
40-1 40-2	40	1192 1048	818 745	7.90 8.71	8.31
50-1	50	1351	848	7.35	7.35
60-1 60-2 60-3	60	1524 1489 927.3	952 1032 628.5	8.17 8.89 8.51	8.52
70-1 70-2	70	1162 1448	778 972	8.78 8.94	8.86

Source: Author's elaboration.

## H<sub>2</sub>S removal tests

Three stages make up the H<sub>2</sub>S mitigation test: 1) conditions for maximum H<sub>2</sub>S production; 2) optimal concentration of nanoparticles, and, 3) quantification of H<sub>2</sub>S removal.

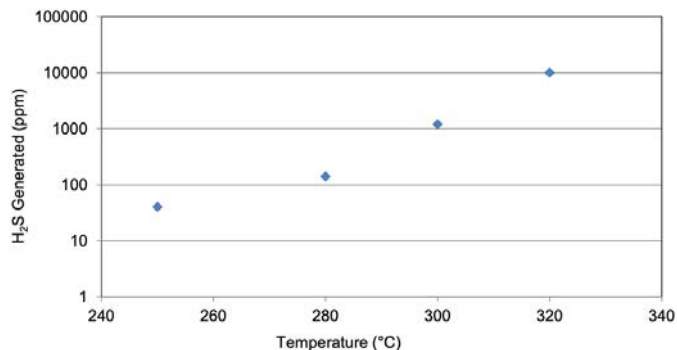
### Maximum H<sub>2</sub>S production

The main source of H<sub>2</sub>S production in EOR of oil fields is thermochemical sulphate reduction (TSR) at the high temperatures reached. The amount of H<sub>2</sub>S generated depends on the oil contents of sulphur compounds, injection temperature, and rock composition and physicochemical properties (Mi *et al.*, 2017). Tests were carried out in four autoclaves of 600 mL internal volume, each charged with 90 g of heavy oil, 10 g of water and 150 psig (1136 kPa) of 99.9 vol% methane. They heated up to 250, 280, 300, and 320 °C, respectively, and kept isothermal during a reaction time of 15 h, after which gas samples were drawn and analysed for H<sub>2</sub>S concentration. A considerable increase in H<sub>2</sub>S evolution was detected, from less than 100 ppm at 280 °C to 1200 ppm at 300 °C, and slightly above 10,000 ppm at 320 °C (figure 5). These values are consistent with previous reports by Mi *et al.* (2017) for the same crude, and may serve as a guideline for setting the steam injection temperature in an EOR process if excessive downhole H<sub>2</sub>S production avoided.

### Optimal nanoparticle concentration

In order to determine the optimal concentration of nanoparticles, four autoclaves of 600 mL internal volume were each charged with 90 g heavy oil, 10 g water, 150 psig (1136 kPa) of 99.9 vol% methane, and zero (control blank), 250, 500 and 1000 ppm of nanoparticles, respectively. All tests carried out in duplicate, and, once completed, gas samples for total sulphur analysis using the ASTM D2622 standard were drawn. The gas chromatographic analysis followed the UOP 539-12 standard, and H<sub>2</sub>S concentration was measured using sulphide colorimetric detector tubes. The reacted nanoparticles were extrac-

FIGURE 5. H<sub>2</sub>S generated at different temperatures (reaction time 15 hours).

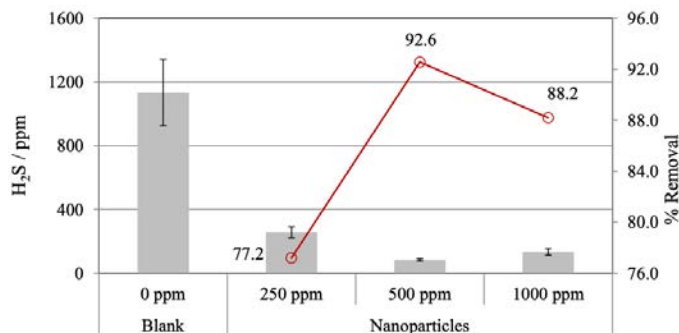


Source: Author's elaboration.

ted by washing with toluene and subjected to centrifugation to be analysed by electron microscopy.

Figure 6 shows the production of H<sub>2</sub>S for the four samples and the percentages of gas removed, which were 77.2, 92.6 and 88.2 % for the respective samples containing 250, 500 and 1000 ppm of iron oxide nanoparticles. Although this last result is not conclusive, due to the few tests carried out, an agglomeration of the nanoparticles may have occurred at the higher concentration, thereby decreasing the contact area and, consequently, the removal of H<sub>2</sub>S. On the basis of these results, it was decided to use only 500 ppm of nanoparticles in the subsequent removal tests, to be performed at 300 °C with reaction times up to 160 h.

FIGURE 6. H<sub>2</sub>S production and percent removal for different concentrations of nanoparticles.

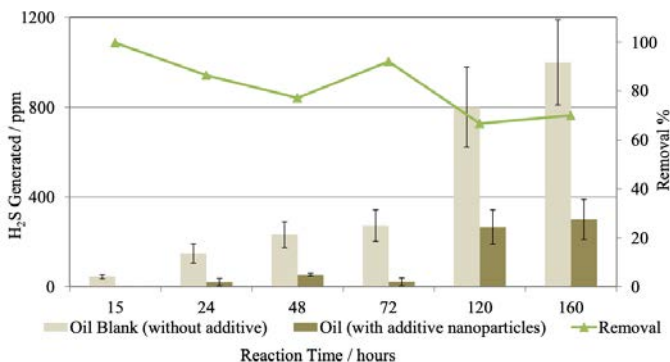


Source: Author's elaboration.

### H<sub>2</sub>S removal

Figure 7 exhibits the H<sub>2</sub>S generated with nanoparticles (“additive”) and without them. The H<sub>2</sub>S generated without additive increased from 40 to 1000 ppm for reaction times from 15 to 160 h. In the same way, the removal rate with addi-

FIGURE 7. Generation and percent removal of H<sub>2</sub>S as a function of reaction time.



Source: Author's elaboration.

tive, the decrease from 99.8 % to about 70 %, with some dispersion, but in any case, exceeding 65 %.

When chromatographic analysis of the reaction gases was made —tests at 15, 48 and 72 h—, the iron oxide additive works not only as an agent for removing H<sub>2</sub>S molecules, but also promotes the production of light compounds. Composites such as propane, propylene, butane, pentane and hydrogen, which indicates that there was cracking of the oil samples and, possibly, an improvement in their viscosity (table 2).

Samples taken from the reacted oil and analysed for total sulphur contents, confirmed a reduction in sulphur percentage by comparison with the unreacted crude. As shown in figure 8, this decrease was greater for the blank samples than for those with additive, but this is just because the H<sub>2</sub>S generated during the aqua-thermolysis process diffuses into the oil, where it reacts with the iron oxide present to form stable iron sulphide species that are subsequently quantified in the total sulphur analysis.

Finally, the nanoparticles sampled and analysed by scanning electron microscopy (SEM), which showed particle sizes between 0.1 and 1 μm. Their elemental composition was determined by microanalysis using energy dispersion X-ray (EDX) spectroscopy. As expected, the unreacted nanoparticles were mostly composed of oxygen and iron, while the amount of sulphur in the reacted solid increased with time from 7.35 to 13.08 %, which confirms that H<sub>2</sub>S diffuses into the oil and reacts with the iron oxide nanoparticles (table 3).

## Conclusions

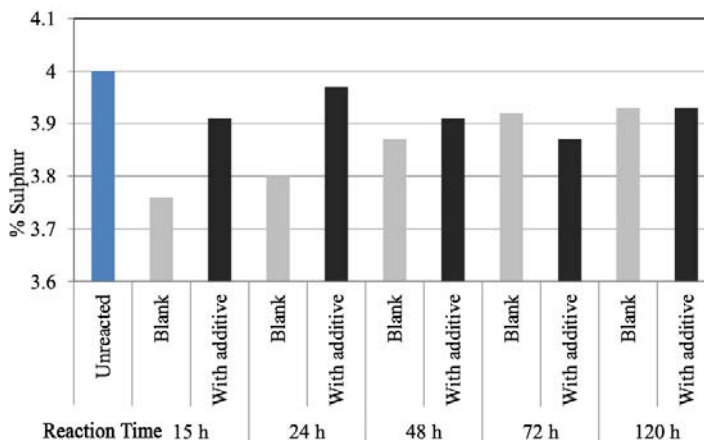
The use of iron oxide nanoparticles proved to be effective for *in situ* scavenging of H<sub>2</sub>S produced by aqua-thermolysis at simulated downhole conditions. At a concentration of 500 ppm, the nanoparticles yielded over 65% reduction of the H<sub>2</sub>S generated, with bonus formation of lighter compounds

TABLE 2. Chromatographic composition of reaction gas.

GAS	15 hours		48 hours		72 hours	
	Without nanoparticles	With nanoparticles	Without nanoparticles	With nanoparticles	Without nanoparticles	Without nanoparticles
C6+	0.0	0.024	0.0	0.0004	0.0	0.059
Methane	92.27	93.80	95.21	96.56	94.25	76.27
Ethane	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.65
Ethylene	0.0	0.045	0.0	0.00	0.0	0.0
Propane	0.0	0.294	0.0	0.009	0.0	3.71
Propylene	0.0	0.079	0.0	0.0	0.0	0.02
I-Butane	0.0	0.041	0.0	0.0	0.0	0.52
N-Butane	0.0	0.0	0.0	0.005	0.0	0.77
Propadiene	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Acetylene	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
TR2-Butene	0.0	0.012	0.0	0.0	0.0	0.005
1-Butene	0.0	0.022	0.0	0.0	0.0	0.0
I-Butene	0.0	0.046	0.0	0.0	0.0	0.0
CS-2-Butene	0.0	0.008	0.0	0.0	0.0	0.0
I-Pentane	0.0	0.033	0.0	0.0	0.0	0.18
N-Pentane	0.0	0.042	0.0	0.0	0.0	0.15
13-Butadiene	0.0	0.000	0.0	0.0	0.0	0.0
3-ME-1-Butene	0.0	0.000	0.0	0.0	0.0	0.0
TR-2-Pentene	0.0	0.000	0.0	0.0	0.0	0.0
2-ME-2-Butene	0.0	0.000	0.0	0.0	0.0	0.0
1-Pentene	0.0	0.008	0.0	0.0	0.0	0.0
2-ME-1-Butene	0.0	0.009	0.0	0.0	0.0	0.0
CS-Pentene	0.0	0.000	0.0	0.0	0.0	0.0
CO2	0.0	0.018	0.0	0.0	0.0	0.37
Oxygen/ar	2.63	2.053	0.39	2.08	0.34	1.93
Nitrogen	5.09	2.87	3.86	1.26	4.99	4.47
Hydrogen	0.00	0.60	0.54	0.09	0.42	3.91
<b>Total</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>

Source: Author's elaboration.

FIGURE 8. Total sulphur analysis of reacted oil samples.



Source: Author's elaboration.

**TABLE 3.** Microanalysis of nanoparticles by X-ray dispersion spectroscopy of energy (EDX).

Element	Nanoparticles without reaction		Reacted nanoparticles					
			48 hours		72 hours		120 hours	
	weight %	atomic %	weight %	atomic %	weight %	atomic %	weight %	atomic %
O	50.81	78.42	33.3	58.77	43.34	66.65	27.17	11.77
Na	0	0	3.91	4.81	6.76	7.24	9.3	11.84
Si	0	0	0.92	0.93	0	0	0	0
S	0	0	7.35	6.47	7.94	6.09	13.08	11.84
Cl	0	0	4.00	3.18	2.79	1.93	3.03	2.49
K	0	0	0.51	0.37	0.59	0.37	0	0
Ca	0	0	1.63	1.15	0		4.55	3.31
Cr	0	0	1.52	0.82	0.96	0.46	0	0
Fe	46.34	20.49	42.59	21.53	27.46	12.1	24.99	13.03
Ni	0	0	2.55	1.23	5.99	2.51	1.67	0.83
Zn	1.42	0.54	1.71	0.74	2.45	0.92	3.32	1.52
Cu	1.43	0.55	0	0	0	0	12.94	5.76
Mg	0	0	0	0	1.71	1.73	0	0

Source: Author's elaboration.

by cracking long hydrocarbon chains, as evidenced by the presence of alkenes and hydrogen, which may promote a reduction in oil viscosity. Higher concentrations were not used because they appeared to be less effective, possibly due to particle agglomeration, but might be practicable if good dispersion of the nanoparticles in the crude oil can be achieved in industrial practice. This may be desirable since the percent recovery tended to be lower at high rates of H<sub>2</sub>S production, which might indicate a limited capacity for reaction yield at the amount of nanoparticles used in this work. Steam injection temperatures in enhanced oil recovery (EOR) processes must not exceed 280 °C to avoid a high production of H<sub>2</sub>S.

As part of this study, the diffusion coefficient of H<sub>2</sub>S in crude oil was found to range from 8.3 × 10<sup>-9</sup> to 8.9 × 10<sup>-9</sup> m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> between 40 and 70 °C. To the best of our knowledge, these are the first reported values for the diffusivity of this gas in a heavy oil. Finally, as irrefutable proof, the analysis of electron microscopy confirms that H<sub>2</sub>S diffuses into the oil and reacts with the iron oxide nanoparticles, demonstrating their enormous potential to be used downhole during enhanced oil recovery (EOR).

## List of symbols

- A cell cross sectional area, m<sup>2</sup>
- c<sub>A</sub> dissolved gas concentration, mol/m<sup>3</sup>
- c<sub>A,sat</sub> gas solubility, mol/m<sup>3</sup>
- D<sub>Am</sub> diffusion coefficient, m<sup>2</sup>/s
- h height of gas space, m
- P pressure, kPa
- P<sub>sat</sub> saturation pressure, kPa
- R universal gas constant, (kPa.m<sup>3</sup>)/(mol.K)

$t$	time, s, h or d
$T$	temperature, K
$z$	vertical coordinate, m
$Z$	gas compressibility factor, -
$z_0$	height of liquid space, m

## References

- Amosa, M. K., Mohammed, I. A., Yaro, S. A. (2010). Sulphide scavengers in oil and gas industry – A review. *NAFTA (Zagreb)*, 61: 85-92.
- Capek, I. (2004). Preparation of metal nanoparticles in water-in-oil (w/o) micro-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 110: 49-74. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2004.02.003>.
- Crank, J. (1975). *The mathematics of diffusion*. 2nd ed. Oxford, UK: Clarendon Press.
- Evers, J. F., Olson, G. A. (1983). *A comparative analysis of reactivities of commercial iron and zinc compounds used in the removal of H<sub>2</sub>S from drilling fluids*. Paper SPE 11822. Rocky Mountain Regional Meeting, Salt Lake City, UT. <https://doi.org/10.2118/11822-MS>.
- Husein, M. M., Patruyo, L., Pereira-Almao, P., Nassar, N. N. (2010). Scavenging H<sub>2</sub>S(g) from oil phases by means of ultradispersed sorbents. *Journal of Colloid and Interfacial Science*, 342: 253-260. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2009.10.059>.
- International Centre for Diffraction Data. (2023). <https://www.icdd.com>. (Retrieved, November 10, 2023).
- Martínez, S. I., Bastidas, C. (2017). *Application of transition metal nanoparticles in the streams production of heavy crude oil treatment: H<sub>2</sub>S mitigation*. Paper SPE-185486-MS, SPE Latin America and Caribbean Petroleum Engineering Conference. Buenos Aires, Argentina. <https://doi.org/10.2118/185486-MS>.
- Mi, J., Zhang, B., Shen, Z., Huang, W., Casalins, A. (2017). The experimental study on H<sub>2</sub>S generation during thermal recovery process for heavy oil from the Eastern Venezuela Basin. *Journal of Natural Gas Geoscience*, 2: 201-208. <https://doi.org/10.1016/j.jnggs.2017.07.003>.
- Nassar, N. N., Husein, M. M., Pereira-Almao, P. (2010). Ultradispersed particles in heavy oil: Part II, sorption of H<sub>2</sub>S(g). *Fuel Processing Technology*, 91: 169-174. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2009.09.008>.
- Pomeroy, R. D., Lacey, W. N., Scudder, N. F., Stapp, F. P. (1933). Rate of solution of methane in quiescent liquid hydrocarbons. *Industrial and Engineering Chemistry*, 25: 1014-1019. <https://doi.org/10.1021/ie50285a021>.
- Riazi, M. R. (1996). A new method for experimental measurement of diffusion coefficients in reservoir fluids. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 14: 235-250. [https://doi.org/10.1016/0920-4105\(95\)00035-6](https://doi.org/10.1016/0920-4105(95)00035-6).
- Upreti, S. R., Mehrotra, A. K. (2000). Experimental measurement of gas diffusivity in bitumen: results for carbon dioxide. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 39: 1080-1087. <https://doi.org/10.1021/ie990635a>.
- Upreti, S. R., Mehrotra, A. K. (2002). Diffusivity of CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>6</sub> and N<sub>2</sub> in Atha-



basca bitumen. *Canadian Journal of Chemical Engineering*, 80: 116-125. <https://doi.org/10.1002/cjce.5450800112>.

Zhang, Y. P., Hyndman, C. L., Maini, B. B. (2000). Measurement of gas diffusivity in heavy oils. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 25: 37-47. [https://doi.org/10.1016/S0920-4105\(99\)00031-5](https://doi.org/10.1016/S0920-4105(99)00031-5).

Zhu, G., Zhang, S., Huang, H., Liu, Q., Yang, Z., Zhang, J., Wu, T., Huang, Y. (2010). Induced H<sub>2</sub>S formation during steams injection recovery processes of heavy oil from the Liaohe Basin, NE China. *Journal or Petroleum Science and Engineering*, 71: 30-36. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2010.01.002>.



# Catalytic nanomedicine for chronic wounds in diabetic patients: physiology, pathophysiology and a success story<sup>◇</sup>

## Nanomedicina catalítica para heridas crónicas en pacientes diabéticos: fisiología, fisiopatología y una historia de éxito

Tessy López-Goerne,<sup>\*†</sup> Francisco J. Padilla-Godínez,<sup>\*,\*\*</sup> Alba Arévalo<sup>\*\*\*</sup>

**ABSTRACT:** Chronic wounds, especially in diabetes patients, severely impact quality of life. Catalytic nanomedicine offers hope by designing bionanocatalysts, nanostructures that selectively damage nucleic acids. These nanostructures excel in disinfection, harming microorganisms while preserving healthy tissue. They've been used for chronic wound healing, and this study explores their mechanisms and potential in tissue regeneration. The article underscores their significance in broad-spectrum disinfection, even against biofilms. It provides context by comparing glucose regulation in both healthy and diabetic states, with a focus on diabetic foot pathology. Lastly, it highlights a successful case of a diabetic chronic wound treated with catalytic nanomedicine to demonstrate its efficacy in promoting wound healing.

**KEYWORDS:** catalytic nanomedicine, chronic wound, diabetes, bionanocatalyst, pathophysiology.

**RESUMEN:** Las heridas crónicas, sobre todo en pacientes diabéticos, afectan gravemente la calidad de vida. La nanomedicina catalítica ofrece esperanza al diseñar bionanocatalizadores, nanoestructuras que dañan selectivamente los ácidos nucleicos. Estas nanoestructuras destacan en desinfección, dañando microorganismos y preservando, al mismo tiempo, el tejido sano. Se han utilizado para la cicatrización de heridas crónicas, y este estudio explora sus mecanismos y su potencial en la regeneración de tejidos. El artículo subraya su importancia en la desinfección de amplio espectro, incluso contra las biopelículas. Aporta contexto comparando la regulación de la glucosa en estados sanos y diabéticos, centrándose en la patología del pie diabético. Por último, destaca un caso de éxito de herida crónica diabética tratada con nanomedicina catalítica para demostrar su eficacia en la promoción de la cicatrización de heridas.

**PALABRAS CLAVE:** nanomedicina catalítica, herida crónica, diabetes, bionanocatalizador, fisiopatología.

Received: September 17, 2023. Accepted: November 24, 2023. Published: January 22, 2024.

<sup>◇</sup> This work was supported by the Ministry of Health of Mexico City (grant number 101/100/014/13). The authors would like to acknowledge the expertise and technical help received from Alejandro Javier Velázquez-Muñoz, M.D., and Lois Regalado, M.D. Special thanks for the support of Nanomed Laboratorios, S.A. de C.V.

The authors report there are no competing interests to declare.

Author contributions: All authors contributed equally.

\* Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Departamento de Atención a la Salud, Laboratorio de Nanotecnología y Nanomedicina, CDMX 04960, México.

\*\* Instituto Occidental de Tecnología y Educación Superior, Departamento de Física y Matemáticas, San Pedro Tlaquepaque, Jalisco 45604, México.

\*\*\* Clínica de Diabetes, Ciudad Netzahualcóyotl, CDMX, México

<sup>†</sup> Correspondence author: tessy3@prodigy.net.mx



## Introduction

Chronic wounds, particularly in diabetic patients, have a significant impact on the patient's quality of life and those close to them. Various approaches have been explored to address the debilitating consequences of chronic wounds in diabetes, and one emerging field of science, known as *catalytic nanomedicine*, holds promise in this regard. Catalytic nanomedicine focuses on the design, synthesis, characterization, and application of bionanocatalysts in the medical field. These bionanocatalysts are nanostructures composed of mixed oxides, possessing catalytic properties that selectively disrupt nucleic acids through organic functionalization on their surface, resembling cellular ligands. They are designed to be cytotoxic to pathogens or damaged cells while sparing healthy cells in the body, making them suitable for disinfection and cancer therapy. In the context of chronic wounds, these nanostructures have demonstrated potential as tissue repair agents.

The current work explores the mechanisms of action of bionanocatalysts, particularly their application in chronic wounds for tissue regeneration. Additionally, it discusses the significance of bionanocatalysts in disinfection, their ability to target a wide range of microorganisms, and their unique properties that enable them to act even in the presence of protective biofilms. To put the above into context, a brief description of diabetic pathology is given, contrasting the physiological processes of glycemic regulation with the pathophysiological processes responsible for this disease that can lead to the chronic injury known as diabetic foot. This phenomenon is briefly presented in its pathological components in such a way that the impact of bionanocatalysts in each of the stages of the tissue regeneration process in patients with this disease is evidenced. Furthermore, the article presents a success story of a patient with a diabetic chronic wound, highlighting the effectiveness of bionanocatalysts in promoting wound healing. Finally, the article discusses the molecular interpretation of chronic wound repair by bionanocatalysts and provides insights into potential future applications and the need for further research in this field.

By exploring the field of catalytic nanomedicine and its potential applications in chronic wounds, this article aims to shed light on a promising approach that could significantly improve the treatment and healing outcomes for patients suffering from this debilitating condition.

## Physiology and glucose regulation

### Insulin

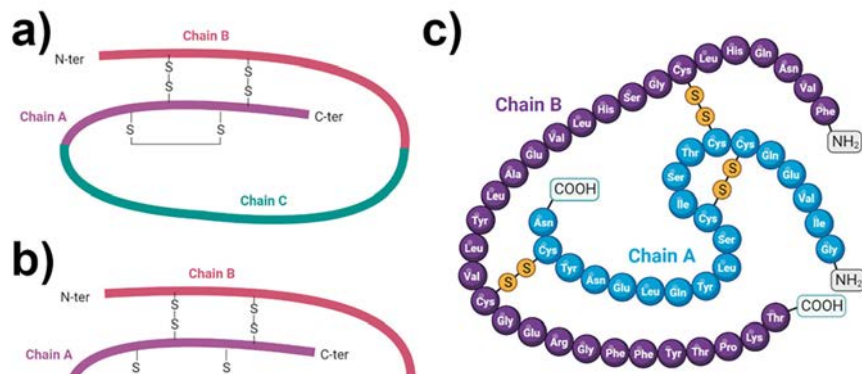
Insulin is a protein hormone made up of two polypeptide chains called the A and B chains that are linked together by disulfide bonds (Petersen and Shulman, 2018) (figure 1). The A chain has 21 amino acids while the B chain has 30 amino acids (De Meyts, 2004). Two disulfide links connect the two chains,

while an extra disulfide bond inside the A chain helps maintain the overall structure of insulin. Insulin folds into a three-dimensional form that allows it to connect to insulin receptors on target cells. Insulin is produced in the pancreatic beta cells as an inactive precursor known as proinsulin (M. Liu *et al.*, 2014). Proinsulin is modified post-translationally in the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus. The signal peptide is cleaved, resulting in the conversion of proinsulin to proinsulin. Proinsulin is made up of three chains: A, B, and a linking peptide termed the C peptide. The C peptide is then cleaved, resulting in mature insulin production. Mature insulin is bundled into secretory vesicles and kept until it is activated by glucose and released into the circulation.

Insulin is essential for maintaining glucose homeostasis in the body (Tokarz, MacDonald, and Klip, 2018). Insulin is released into the bloodstream when blood glucose levels rise, such as after a meal. It regulates glucose absorption and is used in a variety of tissues, including the liver, muscle, and adipose tissue. Insulin stimulates glucose absorption by facilitating its transport across cell membranes, especially in skeletal muscle and adipose tissue. It also increases glycogen production in the liver and muscles, resulting in glucose storage.

Insulin regulates lipid and protein metabolism in addition to glucose metabolism (Saltiel and Kahn, 2001a). It slows the breakdown of stored fats (lipolysis) while increasing fat production in adipose tissue. Insulin also increases protein synthesis and prevents protein breakdown, facilitating muscle tissue development and maintenance. Insulin has impacts that extend beyond glucose metabolism. It has an impact on gene expression, cellular proliferation, and differentiation in a variety of tissues. It also regulates hunger and satiety, as well as influencing the cardiovascular system's function.

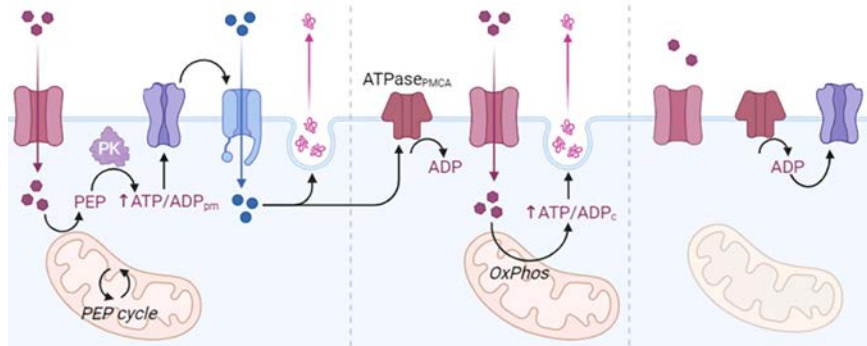
**FIGURE 1.** Insulin. Structure of (a) proinsulin and (b, c) insulin. (c) Amino acid chain composition in insulin (c) showing the interaction of chains A and B with sulfhydryl bridges. Regulation of glucose transport.



Source: Author's elaboration (made in BioRender.com).

Under normal conditions, ATP concentrations keep the channels open and contribute substantially to maintaining the resting membrane potential of  $\beta$ -cells. When the glucose level rises, it enters the  $\beta$ -cells by a specialized transport process mediated by GLUT2 glucose transporters (facilitated diffusion). Glucose is metabolized inside the cell to glucose-6-P by glucokinase, increasing the intracellular ATP level. The increase in ATP causes the closure of the  $K^+$  channel and the outflow of this ion, so that the  $\beta$ -cell undergoes a depolarization that compensatorily activates the  $Ca^{2+}$  channels, resulting in  $Ca^{2+}$  entry and initiation of  $Ca^{2+}$ -dependent processes, which ultimately favor the release of insulin. Glucose at elevated concentrations sensitizes the cell, so that it facilitates increased insulin secretion, triggered by other stimuli (Saltiel and Kahn, 2001b; Ebina *et al.*, 1985) (figure 2).

**FIGURE 2.** Metabolism of insulin and molecular pathways involved on its release from beta-cells.



Source: Author's elaboration (made in BioRender.com).

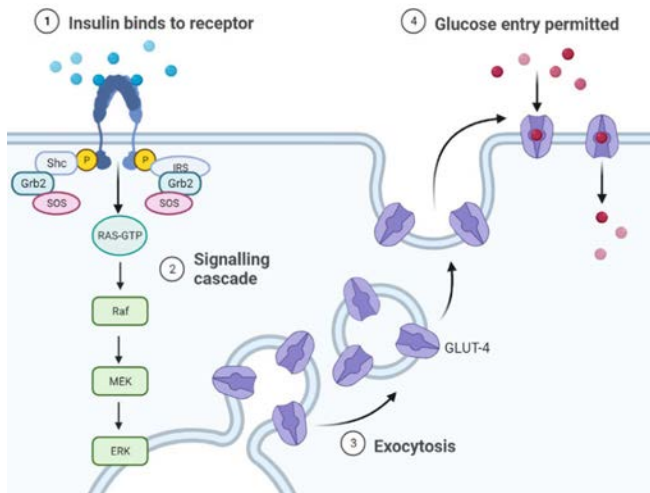
Insulin activates the MAPKs pathway (MAPKs are a family of serine/threonine kinases activated by growth and stress factors) (Lawrence *et al.*, 2008). These proteins play a key role in intracellular signal transduction, allowing the cell to integrate different extracellular stimuli through two mechanisms: Insulin receptor activation promoting SHC protein association, which are SHC1 transforming proteins, found in humans and encoded by the SHC1 gene. SHCs have been found to be important in the regulation of apoptosis and drug resistance in mammalian cells (Ravichandran, 2001).

The  $\alpha$ -subunits contain insulin-binding regions  $\alpha 1IR$  and  $\alpha 2IR$  in addition to a cysteine-rich (Cys) region. Whereas the  $\beta$ -subunits contain an extracellular, a transmembrane and an intracellular portion (Molecular basis of insulin action, 2007). In its intracellular portion is located the kinase and tyrosine catalytic domain with an ATP binding site and tyrosine phosphorylation sites that are located in the juxtamembrane regions, with carboxyl-terminal activation (Zick, 2005). Under non-stimulus conditions, the  $\alpha$ -subunits regulate the  $\beta$ -subunits, inhibiting the autophosphorylation capacity of the

receptor. The mechanism of autophosphorylation is carried out by cis- and trans- autophosphorylation processes (Mancusi *et al.*, 2020): CIS-Phosphotransferase activity. Residues are phosphorylated by their own  $\beta$ -subunit (in cis). TRANS-Kinase activity. Residues are phosphorylated by the opposite  $\beta$ -subunit (in trans). Recent studies indicate that at least 7 Tyr phosphorylation sites in the IR and Tyr kinase enzymatic activity are required for proper receptor function (Youngren, 2007).

These bind to the Grb2/SOS complex; SOS and activates Ras, which initiates the activation of the MAPKs cascade (Chen *et al.*, 1996) (figure 3). GTP-Ras binds and activates Raf-1 which subsequently leads to phosphorylation and activation of MEK and ERK1/2. Alternative pathway independent of SHC, but dependent on insulin receptor substrate (IRS) activation by which insulin is able to activate MAPKs. In this pathway, once IRS is active, it binds to the Grb2/SOS complex and from this point the protein activation sequence is the same as for SHC. Regulates gene expression in insulin-sensitive tissues and mediates the effects for proper receptor function.

**FIGURE 3.** Activation of MAPK proteins by insulin action. Insulin activates the MAPK pathway through two mechanisms. In the first, activation of the IR promotes the association of the Shc protein, which binds the Grb2/SOS complex; SOS activates Ras, which initiates the activation of the MAPK cascade.



Source: Author's elaboration (made in BioRender.com).

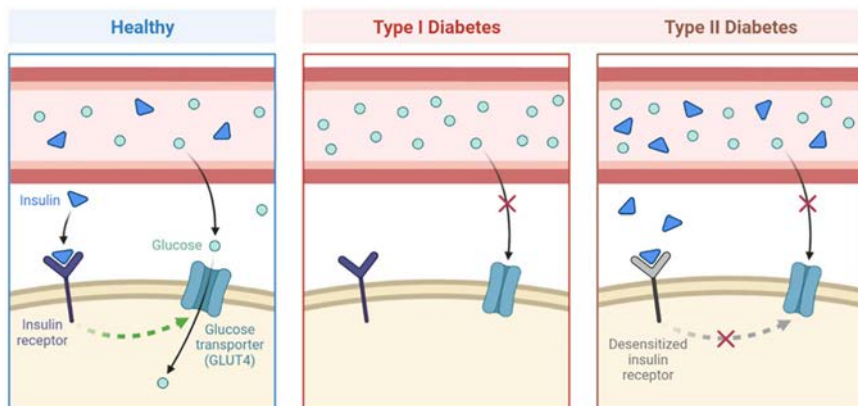
## Diabetes mellitus

### Definition

Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disorder characterized by the occurrence of a constant state of hyperglycemia in the blood (Moini, 2019). The World Health Organization (WHO) reported a prevalence of 422 million

people with diabetes (PAHO, 2022). Since its first description 3000 years ago, our understanding of DM has deepened in terms of pathophysiology and development of treatments for the preservation of a healthy life, even when this disease remains incurable. Two types of DM have now been identified, type 1 (T1DM) and type 2 (T2DM), which are characterized by the absence or reduced secretion of insulin, and damage to insulin receptors, respectively (Petersmann, *et al.* 2019) (figure 4).

FIGURE 4. Diabetes types and pathophysiology.



Source: Author's elaboration (made in BioRender.com).

T1DM, also known as type 1 diabetes mellitus, insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) or juvenile diabetes, accounts for approximately 5-10% of all patients with diabetes (Banday, Sameer and Nissar, 2020). It is an autoimmune disease characterized by apoptosis of pancreatic beta cells by T cells, resulting in insulin deficiency and ultimately hyperglycemia (Knip and Siljander, 2008; Kahaly and Hansen, 2016). Although the etiology of this autoimmune disease is not yet fully understood, both hereditary and environmental factors have been shown to be involved. This pancreatic cell-specific autoimmunity and the disease itself usually develop rapidly in infants and children (juvenile onset) (Bimstein *et al.*, 2019). However, the disease can also develop gradually in adulthood (late onset).

On the other hand, T2DM, often referred to as non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) or adult-onset diabetes in older terms, accounts for 90-95% of all diabetes (Virally *et al.*, 2007). Insulin resistance and cellular dysfunction are the two main insulin-related diseases that define this type of diabetes (DeFronzo, 2004; Muoio and Newgard, 2008; Galicia-García, *et al.* 2020). Disorders of multiple cellular pathways cause insulin resistance and reduce insulin sensitivity of cells in peripheral tissues, especially muscle, liver, and adipose tissue. Increased insulin secretion to maintain normogly-

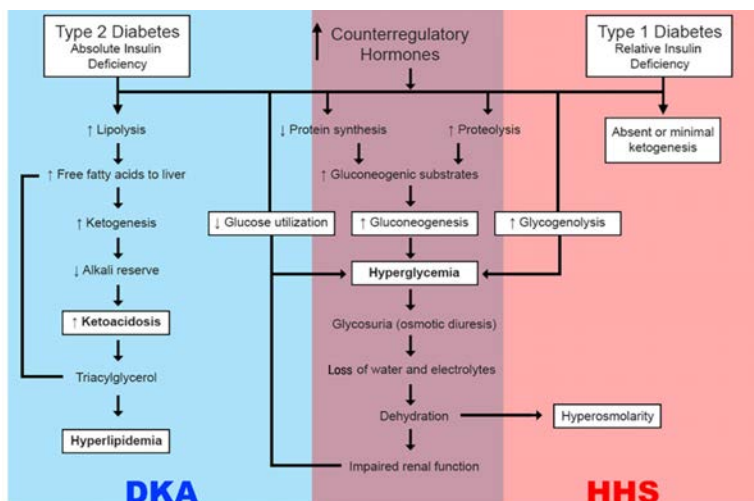


cemia is achieved early in the disease state, when insulin sensitivity is reduced, and cells are hyperfunctioning. Thus, hyperinsulinemia and increased circulating insulin prevent hyperglycemia. However, over time, the increased insulin secretion by the cells cannot fully compensate for the reduced insulin sensitivity. In addition, cell function begins to deteriorate and cell dysfunction eventually leads to insulin deficiency. As a result, normoglycemia cannot be maintained and hyperglycemia occurs.

### Pathophysiology of diabetes

The continued state of insufficient or absent insulin capable of allowing glucose uptake can result in diabetic ketoacidosis (DKA) or hyperosmolar hyperglycemic state (HHS), the two extremes of decompensation of type 1 and type 2 diabetes, respectively (Kitabchi *et al.*, 2009) (figure 5). DKA is characterized by the biochemical triad of hyperglycemia, ketonemia, and high anion gap metabolic acidosis (Kitabchi and Wall, 1995). HHS, on the other hand, although also characterized by hyperglycemia and absolute or relative insulinopenia, differs clinically in the severity of dehydration, ketosis, and metabolic acidosis (Hassan *et al.*, 2022).

**FIGURE 5.** Pathophysiology of type-1 and type-2 diabetes.



Source: Author's elaboration.

In both scenarios, the inappropriate utilization of glucose for energy production in the cells results in severe impairment of carbohydrate, protein, and lipid metabolism (Kitabchi *et al.*, 2001). The body shifts to a state of increased catabolism with breakdown of glycogen stores, hydrolysis of triglycerides from adipose tissues, and mobilization of amino acids from muscle.

Triglycerides and amino acids released to peripheral tissues become substrates for the production of glucose and ketone bodies in the liver.

The following deficiencies underlie DKA and HHS: 1) decreased insulin secretion (DKA) and impaired insulin CHC action, resulting in reduced net circulating potency of insulin (Chupin, Charbonnel and Chupin, 1981; Kipnis, 1968; Kitabchi, 1976); 2) increased levels of inverse regulatory hormones such as glucagon (Kitabchi *et al.* 1979; Müller, Falooona and Unger 1973), catecholamines (Kitabchi *et al.*, 1979; Christensen, 1974), cortisol (Kitabchi *et al.*, 1979), and growth hormone (Müller, Falooona and Unger, 1973; Christensen, 1974) (figure 1). Other signs of DKA include increased lipolysis, ketogenesis, increased glycolysis, and impaired glycolysis (Kitabchi and Nyenwe, 2006).

### Pathophysiology of the diabetic foot

Taken together, the molecular-level effects of the pathological increase in blood glucose concentration (hyperglycemia) result in the triad associated with the diabetic foot: peripheral neuropathy, arterial insufficiency, and infection. In the present section we will describe in a simple way the molecular processes that lead to each of these points.

#### Peripheral neuropathy

Peripheral neurons of the lower extremities being the longest cells in the body, their function requires vascular supply, mitochondrial action and adequate glucose and lipid metabolism, all of which are altered in DM. Under conditions of hyperglycemia, proteins, lipids, and nucleic acids can undergo irreversible enzymatic reactions, forming advanced glycation end products (AGEs). When such metabolic products are formed throughout the peripheral nervous system, including nerve axons, neural microvasculature, Schwann cells, and the extracellular matrix, significant structural and functional changes are induced (Wada and Yagihashi, 2005). In addition, the interaction of AGEs with their receptors activates intracellular signaling pathways that cause downstream inflammation, oxidative stress, and nuclear DNA degradation, ultimately resulting in vascular dysfunction and nerve conduction deficits (Vincent *et al.*, 2007).

Atrophy of the lumbrical and interosseous muscles results in functional anatomical changes, such as hammer-toe formation and the development of high-pressure zones on the plantar surface of the metatarsal heads. Repeated gait injuries, along with decreased sensitivity and proprioception, can easily cause skin damage, atrophy, and displacement of the protective fat pad of the sole, inadequate skin protection, and improper footwear can cause ulcers (Bandyk, 2018).

#### Arterial insufficiency

In addition to nerve damage, changes in glucose metabolism and hyperglycemia lead to endothelial damage, hyperlipidemia, increased viscosity, and pla-

telet activity (Youn and Lee, 2019) and, over time, the development of atherosclerosis, which occurs due to the accumulation of fatty deposits and cholesterol in the arterial walls (Libby, 2021). In this context, circulation, mainly of the posterior and anterior tibial arteries, is reduced, so that blood moves more slowly. With the development of this occlusive arterial disease, the reduced perfusion to the foot results in reduced biodistribution of nutrients and growth factors necessary for the maintenance of skin integrity (Lepántalo, Fiengo and Biancari, 2012). These alterations include impaired sweating, dry and cracked skin, collagen production reduction, weakened skin barrier and reduced production and repair of new blood vessels (Morton and Phillips, 2016). Furthermore, since oxygen is crucial for cellular metabolism and the production of energy needed for wound healing processes, an inadequate oxygen supply, known as tissue hypoxia, further delays the healing process in chronic wounds (Hiatt *et al.*, 2015). This contributes to the risk factors associated with peripheral neuropathy for the development of limb ulcers.

### *Infection*

Poor glycemic control leads to immune dysfunction with altered leukocyte activity (Geerlings and Hoepelman, 1999; Frydrych *et al.*, 2018; Golden and Simmons, 2021). Reduced white blood cell function facilitates the rapid development of invasive tissue infections (Jenks *et al.*, 2020). Indeed, skin damage in patients with poor blood perfusion can lead to rapid penetration of bacteria deep into the fascia. Polymicrobial infections, with families of microorganisms such as staphylococci, streptococci, enterococci, *E. coli*, and others, are common in diabetic foot wounds (Wu, Cheng and Cheng, 2019; Luo *et al.*, 2022). The presence of bacteria triggers an inflammatory response that can overload the local immune system and impede the formation of new tissue (Hirano, 2021). Prolonged inflammation not only inhibits wound healing but can also damage surrounding healthy tissue and prevent the formation of new blood vessels (Li *et al.*, 2021).

Particular danger exists when multi-resistant strains to antibiotics are present. Bacterial biofilms, which are common in chronic wound infections, are more resistant to antibiotics (Versey *et al.*, 2021). These biofilms form a protective barrier that allows bacteria to evade the immune system and makes them less susceptible to antimicrobial agents. The reduced efficacy of antibiotics further complicates the treatment of infected chronic wounds (Yin *et al.*, 2019).

In addition, infection in chronic wounds increases the risk of complications. Bacterial overgrowth can lead to breakdown of surrounding tissue, deteriorating wound margins, and causing wound enlargement (Hua *et al.*, 2023). In severe cases, infection can spread to deeper tissues, such as muscle or bone, resulting in osteomyelitis or cellulitis (Forsberg *et al.*, 2011). In addition, infected wounds are more prone to excessive exudate (fluid discharge), bad odor and increased pain (Cutting, 2003). In severe cases, a chronic wound in-

fection can cause systemic effects. Bacteria and their by-products can enter the bloodstream and cause a systemic infection (sepsis). Sepsis is a life-threatening condition that can cause organ dysfunction and failure if not treated promptly (Youn and Lee, 2019).

### *Chronicity of the wound*

Although the body normally has tissue repair systems for wound repair, following the stages of (i) hemostasis, (ii) inflammation, (iii) proliferation and (iv) remodeling, the triad of the diabetic foot prevents proper wound healing, making the wound chronic. Generally speaking, these chronic wounds are characterized by excessive levels of proinflammatory cytokines, proteases, reactive oxygen species, senescent cells, bioburden, and a deficiency of functional stem cells (Frykberg and Banks, 2015).

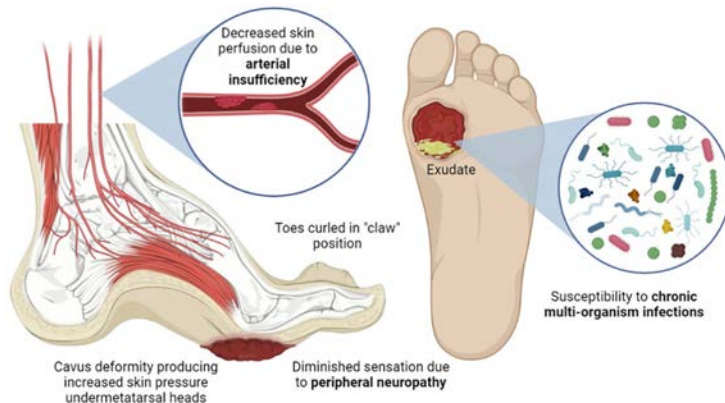
The main problem associated with infections in chronic wounds of the diabetic patient is the appearance of biofilms. These polymeric structures form when bacteria attach to a surface and use quorum-sensing molecules to induce changes in gene expression, resulting in a barrier composed of 85% exopolymers (polysaccharides, proteins, nucleic acids) and 15% bacteria (Goldberg and Diegelmann, 2020).

Biofilms have been observed to be more recalcitrant than bacteria to the host immune response, making them a greater challenge for the treatment of chronic wounds than bacteria alone. This is because leukocytes, already affected by infection *per se*, find it difficult to penetrate and maneuver through the biofilm, thereby reducing their ability to eliminate infection by producing reactive oxygen species. Furthermore, when incorporated into biofilms, bacteria create a microenvironment in which they may have reduced metabolic activity, rendering them less susceptible to antimicrobial agents that attack metabolically active cells (Peterson, 2005). Finally, biofilms stimulate a chronic inflammatory response that perpetuates the chronic wound senescence cycle without allowing tissue regeneration (Wolcott, Rhoads and Dowd, 2008).

Taken together, the appearance of biofilms in the wound, as well as underlying causes such as arterial insufficiency that impedes the transport of tissue repair agents and peripheral neuropathy that inhibits ulcer detection, result in a chronic wound response that impedes wound healing, as summarized in figure 6 below.

Hyperglycemia, among other factors, derive in the triad: peripheral neuropathy, arterial insufficiency, and infection. Anatomically functional deformations of the feet derived from peripheral neuropathy create high-pressure zones susceptible to ulcer formation. Given the diminished sensation in the zone, the ulcer grows and persists due to the decreased skin perfusion associated with arterial insufficiency that, otherwise, would provide the necessary machinery for wound repair. These conditions facilitate the development of infections in the area which, in turn, impede tissue regeneration.

**FIGURE 6.** Pathophysiology of diabetic foot.



Source: Author's elaboration (made in BioRender.com).

## Catalytic nanomedicine in chronic wounds

Being nowadays this condition of such a serious impact on the quality of life of the patient and his close people, different approaches have tried to compensate the disabling consequences derived from chronic wounds in diabetic patients. In this context, the new branch of science called catalytic nanomedicine becomes relevant.

Catalytic nanomedicine, as described by López-Goerne *et al.* (2022), is the branch of nanotechnology focused on the design, synthesis, characterization, and application of bionanocatalysts in the medical field (López-Goerne *et al.*, 2022). These nanostructures are composed of mixed oxides that exhibit catalytic properties capable of selectively destabilizing nucleic acids due to the organic functionalization of their surface that simulates cellular ligands (López-Goerne, 2013 y 2011). These nanoparticles are designed to be selectively cytotoxic towards pathogens or damaged cells, without affecting healthy cells of the organism in the process: this makes them particularly suitable for disinfection and cancer therapy. The following sections will describe the mechanisms of action of these nanostructures, particularly around their application as tissue repair agents in chronic wounds. A more detailed description of Catalytic nanomedicine and bionanocatalysts can be found elsewhere (López-Goerne *et al.*, 2022).

### Bionanocatalyst-mediated disinfection

In the field of disinfection, the bacteriostatic properties of bionanocatalysts based on nanostructured titanosilicate on which copper nanoparticles (CuNPs) are deposited as a coating have been demonstrated (Jiménez *et al.*, 2022). CuNPs themselves exert a size-dependent antibacterial activity, being able to internalize the cell by disrupting the bacterial protective barrier and

degrading the plasmid-like genetic material of Gram-positive and Gram-negative microorganisms (Chatterjee, Chakraborty and Basu, 2014; Ramyadevi *et al.*, 2012; Crisan, Teodora and Lucian, 2021; Chand Mali *et al.*, 2023). When used as coating for bionanocatalysts, they are optimized given the intrinsic DNA degradation properties of bionanocatalysts.

Such degradation follows what is known as “complete combustion by three-way converter” (Hayes *et al.* 2004). The bionanocatalyst catalyzes, by breaking C-C and C-N bonds, the oxidation of carbon monoxide to carbon dioxide, the reduction of nitric oxides to nitrogen and molecular oxygen, and the combustion of carbons to carbon dioxide and water (López-Goerne *et al.*, 2022). This phenomenon is used to destabilize organic compounds and macromolecules (such as DNA), releasing as residues normal organic molecules in the organism: CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O (López *et al.*, 2018).

The effect on genetic material results in genotoxicity that inhibits cell division, while ROS are produced that damage the bacterial cytoskeleton and fragment the cell (Liu, Xu, and Slaveykova, 2023). Furthermore, in eukaryotic microorganisms, bionanocatalysts show intrinsic chemotaxis by mitochondria, the cellular energy factory (Yakes and Van Houten, 1997). Destabilization of mitochondrial genetic material causes depletion in ATP production levels and autolysis of the organelle (Cline, 2012). The generation of ROS and the lack of energy lead the cell to enter a state of stress that results in programmed death by apoptosis.

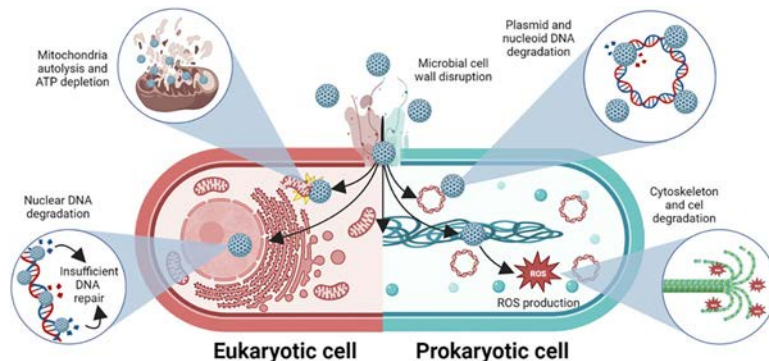
It is important to emphasize that, due to the intrinsic mechanism of action of bionanocatalysts, the microbicidal effect is independent of the sequence of the genetic material, unlike other sequence-specific compounds. This factor gives bionanocatalysts the ability to inhibit the action of a wide range of prokaryotic and even eukaryotic microorganisms, such as *Candida albicans* (López *et al.* 2015). The bactericidal effect is therefore directly conditioned by the protective capacity of the microbial cell wall (Christaki, Marcou and Tofarides, 2020). Once inside, the agent is cytotoxic regardless of the composition of the genetic material, whether in the form of nucleoid or nucleus (the bionanocatalyst, due to its size, penetrates through the nuclear pores). The above mechanisms are shown in figure 7.

The nanostructures disrupt microbial cell wall (in Gram-positive, Gram-negative, and yeast microorganisms), and internalize to destabilize several internal structures, such as DNA (in the nucleus or nucleoid, and in the shape of plasmids), mitochondria (in yeasts), and the cytoskeleton (through the production of ROS).

## Bionanocatalyst-mediated tissue regeneration in diabetic wounds

The disinfectant capacity of bionanocatalysts is of utmost importance for tissue regeneration in diabetic chronic wounds (Jones, Foster and Longaker,

**FIGURE 7.** Mechanisms of action for disinfectant bionanocatalysts.



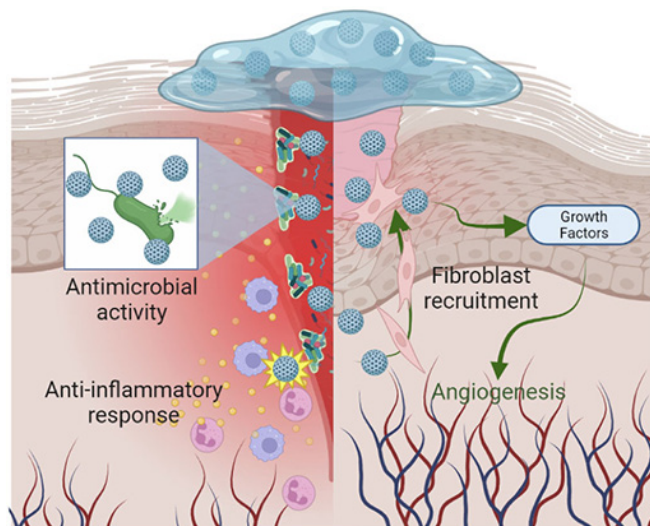
Source: Author's elaboration (made in BioRender.com).

2018). As described throughout this work, the reduced microcirculation and pathogenesis of diabetic wounds due to hyperglycemia results in altered immune system, decreased nutrient distribution, impaired sweating, dry and cracked skin, and foot abnormalities. These factors together facilitate the formation of infections in exposed tissues, which can easily be aggravated by diabetic neuropathy that inhibits local sensation. Although reduced, the wound response remains present in diabetic patients, so that, with proper care, tissue regeneration can take place (Burgess *et al.*, 2021). However, the formation of polymicrobial biofilms stimulating the chronic inflammatory response associated with diabetic ulcers inhibits the action of macrophages and neutrophils and promotes the preservation of the infection, impeding the action of the regeneration mechanisms (Omar *et al.*, 2017). This is the line of action of bionanocatalysts for tissue regeneration (figure 8). Unlike other selective disinfectant compounds, bionanocatalysts, due to their mechanism of action focused on genetic material in general (regardless of the nucleotide sequence), are capable of inhibiting the growth of a wide range of microorganisms, both prokaryotic and eukaryotic. In addition, bionanocatalysts have shown the ability to act even in the presence of biofilms that protect microbial aggregates from disinfecting agents (López-Goerne *et al.*, 2022).

Their application in nanostructured hydrogels allows the controlled release of the bionanocatalysts homogeneously over the entire surface area of the wound (López-Goerne *et al.*, 2022). Their ultrananoparticulate size (< 15 nm) allows them to pass through the intricate polymeric matrix and reach the microorganisms (Peulen and Wilkinson, 2011), where they carry out the mechanisms of action described in the previous section.

In addition, the nanostructured hydrogel itself acts as a wound protector by providing the temperature and moisture conditions necessary for wound healing by (i) increasing the flow of oxygen and nutrients through angiogenesis, (ii) acidifying the area to create a bacteriostatic environment, (iii) cre-

**FIGURE 8.** Mechanisms of action for tissue-regeneration bionanocatalysts.



Source: Author's elaboration (made in BioRender.com).

ating a physical barrier that reduces the risk of contamination, (iv) facilitating fibroblast migration, and (v) controlling exudate without damaging the perilesional tissue (Cacicedo González *et al.*, 2011). This is usually complemented by periodic surgical debridement sessions for the removal of wound remnants.

Overall, as demonstrated by Wolcott and Rhoads (2008) and Wolcott *et al.* (2010), biofilm removal and periodic infection elimination facilitate wound healing.

## Success Story

### Case report

HCC, a 61-years-old male patient, with a clinical history of DM2 for more than 20 years before our treatment, presented with severe trauma to the distal phalanx of the first toe of the right extremity, with an open penetrating wound on the plantar aspect (figure 9a). The wound bed exhibits 70% fibrin tissue, 20% sphacelial tissue, and 10% granulation tissue, with abundant exudate. Irregular borders are observed, with severe hematoma in the middle of the toe. The patient had initially been managed with oral and then intramuscular antibiotics; however, rapid tissue degradation was observed due to the presence of a multibacterial infection with presence of Gram-positive and Gram-negative bacteria (figure 9b). The ineffectiveness of antibiotic treatment for four weeks resulted in a diagnosis of amputation to prevent further spread of the infection. The patient was referred for consultation to determi-



ne alternative treatments. In these conditions, the patient was received in our diabetes clinic.

At the time of our first physical examination, surgical debridement was performed to remove as much infected tissue as possible (figures 9c and 9d). Subsequently, based on preliminary case studies, a nanogel impregnated with copper titanosilicate bionanocatalysts was applied over the full extent of the wound in conjunction with a bandage. Daily healing was performed for 28 days (weekly debridement and gel application every day), leaving the finger uncovered one day a week with the application by the patient of propolis with bee honey.

From the first week of application, the wound appears clean with a remarkable revascularization and reduction of edema (figure 9e, 9f). At the two-week mark, a considerable reduction in wound size is observed, with granular tissue formation, with no signs of erythema or edema (figure 9g). After three weeks, the wound is virtually closed with complete re-epithelialization (figure 9h). Finally, by the time of discharge, the wound has closed completely and only a slight scar is observed, with no inflammation (figure 9i).

**FIGURE 9.** Case report of patient HCC exhibiting a 4-month chronic wound treated with nanogel impregnated with bionanocatalysts in 4 weeks of treatment.



Source: Author's elaboration.

## Molecular interpretation of chronic wound repair by bionanocatalysts

Trauma involves very rapid cell destruction, its contents are released, which are detected by the Langerhans cells of the skin, which will begin to secrete chemo-attractive substances for neutrophils, monocytes and eosinophils (Deckers, Hammad and Hoste, 2018). This will begin to activate the immune system, which will be on alert for the presence of infectious agents that may further complicate the situation (Stoitzner, 2010). Hemostasis begins with the contraction of the smooth muscles of the blood vessels, thanks to the autonomic nervous system, decreasing blood flow to the affected area under normal conditions, the endothelial cells secrete anticoagulant substances, but the rupture of the vessels will cause this balance to be destabilized and the endothelial cells begin to release aggregating substances, such as Von Williebrand factor, a glycoprotein that acts as a bridge between platelets and collagen fibrils (Wang *et al.*, 2019).

The bionanocatalyst acts precisely by eliminating the infectious agents (through the mechanisms described above) and allowing angiogenesis of new blood vessels to the affected area. Unlike other disinfecting agents, bionanocatalysts have an effect on a wide range of pathogenic microorganisms (Jiménez *et al.*, 2022) and, in addition, are able to penetrate the biopolymer network that makes up the biofilm, to selectively and efficiently eliminate the bacteria that make it up and prevent proper tissue regeneration. Thus, the organism can activate its own wound repair mechanisms through the formation of fibrin.

Fibrin formation can occur via two pathways, the extrinsic pathway which is mediated by tissue exposure factor, released at the site of injury and which will act as a cofactor for the activation of factor X, this reaction is catalyzed by factor VII; while another intrinsic pathway occurs by the activation of factors XII and XI, stimulated by platelet aggregation and Von Williebrand factor released by platelets (Weisel and Litvinov, 2017). Then, the two pathways unite to obtain the final product which is fibrin. This filamentous protein binds to the vessel walls to form a mesh that traps the plasma elements, preventing their extravasation and reestablishing hemostasis in the capillaries. This fibrin clot will also play a fundamental role in the beginning of the proliferation phase, acting as a provisional matrix for the migration of fibroblasts; during proliferation the clot will be reabsorbed by macrophages to give rise to the mature matrix for epithelialization. Growth factors and interleukins are then released into the wound by platelets, macrophages, lymphocytes and endothelial cells, so that normal tissue repair can take place (Yamakawa and Hayashida, 2019).

## Future perspectives and limitations

The broad-spectrum microbicidal properties of bionanocatalysts and the advantages of using them in nanogels suggest that these nanostructures could be used to treat certain skin diseases caused by chronic infections. In particular, acne, a chronic inflammatory disease caused by the colonization of hair follicles on the face, neck, chest and back by *Propionibacterium acnes* (Williams,

Dellavalle and Garner, 2012), could be treated with antimicrobial bionanocatalysts to eliminate chronic infection and promote tissue regeneration. Similarly, another type of wound that has been treated preclinically are burns. Although preliminary, the results are quite promising. Taken together, bionanocatalysts with regenerative properties could be used in the future for the treatment of a broad spectrum of acute and chronic wounds. To this end, further research is needed on the mechanisms of action of these nanostructures, in particular on the biological processes occurring during the different stages of wound healing and the impact of bionanocatalysts on these phenomena.

It is noteworthy that case series might be biased, limiting their generalizability to broader patient groups. Nonetheless, the information gleaned from the healing processes of the four patients studied in this study allows us to speculate on the efficacy and mechanism of action of bionanocatalysts in chronic wound healing.

## Conclusions

Chronic wounds resulting from microcirculation problems, such as diabetic foot, comprise an international epidemic that must be addressed as soon as possible. Although there are many approaches to treat chronic wounds, the approaches are often focused on disinfection or wound protection treatments only, without addressing the underlying molecular processes. In this sense, the present review offered a novel perspective based on the use of bionanocatalysts, which not only act by disinfecting the damaged area, but also promote tissue regeneration by inducing important processes such as the elimination of chronic inflammation and the recruitment of tissue remodeling cells, among other processes. A case report was also presented showing the effectiveness of these nanostructures for the treatment of chronic wounds, with no side effects. It is necessary to continue the research on the application of Catalytic nanomedicine for the treatment of chronic wounds, in order to deepen the areas of opportunity of this branch of knowledge so that it can reach more people and continue with the resolution of this complex problem.

## Ethics approval

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. The research protocol was authorized by the Direction of Teaching and Research of the Specialized Center for Diabetic Patients “Dr. Manuel Gonzalez Rivera” under the Ministry of Health of the Federal District, under registration number 101/100/014/13. Informed consent was obtained from all individual participants included in the study. No identifiable information of the patient was included in this work.

## References

- Banday, Mujeeb Z., Aga S. Sameer and Saniya Nissar. (2020). Pathophysiology of diabetes: an overview. *Avicenna Journal of Medicine*, 10(04): 174-88. [https://doi.org/10.4103/ajm.ajm\\_53\\_20](https://doi.org/10.4103/ajm.ajm_53_20).
- Bandyk, Dennis F. (2018). The diabetic foot: pathophysiology, evaluation, and treatment. *Seminars in Vascular Surgery*, 31(2-4): 43-48. <https://doi.org/10.1053/j.semvascsurg.2019.02.001>.
- Bimstein, E., D. Zangen, W. Abedrahim, and J. Katz. (2019). Type 1 diabetes mellitus (juvenile diabetes) – A review for the pediatric oral health provider. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 43(6): 417-23. <https://doi.org/10.17796/1053-4625-43.6.10>.
- Burgess, Jamie L., W. Austin Wyant, Beatriz Abdo Abujamra, Robert S. Kirsner, and Ivan Jozic. (2021). Diabetic wound-healing science. *Medicina*, 57(10): 1072. <https://doi.org/10.3390/medicina57101072>.
- Cacicedo González, R., C. Castañeda Robles, F. Cossío Gómez, A. Delgado Uría, B. Fernández Saíz, M. V. Gómez España, A. Gómez Fernández, et al. (2011). *Manual de prevención y cuidados locales de heridas crónicas [Manual of prevention and local care of chronic wounds]*. Santander, Cantabria, Spain: Servicio Cántabro de Salud.
- Chand Mali, Suresh, Anita Dhaka, Sheetal Sharma, and Rohini Trivedi. (2023). Review on biogenic synthesis of copper nanoparticles and its potential applications. *Inorganic Chemistry Communications*, 149(March): 110448. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.110448>.
- Chatterjee, Arijit Kumar, Ruchira Chakraborty, and Tarakdas Basu. (2014). Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles. *Nanotechnology*, 25(13): 135101. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/25/13/135101>.
- Chen, Dong, Steven B. Waters, Kathleen H. Holt, and Jeffrey E. Pessin. (1996). SOS phosphorylation and disassociation of the Grb2-SOS complex by the ERK and JNK signaling pathways. *Journal of Biological Chemistry*, 271(11): 6328-32. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.11.6328>.
- Christaki, Eirini, Markella Marcou, and Andreas Tofarides. (2020). Antimicrobial resistance in bacteria: mechanisms, evolution, and persistence. *Journal of Molecular Evolution*, 88(1): 2640. <https://doi.org/10.1007/s00239-019-09914-3>.
- Christensen, Niels Juel. (1974). Plasma norepinephrine and epinephrine in untreated diabetics, during fasting and after insulin administration. *Diabetes*, 23(1): 1-8. <https://doi.org/10.2337/diab.23.1.1>.
- Chupin, Maurice, Bernard Charbonnel, and Françoise Chupin. (1981). C-peptide blood levels in keto-acidosis and in hyperosmolar non-ketotic diabetic coma. *Acta Diabetologica Latina*, 18(2): 123-28. <https://doi.org/10.1007/BF02098997>.
- Cline, Susan D. (2012). Mitochondrial DNA damage and its consequences for mitochondrial gene expression. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*, 1819(9-10): 979-91. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2012.06.002>.
- Crisan, Michaela Corina, Mocan Teodora, and Mocan Lucian. (2021). Copper nanoparticles: synthesis and characterization, physiology, toxicity and antimi-

- crobial applications. *Applied Sciences*, 12(1): 141. <https://doi.org/10.3390/app12010141>.
- Cutting, Keith F. (2003). Wound exudate: composition and functions. *British Journal of Community Nursing*, 8(Sup 3): S4-9. <https://doi.org/10.12968/bjcn.2003.8.Sup3.11577>.
- Deckers, Julie, Hamida Hammad, and Esther Hoste. (2018). Langerhans cells: sensing the environment in health and disease. *Frontiers in Immunology*, 9(February). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00093>.
- DeFronzo, Ralph A. (2004). Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Medical Clinics of North America*, 88(4): 787-835. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2004.04.013>.
- Ebina, Yousuke, Leland Ellis, Kurt Jarnagin, Marc Edery, Laszlo Graf, Eric Clauser, Jing-hsiung Ou, *et al.* (1985). The human insulin receptor cDNA: the structural basis for hormone-activated transmembrane signalling. *Cell*, 40(4): 747-58. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(85\)90334-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(85)90334-4).
- Forsberg, Jonathan Agner, Benjamin Kyle Potter, George Cierny, and Lawrence Webb. (2011). Diagnosis and management of chronic infection. *American Academy of Orthopaedic Surgeon*, 19(February): S8-19. <https://doi.org/10.5435/00124635-201102001-00003>.
- Frydrych, Lynn M, Guowu Bian, David E O'Lone, Peter A Ward, and Matthew J Delano. (2018). Obesity and type 2 diabetes mellitus drive immune dysfunction, infection development, and sepsis mortality. *Journal of Leukocyte Biology*, 104(3): 525-34. <https://doi.org/10.1002/JLB.5VMR0118-021RR>.
- Frykberg, Robert G., and Jaminelli Banks. (2015). Challenges in the treatment of chronic wounds. *Advances in Wound Care*, 4(9): 560-82. <https://doi.org/10.1089/wound.2015.0635>.
- Galicia-García, Unai, Asier Benito-Vicente, Shifa Jebari, Asier Larrea-Sebal, Haziq Siddiqi, Kepa B. Uribe, Helena Ostolaza, and César Martín. (2020). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17): 6275. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>.
- Geerlings, Suzanne E., and Andy I. M. Hoepelman. (1999). Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus (DM). *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 26(3-4): 259-65. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.1999.tb01397.x>.
- Goldberg, Stephanie R., and Robert F. Diegelmann. (2020). What makes wounds chronic. *Surgical Clinics of North America*, 100(4): 681-93. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2020.05.001>.
- Golden, Thea N., and Rebecca A. Simmons. (2021). Immune dysfunction in developmental programming of type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 17(4): 235-45. <https://doi.org/10.1038/s41574-020-00464-z>.
- Hassan, Esraa Mamdouh, Hisham Mushtaq, Esraa Elaraby Mahmoud, Sherley Chhibber, Shoaib Saleem, Ahmed Issa, Jain Nitesh, *et al.* (2022). Overlap of diabetic ketoacidosis and hyperosmolar hyperglycemic state. *World Journal of Clinical Cases* 10(32): 11702-11. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v10.i32.11702>.
- Hayes, R. E., L. S. Mukadi, M. Votsmeier, and J. Gieshoff. (2004). Three-way catalytic converter modelling with detailed kinetics and washcoat diffusion. *Topics in Cataly-*

- sis, 30/31(July): 411-15. <https://doi.org/10.1023/B:TOCA.0000029783.16199.f3>.
- Hiatt, William R., Ehrin J. Armstrong, Christopher J. Larson, and Eric P. Brass. (2015). Pathogenesis of the limb manifestations and exercise limitations in peripheral artery disease. *Circulation Research*, 116(9): 1527-39. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.303566>.
- Hirano, Toshio. (2021). IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *International Immunology*, 33(3): 127-48. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxaa078>.
- Hua, Camille, Tomas Urbina, Romain Bosc, Tom Parks, Shiranee Sriskandan, Nicolas de Prost, and Olivier Chosidow. (2023). Necrotising soft-tissue infections. *The Lancet Infectious Diseases*, 23(3): e81-94. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(22\)00583-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(22)00583-7).
- Jenks, Jeffrey D., Oliver A. Cornely, Sharon C.-A. Chen, George R. Thompson, and Martin Hoenigl. (2020). Breakthrough invasive fungal infections: who is at risk? *Mycoses*, 63(10): 1021-32. <https://doi.org/10.1111/myc.13148>.
- Jiménez, Estanislao, Aida Hamdan-Partida, Francisco J. Padilla-Godínez, Daniela Arellano-Lara, Esteban Gómez-López, and Tessy M. López-Goerne. (2022). Spectroscopic analysis and microbicidal effect of Ag/TiO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub> bionanocatalysts. *IEEE Transactions on NanoBioscience*, 21(2): 246-55. <https://doi.org/10.1109/TNB.2021.3122084>.
- Jones, Ruth Ellen, Deshka S. Foster, and Michael T. Longaker. (2018). Management of chronic wounds – 2018. *JAMA*, 320(14): 1481. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.12426>.
- Kahaly, George J., and Martin P. Hansen. (2016). Type 1 diabetes associated autoimmunity. *Autoimmunity Reviews*, 15(7): 644-48. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2016.02.017>.
- Kipnis, D. M. (1968). Insulin secretion in diabetes mellitus. *Annals of Internal Medicine*, 69(5): 891. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-69-5-891>.
- Kitabchi, A. E., R. Young, H. Sacks, and L. Morris. 1979. Diabetic ketoacidosis: reappraisal of therapeutic approach. *Annual Review of Medicine*, 30(1): 339-57. <https://doi.org/10.1146/annurev.me.30.020179.002011>.
- Kitabchi, Abbas E. (1976). The efficacy of low-dose versus conventional therapy of insulin for treatment of diabetic ketoacidosis. *Annals of Internal Medicine*, 84(6): 633. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-84-6-633>.
- Kitabchi, Abbas E., and Ebenezer A. Nyenwe. (2006). Hyperglycemic crises in diabetes mellitus: diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar state. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 35(4): 725-51. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2006.09.006>.
- Kitabchi, Abbas E., Guillermo E. Umpierrez, John M. Miles, and Joseph N. Fisher. (2009). Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. *Diabetes Care*, 32(7): 1335-43. <https://doi.org/10.2337/dc09-9032>.
- Kitabchi, Abbas E., Guillermo E. Umpierrez, Mary Beth Murphy, Eugene J. Barrett, Robert A. Kreisberg, John I. Malone, and Barry M. Wall. (2001). Management

- of hyperglycemic crises in patients with diabetes. *Diabetes Care*, 24(1): 131-53. <https://doi.org/10.2337/diacare.24.1.131>.
- Kitabchi, Abbas E., and Barry M. Wall. (1995). Diabetic ketoacidosis. *Medical Clinics of North America*, 79(1): 9-37. [https://doi.org/10.1016/S0025-7125\(16\)30082-7](https://doi.org/10.1016/S0025-7125(16)30082-7).
- Knip, Mikael, and Heli Siljander. (2008). Autoimmune mechanisms in type 1 diabetes. *Autoimmunity Reviews*, 7(7): 550-57. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2008.04.008>.
- Lawrence, Michael C., Arif Jivan, Chunli Shao, Lingling Duan, Daryl Goad, Elma Zaganjor, Jihan Osborne, et al. (2008). The roles of MAPKs in disease. *Cell Research*, 18(4): 436-42. <https://doi.org/10.1038/cr.2008.37>.
- Lepántalo, Mauri, Leslie Fiengo, and Fausto Biancari. (2012). Peripheral arterial disease in diabetic patients with renal insufficiency: a review. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 28(February): 40-45. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2233>.
- Li, Meirong, Qian Hou, Lingzhi Zhong, Yali Zhao, and Xiaobing Fu. (2021). Macrophage related chronic inflammation in non-healing wounds. *Frontiers in Immunology*, 12(June). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.681710>.
- Libby, Peter. (2021). The changing landscape of atherosclerosis. *Nature*, 592(7855): 524-33. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03392-8>.
- Liu, Ming, Jordan Wright, Huan Guo, Yi Xiong, and Peter Arvan. (2014). Proinsulin entry and transit through the endoplasmic reticulum in pancreatic beta cells. *Vitamins and Hormones*, 95: 35-62. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800174-5.00002-8>.
- Liu, Wei, Yan Xu, and Vera I. Slaveykova. (2023). Oxidative stress induced by sublethal exposure to copper as a mediator in development of bacterial resistance to antibiotics. *Science of the Total Environment*, 860(February): 160516. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160516>.
- López Goerne, Tessy María. (2013). *Nanomedicina catalítica: ciencia y cáncer*. 1st ed. Mexico City: Arkhé Ediciones.
- López, T., J. L. Cuevas, L. Ilharco, P. Ramírez, F. Rodríguez Reinoso, and E. Rodríguez-Castelleón. (2018). XPS Characterization and *E. Coli* DNA degradation using functionalized Cu/TiO<sub>2</sub> nanobiocatalysts. *Molecular Catalysis*, 449: 52-71. <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2018.02.010>.
- López, T., G. Jardón, G. Gómez, A. Gracia, A. Hamdan, J. L. Cuevas, P. Quintana, and O. Novaro. (2015). Ag/TiO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub> sol-gel nanoparticles to use in hospital-acquired infections (HAI). *Journal of Materials Science and Technology*, 4(6): 1000196. <https://doi.org/10.4172/2169-0022.1000196>.
- López-Goerne, Tessy M., Francisco J. Padilla-Godínez, Mariana Castellanos, and Luis A. Pérez-Dávalos. (2022). Catalytic nanomedicine: a brief review of bionanocatalysts. *Nanomedicine*, 17(16): 1131-56. <https://doi.org/10.2217/nnm-2022-0027>.
- López-Goerne, Tessy María. (2011). *Nanotecnología y nanomedicina: la ciencia del futuro... hoy*. 1st ed. Mexico City: Arkhé Ediciones.
- López-Goerne, Tessy, Paola Ramírez, Alba Arévalo, Mireya Huantes, and Francisco J. Padilla-Godínez. (2022). Catalytic nanomedicine – A new approach and solution

- for chronic ulcers: case series. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, August, 153473462211190. <https://doi.org/10.1177/15347346221119006>.
- Luo, Han, Zhen Wang, Fang Qi, and Dali Wang. (2022). Applications of human amniotic fluid stem cells in wound healing. *Chinese Medical Journal*, 135(19): 2272-81. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000002076>.
- Mancusi, Costantino, Raffaele Izzo, Giuseppe di Gioia, Maria Angela Losi, Emanuele Barbato, and Carmine Morisco. (2020). Insulin resistance the hinge between hypertension and type 2 diabetes. *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention*, 27(6): 515-26. <https://doi.org/10.1007/s40292-020-00408-8>.
- Meyts, Pierre de. (2004). Insulin and its receptor: structure, function and evolution. *BioEssays*, 26(12): 1351-62. <https://doi.org/10.1002/bies.20151>.
- Moini, Jahangir. (2019). Pathophysiology of diabetes. *Epidemiology of Diabetes*, 25-43. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816864-6.00003-1>.
- Molecular Basis of Insulin Action. (2007). *Drug News & Perspectives*, 20(8): 527. <https://doi.org/10.1358/dnp.2007.20.8.1157615>.
- Morton, Laurel M., and Tania J. Phillips. (2016). Wound healing and treating wounds. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 74(4): 589-605. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.08.068>.
- Müller, Walter A., Gerald R. Faloon, and Roger H. Unger. (1973). Hyperglucagonemia in diabetic ketoacidosis. *The American Journal of Medicine*, 54(1): 52-57. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(73\)90083-1](https://doi.org/10.1016/0002-9343(73)90083-1).
- Muoio, Deborah M., and Christopher B. Newgard. (2008). Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and  $\beta$ -cell failure in type 2 diabetes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(3): 193-205. <https://doi.org/10.1038/nrm2327>.
- Omar, Amin, J. Wright, Gregory Schultz, Robert Burrell, and Patricia Nadworny. (2017). Microbial biofilms and chronic wounds. *Microorganisms*, 5(1): 9. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5010009>.
- PAHO. 2022. *Diabetes*. September 16.
- Petersen, Max C., and Gerald I. Shulman. (2018). Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiological Reviews*, 98(4): 2133-2223. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>.
- Petersmann, Astrid, Dirk Müller-Wieland, Ulrich A. Müller, Rüdiger Landgraf, Matthias Nauck, Guido Freckmann, Lutz Heinemann, and Erwin Schleicher. (2019). Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 127(S 01): S1-7. <https://doi.org/10.1055/a-1018-9078>.
- Peterson, L. R. (2005). Squeezing the antibiotic balloon: the impact of antimicrobial classes on emerging resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 11: 4-16. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01238.x>.
- Peulen, Thomas-Otavio, and Kevin J. Wilkinson. (2011). Diffusion of nanoparticles in a biofilm. *Environmental Science & Technology*, 45(8): 3367-73. <https://doi.org/10.1021/es103450g>.
- Ramyadevi, Jeyaraman, Kadarkaraitangam Jeyasubramanian, Arumugam Marikani, Govindasamy Rajakumar, and Abdul Abdul Rahuman. (2012). Synthesis and an-



- timicrobial activity of copper nanoparticles. *Materials Letters*, 71(March): 114-16. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2011.12.055>.
- Ravichandran, Kodi S. (2001). Signaling via Shc family adapter proteins. *Oncogene*, 20(44): 6322-30. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1204776>.
- Saltiel, Alan R., and C. Ronald Kahn. (2001a). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414(6865): 799-806. <https://doi.org/10.1038/414799a>.
- Saltiel, Alan R., and C. Ronald Kahn (2001b). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414(6865): 799-806. <https://doi.org/10.1038/414799a>.
- Stoitzner, Patrizia. (2010). The langerhans cell controversy: are they immunostimulatory or immunoregulatory cells of the skin immune system? *Immunology & Cell Biology*, 88(4): 348-50. <https://doi.org/10.1038/icb.2010.46>.
- Tokarz, Victoria L., Patrick E. MacDonald, and Amira Klip. (2018). The cell biology of systemic insulin function. *Journal of Cell Biology*, 217(7): 2273-89. <https://doi.org/10.1083/jcb.201802095>.
- Versey, Zoya, Waleska Stephanie da Cruz Nizer, Emily Russell, Sandra Zigic, Katrina G. DeZeeuw, Jonah E. Marek, Joerg Overhage, and Edana Cassol. (2021). Biofilm-Innate immune interface: contribution to chronic wound formation. *Frontiers in Immunology*, 12(April). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.648554>.
- Vincent, Andrea M., Lorena Perrone, Kelli A. Sullivan, Carey Backus, Ann Marie Sastry, Christian Lastoskie, and Eva L. Feldman. (2007). Receptor for advanced glycation end products activation injures primary sensory neurons via oxidative stress. *Endocrinology*, 148(2): 548-58. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0073>.
- Virally, M., J.-F. Blicklé, J. Girard, S. Halimi, D. Simon, and P.-J. Guillausseau. (2007). Type 2 diabetes mellitus: epidemiology, pathophysiology, unmet needs and therapeutical perspectives. *Diabetes & Metabolism*, 33(4): 231-44. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2007.07.001>.
- Wada, Ryuichi, and Soroku Yagihashi. (2005). Role of advanced glycation end products and their receptors in development of diabetic neuropathy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1043(1): 598-604. <https://doi.org/10.1196/annals.1338.067>.
- Wang, Xiao-Xiong, Qi Liu, Jin-Xia Sui, Seeram Ramakrishna, Miao Yu, Yu Zhou, Xing-Yu Jiang, and Yun-Ze Long. (2019). Recent advances in hemostasis at the nanoscale. *Advanced Healthcare Materials*, 8(23): 1900823. <https://doi.org/10.1002/adhm.201900823>.
- Weisel, John W., and Rustem I. Litvinov. (2017). Fibrin formation, structure and properties. In Parry, D., Squire, J. (eds) *Fibrous proteins: structures and mechanisms. Subcellular biochemistry*, vol. 82. Springer, 405-56. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-49674-0\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-49674-0_13).
- Williams, H. C., R. P. Dellavalle, and S. Garner. (2012). Acne vulgaris. *The Lancet*, 379(9813): 361-72. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60321-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60321-8).
- Wolcott, R. D., S. B. Cox, and S. E. Dowd. (2010). Healing and healing rates of chron-

- ic wounds in the age of molecular pathogen diagnostics. *Journal of Wound Care*, 19(7): 272-78, 280-81.
- Wolcott, R. D., and D. D. Rhoads. (2008). A study of biofilm-based wound management in subjects with critical limb ischaemia. *Journal of Wound Care*, 17(4): 145-48, 150-52, 154-55. <https://doi.org/10.12968/jowc.2008.17.4.28835>.
- Wolcott, R. D., D. D. Rhoads, and S. E. Dowd. (2008). Biofilms and chronic wound inflammation. *Journal of Wound Care*, 17(8): 333-41. <https://doi.org/10.12968/jowc.2008.17.8.30796>.
- Wu, Yuan-Kun, Nai-Chen Cheng, and Chao-Min Cheng. (2019). Biofilms in chronic wounds: pathogenesis and diagnosis. *Trends in Biotechnology*, 37(5): 505-17. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.10.011>.
- Yakes, F. Michael, and Bennett van Houten. (1997). Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(2): 514-19. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.2.514>.
- Yamakawa, Sho, and Kenji Hayashida. (2019). Advances in surgical applications of growth factors for wound healing. *Burns & Trauma*, 7(December). <https://doi.org/10.1186/s41038-019-0148-1>.
- Yin, Wen, Yiting Wang, Lu Liu, and Jin He. (2019). Biofilms: the microbial 'protective clothing' in extreme environments. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(14): 3423. <https://doi.org/10.3390/ijms20143423>.
- Youn, Young Jin, and Juyong Lee. (2019). Chronic venous insufficiency and varicose veins of the lower extremities. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 34(2): 269-83. <https://doi.org/10.3904/kjim.2018.230>.
- Youngren, J. F. (2007). Regulation of insulin receptor function. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(7-8): 873-91. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-6359-9>.
- Zick, Yehiel. (2005). Ser/Thr phosphorylation of IRS proteins: a molecular basis for insulin resistance. *Science's STKE*, 2005(268). <https://doi.org/10.1126/stke.2682005pe4>.

# Environmental safety of energy storing devices using carbon nanotubes: possible impacts of waste in aquatic and terrestrial environments<sup>◇</sup>

## Seguridad ambiental de los dispositivos de almacenamiento de energía que utilizan nanotubos de carbono: posibles impactos de los desechos en entornos acuáticos y terrestres

Paulo José Balsamo,\* Silvia Pierre Irazusta,\*<sup>†</sup> Larissa Solano de Almeida\*

**ABSTRACT:** Electric double layer capacitors (EDLC) are energy storage devices based on the charging and discharging electrode-electrolyte interfaces of high surface area materials such as multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) and activated carbon (AC). Despite the broad applicability, the final destination of these components is the environment, mainly water and soil, where they can represent impacts on organisms along different trophic levels. Bioassays with *Raphidoceles subcapitata*, are widely used to evaluate aquatic toxicity and oligochaetes are good terrestrial bioindicators. The study aimed to evaluate aquatic and terrestrial toxicity of MWCNT from EDLC-type capacitors using bioindicators, *R. subcapitata* and *Eisenia andrei*. The MWCNT material was synthesized by the floating catalyst-based chemical vapor deposition method (FC-CVD) on stainless steel (AISI 304L). The MWCNT concentrations for the assays were 0.1, 10, and 100 mg.L<sup>-1</sup> for the bioindicator *R. subcapitata* and the concentrations of 1, 10 and 100 mg.Kg<sup>-1</sup> for bioindicator *E. andrei*. MWCNT inhibited the algal biomass in a concentration dependent manner at concentrations higher than 10 mg.L<sup>-1</sup>. In the soil the presence of MWCNT, at the concentrations tested did not cause mortality in the earthworm, but resulted in a significant mass reduction in the exposed organisms after 14 days. In the cytology analysis, it was not observed the production of micronuclei, but cytoplasmic vacuolization and nuclear atypia in coelomocytes were frequent. In the comet assay, there was a predominance of nucleoids in the stage 1 classification. Thus, no genotoxic effect was demonstrated in these organisms. The concentrations that showed toxic effects are within the range of environmentally expected concentrations. MWCNT are released from EDLC and may pose an occupational and environmental risk.

**KEYWORDS:** *R. subcapitata*, MWCNT, phytotoxicity, mutagenicity, genotoxicity, *E. andrei*.

**RESUMEN:** Los condensadores eléctricos de doble capa (EDLC) son dispositivos de almacenamiento de energía basados en las interfaces de electrodo-electrolito de carga y descarga de materiales de alta superficie como los nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) y el carbón activado (AC). A pesar de la amplia aplicabilidad, el destino final de estos componentes es el medio ambiente, principalmente el agua y el suelo, donde pueden representar impactos sobre los orga-

Received: February 13, 2023.

Accepted: November 24, 2023.

Published: January 24, 2024.

<sup>◇</sup> We thanks the the Carbon Sci-Tech laboratory, Unicamp, SP, Brazil, for provide the NTC and for the support in the characterization.

\* Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza (Ceeteps), São Paulo, Brasil.

<sup>†</sup> Correspondence author: silvia.pierre@hotmail.com



nismos a lo largo de diferentes niveles tróficos. Los bioensayos con *Raphidoceles subcapitata*, son ampliamente utilizados para evaluar la toxicidad acuática y los oligoquetos son buenos bioindicadores terrestres. El estudio tuvo como objetivo evaluar la toxicidad acuática y terrestre de MWCNT de condensadores tipo EDLC utilizando bioindicadores, *R. subcapitata* y *Eisenia andrei*. El material MWCNT se sintetizó mediante el método de deposición de vapor químico basado en un catalizador flotante (FC-CVD) en acero inoxidable (AISI 304L). Las concentraciones de MWCNT para los ensayos fueron 0.1 1.0, 10 y 100 mg.L<sup>-1</sup> para el bioindicador *R. subcapitata* y las concentraciones de 1, 10 y 100 mg.Kg<sup>-1</sup> para el bioindicador *E. andrei*. MWCNT inhibió la biomasa de algas de manera dependiente de la concentración a concentraciones superiores a 10 mg.L<sup>-1</sup>. En el suelo, la presencia de MWCNT, a las concentraciones probadas, no causó mortalidad en la lombriz de tierra, pero resultó en una reducción significativa de la masa de los organismos expuestos después de 14 días. En el análisis citológico no se observó producción de micronúcleos, pero fue frecuente la vacuolización citoplasmática y atipia nuclear en celomocitos. En el ensayo del cometa, hubo un predominio de nucleoides en la clasificación de la etapa 1. Por lo tanto, no se demostró ningún efecto genotóxico en estos organismos. Las concentraciones que mostraron efectos tóxicos están dentro del rango de concentraciones ambientalmente esperadas. MWCNT se liberan de EDLC y pueden representar un riesgo ocupacional y ambiental.

**PALABRAS CLAVE:** *R. subcapitata*, MWCNT, fitotoxicidad, mutagenicidad, genotoxicidad, *E. andrei*.

## Introduction

The world of consumer wearable electronic devices drives energy storage and augmentation research with low costs and environmentally friendly. The greater use of renewable energy will imply new technology systems and distribution, transmission, and storage systems management. Furthermore, it is necessary to advance in battery technology, electric double layer capacitors (EDLC), and for this, it is essential to advance the technology of energy storage, like batteries and electrical double-layer capacitors (EDLC's) to make them economically viable in wide forms of application (CGEE, 2008). Prospective studies indicate that in the next three decades, renewable energy sources will have an expansion of approximately four times related to the installed capacity, implying a 50% reduction of CO<sub>2</sub> emissions concerning the current volume. In this scenario, electricity will represent up to 50% of the world's energy, so it is imperative to build new solutions for energy storage that are not yet available and can cope with the predicted demands (Chu, Majumdar, 2012) and with the environmental demands. The EDLC are complementary energy storage devices to batteries, occupying a niche position with high power densities (Hu *et al.*, 2009; Lu, 2013).

New and innovative materials, such as multi-walled carbon nanotubes (MWCNT)) are used in energy-stored devices to increase energy density and lifespan (Vicentini *et al.*, 2019). Nanomaterials, especially carbon nanotubes (CNT), are attractive in this context (Du, Pan, 2006). The nanomaterials have significant relevance due to their electrical, mechanical, and thermal properties that differ with the size of the particles that compose them (Buzea *et al.*, 2007; Ramrakhiani, 2012).

The MWCNT constitute one of the most promising nanotechnology classes (Petersen, Henry, 2012). They are extensions of sp<sup>2</sup> carbon atoms ar-

ranged on fused benzene rings. Their structures give exceptional material properties, having applications in composite materials, sensors, and energy storage cells, in addition to various environmental applications (Dillon *et al.*, 1997; Snow *et al.*, 2005; Dalton *et al.*, 2003; Mauter, Elimelech, 2008).

Although they demonstrate great applicability, products containing nanomaterials can generate manufacturing waste and other harmful environmental factors. Due to the incorporation of nanoparticles (NP) into commercial products, on a large scale, its incorporation into environmental matrices (water, air, and earth) can occur in any stage of the life cycle of products (Lovern *et al.*, 2007; Keller *et al.* 2013; Mitrano *et al.*, 2015).

Although the MWCNT in this study are obtained by an environmentally friendly process (Vicentini *et al.*, 2018) using mainly Camphor ( $C_{10}H_{16}O$ ) and ethanol ( $C_2H_5OH$ ), these devices, once in the environment due to improper disposal, will be decomposed. Their constituents will have their final destination in water bodies (Ren *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2010; Gottschalk *et al.*, 2009; Cornelis *et al.*, 2014), where they can be consumed by primary species and undergo magnification in the food chain (Pakarinen *et al.*, 2013). More and more evidence has been presented which shows an association of CNT with potentially dangerous effects on cells, tissues, and organisms (Van der Zande *et al.*, 2010; Braun *et al.*, 2008; Johnston *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2012; Zhao *et al.*, 2021). However, due to different experimental conditions, including the properties of CNT, the chemistry of the test medium, and species of organisms, the results of CNT toxicity studies are often contradictory, and there is no consensus regarding their potential impacts on these ecosystems, thus the environmental safety of these devices must be guaranteed. Soil is an essential environmental sink of CNT (Gottschalk *et al.*, 2009, Cornelis *et al.*, 2014) through its application of sewage sludge or by the disposal of e-waste (Tourinho *et al.*, 2012). Unfortunately, our understanding of the possible adverse effects of these NP on the environment and human health is still lagging behind their rapid incorporation into commercial products (Magdolenova *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2019).

Several studies have shown that an important mechanism among those involved in NP toxicity refers to the induction of oxidative stress (Valant *et al.*, 2012; Hu *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016; Waissi *et al.*, 2017; Irazusta *et al.*, 2018). Inflammation, immunotoxicity, and genotoxicity have also been postulated as underlying mechanisms of NP toxicity (Magdolenova *et al.*, 2014), and the mechanism behind these toxic effects may be due to its ability to bind proteins.

The proliferation of nanotechnology-based products in recent decades has spawned a new environment-related sub-discipline, the nanotoxicology (Kahru, Dubourguier, 2010; Boyes *et al.*, 2017). This science also considers the transfer of these nanomaterials in the food chain, causing the accumulation of non-biodegradable pollutants and may affect the bioavailability of other toxicants by facilitating their transport (Mahapatra *et al.*, 2015; Neal,

2008). The unique properties of these NP, so widely described, such as their size, varied shape, and high surface area (Federici *et al.*, 2007; Paschoalino *et al.*, 2010) that make them so attractive, may also potentially be responsible for harmful effects to living organisms, as reported in toxicological studies in several species, such as algae, fish, rodents and human cells (Tong *et al.*, 2007; Oberdörster, 2005; Gomes *et al.*, 2018, Irazusta *et al.*, 2018, Zhao *et al.*, 2021).

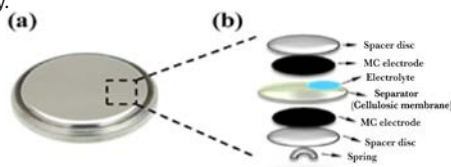
Therefore, this work evaluated the potential impacts of MWCNT removed from EDLC using two bioindicator models, unicellular green algae of the species *Raphidoceles subcapitata* and oligochaetes of the species *Eisenia andrei*, aiming to contribute to the productive sector regarding the life cycle of new materials, especially related to electronic waste.

## Materials and methods

### Microporous carbon electrodes with high defective carbon nanotubes (HD-CNT)

Electric double layer capacitors (EDLC) were composed of aluminum foil as a current collector and a microporous carbon active material so that the microporous carbon adheres well to the steel sheet. In electroplating, the engraved aluminum foil is used as the cathode and the nickel rod as the anode. Electrodeposition is performed at a current density of  $48 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$  at  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  for 1 minute. The aluminum foil is dried under ambient conditions and finally cut into 1 cm diameter circles (area  $1.93 \text{ cm}^2$ ) suitable for assembly. A stainless steel spring and separator were placed at the base of the cell as current collectors. The manufacture of EDLC and characterizations by Raman spectroscopy were performed at the Carbon Sci-Tech laboratory, Unicamp, SP, Brazil. Figure 1 shows a schematic of the composition of the EDLC.

**FIGURE 1.** Electric double layer capacitors (EDLC). In (a) top view of the coin cell and in (b) schematic diagram of the assembly.



Source: Adapted from Vicentini *et al.* (2018).

Multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) were removed from the EDLC and solubilized in distilled water at concentrations of 0.1; 1.0; 10.0 and  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . The solutions were sonicated in an ultrasound device for 40 minutes to improve the CNT dissolution.

### Bioassay with *R. subcapitata*

From a seven-day culture of algae of the species *Raphidoceles subcapitata*, an

inoculum with  $2.56 \times 10^5$  cels.mL<sup>-1</sup> was performed. In a volume of 2.5 mL of each concentration of MWCNT, or of buffered water (1.5 mM NaHCO<sub>3</sub>), 100 µL of the algal inoculum was added. The samples were kept for 72 hours under agitation and constant lighting. After this time, the algal biomass was determined by counting in a Neubauer chamber (Environment Canada, 1992 EPS1/RM/25). The samples were prepared in triplicate and the averages of the counts are compared by Student's "t" test, assuming 95% confidence interval in the Prisma 5,0 program.

## Bioassay with *Eisenia andrei*

### Acute toxicity

The test organism matrices were kindly provided by the Environmental Sanitation Laboratory (LABSAN) of the Civil Engineering Faculty of the State University of Campinas, SP-Brazil. The organisms were placed in substrate as recommended in the standard (ABNT NBR 15537:2014) for a period of 15 to 30 days for acclimatization. The organisms after this time were classified as large (from 2 cm in length) and small (below 2 cm in length). Ninety large earthworms were used. A mixture was prepared containing 700 g of sand, 200 g of earth and 100 g of coconut fiber powder, where the worms were placed for conditioning for 24 hours. After acclimatization, the earthworms were divided into 10 pots (500 g) with the same soil composition, with MWCNT at concentrations of 0.1-1.0-10.0 and 100 mg. Kg<sup>-1</sup>, each experimental group was done in triplicate. The organisms were evaluated for mortality and body mass variation after 7 and 14 days of exposure.

### Comet test

The comet test evaluates genomic lesions that result in non-reversible mutations in DNA (Singh *et al.*, 1988). The assay consists of cell lysis, DNA relaxation and electrophoresis. After being stained, it is possible to analyze the running pattern of the DNA fragments that form a "tail". The size of the tail allows classifying the level of damage caused by the analyzed compound or environmental sample.

The assay followed the protocol of Singh *et al.* (1988). To perform the comet assay, 3 organisms from each treatment were euthanized by exposure to cold (4 hours at 4-5 °C). For cell extraction, the organisms were immersed in 10% ethanol for 1 hour. It was then centrifuged at 3000 RPM for 10 minutes, the supernatant was removed and the pellet was resuspended with 500 µL of Phosphate Saline Buffer (0.137mM NaCl, 27mM KCl, 10mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.8mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). Cell viability assessment was performed with Trypan Blue (0.4% in PBS). For the comet, samples were prepared by mixing 80 µL of the cell suspension with 120 µL of Low Melting agarose (Sigma-Aldrich A9414) and applied on slides previously prepared with a layer of 1% agarose (Sigma-Aldrich A9539) and, then they were covered with coverslips. The slides remained in the refrigerator for 15 minutes and then the coverslips were

gently removed, taking care to not remove the material. The hydrolysis was then carried out with a lysis solution (25mM NaCl, 100mM EDTA, TRIS10mM, 1% N-lauroyl-sarcosine, 0.1% TRITON-X100, 10% Dimethyl-sulfoxide), for 60 minutes in the refrigerator, followed by washing for remove excess solution. The slides were immersed in electrophoresis buffer (1.5 mM EDTA, 30 mM NaOH) in an ice bath for 20 minutes, followed by running for 30 minutes (300 mA and 26 V). After washing and neutralizing with 0.4M TRIS buffer, the slides were dried in an oven at 37 °C for 2 hours and fixed with a fixative solution (0.92M Trichloroacetic acid, 0.043M ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 5% Glycerol), and dried in an oven at 37 °C. After rehydration, they were stained with DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) for 30 minutes and observed under a fluorescence microscope.

### Cytotoxicity

A drop of the sediment obtained in the previous step was deposited and spread on a slide. After complete drying of the smear, staining with Leishman's stain was performed. After drying the cells were observed for cytoplasmic or nuclear changes, as well as the presence of micronuclei in the optical microscopy.

## Results and discussion

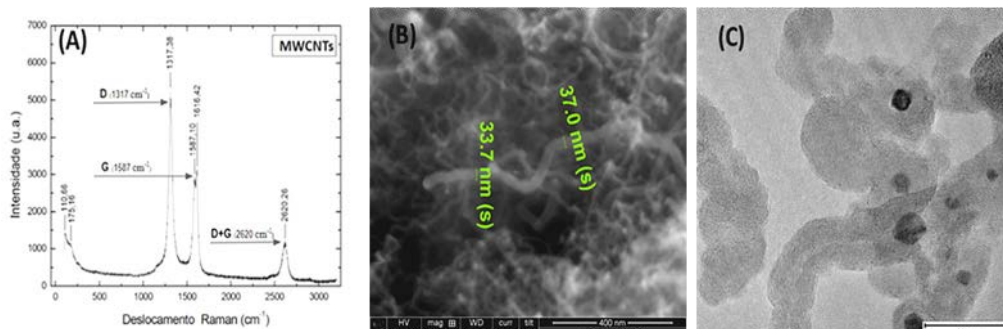
Carbon-based nanomaterials, one of the attractive nanomaterials with various shapes, covering fullerenes, single- and multi-walled carbon nanotubes, carbon nanoparticles, graphene, among others, are at the forefront of the rapidly developing field of nanotechnology (Zhang *et al.*, 2013). In addition to the influence of charge transfer, the interaction of carbon nanomaterials and cellular compounds, like proteins are also related to Van der Waals force and Coulomb force (Hou *et al.*, 2015).

The Raman scattering spectroscopy technique has been widely used in the characterization of carbonaceous materials. With microfocusing resources, the investigations are very precise, identifying the different crystalline and amorphous forms that can compose the samples. According to their possible applications, a precise characterization of carbonaceous materials is necessary, preferably by non-destructive methods, with analyzes not only regarding their heterogeneity, but also regarding their structural form (Lobo *et al.*, 2012).

In this study, carbon nanotubes were characterized by Raman spectroscopy (figure 2A), scanning electron microscopy (SEM) (figure 2B), transmission electronic microscopy (TEM) (figure 2C). The peak observed at 1300 cm<sup>-1</sup>, referring to the D band, and the peak at 1500 cm<sup>-1</sup>, referring to the G band, are characteristic of sp<sup>2</sup> carbon bonds. The peak at 2620 cm<sup>-1</sup> represents the D+G sum, confirming the carbon nanostructured nature of the material studied. The nano dimentions of the material was confirmed, as can be seen by SEM and TEM characterizations.



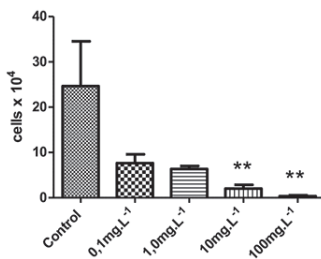
**FIGURE 2.** (A) Raman spectrum of MWCNT,  $\lambda$  485nm, showing the D, G and D+G bands, (B) SEM and (C) TEM of the multi-walled carbon nanotubes electrodes supported onto the Ni x Al current collector.



Source: Adapted from Vicentini *et al.* (2018).

Algae are primary producers in the aquatic environment and, therefore, are an important tool in monitoring studies (Saxena *et al.*, 2020). These organisms present a rapid physiological response, which allows the detection of deleterious effects caused by toxic compounds in the short term (Nogueira *et al.*, 2015; Lu *et al.*, 2021). Our results showed that the MWCNT removed from the EDLC inhibited the growth of algal biomass, in a concentration-dependent manner at concentrations higher than  $10\text{mg.L}^{-1}$  (figure 3), the EC50 was  $0.73\text{mg.L}^{-1}$ .

**FIGURE 3.** *Raphidocelis subcapitata* toxicity bioassay; algal biomass growth inhibition test ( $p < 0.05$ ).



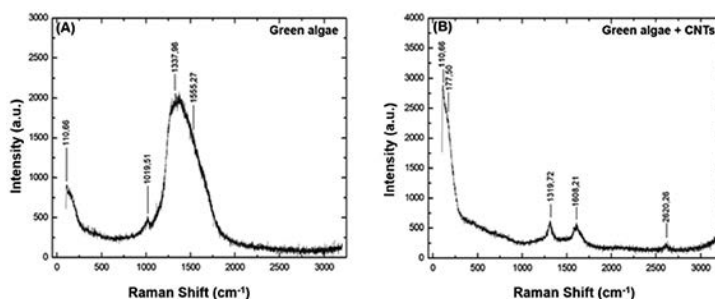
Source: Author's elaboration.

Raman spectroscopy also showed spectra confirming an interaction between CNT and algae cells. In figure 4A it is shown the spectrum corresponding to algae in the culture medium with and without CNT at a concentration of  $10\text{mg.L}^{-1}$ . The Raman spectrum characteristic of the freshwater algae *Raphidocelis subcapitata* shows bands between  $1000$  and  $2000\text{cm}^{-1}$  corresponding to the cellular structure of plants (figure 4A), as the band  $1555.27\text{cm}^{-1}$  corresponds to the clear carotenoid (Parab, Tomar, 2012; Reynolds, Giltrap, Chambers, 2021), the band at  $1337.96\text{cm}^{-1}$  corresponds to the elonga-

tion mode of the C-C bond characteristic of type *a* chlorophyll biomolecules (Chl *a*) (Parab, Tomar, 2012). In addition there is the band  $1019.51\text{ cm}^{-1}$ , which corresponds to the common carotenoid of algae, this biomolecule exerts the protective action of chlorophyll (Gall, Pascal, Robert, 2015; Parab, Tomar, 2012; Reynolds *et al.*, 2021). The Raman spectrum for the algae culture exposed to CNT is shown in figure 4B, where it is observed distinct characteristics in the spectrum of the algae cells, in the spectrum it is observed a decrease in the intensity of the bands that are structural features of algae. However, it is possible to observe the D band around  $1320\text{ cm}^{-1}$ , the G and D bands around  $1580$  and  $1610\text{ cm}^{-1}$ , as well as the D+G band around  $2620\text{ cm}^{-1}$ .

These characteristic bands of the CNT also showed a reduction in intensity and an increase in the width of the bands, indicating component overlaps. Thus, it is possible to affirm that the structural modification of both algae and CNT occurred, due to their physical interaction (Zhang *et al.*, 2015).

**FIGURE 4.** Raman spectrum referring to the algae *Raphidocelis subcapitata* before and after exposure to CNT.



Source: Author's elaboration.

In A, the bands referring to the algal are observed; in B, the bands corresponding to algae exposed to MWCNT are presented, where the D band is observed around  $1320\text{ cm}^{-1}$ , the G and D' bands around  $1580$  and  $1610\text{ cm}^{-1}$  and also the D+ band. G around  $2620\text{ cm}^{-1}$ . The characteristic bands of the CNT showed a reduction in intensity and an increase in the width of the bands, indicating the overlapping of components.

Toxicity analyzes have already demonstrated inhibition of algal growth after exposure to CNT (Patel *et al.*, 2019). The reduction in growth would be due to physical interactions or agglomeration of nanoparticles with the cell surface. The opacity of CNT and the agglomeration next to the algal cells cause a "shading" that could explain the inhibition of their growth (Wick *et al.*, 2007; Schwab *et al.*, 2011), although for some authors, this effect is insignificant (Kwok *et al.*, 2010; Long *et al.*, 2012), attributing the inhibition to the physical interaction with the cell surface (Saxena *et al.*, 2020), destruction

of the plasma membrane (Hu *et al.*, 2015) and internalization (Gomes *et al.*, 2018; Irazusta *et al.*, 2021), all of them also leading to metabolic changes resulting from the production of reactive oxygen species (ROS) and oxidative stress (Long *et al.*, 2012; Nogueira *et al.*, 2015). In fact, it was previously stated that the interaction of CNT with cellular proteins may be a common path to their biological effects (Wang *et al.*, 2019).

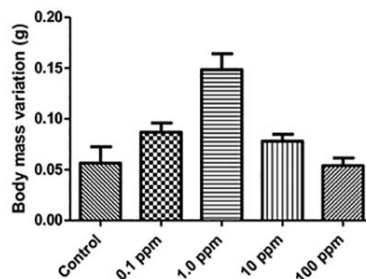
Algae *Pseudokirchneriella subcapitata* (*R. subcapitata*) and *Chlorella vulgaris* exposed to SWCNT showed decreased growth rate, with EC<sub>50</sub> of 29.99 and 30.96 mg.L<sup>-1</sup>, respectively (Sohn *et al.*, 2015), cellular damage and oxidative stress (Hu *et al.*, 2015). In another study, the inhibition concentration (IC<sub>25</sub>) of 1.04 mg.L<sup>-1</sup> was determined in 72 h for *P. subcapitata* (Blaise *et al.*, 2008). In our study the EC<sub>50</sub> was 0.73mg.L<sup>-1</sup>, it is observed a great variation in these values, probably due CNT characteristics.

Thus, the algae *Pseudokirchneriella subcapitata*, renamed *Raphidocelles subcapitata* constitute one of the most sensitive organisms of the aquatic biota in relation to the toxicity of these nanoparticles and are adversely affected (Blaise *et al.*, 2008). Reduced graphene oxide (rGO), another carbonaceous nanoparticle, also inhibited the growth of *R. subcapitata* algae and was internalized by algal cells, causing metabolic and structural changes related to structural proteins (Irazusta *et al.*, 2021). Carbon nanomaterial agglomerated and/or internalized by cells not only reduces the availability of light, but also interrupts the provision of sufficient nutrition. This restricted supply leads to inhibition of algal growth and viability. Exposure also results in the generation of stress within the algal cells, production of reactive oxygen species and elevation of stress enzymes, revealing an adverse condition within the algal cells. Despite this, contrasting results of increased algal growth have also been reported recently (Zhang *et al.*, 2018a, b, c). This is a general impact, but not the same for all algae species.

Earthworms are widely studied among soil invertebrates, as they play a key role in most terrestrial ecosystems and represent a significant portion of soil macrofauna (Courtois *et al.*, 2021). They are also regarded as “soil engineers” involved in maintaining soil structure and fertility (Carbonell *et al.*, 2009), are also widely used as bioindicator organisms in toxicity in studies to measure the effects of soil contaminants such as pesticides, heavy metals, pathogens, microplastics and nanomaterials (Gu *et al.*, 2017; Xiao *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2021; Forbes *et al.*, 2021; Bourdineaud *et al.*, 2021). Increased production and environmental release of multi-walled carbon nanotubes (MW-CNTs) increase soil exposure and potential risk to earthworms. Besides, CNT toxicity to earthworms remains unclear, with some studies identifying negative effects and others negligible effects.

In this study, after 14 days of exposure of the organisms, there was 5% (1/20) mortality at concentrations of 1.0 and 10 mg. Kg<sup>-1</sup> and there was no significant mass variation in relation to the control, except for 1.0 mg. Kg<sup>-1</sup> concentration (figure 5).

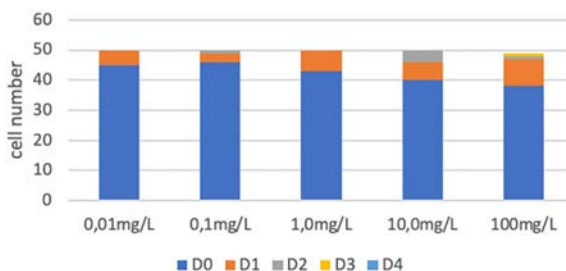
FIGURE 5. Body mass variation (g) after 14 days of exposure of *Eisenia andrei* earthworms to MWCNT.



Source: Author's elaboration.

The comet assay did not detect significant damage at any of the concentrations (figure 6), but a sublethal effect was demonstrated by cytotoxicity analysis, by identify intense cytoplasmic vacuolization (figure 7), witch is a indicative of a metabolic diversion for detoxification. Sublethal toxic effects have also been reported, both in metabolism, due to the increase in ROS production, and in histopathological alterations, with malformations in *E. andrei* oligochaetes exposed to PdCu/MWCNand PdCu/MWCNT at a concentration of  $2000 \text{ mg.k}^{-1}$  (Köktürk *et al.*, 2021). Recent study suggests that toxicity of MWCNTs to earthworms is associated with reduced detoxification capacity, excessive oxidative stress, and disturbance of multiple metabolic pathway, corroborating with the probably interaction with cellular proteins (Wang *et al.*, 2019). These effects can be amplified by the characteristics of bioaccumulation of MWCNT in earthworms, as demonstrated by Petersen *et al.* (2010) and Li *et al.* (2013).

FIGURE 6. Quantification of DNA damage by the Comet assay, considering damage levels from 0-4. "D" means damage level, rang 0 to 4.

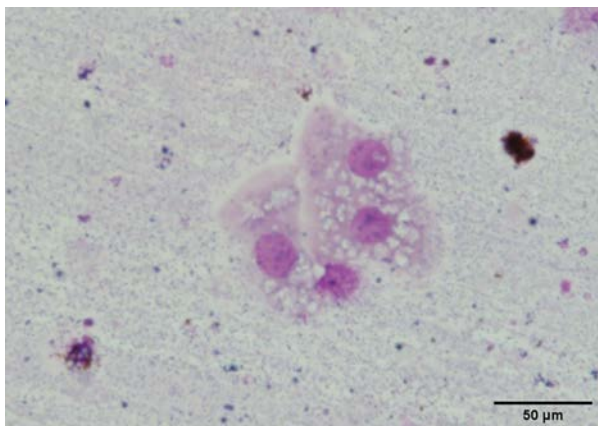


Source: Author's elaboration.

## Conclusion

As already mentioned, nanomaterials have a wide variety of applications and due to this broad distribution, the understanding of their pottential contam-

**FIGURE 7.** Fresh cytological analysis showing intense cytoplasmic vacuolization of coleomocytes.



Source: Author's elaboration.

inant effects on the environment is crucial. The nanotechnology advances in recent decades has enabled a great development in the production of synthetic nanoparticles, whose wide application also guarantees the release of relevant amounts of them into the environment from industrial areas, water treatment plants, etc. (Nowack *et al.*, 2012) and raises concerns regarding the safety of these nanoparticles in relation to their toxicity and the potential risks resulting from their presence in the ecosystems (Unrine *et al.*, 2010; Cornelis *et al.*, 2014). Furthermore, MWCNT have been shown to tend to adsorb a wide variety of toxic substances, which can increase the toxicity of chemicals in organisms (Braun *et al.*, 2008). As demonstrated in this work, MWCNT showed aquatic toxicity in algae of the species *R. subcapitata*. In the terrestrial environment, no acute toxicity was observed, such as mortality in the bioindicator *E. andrei*, nor chronic effects, such as genotoxicity, but a sublethal effect, such as cellular suffering, was demonstrated by the intense cytoplasmic vacuolization, indicating a cellular response to stress, diverting the energy necessary to the body metabolism for the detoxification process (Fernandes *et al.*, 2021).

## References

- ABNT-NBR-15537. 2014. Ecotoxicologia terrestre – Toxicidade aguda – Método de ensaio com minhocas (Lumbricidae) – outubro.
- Blaise, C., Gagne', F. Ferard, J. F. Eullaffroy, P. (2008). Ecotoxicity of selected nanomaterials to aquatic organisms. *Environ Toxicol.*, 23(5): 591-8. <https://doi.org/10.1002/20402>.
- Braun, A, Sørensen, S. N., Rasmussen, R. F., Hartmann, N. B., Koch, C. B. (2008). Toxicity and bioaccumulation of xenobiotic organic compounds in the presence of

- aqueous suspensions of aggregates of nano-C(60). *Aquat Toxicol.*, February 18, 86(3): 379-87. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.11.019>.
- Boyes, W. K., Thornton, B. L. M., Al-Abed, S. R., Andersen, C. P., Bouchard, D. C., Burgess, R. M., Hubal, E. A. C., Kitchin, K., Reichman, J. R., Rogers, K. R., Ross, J. A., Rygielwicz, P. T., Scheckel, E. G., Thai, S. F., Zepp, R. G., Zucker, R. M. (2017). A comprehensive framework for evaluating the environmental health and safety implications of engineered nanomaterials. *Crit Rev Toxicol*, 49: 1-44. <https://doi.org/10.1080/10408444.2017.1328400>.
- Bourdineaud, J. P., Štambuk, A., Šrut, M. *et al.* (2021). Gold and silver nanoparticles effects to the earthworm *Eisenia fetida*—the importance of tissue over soil concentrations. *Drug Chem Toxicol*, 44:12-29. <https://doi.org/10.1080/01480545.2019.1567757>.
- Buzeza, C., Bladino, I. I. P., Roobbie, K. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4): MR17 – MR71, 2007. <https://doi.org/10.1116/1.2815690>.
- CGEE – Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. (2008). *Energias do futuro. Relatório final*. Brasília: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, 139 pp.
- Carbonell, G., Pro, J., Gómez, N. *et al.* (2009). Sewage sludge applied to agricultural soil: ecotoxicological effects on representative soil. *Ecotoxicol Environ Saf*, 72: 1309-1319. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.01.007>.
- Chen, M., Yin, J., Liang, Y., Yuan, S., Wang, F., Song, M., Wang, H. (2016). Oxidative stress and immunotoxicity induced by graphene oxide in zebrafish. *Aquat. Toxicol.*, 174: 54-60. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.02.015>.
- Chu, S., Majumdar, A. (2012). Opportunities and challenges for a sustainable energy future. *Nature*, 488. <https://doi.org/10.1038/nature11475>.
- Cornelis, G., Hund-Rinke Kerstin, Nico, W., Van den Brink, A. J. Kuhlbusch. (2014). Fate and bioavailability of engineered nanoparticles in soils: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 44: 2720-2764, 2014. <https://doi.org/10.1080/10643389.2013.829767>.
- Courtois, P., Rorat, A., Lemiere, S. *et al.* (2021). Medium-term effects of Ag supplied directly or via sewage sludge to an agricultural soil on *Eisenia fetida* earthworm and soil microbial communities. *Chemosphere*, 269: 128761. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128761>.
- Dalton, A. B., Collins, S., Munoz, E., Razal, J. M., Ebron, V. H., Ferraris, J. P., Coleman, J. N., Kim, B. G., Baughman, R. H. Super-tough carbon nanotube fibres: these extraordinary composite fibers can be woven into electronic textiles. *Nature*, v. 423: 703, 2003. <https://doi.org/10.1038/423703a>.
- Dillon, A. C., Jones, K. M., Bekkedahl, T. A., Kiang, C. H., Bethune, D. S., Heben, M. J. (1997). Storage of hydrogen in single-walled carbon nanotubes. *Nature*, 386: 377-379, 1997. <https://doi.org/10.1038/386377a0>.
- Du, C., Pan, N. (2006). Supercapacitors using carbon nanotubes films by electrophoretic deposition, *J. Power Sources*, 160: 1487-1494. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2006.02.092>.
- Federici, G., Shawn, B., Handy, R. (2007). Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other

- physiological effects. *Aquat. Toxicol.*, 84: 415. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.07.009>.
- Fernandes, I. F., Utsunomiya, H. S. M., Valverde, B. S. L., Ferraz, J. V. C., Fujiwara, G. H., Gutierrez, D. M., Oliveira, C., Belussi, L. F., Fernandes, M. N., Carvalho, C. S. (2021). Ecotoxicological evaluation of water from the Sorocaba River using an integrated analysis of biochemical and morphological biomarkers in bullfrog tadpoles, *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802). *Chemosphere*, 275: 130000. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130000>.
- Forbes, V. E., Agatz, A., Ashauer, R. *et al.* (2021). Mechanistic effect modeling of earthworms in the context of pesticide risk assessment: synthesis of the FORESEE Workshop. *Integr Environ Assess Manag*, 17: 352-363. <https://doi.org/10.1002/ieam.4338>.
- Gall, A., Pascal, A. A., Robert, B. (2015). Vibrational techniques applied to photosynthesis: resonance Raman and fluorescence line-narrowing. *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics*, 1847(1): 12-18. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2014.09.009>.
- Gomes, A. L. S., Balsamo, P. J., Sprogis, A., Ceragioli, H. J., Silva, T. N., Oliveira, E. C., Cacuro, T. A., Irazusta, S. P. (2018). Avaliação de toxicidade de nanotubos de carbono de parede múltipla (MWCNT). *Boletim Técnico da Faculdade de Tecnologia de São Paulo.*, 45: 16-22.
- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R.W., Nowack, B. (2009). Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO<sub>2</sub>, ZnO, Ag, CNT, fullerenes) for different regions. *Environ. Sci. Technol.* 43: 9216-9222. <https://doi.org/10.1021/es9015553>.
- Gu, X., Liu, Z., Wang, X. *et al.* (2017). Coupling biological assays with diffusive gradients in thin-films technique to study the biological responses of *Eisenia fetida* to cadmium in soil. *J Hazard Mater*, 339: 340-346. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.06.049>.
- Hou, Y., Li, P., Zhou, H., Zhu, X., Chen, H., Lee, J. *et al.* (2015). Evaluation of  $\beta$ -amyloid peptides fibrillation induced by nanomaterials based on molecular dynamics and surface plasmon resonance. *Nanoscience & Nanotechnology*, 15: 1110-6. <https://doi.org/10.1166/jnn.2015.9069>.
- Hu, X., Ouyang, S., Mu, L., An, J., Zhou, O. Effects of graphene oxide and oxidized carbon nanotubes on the cellular division, microstructure, uptake, oxidative stress and metabolic profiles. *Environ. Sci. Technol*, 21: 1-28. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02102>.
- Hu, L., Choi, J. W., Yang, Y., Jeong, S., La Mantia, F., Cui, L-F., Cui, Y. (2009). Highly conductive paper for energy-storage devices. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 106: 21490-21494, 2009. <https://doi.org/10.1073/pnas.0908858106>.
- Irazusta, S. P., Ferreira, M. S., Balsamo, P. J., Almeida, L. S., Ceragioli, H. J. (2021). Toxicity and possibly reduced graphene oxide cellular interaction with *Raphidoceles subcapitata*: ultrastructural analysis. *Research, Society and Development*, 10(15): e459101520377. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i15.20377>.
- Irazusta, S. P., Oliveira, E. C., Ceragioli, H. J., Souza, B. F. S., Mendonça, M. C. P.,

- Soares, E. S., Azevedo J. R., Cruz- Höfling, M. A., Cruz, Z. M. A. (2018). Stress oxidativo e alterações enzimáticas induzidas por nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) funcionalizados com polietileno glicol no tecido hepático de camundongos. *Revinter*, 11(1): 05-25. <https://doi.org/10.22280/revintervol11ed1.366>.
- Johnston, H. J., Hutchison, G. R., Christensen, F. M., Peters, S., Hankin, S., Aschberger, K., Stone, V. (2010). A critical review of the biological mechanisms underlying the *in vivo* and *in vitro* toxicity of carbono nanotubes: The contribution of physico-chemical characteristics. *Nanotoxicology*, 4(2): 207-246. <https://doi.org/10.3109/17435390903569639>.
- Kahru, A., Dubourguier, H. C. (2010). From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology*, 269: 105-19. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.08.016>.
- Keller, A. A., McFerran, S., Lazareva, A., Suh, S. (2013). Global life cycle releases of engineered nanomaterials. *J. Nanopart. Res.*, 15(6): 1-17. <https://doi.org/10.1007/s11051-013-1692-4>.
- Kim, G. M., Nam, I. W., Yang, B., Yoon, H. N., Lee, H. K., Park, S. (2019). Carbon nanotube (CNT) incorporated cementitious composites for functional construction materials: the state of the art. *Composite Structures*, 227(1). <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2019.111244>.
- Köktürk, M., Altindag, F., Nas, M., Calimli, M. H. (2021). Ecotoxicological effects of bimetallic PdNi/MWCNT and PdCu/MWCNT nanoparticles onto DNA damage and oxidative stress in earthworms. *Biological Trace Element Research*, July 27. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02821-z>.
- Kwok, K. W., Leung, K. M., Flahaut, E., Cheng, J., Cheng, S. H. (2010). Chronic toxicity of double-walled carbon nanotubes to three marine organisms: influence of different dispersion methods. *Nanomedicine*, 5(6): 951-961, 2010. <https://doi.org/10.2217/nnm.10.59>.
- Li, S., Irin, F., Atore, F. O. *et al.* (2013). Determination of multi-walled carbon nanotube bioaccumulation in earthworms measured by a microwave-based detection technique. *Sci Total Environ*, 445-446: 9-13. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.037>.
- Lobo, A. O., Ramos, S. C., Antunes, E. F., Marciano, F. R., Trava-Airoldi, V. J., Corat, E. J. (2012). Fast functionalization of vertically aligned multi-walled carbon nanotubes using oxygen plasma. *Materials Letters*, 70: 89-93. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2011.11.071>.
- Long, Z. F., Ji, J., Yang, K., Lin, D. H., Wu, F. C. (2012). Systematic and quantitative investigation of the mechanism of carbon nanotubes' toxicity toward algae. *Environ. Sci. Technol.*, 46: 8458-8466. <https://doi.org/10.1021/es301802g>.
- Lovern, S. B., Stricler, J. R., Klaper, R. (2007). Behavioral and physiological changes in *Daphnia magna* when exposed to nanoparticle suspensions (titanium dioxide, nano-C60, and C60HxC70Hx). *Environ. Sci. Technol.*, 41: 4465-72. <https://doi.org/10.1021/es062146p>.
- Lu, M. (2013). *Supercapacitors: materials, systems and applications*. New York: Wiley, 236.



- Lu, T., Zhang, Q., Zhang, Z., Hu, B., Chen, J., Qian, J. C. H. (2021). Pollutant toxicology with respect to microalgae and cyanobacteria. *Journal of Environmental Sciences*, 99: 175-186. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.06.033>.
- Magdolenova, Z. et al. (2014). Mechanisms of genotoxicity. A review of *in vitro* and *in vivo* studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*, 8(3): 233-278. <https://doi.org/10.3109/17435390.2013.773464>.
- Mahapatra, I. et al. (2015). Probabilistic modelling of prospective environmental concentrations of gold nanoparticles from medical applications as a basis for risk assessment. *Journal of Nanobiotechnology*, 13: 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12951-015-0150-0>.
- Mauter, M. S., Elimelech, M. (2008). Environmental applications of carbon-based nanomaterials. *Environ. Sci. Technol.*, 42: 5843-5859. <https://doi.org/10.1021/es8006904>.
- Mitrano, D. M., Motellier, S., Clavaguera, S., Nowack, B. (2015). Review of nanomaterial aging and transformations through the life cycle of nano-enhanced products. *Environ Int.*, 77: 132-147. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.01.013>.
- Neal, A. L. (2008). What can be inferred from bacterium–nanoparticle interactions about the potential consequences of environmental exposure to nanoparticles? *Ecotoxicology*, 17: 362-371. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0217-x>.
- Nogueira, P. F. M., Nakabayashi, D., Zucolotto, V. (2015). The effects of graphene oxide on green algae *Raphidocelis subcapitata*. *Aquatic Toxicology*, 166: 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.07.001>.
- Nowack, B., James F. Ranville, Stephen Diamond, Julian A. Gallego-Urrea, Chris Metcalfe, Jerome Rose, Nina Horne, Albert A. Koelmans, Stephen J. Klaine. (2012). Potential scenarios for nanomaterial release and subsequent alteration in the environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(1): 50-59. <https://doi.org/10.1002/etc.726>.
- Oberdörster, G., Oberdörster, E., Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect.*, July, 113(7): 823-39, 2005. <https://doi.org/10.1289/ehp.7339>.
- Pakarinen, K., Petersen, E. J., Alvila, L., Waissi-leinonen, G. C., Akkanen, J., Lepänen, M. T., Kukkonen, J. V. K. (2013). A screening study on the fate of fullerenes (nC60) and their toxic implications in natural freshwaters. *Environ. Toxicol. Chem.* 32: 1224-1232, 2013. <https://doi.org/10.1002/etc.2175>.
- Parab, N. D. T., Tomar, V. (2012). Raman spectroscopy of algae: a review. *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*, 3(2). <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000131>.
- Paschoalino, M. P., Marccone, G. P. S., Jardim, W. F. (2010). Os nanomateriais e a questão ambiental. *Quím. Nova.* 33b(2): 421-430. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422010000200033>.
- Patel, A., Tiwari, S., Parihar, P., Singh, R., Prasad, S. M. (2019). Carbon nanotubes as plant growth regulators: impacts on growth, reproductive system, and soil microbial community. In Tripathi, D. K., Ahmad, P., Sharma, S., Chauhan, D. K., Dubey, N. K. (eds.). *Nanomaterials in plants, algae and microorganisms*. Cambridge: Academic Press, 23–42. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811488-9.00002-0>.

- Petersen, E. J., Huang, Q., Weber, W. J. (2010). Relevance of octanol water distribution measurements to the potential ecological uptake of multi-walled carbon nanotubes. *Environ Toxicol Chem.*, 29: 1106-1112. <https://doi.org/10.1002/etc.149>.
- Petersen, E. J., Henry, E. B. (2012). Methodological considerations for testing the ecotoxicity of carbon nanotubes and fullerenes: review. *Environ. Toxicol. and Chem.*, 31(1): 60-72.
- Ramrakhiani, M. (2012). Nanostructures and their applications. *Recent Research in Science and Technology*, 4(8): 14-19, 2012. <https://doi.org/10.1002/etc.710>.
- Reynolds, A., Giltrap, D. M., Chambers, P. G. (2021). Acute growth inhibition & toxicity analysis of nano-polystyrene spheres on *Raphidocelis subcapitata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 207(April): 111153. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111153>.
- Ren, W., Ren, G., Teng, Y., Li, Z., Li, L. (2015). Time-dependent effect of graphene on the structure, abundance, and function of the soil bacterial community. *J Hazard Mater.*, 297: 286-294. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.05.017>.
- Saxena, F. P., Sangela, V., Ranjan, S., Dutta, V., Dasgupta, N., Phulwaria, M., Rathore, D. S. (2020). Aquatic nanotoxicology: impact of carbon nanomaterials on algal. *Emerg. Ecol. Environ.*, 5: 240-252. <https://doi.org/10.1007/s40974-020-00151-9>.
- Schwab, F., Bucheli, T. D., Lukhele, L. P., Magrez, A., Nowack, B., Sigg, L., Knauer, K. (2011). Are carbon nanotube effects on green algae caused by shading and agglomeration? *Environ. Sci. Technol.*, 45: 6136-6144. <https://doi.org/10.1021/es200506b>.
- Singh, N. P. *et al.* (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell. Res*, 175: 184-91. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0).
- Snow, E. S., Perkins, F. K., Houser, E. J., Badescu, S. C., Reinecke, T. L. (2005). Chemical detection with a single-walled carbon nanotube capacitor. *Science*, 307: 1942-1945. <https://doi.org/10.1126/science.1109128>.
- Sohn, E. K., Chung, Y. S., Johari, S. A., Kim, T. G., Kim, J. K., Lee, J. H., Lee, Y. H., Kang, S. W., Yu, J. (2015). Acute toxicity comparison of single-walled carbon nanotubes in various freshwater organisms. *BioMed Research International*, article ID 323090, 7. <https://doi.org/10.1155/2015/323090>.
- Sun, W., Meng Z., Li R. *et al.* (2020). Joint effects of microplastic and dufulin on bioaccumulation, oxidative stress and metabolic profile of the earthworm (*Eisenia fetida*). *Chemosphere*, 263: 128171. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128171>.
- Tong, Z., Bischoff, M., Nies, L., Applegate, B., Turco, R. F. (2007). Impact of fullerene (C60) on a soil microbial community. *Environ. Sci. Technol.*, 41: 2985-92. <https://doi.org/10.1021/es061953l>.
- Tourinho, P. S. *et al.* (2012). Metal based nanoparticles in soil: fate, behavior, and effects on soil invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(8): 1679-1692. <https://doi.org/10.1002/etc.1880>.
- Unrine, J. M., Tsyusko, O. V., Hunyadi, S. E. *et al.* (2010). Effects of particle size on chemical speciation and bioavailability of copper to earthworms (*Eisenia feti-*

- da) exposed to copper nanoparticles. *J. Environ Qual.*, 39: 1942-1953. <https://doi.org/10.2134/jeq2009.0387>.
- Valant, J., Drobne, D., Novak, S. (2012). Effect of ingested titanium dioxide nanoparticles on the digestive gland cell membrane of terrestrial isopods. *Chemosphere*, 87(1): 19-25. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.11.047>.
- Van der Zande, M., Junker, R., Walboomers, X. F., Jansen, J. A. (2010). Carbon nanotubes in animal models: a systematic review on toxic potential. *Tissue Eng, Part B*, 17(1): 57-69. <https://doi.org/10.1089/tem.TEB.2010.0472>.
- Vicentini, R., Costa, H. L., Nunes, W., Vilas Boas, O., Soares, D. M., Alves, T. A., Real, C., Bueno, C., Peterlevitz, A. C., Zanin, H. (2018). Direct growth of mesoporous carbon on aluminum foil for supercapacitors devices. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29(6): 1-10. <https://doi.org/10.1007/s10854-018-9121-1>.
- Vicentini, R., Nunes, W. G., Costa, L. H., Da Silva, L. M., Pascona, A., Jackson, P., Doubekc, G., Zanin, H. (2019). Highly stable nickel-aluminum alloy current collectors and highly defective multi-walled carbon nanotubes active material for neutral aqueous-based electrochemical capacitors. *Journal of Energy Storage*, 23: 116-127. <https://doi.org/10.1016/j.est.2019.01.013>.
- Waissi, G. C., Bold, S., Pakarinen, K., Akkanen, J., Leppanen, M. T., Petersen, E. J., J. V. K. Kukkonen. (2017). *Chironomus riparius* exposure to fullerene-contaminated sediment results in oxidative stress and may impact life cycle parameters. *J. Hazard Mater*, January, 15(322)(Pt A): 301-309. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.015>.
- Wick, P., Manser, P., Limbach, L. K., Dettlaff-Weglikowska, U., Krumeich, F., Roth, S., et al. (2007). The degree and kind of agglomeration affect carbon nanotube cytotoxicity. *Toxicology Letters.*, 168: 121-131. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.08.019>.
- Wang, H., Shao, B., Yu, H. et al. (2019). Neuroprotective role of hyperforin on aluminum maltolate-induced oxidative damage and apoptosis in PC12 cells and SH-SY5Y cells. *Chem Biol Interact*, 299: 15-26. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.11.016>.
- Xiao, L., Li, M., Hu, J., Dai, J. et al. (2020). Assessment of earthworm activity on Cu, Cd, Pb and Zn bioavailability in contaminated soils using biota to soil accumulation factor and DTPA extraction. *Ecotoxicol Environ Saf*, 195: 110513. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110513>.
- Zhang, B.T., Zheng, X., Li, H. F., Lin, J. M. (2013). Application of carbon-based nanomaterials in sample preparation: a review. *Anal. Chim. Acta*, 784: 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.03.05410>.
- Zhang, L., Lei, C., Chen, J., Yang, Kun, Zhu, L., Lin, D. (2015). Effect of natural and synthetic surface coatings on the toxicity of multi-walled carbon nanotubes toward green algae. *Carbon*, 83: 198-207. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2014.11.050>.
- Zhang, M., Wang, H., Song, Y., Huang, H., Shao, M., Liu, Y., Kang, Z. (2018). Pristine carbon dots boost the growth of *Chlorella vulgaris* by enhancing photosynthesis. *ACS Appl Bio Mater*, 1(3): 894-902. <https://doi.org/10.1021/acsabm.8b00319>.

- Zhang, C., Chen, X., Tan, L., Wang, J. (2018). Combined toxicities of copper nanoparticles with carbon nanotubes on marine microalgae *Skeletonema costatum*. *Environ Sci Pollut Res*, 25(13): 13127-13133. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1580-7>.
- Zhao, C-M., Wang, W-X. (2010). Biokinetic uptake and efflux of silver nanoparticles in daphnia magna. *Environ. Sci. Technol.*, 44: 7699-7704. <https://doi.org/10.1021/es101484s>.
- Zhao, X. C., Liu, R. T. (2012). Recent progress and perspectives on the toxicity of carbon nanotubes at organism, organ, cell, and biomacromolecule levels. *Environ. Int.*, 40: 244-255.
- Zhao, Y., Liu, Y., Zhang, X, Liao, W. (2021). Environmental transformation of graphene oxide in the aquatic environment. *Chemosphere*, e(262): 127885. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.12.003>.

# Una revisión de nanopartículas de oro: características fisicoquímicas y su respuesta celular en macrófagos

## A review of gold nanoparticles: physicochemical properties and their cellular response in macrophages

Williams de Jesús Jiménez-Martínez,\* Juan Carlos Vázquez-Lira\*<sup>†</sup>

**ABSTRACT:** The study of nanomaterials (NMs) and their physicochemical properties such as size, chemical nature, composition and shape is of paramount importance. Specifically, gold nanoparticles (AuNPs) and their shapes such as rollers, spheres and cubes, are used in the biomedical field, for example, nanostars and gold cubes have a great resonance effect of the localizing surface plasmon (LSPR) allowing them to be used in diagnosis, marking and tumor therapies; however, the latter lack or have few *in vitro* toxicological studies to ensure their biocompatibility. This review mentions the main characteristics of AuNPs that allow them to be used in these therapies and some of the cell studies that have been carried out with them in macrophage cultures to obtain adequate concentrations for their future medical application.

**KEYWORDS:** nanoparticles, gold, nanotoxicology, macrophages, cell culture.

**RESUMEN:** El estudio de los nanomateriales (NMs) y sus propiedades fisicoquímicas como tamaño, naturaleza química, composición y forma es de suma importancia. Específicamente las nanopartículas de oro (AuNPs) y sus formas como rodillos, esferas y cubos son utilizados en el ámbito biomédico; por ejemplo, las nanoestrellas y cubos de oro presentan un gran efecto de resonancia del plasmón de superficie localizador (LSPR), permitiendo ser utilizadas en diagnóstico, marcaje y terapias tumorales; sin embargo, estos últimos carecen o tienen pocos estudios toxicológicos *in vitro* que permiten asegurar su biocompatibilidad. En esta revisión se mencionan las principales características de las AuNPs que permiten usarlas en estas terapias y algunos de los estudios celulares realizados con ellas en cultivos de macrófagos para la obtención de concentraciones adecuadas y su futura aplicación médica.

**PALABRAS CLAVE:** nanopartículas, oro, nanotoxicología, macrófagos, cultivo celular.

## Introducción

Durante los últimos años y debido a las diferentes propiedades fisicoquímicas relacionadas con su pequeño tamaño, los nanomateriales (NMs) han sido objeto de interés para el estudio y aplicación en industrias como la electrónica, la médica, de ingeniería y de síntesis de nuevos materiales (Barrios, 2020: 1-2). Esto ha

---

Recibido: 24 de abril, 2023. Aceptado: 22 de noviembre, 2023. Publicado: 23 de enero, 2024.

\* Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Laboratorio de Simulación Química, UMIEZ. CDMX, México.

<sup>†</sup> Autor de correspondencia: drjvazque@unam.mx



permitido su mejora para los fines deseados, como por ejemplo, la fabricación de baterías con mayor duración y poco tiempo de carga, de materiales más ligeros y resistentes, la liberación y administración de fármacos auxiliares en el tratamiento de diversas enfermedades incluyendo el cáncer. De estos últimos, específicamente en el área medicinal y biológica, se requiere, para su aprobación y posterior uso, analizar e identificar su toxicidad mediante modelos *in vitro* e *in vivo*, los cuales brindan resultados para garantizar su seguridad y potencial uso como biomateriales, involucrando en ellos su manipulación desde su síntesis, exposición, comercialización y posterior eliminación (Mohammadpour *et al.*, 2020).

Estos NMs pueden ser desarrollados con distinta naturaleza química, como caso se tienen aquellos a base de polímeros, *quantum dots* (QD), derivados del carbono, cerámicos, óxidos metálicos y no metálicos, presentando estos últimos una gran compatibilidad y buenos resultados en el área biológica y estudios relacionados; por esto, día a día se buscan mejorar las propiedades fisicoquímicas de estas nanopartículas (NPs) metálicas. Una propiedad muy importante e interesante de estas NPs metálicas es el efecto llamado “resonancia localizada del plasmón de superficie” (LSPR, por sus siglas en inglés), el cual incrementa la señal en la detección de algunas moléculas de interés (Romo-Herrera *et al.*, 2016). Justamente, este efecto se presenta en las nanopartículas de oro (AuNPs), las cuales son ampliamente utilizadas en la industria de la electrónica y la medicina, por hacer énfasis en esta última (Fan y Zhang *et al.*, 2020).

Las AuNPs se pueden encontrar en diversas formas como nanoesferas, nanorodillos, nanoestrellas (figura 1), las cuales han servido como novedosos biomateriales, y cuyos diversos estudios y ensayos toxicológicos se han presentado en modelos *in vivo* e *in vitro*, arrojando concentraciones, tamaños y una estabilidad segura para ser utilizadas en los fines deseados (Salata *et al.*, 2004). Para el caso de los modelos *in vitro*, los macrófagos han sido una de las células más usadas debido a encontrarse en gran cantidad en órganos y tejidos del cuerpo, además de ser una de las primeras líneas de defensa del sistema inmunológico. La línea celular más empleada ha sido RAW 264.7 de origen murino, debido a su alto parecido con los macrófagos humanos (Ortega, 2015: 21).

FIGURA 1. Diversas formas de AuNPs.



Fuente: Elaboración de los autores.

## Nanopartículas de oro (AuNPs) y su aplicación en la biomedicina

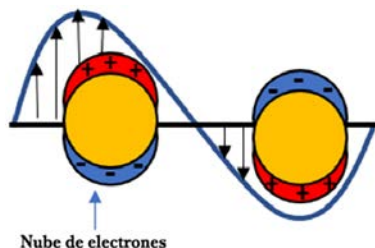
Las nanopartículas de naturaleza metálica y específicamente las basadas en oro han tenido amplias aplicaciones biomédicas. Estos beneficios se deben en

gran medida a sus diversas propiedades fisicoquímicas como su morfología, donde se pueden encontrar como destacables las nanoesferas, nanorrodillos y nanoestrellas por mencionar algunas (Elahi *et al.*, 2018). Además de su característica óptica en la cual destaca la resonancia localizada del plasmón de superficie (LSPR), la cual puede ser modificada para los fines deseados, al alterar la forma y tamaño de las AuNPs, por la facilidad en el cambio de esta propiedad; y, además, la simpleza en la síntesis de estas ha permitido el uso de las nanoesferas como tratamiento contra el cáncer mediante radioterapia y la funcionalización con fármacos oncológicos para su administración en células blanco. Para el caso de los nanorrodillos, estos también han sido empleados directamente como anticancerígenos y acarreadores de fármacos de liberación directa o prolongada y, por último, las nanoestrellas de oro han sido empleadas como biosensores y bioetiquetadores inteligentes (Sztandera *et al.*, 2018).

## Importancia y beneficios de la resonancia localizada del plasmón de superficie (LSPR)

Para las nanopartículas metálicas y principalmente las AuNPs con morfología compleja (nanoestrellas y nanopoliedros), una de las propiedades más importantes es su efecto óptico, del cual se tiene una cercana relación con el efecto LSPR, cuyo significado en inglés es “localized surface plasmon resonance”. Este efecto se debe al movimiento oscilante y grupal dado entre los electrones desapareados y libres en la superficie del oro como nanopartícula, en resultado a un haz electromagnético empleado en ellas (figura 2). En este caso, esta radiación está dada por la longitud espectral del infrarrojo cercano, debido a ello su gran dependencia del tamaño y forma que tenga la AuNP usada. (Liz-Marzán *et al.*, 2004). La importancia de este efecto radica en la terapia fototérmica debido a su gran capacidad para absorber la luz y la deslocalización electrónica que produzca, logrando alterar el potencial de membrana de las células blanco. Además de ampliar la señal electromagnética de biomoléculas en concentraciones muy bajas, y que sea de interés su caracterización (Ding-X *et al.*, 2014).

**FIGURA 2.** Representación del efecto LSPR en AuNPs.



Fuente: Elaboración de los autores.

## Nanopartículas anisotrópicas: ¿cómo modificar el efecto LSPR para detectar moléculas de interés?

Con el entendimiento acerca del efecto LSPR y su alcance para aplicaciones médicas, es importante la modificación y manipulación de este para los fines deseados, la morfología de las AuNPs es una característica relevante que ayuda a controlar las propiedades ópticas aprovechando el factor de anisotropía. En esta manipulación destacan, sobre otras nanopartículas, las formas con puntas agudas, pues es en estas zonas donde ocurre una gran concentración de campos eléctricos debido a la alta acumulación de electrones, por lo tanto, una mayor densidad electrónica (Romo-Herrera *et al.*, 2016).

Nanopartículas con forma de estrella, polígonos y cubos dependen mucho de las condiciones usadas durante su síntesis, por ello, este paso es crucial; de estos métodos, uno de los más importantes y por ende de los más utilizados es el método de química húmeda, también conocido como método coloidal, el cual permite controlar la morfología de la AuNP sintetizada y el tamaño de la nanopartícula anisotrópica deseada. La síntesis consta de tres pasos básicos y generales, siendo el primero la creación de AuNPs en forma esférica y con un tamaño muy pequeño, las cuales servirán como semillas en su posterior crecimiento; el siguiente paso es la dilución de estas para controlar el tamaño de la nanopartícula deseada, teniendo en cuenta que entre mayor dilución se realice, se obtendrá un mayor tamaño; por último y más crucial es el crecimiento, pues dependiendo de la forma a obtener, son los reactivos a ocupar, dando mayor importancia a los agentes reductores ocupados (Rioux *et al.*, 2015).

### Simulación computacional del efecto LSPR

De acuerdo con el punto anterior, el efecto LSPR puede ser modificado mediante la variación de las propiedades fisicoquímicas de las AuNPs, sin embargo, estos procesos requieren la inversión de tiempo e insumos que pueden no dar los resultados deseados, para ello existen técnicas de simulación computacional con las cuales se pueden modelar estructuras y cuerpos sólidos con diferente geometría y así obtener datos teóricos de su densidad electromagnética y posible aumento del efecto LSPR. Uno de ellos es el método de las diferencias finitas en el dominio del tiempo (FDTD), en el cual se resuelven las ecuaciones de Maxwell directamente en el dominio del tiempo, para obtener algoritmos que simulen el campo eléctrico y magnético dentro y alrededor del cuerpo de interés (Oskooi *et al.*, 2010). Este tipo de método, además de ser empleado en el campo del desarrollo de nuevos NMs como en este caso las AuNPs, puede ser usado en electroquímica para el desarrollo de nuevos semiconductores y conductores (Pilay *et al.*, 2020). En el Laboratorio de Simulación Química de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la Universidad Nacional Autónoma de México (FES Z-UNAM) se realizan esta y otros



tipos de simulaciones permitiéndonos obtener información teórica para ser utilizada por otros departamentos, por ejemplo, en la síntesis de nuevos materiales y moléculas de interés farmacéutico, lo cual hace de la simulación computacional ser de carácter interdisciplinario. Además, los simuladores en fisicoquímica aplicada permiten una mejor planeación de experimentos, siendo posible modificar las variables termodinámicas que afectan las separaciones o determinaciones analíticas (Vázquez-Lira, 2023).

## Toxicidad de las AuNPs en macrófagos: la importancia y respuesta de su evaluación en esta línea celular

Las AuNPs han ganado gran interés y aplicaciones en diversas áreas, como la medicina, la electrónica y la industria. Sin embargo, es fundamental comprender y evaluar los posibles efectos adversos que estas nanopartículas pueden tener en la salud humana y el medio ambiente. La evaluación toxicológica de las AuNPs desempeña un papel crucial en la determinación de su seguridad y en la adopción de medidas adecuadas para minimizar cualquier riesgo potencial a continuación se mencionan los diferentes efectos a nivel biológico y ambiental.

- a) *Exposición humana*: con el aumento en el uso de las AuNPs en productos y dispositivos comerciales, la probabilidad de exposición humana a estas nanopartículas ha aumentado significativamente. Estas pueden ingresar al cuerpo humano a través de diferentes vías, como la inhalación, la ingestión o la absorción a través de la piel, por lo tanto, es esencial evaluar los posibles efectos tóxicos que puedan tener en los sistemas biológicos y determinar los niveles seguros de exposición (Navarro *et al.*, 2021).
- b) *Potencial de toxicidad*: aunque las AuNPs se consideran generalmente seguras, su tamaño nanométrico y su alta reactividad área-superficie pueden dar lugar a propiedades únicas que podrían desencadenar efectos tóxicos. Estas nanopartículas pueden generar especies de oxígeno altamente reactivas (ROS), causar estrés oxidativo y dañar las células (Khan *et al.*, 2019). Además, su capacidad para atravesar las barreras biológicas, como la barrera hematoencefálica o la barrera placentaria, plantea preocupaciones adicionales sobre su toxicidad potencial en órganos y tejidos específicos (Ivlieva *et al.*, 2023).
- c) *Interacciones con biomoléculas*: las AuNPs pueden interactuar con una amplia gama de biomoléculas presentes en el cuerpo humano, como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Estas interacciones pueden alterar la estructura y función de estas, lo cual, a su vez, podría tener consecuencias adversas en los procesos biológicos normales. Comprender cómo las nanopartículas de oro interactúan y afectan los componentes esenciales de los sistemas biológicos es fundamental para evaluar su seguridad y minimizar cualquier riesgo potencial.

- d) *Acumulación y distribución en tejidos*: después de la exposición, las AuNPs pueden acumularse en diferentes tejidos y órganos del cuerpo. Esta acumulación puede tener implicaciones tanto a corto como a largo plazo en términos de toxicidad y biodisponibilidad de las nanopartículas, la evaluación de la distribución de las AuNPs en el cuerpo y su capacidad de acumulación en tejidos específicos es esencial para comprender los posibles efectos adversos y determinar sus niveles de seguridad (Morales-Dalmau *et al.*, 2019).
- e) *Potencial ambiental*: además de evaluar la toxicidad en humanos, también es de vital importancia considerar los posibles efectos de las AuNPs en el medio ambiente, pues estas pueden ingresar en los ecosistemas acuáticos y terrestres a través de diversas rutas, como el vertido de productos comerciales o la liberación de residuos industriales (Ermolini *et al.*, 2018).

Para la evaluación toxicológica de los anteriores efectos, se ha desarrollado la nanotoxicología, una rama de las nanociencias encargada del estudio de los mecanismos celulares, detección, identificación e interfaz nano-biológica que tienen las diversas células con las nanopartículas de cualquier naturaleza; y, en esta revisión, específicamente para AuNPs. Con esto se puede garantizar la bioseguridad en su uso, haciendo énfasis en su biocompatibilidad para sistemas *in vitro* e *in vivo* (Radomska *et al.*, 2016). Entendiendo así, los diversos mecanismos de internalización que dependerán fuertemente de sus propiedades fisicoquímicas como el tamaño, distribución, funcionalización y formas de las AuNPs expuestas, provocando, además de los beneficios deseados, alteraciones celulares y por consiguiente modificaciones en el funcionamiento del organismo (Xiapin-Duan *et al.*, 2013).

Los mecanismos de internalización como endocitosis dependiente de clatrina, de caveolinas, de receptores, fagocitosis y macropinocitosis son las formas en que estos materiales se internan e interactúan con la célula, teniendo en común que en general incluyen la formación de vacuolas que atrapan a las AuNPs, se menciona que estos mecanismos no son incluyentes y que una nanopartícula puede presentar distintas vías de internalización en un solo momento, y esto también dependerá del tipo de célula con la cual se encuentren interactuando, así como la actividad fagocítica que presenten, teniendo como ejemplo a los monocitos/macrófagos (Shang *et al.*, 2014). Durante la relación existente AuNP-célula, se producen distintas respuestas celulares como la citotoxicidad, en la cual se pueden provocar daños y cambios morfológicos en la membrana celular al alterar el intercambio de sustancias con el exterior (Lewinski *et al.*, 2018).

Este estrés oxidativo se provoca por el intercambio electrónico de los iones de oro (I) y sus electrones libres con cadenas proteicas, como la cadena respiratoria mitocondrial, provocando la formación de las especies de ROS (J. J-Li *et al.*, 2010). Esta genotoxicidad se debe al daño genético que puede pro-

vocar cambios irreversibles en el ADN, desencadenando deleciones y aberraciones cromosómicas (Paino *et al.*, 2012).

Al final, las respuestas inflamatorias a causa de una respuesta inmunológica por la secreción excesiva de enzimas digestivas, citocinas, granzimas, etc., que al no poder eliminar en su totalidad las AuNPs, aumentan la producción de estas comprometiendo el sitio del daño y los lugares adyacentes (Gutiérrez-Araujo *et al.*, 2021).

Al realizar una adecuada evaluación toxicológica para las diferentes AuNPs, en conjunto con su reporte de su concentración, tamaño y exposición controlada, podrán ser utilizadas como un biomaterial con alto potencial médico y biológico, aquí radica la importancia de emplear modelos toxicológicos como las líneas celulares, poniendo de ejemplo células como los macrófagos (Zong *et al.*, 2017), los cuales son células muy importantes, pertenecen al sistema inmunitario innato, tienen funciones fagocíticas las cuales son necesarias en la respuesta inmune del tipo adaptativo, pues son parte de las tareas con fines eliminativos, reparadores, modeladores, y resaltando el fenómeno de la angiogénesis (Mosser *et al.*, 2021). La distribución de los macrófagos en el cuerpo humano se encuentra tanto en tejidos y órganos, debido a esto su nombre y morfología va a cambiar dependiendo de donde se localicen.

Por otro lado, en relación con las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas, estas pueden modificar el grado de internalización en células inmunológicas y así alterar su toxicidad o ser utilizadas en concentraciones adecuadas para uso terapéutico, mediante inmunomodulación o inmunosupresión, como se ha hecho con nanopartículas de naturaleza metálicas como las nanopartículas de plata (AgNPs) y las referidas en esta revisión, las AuNPs.

Teniendo como ejemplos las evaluaciones realizadas en el Instituto de Magnetismo Aplicado en Madrid, España, por un grupo de investigación, en los cuales aprovecharon la gran plasticidad de los macrófagos y las propiedades fisicoquímicas de nanopartículas metálicas y óxido-metálicas como estrategia inmunoterapéutica en cáncer (Hernando *et al.*, 2007).

Por las características anteriores, esta línea celular es un buen modelo de estudio *in vitro* para la evaluación de la toxicidad de las AuNPs; para este tipo de investigaciones, durante los últimos años se han utilizado dos líneas celulares derivadas de origen murino, como son J774A.1 y RAW 264.7 (Gao *et al.*, 2017), siendo esta última la que tiene mayor relevancia debido a su alta producción de especies de nitrógeno altamente reactivas (RNS), en presencia de lipopolisacáridos, lo cual es un comportamiento muy similar a los macrófagos del cuerpo humano (Nguyen *et al.*, 2016). Estas células murinas fueron aisladas por primera vez por un grupo de investigación norteamericano, para posteriormente ser cultivadas y comercializadas (Ralph *et al.*, 1977).

A continuación, se detallan algunas de las respuestas celulares que se han observado en los macrófagos después de la exposición a nanopartículas de oro.

- 1) *Fagocitosis y endocitosis*: los macrófagos son células fagocíticas especializadas en la captura y eliminación de partículas extrañas. Cuando se exponen a las nanopartículas de oro, los macrófagos pueden fagocitarlas, lo cual implica la internalización de las AuNPs en vesículas llamadas fagosomas. Además de la fagocitosis, estas partículas pueden ser internalizadas por los macrófagos a través de otros mecanismos de endocitosis, como la pinocitosis y la endocitosis mediada por receptores (Zhang-S *et al.*, 2022).
- 2) *Liberación de citocinas inflamatorias y quimiocinas*: la exposición a AuNPs puede desencadenar la liberación de citocinas inflamatorias por parte de los macrófagos. Estas citocinas incluyen interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina-6 (IL-6), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), e interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), entre otras. Estas citocinas inflamatorias pueden propagar la respuesta inflamatoria y reclutar células inflamatorias adicionales al sitio de exposición. Además, los macrófagos también pueden secretar quimiocinas, como la quimiocina CCL2/MCP-1, que reclutan células inflamatorias específicas al lugar de exposición (Chen *et al.*, 2021).
- 3) *Producción de especies de oxígeno altamente reactivas (ROS)*: la exposición a las AuNPs puede estimular la producción de las ROS en los macrófagos, estas especies reactivas, las cuales incluyen al peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y los radicales libres de oxígeno, pueden desempeñar un papel dual. Por un lado, las ROS pueden actuar como señales de señalización celular, participando en procesos como la activación de vías de señalización intracelular. Por otro lado, un exceso de estas especies puede llevar al estrés oxidativo, dañando las estructuras celulares y contribuyendo a la inflamación y la respuesta inmune (Swartzwelter *et al.*, 2020).
- 4) *Activación de vías de señalización intracelular*: durante la exposición de los macrófagos con las AuNPs, se pueden activar una variedad de vías de señalización intracelular en los macrófagos. Estas vías pueden incluir la vía del factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), la vía de señalización mitógeno-activada proteína quinasa (MAPK), como la vía de la quinasa p38 y la vía de la quinasa JNK, así como la vía de señalización del inflamasoma. La activación de estas vías de señalización puede regular la expresión génica, la respuesta inflamatoria y la supervivencia celular (Mi *et al.*, 2022).
- 5) *Modulación de la respuesta inmunológica*: la exposición a nanopartículas de oro puede influir en la respuesta inmunológica de los macrófagos. Estos pueden alterar la función de estas células, por ejemplo, en la presentación de antígenos, la producción de citocinas y la capacidad de activación de otras células inmunitarias. Además, las AuNPs pueden influir en la respuesta adaptativa, afectando la diferenciación y la función de linfocitos T y B (Abuarqoub *et al.*, 2022).

Es importante destacar que las respuestas celulares a la exposición de las AuNPs pueden ser altamente dependientes de las características específicas

de las partículas como tamaño y forma. Además, la interacción entre estas y los macrófagos puede ser compleja y aún no comprendida en su totalidad. Por lo tanto, es esencial continuar investigando para obtener un entendimiento más completo de los mecanismos involucrados en la respuesta de los macrófagos a las AuNPs.

En la tabla 1, se muestran diversos estudios de respuestas celulares de macrófagos en relación con la exposición de las nanopartículas de oro, se presenta en general la existencia de un incremento en producción de ROS y de citocinas proinflamatorias.

**TABLA 1.** Respuestas celulares de macrófagos, por la exposición de AuNPs.

AuNPs	Respuesta celular	Línea celular	Referencia
Nanoesferas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Incremento en citocinas inflamatorias IL-6 y TNF-<math>\alpha</math>.</li> <li>• Incremento en producción de ROS.</li> <li>• Disminución de producción de RNS.</li> </ul>	RAW 264.7	Zhang-Q <i>et al.</i> (2011)
Nanoesferas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminución de proliferación celular.</li> <li>• Cambios en la morfología.</li> <li>• Incrementos en producción de ROS.</li> </ul>	RAW 264.7	Carlander <i>et al.</i> (2019)
Nanorrodillos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Modificación del sistema endosomal.</li> <li>• Modificación de la estructura celular.</li> <li>• Incremento en la actividad fagocítica.</li> </ul>	J774A1	Spedalieri <i>et al.</i> (2021)
Nanoesferas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Incremento en la producción de RNS y ROS.</li> <li>• Aumento en efectos antiinflamatorios e inmunosupresivos.</li> <li>• Incremento en secreción de citocinas inflamatorias.</li> </ul>	THP1	Mc Carrick <i>et al.</i> (2021)
Nanoesferas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Incremento en la producción de ROS.</li> <li>• Incremento en la producción de IFN-<math>\alpha</math> e IL-6.</li> <li>• Disminución de la capacidad fagocítica.</li> </ul>	J774A1	Dey <i>et al.</i> (2021)
Nanoesferas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminución en la producción de RNS y TNF-<math>\alpha</math>.</li> <li>• Disminución de citocinas inflamatorias.</li> </ul>	RAW 264.7	Kwak <i>et al.</i> (2022)
Nanorrodillos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento en la producción de IL-18.</li> <li>• Disminución en la viabilidad celular.</li> <li>• Incremento del inflamasoma.</li> </ul>	THP1	Vandebriel <i>et al.</i> (2022)
Nanoestrellas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminución de la viabilidad celular.</li> <li>• Incremento en la producción de citocinas inflamatorias.</li> </ul>	C57BL/6	Ahmed <i>et al.</i> (2022)

Fuente: Elaboración de los autores.

Un grupo de investigación asoció que un tamaño menor de nanoesferas de oro de 13 nm facilita la internalización de estas en las células, por lo cual causan mayor toxicidad en comparación con nanoesferas de 45 nm, ambas a una concentración de 60  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Goodman *et al.*, 2004). Por lo tanto, paráme-

tros no solo como la concentración han sido evaluados. Otros estudios compararon el impacto que tiene la forma de las nanopartículas en la viabilidad y morfología celular, teniendo en cuenta los antecedentes en las concentraciones anteriores. Para ello se hicieron valer de dos formas comúnmente sintetizadas de AuNPs para esos años, las nanoesferas y los nanorrodillos de oro, el tamaño utilizado para cada una de ellas fue de 50 y 45 nm, respectivamente, con una exposición celular de 6 h a dos diferentes concentraciones (40 y 60 µg/mL), mostrando que los nanorrodillos presentan mayor daño citotóxico en los macrófagos, así como una disminución en su viabilidad celular, dando a entender que la forma, debido al incremento en su área superficial y la densidad electrónica por parte de las AuNPs que se presentan, tienen una mayor influencia para el daño en estos parámetros (Arnida *et al.*, 2011). Por lo tanto, con estos estudios se establecieron las bases en las cuales se menciona que un menor tamaño, concentraciones y tiempo de exposición altos, así como la complejidad morfológica y el incremento en el área superficial, son importantes en términos de producir daño celular en las distintas líneas celulares de macrófagos.

En la tabla 2, se presenta la comparación de la toxicidad causada por distintos tamaños de esferas y una misma concentración de AuNPs en la viabilidad celular, concluyendo que a un menor tamaño de partícula existe un decremento en la viabilidad celular, mientras que a mayor tamaño no existe una disminución significativa y en algunos casos es parte de un aumento en la proliferación celular.

**TABLA 2.** Porcentaje de viabilidad celular de macrófagos, por la exposición de nanoesferas de oro a distintos tamaños

Tamaño (nm)	Línea celular	Concentración y tiempo de incubación	Ensayo	Porcentaje de viabilidad	Referencias
13, 45	J774A1	60 µg/mL, 24 h	MTT	93%, 98%	Goodman <i>et al.</i> (2004)
1, 15	J774A1	10 µg/mL, 12 h	MTT	88%, 92%	Pan <i>et al.</i> (2007)
20, 40	THP1	10 µg/mL, 24 h	WST-1	84%, 108%	Haase <i>et al.</i> (2011)
10, 300	RAW 264.7	10 µg/mL, 48 h	PI	100%, 98%	Bancos <i>et al.</i> (2015)
12.1, 31.1, 62.7	RAW 264.7	20 µg/mL, 24 h	MTT	77%, 85%, 105%	Chen-X <i>et al.</i> (2017)
20, 28	THP1	0.6 µg/mL, 24 h	WST-1	98%, 97%	De Matteis <i>et al.</i> (2021)

Fuente: Elaboración de los autores.

Con el desarrollo de la nanotecnología en los últimos años y su aplicación para diversos campos, las nanopartículas de oro han tenido una evolución constante y con ello la creación de complejas formas como las nanoestrellas de oro, las cuales tienen una mayor área superficial y concentración electrónica en comparación con los nanorrodillos y las nanoesferas mencionadas. Esta nueva forma permite el incremento de su efecto SERS para el marcaje y

detección de nuevas moléculas, por esto Gao y su grupo de investigación evaluaron su toxicidad en macrófagos, con respecto a los antecedentes planteados por Arnida. Las nanoestrellas estudiadas tenían un tamaño de 34 nm y fueron comparadas con nanoesferas y nanorrodillos de 50 nm en concentraciones de 40 µg/mL en la línea RAW 264.7, agregando además otros macrófagos como J774A.1, durante 24 h. Encontrando resultados similares entre estas dos estirpes celulares, donde las nanoestrellas presentaban una toxicidad representativa con respecto a las otras dos formas, confirmando con los estudios previos de las propiedades fisicoquímicas de las AuNPs y su influencia en la toxicidad celular. Estos estudios y los que se realicen en años posteriores adquieren mucha relevancia como nanoherramientas en futuras aplicaciones biomédicas, por ejemplo, en tratamiento contra el cáncer, por lo tanto, es prescindible encontrar las concentraciones y tiempo de exposición adecuados de cada forma de las AuNPs y su potencial beneficio (Adewale *et al.*, 2019; Carnovale *et al.*, 2019).

## Conclusiones

Las nanopartículas metálicas, específicamente las de oro, tienen grandes propiedades ópticas, debido al efecto LSPR que presentan con sus diferentes morfologías y tamaños, esto les da una amplia aplicación en diferentes campos como la electrónica, síntesis de nuevos materiales y la biomédica. Poniendo el ejemplo de tratamientos contra el cáncer, biomarcadores y bioetiquetadores de moléculas de interés; sin embargo, es necesario conocer el efecto toxicológico que pueden tener, así como sus tamaños y concentraciones seguras de cada una de las distintas formas. Para su evaluación *in vitro*, los macrófagos son un buen modelo celular al ser parte del mantenimiento, función y respuesta inmune del organismo, por lo cual son una de las primeras células de exposición con los nanomateriales. Este tipo de estudios llevados a cabo a lo largo de estos años permite conocer los mecanismos de toxicidad de las AuNPs *in vitro*, y, posteriormente, trasladarse *in vivo*, aunque es necesario realizar estas investigaciones debido al incremento, uso y síntesis de nuevas nanopartículas con propiedades fisicoquímicas diferentes. Además, esto va a permitir modificar a conveniencia estas características para los diversos fines terapéuticos deseados.

## Referencias

- Abuarqoub, Duaa, Nouf N. Mahmoud, Rand Zaza, Rana Abu-Dahab, Enam A. Khalil y Dima A. Sabbah. (2022). The *in vitro* immunomodulatory effects of gold nanocomplex on THP-1-derived macrophages. *Journal of Immunology Research*, (febrero): 1-8. <https://doi.org/10.1155/2022/6031776>.
- Adewale, Olusola B., Hajierah Davids, Lynn Cairncross y Saartjie Roux. (2019). Toxicological behavior of gold nanoparticles on various models: influence of physi-

- cochemical properties and other factors. *International Journal of Toxicology*, 38(5): 357-84. <https://doi.org/10.1177/1091581819863130>.
- Ahmed, Wajih, Haolan Zhang y Changyou Gao. (2022). Influence of enantiomeric polylysine grafted on gold nanorods on the uptake and inflammatory response of bone marrow-derived macrophages *in vitro*. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 110(1): 143-55. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37272>.
- Andrea Barrios, Gumiel. (2020). *Síntesis y aplicaciones de sistemas dendríticos nanoestructurados mediante procesos de dendronización*. Tesis doctoral. Universidad de Alcalá, 1-2.
- Arnida, M. M. Janát-Amsbury, A. Ray, C. M. Peterson y H. Ghandehari. (2011). Geometry and surface characteristics of gold nanoparticles influence their biodistribution and uptake by macrophages. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 77(3): 417-23. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2010.11.010>.
- Blog oficial del Dr. Juan Carlos Vázquez Lira. *Fisicoquímica interactiva*. <https://blogceta.zaragoza.unam.mx/fisico-qa/>.
- Carlander, Ulrika, Klara Midander, Yolanda S. Hedberg, Gunnar Johanson, Matteo Bottai y Hanna L. Karlsson. (2019). Macrophage-assisted dissolution of gold nanoparticles. *ACS Applied Bio Materials*, 2(3): 1006-16. <https://doi.org/10.1021/acsabm.8b00537>.
- Carnovale, Catherine, Gary Bryant, Ravi Shukla y Vipul Bansal. (2019). Identifying trends in gold nanoparticle toxicity and uptake: size, shape, capping ligand y biological corona. *ACS Omega*, 4(1): 242-56. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b03227>.
- Chen, Xinyi y Changyou Gao. (2017). Influences of size and surface coating of gold nanoparticles on inflammatory activation of macrophages. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 160(diciembre): 372-80. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.09.046>.
- Dey, Arindam K., Alexis Gonon, Eve-Isabelle Pécheur, Mylène Pezet, Christian Villiers y Patrice N. Marche. (2021). Impact of gold nanoparticles on the functions of macrophages and dendritic cells. *Cells*, 10(1): 96. <https://doi.org/10.3390/cells10010096>.
- Ding, Xianguang, Chi Hao Liow, Mengxin Zhang, Renjun Huang, Chunyan Li, He Shen, Mengya Liu *et al.* (2014). Surface plasmon resonance enhanced light absorption and photothermal therapy in the second near-infrared window. *Journal of the American Chemical Society*, 136(44): 15684-93. <https://doi.org/10.1021/ja508641z>.
- Elahi, Narges, Mehdi Kamali y Mohammad Hadi Baghersad. (2018). Recent biomedical applications of gold nanoparticles: a review. *Talanta*, 184(julio): 537-56. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.02.088>.
- Ermolin, Mikhail S., Petr S. Fedotov, Alexandr I. Ivaneev, Vasily K. Karandashev, Natalia N. Fedyunina y Andrey A. Burmistrov. (2018). A contribution of nanoscale particles of road-deposited sediments to the pollution of urban runoff by heavy metals. *Chemosphere*, 210(noviembre): 65-75. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.150>.
- Fan, Miao, Yu Han, Shutao Gao, Hongyu Yan, Lingzhi Cao, Zhenhua Li, Xing-Jie Liang



- y Jinchao Zhang. (2020). Ultrasmall gold nanoparticles in cancer diagnosis and therapy. *Theranostics*, 10(11): 4944-57. <https://doi.org/10.7150/thno.42471>.
- Gao, Jie, María Sánchez-Purra, Hao Huang, Shunhao Wang, Yunan Chen, Xuefeng Yu, Qian Luo, Kimberly Hamad-Schifferli y Sijin Liu. (2017). Synthesis of different-sized gold nanostars for raman bioimaging and photothermal therapy in cancer nanotheranostics. *Science China Chemistry*, 60(9): 1219-29. <https://doi.org/10.1007/s11426-017-9088-x>.
- Goodman, Catherine M., Catherine D. McCusker, Tuna Yilmaz y Vincent M. Rotello. (2004). Toxicity of gold nanoparticles functionalized with cationic and anionic side chains. *Bioconjugate Chemistry*, 15(4): 897-900. <https://doi.org/10.1021/bc049951i>.
- Gutiérrez-Araujo, Melissa Isabel, Rafael Vázquez-Duhalt y Karla Oyuky Juárez-Moreno. (2021). Respuestas celulares de macrófagos a nanopartículas de óxidos metálicos. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, 14(27): 1e-16e. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2021.27.69661>.
- Haase, A., J. Tentschert, H. Jungnickel, P. Graf, A. Mantion, F. Draude, J. Plendl *et al.* (2011). Toxicity of silver nanoparticles in human macrophages: uptake, intracellular distribution and cellular responses. *Journal of Physics: Conference Series*, 304(julio): 012030. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/304/1/012030>.
- Hernando, G. A. (2007) Nanotecnología y nanopartículas magnéticas: la física actual en lucha contra la enfermedad. *Rev. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 101(2): 321-327.
- Ivlieva, Alexandra L., Elena N. Petritskaya, Dmitriy A. Rogatkin, Inga Zinicovskaia, Nikita Yushin y Dmitrii Grozdov. (2023). Impact of chronic oral administration of gold nanoparticles on cognitive abilities of mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(10): 8962. <https://doi.org/10.3390/ijms24108962>.
- Khan, Ibrahim, Khalid Saeed y Idrees Khan. (2019). Nanoparticles: properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7): 908-31. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>.
- Kwak, Gi-Young, Yaxi Han, Sul Baik, Byoung-Man Kong, Deok-Chun Yang, Se-Chan Kang y Johan Sukweenadhi. (2022). Gold nanoparticles green-synthesized by the *Suaeda japonica* leaf extract and screening of anti-inflammatory activities on RAW 267.4 macrophages. *Coatings*, 12(4): 460. <https://doi.org/10.3390/coatings12040460>.
- Lewinski, Nastassja, Vicki Colvin y Rebekah Drezek. (2008). Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*, 4(1): 26-49. <https://doi.org/10.1002/smll.200700595>.
- Li, Jasmine J., Deny Hartono, Choon-Nam Ong, Boon-Huat Bay y Lin-Yue L. Yung. (2010). Autophagy and oxidative stress associated with gold nanoparticles. *Biomaterials*, 31(23): 5996-6003. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.04.014>.
- Liz-Marzán, L. M. (2020). Nanometals: formation and color. In *Colloidal synthesis of plasmonic nanometals*. Jenny Stanford Publishing, 1-13.
- Matteis, Valeria de, Mariafrancesca Cascione, Loris Rizzello, Daniela Erminia Manno, Claudia di Guglielmo y Rosaria Rinaldi. (2021). Synergistic effect induced by gold nanoparticles with polyphenols shell during thermal therapy: macro-

- phage inflammatory response and cancer cell death assessment. *Cancers*, 13(14): 3610. <https://doi.org/10.3390/cancers13143610>.
- McCarrick, Sarah, Klara Midander, Magdaléna Krausová, Ulrika Carlander y Hanna L. Karlsson. (2021). Gold nanoparticles dissolve extracellularly in the presence of human macrophages. *International Journal of Nanomedicine*, 16(August): 5895-5908. <https://doi.org/10.2147/IJN.S314643>.
- Mi, Xiao-Jie, Xing Yue Xu, Han Sol Choi, Hoon Kim, Ik-Hyun Cho, Tae-Hoo Yi y Yeon-Ju Kim. (2022). The immune-enhancing properties of Hwanglyeonhaedok-Tang-Mediated biosynthesized gold nanoparticles in macrophages and splenocytes. *International Journal of Nanomedicine*, 17(enero): 477-94. <https://doi.org/10.2147/IJN.S338334>.
- Mohammadpour, Raziye, Darwin L. Cheney, Jason W. Grunberger, Mostafa Yazdimamaghani, Jolanta Jedrzkiewicz, Kyle J. Isaacson, Marina A. Dobrovolskaia y Hamidreza Ghandehari. (2020). One-year chronic toxicity evaluation of single dose intravenously administered silica nanoparticles in mice and their *ex vivo* human hemocompatibility. *Journal of Controlled Release*, 324(August): 471-81. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.05.027>.
- Mosser, David M., Kajal Hamidzadeh y Ricardo Goncalves. (2021). Macrophages and the maintenance of homeostasis. *Cellular & Molecular Immunology*, 18(3): 579-87. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00541-3>.
- Navarro Espinoza, Sofía, Diana Meza-Figueroa, Diego Soto-Puebla, Beatriz Castañeda y Martín Pedroza-Montero. (2021). Nanopartículas: efectos en la salud humana y el medio ambiente. *Epistemos*, 15(30). <https://doi.org/10.36790/epistemos.v15i30.166>.
- Nguyen, Kathy C., Laura Richards, Andrey Massarsky, Thomas W. Moon y Azam F. Tayabali. (2016). Toxicological evaluation of representative silver nanoparticles in macrophages and epithelial cells. *Toxicology in Vitro*, 33(junio): 163-73. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.03.004>.
- Ortega Reyes, Jennifer. (2015). *Expresión y liberación de las formas de furina durante la diferenciación celular y la con LPS*. Tesis de maestría. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 21.
- Oskooi, Ardavan F., David Roundy, Mihai Ibanescu, Peter Bermel, J. D. Joannopoulos y Steven G. Johnson. (2010). Meep: a flexible free-software package for electromagnetic simulations by the FDTD method. *Computer Physics Communications*, 181(3): 687-702. <https://doi.org/10.1016/j.cpc.2009.11.008>.
- Paino, Iêda María Martínez, Valéria Spolon Marangoni, Rita de Cássia Silva de Oliveira, Lusânia María Greggi Antunes y Valtencir Zucolotto. (2012). Cyto and genotoxicity of gold nanoparticles in human hepatocellular carcinoma and peripheral blood mononuclear cells. *Toxicology Letters*, 215(2): 119-25. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.09.025>.
- Pan, Yu, Sabine Neuss, Annika Leifert, Monika Fischler, Fei Wen, Ulrich Simon, Günter Schmid, Wolfgang Brandau y Willi Jahnen-Dechent. (2007). Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles. *Small*, 3(11): 1941-49. <https://doi.org/10.1002/sml.200700378>.

- Piltyay, Stepan Yrew Bulashenko, Yevhenii Herhil y Oleksandr Bulashenko. (2020). *FDTD and FEM simulation of microwave waveguide polarizers*. En 2020 IEEE 2nd International Conference on Advanced Trends in Information Theory (ATIT). IEEE, 357-63. <https://doi.org/10.1109/ATIT50783.2020.9349339>.
- Radomska, Anna, Jaroslaw Leszczyszyn y Marek Radomski. (2016). The nanopharmacology and nanotoxicology of nanomaterials: new opportunities and challenges. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 25(1): 151-62. <https://doi.org/10.17219/acem/60879>.
- Ralph, P. y Nakoinz, I. (1977). Antibody-dependent killing of erythrocyte and tumor targets by macrophage-related cell lines: enhancement by PPD and LPS. *The Journal of Immunology*, 119(3): 950-954. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.119.3.950>.
- Rioux, David y Michel Meunier. (2015). Seeded growth synthesis of composition and size-controlled gold-silver alloy nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*, 119(23): 13160-68. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b02728>.
- Romo-Herrera, J. M., A. L. González, L. Guerrini, F. R. Castiello, G. Alonso-Núñez, O. E. Contreras y R. A. Alvarez-Puebla. (2016). A study of the depth and size of concave cube Au nanoparticles as highly sensitive SERS probes. *Nanoscale*, 8(13): 7326-33. <https://doi.org/10.1039/C6NR01155A>.
- Salata, O. (2004). Applications of nanoparticles in biology and medicine. *Journal of Nanobiotechnology*, 2(1): 3. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-2-3>.
- Shang, Li, Karin Nienhaus y Gerd Ulrich Nienhaus. (2014). Engineered nanoparticles interacting with cells: size matters. *Journal of Nanobiotechnology*, 12(1): 5. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-12-5>.
- Spedalieri, Cecilia, Gergo Péter Szekeres, Stephan Werner, Peter Guttmann y Janina Kneipp. (2021). Probing the intracellular bio-nano interface in different cell lines with gold nanostars. *Nanomaterials*, 11(5): 1183. <https://doi.org/10.3390/nano11051183>.
- Swartzwelter, Benjamin J., Francesco Barbero, Alessandro Verde, Maria Mangini, Mari-nella Pirozzi, Anna Chiara De Luca, Victor F. Puntès, Luciana C. C. Leite, Paola Italiani y Diana Boraschi. (2020). Gold nanoparticles modulate BCG-induced innate immune memory in human monocytes by shifting the memory response towards tolerance. *Cells*, 9(2): 284. <https://doi.org/10.3390/cells9020284>.
- Sztandera, Krzysztof, Michał Gorzkiewicz y Barbara Klajnert-Maculewicz. (2019). Gold nanoparticles in cancer treatment. *Molecular Pharmaceutics*, 16(1): 1-23. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b00810>.
- Tyner, Katherine, Simona Bancos y David Stevens. (2014). Effect of silica and gold nanoparticles on macrophage proliferation, activation markers, cytokine production y phagocytosis *in vitro*. *International Journal of Nanomedicine*, diciembre, 183. <https://doi.org/10.2147/IJN.S72580>.
- Vandebriel, Rob J., Sylvie Remy, Jolanda P. Vermeulen, Evelien G. E. Hurkmans, Kirsten Kevenaar, Neus G. Bastús, Beatriz Pelaz *et al.* (2022). Pathways related to NLRP3 inflammasome activation induced by gold nanorods. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(10): 5763. <https://doi.org/10.3390/ijms23105763>.

- Zhang, Qin, Victoria M. Hitchins, Amanda M. Schrand, Saber M. Hussain y Peter L. Goering. (2011). Uptake of gold nanoparticles in murine macrophage cells without cytotoxicity or production of pro-inflammatory mediators. *Nanotoxicology*, 5(3): 284-95. <https://doi.org/10.3109/17435390.2010.512401>.
- Zhang, Siyue, Fangyuan Xie, Kaichun Li, He Zhang, You Yin, Yuan Yu, Guangzhao Lu *et al.* (2022). Gold nanoparticle-directed autophagy intervention for antitumor immunotherapy via inhibiting tumor-associated macrophage M2 polarization. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 12(7): 3124-38. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.02.008>.
- Zong, Jingyi, Steven L. Cobb y Neil R. Cameron. (2017). Peptide-functionalized gold nanoparticles: versatile biomaterials for diagnostic and therapeutic applications. *Biomaterials Science*, 5(5): 872-86. <https://doi.org/10.1039/C7BM00006E>.

# Usos de las nanopartículas de plata (AgNPs) en odontología

## Uses of silver nanoparticles (AgNPs) in dentistry

Verónica Gasga Tapia,\* Aída Hamdan-Partida,\*\* Teresa Leonor Sánchez Pérez,\*\* Francisco Javier Martínez Ruiz,\*\* Jaime Bustos-Martínez\*\*<sup>†</sup>

**ABSTRACT:** AgNPs are being widely used due to their excellent antimicrobial properties that allow them to be incorporated in various areas of dentistry ranging from dental materials, orthodontics, endodontics, periodontics and prosthodontics among others. The objective of this work was to review the use of AgNPs in different areas of dentistry and the associated technological innovations. Systematic searches were performed in the EBSCOhost and PubMed databases, with the keywords: “AgNPs” or “silver nanoparticles”, “dentistry” or “dentist” or “dental”, and “materials” in a period from 2012 to 2023 in the English language. A total of 261 articles were found, repeated articles, review articles, and articles that did not belong to the dental area were eliminated. A total of 116 articles that met the criteria were included in the review, it can be observed that most of the research is *in vitro* studies and a small part is clinical research or conducted on animals, most of the research show positive and innovative results for the use of AgNPs. The studies show an optimal antibacterial activity of AgNPs when they are combined with dental materials such as rinses, irrigant solutions, cements, resins, adhesives, metal coatings, antiseptic solutions, surgical dressings, among others. The literature reviewed shows a promising future for AgNPs since they not only have antibacterial activity against the main aerobic and anaerobic Gram positive and Gram-negative oral bacteria but also antifungal effect and anti-inflammatory properties, without compromising the properties of most of the materials in which they are incorporated. However, their use remains controversial because these nanomaterials belong to a new class of material; progress in this new discipline (nanotoxicology) depends on finding methodologies that allow the evaluation of toxicity in chemical states, *in vitro* and clinical studies.

**KEYWORDS:** silver nanoparticles, AgNPs, odontology.

**RESUMEN:** Las AgNPs se están utilizando ampliamente debido a sus excelentes propiedades antimicrobianas que les permiten ser incorporadas en diversas áreas de la odontología, como materiales dentales, ortodoncia, endodoncia, periodoncia y prostodoncia, entre otras. El objetivo de este trabajo fue revisar el uso de las AgNPs en las diferentes áreas de la odontología y las innovaciones tecnológicas asociadas. Se realizaron búsquedas sistemáticas en las bases de datos EBSCOhost y PubMed, con las palabras clave: “AgNPs” o “silver nanoparticles”, “dentistry” o “dentist” o “dental”, “materials” en un periodo que va del 2012 al 2023, en idioma inglés. Se encontraron un total de 261 artículos, se eliminaron los artículos repetidos, artículos de revisión, o artículos que no pertenecían al área dental. Se incluyeron en la revisión 116 artículos que cumplían los criterios establecidos; se puede observar que la mayoría de las investigaciones son estudios *in vitro* y una pequeña parte son investigaciones clínicas o realizadas en animales, la mayoría de las investiga-

Recibido: 7 de septiembre, 2023.

Aceptado: 6 de diciembre, 2023.

Publicado: 13 de febrero, 2024.

\* Universidad Autónoma Metropolitana, doctorado en ciencias biológicas y de la salud. CDMX, México.

\*\* Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Xochimilco, Departamento de Atención a la Salud. CDMX, México.

<sup>†</sup> Autor de correspondencia: jbustos@correo.xoc.uam.mx



ciones muestran resultados positivos e innovadores para el uso de las AgNPs. Los estudios muestran una óptima actividad antibacteriana de las AgNPs cuando estas se combinan con materiales dentales como enjuagues, soluciones irrigantes, cementos, resinas, adhesivos, recubrimientos de metales, soluciones antisépticas, apósitos quirúrgicos, por mencionar algunos. La literatura revisada muestra un prometedor futuro para las AgNPs, pues no solo tienen actividad antibacteriana frente a las principales bacterias orales aerobias y anaerobias Gram positivas y Gram negativas, sino también un efecto antifúngico y propiedades antiinflamatorias, sin comprometer las propiedades de la mayoría de los materiales a los cuales son incorporadas. Sin embargo, su uso sigue siendo controvertido debido a que estos nanomateriales pertenecen a una nueva clase de material; el progreso en esta nueva disciplina (la nanotoxicología) depende de encontrar metodologías que permitan evaluar la toxicidad en estados químicos, estudios *in vitro* y clínicos.

**PALABRAS CLAVE:** nanopartículas de plata, AgNPs, odontología.

## Introducción

La plata se ha utilizado como un potente agente antimicrobiano y cicatrizante, desde la antigüedad fue utilizada empíricamente antes de conocerse que los microorganismos eran los agentes infecciosos. Los coloides eléctricos de plata se convirtieron en el pilar de la terapia antimicrobiana en la primera mitad del siglo XX y hasta la introducción de los antibióticos a principios de la década de 1940 (Alexander, 2009).

La forma ionizada de plata ( $\text{Ag}^{+1}$ ) tiene propiedades antimicrobianas conocidas y se ha empleado en el cuidado de heridas por quemaduras durante más de 200 años (Barillo y Marx, 2014; Noronha *et al.*, 2017).

La plata y los antimicrobianos a base de plata fueron relegados después del descubrimiento de los antibióticos. Con la aplicación de antibióticos durante casi un siglo, aparecieron cepas microbianas resistentes y los antibióticos se han vuelto menos eficaces. Sin embargo, gracias a la conjunción de la nanomedicina con la medicina tradicional podemos contar con una forma innovadora, la de las nanopartículas de plata (AgNPs) (Ebrahiminezhad *et al.*, 2016). Las AgNPs son partículas nanométricas (5nm-100nm), con una gran área de superficie y mayores interacciones biológicas, son estructuras funcionalizables, poseen baja volatilidad, baja toxicidad, elevada estabilidad térmica, lo cual conlleva a que la terapéutica antimicrobiana mejore (Liao *et al.*, 2019).

La nanomedicina ha tenido recientemente un gran auge, combina la nanotecnología con las ciencias biomédicas y farmacéuticas, se centra en el desarrollo de las nanopartículas (NP) para aplicaciones profilácticas, diagnósticas y terapéuticas. Ofrece, además, soluciones potenciales para muchos desafíos actuales y tiene beneficios farmacocinéticos, de eficacia seguridad y focalización cuando se incluyen en las formulaciones de medicamento o cuando se emplean en la elaboración de nanobiomateriales (Barkat *et al.*, 2018; Aziz *et al.*, 2017).

## Mecanismo de acción de las AgNPs

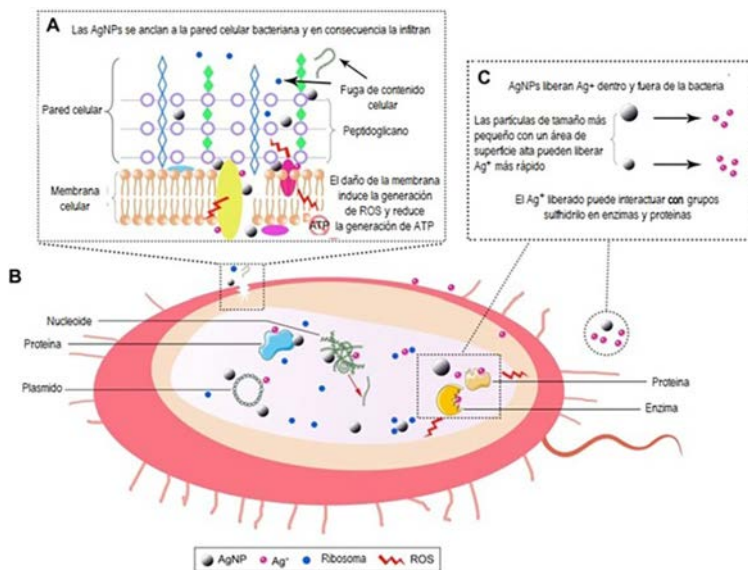
La acción antimicrobiana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, su mínima toxicidad a bajas concentraciones para las células de mamíferos y

la posibilidad de convertirse en antibióticos de nueva generación permiten que las AgNPs sean una alternativa importante para utilizarse contra la resistencia a los antibióticos (Aziz *et al.*, 2017).

Las AgNPs alteran el crecimiento microbiano al inhibir la absorción de fosfato, colapsar la fuerza motriz del protón, formar complejos con el ADN, la inactivación enzimática, así como la inhibición de la oxidación de la glucosa, cambiando la permeabilidad y el potencial de la membrana celular e induciendo a las bacterias a un estado viable pero no cultivable y eventualmente matándolas (Liao *et al.*, 2019).

Además, se ha demostrado que las AgNPs interrumpen la formación de biopelículas (Aziz *et al.*, 2017). Un mecanismo diferente de acción antibacteriana de las AgNPs es la formación de radicales libres y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), que inducen daño a la membrana y tienen una potente actividad bactericida (figura 1). Pero el mecanismo fundamental es la capacidad de las AgNPs para interferir con el proceso de replicación bacteriana al unirse al ADN o ARN. Los iones  $Ag^+$  interactúan fuertemente con grupos tiol en enzimas vitales y con las bases del ADN que contienen fósforo. La interacción de las AgNPs con el ADN puede evitar que el ADN se replique, evitando la división celular, lo cual podría llevar a la muerte celular (Dos Santos *et al.*, 2014) (figura 1).

FIGURA 1. Mecanismo antibacteriano de las AgNPs sobre las bacterias.

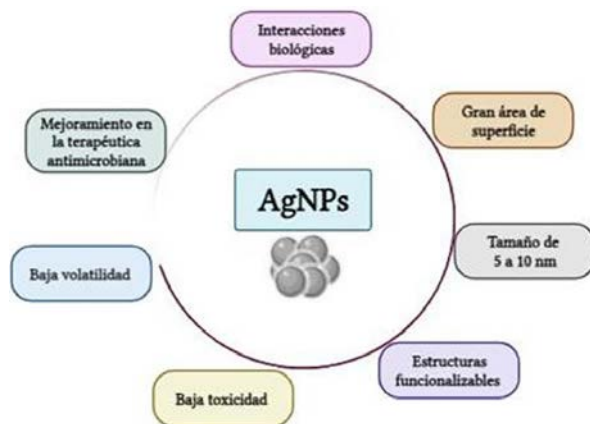


Las AgNPs se adhieren a la pared celular (A), posteriormente penetran llegando a la zona nuclear y otras partes de la célula (B), liberándose radicales  $Ag^+$  (C), lo cual produce varios efectos como daño al ADN y formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), entre otros mecanismos, produciendo la muerte de la célula.

Fuente: Adaptada de Qing *et al.* (2018).

Hoy en día, las AgNPs se utilizan en muchos productos comerciales, incluidos jabones, plásticos, alimentos, textiles, catéteres y vendajes. Se calcula que alrededor de 383 productos se basan en nanopartículas de plata en todo el mundo, lo cual corresponde al 24% de todos los nanoproductos utilizados en la actualidad (De Maties *et al.*, 2018) (figuras 2 y 3).

FIGURA 2. Características de las AgNPs.



Las AgNPs poseen diversas características haciéndolas únicas y mejora su efecto antibacteriano. Fuente: Elaboración de los autores (creado por BioRender.com).

FIGURA 3. Usos de las AgNPs.



Las AgNPs se usan en diferentes industrias, agroalimentaria, médica, farmacéutica, cosmológica, electrónica, entre otras. Se pueden emplear en plásticos, textiles, equipos médicos, contenedores, desinfectantes, materiales dentales, etcétera.

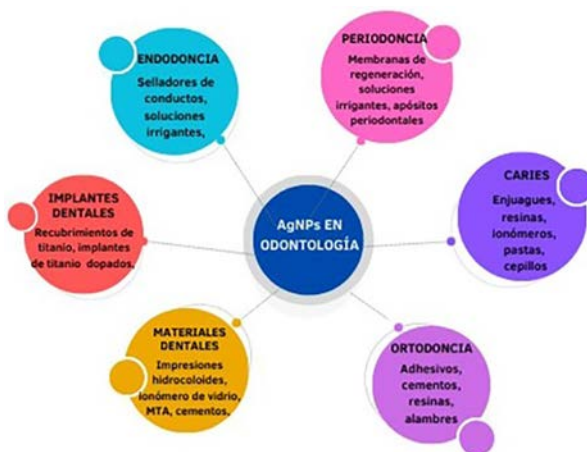
Fuente: Elaboración de los autores (creado por BioRender.com).



## AgNPs y la odontología

Particularmente en odontología, las nanopartículas han demostrado ser un área prometedora debido a la variedad de nuevas opciones y posibilidades de tratamiento, se han estudiado ampliamente por sus propiedades antimicrobianas contra bacterias, virus y hongos, presentando un potencial significativo para combatir la resistencia a los fármacos antimicrobianos (Ventola *et al.*, 2012) (figura 4).

FIGURA 4. AgNPs y sus aplicaciones en odontología.



Las AgNPs se pueden emplear en diversas áreas de la odontología.  
Fuente: Elaboración de los autores.

## Caries

La caries dental es una enfermedad oral infecciosa crónica común que afecta tanto a adultos como a niños (Wu *et al.*, 2018). *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) es una de las bacterias implicadas como uno de los agentes causales de la caries dental en humanos. Una propiedad importante de la virulencia de esta bacteria es su capacidad para formar biopelícula en las superficies de los dientes (antes denominada como placa dental). Este microorganismo produce polisacáridos extracelulares, glucosiltransferasas, múltiples proteínas de unión a glucano, antígeno de proteína C, proteína de unión a colágeno y proteínas de superficie coordinándose para inducir la formación de biopelícula, lo cual puede inducir caries dental (Ventola, 2017; Pelgrift *et al.*, 2013).

Las biopelículas bacterianas son un grave problema de salud mundial debido a su capacidad para tolerar antibióticos y sistemas de defensa del hospedero contribuyendo a la creación de infecciones crónicas persistentes (Matsmoto-Nakano, 2018; Sharma *et al.*, 2019).

Recientes investigaciones indican que soluciones antimicrobianas de AgNPs evitan la formación de biopelícula y actúan contra las principales bacterias cariogénicas. Se han evaluado formulaciones de AgNPs contra *S. mutans* con efectos antibacterianos (Misba *et al.*, 2016; Schwass *et al.*, 2018; Morales *et al.*, 2018; Elgamily *et al.*, 2018). Pérez-Díaz *et al.* (2015) probaron la actividad antimicrobiana de las AgNPs contra un aislado clínico de *S. mutans*, encontrando una actividad antibiopelícula, contra *S. mutans* y presentaron compatibilidad con fibroblastos humanos. También encontraron que la actividad antimicrobiana de las AgNPs contra el aislado clínico planctónico era dependiente del tamaño y la concentración de las nanopartículas, con AgNPs más pequeñas tenían una concentración mínima inhibitoria más baja. Sin embargo, las AgNPs a altas concentraciones ( $> 10$  ppm) mostraron un efecto citotóxico sobre los fibroblastos humanos.

Existen diversas investigaciones con resinas, siliconas y biopolímeros a los que se añaden AgNPs, para que tengan efecto antibacteriano e inhiban el crecimiento de *S. mutans* (Ghahremanloo *et al.*, 2016; Chladek *et al.*, 2016; dos Santos *et al.*, 2017). Farahani *et al.* (2018) evaluaron la eficacia de los compuestos de resina que contienen nanopartículas de plata contra *S. mutans*. A los compuestos de resina les incorporaron diferentes concentraciones 0.002 g a 0.005 g en peso de nanopartículas de plata y las dejaron en contacto con la suspensión bacteriana en diferentes tiempos de 3, 24 y 48 horas. Los resultados mostraron que todos los compuestos conteniendo AgNPs tuvieron efectos antibacterianos ( $p \leq 0.05$ ) al aumentar la cantidad de AgNPs a 0.003 g, el efecto antibacteriano aumentó y el crecimiento bacteriano disminuyó significativamente ( $p = 0.001$ ), concluyen que el grupo más eficiente fue el de 0.003g.

Actualmente, se realizan pruebas con nuevas terapias fotodinámicas con AgNPs como terapias antimicrobianas modernas altamente efectivas contra *S. mutans* (Misba *et al.*, 2016; Saafan *et al.*, 2018). Misba *et al.* (2016) evaluaron la eficacia antibiopelícula de la terapia fotodinámica mediante la conjugación de un fotosensibilizador de azul de toluidina "o" (TBO), con AgNPs contra *S. mutans* encontrando conjugados que regulan negativamente la expresión de genes involucrados con biopelículas en comparación con TBO solo, y concluyen que el conjugado TBO-AgNPs es más fototóxico contra la biopelícula de *S. mutans* que el TBO solo.

Do Nascimento *et al.* (2015) investigaron los posibles cambios de la microbiota oral en individuos sanos expuestos a un cepillado controlado con cerdas de cepillo recubiertas de clorhexidina o AgNPs y encontraron que los cepillos con AgNPs redujeron el recuento total e individual del genoma en la biopelícula supra y subgingivalmente después de 4 semanas y la clorhexidina solo redujo el recuento del genoma individual en la biopelícula supra- gingival.

Al *et al.* (2020) realizaron un ensayo clínico aleatorizado, simple ciego, el objetivo fue evaluar la eficiencia cariostática de un fluoruro de nanoplata sin-

tetizado biológicamente con extracto de té verde (NSF-GTE) y un fluoruro de diamina de plata (SDF) al 38% en dientes temporales de niños en edad preescolar, incluyeron sesenta y tres preescolares con un total de 164 lesiones activas, se agruparon al azar en dos grupos: A: 32 niños con 83 lesiones tratados con NSF-GTE - ; B: 31 niños con 81 lesiones tratados con SDF. A los seis meses, la tasa de detención total fue del 67.4% y del 79.6% para NSF-GTE y SDF, respectivamente; concluyeron que tanto SDF como NSF-GTE presentaron eficacia cariostática en dientes primarios, ningún niño presentó algún efecto adverso asociado con el nano fluoruro de plata.

La tabla 1 muestra las principales investigaciones con las AgNPs y la caries.

## Materiales para endodoncia

El tratamiento exitoso de los tejidos endodónticos infectados o inflamados depende de la desinfección bacteriana del sistema del conducto radicular para evitar la reinfección y la irrigación química para desinfectar, disolver y eliminar los desechos necróticos de la pared y los espacios del canal radicular (Morio *et al.*, 2019). La compleja anatomía del conducto radicular hace que la limpieza microbiana completa sea particularmente difícil, incluso con una preparación y llenado minucioso del conducto radicular (Widbiller *et al.*, 2021).

*Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) induce infecciones persistentes y a menudo se asocia con biopelículas microbianas de múltiples especies en infecciones del conducto radicular y enfermedades endodónticas (Farshad *et al.*, 2017; Ertem *et al.*, 2017).

Las AgNPs han llamado la atención de los científicos debido a sus propiedades antibacterianas, en los últimos años se están evaluando soluciones irrigadoras que incorporan AgNPs para mejorar sus efectos antibacterianos, las cuales se han probado contra *E. faecalis* (Wu *et al.*, 2014; Abbaszadegan *et al.*, 2015; Rodrigues *et al.*, 2018; Schwass *et al.*, 2018). La tabla 2 muestra las investigaciones realizadas con las AgNPs en endodoncia.

Chávez *et al.* (2017) evaluaron la citotoxicidad, genotoxicidad y actividad antibacteriana de nanopartículas de plata recubiertas con alcohol vinílico (AgNPs-PVA) y farnesol (FAR), realizaron la desinfección del conducto radicular con diferentes protocolos de riego y se evaluó *ex vivo* en dientes humanos contaminados con *E. faecalis* durante 21 días. Encontraron que las soluciones AgNPs-PVA y FAR mostraron baja citotoxicidad sin efectos genotóxicos en las células de fibroblastos; además, tenían eficacia antimicrobiana en la reducción de *E. faecalis*, por lo cual presentan un potencial para su uso en protocolos finales de riego endodóntico. Este estudio concuerda con otro en donde se probó la eficacia de AgNPs recubiertas con líquido iónico a base de imidazolio con carga positiva en donde mostraron resultados antibacterianos prometedores contra *E. faecalis* y exhibieron un alto nivel de citocompatibilidad para las células de fibroblastos L929 (Rodrigues *et al.*, 2018). Nabavizadeh *et al.* (2018)

Tabla 1. Estudios de AgNPs en caries.

Fuente	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Ahmed et al. (2023)	In vitro	Las AgNPs de goma arábiga (GA-AgNPs) se formularon en una pasta de dientes (TP) utilizando una TP comercial a una concentración no activa, para producir GA-AgNPs_TP. Concentración: 0.4g. Tamaño de partícula: 4-26nm	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Candida albicans</i> y <i>S. sanguis</i> .	Se evaluó la citotoxicidad de GA-AgNPs_0.4g y GA-AgNPs_TP-1 en las células de fibroblastos de la mucosa bucal (BMF) mediante el ensayo MTT. GA-AgNPs_0.4g-TP-1 y GA-AgNPs_0.4g son citotóxicos para las células representativas de la mucosa oral (BMF) en las mismas concentraciones.	Se demostró que la actividad antimicrobiana no selectiva y la citotoxicidad tanto de GA-AgNPs_0.4g como de GA-AgNPs_TP-1 dependen del tiempo y la concentración.
Mohandoss et al. (2023)	In vitro	Enjuague bucal que contenía AgNPs síntesis verde de nanopartículas de plata biogénicas se realizó utilizando Ulvan, un polisacárido sulfatado extraído de <i>Ulva lactuca</i> (UHeat-AgNPs). Concentración: 100 µL/mL. Tamaño de partícula: 8-33 nm	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>E. coli</i> y <i>P. aeruginosa</i>	Se evaluó la citotoxicidad <i>in vitro</i> de UHeat-AgNP y CitrateHeat AgNP empleando la línea celular de fibroblastos de embrión de ratón Balb3T3. Los valores de IC50 obtenidos de 10,4 ± 0,3 y 10,9 ± 0,8 para UHeat-AgNP y CitrateHeat-AgNP, respectivamente, resultaron más altos con respecto a los AgNP preparados por el método convencional.	Las AgNPs desarrolladas basadas en Ulvan mostraron un CI50 en el rango de 10 µg/ml en fibroblastos de embriones de ratón Balb/3T3 y actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas.
Tărăboanță et al. (2023)	In vitro	Resina compuesta microhíbrida activada por luz modificada con AgNPs con <i>Equisetum sylvaticum</i> . Concentración: 0.5%, 1% y 1.5%. Tamaño de partícula: no reportado.	<i>Streptococcus mutans</i>	No estudiada.	El uso de nanopartículas de plata al 1% y al 1.5% en peso sintetizadas a partir de <i>Equisetum sylvaticum</i> como relleno de resina compuesta redujo la actividad de <i>Streptococcus mutans</i> . La carga de una resina compuesta microhíbrida comercial con AgNPs en concentraciones de 0.5% en peso, 1% en peso y 1.5% en peso no influyó en la dureza de la superficie.
Gligorijevic et al. (2022)		Resinas base de prótesis de curado en frío y calor modificadas con AgNPs. Concentración: 2%, 5% y 10%. Tamaño de partícula: 50-100 nm	<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Candida albicans</i>	No estudiada.	Las resinas de base de prótesis modificadas pueden reducir significativamente la presencia de infección en el punto de contacto entre la dentadura postiza y la membrana mucosa de la restauración protésica.

Continúa ▼

**Tabla 1.** Estudios de AgNPs en caries (continuación).

Fuente	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Arif et al. (2022)	In vitro	Resina dental con AgNPs. Concentración: 1 mM Tamaño de partícula: no reportado. Resina dental con AgNPs cargadas con ciprofloxacino CIP-AgNPs. Concentración: 1 mM Tamaño de partícula: 33.5 - 98.32 nm	<i>Streptococcus mutans</i> y <i>Enterococcus faecalis</i>	El ensayo hemolítico se realizó para comprobar la biocompatibilidad de discos experimentales de composite dental que contenían CIP-AgNPs, AgNPs y composite de resina comprados comercialmente. Estos resultados muestran que los discos compuestos que contenían CIP-AgNPs eran más biocompatibles que los que contenían un 1% de AgNPs.	Esta investigación demostró que la adición de CIP-AgNPs mejoró las características mecánicas y la actividad antibacteriana de las restauraciones de composite a base de resina.
Rajendran et al. (2021)	In vivo	Material de impresión hidrocoloide irreversible (IH) impregnadas con AgNPs. Concentración: 2.5% en peso Tamaño de partícula: 20 - 30 nm, 80-100 nm	<i>Streptococcus mutans</i>	No estudiada.	El material de impresión IH impregnado con AgNPs de tamaño 80-100 nm puede utilizarse como una alternativa eficaz a las impresiones desinfectadas con glutaraldehído al 2% por el método de inmersión.
Chittrarasu et al. (2021)	In vitro	AgNPs en polvo síntesis verde con <i>Galla Chinensis</i> (GCAGNPs). Concentración: 1000, 750, 500, 125 y 62.5 µg/ml Tamaño de partícula: no reportado.	<i>Streptococcus mutans</i> y <i>Lactobacillus acidophilus</i> .	No estudiada.	Los resultados muestran una diferencia estadísticamente significativa entre todas las concentraciones (1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62.5 µg/ml) en las AgNPs sintetizadas (GCAGNPs) con <i>Galla Chinensis</i> , siendo las de 1000 µg/ml las que tienen mejor efecto contra <i>S. mutans</i> y <i>L. acidophilus</i> .
Jiménez et al. (2021)	In vitro	Solución de AgNPs con ácido gálico el pH se ajustó a 11 con una solución 1 M de hidróxido de sodio. Concentración: 1 mM Tamaño de partícula: 5.2 ± 1.2 nm Solución de AgNPs con ácido gálico ajustando el pH a 11 utilizando una solución de hidróxido de amonio. Concentración: 1 mM Tamaño de partícula: 374 ± 3.6 nm	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> , <i>Streptococcus gordonii</i> , <i>Streptococcus sanguinis</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> y <i>S. oralis</i>	No estudiada.	Las AgNPs utilizadas en este estudio se prepararon con éxito con características físicas bien definidas. Se identificó que la actividad bactericida de las AgNPs estuvo significativamente relacionada con el tamaño de partícula, siendo las de menor tamaño las que presentaron mayor efecto.

Continúa ▼

**Tabla 1.** Estudios de AgNPs en caries (continuación).

Fuente	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Yuqiong et al. (2021)	In situ	Resina adhesiva dental con AgNPs. Concentración: 0.1 %, 0.2%. Tamaño de partícula: 10.9 ± 3.7 nm y 8.8 ± 4.2 nm Resina compuesta reforzada con nanocables de hidroxiapatita cargados de AgNPs. Concentración: Tamaño de partícula: 10 a 20 nm	<i>Streptococcus mutans</i>	La citotoxicidad frente a fibroblastos del ligamento periodontal humano se examinó mediante el ensayo CCK-8. Las pruebas mostraron que no tuvieron efecto sobre la tasa de crecimiento relativo celular (RGR). No se observaron diferencias significativas en la RGR después de diferentes tiempos de incubación.	La incorporación de AgNPs no comprometió el grado de conversión y biocompatibilidad de los grupos 0.1% Ag y 0.2% Ag. La síntesis <i>in situ</i> de AgNPs podría ser una técnica prometedora en la modificación antibacteriana de la resina adhesiva dental.
Al et al. (2020)	In vitro	Resina compuesta reforzada con nanocables de hidroxiapatita cargados de AgNPs. Concentración: Tamaño de partícula: 10 a 20 nm	<i>Streptococcus mutans</i>	En los extractos de nanocables de hidroxiapatita cargados con AgNPs, el crecimiento de fibroblastos I929 se inhibió significativamente, lo cual indica la citotoxicidad de los iones de plata solubles.	Se detectó una liberación continua de iones de plata de los compuestos. El hallazgo demostró que los nanocables HA-PDA-Ag podrían servir como nanorrellenos funcionales para resinas compuestas.
Morales et al. (2018)	In vitro	Solución de AgNPs síntesis verde con <i>Heterotheca inuloides</i> (Hi). Concentración: 10 mM Tamaño de partícula: 17.5 nm <i>Camellia sinensis</i> (Cs). Concentración: 10 mM Tamaño de partícula: 48.2 nm	<i>Streptococcus mutans</i> y <i>Lactobacillus casei</i>	No estudiada.	Se observó un mayor efecto antibacteriano de las AgNPs sintetizadas con Hi, seguido de Cs.
Eigamily et al. (2018)	In vitro	Nanocare Plus Silver Gold. Concentración: no reportada. Tamaño de partícula: no reportada.	<i>Streptococcus mutans</i>	No estudiada.	El desinfectante de cavidades NanoCare mostró buenas propiedades antibacterianas contra <i>S. mutans</i> .
Saafan et al. (2018)	In vitro	Láser de diodo, láser de diodo de 650 nm, con el fotosensibilizador de azul de metileno (MB) y las AgNPs líquidas. Concentración: 200 µg / ml Tamaño de partícula: 19 ± 5 nm	Modelos de caries inducida por <i>Streptococcus mutans</i>	No estudiada.	La combinación de MB, láser y AgNPs registró la mayor reducción (95.28%). La combinación de MB, láser de diodo de 650 nm y AgNPs puede estar entre las terapias antimicrobianas modernas más eficaces en odontología.

Continúa ▼

**Tabla 1.** Estudios de AgNPs en caries (continuación).

Fuente	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Farahani et al. (2018)	In vitro	Resina fluida que contenía AgNPs (NANOSAV / IRAN). Concentración: 0.002 g 0.003 g 0.004 g 0.005 g Tamaño de partícula: 40 nm	<i>Streptococcus mutans</i>	No estudiada.	En este estudio, todos los grupos que contenían AgNPs tuvieron efectos antibacterianos que fueron estadísticamente significativos en todos los grupos y la concentración bactericida mínima fue de 0.002 g y el grupo más eficiente fue el de 0.003 g de AgNPs.
Dos Santos et al. (2017)	In vitro	Coloide de AgNPs estabilizadas con quitosano a diferentes Concentración: 159.9 µg/mL Tamaño de partícula: 8.7 ± 3.7 nm Concentración: 169.2 µg/mL Tamaño de partícula: 15.0 ± 7.9 nm Concentración: 157.8 µg/mL Tamaño de partícula: 31.8 ± 10.4 nm Concentración: 155.8 mg/mL Tamaño de partícula: 43.2 ± 14.3 nm	<i>Streptococcus mutans</i>	No estudiada.	El tamaño y la forma de las nanopartículas no alteraron la propiedad antimicrobiana de los coloides contra <i>Streptococcus mutans</i> , resultando equivalente a la de la clorexidina.
Ai et al. (2017)	Clínico	Floruro con AgNPs sintetizadas con extracto de té verde (NSF-GTE). Concentración: 1 mM Tamaño de partícula: no reportado.	63 niños de 3 a 6 años con código de ICDAS II	No estudiada.	NSF-GTE presentó eficacia cariostática en dientes temporales, puede considerarse como una opción para tratar dientes primarios cariados en comunidades desfavorecidas, pues es simple, rentable para la producción en masa y no requiere una técnica de aplicación sensible.
Misba et al. (2016)	In vitro	Terapia fotodinámica conjugando un fotosensibilizador con AgNPs AgNPs con dextrano y PVP. Concentración: 1 mM Tamaño de partícula: 18 nm AgNPs con citrato de sodio y PVP Concentración: 1 mM Tamaño de partícula: 21-24 nm	<i>Streptococcus mutans</i>	Ensayo MTT Viabilidad celular > 75%.	Se descubrió que la TFD inducida por el conjugado TBO-AgNPdex inhibe la biopelícula de <i>S. mutans</i> en mayor medida que el TBO solo.

Continúa ▼

**Tabla 1.** Estudios de AgNPs en caries (continuación).

Fuente	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Pérez et al. (2015)	<i>In vitro</i>	Solución de AgNPs con ácido Gálico. Concentración: 1070 pp Tamaño de partícula: 9.5 nm Ph 11 25.9 nm Ph 10 78.7 nm	<i>Streptococcus mutans</i>	Viabilidad celular con homodímero de etidio y calceína. A una concentración de 10 ppm, las AgNP no afectaron la viabilidad de los fibroblastos, pero a una concentración de 50 ppm la viabilidad celular disminuyó en un 50%.	Las AgNP previenen eficazmente la formación de biopelículas y matan las bacterias en biopelículas establecidas.
Do Nascimento et al. (2015)	<i>Clínico</i>	Cepillo dental con AgNPs. Concentración: no reportada. Tamaño de partículas: no reportado.	En veinticuatro participantes sanos (12 hombres y 12 mujeres; edad media 21 a 50 años) sin caries ni enfermedad periodontal.	No estudiada.	Las cerdas de los cepillos de dientes impregnadas con AgNPs han reducido el recuento del genoma total e individual en la biopelícula supra y subgingival después de 4 semanas de cepillado. La clorhexidina no fue eficaz para reducir el recuento total del genoma tanto en la biopelícula supra como en la subgingival.

Fuente: Elaboración de los autores.



**Tabla 2.** Estudios de AgNPs en endodoncia.

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Abdou <i>et al.</i> (2023)	<i>In vitro</i>	AgNPs (empresa Nanogate, El Cairo, Egipto). AgNPs con curcumina (empresa Nanogate). Concentración: no reportada. Tamaño de partícula: 12 ± nm	En células de fibroblastos gingivales (ATCC PCS-201-012).	La viabilidad celular se evaluó mediante el ensayo WST-1 utilizando el kit Abcam (Reino Unido) (reactivo de proliferación celular ab 155902 WST-1). El mayor porcentaje de viabilidad de células vivas se detectó en el grupo control, luego en el grupo AgNPs con curcumina y luego en el grupo AgNPs.	El porcentaje de viabilidad celular de las AgNPs con el grupo de curcumina fue menor que el de las AgNPs y el grupo de Ca(OH) <sub>2</sub> , pero siguen siendo no citotóxico. Los tres medicamentos intracanales analizados no fueron citotóxicos.
Mahmoud <i>et al.</i> (2022)	<i>In vitro</i>	Gel intracanal de AgNPs. Concentración: 0.01%, 0.015%, 0.02% Tamaño de partícula: 16 ± 2 nm	En noventa y cinco discos dentinarios (4x4x1 mm), se prepararon a partir de dientes humanos de una sola raíz recién extraídos	Se utilizó el ensayo de citotoxicidad de lactato deshidrogenasa (LDH) para evaluar la citotoxicidad de las diferentes concentraciones de AgNPs. El porcentaje de viabilidad celular se mantuvo por encima del 92.74% (± 10.89) después de 24 horas de cultivo, sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos prueba y control (P = 0.197).	Los discos dentinarios tratados durante 7 días con concentraciones de gel de AgNPs que oscilaban entre el 0.01 % y el 0.02 % permitieron la adhesión de más del 90% de las células madre de la pulpa dental (CPDP) después de 24 horas. Además, la citotoxicidad y las CPDP en respuesta al gel de AgNPs fueron comparables a las del hidróxido de calcio. Estos resultados sugieren que el gel de AgNPs puede representar un futuro prometedora para su uso clínico en endodoncia regenerativa.
Celikten <i>et al.</i> (2022)	<i>In vitro</i>	Irrigante con AgNPs y quitosano. Concentración: 01 M Al 2% y 4 % de quitosano Tamaño de partícula: 15 a 20 nm	72 dientes premolares mandibulares extraídos. Todos los dientes fueron decoronados perpendicularmente al eje largo para dejar una longitud radicular de 13 mm. Se prepararon los conductos radiculares para las pruebas.	No estudiada.	Este estudio introdujo una nueva solución de irrigación final con quitosano al 0.4% que contiene AgNPs para mejorar la fuerza de unión de los selladores de conductos radiculares a base de resina. No hubo diferencias significativas entre la solución de clorexidina (CHX) sola y en combinación con la solución de quitosano al 0.2% o al 0.4%.

Continúa ▼

Tabla 2. Estudios de AgNPs en endodoncia (continuación).

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Hao-Hueng et al. (2020)	In vitro	Sellador de conductos radiculares, utilizando una matriz de resina biocompatible con AgNPs (UAT + Ag@ + NSP) como componentes antibacterianos. Concentración: 50, 100, 300 y 500 ppm Sellador de conductos radiculares con AgNPs y nanopartículas de óxido de zinc (UATAg/ZnO@NSP) Concentración: 50, 75 y 100ppm	<i>Enterococcus faecalis</i>	Las pruebas de biocompatibilidad se realizaron utilizando la norma ISO 10993-5 a través del ensayo Alamar Blue y el ensayo de lactato deshidrogenasa. Compuestos de ureato-acrilato(UA) AgNPs/ ZnO@NSP con 100 ppm exhibirán una buena biocompatibilidad. Los compuestos que solo contienen AgNPs exhibirán un rendimiento deficiente en citotoxicidad.	Los acrilatos de uretano basados en PCPO con 50 ppm de AgNP y ZnNP inmovilizados en plaquetas de silicato, es decir, Ag/ZnO@NSP, exhibieron un gran potencial como compuesto antibacteriano para el sellador de la obturación del conducto radicular.
Saigy et al. (2022)	In vitro	Solución de AgNPs. Concentración: 1 mM Tamaño de partícula: 8-20 nm	Se utilizaron cuarenta premolares mandibulares humanos maduros de raíz única sin lesiones de caries ni anomalías.	No estudiada.	El grupo AgNPs mostró el mayor cambio de color. El cambio de color de la solución de NaOCl es el más bajo de todos los grupos de tiempo. Las AgNPs pueden sugerirse como irrigantes intracanal para los dientes posteriores en relación con la decoloración de los dientes. Se requieren más investigaciones para determinar los diferentes campos de uso en endodoncia.
Loyola et al. (2019)	In vitro	Sellador endodóntico que contiene AgNPs y quitosano (CSNPs). Concentración: 0.01 M Tamaño de partícula: 54.2 ± 8.5	<i>Enterococcus faecalis</i>	No estudiada.	Se demostró que todos los selladores endodónticos individuales probados tienen buenas propiedades antibacterianas; sin embargo, su eficacia antimicrobiana contra <i>E. faecalis</i> mejoró especialmente cuando se añadió clorhexidina (Chx) o la combinación CsNPs-Chx. Dado que las CsNP tienen un amplio espectro de actividad y una alta tasa de destrucción contra bacterias Gram (+), podrían ser un material excelente para agregar a los selladores endodónticos.

Continúa ▼

Tabla 2. Estudios de AgNPs en endodoncia (continuación).

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Zheng et al. (2018)	<i>In vitro</i>	Cristales líquidos liotrópicos (CLL) que contiene 0.5% de CHX y 0.02% de AgNPs	<i>Enterococcus faecalis</i>	La citotoxicidad <i>in vitro</i> de las formulaciones precursoras se determinó mediante el ensayo CCK-8, con fibroblastos del ligamento periodontal (FLP). La citotoxicidad de todas las formulaciones se clasificó como toxicidad de grado 1 según la evaluación biológica de los dispositivos médicos, lo cual sugiere una baja citotoxicidad de los precursores de LLC.	El precursor CLL que contiene CHX-Ag-NP exhibió un efecto de esterilización excelente y sostenido sobre <i>Enterococcus faecalis</i> durante más de un mes con una tasa de inactivación bacteriana $\geq 98.5\%$ . El estudio concluye que el precursor CLL que contiene CHX-Ag-NP es un desinfectante intracanal prometedor.
Ioannidis et al. (2019)	<i>In vitro</i>	AgNPs sintetizadas en una matriz acuosa de óxido de grafeno (GO) (Ag-GO). Concentración: 0.25% Tamaño de partícula: 20-50 nm	<i>Propionibacterium acnes</i> , <i>Actinomyces radidentis</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Streptococcus mitis</i> y <i>Enterococcus faecalis</i>	No estudiada.	La eficacia de eliminación microbiana del NaOCl al 2.5% fue superior en comparación con los grupos experimentales. La máxima disrupción del biofilm, en las superficies de los túbulos dentinarios, se logró con un 2.5% de NaOCl, sin embargo, Ag-GO provocó una reducción significativa de los biovolúmenes totales en comparación con el resto de los grupos experimentales ( $P < 0.05\%$ ).
Schwass et al. (2018)	<i>In vitro</i>	Desinfectante coloidal de dentina con AgNPs estabilizadas con SDS. Concentración: 8.8 mM Tamaño de partícula: 6.7 A 9.2 nm	<i>Streptococcus gordonii</i> , <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Enterococcus faecalis</i>	No estudiada.	La formulación de AgNPs estabilizada con SDS se muestra como posible tratamiento de desinfección para el tratamiento de la caries dental.
Rodríguez et al. (2018)	<i>In vitro</i>	Solución de AgNPs Concentración: 94 ppm Tamaño de partícula: no reportado.	<i>Enterococcus faecalis</i>	No estudiada.	El irrigante AgNPs no fue tan efectivo contra <i>E. faecalis</i> en comparación con las soluciones comúnmente utilizadas en el tratamiento de conductos radiculares. El NaOCl es apropiado como irrigante porque fue eficaz para alterar la biopelícula y eliminar las bacterias en las biopelículas y en los túbulos dentinarios.

Continúa ▼

**Tabla 2.** Estudios de AgNPs en endodoncia (continuación).

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Nabavizadeh et al. (2018)	<i>In vivo</i>	Solución de AgNPs. Concentración: $5.7 \times 10^{-8}$ Tamaño de partícula: 9.0 nm	Se seleccionaron dieciocho ratas Sprague-Dawley macho, de 4 a 5 meses de edad, con un peso de 200-300 gr, y se dividieron aleatoriamente en 5 grupos	No estudiada.	En comparación con NaOCl y CHX, es posible etiquetar las AgNPs como un agente compatible con los tejidos.
Chávez et al. (2017)	<i>In vitro</i>	Solución de AgNPs-PVA. Concentración: 50 mM Tamaño de partícula: 4-11 nm	<i>Enterococcus faecalis</i>	Ensayo colorimétrico MTT con fibroblastos línea celular L929. Las soluciones AgNPs-PVA y FAR mostraron baja citotoxicidad sobre los fibroblastos.	La solución tuvo eficacia antimicrobiana para reducir <i>E. faecalis</i> , presenta potencial para su uso como protocolos de irrigación final en el tratamiento de conducto.
Afkhami et al. (2017)	<i>In vitro</i>	Suspensión de AgNPs Concentración: 100 ppm Tamaño de partícula: 30 nm	<i>Enterococcus faecalis</i>	No estudiada	El uso de suspensión de AgNPs de 100 ppm y la irrigación convencional con NaOCl al 2.5% mostraron una eficacia antimicrobiana similar. AgNPs/JCG/810 nm DL logró disminuir el recuento intracanal de <i>E. faecalis</i> ; por lo tanto, este método tiene un alto potencial de uso en tratamientos de endodoncia para la eliminación de <i>E. faecalis</i> .
Abbaszadegan et al. (2015)	<i>In vitro</i>	AgNPs neutras. Concentración: $4.0 \times 10^{-8}$ mol L Tamaño de partícula 10.1 nm AgNPs carga negativa con Borohidruro de sodio (NaBH <sub>4</sub> ). Concentración $9.7 \times 10^{-8}$ mol L Tamaño de partícula: 7.5 nm AgNPs carga positiva. Concentración: $5.7 \times 10^{-8}$ mol L Tamaño de partícula: 9.0 nm	<i>Enterococcus faecalis</i>	Ensayo colorimétrico MTT con fibroblastos de ratón L929. Se encontró que las AgNPs poseían un efecto citotóxico considerablemente menor contra líneas celulares de fibroblastos L929 <i>in vitro</i> en comparación con NaOCl y CHX	La carga superficial de AgNPs fue importante en la eficacia bactericida contra <i>E. faecalis</i> . Las AgNPs protegidas con líquido iónico a base de imidazolio con carga positiva mostraron resultados antibacterianos prometedoros contra <i>E. faecalis</i> y exhibieron un alto nivel de citocompatibilidad con las células L929.

Continúa ▼

**Tabla 2.** Estudios de AgNPs en endodoncia (continuación).

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Wu et al. (2014)	<i>In vitro</i>	Solución de AgNPs (Huzheng Nano Technology Co, Ltd, Shanghai, China). Concentración: 0.1% Tamaño de partícula: no reportado. Gel AgNPs (Huzheng Nano Technology Co, Ltd). Concentración: 0.02% y 0.01% Tamaño de partícula: no reportado.	No estudiada	No estudiada.	Los hallazgos de este estudio sugirieron que la eficacia antibiótica de las AgNPs depende del modo de aplicación. Las AgNPs como medicamento y no como irrigante mostraron potencial para eliminar biopelículas bacterianas residuales durante la desinfección del conducto radicular.

Fuente: Elaboración de los autores

evaluaron la biocompatibilidad de un irrigante del conducto radicular con una solución de nano-plata iónica recubierta con líquido de imidazolio con carga positiva, este estudio se hizo en animales de experimentación ratas Sprague-Dawley machos, estos se dividieron al azar en 5 grupos: solución salina normal 0.9% (grupo 1), 5.25% NaOCl (grupo 2), 2.5% NaOCl (grupo 3), solución de clorhexidina al 2.0% (grupo 4) y AgNPs a  $5.7 \times 10^{-8}$  M /L (grupo 5), inyectaron en 5 sitios de piel dorsal de cada rata. La reacción inflamatoria tisular fue evaluada histopatológicamente después de 2 h, 48 h y 14 días. Todas las soluciones provocaron una mayor irritación tisular después de 48 hrs., sin embargo, comparando las soluciones de AgNPs con NaOCl y CHX, fue posible etiquetar a las AgNPs como un agente compatible con los tejidos.

Las propiedades de las AgNPs permiten que sean versátiles y se puedan combinar con diferentes soluciones para potenciar el efecto antibacteriano. Zheng *et al.* (2018) diseñaron y evaluaron un nuevo desinfectante intraconductos basado en la incorporación de un precursor de cristales liotrópicos (LLC) de monooleato de glicerol (OGM) con clorhexidina y AgNPs, exhibiendo un efecto de esterilización excelente y sostenido sobre *E. faecalis* durante más de un mes con una tasa de inactivación bacteriana  $\geq 98.5\%$ , no observaron toxicidad *in vitro* en la evaluación de citotoxicidad, por lo cual concluyen que el precursor LLC conteniendo CHX-AgNPs demostró ser un prometedor desinfectante intraconductos.

Se están probando terapias fotodinámicas con AgNPs para la desinfección de conductos radiculares inoculados con *E. faecalis* con efectos positivos como complemento para la desinfección del conducto radicular (Afkhani *et al.*, 2017).

## Periodoncia

La enfermedad periodontal es el segundo padecimiento bucodental con mayor prevalencia a nivel mundial (Presas, 2016). El objetivo de la terapia periodontal es eliminar los organismos patógenos presentes en la biopelícula. Se sabe que la terapia mecánica que comprende el raspado y alisado radicular se ha convertido en el tratamiento no quirúrgico de elección para la periodontitis. No obstante, en el caso de bolsas periodontales profundas la terapia mecánica no es suficiente para erradicar por completo las bacterias patógenas (Shawky *et al.*, 2015).

Los avances recientes en nanotecnología introducen nuevos materiales terapéuticos para la regeneración periodontal. Las AgNPs están siendo utilizadas para inhibir la proliferación de bacterias orales, pues aceleran la cicatrización de heridas y tienen efecto antibiopelícula (Mathur *et al.*, 2018; Bahador *et al.*, 2015; Halkai *et al.*, 2018). La tabla 3 exhibe los estudios llevados a cabo con las AgNPs en el ámbito de la periodoncia.

En los últimos años se han hecho estudios *in vitro* para evaluar el efecto antibacteriano de las AgNPs contra bacterias periodontopatógenas (Ertem *et*

**Tabla 3.** Estudios de AgNPs en periodoncia.

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Hernández et al. (2023)	<i>In vitro</i>	Solución de AgNPs con ácido gálico el pH se ajustó a 11 con una solución 1 M de hidróxido de sodio Concentración: 1 mM Tamaño de partícula: 5.4 ± 1.3 nm Solución de AgNPs con ácido gálico ajustando el pH a 11 utilizando una solución de hidróxido de amonio Concentración: 1 mM Tamaño de partícula: 17.5 ± 3.4 nm	<i>P. gingivalis</i> , <i>T. forsythia</i> , <i>T. denticola</i> , <i>P. intermedia</i> , <i>F. nucleatum</i> y <i>A. actinomycetemcomitans</i>	No estudiada.	Las soluciones de AgNPs mostraron actividad antimicrobiana en todas las muestras orales; sin embargo, las AgNPs de menor tamaño tuvieron significativamente los efectos bactericidas más altos. AgNP mostró propiedades bactericidas eficientes como terapia alternativa para el control o progresión de la enfermedad periodontal.
Bhavhya et al. (2021)	Clínico	Membrana con AgNPs (ACTICOAT®). Concentración: 70 - 100 ppm Tamaño de partícula: 15 nm	Se incluyeron 11 pacientes con periodontitis crónica, los cuales requirieron cirugía de colgajo periodontal en los lados contralaterales del arco.	No estudiada.	Los pacientes tratados con el apósito que contenía AgNPs no presentaron ningún efecto secundario y presentaron una cicatrización mejor que los que solo usaron el apósito convencional.
Xiao et al. (2019)	<i>In vitro</i>	Nanocompuesto multifuncional con nanopartículas de plata (AgNPs), 2-metacrililoetilfosf oricolina (MPC), metacrilato de dimetilaminohexadecil (DMAHDM) y nanopartículas de fosfato de calcio amorfo. Concentración: 0.08%, 0.12% y 0.16% Tamaño de partícula: 116 nm	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> y <i>Fusobacterium nucleatum</i>	No estudiada.	El nuevo nanocompuesto multifuncional logró la mayor reducción en la actividad metabólica, el crecimiento de polisacáridos y biopelículas de tres patógenos periodontales, es prometedor para el tratamiento de lesiones radiculares, el alivio de la periodontitis y la protección de los tejidos periodontales.

Continúa ▼

**Tabla 3.** Estudios de AgNPs en periodoncia (continuación).

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Kalita et al. (2019)	Clínico	Megaheal gel de AgNPs. Concentración: 32 ppm. Tamaño de partícula: no reportado.	20 pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica.	No estudiada.	Las pruebas mostraron que CHX gel y Megaheal gel como antisépticos adyuvantes y como parte del SRP tienen prácticamente el mismo efecto estadísticamente significativo en todos los parámetros clínicos estudiados.
Donghyun et al. (2018)	In vitro	Membrana de querosano que contiene AgNPs (AgCSP). Concentración: no reportada. Tamaño de partícula: 71 nm	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Se analizó la citotoxicidad de las diversas láminas de nanofibras en las cuales se cultivaron las células NIH 3T3 durante 24 y 48 horas. Aunque el número de células restantes en las muestras tendió a disminuir a medida que aumentaba el contenido de AgNPs, todos los resultados mostraron que las células no presentan citotoxicidad, pues la tasa de viabilidad celular excedió el 80% para todas las muestras.	Se confirmó que la membrana preparada tenía buena biocompatibilidad. Al mismo tiempo, se observó el efecto antibacteriano de las nanopartículas de plata contenidas en la membrana. Según estos resultados, la membrana CS que contiene una pequeña cantidad de AgNP se puede utilizar como membrana de apósito médico. Además, se espera que pueda aplicarse como una membrana protectora absorbente que induzca una regeneración tisular eficaz al permitir la circulación sanguínea mediante la regulación de la porosidad y el bloqueo de la infiltración tisular.
Sirisha et al. (2018)	In vitro	Solución de AgNPs con extracto de <i>Ocimum sanctum</i> . Concentración: 1 mM. Tamaño de partícula: no reportado.	<i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> y <i>Prevotella intermedia</i> .	No estudiada.	Los resultados sugieren que las soluciones de AgNPs tenían una actividad antimicrobiana mejorada y <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> era más susceptible a la misma.

Continúa ▼



**Tabla 3.** Estudios de AgNPs en periodoncia (continuación).

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Ertem et al. (2017)	In vitro	Nanopartículas de plata núcleo con cubierta de sílice porosa (AgNPs@SiO <sub>2</sub> ). Concentración: 0.18 mM con t Tamaño de partícula: 119 ± 29 nm	Fusobacterium nucleatum, Actinomyces naeslundii, Enterococcus faecalis, Streptococcus sanguinis, Streptococcus sorbiticus.	Ensayo colorimétrico MTT con fibroblastos gingivales humanos. La solución mostró una menor citotoxicidad hacia los fibroblastos gingivales humanos en comparación con la solución utilizada convencionalmente (3% de NaOCl y 17% de EDTA).	Las soluciones de riego que contienen AgNP@SiO <sub>2</sub> pueden ser muy prometedoras para aplicaciones que necesitan un efecto antimicrobiano a largo plazo.
Rani et al. (2015)	In vitro	Membrana de regeneración tisular guiada (RTG) impregnada con AgNPs Concentración: 0.1mg/ML Tamaño de partícula: 10 nm	Streptococcus mutans, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Fusobacterium nucleatum y Porphyromonas gingivalis	No estudiada.	Del presente estudio, se puede concluir que la incorporación de nanopartículas de plata en la membrana puede ser valiosa para controlar la infección asociada con la membrana durante la terapia con RTG.
Emmanuel et al. (2015)	In vitro	Solución de AgNPs con extracto de Justicia Glauca. Concentración de 1 Mm Tamaño de partícula: 10 - 20 nm	Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus, Lactobacillus acidophilus, Micrococcus luteus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Pseudomonas Aeruginosa, Candida albicans	No estudiada.	Este estudio demuestra que el extracto de Justicia glauca se puede utilizar para una producción rápida y eficiente de AgNP. La combinación de AgNP y antibióticos (Azitromicina y Claritromicina) tiene una eficacia antimicrobiana sinérgica contra los microorganismos causantes de la caries dental y la enfermedad periodontal.
Habiboallah et al. (2014)	In vivo	Apósito periodontal con AgNPs Concentración: 25%, 50% Tamaño de partícula: no reportado.	Se tomaron biopsias de las encías bucales en curación que rodean los dientes en las regiones donde se realizó la gingivectomía de 15 conejos el día 4 y los 15 restantes el día 7 después de la cirugía periodontal.	No estudiada.	El apósito periodontal con AgNPs tiene efectos terapéuticos potenciales positivos y acelerar la cicatrización de heridas quirúrgicas, lo cual condujo a una mejora de las consecuencias del tratamiento periodontal después de la operación.

Fuente: Elaboración de los autores.

*al.*, 2017; Sirisha *et al.*, 2018; Rani *et al.*, 2015; Xiao *et al.*, 2019; Kalita *et al.*, 2019; Emmanuel *et al.*, 2015). Sirisha *et al.* (2018) probaron una solución de AgNPs a través de una síntesis verde, usaron extracto puro de *Ocimum sanctum* contra cuatro bacterias patógenas periodontales, *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.a*) y *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*). Los resultados sugieren que las soluciones de prueba revelan su sensibilidad contra microorganismos de una manera dependiente de la dosis, al aumentar la concentración se mejora su acción antimicrobiana. Se está investigado con geles de AgNPs como complemento al raspado y alisado radicular (RAR). Kalita *et al.* (2019) evaluaron un gel con AgNPs y otro con clorhexidina como complemento al RAR en pacientes con periodontitis y encontraron reducción significativa de los parámetros clínicos evaluados en ambos grupos sin diferencias estadísticas significativas, por lo cual concluyeron que las AgNPs tienen el mismo efecto que la clorhexidina sin las secuelas correspondientes.

Xiao *et al.* (2019) desarrollaron un compuesto multifuncional con AgNPs, 2-metacrililoiloxietilfosforilcolina (MPC), metacrilato de dimetilaminohexadecilo (DMAHDM) y nanopartículas de fosfato de calcio amorfo para investigar la inhibición de biopelículas contra tres especies de patógenos periodontales *P. gingivalis*, *A. a.*, y *F. nucleatum*. El novedoso nanocompuesto multifuncional logró la mayor reducción en la actividad metabólica, el crecimiento de polisacáridos y biopelículas de los patógenos periodontales; así, concluyeron que es un antibacteriano prometedor para tratar las lesiones de raíz, aliviar la periodontitis y proteger los tejidos periodontales.

Se están haciendo pruebas con membranas impregnadas de AgNPs; Rani *et al.* (2015) investigaron la colonización y penetración de bacterias específicas en membranas de regeneración de tejido guiada (GTR) impregnadas de AgNPs, utilizando tres conjuntos de membranas GTR en el estudio: 1) GTR-C: membrana GTR simple como control negativo; 2) GTR-NS: membrana GTR impregnada con nanopartículas de plata como grupo de prueba; 3) GTR-DOX: membrana GTR impregnada con hidrocloreuro de doxiciclina al 25% (p / p) que actúa como control positivo contra cuatro organismos (*S. mutans*, *A. a.*, *F. nucleatum* y *P. gingivalis*) con fuertes capacidades adherentes a las membranas de colágeno. Las puntuaciones medias de adherencia bacteriana fueron estadísticamente significativas ( $p < 0.001$ ), para el grupo GTR-C en comparación con los grupos GTR-DOX y GTR-NS. GTR-NS mostró puntuaciones de adherencia más bajas que GTR-DOX en los cuatro microorganismos, pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

En un estudio de Habiboallah *et al.* (2014), se diseñó un apósito periodontal de AgNPs y se evaluaron sus efectos sobre la curación de heridas gingivales en un modelo animal después de una cirugía periodontal, los cambios histológicos fueron monitoreados en el día 4 y 7 después de la operación para evaluar la etapa inflamatoria y de reparación del proceso de curación. Encontraron diferencias significativas en los parámetros inflamatorios y de repara-

ción del proceso de curación entre los sitios quirúrgicos tratados con este apósito periodontal y el grupo de control. Además, las heridas tratadas con apósitos de AgNPs tenían, en términos generales, todas las características de una curación relativamente completa una semana después de la operación. Concluyeron que el apósito periodontal con AgNPs tiene efectos terapéuticos potenciales positivos y acelera la cicatrización de heridas quirúrgicas, lo cual condujo a la mejora de las consecuencias del tratamiento periodontal después de la operación.

Bhavhya *et al.* (2021) probaron un apósito quirúrgico comercial ACTICOAT de barrera antimicrobiana recubierto de AgNPs de 15 nm de diámetro y a una concentración de 70-100 ppm ampliamente usado en el Reino Unido en comparación con otro de uso convencional (*Coepack*); incluyeron un total de 11 pacientes, a los cuales sometieron a una cirugía periodontal, los pacientes tratados con el apósito que contenía nanopartículas no presentaron ningún efecto secundario y cicatrizaron mejor que aquellos en los cuales solo usaron el apósito convencional.

## Ortodoncia

La formación de biopelícula alrededor de aparatos de ortodoncia fijos puede causar importantes efectos secundarios, esto incluye las lesiones de la mancha blanca (WSL) y en casos severos, la caries dental, lo cual disminuye la calidad de vida del paciente (Mei *et al.*, 2017). Aunque muchos productos dentales auxiliares, como cepillos interdetales, cepillos de dientes especializados y enjuagues bucales están disponibles comercialmente, la prevalencia de WSL sigue siendo tan alta como 72.9%. Esto se debe a que la colocación de aparatos de ortodoncia fijos dificulta severamente el cepillado de los dientes, haciendo difícil llevar a cabo los procedimientos convencionales de higiene bucal, creando áreas de bajo flujo salival que permiten la adhesión bacteriana y la formación de biopelícula (Gao *et al.*, 2014).

En años recientes se están creando adhesivos, resinas, cementos e incorporando a los alambres, microimplantes, retenedores y matrices de ortodoncia con AgNPs que tengan efecto antibacteriano sostenido y eficaz, para evitar la formación de biopelícula y caries en pacientes con ortodoncia (Sodagar *et al.*, 2016; Ali *et al.*, 2022; Lee *et al.*, 2018; Moreira *et al.*, 2015; Mhaske *et al.*, 2015). La tabla 4 presenta las investigaciones realizadas con las AgNPs en el campo de la ortodoncia.

Espinosa *et al.* (2018) prepararon AgNPs de dos tamaños  $8.1 \pm 3.4$  y  $20.1 \pm 10$  nm esféricas contra la adhesión de *S. mutans* en superficies de *brackets* y alambres, encontrando que todas las muestras de AgNPs inhibieron la adhesión de *S. mutans*, las AgNPs más pequeñas tuvieron una mejor inhibición que las más grandes concluyendo que las AgNPs utilizadas en este estudio mostraron tener buenas propiedades antimicrobianas y antiadherentes contra la bacteria *S. mutans*, determinando su alto uso potencial para el control de manchas blancas

**Tabla 4.** Estudios de AgNPs en ortodoncia.

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Tristán <i>et al.</i> (2023)	<i>In vitro</i>	Adhesivo de ortodoncia incorporando AgNPs AgNPs MIP+ transbond™ AgNPs Transbond™ XT+ AgNPs Prime & Bond +. Concentración: .1 mM Tamaño de partícula: 11 nm	<i>L. acidophilus</i> y <i>S. mutans</i>	No estudiada.	Se concluyó que los adhesivos ortodóncicos hidrófilos y no hidrófilos con AgNPs añadidos conservan sus propiedades mecánicas y mejoran su actividad antimicrobiana frente a cepas de interés en la formación de WSLs.
Ali <i>et al.</i> (2022)	Clínico	Enjuague bucal con AgNPs. Concentración: no reportada. Tamaño de partícula: no reportado.	Se incluyeron 42 pacientes con apiñamiento leve a moderado.	No estudiada.	El enjuague bucal con AgNPs fue más efectivo en la reducción de las lesiones de manchas blancas (WSL) que los enjuagues bucales CHX y flúor durante el tratamiento de ortodoncia.
Ahmed <i>et al.</i> (2022)		Cemento de ortodoncia anticariogénico, incorporando nanopartículas de plata recubiertas de Augmentin (AgNP). Concentración: 2.5%, 5% y 10% en peso de nanopartículas de Ag recubiertas de Augmentina en Transbond XT. Tamaño de partícula: no reportado.	<i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i>	Se evaluó la citotoxicidad mediante la realización de un ensayo de MTT utilizando células de fibroblastos. Los resultados indican un aumento gradual en la viabilidad de las células de fibroblastos del 10%, 50% y 100%. Los resultados demuestran los efectos no tóxicos de las AgNPs, promoviendo la viabilidad y proliferación de fibroblastos.	El estudio antibacteriano contra <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i> mostró la potencia de las AgNPs preparadas. El compuesto experimental con 5% en peso de nanopartículas tiene una resistencia de unión al corte cercana a la resistencia de unión al corte ideal. La liberación sostenida de AgNPs le permite prevenir infecciones bacterianas, lesiones blancas y desmineralización de la superficie del diente.

Continúa ▼

**Tabla 4.** Estudios de AgNPs en ortodoncia (continuación).

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Sawan <i>et al.</i> (2021)	<i>In vitro</i>	Grafeno funcionalizado con un agente adhesivo a base de metacrilato modificado con AgNPs (GNP-Ag). Concentración: 0.25%, 0.5% de peso de AgNPs y adhesivo Tamaño de partícula: 100 nm	<i>Streptococcus mutans</i>	La evaluación de la citotoxicidad se realizó utilizando el ensayo MTT en líneas celulares de fibroblastos gingivales humanos (HGF). Los resultados demostraron una diferencia significativa en la viabilidad de las células HGF entre el adhesivo experimental modificado y no modificado. El adhesivo experimental que contenía 0.25 y 0.5% en peso de GNP-Ag mostró una baja citotoxicidad, con una tasa de supervivencia celular superior al 80%. Sin embargo, después de 48 h, el 0.5% en peso del adhesivo experimental GNP Ag mostró un comportamiento citotóxico considerable (< 80%).	El estudio encontró que el 0.25% en peso reveló un aumento sustancial en las propiedades antibacterianas y, por lo tanto, podría usarse para unir brackets de ortodoncia a la superficie del esmalte sin comprometer la fuerza de unión.
Lee <i>et al.</i> (2018)	<i>In vitro</i>	Resina dental híbrida con AgNPs. Concentración: 10 mM Tamaño de partícula: 20 nm	<i>Streptococcus mutans</i> ( <i>S. mutans</i> ) y <i>Streptococcus sobrinus</i> ( <i>S. sobrinus</i> )	No estudiada.	La resina dental que contenía AgNPs mostró una potente actividad antimicrobiana contra los dos tipos de bacterias.
Sodagar <i>et al.</i> (2016)	<i>In vitro</i>	Adhesivo ortodóncico convencional que contiene AgNPs e hidroxiapatita. Concentración: AgNPs / hidroxiapatita, al 1%, 5% y 10% Tamaño de partícula: 55 - 65 nm	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> y <i>Streptococcus sanguinis</i>	No estudiada.	Los discos compuestos que contenían 5 y 10% de AgNPs/hidroxiapatita fueron capaces de producir zonas de inhibición del crecimiento para todos los tipos de bacterias. Los resultados de la prueba de inhibición de la biopelícula mostraron que todos los grupos de estudio redujeron el recuento de bacterias viables en comparación con el grupo de control.

Continúa ▼

**Tabla 4.** Estudios de AgNPs en ortodoncia (continuación).

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Degrazia et al. (2016)		Adhesivo para ortodoncia (Transbond™ XT) con AgNPs Concentración: 0.11%, 0.18% y 0.33%. Tamaño de partícula: < 150 nm	Streptococcus mutans	No estudiada.	La adición de soluciones de AgNPs al adhesivo Transbond™ XT inhibió el crecimiento de <i>S. mutans</i> .
Moreira et al. (2015)	In vivo	Cemento de banda para ortodoncia con AgNPs de liberación prolongada. Concentración: 0.1%, 0.5% 1% de peso. Tamaño de partícula: no reportado.	Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophilus	La citotoxicidad se evaluó mediante el método de difusión en agar utilizando fibroblastos de ratón L929. No se observó decoloración ni lisis celular en AgNP-OBC al 0.5%.	Se desarrolló un nuevo cemento antimicrobiano para bandas de ortodoncia con propiedades mecánicas comparables a las de los controles, liberación controlada y sostenida de iones Ag <sup>+</sup> , inhibición bacteriana significativa <i>in vitro</i> y excelente biocompatibilidad.
Mhaske et al. (2015)	In vitro	Alambres de ortodoncia de acero inoxidable y níquel titanio (NITI) recubiertos con AgNPs. Concentración: no reportada. Tamaño de partícula: no reportado.	Lactobacillus acidophilus	No estudiada.	La modificación de la superficie de los alambres de ortodoncia con AgNPs se puede utilizar para prevenir el desarrollo de placa dental y caries dental durante el tratamiento de ortodoncia.
Espinoza et al. (2018)	In vitro	Solución de AgNPs Concentración: 0.01 M Tamaño de partícula: 8.1 ± 3.4 y 20.1 ± 10 nm	Streptococcus mutans	No estudiada.	Se demostró que las AgNPs utilizadas en este estudio inhiben la adhesión bacteriana y la capacidad de crecimiento de la bacteria <i>S. mutans</i> en las superficies de los brackets y diferentes tipos de alambres de ortodoncia.

Fuente: Elaboración de los autores.

(WSL) en tratamientos de ortodoncia. Gao *et al.* (2014) evaluaron la adición de AgNPs a matrices de bandas de titanio (TiO<sub>2</sub>NT), incrustadas en las paredes de nanotubos, encontrando que matan eficazmente a *E. coli* y *S. aureus* y presentan una capacidad antibacteriana de larga duración sin mostrar toxicidad, teniendo, así, aplicaciones prometedoras en ortodoncia y ortopedia. Los adhesivos están siendo renovados al agregar agentes antimicrobianos y reducir el riesgo de presentar WSL o caries (Sodogar *et al.*, 2016; Degrazia *et al.*, 2016). Degrazia *et al.* (2016) incorporaron AgNPs a un adhesivo comercial de ortodoncia y evaluaron sus propiedades fisicoquímicas y antimicrobianas contra *S. mutans*, encontrando que al añadir las AgNPs al adhesivo se inhibe el crecimiento de *S. mutans* sin comprometer las propiedades fisicoquímicas del adhesivo.

En estudios realizados por Ali *et al.* (2022) en un ensayo clínico aleatorizado prospectivo doble ciego, compuesto por cuarenta y dos pacientes con apinamiento de leve a moderado, se demostró la eficacia de enjuagues que contienen AgNPs comerciales frente a enjuagues convencionales de clorhexidina en pacientes con ortodoncia para prevenir las manchas blancas; los pacientes se dividieron en grupos según el enjuague bucal utilizado durante el tratamiento (AgNPs, CHX o fluoruro), usaron 5 mL de las soluciones por 1 minuto 2 veces al día durante 6 meses, encontrando mejores efectos en los pacientes tratados con el enjuague que contiene AgNPs, no se reportaron efectos secundarios asociados con los enjuagues.

## Implantes dentales

La perimplantitis es una enfermedad inflamatoria polimicrobiana conducente a la destrucción del tejido que sostiene el implante. Sin tratamiento, resulta en la pérdida del implante (Dhir *et al.*, 2013). La biopelícula comienza a formarse en la superficie del implante 30 minutos después de que el implante se expone en la cavidad oral. Los primeros colonizadores son predominantemente las especies de cocos, bacilos y *actinomyces* Gram positivas. La osteointegración alrededor del implante dental está influenciada en gran medida por su rugosidad de la superficie. Sin embargo, cuanto mayor es la rugosidad de la superficie, mayor es la tasa de formación de biopelícula alrededor del implante (Venugopal *et al.*, 2017).

La adición de un agente antibacteriano a los implantes dentales puede brindar la oportunidad de disminuir el porcentaje de fallas del implante debido a perimplantitis (Kranz *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019; Nandi *et al.*, 2018; Zhong *et al.*, 2016). En una investigación realizada por Pokrowieki *et al.* (2017), se reportó haber añadido al titanio AgNPs para evaluar su efecto antibacteriano frente a bacterias aisladas en la biopelícula perimplantaria *S. mutans*, *Streptococcus mitis* (*S. mitis*), *Streptococcus oralis* (*S. oralis*), *Streptococcus sanguis* (*S. sanguis*), *P. gingivalis*, *S. aureus*, *E. coli*, y encontraron que la presencia de AgNPs proporciona actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas y negativas, siendo las Gram negativas las más susceptibles a

los iones de plata. Nandi *et al.* (2018) utilizaron AgNPs que depositaron electrolíticamente sobre un implante de acero para el tratamiento de osteomielitis *in situ*, sus resultados son prometedores, pues los alfileres recubiertos de plata, en dosis altas, pueden tratar eficazmente la osteomielitis, sin causar toxicidad en órganos principales como corazón, riñones e hígado; concluyen que sus hallazgos son especialmente importantes porque, aparte de la eliminación de implante o manejo de tejido muerto actualmente no hay opciones de tratamiento satisfactorias disponibles para la osteomielitis en un entorno clínico, esto concuerda con otro estudio realizado por Zhang *et al.* (2019) donde desarrollaron un andamio compuesto de seda y AgNPs cargado con gentamicina para tratar osteomielitis crónica inducida por *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), sus resultados mostraron inhibición efectiva del crecimiento de la bacteria MRSA, confirmando un futuro prometedor en el tratamiento de la osteomielitis crónica. La tabla 5 muestra las investigaciones con las AgNPs en los implantes dentales.

## Materiales dentales

Los materiales dentales son parte importante en la actividad diaria de la estomatología, pero siempre se requiere su mejoramiento. Debido a los avances tecnológicos y bioquímicos, se puede contar con una nueva generación de materiales con mejores propiedades físicas, químicas y biológicas (Mackevica *et al.*, 2017).

Las AgNPs se han incorporado en biomateriales para prevenir o reducir la formación de biopelícula, en parte a que existe una mayor relación superficie/volumen y al pequeño tamaño de partícula, poseen una excelente acción antimicrobiana sin afectar las propiedades mecánicas del material. Esta propiedad única de las AgNPs hace que estos materiales sean rellenos de elección en diferentes biomateriales, por lo cual tienen un papel vital en la mejora de las propiedades (Priyadarshini *et al.*, 2017).

Estudios recientes se están enfocando en revolucionar algunos materiales como recubrimientos, resinas, apósitos quirúrgicos, cementos, agregado de trióxido mineral (MTA), desinfectantes, sustitutos de hueso, materiales de impresión, pastas dentales, agentes anticariostáticos, entre otros, incorporando AgNPs para mejorar sus características y tener o potenciar el efecto antibacteriano contra las bacterias anaerobias Gram negativas y Gram positivas (Mendes *et al.*, 2017; Fatemeh *et al.*, 2017; Zheng *et al.*, 2018; Sacrpelli *et al.*, 2017; *et al.*, 2018; Besinis *et al.*, 2014; Ginjupalli *et al.*, 2016).

Lee *et al.* (2018) desarrollaron una resina híbrida con AgNPs contra *S. mutans* y *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*) para combatir la enfermedad periodontal y la caries. La resina mostró una potente actividad antimicrobiana contra las dos bacterias. Un estudio realizado en el año 2015 creó una resina compuesta con nanocables de hidroxiapatita cargados de AgNPs, además de



**Tabla 5.** Estudios de AgNPs en implantes dentales.

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Bee et al. (2021)	<i>In vitro</i>	Nanocompuesto de hidroxiapatita decorado con AgNPs (HAP/AgNPs). Concentración: 1%, 3% y 5% en peso Tamaño de partícula: no reportado.	<i>S. aureus</i>	No estudiada.	Los nanocompuestos de HAP/AgNPs sintetizados demostraron una fuerte actividad antibacteriana contra la bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> , donde la eficacia antibacteriana depende de la cantidad y el tamaño de las AgNPs depositadas. El nanocompuesto HAP/AgNPs-3 exhibe las propiedades antibacterianas y bioactivas óptimas que podrían ser prometedoras para ser utilizadas como material de implante para aplicaciones dentales y ortopédicas.
Zhang et al. (2019)	<i>In vivo</i>	Estructuras compuestas de seda y AgNPs cargadas de gentamicina Concentración: 0.1%, 0.5% y 1% Tamaño de partícula: no reportado.	Ratas Wistar con osteomielitis, inducido por <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina (SARM).	Ensayo de recuento celular kit-8 y la actividad ALP/Runx2 sobre la línea celular de osteoblastos MC-3T3. La tasa de supervivencia de las células se mantuvo por encima del 90% cuando se cultivaron utilizando andamios empapados en medio de cultivo durante 10 días, lo cual confirma la baja citotoxicidad celular de los andamios.	Los andamios compuestos SF-AgNPs resultantes mostraron una buena estructura de poros tridimensionales, una distribución uniforme de AgNPs, una biocompatibilidad favorable con los osteoblastos y propiedades antibacterianas eficientes contra el SARM.
Kranz et al. (2019)	<i>In vivo</i>	Recubrimiento de titanio oxidado químicamente por plasma funcionalizado con nanopartículas de plata (TiOB SiOx Ag) Concentración: 5% Tamaño de partícula: no reportado.	<i>Staphylococcus aureus</i>	Se determinó la viabilidad de las células MC3T3-E1 (DSMZ ACC 210) después del cultivo directo sobre las superficies de TiOB funcionalizadas durante 2 y 4 días. Después de 4 días de cultivo, se observó un aumento significativo de células viables para TiOB SiOx Ag y también para TiOB Zn, con células sanas cultivadas en toda la superficie.	Todas las superficies antibacterianas autoactivas de TiOB observadas en el presente estudio demostraron un efecto antibacteriano significativo sobre el <i>Staphylococcus aureus</i> con diferentes propiedades biocompatibles. Dado que la gentamicina es capaz de eluir a TiOB gta, es posible inhibir el crecimiento bacteriano en la región perimplantaria, mientras que el efecto antibacteriano de TiOB SiOx Ag y TiOB Zn se restringe solo a la superficie.

Continúa ▼

**Tabla 5.** Estudios de AgNPs en implantes dentales (continuación).

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Nandi et al. (2018)	<i>In vivo</i>	Nanopartículas de plata fuertemente adherentes depositadas electrolíticamente sobre implantes de acero inoxidable durante 45 segundos (dosis baja) y 2 minutos (dosis alta), en una solución de nitrato de plata 0.1 M como electrolito Tamaño de partícula: nanométrico a micrométrico.	Conejos con osteomielitis, inducido con <i>Staphylococcus aureus</i>	El estudio toxicológico de las concentraciones de plata en los principales órganos como el corazón, el riñón y el hígado se llevó a cabo en el día 42. Todas las concentraciones estuvieron por debajo de los niveles de toxicidad recomendados para la plata. En el momento del sacrificio, los animales estaban sanos y en forma, sin ningún efecto secundario indeseable.	Los implantes depositados en plata, especialmente en dosis altas, ofrecieron un resultado prometededor en términos de erradicación de la infección en el modelo de osteomielitis de conejo sin ninguna toxicidad en órganos principales como el corazón, el riñón y el hígado a los 21 y 42 días.
Pokrowieki et al. (2017)	<i>In vitro</i>	Implantes de titanio dopados con AgNPs. Concentración 0.1 M Tamaño de partícula: no reportado	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus oralis</i> , <i>Streptococcus mitis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> y <i>P. gingivalis</i> .	Bioensayo bioluminiscente de citotoxicidad no destructivo ToxiLight Assay Kit, usando osteoblastos humanos naturales. Después de la exposición de osteoblastos humanos a 0.1 ppm de iones de plata, se observó una disminución significativa en la viabilidad celular mediante el uso de ToxiLight™ BioAssay Kit después de 72 horas. Los discos de titanio que contenían Ag fueron significativamente citotóxicos.	La incorporación de AgNPs puede influir en las propiedades superficiales que son importantes en el proceso de cicatrización del implante. La presencia de AgNPs en el titanio proporciona una actividad antibacteriana relacionada con las bacterias implicadas en la perimplantitis.
Zhong et al. (2016)	<i>In vitro</i>	Recubrimiento de AgNPs para implantes dentales. Solución de AgNPs con quitosano y ácido ascórbico como agente reductor. Concentraciones: 10 mM, 20 mM, 50 mM, 100 mM. Tamaño de partícula: 30 nm	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ensayo del kit de recuento de células-8 (CCK-8, Dojindo, Japón). Las muestras de CS/Ag mostraron citotoxicidad con el aumento de la cantidad de Ag incorporada.	Los recubrimientos multicapa cargados con AgNPs pueden matar las bacterias planctónicas y adherentes al 100% durante los primeros 4 días. La eficacia antibacteriana de las muestras contra bacterias planctónicas y adherentes alcanzó entre el 65% y el 90% después de 14 días.

Fuente: Elaboración de los autores.

investigar el efecto antibacteriano contra *S. mutans* también evaluaron las características físicas y químicas de la resina y encontraron que las resinas compuestas resultantes demostraron una alta actividad antibacteriana con una baja cantidad de adición de AgNPs, no mostró citotoxicidad significativa y se mejoraron las propiedades de la resina (Lee *et al.*, 2016).

Las AgNPs también han sido probadas contra hongos como *Candida albicans* (Pena Mirle *et al.*, 2021; Serrano-Díaz *et al.*, 2023), en el estudio realizado por Serrano-Díaz *et al.*, se biosintetizaron AgNPs utilizando hojas de *Pelargonium hortorum* para probar su efecto antifúngico, citotoxicidad y expresión genética global en *Candida* a través de perfiles transcriptómicos; las AgNPs formadas tienen morfología esférica con un tamaño aproximado de 38 nm, alta estabilidad y exhibieron eficacia antifúngica, los resultados generales del perfil ómico muestran que la expresión de genes está regulada al alza y a la baja, lo cual es de gran importancia para la virulencia, la adhesión y la actividad biológica de *C. albicans* mediante el tratamiento con AgNPs.

Diversas investigaciones han demostrado que el efecto antibacteriano de las AgNPs es proporcional a la concentración y tamaño, a mayor concentración y menor tamaño, mayor efecto (Gao *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2018; Shen *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2017; Jonaidi-Jafari *et al.*, 2016; Massa *et al.*, 2014). La versatilidad de las nanopartículas se deriva de su capacidad de modificación al aprovechar las actividades antimicrobianas de las AgNPs en una variedad de formas y actividades de proliferación celular de otros materiales, se pueden desarrollar sistemas de ayuda para la reparación de heridas con mayor eficacia sin comprometer las propiedades de estos. Nam *et al.* (2017) incorporaron AgNPs a un sustituto de hueso (cemento Portland) y encontraron que esta adición promovió la actividad antibacteriana y favoreció las propiedades biomecánicas del cemento. Lee *et al.* (2016) diseñaron un apósito oral biocompatible para heridas como nanofibra co-electrohilada que contiene AgNPs para mejorar la actividad antibacteriana dirigida contra bacterias periodontales (*P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. a.* el apósito mostró una excelente actividad antibacteriana, todas las pruebas exhibieron al apósito para heridas orales útil para prevenir una infección bacteriana para encía y tejidos periodontales.

Paiva *et al.* (2017) añadieron AgNPs a un ionómero de vidrio convencional contra *E. coli* y *S. mutans*, el ionómero presentó una mejor resistencia a la compresión, buena difusión de iones  $Ag^+$  y tuvo un mayor efecto antibacteriano para *E. coli* manifestando parámetros adecuados para uso clínico. Afkhami *et al.* (2015) usaron AgNPs como vehículo para medicamento intraconductos de hidróxido de calcio, se probó su efecto contra *E. faecalis* y se encontró que las AgNPs fueron un vehículo adecuado de hidróxido de calcio para evitar la formación de biopelícula de *E. faecalis* en la dentina humana. La tabla 6 presenta las investigaciones con las AgNPs y materiales dentales.

**Tabla 6.** Estudios de AgNPs en materiales dentales.

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Serrano-Díaz et al. (2023)	<i>In vitro</i>	Solución de AgNPs con extracto de hoja de <i>Pelargonium hortorum</i> . Concentración: 25 mM Tamaño de partícula: 38 nm	<i>Candida albicans</i>	Ensayo colorimétrico MTT con fibroblastos gingivales humanos (FGH). Los resultados muestran un efecto citotóxico de forma dosis dependiente. Se observó un efecto de hormesis con casi todas las concentraciones de más del 50% de viabilidad celular.	La síntesis de AgNPs con extracto de hoja de <i>Pelargonium</i> mostró que las AgNPs formadas tienen morfología esférica con un tamaño aproximado de 38 nm y eficacia antifúngica como una posible solución al problema de la resistencia a diversos agentes terapéuticos. Los resultados generales del perfil ómico muestran que la expresión de genes está regulada al alza y a la baja, lo cual es de gran importancia para la virulencia, la adhesión y la actividad biológica de <i>C. albicans</i> mediante el tratamiento con AgNP.
Pena-Mirle et al. (2021)	<i>In vitro</i>	Solución de AgNPs con polietilimina (PE) como agente reductor y estabilizante. Concentración: 10 mM Tamaño de partícula: 3 - 35 nm	Ratas Wistar con <i>Candida albicans</i> , <i>Candida glabrata</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida parapsilosis</i>	Ensayo colorimétrico MTT con fibroblastos gingivales humanos (FGH). Los datos determinaron que las NP mostraron > 50% de viabilidad celular incluso después de 72 y 96 h.	La eficacia de la actividad antimicrobiana fue inversamente proporcional al tamaño de las partículas. Se encontró que las nanopartículas más pequeñas inhiben la formación de biopelículas de <i>Candida</i> en catéteres de silicona y demostraron ser un agente anticandidaico potencial y eficaz contra los aislados estándar y clínicos de <i>Candida</i> .
Jafari et al. (2021)	<i>In vitro</i>	Impresiones hidrocoloides irreversibles con AgNPs (Nano Nasb Pars, Tehran, Iran). Concentración: 0.25%, 0.50% y 1% de peso/volumen	<i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Candida albicans</i>	No estudiada.	La eficiencia de la desinfección aumentó dramáticamente al aumentar la concentración de AgNPs, la relación polvo-agua y el tiempo de mezcla.
Nunes et al. (2019)	<i>In vitro</i>	Resina acrílica con AgNPs y metacrilato de metilo (PMMA). Concentración: 0.05% Tamaño de partícula: 5.8 nm	<i>Candida glabrata</i>	No estudiada.	Entre los nanocompuestos, el PMMA con 0.05% de AgNPs mostró las propiedades más prometedoras para aplicaciones médicas y dentales, pues exhibió un rendimiento mecánico adecuado para prótesis dentales, redujo efectivamente la actividad metabólica de las biopelículas de <i>C. glabrata</i> así como la inhibición y adhesión de las biopelículas.

Continúa ▼

**Tabla 6.** Estudios de AgNPs en materiales dentales (continuación).

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Scarpelli et al. (2017)	<i>In vitro</i>	Agente cariostático experimental con AgNPs (Ag Nano) Concentración: 0.016% Tamaño de partícula: no reportado.	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Enterococcus faecalis</i>	No estudiada.	Ag-Nano remineralizó el esmalte dental de dientes deciduos y mostró actividad bactericida contra <i>S. mutans</i> , <i>E. faecalis</i> y <i>E. coli</i> .
Nam et al. (2017)	<i>In vitro</i>	Cemento Portland impregnado con AgNPs (CPAgNPs). Concentración: 1%, 3% y 5% en peso Tamaño de partícula: 50 y 80 nm	<i>S. mutans</i> y <i>Streptococcus sobrinus</i>	Ensayo colorimétrico MTT con fibroblastos gingivales humanos. El SPNC no reveló efectos citotóxicos para el HGF según la norma ISO 10993 (viabilidad celular > 70%).	La adición de AgNPs promovió la actividad antibacteriana y favoreció las propiedades biomecánicas del cemento Portland; por lo tanto, CPAgNPs podría ser un candidato como biomaterial dental futurista.
Paiva et al. (2017)	<i>In vitro</i>	Cemento de ionómero de vidrio con AgNPs (Nano-Ag-GIC). Concentración: 0.05%, 0.10% y 0.50% en peso. Tamaño de partícula: 6 nm	<i>Streptococcus mutans</i> y <i>Escherichia coli</i>	No estudiada.	Se puede afirmar que el nuevo NanoAg-GIC desarrollado en este trabajo demostró tener un efecto antibacteriano por difusión, lo cual sugiere la disolución oxidativa de los iones de plata de la matriz del cemento, y lleva a suponer que son eficientes para detener la caries y prevenir el desarrollo de biopelículas orales en su superficie.
Shen et al. (2017)	<i>In vitro</i>	Recubrimiento superficial de aleaciones dentales con AgNPs. Concentración: 1.06% en peso Tamaño de partícula: < 100 nm	<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus mutans</i>	Se utilizó un ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolol (MTT) para evaluar la citotoxicidad de las aleaciones cuando estaban en contacto con células precursoras osteogénicas (MC3T3-E1) de ratones y células madre mesenquimales (BMSC) de ratas. Los resultados demostraron que las aleaciones de cromo cobalto y el titanio puro tenían citotoxicidad para MC3T3-E1 y BMSC y que la incorporación de AgNPs podría reducir esta citotoxicidad.	Se encontró que las concentraciones de AgNPs adoptadas en este estudio no tenían acción antibacteriana contra <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus mutans</i> .

Continúa ▼

**Tabla 6.** Estudios de AgNPs en materiales dentales (continuación).

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Ginjupalli et al. (2016)	<i>In vitro</i>	Materiales de impresión hidrocolooides irreversibles con AgNPs (Nano Labs). Concentraciones: 0.5%, 1%, 2% y 5% en peso Tamaño de partícula: 80 a 100 nm	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Candida albicans</i>	No estudiada.	La incorporación de AgNPs impartió una actividad antimicrobiana significativa a los materiales de impresión hidrocolooides irreversibles probados sin afectar negativamente sus propiedades.
Lee et al. (2016)	<i>In vitro</i>	Aposito para heridas orales nanofibroso dual híbrido incrustado de AgNPs. Concentración: 3.8% en peso Tamaño de partícula: 8 - 22 nm	<i>P. gingivalis</i> , <i>P. intermedia</i> y <i>A. actinomycetemcomitans</i>	No estudiada.	Las AgNPs no solo se sintetizaron perfectamente sin un agente reductor, sino que también se fabricaron nanofibras electrohiladas (EN) que contienen AgNPs. Se demostró claramente la presencia de AgNPs dentro de la cadena de fibra. En la prueba antibacteriana, el aposito para heridas orales desarrollado mostró una excelente actividad antibacteriana a medida que aumentaba el contenido de AgNPs.
Jonaidi-jafari et al. (2016)	<i>In vitro</i>	Agregado de Tiroxido de Mineral (MTA) con AgNPs Cemento experimental (CEM) con AgNPs. Concentración: 100 ppm, 200 ppm Tamaño de partícula: 70 nm	<i>Escherichia</i> , <i>Actinomyces</i> y <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Candida albicans</i> y <i>Enterococcus faecalis</i>	No estudiada.	La mezcla de MTA y CEM con diferentes concentraciones de AgNPs aumentó significativamente la actividad antibacteriana.
Besinis et al. (2014)	<i>In vitro</i>	Nanorrecubrimiento de plata directamente sobre la dentina AgNPs (silver nanopowder, Sigma-Aldrich). Concentración: 2.8 g L <sup>-1</sup> Tamaño de partícula: 56.8 ± 18.6	<i>Streptococcus mutans</i>	No estudiada.	Las AgNPs pueden ser una alternativa viable a la clorhexidina, protegiendo de la placa dental y la caries secundaria cuando se aplican como recubrimiento de dentina, al tiempo que pueden proporcionar una plataforma para crear superficies antibiopelículas en dispositivos médicos y otras aplicaciones biomédicas.

Continúa ▼

Tabla 6. Estudios de AgNPs en materiales dentales (continuación).

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs, concentración y tamaño	Efecto antibacteriano o sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Massa et al. (2014)	<i>In vitro</i>	Recubrimientos de sílice nanoporosa dopada con AgNPs se prepararon sobre una superficie de titanio, utilizando un método combinado de sol-gel y autoensamblaje inducido por evaporación. Concentración: 6.1% en peso Tamaño de partícula: 8 nm	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	No estudiada.	La actividad antibacteriana a largo plazo exhibida por la superficie nanoestructurada de titanio AgNPs/NSC contra <i>A. actinomycetemcomitans</i> sugiere que este tipo de modificación de la superficie a nano escala es una estrategia promisorio para controlar las infecciones asociadas con la rehabilitación de implantes dentales.
Gao et al. (2014)	<i>In vitro</i>	Nanotubos de titanio con nanopartículas de óxido de plata (NT-Ag2O). Concentración: 0.38% a 1.62% en peso Tamaño de partícula: 5 y 20 nm	<i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i>	La citotoxicidad de las muestras se analizó mediante el kit de viabilidad/citotoxicidad LIVE/DEAD para células de mamíferos (Invitrogen). A medida que aumenta el tiempo de cultivo, el número de células aumenta linealmente, indicando que las matrices de NT-Ag2O casi no tienen citotoxicidad y apoyan la proliferación celular.	Las matrices NT-Ag2O pueden matar eficazmente <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> , incluso después de la inmersión durante 28 días, demostrando la capacidad antibacteriana de larga duración. Además, las matrices NT-Ag2O no tienen una influencia apreciable en la viabilidad, proliferación y diferenciación osteoblástica en comparación con las matrices NT de TiO2 libres de Ag. La incorporación de AgNPs muestra, incluso, algunos efectos favorables en la promoción de la propagación celular.

Fuente: Elaboración de los autores.

## Nanopartículas de plata AgNPs y COVID-19 en odontología

Investigaciones actuales han probado la eficacia de las AgNPs contra la infección causada por el virus SARS-CoV-2, las AgNPs se probaron *in vitro* e *in vivo*. En cultivos celulares han demostrado tener una acción inhibitoria en la infección por SARS-CoV-2. Almanza *et al.* (2021) evaluaron la acción del enjuague bucal y nasal ARGOVIT®, que contiene AgNPs a una concentración de 0.6 mg/mL, para prevenir la infección por SARS-CoV-2 en trabajadores de la salud del Hospital General de Tijuana, México, para lo cual incluyeron 231 participantes. El grupo “problema” realizó enjuagues bucales y nasales con la solución de AgNPs 3 veces al día durante 9 semanas, el grupo “control” realizó enjuagues bucales y nasales de manera convencional. La infección por SARS-CoV-2 fue significativamente menor en el grupo “problema” (2 participantes de 114, 1.8%) en comparación con el grupo “control” (36 participantes de 117, 28.2%), con un 84.8% de eficiencia, no se reportaron efectos adversos asociados con la solución con AgNPs (Almanza *et al.*, 2021). La tabla 7 muestra detalles de esta investigación.

## Toxicidad de las AgNPs

Respecto de la de toxicidad de las AgNPs, se han realizado diversos estudios *in vitro* e *in vivo*. Maneewattanapinyo *et al.* (2011) llevaron a cabo pruebas de toxicidad oral aguda, irritación ocular, corrosión y toxicidad dérmica, administraron vía oral AgNPs en una dosis limitada de 5,000 mg/Kg en cobayos, encontrando que no produjo ni mortalidad ni signos de toxicidad aguda durante todo el periodo de observación, concluyen que las AgNPs coloidales podrían ser relativamente seguras cuando se administran oralmente, en los ojos y en la piel de los modelos animales durante cortos lapsos, concordando con otros estudios realizados con datos histopatológicos, en donde no se encontraron cambios considerables en los pulmones, hígado, cavidad nasal u otros órganos con respecto a AgNPs con tamaños promedio de 15 a 30 nm y en concentraciones de 0.5 a 381 g/m<sup>3</sup> (Kim *et al.*, 2011; Ji *et al.*, 2007; Hyun *et al.*, 2008; Gao *et al.*, 2014).

Investigaciones desarrolladas sobre toxicidad en líneas celulares de osteoblastos con un compuesto de las nanopartículas de Ag<sub>2</sub>O cristalizadas con diámetros que van de 5 a 20 nm incrustadas en la pared amorfa de un nanotubo de titanio con liberación controlada de plata no mostraron citotoxicidad sobre osteoblastos (Ai *et al.*, 2017); una resina con AgNPs y liberación de Ag a una concentración de 0.1g/L reportó toxicidad insignificante en líneas celulares de fibroblastos L929 (Korura *et al.*, 2010). Kokura *et al.* (2010) afirman que las AgNPs en concentraciones de 0.002 a 0.02 mg/mL no tuvieron efecto sobre los queratinocitos humanos.

En cultivos de líneas celulares, las concentraciones letales oscilan entre 10<sup>0</sup> y 10<sup>2</sup> µg/mL de plata. La mayoría de los trabajos reportan una DL<sub>100</sub> cercana a 10<sup>1</sup> µg/mL (Shahare *et al.*, 2013).



**Tabla 7.** Estudios de AgNPs en materiales dentales.

Autores y año	Tipo de estudio	Tipo de AgNPs y tamaño de partícula	Sitio de estudio	Estudios de toxicidad	Resultados
Almanza <i>et al.</i> (2021)	Clínico In vitro	Enjuague bucal y nasal ARGOVIT®, que contiene AgNPs Concentración: 0.6 mg/mL	231 trabajadores de salud del Hospital General de Tijuana	No reportado.	Este estudio prospectivo aleatorizado demuestra que el enjuague bucal y el enjuague nasal con AgNP son efectivos para disminuir la tasa de infección por SARS-CoV-2, no solo para el personal sanitario, sino también como protección adicional para la población en general.

Fuente: Elaboración de los autores.

Diversos estudios en ratas revelaron los siguientes efectos a las dosis altas de AgNPs: pérdida de peso a dosis de 10 mg/Kg (Farahani *et al.*, 2018), trastornos hepáticos a dosis > 300 mg/Kg (Kim *et al.*, 2008) y estrés oxidativo generado a dosis de NP > 1000 mg/Kg (Adeyemi *et al.*, 2014).

## Conclusiones

Las nanopartículas de plata poseen características genuinas e innovadoras y un gran potencial para la creación y mejora de agentes antimicrobianos de uso odontológico, su versatilidad hace que se puedan usar como agentes irrigantes, dispositivos de recubrimientos, apósitos quirúrgicos, cementos, resinas, MTA, adhesivos, se combinan sin modificar las características de los materiales y las mejora, la mayoría de los estudios inspeccionados en la revisión son *in vivo* o *in vitro*, muy pocos han tenido aplicación clínica y la mayoría demostraron poseer efectos antibacterianos efectivos frente a bacterias orales tan eficientes como la clorhexidina e incluso se potenciaron estos efectos cuando se combinaron con esta o con algún antibiótico.

La toxicidad de las nanopartículas de plata depende de la dosis, tamaño, forma, superficie y estabilidad, la nanotoxicología es un área que se encuentra en desarrollo y es importante seguir con investigaciones que amplíen la información sobre el uso de las nanopartículas de plata para poder aplicarlas adecuadamente y de una manera segura.

## Referencias

- Abbaszadegan, A., Nabavizadeh, M., Gholami, A., Aleyasin, Z. S., Dorostkar, S., Saliminasab, M., Ghasemi, Y., Hemmateenejad, B., Sharghi, H. (2015). Positively charged imidazolium-based ionic liquid-protected silver nanoparticles: a promising disinfectant in root canal treatment. *International Endodontic Journal*, 48(8): 790-800. <https://doi.org/10.1111/iej.12377>.
- Abdou, S. A., Mohamed, A. I., Aly, Y. (2023). Cytotoxicity evaluation of three different types of intracanal medications. *Journal of International Oral Health*, 15(4): 384-390. [https://doi.uam.elogim.com/10.4103/jioh.jioh\\_50\\_23](https://doi.uam.elogim.com/10.4103/jioh.jioh_50_23).
- Adeyemi, O., Faniyan T. (2014). Antioxidant status of rats administered silver nanoparticles orally. *Journal of Taibah University Medical Science*, 9: 182-186. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2014.03.002>.
- Afkhami, F., Akbari, S., Chiniforush, N. (2017). *Enterococcus faecalis* elimination in root canals using silver nanoparticles, photodynamic therapy, diode laser, or laser-activated nanoparticles: an *in vitro* study. *Journal of Endodontics*, 43(2): 279-282. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.08.029>.
- Afkhami, F., Pourhashemi, S. J., Sadegh, M., Salehi, Y., Fard, M. J. (2015). Antibiofilm efficacy of silver nanoparticles as a vehicle for calcium hydroxide medicament against *Enterococcus faecalis*. *Journal of Dentistry*, 43(12): 1573-1579. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.08.012>.

- Ahmed, A., Muhammad, N., Ali, A., Mutahir, Z., Khan, A. S., Sharif, F., Shah, A. T., Haq, Z. U., Liaqat, S., Khan, M. A. (2022). Effect of augmentin-coated silver nanoparticles on biological and mechanical properties of orthodontic bracket cement. *Materials Technology*, 37(14): 2983-2994. <https://doi.uam.elogim.com/10.1080/10667857.2022.2103612>.
- Ahmed, O. A. K., Sibuyi, N. R. S., Fadaka, A. O., Maboza, E., Olivier, A., Madiehe, A. M., Meyer, M., Geerts, G. (2023). Prospects of using gum arabic silver nanoparticles in toothpaste to prevent dental caries. *Pharmaceutics*, 15(3): 871. <https://doi.uam.elogim.com/10.3390/pharmaceutics15030871>.
- Ai, M., Du, Z., Zhu, S., Geng, H., Zhang, X., Cai, Q., Yang, X. (2017). Composite resin reinforced with silver nanoparticles-laden hydroxyapatite nanowires for dental application. *Dental Materials*, 33(1): 12-22. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2016.09.038>.
- Al, N., Zuhair, A., Ettihad, C., John R. (2020). Effectiveness of a novel nano-silver fluoride with green tea extract compared with silver diamine fluoride: a randomized, controlled, non-inferiority trial. *International Journal of Dentistry and Oral Science*, 7(6): 753-761.
- Alexander J. W. (2009). History of the medical use of silver. *Surgical Infections*, 10(3): 289-292. <https://doi.org/10.1089/sur.2008.9941>.
- Ali, A., Ismail, H., Amin, K. (2022). Effect of nanosilver mouthwash on prevention of white spot lesions in patients undergoing fixed orthodontic treatment a randomized double-blind clinical trial. *Journal of Dental Sciences*, 17(1): 249-255. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2021.03.016>.
- Almanza-Reyes, H., Moreno, S., Plascencia-López, I., Alvarado-Vera, M., Patrón-Romero, L., Borrego, B., Reyes-Escamilla, A., Valencia-Manzo, D., Brun, A., Pestryakov, A., Bogdanchikova, N. (2021). Evaluation of silver nanoparticles for the prevention of SARS-CoV-2 infection in health workers: *in vitro* and *in vivo*. *PLoS One*, 16(8): e0256401. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256401>.
- Arif, W., Rana, N. F., Saleem, I., Tanweer, T., Khan, M. J., Alshareef, S. A., Sheikh, H. M., Alaryani, F. S., AL-Kattan, M. O., Alatawi, H. A., Menaa, F., Nadeem, A. Y. (2022). Antibacterial activity of dental composite with ciprofloxacin loaded silver nanoparticles. *Molecules*, 27(21): 7182. <https://doi.uam.elogim.com/10.3390/molecules27217182>.
- Aziz, S. G., Aziz, S. G., Akbarzadeh, A. (2017). Advances in silver nanotechnology: an update on biomedical applications and future perspectives. *Drug Research*, 67(4): 198-203. <https://doi.org/10.1055/s-0042-112810>.
- Bahador, A., Pourakbari, B., Bolhari, B., Hashemi, F. B. (2015). *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of nanosilver-mineral trioxide aggregate against frequent anaerobic oral pathogens by a membrane-enclosed immersion test. *Biomedical Journal*, 38(1): 77-83. <https://doi.org/10.4103/2319-4170.132901>.
- Barillo, D. J., Marx, D. E. (2014). Silver in medicine: a brief history BC 335 to present. *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*, 40(1): S3-S8. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2014.09.009>.
- Barkat, M. A., Harshita, Beg, S., Naim, M. J., Pottoo, F. H., Singh, S. P., Ahmad, F. J.

- (2018). Current progress in synthesis, characterization and applications of silver nanoparticles: precepts and prospects. *Recent Patents on Anti-infective Drug Discovery*, 13(1): 53-69. <https://doi.org/10.2174/1574891X12666171006102833>.
- Bee, S.-L., Bustami, Y., Ul-Hamid, A., Lim, K., Abdul Hamid, Z. A. (2021). Synthesis of silver nanoparticle-decorated hydroxyapatite nanocomposite with combined bio-activity and antibacterial properties. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 32(9): 1-12. <https://doi.uam.elogim.com/10.1007/s10856-021-06590-y>.
- Besinis, A., De Peralta, T., Handy, R. D. (2014). Inhibition of biofilm formation and antibacterial properties of a silver nano-coating on human dentine. *Nanotoxicology*, 8(7): 745-754. <https://doi.org/10.3109/17435390.2013.825343>.
- Bhavya, B., Ibrahim, F., Safiya, F. (2021). Effect of silver nanoparticle membrane on wound healing and patient satisfaction following flap surgery. *International Journal of Applied Dental Science*, 7(2): 155-60. <https://doi.org/10.22271/oral.2021.v7.i2c.1202>.
- Celikten, B., Amasya, G., Oncu, A., Koohnavard, M., Saklar, F. (2022). Effects of chitosan-containing silver nanoparticles or chlorhexidine as the final irrigant on the bond strength of resin-based root canal sealers. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 16(2): 118-122. <https://doi.uam.elogim.com/10.34172/joddd.2022.020>.
- Chávez-Andrade, G. M., Tanomaru-Filho, M., Rodrigues, E. M., Gomes-Cornélio, A. L., Faria, G., Bernardi, M. I. B., Guerreiro-Tanomaru, J. M. (2017). Cytotoxicity, genotoxicity and antibacterial activity of poly(vinyl alcohol)-coated silver nanoparticles and farnesol as irrigating solutions. *Archives of Oral Biology*, 84: 89-93. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.09.028>.
- Chittrarasu, M., Ahamed, A., Ravi, V. (2021). Antimicrobial efficacy of green synthesis of silver nanoparticles against cariogenic pathogens – An *in vitro* study. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 13: 1188-1192. [https://doi.uam.elogim.com/10.4103/jpbs.jpbs\\_338\\_21](https://doi.uam.elogim.com/10.4103/jpbs.jpbs_338_21).
- Chladek, G., Mertas, A., Krawczyk, C., Stencel, R., Jabłońska-Stencel, E. (2016) The influence of silver nanoparticles introduced into RTV-silicone matrix on the activity against *Streptococcus mutans*. *Archives of Material Science and Engineering*, 78: 59-65. [https://www.researchgate.net/publication/311878669\\_The\\_influence\\_of\\_silver\\_nanoparticles\\_introduced\\_into\\_RTV-silicone\\_matrix\\_on\\_the\\_activity\\_against\\_Streptococcus\\_mutans](https://www.researchgate.net/publication/311878669_The_influence_of_silver_nanoparticles_introduced_into_RTV-silicone_matrix_on_the_activity_against_Streptococcus_mutans).
- De Matteis, V., Cascione, M., Toma, C. C., Leporatti, S. (2018). Silver nanoparticles: synthetic routes, *in vitro* toxicity and theranostic applications for cancer disease. *Nanomaterials*, 8(5): 319. Basilea, Suiza. <https://doi.org/10.3390/nano8050319>.
- Degrazia, F. W., Leitune, V. C., Garcia, I. M., Arthur, R. A., Samuel, S. M., Collares, F. M. (2016). Effect of silver nanoparticles on the physicochemical and antimicrobial properties of an orthodontic adhesive. *Journal of Applied Oral Science*, 24(4): 404-410. <https://doi.org/10.1590/1678-775720160154>.
- Dhir S. (2013). Biofilm and dental implant: the microbial link. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 17(1): 5-11. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.107466>.
- Do Nascimento, C., Paulo, D. F., Pita, M. S., Pedrazzi, V., de Albuquerque Junior, R. F.

- (2015). Microbial diversity of the supra and subgingival biofilm of healthy individuals after brushing with chlorhexidine or silver coated toothbrush bristles. *Canadian Journal of Microbiology*, 61(2): 112-123. <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0565>.
- Donghyun, L., Sang, L., Ji-Hoi, M., Joo, K., Dong, H., Jae, B., Ho-Nam, L., Keun, K. (2018). Preparation of antibacterial chitosan membranes containing silver nanoparticles for dental barrier membrane applications. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 66(2018): 196-202. <https://doi.uam.elogim.com/10.1016/j.jiec.2018.05.030>.
- Dos Santos, C. A., Seckler, M. M., Ingle, A. P., Gupta, I., Galdiero, S., Galdiero, M., Gade, A. y Rai, M. (2014). Silver nanoparticles: therapeutical uses, toxicity, and safety issues. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(7): 1931-1944. <https://doi.org/10.1002/jps.24001>.
- Dos Santos, V., Gadelha, A., Pelagio, M., Rodríguez, J., Araújo, J., Vilela, M., Freire, H., Galembeck, A., Rosenblatt A. (2017). Antimicrobial activity of silver nanoparticle colloids of different sizes and shapes against *Streptococcus mutans*. *Research on Chemical Intermediates*, 43(10): 5889-99. <https://doi.org/10.1007/s11164-017-2969-5>.
- Ebrahiminezhad, A., Raee, M. J., Manafi, Z., Sotoodeh Jahromi, A., Ghasemi, Y. (2016). Ancient and novel forms of silver in medicine and biomedicine. *Journal of Advanced Medical Sciences and Applied Technologies*, 2(1): 122-128. <https://doi.org/10.18869/nrip.jamsat.2.1.122>.
- Elgamily, H. M., El-Sayed, H. S., Abdelnabi, A. (2018). The antibacterial effect of two cavity disinfectants against one of cariogenic pathogen: an *in vitro* comparative study. *Contemporary Clinical Dentistry*, 9(3): 457-462. [https://doi.org/10.4103/ccd.ccd\\_308\\_18](https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_308_18).
- Emmanuel, R., Palanisamy, S., Chen, S. M., Chelladurai, K., Padmavathy, S., Saravanan, M., Prakash, P., Ajmal Ali, M., Al-Hemaid, F. M. (2015). Antimicrobial efficacy of green synthesized drug blended silver nanoparticles against dental caries and periodontal disease-causing microorganisms. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 56: 374-379. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.06.033>.
- Ertem, E., Gutt, B., Zuber, F., Allegrì, S., Le Ouay, B., Mefti, S., Formentin, K., Stellacci, F., Ren, Q. (2017). Core-Shell silver nanoparticles in endodontic disinfection solutions enable long-term antimicrobial effect on oral biofilms. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9(40): 34762-34772. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b13929>.
- Espinosa, F., López, N., Cabada, D., Reyes, S., Zragoza, A., Constandse, D., Donohué, A., Tovar, K., Cuevas, C., Kobayashi T. (2018). Antiadherence and antimicrobial properties of silver nanoparticles against *Streptococcus mutans* on brackets and wires used for orthodontic treatments. *Journal of Nanomaterial*, 2018: 1-11. <https://doi.org/10.1155/2018/9248527>.
- Farahani, A., Beyrami, A., Piri, H., Naghizadeh, A., Imani, H., Farahani, M. (2018). Evaluation of antibacterial properties of resin composites containing silver

- nanoparticles on *Streptococcus mutans*. *Journal Dental Oral Health*, 5: 1-6. <http://www.jscholarpublishers.com/articles/JDOH/Evaluation-of-Antibacterial.pdf>.
- Farshad, M., Abbaszadegan, A., Ghahramani, Y., Jamshidzadeh, A. (2017). Effect of imidazolium-based silver nanoparticles on root dentin roughness in comparison with three common root canal irrigants. *Iranian Endodontic Journal*, 12(1): 83-86. <https://doi.org/10.22037/iej.2017.17>.
- Fatemeh, K., Mohammad Javad, M., Samaneh, K. (2017). The effect of silver nanoparticles on composite shear bond strength to dentin with different adhesion protocols. *Journal of Applied Oral Science*, 25(4): 367-373. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2016-0391>.
- Gao, A., Hang, R., Huang, X., Zhao, L., Zhang, X., Wang, L., Tang, B., Ma, S., Chu, P. K. (2014). The effects of titania nanotubes with embedded silver oxide nanoparticles on bacteria and osteoblasts. *Biomaterials*, 35(13): 4223-4235. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.01.058>.
- Ghahremanloo, A., Movahedzadeh, M. (2016). The effect of silver nanoparticles on *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* in denture acrylic resins. *Journal of Dental Materials and Techniques*, 5(1): 23-30. <https://doi.org/10.22038/jdmt.2015.6248>.
- Ginjupalli, K., Alla, R. K., Tellapragada, C., Gupta, L., Upadhy Perampalli, N. (2016). Antimicrobial activity and properties of irreversible hydrocolloid impression materials incorporated with silver nanoparticles. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 115(6): 722-728. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2015.11.006>.
- Gligorijevic, N., Mihajlov-krstev, T., Kostic, M., Nikolic, L., Stankovic, N., Nikolic, V., Dinic, A., Igc, M., Bernstein, N. (2022). Antimicrobial properties of silver-modified denture base resins. *Nanomaterials*, 2453. <https://doi.uam.elogim.com/10.3390/nano12142453>.
- Habiboallah, G., Mahdi, Z., Majid, Z., Nasroallah, S., Taghavi, A., Forouzanfar, A., Arjmand N. (2014). Enhancement of gingival wound healing by local application of silver nanoparticles periodontal dressing following surgery: a histological assessment in animal model. *Modern Research in Inflammation*, 3 (3): 128-38. <https://doi.org/10.4236/mri.2014.33016>.
- Halkai, K. R., Halkai, R., Mudra, J. A., Shivanna, V., Rathod, V. (2018). Antibiofilm efficacy of biosynthesized silver nanoparticles against endodontic-periodontal pathogens: an *in vitro* study. *Journal of Conservative Dentistry*, 21(6): 662-666. [https://doi.org/10.4103/JCD.JCD\\_203\\_18](https://doi.org/10.4103/JCD.JCD_203_18).
- Hao-Hueng, Chang, Tseng, Y. T., Huang, S. W., Kuo, Y. F., Yeh, C. L., Wu, C. H., Huang, Y. C., Jeng, R. J., Lin, J. J., Lin, C. P. (2020). Evaluation of carbon dioxide-based urethane acrylate composites for sealers of root canal obturation. *Polymers*, 12(2): 482. <https://doi.uam.elogim.com/10.3390/polym12020482>.
- Hernández-Venegas, P. A., Martínez-Martínez, R. E., Zaragoza-Contreras, E. A., Domínguez-Pérez, R. A., Reyes-López, S. Y., Donohue-Cornejo, A., Cuevas-González, J. C., Molina-Frechero, N., Espinosa-Cristóbal, L. F. (2023). Bactericidal activity of silver nanoparticles on oral biofilms related to patients with and without periodontal disease. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(6): 311. <https://doi.uam.elogim.com/10.3390/jfb14060311>.

- Hyun, J. S., Lee, B. S., Ryu, H. Y., Sung, J. H., Chung, K. H., Yu, I. J. (2008). Effects of repeated silver nanoparticles exposure on the histological structure and mucins of nasal respiratory mucosa in rats. *Toxicology Letters*, 182(1-3): 24-28. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.08.003>.
- Ioannidis, K., Niazi, S., Mylonas, P., Mannocci, F., Deb, S. (2019). The synthesis of nano silver-graphene oxide system and its efficacy against endodontic biofilms using a novel tooth model. *Dental Materials*, 35(11): 1614-1629. <https://doi.uam.elogim.com/10.1016/j.dental.2019.08.105>.
- Jafari, A., Nezhad Fard, R. M., Shahabi, S., Abbasi, F., Shahedin, G. J., Bakhtiari, R. (2021) Optimization of antimicrobial efficiency of silver nanoparticles against three oral microorganisms in irreversible hydrocolloid impressions. *Iranian Journal of Microbiology*, 13(6): 862-870.
- Ji, J. H., Jung, J. H., Kim, S. S., Yoon, J. U., Park, J. D., Choi, B. S., Chung, Y. H., Kwon, I. H., Jeong, J., Han, B. S., Shin, J. H., Sung, J. H., Song, K. S., Yu, I. J. (2007). Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhalation Toxicology*, 19(10): 857-871. <https://doi.org/10.1080/08958370701432108>.
- Jiménez-Ramírez A., Martínez-Martínez, R., Ayala-Herrera, J., Zaragoza-Contreras, E., Domínguez-Pérez, R., Reyes-López, S., Donohue-Cornejo, A., Cuevas-González, J., Silva-Benítez, E., Espinosa-Cristóbal, L. (2021). Antimicrobial activity of silver nanoparticles against clinical biofilms from patients with and without dental caries. *Journal of Nanomaterials*, 1: 13. <https://doi.org/10.1155/2021/5587455>.
- Jonaiddi-Jafari, N., Izadi, M., Javidi, P. (2016). The effects of silver nanoparticles on antimicrobial activity of ProRoot mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium enriched mixture (CEM). *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 8(1): e22-e26. <https://doi.org/10.4317/jced.52568>.
- Kalita, U., Tyagi, V. K., Gupta, S. J., Vaish, S., Sharma, N. (2019). Comparative evaluation of silver nanoparticle gel and chlorhexidine gel as an adjunct to scaling and root planning in management of chronic periodontitis. A clinic microbiological study. *Journal of Dental Specialities*, 7(2): 89-94. <https://doi.org/10.18231/j.jds.2019.022>.
- Kim, J. S., Sung, J. H., Ji, J. H., Song, K. S., Lee, J. H., Kang, C. S., Yu, I. J. (2011). In vivo genotoxicity of silver nanoparticles after 90-day silver nanoparticle inhalation exposure. *Safety and Health at Work*, 2(1): 34-38. <https://doi.org/10.5491/SHAW.2011.2.1.34>.
- Kim, Y. S., Kim, J. S., Cho, H. S., Rha, D. S., Kim, J. M., Park, J. D., Choi, B. S., Lim, R., Chang, H. K., Chung, Y. H., Kwon, I. H., Jeong, J., Han, B. S., Yu, I. J. (2008). Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhalation Toxicology*, 20(6): 575-583. <https://doi.org/10.1080/08958370701874663>.
- Kokura, S., Handa, O., Takagi, T., Ishikawa, T., Naito, Y., Yoshikawa, T. (2010). Silver nanoparticles as a safe preservative for use in cosmetics. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6(4): 570-574. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.12.002>.

- Kranz, S., Guellmar, A., Voelpel, A., Lesser, T., Tonndorf-Martini, S., Schmidt, J., Schrader, C., Faucon, M., Finger, U., Pfister, W., Diefenbeck, M., Sigusch, B. (2019). Bactericidal and biocompatible properties of plasma chemical oxidized titanium (TiOB®) with antimicrobial surface functionalization. *Materials*, 12(6): 866. Basilea, Suiza. <https://doi.org/10.3390/ma12060866>.
- Lee, S. J., Heo, D. N., Lee, D., Heo, M., Rim, H., Zhang, L. G., Park, S. A., Do, S. H., Moon, J. H., Kwon, I. K. (2016). One-step fabrication of AgNPs embedded hybrid dual nanofibrous oral wound dressings. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 12(11): 2041-2050. <https://doi.org/10.1166/jbn.2016.2304>.
- Lee, S., Heo, M., Lee, D., Han, S., Moon, J., Lim, H., Kwon K. (2018). Preparation and characterization of antibacterial orthodontic resin containing silver nanoparticles. *Applied Surface Science*, 432: 317-23. <https://doi.org/10.1016/j.apusc.2017.04.030>.
- Liao, C., Li, Y., Tjong, S. C. (2019). Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2): 449. <https://doi.org/10.3390/ijms20020449>.
- Liu, X., Gan, K., Liu, H., Song, X., Chen, T., Liu, C. (2017). Antibacterial properties of nano-silver coated PEEK prepared through magnetron sputtering. *Dental Materials*, 33(9): e348-e360. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.06.014>.
- Loyola-Rodríguez, J. P., Torres-Méndez, F., Espinosa-Cristobal, L. F., García-C. J. O., Loyola-Leyva, A., González, F. J., Soto-Barreras, U., Nieto-Aguilar, R., Contreras-Palma, G. (2019). Antimicrobial activity of endodontic sealers and medications containing chitosan and silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis*. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*, 17(3): 28-36. <https://doi.uam.elogim.com/10.1177/2280800019851771>.
- Mackevica, A., Olsson, M. E., Hansen, S. F. (2017). The release of silver nanoparticles from commercial toothbrushes. *Journal of Hazardous Materials*, 322(Pt A): 270-275. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.03.067>.
- Mahmoud, A., Moussa, S., El Backly, R., El-Gendy, R. (2022). Investigating the residual effect of silver nanoparticles gel as an intra-canal medicament on dental pulp stromal cells. *BMC Oral Health*, 22(1): 1-14. <https://doi.uam.elogim.com/10.1186/s12903-022-02542-2>.
- Maneewattanapinyo, P., Banlunara, W., Thammacharoen, C., Ekgasit, S., Kaewamatawong, T. (2011). An evaluation of acute toxicity of colloidal silver nanoparticles. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 73(11): 1417-1423. <https://doi.org/10.1292/jvms.11-0038>.
- Massa, M. A., Covarrubias, C., Bittner, M., Fuentesvilla, I. A., Capetillo, P., Von Martens, A. y Carvajal, J. C. (2014). Synthesis of new antibacterial composite coating for titanium based on highly ordered nanoporous silica and silver nanoparticles. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 45: 146-153. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.08.057>.
- Mathur, P., Jha, S., Ramteke, S., Jain, N. K. (2018). Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(1): 115-126. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1414825>.



- Matsumoto-Nakano, M. (2018). Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. *The Japanese Dental Science Review*, 54(1): 22-29. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2017.08.002>.
- Mei, L., Chieng, J., Wong, C., Benic, G., Farella, M. (2017). Factors affecting dental biofilm in patients wearing fixed orthodontic appliances. *Progress in Orthodontics*, 18(1): 4. <https://doi.org/10.1186/s40510-016-0158-5>.
- Mendes, M. S., Resende, L. D., Pinto, C. A., Raldi, D. P., Cardoso, F. G., Habitante, S. M. (2017). Radiopacity of mineral trioxide aggregate with and without inclusion of silver nanoparticles. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 18(6): 448-451. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-2063>.
- Mendes-Gouvêa, C. C., Do Amaral, J. G., Fernandes, R. A., Fernandes, G. L., Gorup, L. F., Camargo, E. R., Delbem, A. C. B., Barbosa, D. B. (2018). Sodium trimetaphosphate and hexametaphosphate impregnated with silver nanoparticles: characteristics and antimicrobial efficacy. *Biofouling*, 34(3): 299-308. <https://doi.org/10.1080/08927014.2018.1437146>.
- Mhaske, A. R., Shetty, P. C., Bhat, N. S., Ramachandra, C. S., Laxmikanth, S. M., Nagarahalli, K., Tekale, P. D. (2015). Antiadherent and antibacterial properties of stainless steel and N<sub>1</sub>T<sub>1</sub> orthodontic wires coated with silver against *Lactobacillus acidophilus*: an *in vitro* study. *Progress in Orthodontics*, 16: 40. <https://doi.org/10.1186/s40510-015-0110-0>.
- Misba, L., Kulshrestha, S., Khan, A. U. (2016). Antibiofilm action of a toluidine blue O-silver nanoparticle conjugate on *Streptococcus mutans*: a mechanism of type I photodynamic therapy. *Biofouling*, 32(3): 313-328. <https://doi.org/10.1080/08927014.2016.1141899>.
- Mohandoss, S., Murugaboopathy, V., Haricharan, P. B., Hebbal, M. I., Saadaldin, S., Soliman, M., Eldwakhly, E. (2023). Ulvan as a reducing agent for the green synthesis of silver nanoparticles: a novel mouthwash. *Inorganics*, 11(1): 5. <https://doi.uam.elogim.com/10.3390/inorganics11010005>.
- Morales, R. A., Castañares, R., Schougal, R., Guadarrama, S., Sánchez, V. (2018) Antibacterial effect of silver nanoparticles versus chlorhexidine against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei*. En *Silver nanoparticles - Fabrication, characterization and applications*. IntechOpen, 117-29. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76183>.
- Moreira, D. M., Oei, J., Rawls, H. R., Wagner, J., Chu, L., Li, Y., Zhang, W., Whang, K. (2015). A novel antimicrobial orthodontic band cement with *in situ*-generated silver nanoparticles. *The Angle Orthodontist*, 85(2): 175-183. <https://doi.org/10.2319/022314-127.1>.
- Morio, K., Thayer, E. L., Bates, A. M., Brogden, K. A. (2019). 255-nm light emitting diode kills *Enterococcus faecalis* and induces the production of cellular biomarkers in human embryonic palatal mesenchyme cells and gingival fibroblasts. *Journal of Endodontics*, 45(6): 774-783. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.02.016>.
- Nabavizadeh, M., Ghahramani, Y., Abbaszadegan, A., Jamshidzadeh, A., Jenabi, P., Makarempour, A. (2018). *In vivo* biocompatibility of an ionic liquid-protected silver nanoparticle solution as root canal irrigant. *Iranian Endodontic Journal*,

13(3): 293-298. <https://doi.org/10.22037/iej.v13i3.17386>.

- Nam, K. Y. (2017). Characterization and antimicrobial efficacy of Portland cement impregnated with silver nanoparticles. *The Journal of Advanced Prosthodontics*, 9(3): 217-223. <https://doi.org/10.4047/jap.2017.9.3.217>.
- Nandi, S. K., Shivaram, A., Bose, S., Bandyopadhyay, A. (2018). Silver nanoparticle deposited implants to treat osteomyelitis. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 106(3): 1073-1083. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33910>.
- Noronha, V. T., Paula, A. J., Durán, G., Galembeck, A., Cogo-Müller, K., Franz-Montan, M., Durán, N. (2017). Silver nanoparticles in dentistry. *Dental Materials*, 33(10): 1110-1126. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.07.002>.
- Nunes De Souza Neto, F., Lang Sala, R., Aparecido Fernandes, R., Pardim Oliveira Xavier, T., Cruz, S. A., Paranhos, C. M., Monteiro, D. R., Barros Barbosa, D., Botazzo Delbem, A. C., Rodrigues De Camargo, E. (2019). Effect of synthetic colloidal nanoparticles in acrylic resin of dental use. *European Polymer Journal*, 112: 531-538. <https://doi.uam.elogim.com/10.1016/j.eurpolymj.2018.10.009>.
- Paiva, L., Fidalgo, T. K. S., Da Costa, L. P., Maia, L. C., Balan, L., Anselme, K., Ploux, L., Thiré, R. M. S. M. (2018). Antibacterial properties and compressive strength of new one step preparation silver nanoparticles in glass ionomer cements (NanoAg-GIC). *Journal of Dentistry*, 69: 102-109. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2017.12.003>.
- Pelgrift, R. Y., Friedman, A. J. (2013). Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(13-14): 1803-1815. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.07.011>.
- Pena, Mirle, Luz M. López-Marin, Blanca Millán, Patricia Manzano-Galosso. (2021). Polymer mediated synthesis of cationic silver nanoparticles as an effective anti-fungal and anti-biofilm agent against *Candida* species. *Colloid and Interface Science Communications*, 43. 100449. [10.1016/j.colcom.2021.100449](https://doi.org/10.1016/j.colcom.2021.100449).
- Pérez-Díaz, M. A., Boegli, L., James, G., Velasquillo, C., Sánchez-Sánchez, R., Martínez-Martínez, R. E., Martínez-Castañón, G. A., Martínez-Gutiérrez, F. (2015). Silver nanoparticles with antimicrobial activities against *Streptococcus mutans* and their cytotoxic effect. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 55: 360-366. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.05.036>.
- Pokrowiecki, R., Zaręba, T., Szaraniec, B., Pałka, K., Mielczarek, A., Menaszek, E., Tyski, S. (2017). *In vitro* studies of nanosilver doped titanium implants for oral and maxillofacial surgery. *International Journal of Nanomedicine*, 12: 4285-4297. <https://doi.org/10.2147/IJN.S131163>.
- Presas Fernández, A. M. (2016). En México, la enfermedad periodontal tiene una prevalencia de 70 por ciento. [http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2016\\_476.html](http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2016_476.html). (Consultado, junio 16, 2022).
- Priyadarshini, B. M., Fawzy, A. S. (2017). Potentiating the antibacterial effect of silver nanospheres by surface-capping with chlorhexidine gluconate. *Journal of Nanoparticle Research*, 19: 147. <https://doi.org/10.1007/s11051-017-3846-2>.
- Qing, Y., Cheng, L., Li, R., Liu, G., Zhang, Y., Tang, X., Wang, J., Liu, H., Qin, Y.

- (2018). Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies. *International Journal of Nanomedicine*, 13: 3311-3327. <https://doi.org/10.2147/IJN.S165125>.
- Rajendran, V., Suma, K., Ali, S., Karthigeyan, R., Kalarani, G. (2021). Antimicrobial efficacy of irreversible hydrocolloid impression impregnated with silver nanoparticles compared to surface disinfected impressions - An *in vivo* study. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 13: 532-536. [https://doi.uam.elogim.com/10.4103/jpbs.JPBS\\_565\\_20](https://doi.uam.elogim.com/10.4103/jpbs.JPBS_565_20).
- Rani, S., Chandra, R. V., Reddy, A. A., Reddy, B. H., Nagarajan, S., Naveen, A. (2015). Evaluation of the antibacterial effect of silver nanoparticles on guided tissue regeneration membrane colonization an *in vitro* study. *Journal of the International Academy of Periodontology*, 17(3): 66-76. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26373223/>.
- Rodrigues, C. T., De Andrade, F. B., De Vasconcelos, L. R. S. M., Midena, R. Z., Pereira, T. C., Kuga, M. C., Duarte, M. A. H., Bernardineli, N. (2018). Antibacterial properties of silver nanoparticles as a root canal irrigant against *Enterococcus faecalis* biofilm and infected dentinal tubules. *International Endodontic Journal*, 51(8): 901-911. <https://doi.org/10.1111/iej.12904>.
- Saafan, A., Zaazou, M. H., Sallam, M. K., Mosallam, O., Danaf, H. A. (2018). Assessment of photodynamic therapy and nanoparticles effects on caries models. *Open access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 6(7): 1289-1295. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2018.241>.
- Sawan, N. M., Alsagob, E. I., Ben Gasseem, A. A., Alshami, A. A. (2021). Graphene functionalized with nanosilver particle-modified methacrylate-based bonding agent improves antimicrobial capacity and mechanical strength at tooth orthodontic bracket interface. *Polymer Composites*, 5850-5858. <https://doi.uam.elogim.com/10.1002/pc.26265>.
- Saygi, K. O., Bayram, H. M., Bayram, E. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using artichoke flower petals and application in endodontic dentistry. *Biomass Conversion and Biorefinery: Processing of Biogenic Material for Energy and Chemistry*, 1-9. <https://doi.uam.elogim.com/10.1007/s13399-022-02857-8>.
- Scarpelli, B. B., Punhagui, M. F., Hoepfner, M. G., Almeida, R. S. C., Juliani, F. A., Guiraldo, R. D., Berger, S. B. (2017). *In vitro* evaluation of the remineralizing potential an antimicrobial activity of cariostatic agent with silver nanoparticles. *Brazilian Dental Journal*, 28(6): 738-743. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201701365>.
- Schwass, D. R., Lyons, K. M., Love, R., Tompkins, G. R., Meledandri, C. J. (2018). Antimicrobial activity of a colloidal AgNPs suspension demonstrated *in vitro* against monoculture biofilms: toward a novel tooth disinfectant for treating dental caries. *Advances in Dental Research*, 29(1): 117-123. <https://doi.org/10.1177/0022034517736495>.
- Serrano-Díaz, P., Williams, D., Vega-Arreguin, J., Manisekaran, R., Twigg, J., Morse, D., García-Contreras, R., Arenas-Arrocena, C., Acosta-Torres, L. (2023). Gera-

- nium leaf-mediated synthesis of silver nanoparticles and their transcriptomic effects on *Candida albicans*. *Green Processing and Synthesis*. <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/gps-2022-8105/html>.
- Shahare, B., Yashpal, M. (2013). Toxic effects of repeated oral exposure of silver nanoparticles on small intestine mucosa of mice. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 23(3): 161-167. <https://doi.org/10.3109/15376516.2013.764950>.
- Sharma, D., Misba, L., Khan, A. U. (2019). Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 16(8): 76. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0533-3>.
- Shawky, H., Basha, S., Batouti, G., Kassem, A. (2015). Evaluation of clinical and antimicrobial efficacy of silver nanoparticles and tetracycline films in the treatment of periodontal pockets. *IOSR Journal of Dental and Medical Science*, 14: 113-23. [https://www.researchgate.net/publication/299391569\\_Evaluation\\_of\\_Clinical\\_and\\_Antimicrobial\\_Efficacy\\_of\\_Silver\\_Nanoparticles\\_and\\_Tetracycline\\_Films\\_in\\_the\\_Treatment\\_of\\_Periodontal\\_Pockets](https://www.researchgate.net/publication/299391569_Evaluation_of_Clinical_and_Antimicrobial_Efficacy_of_Silver_Nanoparticles_and_Tetracycline_Films_in_the_Treatment_of_Periodontal_Pockets).
- Shen, X. T., Zhang, Y. Z., Xiao, F., Zhu, J., Zheng, X. D. (2017). Effects on cytotoxicity and antibacterial properties of the incorporations of silver nanoparticles into the surface coating of dental alloys. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 18(7): 615-625. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1600555>.
- Sirisha, P., Gayathri, G. V., Dhoom, S. M., Amulya, K. S. (2018). Antimicrobial effect of silver nanoparticles synthesized with *Ocimum sanctum* leaf extract on periodontal pathogens. *Journal Oral Health Dental Science*, 1(1): 1-7. <https://doi.org/2F10.18875/2F2577-1485.1.106>.
- Sodagar, A., Akhavan, A., Hashemi, E., Arab, S., Pourhajibagher, M., Sodagar, K., Kharrazifard, M. J., Bahador, A. (2016). Evaluation of the antibacterial activity of a conventional orthodontic composite containing silver/hydroxyapatite nanoparticles. *Progress in Orthodontics*, 17(1): 40. <https://doi.org/10.1186/s40510-016-0153-x>.
- Tărăboanță, I., Burlec, A. F., Stoleriu, S., Corciovă, A., Fifere, A., Batir-Marin, D., Hăncianu, M., Mircea, C., Nica, I., Tărăboanță-Gamen, A. C., Andrian, S. (2023). Influence of the loading with newly green silver nanoparticles synthesized using *Equisetum sylvaticum* on the antibacterial activity and surface hardness of a composite resin. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(7): 402. <https://doi.uam.elogim.com/10.3390/jfb14080402>.
- Tristán-López, J.-D., Niño-Martínez, N., Kolosovas-Machuca, E.-S., Patiño-Marín, N., De Alba-Montero, I., Bach, H., Martínez-Castañón, G.-A. (2023). Application of silver nanoparticles to improve the antibacterial activity of orthodontic adhesives: an *in vitro* study. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2): 1401. <https://doi.uam.elogim.com/10.3390/ijms24021401>.
- Ventola, C. L. (2012). The nanomedicine revolution: part 2: current and future clinical applications. *P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, 37(10): 582-591. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3474440/>.
- Ventola, C. L. (2017). Progress in nanomedicine: approved and investigational nanodrugs. *P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, 42(12): 742-

755. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5720487/>.
- Venugopal, A., Muthuchamy, N., Tejani, H., Gopalan, A. I., Lee, K. P., Lee, H. J., Kyung, H. M. (2017). Incorporation of silver nanoparticles on the surface of orthodontic microimplants to achieve antimicrobial properties. *Korean Journal of Orthodontics*, 47(1): 3-10. <https://doi.org/10.4041/kjod.2017.47.1.3>.
- Widbiller, M., Schmalz, G. (2021). Endodontic regeneration: hard shell, soft core. *Odontology*, 109(2): 303-312. <https://doi.org/10.1007/s10266-020-00573-1>.
- Wu, D., Fan, W., Kishen, A., Gutmann, J. L., Fan, B. (2014). Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Journal of Endodontics*, 40(2): 285-290. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.08.022>.
- Wu, R., Zhao, Q., Lu, S., Fu, Y., Yu, D., Zhao, W. (2018). Inhibitory effect of reduced graphene oxide-silver nanocomposite on progression of artificial enamel caries. *Journal of Applied Oral Science*, 27: e20180042. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2018-0042>.
- Xiao, S., Wang, H., Liang, K., Tay, F., Weir, M. D., Melo, M. A. S., Wang, L., Wu, Y., Oates, T. W., Ding, Y. y Xu, H. H. K. (2019). Novel multifunctional nanocomposite for root caries restorations to inhibit periodontitis-related pathogens. *Journal of Dentistry*, 81: 17-26. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.12.001>.
- Yuqiong, Yang, Yashuang Ding, Yue Fan, Lingyan Ren, Xuna Tang, Xiangfeng Meng. (2021). Application of silver nanoparticles *in situ* synthesized in dental adhesive resin. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 108: 102890. <https://doi.uam.elogim.com/10.1016/j.ijadhadh.2021.102890>.
- Zhang, P., Qin, J., Zhang, B., Zheng, Y., Yang, L., Shen, Y., Zuo, B., Zhang, F. (2019). Gentamicin-loaded silk/nanosilver composite scaffolds for MRSA-induced chronic osteomyelitis. *Royal Society Open Science*, 6(5): 182102. <https://doi.org/10.1098/rsos.182102>.
- Zheng, T., Huang, X., Chen, J., Feng, D., Mei, L., Huang, Y., Quan, G., Zhu, C., Singh, V., Ran, H., Pan, X., Wu, C. Y., Wu, C., (2018). A liquid crystalline precursor incorporating chlorhexidine acetate and silver nanoparticles for root canal disinfection. *Biomaterials Science*, 6(3): 596-603. <https://doi.org/10.1039/c7bm00764g>.
- Zhong, X., Song, Y., Yang, P., Wang, Y., Jiang, S., Zhang, X., Li, C. (2016). Titanium surface priming with phase-transited lysozyme to establish a silver nanoparticle-loaded chitosan/hyaluronic acid antibacterial multilayer via layer-by-layer self-assembly. *PLoS One*, 11(1): e0146957. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146957>.



# El principio de precaución ante los posibles riesgos de la nanotecnología y sus derivados

## The precautionary principle regarding the possible risks of nanotechnology and its derivatives

Laura Saldívar Tanaka\*,<sup>†</sup>

**ABSTRACT:** This text reviews various aspects of the precautionary principle and the views on why it is required or not to be used in the case of the regulation and management of products that apply nanotechnology. To address these issues, the results of an extensive review of mainly academic and official texts on the precautionary principle and nanotechnology are presented. After a systematic analysis, both quantitative and qualitative of 90 texts, the main topics of discussion, the relevance of their arguments for the discussion, as well as the conclusions derived regarding the congruence or otherwise of using the precautionary principle in relation to nanotechnology are presented.

**KEYWORDS:** precautionary principle, nanotechnology, nano-products, risk management, regulation of emerging technologies, governance.

**RESUMEN:** El artículo revisa diversos aspectos del principio de precaución y los puntos de vista en torno al porqué es requerido o no utilizarlo en el caso de la regulación y gestión de los productos que aplican la nanotecnología. Para abordar estos temas se exponen los resultados de una extensa revisión de textos, principalmente académicos y oficiales, que discurren sobre el tema del principio de precaución y la nanotecnología. Tras un análisis sistemático, tanto cuantitativo como cualitativo de 90 textos, se presentan los temas principales de discusión, la relevancia de sus argumentos para la discusión, así como las conclusiones derivadas respecto a la congruencia o no de usar el principio de precaución en relación con la nanotecnología.

**PALABRAS CLAVE:** principio de precaución, nanotecnología, nano-productos, gestión de riesgos, regulación de tecnologías emergentes, gobernanza.

## Introducción

### *El principio de precaución*

El principio de precaución es un postulado ético y legal con origen en el ámbito ambiental. Constituye un principio para la toma de decisiones de políticas públicas al cual se recurre cuando actividades tecnológicas, o productos de origen humano pueden conducir a un daño no aceptable o irreversible que puede ser científicamente plausible, pero a la vez incierto, sobre sus consecuencias. Siguiendo este principio, se deben tomar algunas medidas para evitar o disminuir ese posible daño, si bien incierto, pero posible, sobre la salud y la seguridad humana y/o ambiental. Un elemento clave de este principio es su condición de

Recibido: 3 de septiembre, 2022.

Aceptado: 11 de diciembre, 2023.

Publicado: 13 de marzo, 2024.

\* Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC).

<sup>†</sup> Autora de correspondencia: laura.saldivar.tanaka@gmail.com



previsión, la instrucción de actuar con anticipación incluso si no tenemos pruebas del perjuicio que se avecina, a fin de proteger a los seres humanos y al medio ambiente de un posible daño. Solicitar la presentación de evidencia sería actuar ya no bajo un principio de precaución sino de prevención. El opuesto al principio de precaución sería el principio de bravado, es decir, cuando se debe proseguir una actividad que parece tener beneficios y preocuparse solo si y cuando ocurren consecuencias perjudiciales (Weckert, 2010).

De acuerdo con el Consejo Asesor en Ambiente Alemán (German Advisory Council on the Environment-SRU, 2011) la decisión de los gobiernos de regular una tecnología, proceso o producto debe basarse en la magnitud del daño y su reversibilidad esperados. Si el daño no es grave y es reversible, se puede tratar por ensayo y error, pero si el daño sospechado es grave e irreversible, el Estado debe garantizar la seguridad pública y la protección del medio ambiente dentro de un nivel elegido, como se menciona en la Ley Básica Alemana y el Tratado de Funcionamiento de la Unión Europea (Treaty on the Functioning of the European Union, EP, 2012), así como en la Comunicación de la Comisión sobre el recurso al principio de precaución (CEC, 2000).

A decir de Weckert (2010), el principio de precaución puede ser una guía práctica para las autoridades. Por ejemplo, cuando la evidencia científica con respecto a una preocupación dada es insuficiente o contradictoria, y así exigir a los desarrolladores o productores que presenten más evidencia sobre la inocuidad del producto, conocido como *la carga de la prueba*. De igual forma, puede establecer diferentes criterios para iniciar y justificar una acción cautelar (SRU, 2011).

Por otra parte, para evitar la sobrerregulación y frenar un desarrollo que podría ser “la solución”, la medida cautelar debe seleccionarse de acuerdo con el nivel de sospecha de daño, tras una evaluación del riesgo estimado, y la evaluación normativa de riesgo, que incluye una ponderación más subjetiva que tome en cuenta los intereses y preferencias, tanto individuales como públicas (CEC, 2000; Weckert, 2010; SRU, 2011).

Para Myhr y Myskja (2011), la implementación del principio de precaución implica tres propuestas interrelacionadas: 1) la precaución ante la aplicación de nuevas tecnologías; 2) realizar investigaciones asociadas con riesgo, y, 3) actuar con precaución de acuerdo con los efectos potenciales identificados. Respecto a la tercera propuesta, existe una amplia gama de acciones cautelares que pueden ir desde recomendaciones, financiamiento para investigación, hasta medidas jurídicas vinculantes. Más adelante ofrecemos algunos ejemplos para el caso concreto de la gestión de los riesgos asociados con la nanotecnología y más precisamente con los nanomateriales.

## Orígenes y adopción del principio de precaución

La idea del principio de precaución (*Vorsorgeprinzip*, en alemán) se plasmó inicialmente en el programa de protección ambiental alemán de 1971, como una alternativa al *reactive management*, o a lo que hoy conocemos como *reactive re-*



*gulation*, teniendo como fin proteger el medio ambiente. A partir de entonces, comenzó a incluirse como un criterio en la determinación de medidas y regulaciones para la protección ambiental a nivel nacional, regional e internacional en declaraciones (Bremen, Londres, Río y Wingspread), protocolos (Montreal), convenciones (Viena, Cambio Climático) y convenios (Biodiversidad, Estocolmo). A nivel región europea se incluye en directrices (restricción de sustancias peligrosas, SEVESO III y residuos) y regulaciones (especies exóticas invasivas, contaminantes orgánicos persistentes), y tratados (Tratado de la Unión Europea) (PE, 2008; European Commission, 2017).

A nivel global, los países escandinavos fueron los principales promotores de la precaución como un principio legal general, al ser los primeros en incluirlo en sus leyes ambientales. Esto coincide con la preocupación y acción de estos países para proteger el Mar del Norte de la contaminación y la sobrepesca, así como con sus políticas para regular las sustancias químicas y proteger a los trabajadores y el ambiente de sus posibles efectos negativos (Kuraj, 2017).

Entre todas las distintas formulaciones del principio de precaución, la redacción más conocida y citada es la de la Declaración de Río, en su principio 15:

Con el fin de proteger el medio ambiente, los Estados deben aplicar ampliamente las medidas de precaución conforme a sus capacidades. Cuando haya amenaza o peligro de daño grave o irreversible, la falta de certeza científica absoluta no debe utilizarse como razón para postergar la adopción de medidas rentables para impedir la degradación del medio ambiente. (ONU, 1992)

Esta temprana versión es considerada por muchos como una versión débil o permisiva, que demanda de acciones costo efectivas, sin saber realmente cuál sería el costo real futuro en caso de daños graves e irreversibles; asimismo, en contextos en los cuales no hay suficiente conocimiento científico, muchos de estos riesgos potenciales serían menospreciados o subestimados (Myhr y Myskja, 2011).

Sin embargo, como era de esperar, la concepción del principio de precaución, al ser un “principio”, ha ido evolucionando de acuerdo con el contexto social y político. De las múltiples formulaciones, algunas variaciones consideradas importantes son: la declaración de Wingspread, Estados Unidos (EUA) de 1998 (Thickner, 1998), valorada como una expresión más estricta (Myhr y Myskja, 2011) y más progresista, tomando en cuenta la necesidad de actuar aun cuando no estén completamente establecidas las relaciones causa y efecto, abriendo el proceso a los posibles afectados de forma informada y democrática y exigiendo la carga de la prueba al desarrollador.

Por su lado, la Comunicación de la Comisión Europea sobre el recurso al principio de precaución del 2000 plantea la incertidumbre científica e indicadores de daño como suficientes para aplicar el uso del principio de precaución, a la vez, hace referencia a la necesidad de contar con *expertise* científica en el momento de evaluar los riesgos, una ponderación que posteriormente

servirá a los tomadores de decisiones para determinar medidas proporcionales, no-discriminatorias, transparentes y coherentes, tomando en cuenta en su evaluación las consecuencias de la acción y la inacción (CEC, 2000).<sup>1</sup>

De acuerdo con un informe de la Organización Mundial de la Salud, capítulo europeo (WHO-Europe, 2004), el debate y la importancia de adoptar el principio de precaución responde al reconocimiento de los posibles costos socioambientales de no aplicar medidas precautorias, aun cuando ya había señales de peligro, aspecto ampliamente documentado por la Agencia Europea Ambiental (EEA, 2001 y 2013), donde tanto la ciencia como la política fallaron en prevenir los daños a la salud y los ecosistemas con graves impactos económicos, con ejemplos como: el plomo en las gasolinas, el mercurio en el agua, el humo del tabaco, el cloruro de vinilo dibromocloropropano (DBCP),<sup>2</sup> el bisfenol A<sup>3</sup> y el diclorodifeniltricloretano (DDT).

Por su parte, la definición de la UNESCO del 2005, considerada una versión intermedia (Myhr y Myskja, 2011), introduce los conceptos de *daño moralmente inaceptable*, y, *daño grave e irreversible*, o injusto para las generaciones presentes o futuras, o impuestos sin tener debidamente en cuenta los derechos humanos de los afectados: “Cuando las actividades humanas puedan conducir a un daño moralmente inaceptable que sea científicamente plausible pero incierto, se tomarán medidas para evitar o disminuir ese daño” (UNESCO, 2005).

Finalmente, la Agencia Ambiental Europea (EEA, 2013) también elaboró una definición de trabajo en la cual se incluye la necesidad de actuar, no solo en caso de incertidumbre, sino también en el de complejidad e ignorancia científica.

Se podría argumentar que las versiones más progresistas del principio de precaución se apoyan en la teoría de la “ética de la responsabilidad” de Hans Jonas (1995), la cual incorpora la cuestión de la valoración de las consecuencias directas y sobre los derechos de las generaciones futuras, y una relación más responsable del hombre con la naturaleza y la técnica.

También se puede decir que las diversas formulaciones del principio de precaución generalmente difieren en dimensiones importantes, como la condición jurídica<sup>4</sup> y la función del principio de precaución, así como en las cir-

---

<sup>1</sup> En la Comunicación de la CE también se mencionan ciertos criterios a tomarse en cuenta en el momento de decidir cuáles acciones tomar, estos son: que sea *proporcional* al nivel de protección elegido; *no discriminatorio*; *consistente*; *con base en el examen de los beneficios potenciales y el costo de la acción o inacción*; *sujetos a revisión* (a la luz de nueva información científica), y, *capaz de asignar responsabilidad de producir la evidencia científica* necesaria para una análisis de riesgo más completo.

<sup>2</sup> El DBCP es un plaguicida altamente peligroso para la salud humana. <http://www.plaguicidascentroamerica.una.ac.cr/index.php/base-de-datos-menu/168-dbcpr>.

<sup>3</sup> El bisfenol A (BPA) es un compuesto químico muy utilizado en la industria, se emplea como elemento y/o componente destinado a la fabricación de plásticos y resinas epoxi. Es considerado un disruptor endócrino <https://rev.aetox.es/wp/index.php/32-2-13/>.

<sup>4</sup> De acuerdo con González (2018), en el caso de México el principio de precaución puede considerarse como una fuente material de derecho, pero nunca como una fuente formal ni mucho menos como una norma jurídica en sí misma, pues, a diferencia de lo que ha ocurrido con otros principios reconocidos por la declaración de Río de Janeiro, tales como el dere-

cunstancias que desencadenan su aplicación y la naturaleza de una respuesta precautoria incluso en cómo debería denominarse la norma, si principio o enfoque (Bodansky, 2004).

## Principio de precaución, riesgo e incertidumbre

No hay duda de que el principio de precaución es una herramienta o razonamiento indispensable para la gestión de riesgos (potenciales) que orienta a los responsables de la toma de decisiones respecto a productos, acciones o tecnologías que conllevan riesgo e incertidumbre. En un mundo positivista, este debería de activarse en los casos en los cuales una evaluación científica objetiva preliminar encuentre motivos razonables de preocupación con respecto a los efectos potencialmente peligrosos sobre el medio ambiente o la salud humana, animal o vegetal. Sin embargo, en el mundo real, muchas veces hay riesgos ocultos, no estudiados o estudiados de una forma en la cual los riesgos no son evidentes, de allí que algunas formulaciones o promotores del principio de precaución soliciten, por un lado, flexibilidad respecto a las pruebas necesarias para detonar una intervención precautoria, y, por otro, que los desarrolladores del objeto o acción sospechoso cubran el costo de demostrar su inocuidad.

Para la Comisión Europea (CEC, 2000) el principio de precaución es un subelemento del análisis de riesgos (AR). Sin embargo, numerosos expertos insisten en que el modelo de AR convencional no es de utilidad cuando se trata de regular tecnologías como la biotecnología o la NT, para las cuales cualquier evaluación de riesgo resultará incompleta dada la complejidad para estudiarlas, la escasa información, y múltiples aspectos ignorados, indeterminaciones, contingencias, conjeturas e intereses involucrados (Santillo, Stringer y Johnston, 1998; Tickner, Raffensperger y Myers, 1999; Riechmann, 2002; Wickson, 2011; Klaine, *et al.* 2012; EEA, 2013). Sobre todo, la gran diferencia entre el enfoque del AR y el del principio de precaución es que el primero está orientado a cuantificar y a analizar los problemas, o a controlar la contaminación o daños ya dados, mientras que el principio de precaución busca evitar, no dar autorización hasta tener evidencia de no daño. Es decir, el AR es una estrategia de “final del tubo” en cuanto que el principio de precaución es una estrategia anticipatoria que ve el ciclo de vida de las sustancias, productos y procesos en cuestión (Saldívar, 2019).

Por otro lado, en cada situación el nivel de protección deseado será diferente y seguramente habrá otros factores que influyan en la toma de decisiones, como puede ser el cabildeo de algún sector o empresa con poder e influencia.

---

cho a un medio ambiente sano, el principio de precaución no ha sido incorporado al texto constitucional mexicano y las referencias que algunas leyes hacen al mismo, como la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados, no le otorgan esa jerarquía.

## Nanociencia + nanotecnología y nanoproduitos

En la nanotecnología (NT) concurren diferentes ciencias naturales y exactas (ej. física, química, matemática), ingenierías y tecnologías para manipular átomos, moléculas y materiales a la escala nano y crear nuevos procesos o materiales. Los materiales resultantes de estos procesos se denominan nanomateriales (en adelante NMs) estos presentan propiedades fisicoquímicas diferentes de sus macro formas, concretamente en la relación superficie/volumen, la cual afecta su reactividad química.

Hoy en día, una amplia variedad de productos contiene NMs y muchos procesos involucran la NT, sin embargo, algunos de sus beneficios son controvertidos. Por ejemplo, el uso de nanoplate como bactericida en productos de limpieza, revestimientos, textiles, insumos alimenticios e incluso en productos para infantes ha generado preocupaciones sobre la cantidad de este bactericida que podría terminar en cuerpos de agua naturales. Otro ejemplo es el uso de nano óxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) como blanqueador en cosméticos, productos alimenticios y dulces, cuestionado por la autoridad sanitaria francesa que prohibió su uso como colorante en alimentos a partir del 2020 (GAIN, 2019), acción seguida por el resto de la Comunidad Europea a partir de octubre del 2021. Esto bajo el razonamiento de que el beneficio de usar nano  $\text{TiO}_2$  no justificaba los riesgos para la salud sospechados dado el conocimiento de que este puede atravesar los tejidos epiteliales, llegar a las células y provocar inmunotoxicidad, inflamación, neurotoxicidad además de genotoxicidad (European Food and Safety Agency EFSA, 2018 y 2021).

Por otro lado, la NT y los nanoproduitos han sido estudiados y utilizados para aplicaciones médicas con grandes expectativas, pero también con un gran vacío de conocimiento respecto a los efectos a largo plazo tanto para los pacientes como para todo el sistema, lo cual dificulta la elaboración de una apropiada regulación. Como ejemplo, hoy en día se utilizan nanopartículas lipídicas en las vacunas de Pfizer y Moderna contra el virus Covid-19, autorización que sabemos fue derivada de una emergencia sanitaria, con exigua información de los efectos a largo plazo.

## NT y nanoproduitos, la necesidad de regularlos

### *Regulación actual que cubre productos de la NT*

Actualmente, no hay ningún ejemplo de regulación obligatoria nanoespecífica en el planeta. Europa, que ha sido la más activa en estudiar la pertinencia de regular o no los productos de la NT, solo ha establecido determinadas condiciones para los NMs en algunas de sus legislaciones secundarias como la regulación de cosméticos, la de dispositivos médicos, la de nuevos alimentos, la de aditivos alimenticios, enzimas y saborizantes, y de productos biocidas; por su parte, en el reglamento del Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de Sustancias Químicas (REACH) se mencionan los NMs en sus anexos,

sin estar lo suficientemente cubiertos (Kuraj, 2017; Saldívar, 2019). De estos, los instrumentos que además hacen referencia al principio de precaución son las regulaciones de cosméticos, materiales en contacto con alimentos, etiquetado de alimentos, nuevos alimentos, aditivos alimenticios, productos biocidas, productos para protección de plantas y REACH<sup>5</sup> (Kuraj 2017; Saldívar y Hansen, 2021).

Por otro lado, en Estados Unidos de América, la Ley de Control de Sustancias Tóxicas (TSCA), cubre solo los NMs que están bajo la definición de sustancia química, y solo si se identifican como una nueva molécula (*new chemical substance*), con la excepción de los nanotubos de carbono (CNT) (Saldívar, 2019).

En Argentina, a partir de diciembre del 2020, se incluyó la nanotecnología dentro de la Ley No. 27.506 *Régimen de promoción de la economía del conocimiento* como una de las actividades a deber desarrollarse para facilitar el uso del conocimiento y la digitalización de la información.<sup>6</sup>

En cuanto a las leyes voluntarias, la llamada regulación blanda, existen varios ejemplos, pero ninguno de ellos parece tener muchos efectos cuando se trata de asegurar que tanto salud como seguridad humana y ambiental estén protegidas, algunos de los mecanismos usados son: registros o inventarios; etiquetados; códigos de conducta; sistemas de manejo de riesgo; guías, y, estándares técnicos (Saldívar, 2020). Varios de estos están alineados con el principio de precaución y han sido implementados de forma voluntaria por la industria o solicitados por los gobiernos, como pueden ser el elaborar inventarios de los NMs importados y producidos, establecer niveles de exposición ocupacional e informar a los consumidores de la presencia de NMs en los productos (Saldívar y Hansen 2021). No obstante, dejar la aplicación del principio de precaución a voluntad de los desarrolladores no es factible cuando estamos hablando de productos o desarrollos de los cuales poco se sabe de sus efectos a mediano y largo plazo.

### *El principio de precaución: fundamento para controlar los riesgos de la nanotecnología*

Las nuevas tecnologías, también llamadas tecnologías emergentes, casi siempre implican incógnitas, y, por tanto, incertidumbre, por eso se les llama también tecnologías de riesgo. Muchos consideran que la NT y sus derivados presentan riesgos similares y nuevos a los de la química, la ingeniería genética o la energía nuclear (SRU, 2012). A partir de los amplios usos, actuales y propuestos de las NT y los NMs podemos imaginar y extrapolar consecuencias imprevistas de las que podrían surgir riesgos reales.

---

<sup>5</sup> En el caso de la regulación de sustancias en Europa, la precaución tiene un rol limitado debido a que las provisiones en el REACH son ambiguas (Klika, 2015).

<sup>6</sup> <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/ley-27506-324101>.

El siguiente listado propuesto por Gee (2013), experto en el principio de precaución, incluye características de peligro potencial que justifican una acción precautoria. Numerosos NMs utilizados actualmente y ya a la venta presentan varias de estas características.

- Datos de toxicidad/ecotoxicidad intrínseca;
- Novedad (es decir, baja relación conocimiento/ignorancia);
- Persistencia ecológica o biológica;
- Potencial de bioacumulación;
- Amplio rango espacial en el entorno (potencial para la dispersión global);
- Gravedad de los peligros potenciales;
- Irreversibilidad de peligros potenciales;
- Pruebas análogas de peligros conocidos;
- Distribución no equitativa de los impactos peligrosos en regiones, personas y generaciones particulares;
- Disponibilidad de alternativas factibles;
- Potencial para estimular la innovación;
- Escalas de potencial y tiempo para el aprendizaje futuro.

Por otro lado, desde el punto de vista ético, existen al menos tres razones para aplicar el principio de precaución respecto a las nano innovaciones. En primer lugar, porque la nanociencia se está desarrollando muy rápidamente; porque existe un alto nivel de incertidumbre sobre sus efectos, y, en tercer lugar, porque las consecuencias de las nanotecnologías podrían ser masivas y complejas (Throne-Holst y Stø, 2008).

Sabiendo que el principio de precaución sirve para orientar a los responsables de la toma de decisiones en los casos de incertidumbre respecto a riesgos, en el caso de la NT y en particular ciertos NMs y aplicaciones, incluir el principio de precaución en la regulación para asegurar una gestión que proteja la salud socioambiental es un tema ampliamente expresado por expertos de distintos ámbitos (PE, 2008; Milieu, 2011; SRU, 2012; Saldívar y Hansen 2021), tal como lo señala la siguiente cita:

La aplicación del principio de precaución es necesaria y justificada en el contexto de la reglamentación de los nanomateriales, pues existen indicaciones científicas (motivos de preocupación) de que el uso de nanomateriales puede tener efectos adversos en la vida humana y en el ambiente. (NanoKommission, 2011 en STOA, 2012: 61)

## Metodología

Entre 2018 y 2021 se realizó una búsqueda en las colecciones Web of Science, ScienceDirect, Scopus, de la Universidad Técnica de Dinamarca (Denmark Technical University-DTU), de la Universidad de California en Santa Bárbara

(University of California Santa Barbara-UCSB)<sup>7</sup> y en Google academic, de textos académicos (artículos, capítulos de libros y tesis) y documentos oficiales como comunicaciones, informes, opiniones, recomendaciones y publicaciones de otros sectores como seguros y empresas, publicados antes del año 2021. La búsqueda incluía los términos: nano\* AND precaution\* en los campos de título, tema y resumen.

Estos documentos fueron leídos, analizados y sistematizados con el fin de identificar los temas principales y recurrentes en su contenido y argumentación, identificando catorce temas principales de discusión, no excluyentes, y detectando que, si bien la mayoría cubre solo dos de los temas, algunos cubren más temas. También se identificó el tipo de publicación (oficial, académica, o de otro tipo). Tras la lectura de los textos y un análisis cualitativo, se efectuó una síntesis de sus ideas principales dentro de cada categoría temática y se hizo un análisis cuantitativo respecto al número de publicaciones: por año, por tipo de texto, contenido y por temática; un análisis cuali-cuantitativo respecto al año de publicación y temática de discusión con objeto de indagar si existía alguna tendencia temporal en el tipo de trabajo/discusión y/o publicación y, finalmente, un análisis cualitativo para identificar en torno a qué temas y desde qué perspectiva se ha dado esta discusión.

Por último, y de forma subjetiva, a partir de la experiencia académica investigando el tema por más de 6 años, se les asignó un valor de importancia, considerando qué tan relevante es el material para la discusión sobre la inclusión o no del principio de precaución en la gestión de la NT y sus derivados, y a su vez se revisó, para los considerados de mayor relevancia, qué tipo de textos eran y las temáticas principales que cubren.

## Resultados

De las búsquedas en bases de datos especializadas se obtuvieron poco más de 200 títulos, por lo general no hubo publicaciones anteriores al 2000. Por supuesto, después de buscar en varias bases de datos hubo algunos títulos que fueron reapareciendo.

### *Análisis cuanti y cualitativo*

Entre los poco más de 200 títulos de las búsquedas, se revisó el título, palabras claves y resumen para determinar si el texto contenía información y/o discusión sustantivos de la relación principio de precaución y NT y/o sus derivados (figura 1). Los estimados en no incluir información relevante para esta investigación se dejaron fuera y, finalmente, se trabajó con los 87 ajustados a los criterios de análisis (se anexa lista de documentos analizados).

---

<sup>7</sup> En particular en las bases de Web of Science, ScienceDirect, Scopus, DTU y UCSB se realizó una búsqueda avanzada usando los términos: nano\* AND precau\* en los campos de título, tema y resumen.





Las temáticas principales son aspectos legales (6), riesgos (7), éticos (4), ambientales (2), salud y seguridad laboral (2), política pública (1) y algunos sobre metodología.

Del análisis de contenido se observaron nueve temas principales, en orden de frecuencia: gestión de riesgos, análisis de la regulación, gobernanza de riesgos, ética, evaluación de riesgos, seguridad y salud ocupacional (SSO), medio ambiente, análisis de riesgos y política pública. Como temas secundarios se observaron otros cuatro: metodología, nanomedicina, ambiente salud y seguridad, seguridad de riesgos en investigación y nanotoxicología. Los documentos se clasificaron de acuerdo con estos temas, los cuales no son excluyentes, pero si fue necesario se les asignó más de dos temas.

En la siguiente tabla podemos ver los temas y la cantidad de documentos que los cubren. En la primera columna el número de veces que aparece como tema principal, y en la segunda como tema secundario.

**TABLA 1.** Temas principales y frecuencia de documentos que los cubren.

Tema	Principal	Secundario	Total
Gestión de riesgos	21	27	48
Análisis regulatorio	23	9	32
Gobernanza	8	10	18
Ética	9	5	14
Evaluación de riesgos	10	2	12
Salud y seguridad ocupacional	9	1	10
Temas ambientales	5		5
Análisis de riesgo	4	1	5
Política pública	1	3	4
Metodología	3		3
Nanomedicina		3	3
Ambiente, salud y seguridad		3	3
Seguridad en laboratorios		3	3
Nanotoxicología		1	1

Fuente: Elaboración de la autora.

Además, de acuerdo con el contenido y la discusión sobre la intersección entre principio de precaución + nano, se asignaron valores de importancia a los textos por su relevancia en la discusión general en cinco rangos, desde muy baja (1) a muy alta (5) (tabla 2).

En la figura 2, se observa la red de los nombres de todos los autores (170) y las conexiones entre ellos, cuando han publicado alguno de los textos analizados de manera conjunta.

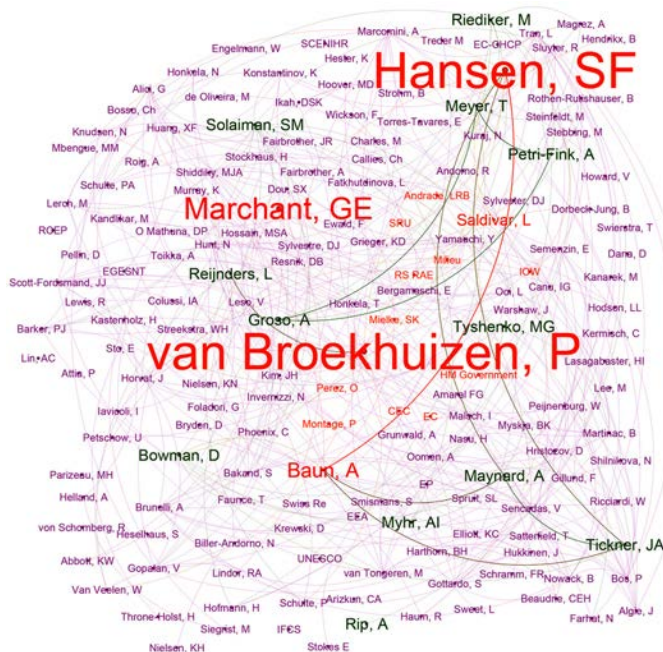
TABLA 2. Relevancia de acuerdo con la discusión (PP + Nano).

Relevancia	No.	Tipo de documento	Incidencia temática (Considerando solo el tema principal)
Muy baja	10	8 académico, 1 oficial, 1 industria	Ética (3), SSO (2), ambiental (1), política (1), gestión de riesgos (1), análisis de riesgos (1).
Baja	15	11 académico, 4 oficial	Análisis regulatorio (4), gestión de riesgos (3), gobernanza (3), ética (2), evaluación de riesgos (2), análisis de riesgos (1).
Media	18	13 académicos, 4 oficial, 1 OSC	Gestión de riesgos (6), análisis regulatorio (3), SSO (3), ética (2), gobernanza (1), análisis de riesgos (1), ambiental (1), evaluación de riesgos (1).
Alta	32	27 académicos, 4 oficial, 1 negocio	Análisis regulatorio (11), evaluación de riesgos (6), gestión de riesgos (6), SSO (3), ambiental (2), ética (2), gobernanza (2).
Muy alta	15	7 académicos, 5 oficial, 3 OSC	Gestión de riesgos (5), análisis regulatorio (4), gobernanza (2), análisis de riesgos (1), evaluación de riesgos (1), SSO (1), ambiental (1).

Fuente: Elaboración de la autora.

Entre los 170 autores identificados, se incluyen también instituciones, la mayoría ha participado en solo uno de los textos, sin embargo, hay algunos con dos, tres y hasta cuatro textos de su autoría. El tamaño de las letras y el

FIGURA 2. Red de conexión entre autores.



Fuente: Elaboración de la autora.

color indica su jerarquía respecto al número de publicaciones, Los nombres que aparecen en lila y con letras más pequeñas son de autores que solo tienen un texto, dentro de los analizados. Los nombres en verde son de autores con dos textos, en naranja fuerte son autores con tres textos. Únicamente dos, Hansen y Van Broekhuizen están presentes en cuatro textos. Sin embargo, hay otros nombres en naranja claro, con distintos valores respecto a la autoría, pero que están entre los 15 textos de mayor relevancia.

Respecto del año de publicación, se ha mencionado la inclusión de textos del 2000 al 2021, siendo el periodo entre 2008 y 2014 el que presenta más publicaciones sobre el principio de precaución y aspectos de nanotecnología. Los años 2008 y 2013 fueron los de mayor número de publicaciones, 12 y 11, respectivamente.

Al calcular un promedio entre la relevancia de los textos publicados en un mismo año se obtiene que los años 2000, 2004, 2005, 2011, 2019 y 2021 tienen valores altos (tabla 3). No obstante, los años en los cuales se publican los textos sobre esta temática y con una alta relevancia son: 2000, 2004, 2005, 2011 y 2021. También se obtuvo que las publicaciones de las OSC muestran la mayor relevancia (4.5 promedio), seguidas de la aseguradora SwissRe (4); las oficiales (3.4) y, por último las académicas (3.2), tomando en cuenta nuestra puntuación, ciertamente no exenta de elementos subjetivos. Lo importante a destacar es que aun siendo pocas las publicaciones de las OSC, estas aportan mucho a la discusión sobre el tema.

**TABLA 3.** Número de publicaciones por años y valor promedio de relevancia.\*

Año	No.	Relevancia promedio	Año	No.	Relevancia promedio
2000	1	5	2012	6	3
2001	1	1	2013	11	3.8
2004	6	4.2	2014	6	3
2005	1	5	2015	2	3.5
2006	6	2.2	2016	4	1.8
2007	4	2	2017	4	2.8
2008	12	3.4	2018	3	3
2009	4	3.5	2019	3	3.7
2010	8	3.4	2021	1	5
2011	7	4.1			

\* Este valor se calculó sumando el valor de relevancia de cada texto, dividido entre el número de textos de ese año.

Fuente: Elaboración de la autora.

Los años en que se publican los textos sobre esta temática y con mayor relevancia son: 2000, 2004, 2005, 2010-2013, 2018 y 2021. También se obtuvo que las publicaciones de las OSC muestran la mayor relevancia (4.4 promedio), seguidas de la aseguradora SwissRe (4); las oficiales (3.4), y al final las académicas

micas (3), tomando en cuenta nuestra puntuación, ciertamente no exenta de elementos subjetivos.<sup>8</sup> Lo importante a destacar es que aun siendo pocas las publicaciones de las OSC, estas aportan mucho a la discusión sobre el tema.

## Análisis temático

Como se esperaba, los temas más recurrentes alrededor de la diada principio de precaución y nanotecnología son: gestión de riesgos, análisis regulatorio, gobernanza y ética. En la categoría *gestión de riesgos* (la más prominente) incluimos documentos sobre la gestión de riesgos desde la etapa de laboratorio hasta las decisiones regulatorias en las cortes y tribunales. Algunos se centran en la gestión de sustancias químicas, salud, y seguridad de los trabajadores (tanto en el laboratorio de investigación como en la industria): HM Government (2005), Rip (2006), Kanarek (2007), Grunwald (2008), Marchant y Sylvestre (2008), Helland *et al.* (2008), Tyshenko (2008 y 2010), Groso *et al.* (2010 y 2016), O'Mathuna (2011), Myhr *et al.* (2011), Van Broekhuizen (2011), Warshaw, (2012), Marchant *et al.* (2012), Beaudrie *et al.* (2013), Hansen *et al.* (2013), Torres y Schramm (2015), Pellin y Engelmann (2017), EEA (2013), Saldivar (2021).

Se etiquetaron como *análisis regulatorio* aquellos que dedican gran parte del texto a revisar instrumentos o modelos regulatorios en el contexto del principio de precaución y la nanotecnología. Entre los textos con alto valor de relevancia, la gestión del riesgo, el análisis de riesgo y la gobernanza fueron los más recurrentes: CEC (2000), IÖW (2004), Phoenix y Treder (2004), Marchant y Sylvestre (2006), Lin (2007), Bryden (2008), EP, (2009), Faunce *et al.* (2008), CEC (2008), Fairbrother (2009), Lee (2010), Heselhaus (2010), Callies y Stokhaus (2012), Mielke (2013), Mbengue y Charles (2013), De Oliveira (2014), Colussi (2014), Andorno y Biller-Andorno (2014), Smismans y Stokes (2017), Solaiman *et al.* (2017), EC (2018), Solaiman *et al.* (2019), Resnik (2019).

La *gobernanza*, a la cual consideramos una categoría más amplia, podría centrarse en el medio ambiente o en la innovación tecnológica, o incluir la gestión de riesgos, así como los aspectos de regulación de riesgos o la política pública, por lo cual se etiquetaron como *gobernanza* aquellos que usaban este término y que hacían referencia a una amplia participación de distintos actores: Throne-Hols (2008), Von Schomberg (2010), Pérez (2010), Dana (2010), Lasagabaster (2011), SRU (2011), Roig (2018), Saldivar (2019).

Respecto a *ética*, los textos a los cuales se les asignó esta etiqueta fueron publicados entre el 2006 y 2014, y discurren entre códigos de conducta, valores, responsabilidad y un par en específico respecto a la nanomedicina o las aplicaciones médicas: UNESCO (2005), Swierstra, Tsjalling y Rip (2007), EGE

---

<sup>8</sup> Los valores de veces citadas, no se usaron para estimar la relevancia, pues no se contaba con esta información para todos los textos, únicamente de los que se encontraron en las bases de WebOS.

(2007), Malsch (2009), EC (2009), Ewald (2011), Kermisch (2012), Parizeau (2012), Elliott (2014).

Cabe mencionar haber etiquetado por separado *evaluación de riesgos y análisis de riesgos* al considerar que la primera constituye un eslabón del segundo, y en muchas ocasiones las discusiones se dan por separado. Los textos con la etiqueta *evaluación de riesgos* suelen enfocarse en criterios o enfoques utilizados para poder evaluarlos, es decir, son de tipo técnico, por ejemplo, el de la empresa aseguradora Swiss Re (2004) y también tratan la gestión de los riesgos: Montage (2004), Hansen *et al.* (2008), Wickson *et al.* (2010), Honkela *et al.* (2014), Hristozov (2016), Kuraj (2017). Otros autores tratan también el tema de las metodologías para evaluar los riesgos de los productos de la NT, dentro de ellos se ubican tres textos: Sweet (2006), SCENIHR-EC (2006), Canu *et al.* (2018). Los de análisis de riesgos se refieren más a la etapa de la toma de decisiones: Hansen, Maynard, Baun, Anders, Tickner y Bowman (2013). Efectos de gobernanza y política pública: EC-CHCP (2004), RS y RAE (2004), Howard y Ikah (2006), Stebbing (2009).

Los textos cuya discusión discurre principalmente sobre *seguridad y salud ocupacional*, como era de esperar, todos están asociados con la etiqueta de *gestión de riesgos*, y en este caso se refiere a la etapa de la producción, donde los trabajadores están expuestos, y por lo tanto es importante desarrollar protocolos y mecanismos de medición y control específicos para proteger la salud y seguridad de los trabajadores. Su intersección con el principio de precaución no es de extrañar, al ser materiales innovadores y por lo tanto desconocidos en sus efectos; en realidad de alguna forma los trabajadores han sido los “conejiillos de indias” de estos productos, y es en ellos donde, de no contar con equipos de protección adecuados, se podrían expresar los primeros efectos negativos: IFCS (2008), Van Broekhuizen *et al.* (2012), Van Broekhuizen y Dorbeck-Jung (2013), Hendrikx y Van Broekhuizen (2013), Invernizzi y Foladori (2013), Andrade y Amaral (2013), Iavicoli *et al.* (2014), Spruit (2017), Hester *et al.* (2015).

Por su lado, lo *ambiental* es el tema principal en 5 de los textos, 3 son de índole académica: Attia (2013), Hansen, Nielse, Knudsen, Grieger y Baun (2013), Bosso (2016); uno es un reporte de una agencia ambiental gubernamental: RCEP (2008) y otro un reporte de organizaciones de la sociedad civil que trabajan temas ambientales: Milieu y AMEC (2011). Se observó que como tema secundario de alguno de ellos se encuentra la gobernanza o la ética. Tres textos se etiquetaron con *ambiente, salud y seguridad* como tema secundario, y están asociados con la gestión de riesgos: Kanarek (2007) y Helland *et al.* (2008), y el análisis regulatorio: Fairbrother (2009).

Cuatro son los textos que tocan el tema de la *política pública*, los cuatro son documentos gubernamentales europeos, que van desde la política de químicos, códigos de conducta y los aspectos regulatorios de la NT. Sin embargo, su relevancia nos parece media.

Se identificaron tres textos que tratan el tema de la *nanomedicina*, 2 de ellos también son sobre análisis regulatorio: Andorno y Biller-Andorno (2014) y Solaiman *et al.* (2017), y uno sobre gestión de riesgos: Marchant *et al.* (2012).

Mientras que el texto sobre *nanotoxicología* discute acerca de los valores éticos y sociales influyentes en las decisiones que los nanotoxicólogos toman al momento de realizar sus investigaciones, desde qué materiales estudiar, cómo estudiarlos, qué efectos estudiar y cuáles estándares de evidencia usar: Elliott (2014). En cuanto a los dos textos con la etiqueta de *seguridad en laboratorio*, los dos de los mismos autores, revisan y proponen herramientas y protocolos para garantizar la seguridad ante los nano-riesgos en los laboratorios de investigación y por lo tanto sin duda son también textos sobre la gestión de riesgos: Grosó *et al.* (2010 y 2016).

Los valores de relevancia que se asignaron de alguna forma coinciden con qué tan citados han sido estos textos, aunque este criterio no se cumple por los textos más recientes. De cierta forma, sí se puede hablar de textos clásicos en la discusión sobre la pertinencia de usar el principio de precaución en la gestión/regulación de la nanotecnología y sus productos. A continuación, enlistamos los que consideramos más relevantes (para la referencia completa véase el anexo).

Año	Título
2010	– Communication from the Commission on the precautionary principle
2004	– Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties – Welcome to NanoWorld: nanotechnology and the precautionary principle imperative – Nanotechnology and regulation within the framework of the precautionary principle – Nanotechnology: small matter, many unknowns – Applying the precautionary principle to nanotechnology
2005	– Response to the Royal Society and Royal Academy of Engineering report: ‘Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties’
2010	– Precautionary governance and the limits of scientific knowledge – A democratic framework for regulating nanotechnology
2011	– Building blocks for a precautionary approach to the use of nanomaterials: positions taken by trade unions and environmental NGOs in the European Nanotechnologies Debate Review of Environmental Legislation for the Regulatory Control of Nanomaterials Precautionary Strategies for Managing Nanomaterials
2012	– Prudent precaution in clinical trials of nanomedicine
2013	– Nanotechnology – Early lessons from early warnings – Proposals for risk management in nanotechnology activities – Regulating in thin air: nanotechnology regulation in the European Union
2018	– Commission General Report on the operation of REACH and review of certain elements. Conclusions and Actions. Anex 5
2021	– Should the precautionary principle be implemented in Europe with regard to nanomaterials? Expert interviews

## Discusión

Es necesario mencionar que los dos primeros registros de los 87 textos seleccionados no cumplen con la regla de incluir la intersección entre el principio de precaución y la nanotecnología. El primero, del año 2000, es el comunicado de la Comisión Europea sobre el principio de precaución, que, si bien no hace referencia específica a la nanotecnología, es indispensable incorporar al ser el referente oficial sobre tecnologías emergentes; el segundo registro incluido es el “White paper ‘Strategy for a future chemicals policy’ del 2001, el cual, por su lado, tampoco hace mención directa de lo “nano”, pero es importante al ser considerados los nanomateriales como sustancias químicas y por referirse a que para asegurar un alto nivel de protección a la salud humana y el ambiente es fundamental el principio de precaución.

Es a partir de 2004 cuando encontramos cinco textos que ya cubren los dos temas: el principio de precaución y la nanotecnología, e, incluso, tres de ellos los llevan en el título, todos ellos con bastante relevancia para la discusión en forma de reportes u opiniones.

En las discusiones que abarcan los textos, es recurrente la mención al hecho de que evaluar, gestionar, regular y gobernar algo como la NT, o mejor dicho sus productos, es y ha sido difícil al tratarse de un terreno incierto, con limitantes y vacíos en metodologías y protocolos de investigación, marcos y modelos regulatorios. Si bien cada vez se conoce más de sus posibles efectos y destinos, dado el rápido desarrollo de la NT y el surgimiento de nuevos productos, tanto los científicos como los reguladores y tomadores de decisiones, siempre van rezagados (Hester, Mullins, Murphy y Tofail, 2015).

También son recurrentes las menciones argumentando que la regulación existente, ya sea de químicos, ambiental o por aplicación no es lo suficientemente nano, y que es necesario desarrollar instrumentos a la medida: (Millieu, ANEC (2011), Hester *et al.* (2015), Kuraj (2017), algunos abogan porque estos sean de tipo voluntario, otros porque sean obligatorios, pero, en su mayoría, argumentan lo ineludible de utilizar un enfoque precautorio, y anticiparse a los posibles daños modificando el paradigma convencional del análisis de riesgos y no dejar que los riesgos nos sorprendan (Fairbrothers, 2009).

Respecto a la discusión en torno al principio de precaución en sí, hubo también un par de textos de Marchant y Sylvester (2006 y 2008) donde se cuestiona la utilidad del principio de precaución al considerar que el mismo tiene varias ambigüedades para su aplicación. Asimismo, hubo otros textos que más bien consideran que este principio ha sido erróneamente estigmatizado y mal comprendido: Lin (2007) y Torres (2015).

Por su parte, hubo también varios textos que consideran imperante adoptar el principio de precaución, si se quiere proteger la salud y seguridad humana, y el ambiente: Lin (2007), Grunwald (2008), Wickson (2010), SRU (2011), Andorno (2014), Kuraj (2017) Saldívar-Tanaka (2019), y si se quiere tener un desarrollo responsable de la NT: EC (2009), Stebbing (2009), IÖW (2011); más

aún cuando se trate de nanotecnologías de tercera generación: Tysehnko *et al.* (2010). Del mismo modo, tomando en cuenta el nivel de incertidumbre (Heselhaus, 2010) o en su caso la gravedad o irreversibilidad sospechados, es oportuno escoger entre las diferentes acciones precautorias posibles: (Phoenix y Treder (2004), RCEP (2008), Faunce (2008), SRU (2011), Resnik (2019).

Otro elemento importante, cada vez más reconocido en la gobernanza de tecnologías emergentes con alto grado de incertidumbre es el extender la participación a otros públicos en la discusión sobre su necesidad, aceptabilidad y forma de regular: Fairbrothers (2009), Pérez (2010), Lasagabaster (2011), Andorno y Biller-Andorno (2014), Beaudrie *et al.* (2013), Hester *et al.* (2015).

Igualmente, en varios textos se habla no solo de adoptar enfoques precautorios, sino de hacer mancuerna con otros principios como el de la carga de la prueba: Heselhaus (2010), De Oliveira (2014), la responsabilidad del productor: Lin (2007), Dana (2010), De Oliveira (2014), Hester (2016), y el principio de *el que contamina paga*: EP (2008). Finalmente, Mielke (2013), en su texto, considera que la regulación existente en Europa, como la de cosméticos, biocidas, dispositivos médicos y aditivos a los alimentos provocan una falsa seguridad por ser demasiado abiertos y vagos, por lo cual es necesario recurrir al principio de precaución.

## Conclusiones

En los años 2004, 2011 y 2013 se publican los textos de mayor relevancia sobre esta temática. Podríamos decir que es en el 2004 cuando se pone el tema sobre la mesa con énfasis en la incertidumbre que permea en la regulación de algo que aún es novedoso, los temas principales de discusión en estos textos son el *análisis de riesgo* y el *análisis regulatorio*.

En el año 2011 se publican textos de alta relevancia en la discusión sobre *gobernanza*, *gestión de riesgos* y la temática *ambiental* provenientes de distintos sectores: academia, gobierno y OSC. También en el 2013 se publica un alto número de textos (once) sobre los temas analizados, con alta relevancia; entre ellos, los temas a tratar son *salud y seguridad ocupacional*, así como la *gestión del riesgo* y el *análisis regulatorio*.

Si bien es en el 2008 cuando se publican más textos sobre la diada analizada (doce textos), su relevancia promedio no es alta, en estos textos la discusión principal es en torno a la *gestión del riesgo* y al *análisis regulatorio*. Es a partir del 2015 cuando observa una disminución en el número de publicaciones sobre el tema, no obstante sigue siendo importante y al menos las publicadas en los primeros tres lustros del siglo sientan las bases para la discusión y la reflexión en las decisiones por venir.

En estos tiempos hípertecnificados y en los cuales el futuro parece rebasarnos, tomar decisiones sobre los desarrollos y aplicaciones de la tecnología se ha convertido en un asunto más arduo. A pesar de todo, el nuevo conocimiento científico y los entes a regular son cada vez más y más complejos, y



comprender sus implicaciones reales, éticas, económicas, sociales, ambientales, y legales, por nombrar algunas, es un asunto que se torna inasible. Si a esto le sumamos los intereses, preferencias, valores y creencias de los que están detrás de su desarrollo, estudio, implementación, autorización, adopción y uso, el escenario se vuelve sumamente problemático.

Los expertos científicos tienen la responsabilidad de proporcionar, en la medida de sus posibilidades, la información necesaria para ilustrar y explicar la situación. Los políticos de todos los poderes tienen la responsabilidad y obligación política y moral de tomar decisiones y evitar daños (los más posibles). Idealmente, el público general debe estar bien informado —con la mejor información científica— (Myhr, 211). Sin embargo, respecto a la NT la realidad es que el conocimiento científico sobre sus efectos tóxicos y riesgos en humanos y ambiente es aún limitado, lo mismo podríamos decir de las implicaciones socioeconómicas. Desde esta perspectiva entonces, los legisladores enfrentan el dilema entre proteger la salud socioambiental o promover una tecnología que promete una serie de ventajas tecnoeconómicas (Mielke, 2013).

Hoy en día todavía podemos decir que es complicado tomar medidas preventivas respecto a muchos aspectos relacionados con la NT y sus derivados, puesto que la información existente sobre sus riesgos reales es escasa, de este modo, muchas de las acciones son de tipo gestión de riesgo. Por ejemplo, en el ámbito ocupacional se efectúan adecuaciones o extrapolaciones de lo que se hace para otros productos, tecnologías o procesos similares y con las medidas y equipos de protección existentes. En general, también es difícil implantar acciones precautorias porque la información existente sobre los riesgos potenciales derivados del uso de NMs aún es limitada, no sabemos los efectos que pueda provocarnos, incluso ni siquiera los beneficios, aunque de estos últimos se habla más; otro agravante es el hecho de que la NT no está limitada a un solo sector productivo y los NMs tienen cientos de aplicaciones actuales y un sinfín de posibilidades.

Sin duda, la opinión sobre la aceptación de tecnologías emergentes, como lo ha sido la NT y sus aplicaciones, varía entre el público en general; su nivel educativo, su experiencia y su contexto de vida parecen ser factores determinantes en la percepción de los beneficios y riesgos de cada cual (Bainbridge 2002; Cobb y Macoubrie 2004; Burri y Bellucci, 2008; Kahan, *et al.*, 2009; Beaudrie *et al.*, 2013; Larsson, Jansson y Boholm 2019). Algo parecido sucede con las posturas de cómo vigilar o regularlo. Respecto a si usar enfoques más precautorios, la opinión de expertos varía de acuerdo con su ámbito de trabajo, por ejemplo, una encuesta a expertos de EUA y Canadá, realizada por Beaudrie *et al.* (2014), demostró que aquellos en el ámbito de la regulación consideraban más importante que los nanocientíficos e ingenieros utilizaran enfoques precautorios. En otro estudio en el que se entrevistaron a 33 expertos europeos, se encontró que aquellos dedicados a aspectos de salud y seguridad ambiental consideraban muy importante usar enfoques precautorios en la gestión de los NMs (Saldivar y Hansen, 2021).

Experiencias históricas con otras tecnologías han demostrado que el desarrollo tecnológico no puede ser dejado solo a científicos y tecnólogos, otros actores también tienen un rol que desempeñar (Throne-Holst y Stø, 2008). De hecho, la aceptación del público en general y de los consumidores en particular involucra otro tipo de incertidumbre a la cual aseguradoras, inversionistas y desarrolladores deben prestar atención, pues esto puede influir en que una innovación y millones de dólares invertidos sean rechazados.

Para ciertas tecnologías, aplicaciones o productos, es posible que se desarrolle algo que Steffen Hansen (*Per comm*) llama *inmunidad al riesgo* y está relacionado con lo que Throne-Holst y Stø identifican que sucede en ciertos aspectos de la medicina, cuando “las grandes esperanzas de mejorar la salud humana y las posibilidades de curar enfermedades parecen relegar las precauciones a un segundo plano”, es decir, las reflexiones o precauciones éticas se debilitan o desaparecen por completo.

Por su parte, algunos autores podrán expresar que el principio de precaución ha perdido su “*appeal*” o atractivo respecto al tema de la NT, sin embargo, consideramos que más bien, será posible que el número de publicaciones de corte académico ha disminuido, lo cual no significa que en las discusiones y razonamientos para tomar decisiones o hacer recomendaciones de índole política, o en los juzgados no se esté invocando este principio. Por otro lado, es posible que, en el caso de algunos NMs o nanoproductos, ya se cuente con la información necesaria, de manera que ahora el principio apelado sea el de prevención.

Por último, vemos que respecto a otras tecnología y productos el llamado a usar criterios precautorios es cada vez más fuerte, un ejemplo de ello es el caso de las cada vez más sofisticadas tecnologías de la comunicación inalámbrica, que incluyen la red 5G, la 6G, el Internet de las cosas, la comunicación satelital y otras innovaciones tecnológicas que están aumentando los niveles de radiación electromagnética sobre los seres vivos a niveles nunca vistos, y cuyos efectos futuros en la salud humana y planetaria son desconocidos

## Referencias

- Andorno, R. y Biller-Andorno, N. (2014). The risks of nanomedicine and the precautionary principle. En B. Gordijn, A. Cutter y S. Science+Business (eds.), *In pursuit of nanoethics*. The International Library 131 of Ethics, Law and Technology, 131-135. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6817-1\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6817-1_9).
- Andrade, L. y Amaral, F. (2013). Proposals for risk management in nanotechnology activities. En Arezes, Pedro *et al.* (eds.), *Occupational safety and hygiene*. London: Taylor & Francis Group, 573-578). ISBN 978-1-138-00047-6.
- Attia, P. (2013). Mega-sized concerns from the nano-sized world: the intersection of nano- and environmental ethics. *Sci Eng Ethics*, 19: 1007-1016. <https://doi.org/10.1007/s11948-012-9422-3>.
- Bainbridge, W. S. (2002). Public attitudes toward nanotechnology. *Journal of Nanoparticle Research*, 561-570. <https://doi.org/10.1023/A:1022805516652>.

- Beaudrie, C., Satterfield, T., Kandlikar, M. y Harthorn, B. (2014). Scientists *versus* regulators: precaution, novelty & regulatory oversight as predictors of perceived risks of engineered nanomaterials. *PLoS ONE*, 9(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106365>.
- Beaudrie, C., Satterfield, T., Kandlikar, M. y Harthorn, B. (2013). Expert views on regulatory preparedness for managing the risks of nanotechnologies. *PLoS ONE*, 8(11): 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080250>.
- Bodansky, D. (2004). Deconstructing the precautionary principle. En D. Caron y H. Scheiber, *Bringing new law to ocean waters*. Netherlands: Koninklijke Brill N.V., 381-39.
- Bosso, C. (2016). Settling into the midstream? Lessons for governance from the decade of nanotechnology. *J. Nanopart Res*, 18(163): 15. <https://doi.org/10.1007/s11051-016-3451-9>.
- Bryden, D. (2008). Regulating nanotechnology: can old dogs really learn new tricks? *Environmental Law Review*, 10(4): 249-257. <https://doi.org/10.1350/enr.2008.10.4.028>.
- Burri, R. y Bellucci, S. (2008). Public perception of nanotechnology. *Journal of nanoparticle research*, 10: 387-391. <https://doi.org/10.1007/s11051-007-9286-7>.
- Calliess, C. y Stockhaus, H. (2012). Precautionary principle and nanomaterials: REACH revisited. *Journal for European Environmental Planning Law*, 113-135. <https://doi.org/10.1163/187601012X639817>.
- Canu, I., Schulte, P., Riedliker, M., Fatkhutdinova, L. y Bergamaschi, E. (2018). Methodological, political and legal issues in the assessment of the effects of nanotechnology on human health. *J Epidemiol Community Health*, 72: 148-153. <https://doi.org/10.1136/jech-2016-208668>.
- CEC. (2000). *Communication from the Commission on the precautionary principle*. Commission of the European Communities, Brussels.
- CEC. (2001). *White paper strategy for a future chemicals policy*. Brussels, 27.2.2001 COM(2001) 88 final, 32pp.
- CEC. (2008). *Regulatory aspects of nanomaterials. Communication from the Commission to the European Parliament, the Council and the European Economic and Social Committee*. Brussels, 17.6.2008 COM (2008) 366 final, 11pp.
- Cobb, M. y Macoubrie, J. (2004). Public perceptions about nanotechnology: risks, benefits and trust. *Journal of nanoparticle research*, 6: 395-405.
- Colussi, Ilaria Anna. (2014). The role of responsible stewardship in nanotechnology and synthetic biology. En S. Arnaldi *et al.* (eds.), *Responsibility in nanotechnology development*, cap. 4. The International 53 Library of Ethics, Law and Technology, 13, [https://doi.org/10.1007/978-94-017-9103-8\\_4](https://doi.org/10.1007/978-94-017-9103-8_4).
- Dana, D. (2010). When less liability may mean more precaution: the case of nanotechnology. *UCLA Journal of Environmental Law and Policy*, 28(1): 153-199. <https://doi.org/10.5070/L5281019950>.
- De Oliveira F, Mateus. (2014). Princípio da precaução e regulação do risco nanotecnológico: consequências econômicas. *EALR*, 5(2): 296-314, julio-diciembre.
- European Communities – Community Health and Consumer Protection (EC-CHCP).

- (2004). *Nanotechnologies: a preliminary risk analysis on the basis of a workshop organized in Brussels on 1-2 march 2004 by the health and consumer protection directorate general of the European Commission*. European Communities – Community Health and Consumer Protection, Brussels.
- European Commission, Directorate-General for Environment, Bradley, H., Crook, N., Reins, L. et al. (2017). *Study on the precautionary principle in EU environmental policies – Final report*. Publications Office, 2017, <https://data.europa.eu/doi/10.2779/58953>.
- EC. (2009). *Commission recommendation on A code of conduct for responsible nanosciences and nanotechnologies research & Council conclusions on responsible nanosciences and nanotechnologies research*. Directorate-General for Research Science, Economy and Society. 24 pp.
- EC. (2018). *Commission general report on the operation of REACH and review of certain elements. Conclusions and Actions. Anex 5*. Brussels, 5.3.2018 SWD(2018) 58 final PART 6/7, 36 pp.
- EC-CHCP Community Health and Consumer Protection. (2004). *Nanotechnologies: a preliminary risk analysis on the basis of a workshop organized in Brussels on 1-2 march 2004 by the health and consumer protection directorate general of the european commission*. 143 pp. [http://europa.eu.int/comm/health/ph\\_risk/events\\_risk\\_en.htm](http://europa.eu.int/comm/health/ph_risk/events_risk_en.htm).
- EEA European Environmental Agency. (2001). Harremoës Poul (editor en jefe). *Late lessons from early warnings: the precautionary principle 1896-2000*. Environmental issue report 22. Copenhagen, 211p. ISSN 1029-2012.
- EEA. European Environmental Agency. (2013). *Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation*. Report, European Environmental Agency. <https://doi.org/10.2800/73322>.
- EFSA. (2018). *Evaluation of four new studies on the potential toxicity of titanium dioxide used as a food additive (E 171)*. European Food Safety Authority. *EFSA Journal*. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5366>.
- EFSA. (2021). Safety assessment of titanium dioxide (E171) as a food additive. *EFSA Journal*. European Food and Safety Agency. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6585>.
- EGE, European Group on Ethics in Science and New Technologies. (2007). Opinion on the ethical aspects of nanomedicine. *Opinion*, 21. 123p.
- Elliott, Kevin C. (2014). Ethical and societal values in nanotoxicology. En B. Gordijn y A.M. Cutter (eds.), *Pursuit of nanoethics*, cap. 10. The International Library 147 of Ethics, Law and Technology 10. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6817-1\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6817-1_10).
- EP, European Parliament. (2009). *Report on regulatory aspects of nanomaterials*. Committee on the Environment, Public Health and Food Safety Rapporteur: Carl Schlyter.
- EP. European Parliament. (2012). *Treaty on the functioning of the European Union*. Publications Office of the European Union.
- Ewald, F. (2011). Situation in France the principle of precaution. En P. Houdy et al. (eds.),

- Nanoethics and nanotoxicology*. Springer: 483-494. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-20177-624>.
- Fairbrother, A., Fairbrother, J. R. (2009). Are environmental regulations keeping up with innovation? A case study of the nanotechnology industry. *Ecotoxicology and environmental safety*, 72(5):1327-1330. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.04.003>.
- Faunce, T., Murray, K., Nasu, H., Bowman, D. (2008) Sunscreen safety: the precautionary principle. The Australian therapeutic goods administration and nanoparticles in sunscreens. *Nanoethics*. 2: 231-240. <https://doi.org/10.1007/s11569-008-0041-z>.
- Gee D. (2013). More or less precaution? En European Environmental Agency (EEA), *Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation*. EEA Report No 1/2013.
- Groso, A., Petri-Fink, A., Magrez, A., Riediker, M., Meyer, T., (2010). Management of nanomaterials safety in research environment. *Particle and Fibre Toxicology*, 7(40): 1-8. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-7-40>.
- Groso, A., Petri-Fink, A., Rothen-Rutishauser, B., Hofmann, H., Meyer, T. (2016). Engineered nanomaterials: toward effective safety management in research laboratories. *J Nanobiotechnology*, 14: 21. <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0169-x>.
- Grunwald, A. (2008). Nanoparticles: risk management and the precautionary principle. En Jotterand, F., (ed.), *Emerging conceptual, ethical and policy issues in bionanotechnology*. Springer Science, 85-102.
- GAIN. (2019). *France bans titanium dioxide in food products by January 2020*. Global Agricultural Information network.
- González Martínez, J. (2018). *Tratado de derecho ambiental mexicano. Vol. I. Las instituciones fundamentales del Derecho Ambiental*. México: UAM.
- Hansen, S., Maynard, A., Baun, A., Tickner, J. (2008). Late lessons from early warnings for nanotechnology. *Nature nanotechnology*, 3: 444-447, agosto. <https://doi.org/10.1038/nnano.2008.198>.
- Hansen, S., Maynard, A., Baun, A., Tickner, J. y Bowman, D. (2013). Nanotechnology – Early lessons from early warnings. En European Environmental Agency (ed.), *Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation*. 530-559. <https://doi.org/10.2800/73322>.
- Hansen, S., Nielse K. N., Knudsen N., Grieger K. D., Baun, A. (2013). Operationalization and application of “early warning signs” to screen nanomaterials for harmful properties. *Environ. Sci.: Processes Impacts*, 15: 190-203. <https://doi.org/10.1039/c2em30571b>.
- Helland, A., Kastenholz, H., Siegrist, M. (2008) Precaution in practice: perceptions, procedures and performance in the nanotech industry. *Journal of industrial ecology*, 12 (3): 449-458. <https://doi.org/10.1111/j.1530-9290.2008.00053.x>.
- Hendrikx, B., Van Broekhuizen, P. (2013). Nano reference values in the Netherlands. *Gefahrstoffe Reinhaltung der Luft*, 73(10): 407-414.
- HM Government. (2005). Response to the Royal Society and Royal Academy of En-

gineering report: 'Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties'.

- Heselhaus, S. (2010). Nanomaterials and the precautionary principle in the EU. *J Consum Policy*, 33: 91-108. <https://doi.org/10.1007/s10603-009-9123-8>.
- Hester, K., Mullins, M., Murphy, F. y Tofail, S. (2015). Anticipatory ethics and governance (AEG): Towards a future care orientation around nanotechnology. *Nanoethics*, 9: 123-136. <https://doi.org/10.1007/s11569-015-0229-y>.
- Honkela, N., Toikka, A., Hukkinen, J., Honkela, T., (2014). Coming to grips with scientific ignorance in the governance of endocrine disrupting chemicals and nanoparticles. *Environmental Science & Policy*, 38: 154-163. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2013.11.006>.
- Howard, V., Ikah, D. S. K. (2006). Nanotechnology and nanoparticle toxicity: a case for precaution. En Hunt, G. y Mehta M. (ed.), *Nanotechnology risk ethics and law*. Routledge, 154-166.
- Hristozov, D., Gottardo, S., Semenzin, E., Oomen, A., Bos, P., Peijnenburg, W., Van Tongeren, M., Nowack, B., Hunt, N., Brunelli, A., Scott-Fordsmann, J. J., Tran, L., Marcomini, A., (2016). Frameworks and tools for risk assessment of manufactured nanomaterials. *Environment international*, 95: 36-53. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.07.016>.
- Iavicoli, I., Leso, V., Ricciardi, W., Hodson, L. L., Hoover, M. D. (2014). Opportunities and challenges of nanotechnology in the green economy. *Environmental health*, 13. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-13-78>.
- IFCS Intergovernmental Forum on Chemical Safety. (2008). Forum VI sixth session of the Intergovernmental Forum on Chemical Safety.
- Invernizzi, N., Foladori, G. (2013). Unions and NGOs positions on the risks and regulation of nanotechnology. *Visa em debate sociedade ciencia tecnologia*, 72-84.
- IÖW; Haum, Rüdiger, Petschow, Ulrich, Steinfeldt, Michael. (2004). *Nanotechnology and regulation within the framework of the precautionary principle*. Berlín: Institut für ökologische Wirtschaftsforschung (IÖW) gGmbH.
- Jonas, H. (1995). *El principio de responsabilidad. Ensayo de una ética para la civilización tecnológica*. Barcelona: Herder.
- Kahan, D., Braman, D., Slovic, P., Gastil, J. y Cohen, J. (2009). Cultural cognition of the risks and benefits of nanotechnology. *Nature Nanotechnology*, 4(2): 87-91. <https://doi.org/10.1038/nnano.2008.341>.
- Kanarek, M. (2007). Nanomaterial health effects. Part 3: Conclusion – Hazardous Issues and the Precautionary Principle. *Wisconsin Medical Journal*, 106 (1): 16-19.
- Kermisch, C. (2012). Do new ethical issues arise at each stage of nanotechnological development? *Nanoethics*, 6 (1): 29-37. <https://doi.org/10.1007/s11569-011-0137-8>.
- Klaine, J., Koelmans, A., Horne, N., Carley, S., Handy, R. y Kapustka, L. et al. (2012). Paradigms to assess the environmental impact of manufactured nanomaterials. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(1): 3-14. <https://doi.org/10.1002/etc.733>.
- Klika, C. (2015). Risk and the precautionary principle in the implementation of

- REACH. The inclusion of substances of very high concern in the candidate list. *EJRR*, 1: 111-120. <https://doi.org/10.1017/S1867299X00004335>.
- Kuraj, N. (2017). *Reaching an environmental regulation for nanotechnology. An analysis of REACH as an instrument for preventing and reducing the environmental impacts of nanomaterials*. Tesis doctoral. Facultad de Leyes, University of Oslo, Noruega.
- Larsson, S., Jansson, M. y Boholm, A. (2019). Expert stakeholders' perception of nanotechnology: risk, benefit, knowledge, and regulation. *Journal of Nanoparticle Research*, 21(57). <https://doi.org/10.1007/s11051-019-4498-1>.
- Lasagabaster, H. I., Arizkun, C. A. (2011). The precautionary principle: regulation needed to confront the risks associated with nanotechnology. En *The precautionary principle*, 45-56.
- Lee, M. (2010). Risk and beyond: EU regulation of nanotechnology. *European law review*, 35(6): 799-821. ISSN: 0307-5400.
- Lin, A. C. (2007). Size matters: regulating nanotechnology. *Harvard environmental law review*, 31(2): 349-408.
- Malsch, I., Nielsen, K. H. (2009). *Individual and collective responsibility for nanotechnology*. <http://www.observatorynano.eu/project/catalogue/4RC/>.
- Marchant, G., Sylvestre, D. J. (2006). Transnational models for regulation of nanotechnology. *Journal of Law, Medicine & Ethics*, 34(4): 714-25, invierno. <https://doi.org/10.1111/j.1748-720X.2006.00091.x>.
- Marchant, G., Sylvestre, D. J. y Abbott, K. (2008). Risk management principles for nanotechnology. *Nanoethics*, 2: 43-60. <https://doi.org/10.1007/s11569-008-0028-9>.
- Marchant, G. E., Lindor, R. A. (2012). Prudent precaution in clinical trials of nanomedicines. *Journal of Law, Medicine & Ethics*, 40(4): 831-840. <https://doi.org/10.1111/j.1748-720X.2012.00711.x>.
- Mbengue Makane M. y Charles, Margaux. (2013). International organizations and nanotechnologies: the challenge of coordination. *RECIEL*, 22(2). ISSN 0962-8797.
- Mielke, Sebastian K. (2013). Regulating in thin air: nanotechnology regulation in the European Union. *RECIEL*, 22(2). ISSN 0962-8797.
- Milieu. (2011). *Review of Environmental Legislation for the Regulatory Control of Nanomaterials*. Milieu, AMEC. 244 pp.
- Montage, P. (2004). Welcome to NanoWorld: nanotechnology and the precautionary principle imperative. *Multinational Monitor*, 16-19, septiembre.
- Myhr, A. I. y Myskja, B. K. (2011). Precaution or integrated responsibility approach to nanovaccines in fish farming? A critical appraisal of the UNESCO precautionary principle. *Nanoethics*, 5: 73-86. <https://doi.org/10.1007/s11569-011-0112-4>.
- O'Mathuna, D. P. (2011). Taking a precautionary approach to nanotechnology. *Nanotechnology Development*. 1:e6, 26-30. <https://doi.org/104061/nd.2011.e6>.
- ONU, Organización de las Naciones Unidas. (1992). *Conferencia de Naciones Unidas sobre medio ambiente y desarrollo*. Declaración de Río sobre el medio ambiente y el desarrollo.
- Parizeau, M. H. (2012). Towards an ethic of technology? nanotechnology and the

- convergence of applied ethics. *Journal of Philosophical Research*, 293-302. <https://doi.org/10.5840/jpr201237Supplement47>.
- PE, Parlamento Europeo. (2008). *Informe sobre los aspectos reglamentarios de los nanomateriales*. Parlamento Europeo, Comisión de Medio Ambiente, Salud Pública y Seguridad Alimentaria.
- Phoenix, Ch., Treder, M. (2004). *Applying the precautionary principle to nanotechnology*. 3 pp. <http://www.crnano.org/precautionary.htm>.
- Pellin, D. Engelman, W. (2017). The principle of precaution in nanotechnological risk scenario. *Cadernos de Derecho Actual*, 6: 9-29. ISSN 2340-860X - ISSN 2386-5229.
- Perez, O. (2010). Precautionary governance and the limits of scientific knowledge – A democratic framework for regulating nanotechnology. *UCLA Journal of Environmental Law and Policy*, 28(1): 20-76. <https://doi.org/10.5070/L5281019947>.
- RCEP, Royal Commission on Environmental Pollution. (2008). *Novel materials in the environment: the case of nanotechnology*, 27 report. 154 pp. ISBN: 9780101746823.
- Resnik, D. B. (2019). How should engineered nanomaterials be regulated for public and environmental health? *AMA Journal of Ethics*, 21(4): E363-369. <https://doi.org/10.1001/amajethics.2019.363>.
- Riechmann, J. (2002). Introducción: un principio para reorientar las relaciones de la humanidad con la biosfera. En J. Riechmann y J. Tickner, *El principio de precaución en medio ambiente y salud pública: de las definiciones a la practica*. España: Icaria, 7-38.
- Rip, A. (2006). The tension between fiction and precaution in nanotechnology. En *Prospective applications of the precautionary principle*, 270-283.
- Roig, A. (2018). Nanotechnology governance: from risk regulation to informal platforms. *Nanoethics*, 12: 115-121. <https://doi.org/10.1007/s11569-018-0321-1>.
- RS y RAE. (2004). *Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties*. Royal Society y Royal Academy of Engineering. Cardiff: Clyvedon Press. ISBN 0 85403 604 0.
- Saldívar, L. (2019). *Regulando lo invisible. Necesidad del principio de precaución en la política de nanotecnología en México*. México: El Colegio de México.
- Saldívar, L. (2019). Regulando la nanotecnología. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, 12(22): 1e-21e-. México: UNAM. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2019.22.63140>.
- Saldívar, L. y Hansen, S. (2021). Should the precautionary principle be implemented in Europe with regard to nanomaterials? Expert interviews. *Journal of Nanoparticle Research*, 23(70): 14. <https://doi.org/10.1007/s11051-021-05173-w>.
- Saldívar-T, L. (2020). Regulación blanda, normas técnicas y armonización regulatoria internacional para la nanotecnología. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, 13(24): 1e-27e, enero-junio. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2020.24.69621.1>
- Santillo, D., Stringer, L. y Johnston, P. A. (1998). The precautionary principle: protecting against failures of scientific method and risk assessment. *Marine Pollution Bulletin*, 36(12): 939-951. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(98\)80003-9](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(98)80003-9).
- SCENIHR, European Commission. (2006). *The appropriateness of existing methodologies*



to assess the potential risks associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies. Opinion Directorate C – Public Health and Risk Assessment C7 – Risk assessment. Synthesis report: [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/documents/synth\\_report.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/documents/synth_report.pdf).

- Smismans, S., Stokes, E. (2017). Innovation types and regulation: the regulatory framing of nanotechnology as “incremental” or “radical” innovation. *European Journal of Risk Regulation*. 8: 364-386 (núm. especial 2). <https://doi.org/10.1017/err.2017.9>.
- Solaiman, S. M., Algie, J., Bakand, S., Sluyter, R., Sencadas, Lerch, M., Huang, Xu-F., Konstantinov, K., Barker, P. J. (2019). Nano-sunscreens – A double-edged sword in protecting consumers from harm: viewing Australian regulatory policies through the lenses of the European Union. *Critical reviews in toxicology*, 49(2): 122-139. <https://doi.org/10.1080/10408444.2019.1579780>.
- Solaiman, S., Yamauchi, Y., Kim, J., Hovart, J., Dou, S., Alici, G., Hossain, S. *et al.* (2017). Nanotechnology and its medical applications: revisiting public policies from a regulatory perspective in Australia. *Nanotechnology Review*, 6(3): 255-269. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2016-0095>.
- Spruit, S. L. (2017). Choosing between precautions for nanoparticles in the workplace: complementing the precautionary principle with caring. *Journal of Risk Research*, 20(3): 326- 346. <https://doi.org/10.1080/13669877.2015.1043574>.
- SRU. (2011). *Precautionary strategies for managing nanomaterials. Chap. 7: Conclusions and Recommendations. June*. German Advisory Council on the Environment, 1-40.
- Stebbing, Ma. (2009). Avoiding the trust deficit: public engagement, values, the precautionary principle and the future of nanotechnology. *Journal of bioethical inquiry*, 6(1): 37-48. <https://doi.org/10.1007/s11673-009-9142-9>.
- STOA, Science and Technology Options Assessment. 2008. *Nano Safety – Risk governance of manufactured nanoparticles. Final report*. European Parliament. IP/A/STOA/FWC/2008-096/LOT5/C1/SC3.
- Sweet, L., Strohm, B. (2006). Nanotechnology – Life-cycle risk management. *Human and Ecological Risk Assessment*, 12(3): 528- 551. <https://doi.org/10.1080/10807030600561691>.
- Swierstra, T. T., Rip, A. (2007). Nano-ethics as NEST-ethics: patterns of moral argumentation about new and emerging science and technology. *Nanoethics*, 1: 3-20. <https://doi.org/10.1007/s11569-007-0005-8>.
- Swiss Re . (2004). *Nanotechnology small matter, many unknowns*. Suiza: Swiss Reinsurance Company.
- Throne-Holst, H. y Stø, E. (2008). Who should be precautionary? Governance of nanotechnology in the risk society. *Technology Analysis & Strategic Management*, 20(1): 99-112. <https://doi.org/10.1080/09537320701726726>.
- Tickner, J. (1998). *A commonsense framework for operationalizing the precautionary principle*. Ponencia presentada en la Wingspread Conference on Strategies for Implementing the Precautionary Principle, Racine, 23 al 25 de enero.
- Tickner, J., Raffensperger, C. y Myers, N. (1999). *El principio de precaución en acción*. Manual, Science and Environmental Health Network, SEHN.

- Torres-Tavares, E., Schramm, F. R. (2015). The principle of precaution and the nano-techno-sciences. *Revista Bioética*, 23(2). <https://doi.org/10.1590/1983-80422015232063>.
- Tyshenko, M. G., Farhat, N., Lewis, R., Shilnikova, N. (2010) Applying a precautionary risk management strategy for regulation of nanotechnology. *International journal of nanotechnology*, 7(2-3): 243-264. <https://doi.org/10.1504/IJNT.2010.031313>.
- Tyshenko, M. G., Krewski, D. (2008). A risk management framework for the regulation of nanomaterials. *International Journal of Nanotechnology*, 5(1): 143-160. <https://doi.org/10.1504/IJNT.2008.016553>.
- UNESCO. (2005). *The precautionary principle*. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, COMEST.
- Van Broekhuizen, P., y Reijnders, L. (2011). Building blocks for a precautionary approach to the use of nanomaterials: positions taken by trade unions and environmental NGOs in the European nanotechnologies debate. *Risk Analysis*, 31(10): 1646-1657. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2011.01615.x>.
- Van Broekhuizen, P., Van Veelen, W., Streekstra, W.-H., Schulte, P. y Reijnders, L. (2012). Exposure limits for nanoparticles: report of an international workshop on nano reference values. *Ann. Occup. Hyg*, 56(5): 515-524. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mes043>.
- Van Broekhuizen, P. y Dorbeck-Jung, B. (2013). Exposure limit values for nanomaterials – Capacity and willingness of users to apply a precautionary approach. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 10(1): 46-53. <https://doi.org/10.1080/15459624.2012.744253>.
- Von Schomberg, R. (2010). Organising collective responsibility: on precaution, codes of conduct and understanding public debate. In U. Fiedeler *et al.* (eds.), *Understanding nanotechnology*. Alemania: AKA Verlag Heidelberg, 61-70.
- Warsaw, J. (2012). The trend towards implementing the precautionary principle in US regulation of nanomaterials. *Dose-response*, 10(3): 384-396. <https://doi.org/10.2203/dose-response.10-030.Warshaw>.
- Weckert, J. (2010). In defence of the precautionary principle. *IEEE International Symposium on Technology and Society*.
- WHO-Europe. (2004). *The precautionary principle: protecting public health, the environment and the future of our children*.
- Wickson, F., Gillund, F. y Myhr, A. (2010). Treating nanoparticles with precaution: recognising qualitative uncertainty in scientific risk assessment. En P. S. Publishing (ed.), *Nano meets macro: social perspectives on nanoscale sciences and technologies*, 445-472.
- Wickson, F. (2011). Gobernanza nanotecnológica: por qué no podemos confiar en evaluaciones de riesgo científicas. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, 4(1). UNAM, México. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2011.1.50988>.

## Anexo

### Lista de textos analizados

Año	1er autor	Título	Tema principal
2000	CEC	Communication from the Commission on the precautionary principle	Análisis regulatorio
2001	CEC	White paper 'Strategy for a future chemicals policy	Política pública
2004	EC CHCP	Nanotechnologies: a preliminary risk analysis	Análisis de riesgo
2004	Swiss Re	Nanotechnology: small matter, many unknowns	Evaluación de riesgo
2004	Phoenix	Applying the precautionary principle to nanotechnology	Análisis regulatorio
2004	RS RAE	Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties	Análisis de riesgo
2004	Montage	Welcome to NanoWorld: nanotechnology and the precautionary principle imperative	Evaluación de riesgo
2004	IÖW	Nanotechnology and regulation within the framework of the precautionary principle	Análisis regulatorio
2005	HMG	Response to the Royal Society and Royal Academy of Engineering report: 'Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties'	Gestión de riesgo
2006	Howard	Nanotechnology and nanoparticle toxicity: a case for precaution	Análisis de riesgo
2006	UNESCO	The ethics and politics of nanotechnology	Ética
2006	Rip	The tension between fiction and precaution in nanotechnology	Gestión de riesgo
2006	Sweet	Nanotechnology – Life-cycle risk management	Metodología
2006	SCENIHR	The appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies	Metodología
2006	Marchant	Transnational models for regulation of nanotechnology	Análisis regulatorio
2007	Swierstra	Nano-ethics as NEST-ethics: patterns of moral argumentation about new and emerging science and technology	Ética
2007	EGE	Opinion on the ethical aspects of nanomedicine	Ética
2007	Lin	Size matters: regulating nanotechnology	Análisis regulatorio
2007	Kanarek	Nanomaterial health effects. Part 3: Conclusion – Hazardous issues and the precautionary principle	Gestión de riesgo
2008	Throne-Hols	Who should be precautionary? Governance of nanotechnology in the risk society	Gobernanza
2008	CEC	Regulatory aspects of nanomaterials. Communication from the Commission to the European Parliament, the Council and the European Economic and Social Committee	Análisis regulatorio
2008	Helland	Precaution in practice perceptions, procedures, and performance in the nanotech industry	Gestión de riesgo industrial
2008	IFCS	Forum VI. Sixth session of the Intergovernmental Forum on Chemical Safety	Salud y seguridad ocupacional
2008	Tyshenko	A risk management framework for the regulation of nanomaterials	Gestión de riesgo
2008	RCEP	Novel materials in the environment – The case of nanotechnology	Ambiental
2008	Marchant	Risk management principles for nanotechnology	Gestión de riesgo
2008	Hansen	Late lessons from early warnings for nanotechnology	Evaluación de riesgo

Continúa ►

### Lista de textos analizados (continuación)

Año	1er autor	Título	Tema principal
2008	Grunwald	Nanoparticles: risk management and the precautionary principle	Gestión de riesgo
2008	Faunce	Sunscreen safety: the precautionary principle, the Australian Therapeutic Goods Administration and Nanoparticles in Sunscreens	Análisis regulatorio
2008	EP	Report on regulatory aspects of nanomaterials	Análisis regulatorio
2008	Bryden	Regulating nanotechnology. Can old dogs really learn new tricks?	Análisis regulatorio
2009	Malsch	Individual and collective responsibility for nanotechnology	Ética
2009	Stebbing	Avoiding the trust deficit: public engagement, values, the precautionary principle and the future of nanotechnology	Análisis de riesgo
2009	Fairbrothers	Are environmental regulations keeping up with innovation?	Análisis regulatorio ambiental
2009	EC	Commission recommendation on A code of conduct for responsible nanosciences and nanotechnologies research	Ética
2010	Schomberg	Organising collective responsibility: on precaution, codes of conduct and understanding public debate	Gobernanza
2010	Groso	Management of nanomaterials safety in research environment	Gestión de riesgo
2010	Wickson	Treating nanoparticles with precaution: recognising qualitative uncertainty in scientific risk assessment	Evaluación de riesgo
2010	Tyshenko	Applying a precautionary risk management strategy for regulation of nanotechnology	Gestión de riesgo
2010	Lee	Risk and beyond – EU regulation of nanotechnology	Análisis regulatorio
2010	Heselhaus	Nanomaterials and the precautionary principle in the EU	Análisis regulatorio
2010	Perez	Precautionary governance and the limits of scientific knowledge – A democratic framework for regulating nanotechnology	Gobernanza del riesgo
2010	Dana	When less liability may mean more precaution: the case of nanotechnology	Gobernanza del riesgo
2011	O'Mathuna	Taking a precautionary approach to nanotechnology	Gestión de riesgo
2011	Ewald	Situation in France: the principle of precaution	Ética
2011	Myhr	Precaution or integrated responsibility approach to nanovaccines in fish farming? A critical appraisal of the UNESCO precautionary principle	Gestión de riesgo
2011	Lasagabaster	The precautionary principle: regulation needed to confront the risks associated with nanotechnology	RISK Gobernanza
2011	Van Broekhuizen	Building blocks for a precautionary approach to the use of nanomaterials: positions taken by trade unions and environmental NGOs in the European nanotechnologies debate	Gestión de riesgo
2011	SRU	Precautionary strategies for managing nanomaterials	Gobernanza
2011	Millieu	Review of Environmental Legislation for the Regulatory Control of Nanomaterials	Ambiental
2012	Parizeau	Towards an ethic of technology? Nanotechnology and the convergence of applied ethics	Ética
2012	Kermisch	Do new ethical issues arise at each stage of nanotechnological development?	Ética
2012	Warshaw	The trend towards implementing the precautionary principle in US regulation of nanomaterials	Gestión de riesgo

Continúa ►

## Lista de textos analizados (continuación)

Año	1er autor	Título	Tema principal
2012	Van Broekhuizen	Exposure limits for nanoparticles: report of an international workshop on nano reference values	Salud y seguridad ocupacional
2012	Callies	Precautionary principle and nanomaterials: REACH revisited	Análisis regulatorio, REACH
2012	Marchant	Prudent precaution in clinical trials of nanomedicines	Gestión de riesgo
2013	Beaudrie	Scientists versus regulators: precaution, novelty & regulatory oversight as predictors of perceived risks of engineered nanomaterials	Gestión de riesgo
2013	Hendrixx	Nano reference values in the Netherlands	Salud y seguridad ocupacional
2013	Attia	Mega-sized concerns from the nano-sized world: the intersection of nano- and environmental ethics	Ambiental
2013	Hansen	Operationalization and application of “early warning signs” to screen nanomaterials for harmful properties	Ambiental
2013	EEA	Late lessons of early warnings	Gestión de riesgo
2013	Invernizzi	Unions and NGOs positions on the risks and regulation of nanotechnology	Salud y seguridad ocupacional
2013	Mbengue	International organizations and nanotechnologies: the challenge of coordination	Análisis regulatorio internacional
2013	Mielke	Regulating in thin air: nanotechnology regulation in the European Union	Análisis regulatorio
2013	Hansen	Nanotechnology – Early lessons from early warnings	Gestión de riesgo
2013	Andrade	Proposals for risk management in nanotechnology activities	Salud y seguridad ocupacional
2013	Van Broekhuizen	Exposure limit values for nanomaterials – Capacity and willingness of users to apply a precautionary approach	Salud y seguridad ocupacional
2014	Iavicoli	Opportunities and challenges of nanotechnology in the green economy	Salud y seguridad ocupacional
2014	Colussi	The role of responsible stewardship in nanotechnology and synthetic biology	Análisis regulatorio comparativo
2014	De Oliveira	Princípio da precaução e regulação do risco nanotecnológico: consequências econômicas	Análisis regulatorio
2014	Honkela	Coming to grips with scientific ignorance in the governance of endocrine disrupting chemicals and nanoparticles	Evaluación de riesgo
2014	Elliott	Ethical and societal values in nanotoxicology	Ética
2014	Andorno	The risks of nanomedicine and the precautionary principle	Análisis regulatorio
2015	Spruit	Choosing between precautions for nanoparticles in the workplace: complementing the precautionary principle with caring	Salud y seguridad ocupacional
2015	Torres	The principle of precaution and the nano-techno-sciences	Gestión de riesgo
2016	Hester	Nanotort liability at common law	Salud y seguridad ocupacional
2016	Groso	Engineered nanomaterials: toward effective safety management in research laboratories	Gestión de riesgo
2016	Bosso	Settling into the midstream? Lessons for governance from the decade of nanotechnology	Ambiental
2016	Hristozov	Frameworks and tools for risk assessment of manufactured nanomaterials	Evaluación de riesgo
2017	Smismans	Innovation types and regulation: the regulatory framing of nanotechnology as “incremental” or “radical” innovation	Análisis regulatorio

Continúa ►

*Lista de textos analizados (continuación)*

Año	1er autor	Título	Tema principal
2017	Solaiman	Nanotechnology and its medical applications: revisiting public policies from a regulatory perspective in Australia	Análisis regulatorio
2017	Pellin	The principle of precaution in nanotechnological risk scenario	Gestión de riesgo
2017	Kuraj	The precautionary principle in EU risk regulation and its applicability to nanosubstances	Evaluación de riesgo
2018	Roig	Nanotechnology governance: from risk regulation to informal platforms	Gobernanza
2018	Canu	Methodological, political and legal issues in the assessment of the effects of nanotechnology on human health	Metodología
2018	EC	Commission General Report on the operation of REACH and review of certain elements. Conclusions and actions. Anex 5	Análisis regulatorio
2019	Resnik	How should engineered nanomaterials be regulated for public and environmental health?	Análisis regulatorio
2019	Saldívar	Regulating the invisible: need for the precautionary principle in nanotechnology policy in Mexico	Gobernanza del riesgo
2021	Saldívar	Should the precautionary principle be implemented in Europe with regard to nanomaterials? Expert interviews	Gestión de riesgo

# Producción fotocatalítica de hidrógeno empleando semiconductores modificados con nanopartículas metálicas

## Photocatalytic hydrogen production using metal nanoparticle-modified semiconductors

David Ramírez Ortega,<sup>\*, $\diamond$</sup>  Diana Guerrero Araque,<sup>\*\*</sup> Próspero Acevedo Peña<sup>\*\*\*</sup> y Rodolfo Zanella<sup>\*, $\dagger$</sup>

**ABSTRACT:** This review paper focuses on photocatalytic hydrogen production using sacrificial agents and semiconductors modified with metal nanoparticles. While the use of sacrificial agents reduces the energy required for hydrogen production and eliminates the recombination of photogenerated holes, the surface modification of semiconductors with metal nanoparticles changes the flow of photoinduced charge carriers, decreasing the recombination of electron-hole pairs and increasing the number of catalytic active sites for reduction. In addition, the impact of electrochemical and photoelectrochemical techniques on the characterization of the photocatalysts, the semiconductor/electrolyte interface, and the modification of the Fermi level when these components are in contact is described. These electrochemical determinations provide information on the band diagram (valence and/or conduction band positions), energy states of the semiconductor, interaction of the photocatalyst with the co-catalysts, separation of the electron-hole species, use of illumination, and resistance to charge transfer. Establishing a relationship between the photocatalytic activity of semiconductors and their electrochemical characterization allows understand the charge transfer processes involved in such a reaction.

**KEYWORDS:** photocatalytic hydrogen production, metal nanoparticles, photoelectrochemistry.

**RESUMEN:** Este trabajo de revisión se centra en la producción fotocatalítica de hidrógeno empleando agentes de sacrificio y semiconductores modificados con nanopartículas metálicas. Mientras que el uso de agentes de sacrificio reduce la energía requerida para la producción de hidrógeno y elimina los huecos fotogenerados, la modificación superficial de los semiconductores con nanopartículas metálicas cambia el flujo de los portadores de carga fotoinducidos, disminuyendo la recombinación de los pares electrón-hueco y aumentando la cantidad de sitios activos catalíticos para la reducción. Además, se describe el impacto de las técnicas electroquímicas y fotoelectroquímicas en la caracterización de los fotocatalizadores, la interfase semiconductor/electrolito y la modificación que tiene el nivel de Fermi cuando se ponen en contacto estos componentes. Dichas determinaciones electroquímicas brindan información sobre el diagrama de bandas (posiciones de banda de valencia y/o de conducción), estados energéticos del semiconductor, interacción del fotocatalizador con los co-catalizadores, separación

Recibido: 7 de febrero, 2024.

Aceptado: 22 de marzo, 2024.

Publicado: 12 de abril, 2024.

\* Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología.

\*\* Universidad Autónoma Metropolitana-Conacyt, Departamento de Química.

\*\*\* Instituto Politécnico Nacional-Conacyt, Laboratorio Nacional de Conversión y Almacenamiento de Energía, CICATA-Legaria.

$\diamond$  Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada-Unidad Legaria.

$\dagger$  Autor de correspondencia: rodolfo.zanella@icat.unam.mx



de las especies electrón-hueco, aprovechamiento de la iluminación y resistencia a la transferencia de carga. La relación de la actividad fotocatalítica de los semiconductores y su caracterización electroquímica permite comprender los procesos de transferencia de carga involucrados en dicha reacción.

**PALABRAS CLAVE:** producción fotocatalítica de hidrógeno, nanopartículas metálicas, fotoelectroquímica.

## Introducción

Dos de los mayores retos enfrentados por la humanidad en la actualidad son las cuestiones energéticas y las medioambientales (Lewis y Nocera, 2006). A pesar de los enormes esfuerzos para desarrollar fuentes de energía renovables, la mayor parte de la energía utilizada hasta ahora se sigue obteniendo de fuentes no renovables (Lewis y Nocera, 2006). Existe un consenso cada vez mayor de que el hidrógeno reemplazará a los combustibles fósiles como principal vector de energía en el futuro, debido a su alta densidad energética y ser un combustible respetuoso con el medio ambiente, pues su combustión genera solo agua, mientras que los combustibles fósiles convencionales emiten contaminantes y gases de efecto invernadero, contribuyendo así a la degradación medioambiental y al cambio climático global (Davis, Caldeira y Matthews, 2010; McGlade y Ekins, 2015; Kocha *et al.*, 2017). Sin embargo, una transición adecuada hacia una “economía del hidrógeno” requiere importantes avances técnicos en la producción y almacenamiento de hidrógeno (Holladay *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2012).

Producir hidrógeno en la escala requerida para satisfacer las necesidades de las sociedades actuales y futuras representa un desafío importante. Las tecnologías actuales para su producción están basadas en el reformado de metano con vapor (SMR, por sus siglas en inglés) acoplado a la reacción de desplazamiento del vapor de agua (WGS, por sus siglas en inglés), las cuales son eficientes y maduras, pero no son sostenibles a largo plazo pues consumen mucha energía, se basan en gas natural como materia prima, siendo este no renovable, además de tener una huella de carbono significativa (Armaroli y Balzani, 2011).

Por su parte, los procesos fotocatalíticos presentan la ventaja de poder convertir la energía de la luz en energía química (Primo, Corma y García, 2011). La conversión directa de energía solar en energía química tiene varias ventajas sobre la conversión de energía solar en eléctrica, al ser la luz solar una fuente intermitente, no hay forma de almacenar grandes cantidades de electricidad para usarla durante la noche (Hou y Cronin, 2013). La producción fotocatalítica de combustibles proporciona un método alternativo para almacenar la energía del sol en enlaces químicos pudiendo estos liberarse posteriormente sin producir subproductos dañinos. Lo anterior se puede lograr al producir hidrógeno a partir de agua, que es un recurso muy abundante en la superficie de la Tierra. Por ese motivo, en la actualidad se están desarrollando varias tecnologías alternativas de producción de H<sub>2</sub>, entre ellas, la re-



acción de ruptura de la molécula de agua utilizando semiconductores como fotocatalizadores y luz solar es considerada como la que mejores perspectivas presenta, al generar un suministro de hidrógeno sin involucrar el carbono (Kudo y Miseki, 2009), por lo cual, el hidrógeno generado por dicha reacción es considerado un combustible limpio (Walter *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2018).

La producción fotocatalítica de hidrógeno es una reacción no favorecida termodinámicamente, pues presenta una energía libre de Gibbs positiva (237 kJ/mol) mientras que la energía de banda prohibida ( $E_g$ ) mínima para llevar a cabo la división del agua es de 1.23 eV. Por lo tanto, para poder utilizar luz visible, la energía de banda prohibida —que es la diferencia de energía entre la banda de valencia y la banda de conducción del semiconductor fotocatalítico— debe ser  $3.0 \text{ eV} > E_g > 1.23 \text{ eV}$ . Para obtener una producción eficiente de hidrógeno es necesario, inicialmente, lograr una interacción eficiente entre la luz, el fotocatalizador y los reactivos (Grewe, Meggough y Tüysüz, 2016; Fajrina y Tahir, 2019). En general, el proceso fotocatalítico se puede describir en tres pasos principales: absorción de luz de la fuente luminosa, generación de portadores de carga (huecos positivos en la banda de valencia y electrones en la banda de conducción), migración de carga hacia la superficie del semiconductor, transferencia y separación e inicio de la reacción redox en la superficie del fotocatalizador.

Hasta la fecha se han diseñado y probado cientos de fotocatalizadores diferentes y se ha logrado un progreso continuo hacia procesos más eficientes; no obstante, las mayores eficiencias logradas aún son bajas y en algunos casos hay problemas de estabilidad y de altos costos de producción. Entre el gran número de semiconductores estudiados hasta ahora, el  $\text{TiO}_2$  es el más estable para la producción de hidrógeno. Asimismo, debido a su amplia energía de banda prohibida (típicamente mayor o igual a 3 eV, es decir, 400 nm o menos), absorbe luz solo en la zona ultravioleta (representando como máximo el 5% del espectro solar). Por lo tanto, un desafío importante es extender su rango de absorción de luz a la región visible y, de este modo, aumentar la tasa de transferencia de energía, así como evitar la recombinación de los pares electrón-hueco fotogenerados. Para lograr lo anterior se han probado varias estrategias, entre las cuales se podrían mencionar la modificación superficial con nanopartículas metálicas o con óxidos metálicos, el dopado sustitucional o intersticial del semiconductor, la creación de heterouniones con otros semiconductores y la síntesis de sistemas ternarios de  $\text{TiO}_2$ .

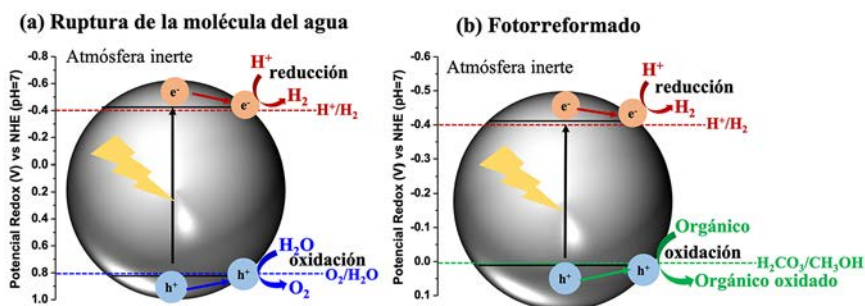
Por la amplitud de estos temas y las limitaciones de espacio, en este trabajo nos enfocaremos solamente a la modificación superficial de semiconductores (principalmente  $\text{TiO}_2$ ) con nanopartículas ya sea metálicas o de óxidos metálicos y su caracterización principalmente por técnicas fotoelectroquímicas, de utilidad para conocer el nivel de recombinación del par electrón-hueco, las posiciones de las bandas de valencia y de conducción del semiconductor y los procesos de transferencia de carga involucrados en la reacción de producción de hidrógeno.



## Producción fotocatalítica de hidrógeno y el impacto de los agentes de sacrificio

Antes de abordar los agentes de sacrificio, sus características y función en la producción de hidrógeno, se describirá la forma de obtenerlo mediante la ruptura de la molécula del agua y el uso de diversos compuestos orgánicos e inorgánicos en la solución.

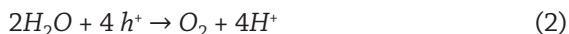
**FIGURA 1.** Procesos fotocatalíticos para: a) ruptura fotocatalítica de la molécula del agua, y, b) fotorreformado: integración fotocatalítica de la evolución de hidrógeno y la fotooxidación de un compuesto orgánico e inorgánico. Diferencias y similitudes.



Fuente: Figura adaptada de Toe *et al.* (2021).

En la figura 1, podemos observar las diferencias y similitudes de los procesos de la ruptura fotocatalítica del agua y el fotorreformado de un compuesto orgánico. En primera instancia, para llevar a cabo la ruptura fotocatalítica del agua, se requiere de un semiconductor (fotocatalizador) con una banda de conducción y de valencia con los potenciales energéticos suficientes para realizar la reducción de los  $H^+$  para generar  $H_2$  ( $E = -0.41$  V vs NHE pH = 7) y la oxidación del  $H_2O$  para generar  $O_2$  ( $E = 0.83$  V vs NHE pH = 7); en el caso de los semiconductores usados en los procesos de fotorreformado, estos deben tener una banda de valencia con un potencial energético menor con el objeto de realizar la oxidación del compuesto orgánico presente (ejemplo: oxidación del metanol  $E = 0.04$  V vs NHE pH = 7) (Schneider y Bahnemann, 2013; Melián *et al.*, 2016; Cao *et al.*, 2018; Corredor *et al.*, 2019; Toe *et al.*, 2021). Por otro lado, en ambos procesos, es importante tener un ambiente cerrado y libre del oxígeno, para evitar la formación de radicales superóxidos ( $\cdot O_2^-$ ), los cuales compiten con la reacción de reducción de  $H^+$ . En un sistema libre de oxígeno, la reacción de oxidación se puede producir por dos caminos: i) transferencia directa de huecos (ver figura 1), o formación de radicales hidroxilos ( $\cdot OH^-$ ). En este sentido, hasta este punto podemos decir que la generación de hidrógeno por medio de la ruptura fotocatalítica del agua es un proceso menos eficiente, requiere de mayor energía y está relacionado con los procesos simultáneos de reducción y oxidación del agua y llevados a cabo en varios pasos e involucrando

cuatro electrones (figura 1 y reacciones 1 y 2) (Schneider y Bahnemann, 2013; Toe *et al.*, 2021).

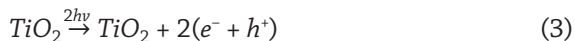


En el caso del fotorreformado, el uso de compuestos orgánicos, mejora considerablemente la generación de hidrógeno, requiere de menor energía para llevar a cabo las reacciones involucradas y además estos eliminan o secuestran los huecos fotogenerados (oxidándose el compuesto orgánico), disminuyendo la recombinación de los portadores de carga ( $e^- - h^+$ ). Es importante mencionar que la generación de  $O_2$  en el fotorreformado no se produce, lo cual suprime la reacción inversa para generar  $H_2O$ , aumentando el rendimiento en la producción de  $H_2$  (figura 1) (Schneider and Bahnemann, 2013; Toe *et al.*, 2021).

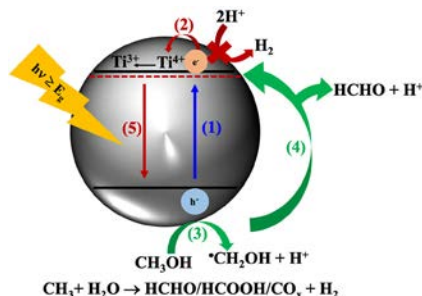
Los agentes de sacrificio utilizados en el fotorreformado pueden ser compuestos orgánicos, tales como: alcoholes (metanol, etanol, butanol, 2-propanol), ácidos (ácido fórmico, ácido acético) y aldehídos (formaldehído, acetaldehído), los cuales son usados en procesos fotocatalíticos para mejorar la producción de hidrógeno (Corredor *et al.*, 2019; Kumaravel *et al.*, 2019).

Los alcoholes son los más comunes cuando se usan óxidos semiconductores, como el dióxido de titanio ( $TiO_2$ ). Con el fin de comprender mejor los procesos que están involucrados en la generación de hidrógeno utilizando, por ejemplo, el metanol como agente de sacrificio y como fotocatalizador al  $TiO_2$ , en la figura 2 se presenta un esquema de cada uno estos procesos.

Inicialmente, al iluminar al  $TiO_2$  (fotocatalizador) con una energía igual o superior a la energía de banda prohibida ( $TiO_2$  Eg  $\sim 3.20$  eV) se generan los portadores de carga (figura 2 y reacción 3).



**FIGURA 2.** Procesos fotocatalíticos involucrados en la producción de hidrógeno en una solución con metanol: 1) generación de los portadores de carga  $e^-$  y  $h^+$ ; 2) atrapamiento de los  $e^-$  por el  $Ti^{3+}$  y formación del  $Ti^{3+}$ ; (3) primera oxidación del  $CH_3OH$  por los  $h^+$  a  $\cdot OH$ ; 4) formación del formaldehído HCHO por inyección de  $e^-$  en la banda de conducción del  $TiO_2$ ; 5) recombinación de los portadores de carga ( $e^-$  y  $h^+$ ).



Fuente: Figura adaptada de Schneider y Bahnemann (2013).

Los electrones fotogenerados en la banda de conducción del  $\text{TiO}_2$  son atrapados por el  $\text{Ti}^{4+}$  para después formarse el  $\text{Ti}^{3+}$ . Por otro lado, dos posibles caminos que pueden llevarse a cabo para la oxidación del metanol son:

- (i) Una oxidación directa por medio de los huecos fotogenerados ( $h^+$ ).
- (ii) Una oxidación indirecta vía interfacial por los radicales hidroxilos ( $\bullet\text{OH}^-$ ), estos radicales se forman por el secuestro de los huecos fotogenerados por los grupos  $-\text{OH}$  en la superficie del  $\text{TiO}_2$  o de las moléculas de agua adsorbidas.

Al estar el sistema libre de oxígeno durante la reacción (sistema cerrado y con atmósfera inerte), el formaldehído se forma mediante la inyección directa de electrones ( $e^-$ ) del radical  $\bullet\text{CH}_2\text{OH}$  a la banda de conducción del  $\text{TiO}_2$  (figura 2). Es importante destacar que, durante el fotorreformado, más del 50% del  $\text{H}_2$  se genera por la acción de los huecos fotogenerados en la oxidación del metanol, no de los electrones. Por eso, llamar a la producción de  $\text{H}_2$  “ruptura de la molécula del agua” utilizando agentes de sacrificio es incorrecto; por ende, la llamaremos producción fotocatalítica de hidrógeno (Schneider y Bahnemann, 2013; Davis *et al.*, 2021; Toe *et al.*, 2021).

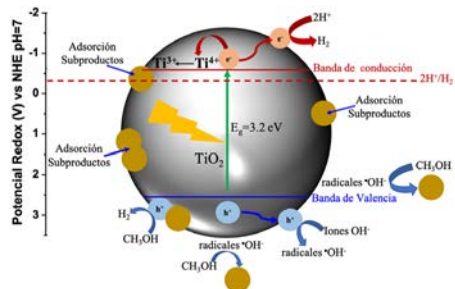
Es importante señalar que utilizar agentes de sacrificio aumenta considerablemente la producción de  $\text{H}_2$ ; sin embargo, existen efectos secundarios o indeseables durante el fotorreformado, debido a la no-selectividad en las reacciones de oxidación, esto puede impactar en la estabilidad del fotocatalizador. Algunos de estos efectos son:

- (i) La sobreoxidación de los agentes de sacrificio orgánicos generando gases de efecto invernadero como:  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  o  $\text{C}_2\text{H}_4$ .
- (ii) Producción de subproductos orgánicos durante la reacción fotocatalítica que requieren procesos de separación muy complejos.
- (iii) Generación de subproductos orgánicos peligrosos para el medio ambiente.

Por ejemplo, en el fotorreformado de metanol utilizando al  $\text{TiO}_2$  como fotocatalizador, se ha demostrado que el potencial de la banda de valencia del  $\text{TiO}_2$  genera radicales  $\bullet\text{OH}^-$  (una especie muy oxidante), lo cual permite reacciones de oxidación no-selectivas, generando subproductos durante el proceso (figura 3). Durante la reacción fotocatalítica usando el  $\text{TiO}_2$  se observa la formación de varios subproductos por la oxidación de los huecos y/o radicales generados, pudiendo estos adsorberse en el  $\text{TiO}_2$ , disminuyendo los sitios activos para reducir los protones a  $\text{H}_2$ , y, con el tiempo, disminuir el rendimiento del fotocatalizador.

Es por este motivo que, a pesar de los beneficios mencionados anteriormente, el fotorreformado tiene una pobre selectividad en la oxidación, atribuyéndose esto a:

**FIGURA 3.** Procesos fotocatalíticos involucrados en la evolución de hidrógeno en una solución con metanol. Generación de radicales  $\cdot\text{OH}^-$ , subproductos y adsorción de estos subproductos en el fotocatalizador.

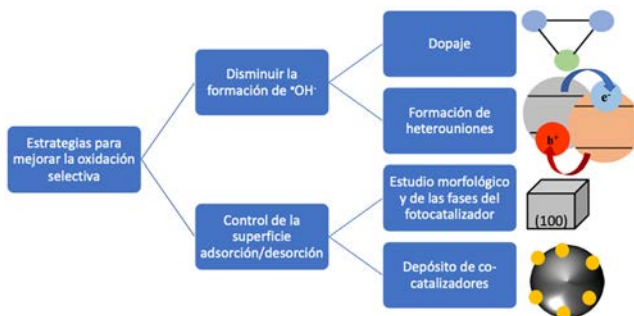


Fuente: Elaboración de los autores.

- (i) Una importante formación de especies radicales altamente oxidantes ( $\cdot\text{OH}^-$ )
- (ii) La adsorción/desorción de varios reactivos o subproductos de reacción en la superficie de los fotocatalizadores.
- (iii) Saturación de varios subproductos, lo cual puede llevar a una sobreoxidación (Schneider y Bahnemann, 2013; Kou *et al.*, 2017; Ma *et al.*, 2020; Davis *et al.*, 2021; Toe *et al.*, 2021).

Para disminuir estos efectos secundarios en el fotorreformado se necesitan plantear diferentes estrategias (figura 4).

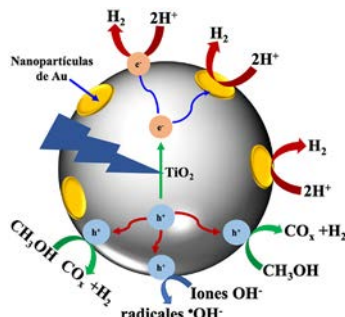
**FIGURA 4.** Estrategias para mejorar la selectividad oxidativa en el reformado y aumentar la generación de hidrógeno.



Fuente: Figura adaptada de Toe *et al.* (2021).

Todas estas estrategias tienen un impacto en los procesos involucrados durante el fotorreformado de cualquier agente de sacrificio; no obstante, en este trabajo nos centraremos en la modificación superficial con nanopartículas metálicas como co-catalizadores, tomando como ejemplo, el depósito de nanopartículas de Au sobre el  $\text{TiO}_2$ , que mejora los procesos de reducción y oxidación involucrados en la producción fotocatalítica de hidrógeno (figura 5).

**FIGURA 5.** Mecanismos de reacción durante el reformado fotocatalítico de metanol en un fotocatalizador Au/TiO<sub>2</sub>.



Fuente: Elaboración de los autores.

Los mecanismos involucrados en el fotocatalizador Au/TiO<sub>2</sub> durante la generación de hidrógeno son los siguientes:

- (i) Generación de los portadores de carga ( $e^-$  y  $h^+$ ).
- (ii) Las especies adsorbidas en el fotocatalizador reaccionan con los portadores de carga (oxidándose o reduciéndose).
- (iii) La especie HCOOH formada durante el reformado es oxidada hasta CO<sub>2</sub>.
- (iv) Una proporción del H<sup>+</sup> formado durante el reformado es reducido por los electrones ( $e^-$ ) fotogenerados o por las nanopartículas de Au que funcionan como sitios activos para la formación de H<sub>2</sub>.

Para lograr buenas eficiencias en la producción fotocatalítica de hidrógeno, la interacción fotocatalizador-agente de sacrificio es importante, lo cual puede confirmarse en la tabla 1, en donde se reporta la producción de hidrógeno utilizando como fotocatalizadores al P25 (TiO<sub>2</sub> comercial) y al P25 modificado superficialmente con 1.5% de Au, utilizando diferentes alcoholes como agentes de sacrificio.

El estudio realizado por Waterhouse *et al.* compara la evolución de hidrógeno con diferentes alcoholes con el objetivo de evaluar el efecto de la pola-

**Tabla 1.** Producción fotocatalítica de hidrógeno para TiO<sub>2</sub> comercial P25 y 1.5% en peso Au/P25, utilizando diferentes mezclas agua-alcohol, con una concentración de alcohol del 10% en volumen y una intensidad de iluminación UV de 6.5 mW cm<sup>-2</sup>.

Fotocatalizador	Metanol (mmol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Etanol (mmol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Etilenglicol (mmol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Glicerol (mmol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )
P25	1.4	1.3	1.4	1.9
Au/P25	13.5	9.8	20.9	27.9

Fuente: Chen *et al.* (2015).

ridad y el potencial de oxidación sobre la reacción (Chen *et al.*, 2015). Como podemos observar en el tabla 1, la velocidad de evolución de hidrógeno del TiO<sub>2</sub>- P25 es baja y esto puede atribuirse a los factores mencionados anteriormente: rápida velocidad de recombinación de los portadores de carga, adsorción de varios subproductos de reacción disminuyendo la eficiencia del fotocatalizador para generar H<sub>2</sub>, baja selectividad en el proceso de oxidación, alta formación de radicales •OH<sup>-</sup> (figuras 2 y 3) y pocos sitios activos para la reducción de los H<sup>+</sup>. Al depositar nanopartículas de Au al 1.5% en peso sobre el TiO<sub>2</sub>, se observa un claro incremento en la generación de H<sub>2</sub> relacionado con: disminución de la recombinación de los portadores de carga, mayor disponibilidad de los electrones para la reducción de los H<sup>+</sup> a H<sub>2</sub>, mayor movilidad de los electrones debido a la modificación superficial con nanopartículas metálicas de Au y a un aumento en la cantidad de sitios activos para la reducción (Chen *et al.*, 2015) (figura 5). De esta manera, podemos observar que la modificación superficial con nanopartículas metálicas es una estrategia altamente eficiente cuando se acopla con el agente de sacrificio adecuado.

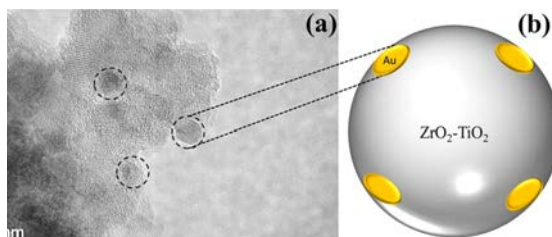
## Modificación de fotocatalizadores con nanopartículas metálicas

Con base en lo mencionado anteriormente, queda más claro que la eficiencia en conversión solar de dispositivos fotocatalíticos depende principalmente de cuatro factores: la absorción de luz, la separación de cargas, la migración de carga hasta la superficie, y la recombinación de los pares electrón-hueco (Durán-Álvarez, Zanella y Oros-Ruíz, 2014). Muchas veces, los semiconductores utilizados en procesos fotocatalíticos presentan una baja eficiencia debido a limitaciones en uno o más de estos cuatro procesos.

Uno de los principales problemas de la mayoría de los semiconductores utilizados en fotocatalisis es la rápida tasa de recombinación de los electrones y huecos fotogenerados antes de que migren a la superficie del fotocatalizador. Otra limitante son las condiciones mayoritariamente anóxicas existentes durante la producción fotocatalítica de hidrógeno. Por medio de la modificación superficial de los semiconductores con nanopartículas metálicas se logra dirigir el flujo de portadores de carga fotoinducidos por la irradiación del semiconductor con luz, evitando la recombinación de los pares electrón-hueco (Walter *et al.*, 2010), pero, además, los metales que presentan un efecto plasmónico como el oro, la plata, el cobre y, en menor medida, otros metales como el platino, pueden mejorar la eficiencia en la conversión de la energía solar debido a poder: i) extender la absorción de luz a longitudes de onda más altas; ii) aumentar la dispersión de luz, y, iii) excitar los pares electrón-hueco en el semiconductor, al transferir la energía plasmónica del metal al semiconductor (Durán-Álvarez, Zanella y Oros-Ruíz, 2014). El metal con el cual se modifica el semiconductor no forma parte de su estructura, más bien se encuentra en una fase separada, pero en contacto interfacial con el semiconductor. A manera de

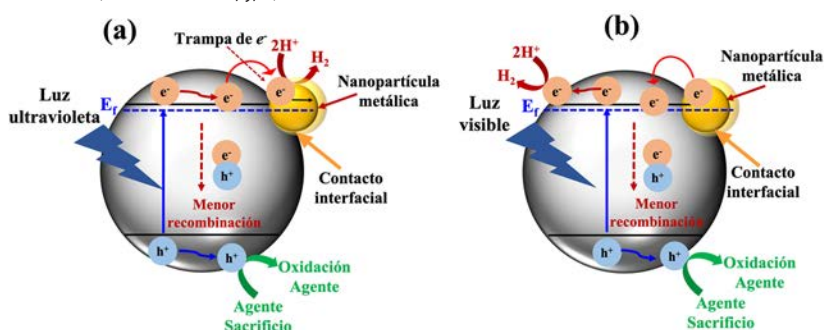
ilustración, en la figura 6 se muestra una imagen de TEM una estructura  $ZrO_2-TiO_2$  decorada con nanopartículas de oro. El comportamiento de los metales nobles que presentan efectos plasmónicos cuando son depositados en semiconductores es muy curiosa, pues si se irradian con luz ultravioleta estos metales funcionan como trampa de electrones debido a sus excelentes propiedades de almacenamiento, recibiendo los electrones excitados de la banda de conducción del semiconductor, lo cual aumenta el tiempo de vida de los pares electrón-hueco fotogenerados y, en consecuencia, mejora las actividades fotocatalíticas del compuesto (figura 7a) (Zada *et al.*, 2020). En cambio, si el sistema se irradia con luz visible, el funcionamiento del metal noble cambia en la dirección opuesta y este dona los electrones excitados plasmónicamente a la banda de conducción del semiconductor como se muestra en la figura 7(b) (Zada *et al.*, 2016 y 2020).

**FIGURA 6.** (a) Imagen de TEM estructura  $ZrO_2-TiO_2$  decorado con Au y (b) Esquema  $ZrO_2-TiO_2$  y su interacción con nanopartículas de Au.



Fuente: Elaboración de los autores.

**FIGURA 7.** Acción de nanopartículas de un metal noble acopladas a un semiconductor bajo diferente iluminación: a) luz ultravioleta, y, b) luz visible.



Fuente: Elaboración de los autores.

Para obtener materiales estables y durables, el metal utilizado debe ser inerte, especialmente hacia la fotooxidación, prefiriéndose los metales nobles y, en ese sentido, el oro es con frecuencia utilizado, al no sufrir corrosión en los procesos catalíticos, además de presentar efectos plasmónicos importantes.



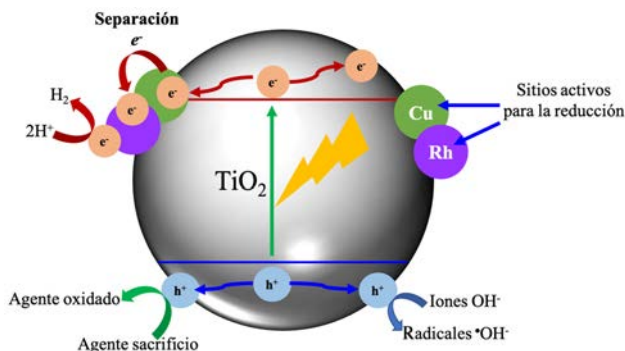
La eficiencia de los fotocatalizadores modificados superficialmente ha sido relacionada con la electronegatividad del metal o con el valor de su función de trabajo. La electronegatividad es la capacidad de un átomo en atraer electrones hacia sí, mientras que la función de trabajo es la energía requerida para transferir electrones del nivel de Fermi al vacío (Zhang, Wang y Gong, 2018). Cuanto mayor sea la diferencia de la función de trabajo del metal con respecto a la del semiconductor, mayor será la barrera de Schottky, lo cual aumentará la tasa de producción de  $H_2$  (Fajrina y Tahir, 2019). La barrera de Schottky es la barrera de potencial electrónico desarrollada por la alineación de la banda en la heterounión metal-semiconductor, que, en consecuencia, aumentará la eficiencia con respecto a los electrones fotogenerados que se transfieren y atrapan en el metal. Por lo tanto, el nivel de Fermi debe ser más bajo en energía que el de la banda de conducción del semiconductor, así los electrones pueden ser capturados por el metal, mientras que los huecos permanecen en la banda de valencia de  $TiO_2$  (Chiarello, Aguirre y Selli, 2010). Por lo tanto, la modificación superficial de semiconductores con metales puede incrementar su actividad en la reacción de ruptura de la molécula de agua, debido a la mejor separación del par electrón-hueco.

La modificación superficial de semiconductores se ha realizado tanto con partículas monometálicas como bimetálicas. En el caso de nanopartículas monometálicas se han utilizado principalmente oro, plata, cobre, platino, paladio, rodio, cobalto, níquel y rutenio, los cuales, en mayor o menor medida, han mostrado un incremento en la actividad fotocatalítica (Oros-Ruiz *et al.*, 2014; Barrios *et al.*, 2016; Ramírez-Ortega *et al.*, 2020), aunque en algunos casos la modificación superficial también ha mostrado fluctuaciones complejas en la actividad. Esto puede ser debido a que la fotoactividad de los semiconductores modificados superficialmente con metales puede verse afectada por varios factores, como el tamaño de la partículas, los defectos superficiales, la morfología de las partículas, las funciones de trabajo y las electronegatividades de los metales, las propiedades de dispersión y de absorción de la luz de los metales, la densidad de partículas en la superficie del semiconductor, la función dieléctrica del medio circundante de la nanopartícula y la presencia de otros metales (para formar partículas bimetálicas) (Zada *et al.*, 2020).

El sistema  $Au/TiO_2$  ha sido ampliamente estudiado debido a la alta producción de hidrógeno (Oros-Ruiz *et al.*, 2013; Durán-Álvarez, Zanella y Oros-Ruiz, 2014; Arzate Salgado *et al.*, 2016), otros metales que en interacción con  $TiO_2$  también han presentado altas producciones de hidrógeno son el rodio que es uno de los metales que ha mostrado las mayores actividades en la reacción (Camposeco, Hinojosa-Reyes y Zanella, 2021), el platino, el paladio y el cobre (Oros-Ruiz *et al.*, 2014; Ramírez-Ortega *et al.*, 2020), mientras que el níquel (Barrios *et al.*, 2016; Luna *et al.*, 2016) y el rutenio (Nguyen-Phan *et al.*, 2016) han presentado producciones intermedias, en tanto el cobalto y la plata normalmente presentan una menor actividad (Oros-Ruiz *et al.*, 2014; Cai y Feng, 2016).

Por otro lado, la adición de partículas bimetálicas no solo ayuda a mejorar la separación de pares electrón-hueco, sino que también puede extender la absorción de luz del fotocatalizador a la región visible y modificar las características de la resonancia del plasmón superficial, lo cual también puede afectar el desempeño del sistema en la reacción de producción de hidrógeno. Por ejemplo, analicemos el sistema bimetálico Rh-Cu depositado sobre  $\text{TiO}_2$  representado en la figura 8.

**FIGURA 8.** Procesos fotocatalíticos involucrados en la producción de hidrógeno utilizando como fotocatalizador al  $\text{TiO}_2$  modificado superficialmente con Rh-Cu.



Fuente: Elaboración de los autores.

Al iluminar el  $\text{TiO}_2$  se generan los portadores de carga, los electrones ( $e^-$ ) en la banda de conducción del  $\text{TiO}_2$  y los huecos ( $h^+$ ) en la banda de valencia. Los  $e^-$  fotogenerados en la banda de conducción pueden tomar dos caminos: i) migrar a la superficie del  $\text{TiO}_2$  para reducir los  $2\text{H}^+$  adsorbidos a  $\text{H}_2$ , y/o, ii) migrar a niveles de menor energía, como las nanopartículas bimetálicas Rh-Cu, las cuales promoverán la separación de los portadores de carga ( $e^- - h^+$ ) y además funcionarán como sitios activos catalíticos para la reducción de los  $2\text{H}^+$  a  $\text{H}_2$ . Por otro lado, los huecos fotogenerados en la banda de valencia migrarán a la superficie del fotocatalizador para realizar los procesos de oxidación: i) la oxidación del agente de sacrificio, y/o, ii) la generación de radicales  $\cdot\text{OH}$ . Como podemos observar en la figura 8, dos interacciones son cruciales para el incremento fotocatalítico en la producción de  $\text{H}_2$ , la interacción bimetálico-fotocatalizador Rh-Cu- $\text{TiO}_2$  y la interacción del Rh-Cu- $\text{TiO}_2$  con el agente de sacrificio. De tal modo, en la tabla 2 podemos observar el impacto de diferentes alcoholes como agentes de sacrificio en el sistema Rh-Cu- $\text{TiO}_2$  (Camposeco, Hinojosa-Reyes y Zanella, 2021).

Los resultados muestran que la producción de hidrógeno sigue la tendencia: metanol > etanol > 2-propanol > butanol, indicando que el metanol es el reactivo de sacrificio más eficiente, lo cual puede atribuirse a diferentes propiedades del metanol, como: polaridad, capacidad para donar electrones,

**Tabla 2.** Producción fotocatalítica de hidrógeno utilizando diferentes alcoholes como agentes de sacrificio.

Fotocatalizador	Agente de sacrificio	Fuente de iluminación	Producción de hidrógeno ( $\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}$ )
Rh-Cu/TiO <sub>2</sub>	Metanol-Agua (0.2-0.8) molar	$\lambda = 254 \text{ nm}$ $I = 2.2 \text{ mW/cm}^2$	9273
Rh-Cu/TiO <sub>2</sub>	Etanol-Agua (0.2-0.8) molar	$\lambda = 254 \text{ nm}$ $I = 2.2 \text{ mW/cm}^2$	7934
Rh-Cu/TiO <sub>2</sub>	2-Propanol-Agua (0.2-0.8) molar	$\lambda = 254 \text{ nm}$ $I = 2.2 \text{ mW/cm}^2$	5933
Rh-Cu/TiO <sub>2</sub>	Butanol-Agua (0.2-0.8) molar	$\lambda = 254 \text{ nm}$ $I = 2.2 \text{ mW/cm}^2$	2933

Fuente: Elaborada con datos presentados por Camposeco, Hinojosa-Reyes y Zanella (2021).

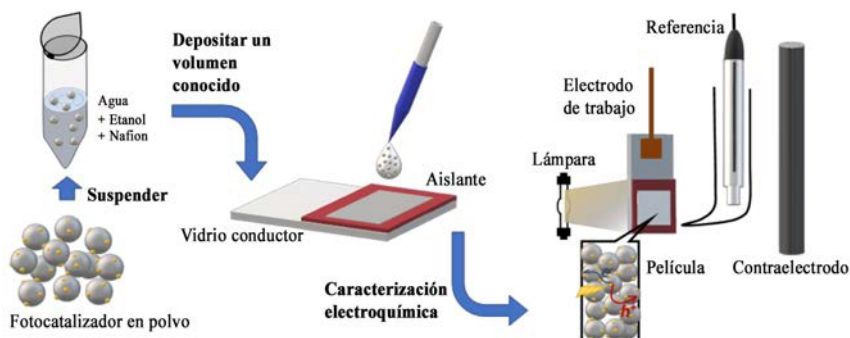
capacidad de adsorción en la superficie del fotocatalizador, la formación de subproductos durante la reacción y la selectividad para reaccionar con los huecos fotogenerados durante la reacción. Estos resultados indican que el metanol interactúa de manera más eficiente con el sistema Rh-Cu-TiO<sub>2</sub>. En el caso de los demás alcoholes, el aumento en la elongación y complejidad de la cadena puede generar un impedimento estérico, pudiendo ocasionar una baja capacidad de adsorción en el fotocatalizador, menor selectividad para reaccionar con los huecos fotogenerados, y ocasionando una menor generación de hidrógeno (Lin *et al.*, 2009; Camposeco, Hinojosa-Reyes y Zanella, 2021). Adicionalmente, en este mismo trabajo se evaluó la estabilidad del fotocatalizador y del metanol durante cuatro ciclos de reacción, observándose durante los tres primeros ciclos velocidades de producción de hidrógeno similares: 9272, 9060 y 9300  $\text{mmol h}^{-1} \text{g}^{-1}$ , mientras que en el cuarto ciclo la velocidad disminuyó ligeramente a 8600  $\text{mmol h}^{-1} \text{g}^{-1}$ , demostrando que el fotocatalizador Rh-Cu-TiO<sub>2</sub> es muy estable en la reacción.

Con los resultados antes mencionados, es más evidente la interacción fotocatalizador-agente de sacrificio y el impacto en la modificación superficial con nanopartículas metálicas y bimetálicas en la producción fotocatalítica de hidrógeno; asimismo, al realizar estas modificaciones, ¿cómo podemos conocer los procesos de transferencia de carga entre el fotocatalizador y las nanopartículas metálicas o bimetálicas?, ¿disminuye realmente la velocidad de recombinación de los portadores de carga con la modificación superficial?, ¿cuál es el impacto del agente de sacrificio en los procesos de transferencia de carga? Para poder conocer las respuestas a tales preguntas, es necesario realizar una caracterización electroquímica y fotoelectroquímica de los materiales fotocatalizadores en presencia de la irradiación y de la solución utilizada en la reacción fotocatalítica de hidrógeno.

## Estudio de la transferencia de carga y las propiedades del fotocatalizador mediante técnicas electroquímicas

La fotocátalisis heterogénea es un proceso que involucra un electrolito, en el cual se encuentran las especies a transformar y un semiconductor, que absorbe los fotones para generar las especies  $e^-$  y  $h^+$  responsables de las reacciones de transferencia de carga. La superficie del fotocatalizador actúa simultáneamente como ánodo y cátodo, y la luz como la fuente de energía necesaria para que las reacciones de oxidación y reducción se lleven a cabo en la superficie del material. Es por esta razón que podemos emplear técnicas electroquímicas para estudiar los procesos de transferencia de carga que se presentan durante la producción fotocatalítica de hidrógeno. Cuando se realizan de forma adecuada, las técnicas electroquímicas permiten obtener información en condiciones simuladas en las cuales se lleva a cabo el proceso fotocatalítico, representando esto una ventaja sobre las técnicas de caracterización tradicionales en fotocátalisis. Estas técnicas se utilizan para comprender los procesos ocurridos en el fotocatalizador bajo iluminación o comparar el desempeño de los materiales, y para emplearlas es necesario soportar el fotocatalizador sobre un sustrato conductor, lo cual, junto con otros procesos no presentes en la fotocátalisis en suspensión pueden tomar relevancia en el comportamiento de los electrodos, como lo es el transporte de carga entre las partículas del semiconductor (figura 9). Por ejemplo, es común diseñar el fotocatalizador como una pequeña celda electroquímica, donde se modifica el material capaz de absorber la luz con co-catalizadores favoreciendo el proceso de transferencia de carga. Estos co-catalizadores ayudan, además, a la separación de los portadores de carga, por lo que podrían entorpecer el transporte de los portadores a través de la película. Por esta razón, es trascendental diseñar una estrategia de caracterización electroquímica del fotocatalizador y comprender la información que se puede obtener de cada una de las técnicas electroquímicas.

**FIGURA 9.** Esquema de una celda electroquímica convencional de tres electrodos, utilizando como electrodo de trabajo un semiconductor fotocatalítico.



Fuente: Elaboración de los autores.

Con la finalidad de mantener condiciones similares a las empleadas durante la evaluación fotocatalítica, además de controlar las condiciones de reacción como pH, presencia de gases o de agentes de sacrificio, también debe controlarse la iluminación, haciendo más difícil la comparación de la respuesta electroquímica reportada por cada grupo de investigación y establecer protocolos que puedan ser ampliamente utilizados.

Para formar los electrodos, se debe seleccionar el sustrato adecuado. Se han utilizado varios materiales como Ti, Au, Pt, acero inoxidable, entre otros. Sin embargo, el FTO (óxido de estaño dopado con flúor) y el ITO (óxido de estaño dopado con indio) son más comunes debido a su transparencia y capacidad para permitir la iluminación del electrodo desde ambos lados. Es importante tener en cuenta que, en comparación con los sustratos metálicos, los vidrios conductores tienen mayor resistencia, por lo cual se recomienda la fabricación de electrodos de baja área. El método de depósito del material particulado debe preservar las propiedades del fotocatalizador. Una estrategia que puede ser fácilmente implementada en cualquier laboratorio es similar a la utilizada para la caracterización de electrocatalizadores en polvo (Kocha *et al.*, 2017), como se esquematiza en la figura 9, consistente en preparar una suspensión del fotocatalizador en una mezcla etanol/agua con la adición de Nafion, el cual mantiene las partículas del fotocatalizador soportadas sobre el sustrato conductor. Hay varios tipos de electrodos de referencia comerciales, siendo el de Ag/AgCl el más común. No obstante, para electrolitos alcalinos, se requiere un electrodo de Hg/HgO (Gouda *et al.*, 2021). El contraelectrodo debe ser inerte y tener un área igual o mayor que el electrodo de trabajo para evitar limitaciones en la respuesta electroquímica.

A continuación, se describe la información obtenida de técnicas electroquímicas para caracterizar fotocatalizadores (Bedoya-Lora, Holmes-Gentle y Hankin, 2021). En estas mediciones, es crucial comprender la distribución de carga en la interfaz semiconductor/electrolito (Beranek, 2011). Al poner en contacto las dos fases, el nivel de Fermi del semiconductor se ajusta al del electrolito, pues esta última fase cuenta con un número mayor de estados disponibles. Esto causa una transferencia de portadores de carga del fotocatalizador al electrolito, generando un doblamiento de bandas en la interfaz, hacia arriba para semiconductores tipo n y hacia abajo para tipo p, creando la zona de espacio-carga. En el electrolito, se forma la doble capa eléctrica, compuesta por el plano interno de Helmholtz, donde se encuentran los iones y las moléculas solventes, el plano externo de Helmholtz, donde están los iones con carga opuesta al sólido, y la capa difusa, con exceso de aniones o cationes opuestos a la superficie del semiconductor. La distribución de carga en ambos lados de la interfaz puede visualizarse como dos capacitores en serie debido a la acumulación de carga en un volumen específico.

### Mediciones a circuito abierto

Como se describió anteriormente, al poner en contacto el fotocatalizador

(electrodo de trabajo) en la solución, los niveles de Fermi se igualarán, con el tiempo, generando un doblamiento de las bandas de conducción y de valencia (figura 10a). Cuando se ilumina el electrodo elaborado con el fotocatalizador se generan pares electrón-hueco dentro del material, si no se impone una diferencia de potencial para promover el transporte de los portadores de carga, entonces hay acumulación de los portadores mayoritarios de carga dentro del semiconductor, causando un desplazamiento del potencial del electrodo en sentido contrario al doblamiento de las bandas. Este valor de potencial registrado bajo iluminación está determinado por la posición de los estados en que se están acumulando los portadores de carga. Lo más interesante ocurre una vez que se deja de iluminar el electrodo, pues brinda información sobre los estados energéticos en los cuales pueden quedar atrapados los portadores de carga, y el tiempo necesario para su liberación y posterior recombinación. Así, un fotocatalizador sin muchos estados trampa presenta una rápida recuperación del valor de potencial en la oscuridad, mientras uno muy defectuoso tendrá una recuperación considerablemente más lenta. Este proceso también permite estudiar la interacción del fotocatalizador con los co-catalizadores especialmente diseñados para separar los portadores de carga y transferirlos a especies en solución (Acevedo-Peña *et al.*, 2011; Hernández-Gordillo *et al.*, 2018).

### *Determinación de fotocorriente*

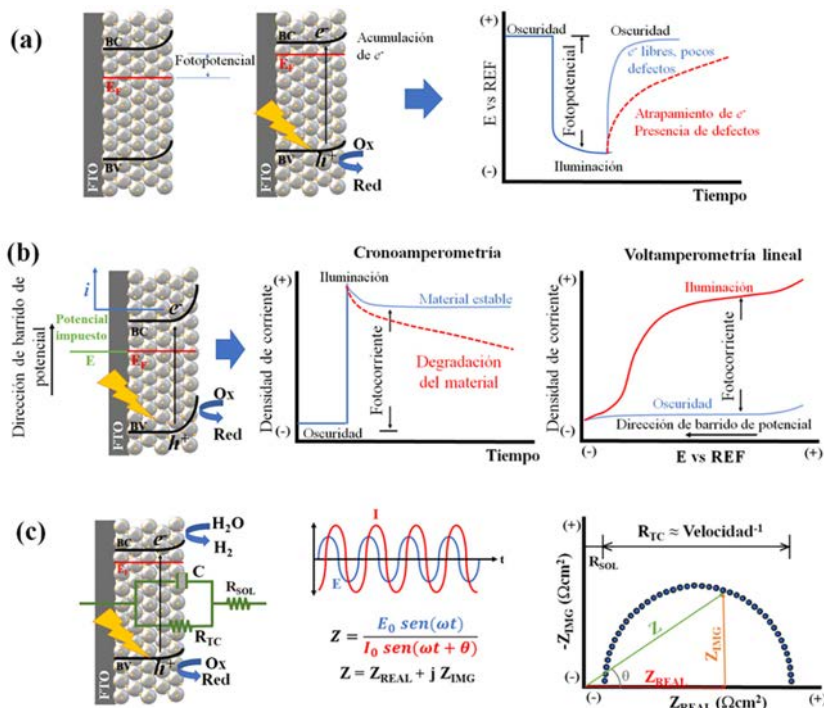
Una de las pruebas más comúnmente empleadas para demostrar el mejor aprovechamiento de la iluminación por parte del fotocatalizador es el registro de la fotocorriente (figura 10b). Como ya se mencionó, la iluminación de los electrodos lleva a la generación de los pares  $e^- - h^+$  dentro del semiconductor. Al imponer una diferencia de potencial se incrementa el doblamiento de las bandas induciendo un campo eléctrico dentro de la película y promoviendo el transporte de los portadores de carga mayoritarios hacia el sustrato conductor, disminuyendo la recombinación y dejando a los portadores minoritarios en la superficie para favorecer su transferencia a una especie en la solución. De esta forma, se obtiene una respuesta de fotocorriente en función del tiempo. A esta aproximación se le conoce como cronoamperometría. Es importante realizar la medición en ausencia de aceptores de electrones, como el oxígeno, cuando se registren fotocorrientes de oxidación (caracterización de semiconductores tipo n), o de donadores de electrones, cuando se registren corrientes de reducción (caracterización de semiconductores tipo p). Esta medición se puede llevar a cabo en periodos de tiempo largos, y/o interrumpiendo la iluminación, para evaluar la estabilidad de la fotocorriente generada, y así identificar procesos de degradación del material. Es fundamental reportar el valor de potencial impuesto para la determinación de la fotocorriente, así como también se recomienda asegurarse de que no se registren corrientes importantes en la oscuridad bajo esta condición.

Adicionalmente, se puede variar el potencial impuesto durante la medición con el tiempo, lo cual se conoce como voltamperometría de barrido lineal.

Es de esta forma como se altera gradualmente el doblamiento de bandas dentro del semiconductor, ocasionando que se registre una variación de la fotocorriente con el potencial. Entre más alejado se encuentre el potencial impuesto de la banda de conducción (tipo n) o de valencia (tipo p) del semiconductor, mayor será el doblamiento de bandas, y, por lo tanto, la corriente registrada se incrementará. Alcanzándose un máximo de fotocorriente cuando se equilibren los procesos de generación de portadores (por la absorción de la luz), la recombinación y el transporte de los portadores de carga.

Aunque esta técnica es ampliamente reportada para comparar los fotocatalizadores, así como para evaluar el impacto de las modificaciones, es muy importante que los lectores tengan en mente que la respuesta de fotocorriente medida, imponiendo una diferencia de potencial constante o variable, involucra procesos adicionales al proceso fotocatalítico, como lo es el transporte de los portadores de carga mayoritarios a través de las partículas soportadas hacia el sustrato colector. Este fenómeno puede verse entorpecido si se emplean estrategias que generen trampas dentro del fotocatalizador, lo cual no necesariamente reflejaría un menor desempeño fotocatalítico.

**FIGURA 10.** Perturbación y respuesta durante la caracterización fotoelectroquímica convencional de fotocatalizadores tipo n: a) potencial de circuito abierto; b) determinación de fotocorriente, y, c) espectroscopía de impedancia electroquímica.



Fuente: Elaboración de los autores.

### *Espectroscopía de impedancia electroquímica*

La espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS, por sus siglas en inglés) es la técnica electroquímica realizada bajo las condiciones más cercanas en las cuales se lleva a cabo el proceso fotocatalítico en suspensión, permitiendo estimar de forma indirecta la velocidad inicial de la reacción global si se mide bajo condiciones de circuito abierto. Por esta razón, se recomienda realizar las mediciones de EIS en presencia de los gases y agentes de sacrificio empleados durante la producción fotocatalítica de hidrógeno. Antes de realizar la medición, es importante tener en mente que la EIS se debe llevar a cabo bajo condiciones estacionarias, es decir, cuando se estabiliza el potencial del electrodo bajo iluminación, para que la respuesta registrada esté completamente relacionada con la perturbación empleada para la medición.

Durante esta medición se impone, convencionalmente, una pequeña perturbación sinusoidal del potencial a diferentes frecuencias, obteniéndose como respuesta una señal sinusoidal de corriente (figura 10c). Esta corriente registrada contiene información sobre los procesos identificados según la frecuencia con la cual se realizó la perturbación. La información obtenida normalmente se reporta como valores de impedancia, siendo esto una generalización de la resistencia para cada una de las frecuencias empleadas durante la medición. La impedancia se puede ver como un vector que contiene una contribución que refiere a las resistencias involucradas en el transporte y transferencia de carga, impedancia real, y otra contribución, impedancia imaginaria, que refiere a los procesos cuya respuesta (corriente) depende del tiempo, como en un capacitor. La representación más comúnmente reportada durante la caracterización de fotocatalizadores son los diagramas de Nyquist, donde se grafica la impedancia imaginaria *versus* la impedancia real. Cuando ocurren reacciones redox en la interfase, los diagramas de Nyquist muestran la formación de un círculo, cuyo diámetro se relaciona con la resistencia a la transferencia de carga, la cual es inversamente proporcional a la corriente (velocidad) con la que ocurren las reacciones de oxidación y reducción sobre el electrodo. Es importante recordar a los lectores, que, para poder identificar claramente la formación del semicírculo, los ejes del diagrama de Nyquist deben ser ortonormales.

### *Otras caracterizaciones en la oscuridad*

La modificación efectiva de un fotocatalizador con un co-catalizador para favorecer el proceso de transferencia de carga se puede verificar fácilmente mediante la determinación de la diferencia de potencial necesaria para llevar a cabo el proceso en la oscuridad, pues el co-catalizador tiene como objetivo incrementar la velocidad del proceso (corriente) y disminuir la energía (potencial) necesaria para que este se lleve a cabo. Para esto, basta con realizar un voltamperograma de barrido lineal, en el cual el co-catalizador cause un incremento de la corriente, así como un desplazamiento de la respuesta hacia menores valores de potencial (en escala absoluta). Esta medición, aunque poco



reportada en la caracterización de fotocatalizadores, puede contribuir a confirmar el efecto del co-catalizador con que se modifican los fotocatalizadores para promover la reacción de producción de hidrógeno mediante la reducción del agua (Guerrero-Araque *et al.*, 2017).

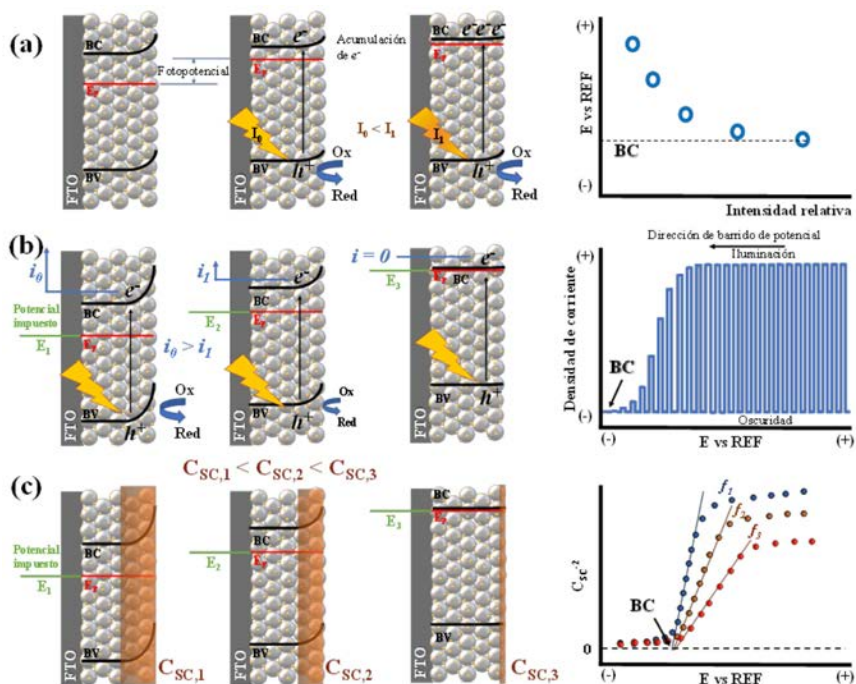
### *Esquematación del diagrama de bandas*

Mediante técnicas electroquímicas es posible esquematizar de una forma semicuantitativa el diagrama de banda del fotocatalizador, en combinación con la caracterización óptica del mismo. Aunque existen otras aproximaciones para estimar la energía de la banda de conducción y de valencia, estas no contemplan parámetros relevantes como lo son: la solución en que se lleva a cabo el proceso, y/o la presencia de las especies que se adicionan como agentes de sacrificio para facilitar los procesos de transferencia de carga. En la literatura especializada existen varios reportes en donde se comparan las distintas aproximaciones electroquímicas que han sido empleadas y se discute la viabilidad de cada una de estas (Beranek, 2011; Hankin *et al.*, 2019; Gouda *et al.*, 2021). En general, se recomienda utilizar por lo menos dos aproximaciones para confirmar la medición, siendo importante señalar que la mayoría de los fotocatalizadores actualmente sintetizados para la producción de hidrógeno son nanoestructurados y presentan altos niveles de dopaje, lo cual ocasiona que el nivel de Fermi del semiconductor esté muy cerca de la banda de conducción (semiconductores tipo n) o de valencia (semiconductores tipo p). Por esta razón, aunque la mayoría de las técnicas representa una aproximación al nivel de Fermi del semiconductor, en el texto se le tratará directamente como posición de la banda.

Líneas arriba se discutió que cuando el electrodo semiconductor es iluminado, se obtiene como respuesta una acumulación de los portadores de carga mayoritarios ocasionando un desplazamiento del potencial del electrodo hacia la banda de conducción o de valencia dependiendo de si el semiconductor es de tipo n o de tipo p, respectivamente. Electroquímicamente, nos valemos de esta propiedad de los semiconductores para estimar la posición de alguna de estas dos bandas. Con el incremento de la intensidad de la luz con que se irradia el semiconductor, se ocasionará un desplazamiento del potencial del electrodo cada vez más cercano a la banda de conducción de semiconductor, a tal punto que, cuando se grafica el potencial de circuito abierto medido en función de la intensidad de la iluminación, se irá acercando cada vez más al valor del potencial de la banda de conducción del fotocatalizador, como se muestra en la figura 11a. Para evitar que los portadores de carga mayoritarios sean transferidos a especies en solución, y tengan un impacto en la determinación, es imperativo eliminar completamente la presencia del oxígeno o agentes de sacrificio durante esta medición.

Otra aproximación radica en determinar el potencial en que no se genera fotocorriente, o hay inversión en el signo de la fotocorriente, mediante un voltamperograma de barrido lineal medido bajo luz intermitente y a una baja

**FIGURA 11.** Estrategias (foto)electroquímicas para la determinación de la posición de la banda de conducción de un semiconductor tipo n: a) OCP bajo iluminación a diferentes intensidades; b) voltamperometría de barrido lineal con iluminación interrumpida, y, c) curvas de Mott-Schottky.



Fuente: Elaboración de los autores.

velocidad de barrido de potencial (figura 11b). La sensibilidad de esta aproximación depende de la frecuencia de los ciclos de encendido-apagado durante la medición. Como se describió líneas arriba, durante la determinación de la fotocorriente, el potencial impuesto crea un campo eléctrico (doblamiento de bandas) favoreciendo el transporte de los portadores de carga mayoritarios hacia el sustrato conductor. A medida que este potencial se acerca hacia la banda de conducción, para un semiconductor tipo n, el gradiente de potencial se empieza a hacer cada vez menor, disminuyendo así la fotocorriente generada. Se espera que la fotocorriente llegue a cero, o se invierta, una vez que el potencial impuesto alcance el valor del potencial de la banda de conducción. Análogamente, se puede determinar la posición de la banda de valencia de un semiconductor tipo p al hacer el barrido en dirección opuesta, es decir, hacia potenciales mayores.

La aproximación más empleada en la literatura para estimación de la banda de conducción o de valencia de fotocatalizadores tipo n o p, respectivamente, es la medición de la variación de la capacitancia de la película con el potencial para obtener las gráficas de Mott-Schottky. Esta medición se debe rea-

lizar en la oscuridad para garantizar que la modificación de la zona de espacio carga está completamente ligada a la variación de potencial del electrodo, y en ausencia de especies redox-activas en la solución que fijen los niveles energéticos del semiconductor. A medida que desplazamos el potencial en dirección al doblamiento de banda, se hace más estrecha la zona de espacio carga, ocasionando que la capacitancia se incremente debido a la acumulación de cargas en un menor volumen. Así, si medimos la variación de la capacitancia con el potencial, y graficamos el inverso del cuadrado de la capacitancia *versus* el potencial, podemos encontrar el valor de potencial de la banda de conducción del semiconductor. Asimismo, varios autores han llamado la atención sobre la gran distribución de datos obtenidos mediante esta metodología, principalmente derivados de la aproximación empleada para la determinación de la capacitancia, particularmente cuando se hace a una frecuencia fija; y de despreciar la contribución de la capacitancia de la doble capa eléctrica, así como de asumirla constante en el intervalo de potencial de medición (Hankin *et al.*, 2019). Para minimizar la distribución de los valores obtenidos mediante esta aproximación se recomienda hacer un estudio a diferentes frecuencias, y verificar que en el intervalo de frecuencia empleado para realizar la medición se tiene la respuesta del semiconductor que se está caracterizando.

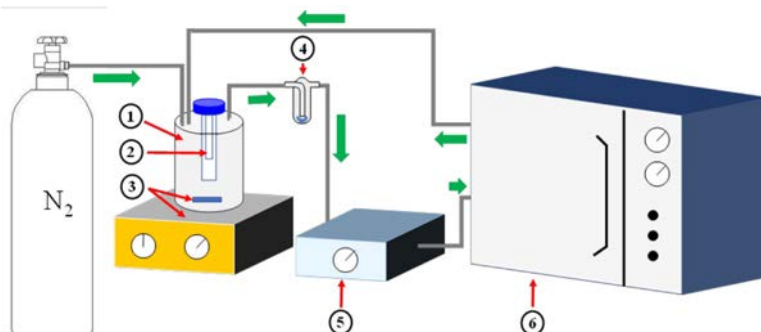
## Determinación y cuantificación del hidrógeno durante la reacción fotocatalítica

### Montaje experimental a escala de laboratorio

Para poder determinar el hidrógeno gaseoso durante la reacción fotocatalítica y hacer una cuantificación lo más precisa en función del tiempo de reacción, el sistema debe tener ciertas características. Las características de un sistema de reacción para la producción fotocatalítica de hidrógeno a escala de laboratorio se detallan en la figura 12. Es necesario mencionar que al cuantificar un gas se requiere de un sistema cerrado, y aunque el hidrógeno producido podría monitorearse con un sensor de hidrógeno, aquí se detallará un sistema acoplado a un cromatógrafo de gases.

- 1 Reactor cilíndrico de vidrio de volumen variable, equipado con 2 entradas, 1 salida y un portalámparas: una entrada que permite el burbujeo de nitrógeno para desplazar el oxígeno presente en el sistema; una entrada y una salida que permite el flujo de gas desde el reactor hacia el cromatógrafo de gases y *viceversa*, respectivamente, todo con el fin de que con acción de la bomba peristáltica exista una recirculación del gas en todo el sistema. Adicionalmente, el portalámparas o tubo de cuarzo está ubicado en la parte central del reactor para garantizar una irradiación homogénea a toda la suspensión.
- 2 Lámpara UV o visible: permite la irradiación del semiconductor. Nota: si la potencia de la lámpara es elevada el sistema requerirá un

FIGURA 12. Sistema para la producción de hidrógeno a escala de laboratorio.



Fuente: Elaboración de los autores.

baño termostático que permita mantener controlada la temperatura de reacción.

- 3 Agitador magnético y parrilla de agitación: mantiene el semiconductor en suspensión.
- 4 Trampa de humedad: contiene un adsorbente poroso, inerte y no tóxico que retira la humedad del flujo de gas hacia el cromatógrafo de gases.
- 5 Bomba peristáltica: recircula el gas dentro del sistema.
- 6 Cromatógrafo de gases: detecta y cuantifica el hidrógeno producido.

#### • Curva de calibración

Para cuantificar el hidrógeno producido por los fotocatalizadores evaluados en el laboratorio es necesario hacer previamente una curva de calibración. La metodología que se propone para el análisis en cromatografía de gases es inyectar presiones conocidas de gas de hidrógeno ( $P$ ) y determinar el número de moles de hidrógeno ( $n$ ) asociado con cada presión empleando la ecuación de los gases ideales (ecuación 1):

$$PV_d = nRT \quad (1)$$

En donde  $R$  es la constante universal de los gases,  $V_d$  es el volumen desocupado, determinado por el espacio libre de la tubería del sistema y la fracción libre del reactor (excluyendo el volumen ocupado por la mezcla de reacción o suspensión),  $T$  es la temperatura del sistema y  $P$  es la presión de hidrógeno que se inyecta o suministra al sistema. Durante la curva de calibración, con cada inyección de presión de hidrógeno conocida, aparecerá un pico cromatográfico asociado con el gas de hidrógeno, con un área bajo la curva específica, de esta manera al tener un intervalo de presiones conocidas de hidrógeno podemos asociar estas presiones a ciertas áreas bajo la curva y con la ecuación de los gases ideales asociar estas áreas al número de moles

del hidrógeno para tener una cuantificación de este gas durante la reacción fotocatalítica.

### *Evaluación de la producción fotocatalítica de hidrógeno*

La actividad de un semiconductor puede establecerse mediante la tasa de producción de hidrógeno en el tiempo ( $\mu\text{mol h}^{-1}$ ), siendo dependiente de parámetros como tipo de reactor, tipo de irradiación, temperatura de reacción, uso de agentes de sacrificio y donadores de electrones. Para establecer qué tan activo es dicho material, la cantidad de hidrógeno producido es comparada con otros semiconductores previamente reportados en la literatura. No obstante, para que dicha comparación sea válida, se requiere que las condiciones experimentales sean similares. Adicionalmente, para comparar la actividad de los semiconductores en la producción fotocatalítica de hidrógeno es aceptado el cálculo de su eficiencia cuántica, y, para ello, se emplean métodos de actinometría química o de un radiómetro calibrado. La actinometría química se basa en la medición de la luz incidente a través de una reacción fotoquímica, en la cual la cantidad de moléculas de producto formado está bien establecida, uno de los actinómetros químicos empleados es el par ioduro-iodato (Guerrero-Araque *et al.*, 2017). El radiómetro es un equipo que transforma la energía incidente en una medida de voltaje o corriente. En términos generales, el rendimiento cuántico (Q) puede establecerse mediante la ecuación (2):

$$Q = \frac{2x \text{ número de moléculas de H}_2 \text{ producidas}}{\text{número de fotones incidentes}} \times 100 \quad (2)$$

## Perspectivas

La fotocatálisis es un método fotoquímico que permite la obtención de hidrógeno mediante la ruptura de la molécula del agua o el reformado de compuestos orgánicos e inorgánicos, utilizando un semiconductor como fotocatalizador. Sin embargo, para desarrollar fotocatalizadores más efectivos, es crucial seleccionar adecuadamente el agente de sacrificio y establecer la relación óptima de concentraciones con respecto al agua. Además, para aumentar la producción de hidrógeno, es necesario comprender todas las variables involucradas en el proceso, como las propiedades semiconductoras del fotocatalizador, los niveles energéticos, los procesos de transferencia de carga en la interfaz fotocatalizador/co-catalizador y la interfaz fotocatalizador/electrolito, así como la absorción de la luz utilizada.

Se puede afirmar que, a pesar del enorme esfuerzo de investigación durante las últimas tres décadas en torno al tema, la actividad o estabilidad de todos los fotocatalizadores reportados para la producción fotocatalítica de hidrógeno es, hasta la fecha, demasiado baja para justificar su aplicación industrial. Las velocidades de producción de  $\text{H}_2$  se deben aumentar en varios órdenes de magnitud utilizando nuevos fotocatalizadores o agentes de sacrificio

renovables. Para lograr velocidades de producción de  $H_2$  mucho más altas que las reportadas hasta ahora, y utilizando luz solar directa, se requiere más trabajo de investigación y desarrollo, por lo cual es necesario realizar, en conjunto con la fotocatalisis, estudios electroquímicos y fotoelectroquímicos profundos del fotocatalizador y de las reacciones involucradas con el electrodo. Por otro lado, las síntesis de nuevos materiales acoplados con diferentes co-catalizadores metálicos y bimetálicos es de suma importancia para obtener una mayor producción de hidrógeno, preferentemente sin el uso de agentes de sacrificio, con el objetivo de hacer el proceso más amigable con el medio ambiente.

## Referencias

- Acevedo-Peña, P. *et al.* (2011). Generación de estados superficiales durante la formación electroforética catódica de películas de  $TiO_2$  sobre ito. *Química Nova*, 34(3): 390-396. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422011000300005>.
- Armaroli, N. y Balzani, V. (2011). The hydrogen issue. *Chem Sus Chem*, 4(1): 21-36. <https://doi.org/10.1002/cssc.201000182>.
- Arzate Salgado, S. Y. *et al.* (2016). Photocatalytic hydrogen production in a solar pilot plant using a  $Au/TiO_2$  photo catalyst. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(28): 11933-11940. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.05.039>.
- Barrios, C. E. *et al.* (2016). Photocatalytic hydrogen production over titania modified by gold – metal (palladium, nickel and cobalt) catalysts. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(48): 23287-23300. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.09.206>.
- Bedoya-Lora, F. E., Holmes-Gentle, I. y Hankin, A. (2021). Electrochemical techniques for photoelectrode characterisation. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 29: 100463. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2021.100463>.
- Beranek, R. (2011). (Photo)electrochemical methods for the determination of the band edge positions of  $TiO_2$ -based nanomaterials. *Advances in Physical Chemistry*, 2011(Iv): 80-83. <https://doi.org/10.1155/2011/786759>.
- Cai, Y. y Feng, Y. P. (2016). Review on charge transfer and chemical activity of  $TiO_2$ : mechanism and applications. *Progress in Surface Science*, 91(4): 183-202. <https://doi.org/10.1016/j.progsurf.2016.11.001>.
- Camposeco, R., Hinojosa-Reyes, M. y Zanella, R. (2021). Highly efficient photocatalytic hydrogen evolution by using Rh as co-catalyst in the  $Cu/TiO_2$  system. *International Journal of Hydrogen Energy*. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.01.216>.
- Cao, S. *et al.* (2018). Effect of sacrificial agents on the dispersion of metal cocatalysts for photocatalytic hydrogen evolution. *Applied Surface Science*, 442: 361-367. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.02.105>.
- Chen, W. T. *et al.* (2015). Effect of  $TiO_2$  polymorph and alcohol sacrificial agent on the activity of  $Au/TiO_2$  photocatalysts for  $H_2$  production in alcohol-water mixtures. *Journal of Catalysis*, 329\_ 499-513. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2015.06.014>.

- Chen, X. *et al.* (2012). Nanomaterials for renewable energy production and storage. *Chemical Society Reviews*, 41(23): 7909-7937. <https://doi.org/10.1039/c2cs35230c>.
- Chiarello, G. L., Aguirre, M. H. y Selli, E. (2010). Hydrogen production by photocatalytic steam reforming of methanol on noble metal-modified TiO<sub>2</sub>. *Journal of Catalysis*, 273(2): 182-190. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2010.05.012>.
- Corredor, J. *et al.* (2019). Comprehensive review and future perspectives on the photocatalytic hydrogen production. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 94(10): 3049-3063. <https://doi.org/10.1002/jctb.6123>.
- Davis, K. A. *et al.* (2021). Photocatalytic hydrogen evolution from biomass conversion. *Nano Convergence*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40580-021-00256-9>.
- Davis, S. J., Caldeira, K. y Matthews, H. D. (2010). Future CO<sub>2</sub> emissions and climate change from existing energy infrastructure. *Science*, 329: 1330-1333. <https://doi.org/10.4324/9781315642352-9>.
- Durán-Álvarez, J. C., Zanella, R. y Oros-Ruíz, S. (2014). Superficial modification of semiconductors with gold nanoparticles for photocatalytic applications. *RSC Catalysis Series*, (18): 155-228, enero. <https://doi.org/10.1039/9781782621645-00155>.
- Fajrina, N. y Tahir, M. (2019). A critical review in strategies to improve photocatalytic water splitting towards hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(2): 540-577. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.10.200>.
- Gouda, A. *et al.* (2021). Best practices in photoelectrochemistry. *Journal of Power Sources*, 482: 228958, septiembre. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2020.228958>.
- Grewe, T., Meggouh, M. y Tüysüz, H. (2016). Nanocatalysts for solar water splitting and a perspective on hydrogen economy. *Chemistry – An Asian Journal*, 11(1): 22-42. <https://doi.org/10.1002/asia.201500723>.
- Guerrero-Araque, D. *et al.* (2017). Charge transfer processes involved in photocatalytic hydrogen production over CuO/ZrO<sub>2</sub>-TiO<sub>2</sub> materials. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(15). <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.03.050>.
- Hankin, A. *et al.* (2019). Flat band potential determination: avoiding the pitfalls. *Journal of Materials Chemistry A*, 7(45): 26162-26176. <https://doi.org/10.1039/c9ta09569a>.
- Hernández-Gordillo, A. *et al.* (2018). Photoreduction of 4-Nitrophenol in the presence of carboxylic acid using CdS nanofibers. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29(9). <https://doi.org/10.1007/s10854-018-8724-x>.
- Holladay, J. D. *et al.* (2009). An overview of hydrogen production technologies. *Catalysis Today*, 139(4): 244-260. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2008.08.039>.
- Hou, W. y Cronin, S. B. (2013). A review of surface plasmon resonance-enhanced photocatalysis. *Advanced Functional Materials*, 23(13): 1612-1619. <https://doi.org/10.1002/adfm.201202148>.
- Kocha, S. S. *et al.* (2017). Best practices and testing protocols for benchmarking ORR activities of fuel cell electrocatalysts using rotating disk electrode. *Electrocatalysis*, 8(4): 366-374. <https://doi.org/10.1007/s12678-017-0378-6>.
- Kou, J. *et al.* (2017). Selectivity enhancement in heterogeneous photocatalytic transformations. *Chemical Reviews*, 117(3): 1445-1514. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00396>.

- Kudo, A. y Miseki, Y. (2009). Heterogeneous photocatalyst materials for water splitting. *Chemical Society Reviews*, 38(1): 253-278. <https://doi.org/10.1039/b800489g>.
- Kumaravel, V. et al. (2019). Photocatalytic hydrogen production: role of sacrificial reagents on the activity of oxide, carbon, and sulfide catalysts. *Catalysts*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/catal9030276>.
- Lewis, N. S. y Nocera, D. G. (2006). Powering the planet: chemical challenges in solar energy utilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(43): 15729-15735. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603395103>.
- Lin, W. C. et al. (2009). Hydrogen production from methanol/water photocatalytic decomposition using pt/tio<sub>2</sub>-xnx catalyst. *Energy and Fuels*, 23(4): 2192-2196. <https://doi.org/10.1021/ef801091p>.
- Luna, A. L. et al. (2016). Synergetic effect of Ni and Au nanoparticles synthesized on titania particles for efficient photocatalytic hydrogen production. *Applied Catalysis B: Environmental*, 191: 18-28. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2016.03.008>.
- Ma, Z. et al. (2020). Highlighting unique function of immobilized superoxide on TiO<sub>2</sub> for selective photocatalytic degradation. *Separation and Purification Technology*, 238: 116402, diciembre. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.116402>.
- McGlade, C. y Ekins, P. (2015). The geographical distribution of fossil fuels unused when limiting global warming to 2 °C. *Nature*, 517(7533): 187-190. <https://doi.org/10.1038/nature14016>.
- Melián, E. P. et al. (2016). Study of the photocatalytic activity of Pt-modified commercial for hydrogen production in the presence of common organic sacrificial agents. *Applied Catalysis A: General*, 518: 189-197. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2015.09.033>.
- Nguyen-Phan, T. D. et al. (2016). Visible light-driven H<sub>2</sub> production over highly dispersed ruthenium on rutile TiO<sub>2</sub> nanorods. *ACS Catalysis*, 6(1): 407-417. <https://doi.org/10.1021/acscatal.5b02318>.
- Oros-Ruiz, S. et al. (2013). Photocatalytic hydrogen production by water/methanol decomposition using Au/TiO<sub>2</sub> prepared by deposition-precipitation with urea. *Journal of Hazardous Materials*, 263(2013): 2-10. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.03.057>.
- Oros-Ruiz, S. et al. (2014). Photocatalytic hydrogen production by Au-MxOy (M<sub>Ag</sub>, Cu, Ni) catalysts supported on TiO<sub>2</sub>. *Catalysis Communications*, 47: 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2013.12.033>.
- Primo, A., Corma, A. y García, H. (2011). Titania supported gold nanoparticles as photocatalyst. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 13(3): 886-910. <https://doi.org/10.1039/c0cp00917b>.
- Ramírez-Ortega, D. et al. (2020). Effect of Pd and Cu co-catalyst on the charge carrier trapping, recombination and transfer during photocatalytic hydrogen evolution over WO<sub>3</sub>-TiO<sub>2</sub> heterojunction. *Journal of Materials Science*, 55(35): 16641-16658. <https://doi.org/10.1007/s10853-020-05188-z>.
- Schneider, J. y Bahnemann, D. W. (2013). Undesired role of sacrificial reagents in photocatalysis. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 4(20): 3479-3483. <https://doi.org/10.1021/jz4018199>.



- Toe, C. Y. *et al.* (2021). Advancing photoreforming of organics: highlights on photocatalyst and system designs for selective oxidation reactions. *Energy and Environmental Science*, 14(3): 1140-1175. <https://doi.org/10.1039/d0ee03116j>.
- Walter, M. G. *et al.* (2010). Solar water splitting cells. *Chemical Reviews*, 110(11): 6446-6473. <https://doi.org/10.1021/cr1002326>.
- Xu, Z. *et al.* (2018). Towards enhancing photocatalytic hydrogen generation: which is more important, alloy synergistic effect or plasmonic effect? *Applied Catalysis B: Environmental*, 221: 77-85. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2017.08.085>.
- Zada, A. *et al.* (2016). Exceptional visible-light-driven cocatalyst-free photocatalytic activity of g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> by well designed nanocomposites with plasmonic Au and SnO<sub>2</sub>. *Advanced Energy Materials*, 6(21). <https://doi.org/10.1002/aenm.201601190>.
- Zada, A. *et al.* (2020). Surface plasmonic-assisted photocatalysis and optoelectronic devices with noble metal nanocrystals: design, synthesis, and applications. *Advanced Functional Materials*, 30(7): 1-29. <https://doi.org/10.1002/adfm.201906744>.
- Zhang, P., Wang, T. y Gong, J. (2018). Current mechanistic understanding of surface reactions over water-splitting photocatalysts. *Chem*, 4(2): 223-245. <https://doi.org/10.1016/j.chempr.2017.11.003>.



# Reconocimiento de nanomateriales por el sistema inmunológico

## Recognition of nanomaterials by the immune system

Salma López Rodríguez,\* Karla Oyuky Juárez Moreno\*\*

**ABSTRACT:** Nanomaterials are present in many aspects of daily human life. At the nanometric scale, the properties of matter become complex to analyze, and their effects are difficult to predict. For this reason, a large part of the scientific community has focused on the exhaustive study of its interactions with biological organisms, particularly with the immune system, as this is the first line of defense in living beings. The determining factors in the interaction of the immune system with nanomaterials are the physicochemical properties of the latter. Nanoimmunotoxicity mechanisms can be triggered from these interactions, and the reactions involved in them can be used in immunotherapy techniques to contribute to the solution of public health problems. Some of the most important findings to date about the immune responses elicited by exposure to nanomaterials are compiled in this review.

**KEYWORDS:** nanomaterials, immune system, nanoimmunotoxicity, immunotherapy.

**RESUMEN:** Los nanomateriales se encuentran presentes en muchos aspectos de la cotidianidad humana. En la escala nanométrica las propiedades de la materia se tornan complejas de analizar y sus efectos difíciles de predecir. Por esto, gran parte de la comunidad científica se ha enfocado en el estudio exhaustivo de sus interacciones con los organismos biológicos, particularmente con el sistema inmunológico, pues es la primera línea de defensa de los seres vivos. Los factores determinantes en la interacción del sistema inmunológico con los nanomateriales son las propiedades fisicoquímicas de estos últimos. A partir de estas interacciones pueden desencadenarse mecanismos de nanoimmunotoxicidad y las reacciones involucradas en los mismos pueden emplearse en técnicas de inmunoterapia para contribuir en la solución de problemas de salud pública. En esta revisión se recopilan algunos de los hallazgos más importantes hasta la fecha acerca de las respuestas inmunológicas provocadas por la exposición a nanomateriales.

**PALABRAS CLAVE:** nanomateriales, sistema inmunológico, nanoimmunotoxicidad, inmunoterapia.

## Introducción

Desde hace algunos años, derivado del desarrollo exponencial de la nanotecnología, nos encontramos de manera cotidiana expuestos a los nanomateriales. Lo anterior demanda el cuestionamiento y la evaluación de su seguridad para la salud humana (Camacho y Zapata, 2017). Los nanomateriales pueden

Recibido: 4 de abril, 2024.

Aceptado: 25 de mayo, 2024.

Publicado: 5 de junio, 2024.

\* Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Nanociencias y Nanotecnología.

\*\* Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada.

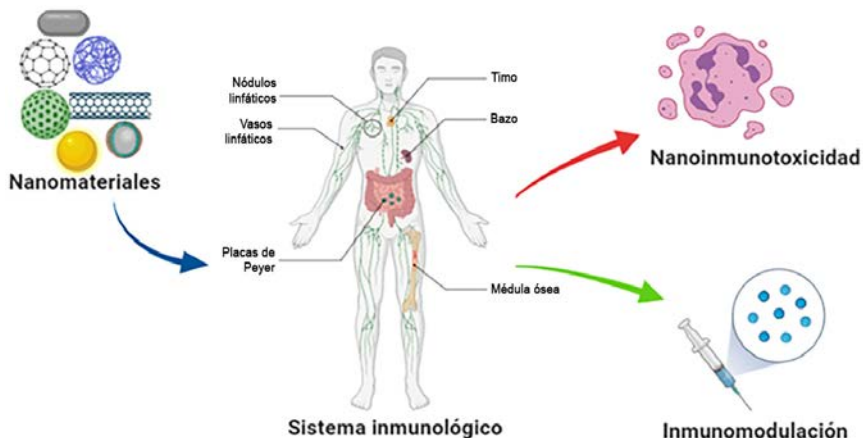
† Autora de correspondencia: kjuarez@fata.unam.mx



definirse como todo aquel material con una o más dimensiones de tamaño nanométrico (Comisión Europea, 2010). Algunos integrantes de la comunidad científica consideran que añadir nanomateriales a los procesos industriales, tales como el envasado y empaquetado de alimentos, contribuirá al progreso tecnológico, mejorará su competencia en el mercado e incrementará sus cualidades gracias a las propiedades únicas de la materia a nanoescala. Algunas de estas propiedades son el tamaño, proporción de aspecto (la relación entre el ancho y el largo del nanomaterial), composición química, porosidad, elevada área superficial, y una química superficial altamente reactiva. Sin embargo, son estas mismas propiedades las propiciadoras de la gran incertidumbre acerca de los riesgos toxicológicos de los nanomateriales (Szakal, Tsytsikova, Carlander y Duncan, 2014). Evaluar la inmunotoxicidad de los nanomateriales es esencial no solo para garantizar la seguridad de los productos, sino también para obtener la aprobación para su comercialización en el ámbito de la nanomedicina. Además, cabe destacar que la materia a nanoescala puede ingresar al organismo por la vía inhalatoria, oral y dérmica (Ghafari *et al.*, 2020). Una vez dentro del organismo, la primera interacción de los nanomateriales será con el sistema inmunológico, el cual es el encargado de su reconocimiento y, posteriormente, de determinar si estos representan una amenaza. Actualmente, se conoce que la interacción de los nanomateriales con el sistema inmunológico puede ser un detonante de mecanismos de toxicidad celular y sistémica (J. Liu *et al.*, 2016). En esta revisión se abordan las consideraciones más importantes de la interacción de los nanomateriales con algunos componentes del sistema inmunológico o inmunitario (figura 1).

El sistema inmunitario, comúnmente llamado sistema inmunológico, está compuesto por diferentes órganos, tejidos, células y moléculas de origen

**FIGURA 1.** Resumen gráfico de la interacción de los nanomateriales con el sistema inmunológico y sus posibles efectos.



Fuente: Elaboración de las autoras.

proteico, los cuales se encargan de ayudar al organismo a combatir enfermedades, infecciones así como de defendernos ante sustancias o agentes considerados como extraños y/o potencialmente dañinos. El sistema inmunitario se divide en dos: el innato y el adaptativo.

El sistema inmunitario innato es con el cual se nace y, por lo tanto, desencadena la primera respuesta ante un agente extraño, ayudándonos a protegernos del mismo; consta de varios tipos de células, con la capacidad de ayudar al cuerpo a responder de forma no específica ante algún patógeno, este tipo de respuesta no genera inmunidad a largo plazo, o bien, en términos muy generales, no se generan anticuerpos que puedan defender nuevamente al organismo ante la presencia futura de este patógeno. La función del sistema inmunitario innato es reclutar células inmunes (como, por ejemplo, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, basófilos, eosinófilos, y células asesinas naturales), en el sitio de la infección o donde se encuentra la inflamación, además, es capaz de desencadenar otras respuestas inmunológicas, como la activación del sistema del complemento (puente entre la inmunidad innata y la adquirida) que ayudará a identificar y a eliminar bacterias y otras células muertas, también se encarga de remover sustancias extrañas presentes en otros tejidos, en la sangre y la linfa. Y de forma muy especial, este sistema se encarga de activar el sistema inmunitario adaptativo, a través de un proceso conocido como presentación de antígenos.

Por otro lado, el sistema inmunitario adaptativo, también conocido como sistema inmunitario adquirido, se va desarrollando con el paso del tiempo ante el encuentro con agentes extraños o patógenos. Este sistema se compone de células inmunitarias como los linfocitos B y T, y se encarga de reconocer agentes extraños conocidos como antígenos, para poder ser eliminados del cuerpo. El sistema inmunitario adaptativo, induce que células especializadas como los linfocitos B produzcan proteínas conocidas como anticuerpos, encargándose de reconocer y eliminar de forma específica a los antígenos. Además, ante un subsecuente encuentro con el mismo agente extraño, el sistema inmunitario adaptativo responde con la memoria inmunitaria, la cual consiste en reconocer a través de los anticuerpos de forma cada vez más específica los antígenos para ser estos eliminados del organismo de forma más efectiva. Por si fuera poco, este sistema también es el responsable del proceso conocido como tolerancia inmunitaria, consistente en reconocer y “tolerar” antígenos propios, evitando y/o modulando una respuesta autoinmune ante nuestras propias biomoléculas y células.

A las células del sistema inmunológico innato como los neutrófilos y los macrófagos se les conoce como células presentadoras de antígenos por una función importante: pueden internalizar agentes extraños por fagocitosis, este proceso de transporte activo es importante al ser uno de los principales mecanismos de internalización celular de nanomateriales, y permitir obtener información sobre las respuestas celulares desencadenadas ante tal exposición.

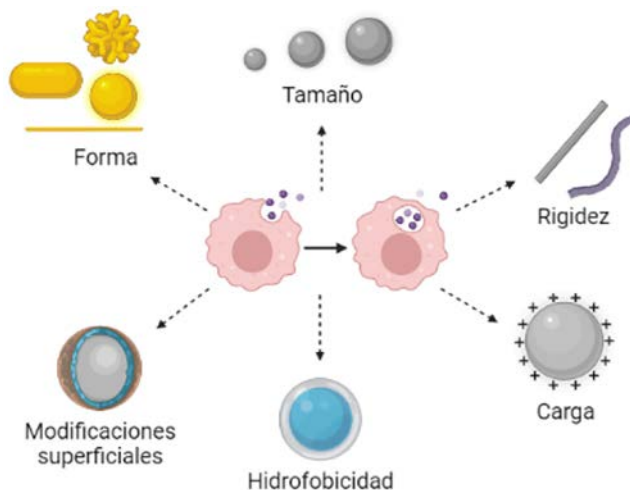
## Propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales, las cuales son determinantes para sus interacciones biológicas

Las funciones e interacciones biológicas de un nanomaterial están condicionadas por sus *características fisicoquímicas* como el tamaño, la forma, la carga, la polaridad y las modificaciones superficiales con grupos químicos o ligandos biológicos (figura 2). Conocer estas características del nanomaterial a evaluar es crucial para estudiar las respuestas celulares que estos desencadenan, particularmente en las células del sistema inmunitario. El tamaño del nanomaterial, por ejemplo, tiene un impacto importante en el proceso de internalización celular, el cual puede ocurrir por mecanismos endocíticos como la fagocitosis, pinocitosis y la endocitosis mediada por proteínas como las clatrin, caveolinas o ambas (Yuanchang Liu, Hardie, Zhang y Rotello, 2017).

*Transporte.* Otro escenario donde cobra importancia el tamaño de los nanomateriales es en su transporte. Las nanopartículas con dimensiones entre los 20 y 200 nm pueden transitar y drenar sin impedimentos a los ganglios linfáticos, mientras que el transporte de las nanopartículas más grandes, con dimensiones entre los 500 y 1000 nm, depende de su interacción con las células presentadoras de antígenos residentes en los tejidos (Pallardy, Turbica y Biola-Vidamment, 2017). Esta diferencia en movilidad ocasiona que entre menor sea el tamaño de la nanopartícula mejor será su presentación como antígeno. La capacidad de los nanomateriales de atravesar las barreras biológicas implica que pueden absorberse hasta el torrente sanguíneo a través del cual se desplazan a otros órganos y tejidos, desplegando un mecanismo de toxicidad dependiente de la estructura biológica en la cual se hayan localizado. Además, se ha reportado la posibilidad de su internalización en estructuras intracelulares, entre las cuales destacan el núcleo y las mitocondrias (Ghafari *et al.*, 2020). Adicionalmente, la *forma* de los nanomateriales influye en las interacciones con las células del sistema inmunitario y en su proceso de internalización celular. Los nanomateriales con formas no esféricas resisten la internalización celular independientemente del material que los constituya. En estudios recientes se ha reportado que la unión de las nanopartículas a los macrófagos es fuertemente dependiente de la combinación entre tamaño y forma (Boraschi, Italiani *et al.*, 2017). Resulta interesante mencionar que esto puede deberse a la capacidad de los macrófagos para detectar hasta la más mínima diferencia en la elasticidad de los objetos que se les presentan, pues de esta manera son capaces de distinguir y eliminar cuerpos apoptóticos o eritrocitos cuya membrana es más rígida de lo normal. Derivado de esta propiedad celular de los macrófagos, las nanopartículas menos rígidas pueden sufrir deformaciones a lo largo de la fagocitosis, ocasionando cambios en su forma y orientación (Boraschi, Italiani *et al.*, 2017). La tasa de internalización de las nanopartículas por las células del sistema inmunitario también depende de la carga y de la hidrofobicidad. Debido a que la membrana celular de

los macrófagos exhibe ácido siálico negativamente cargado, la fagocitosis de las nanopartículas cargadas positivamente se ve favorecida por la atracción electrostática (Dwivedi, Misra, Shanker y Das, 2009; Yuanchang Liu *et al.*, 2017). En el caso de la hidrofobicidad, Liu *et al.* estudiaron nanopartículas poliméricas con diferentes grados de hidrofobicidad, y demostraron que las nanopartículas más hidrofóbicas tienen niveles de internalización mayores en células dendríticas (Yuan Liu *et al.*, 2013). Por último, deben tomarse en cuenta las modificaciones superficiales, parámetro fácilmente a poder considerarse como el más dinámico y complejo. Las modificaciones superficiales pueden darse en el momento de la síntesis, con fines de entrega dirigida, o durante la administración, como consecuencia de la interacción con otros componentes presentes en el organismo en el cual se introduzca el nanomaterial (Farrera y Fadeel, 2015). El recubrimiento de nanopartículas con polietilenglicol (PEG) o polímeros semejantes, durante su síntesis, se ha empleado principalmente como estrategia para evadir la vigilancia de los fagocitos mononucleares en el proceso de entrega al sitio de interés (Fadeel, 2012).

**FIGURA 2.** Propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales determinantes en su interacción con las células del sistema inmunológico.



Fuente: Elaboración de las autoras.

En cuanto a las interacciones dentro del huésped, se sabe que cuando las nanopartículas entran en contacto con un fluido biológico las proteínas presentes se unen y envuelven inmediatamente a las nanopartículas, en un proceso conocido como formación de una corona proteica, dependiente de la afinidad, la cantidad y el tiempo de interacción entre ellas (Fadeel, 2019; Casals, 2020). La composición de esta corona proteica varía según el material del cual esté hecho el núcleo de los nanomateriales otorgándoles una nueva identidad

biológica, la cual afecta la función de material original y de la proteína que se adhiere a su superficie. La abundancia relativa del tipo de proteínas que conformarán la corona proteica dependerá en gran medida de dos factores: la química superficial del nanomaterial y la abundancia relativa (por ejemplo, lipoproteínas e inmunoglobulinas), y la afinidad de las proteínas hacia la nanopartícula (Fadeel, 2019). Una vez formado el recubrimiento proteico se pueden establecer tres escenarios: a) las proteínas superficiales facilitarán el reconocimiento de los nanomateriales por células del sistema inmunológico; b) las proteínas de la corona proteica podrán mimetizar la superficie del nanomaterial evadiendo de alguna manera el sistema biológico, o, c) la adsorción y el plegamiento de las proteínas en la superficie del nanomaterial podría favorecer su reconocimiento como señal pro-inflamatoria por células del sistema inmunológico (Boraschi, Castellano e Italiani, 2017). En conjunto, las propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales y su interacción con las diferentes macromoléculas (carbohidratos, proteínas y lípidos), así como con las células en su tránsito durante el proceso de absorción dentro de un sistema biológico dictarán su inmunogenicidad, término que hace referencia a la capacidad de una sustancia para inducir una respuesta inmunológica (Fadeel, 2019).

## Nanomateriales como amenazas para el sistema inmunológico

La extensa variabilidad de condiciones en la síntesis de un nanomaterial, así como sus parámetros fisicoquímicos principalmente aquellos como el tamaño, la forma, la química superficial, entre otros, ocasiona ser una tarea extremadamente compleja el predecir las interacciones y reacciones biológicas desencadenadas por la exposición a un nanomaterial determinado. Aunado a ello, se sabe que, desde hace más de 10 años, los nanomateriales están ampliamente distribuidos entre los organismos vivos y en el medio ambiente de manera incidental por la actividad antropogénica o bien como parte de los procesos de fabricación de diferentes productos comerciales, en especial los de la industria alimentaria (Comisión Europea, 2010). A lo anterior se debe el surgimiento de la nanotoxicología como una rama emergente de las nanociencias, encargada de evaluar los efectos toxicológicos de los nanomateriales en diferentes tipos de células; como al evaluarse, por ejemplo, para el caso de la interacción de los nanomateriales con las células del sistema inmunológico, los diferentes procesos relacionados con la inmunotoxicidad (Hussain, Vanoirbeek y Hoet, 2012). El término citotoxicidad hace alusión a la capacidad de un agente de infligir algún tipo de daño celular, el cual afecte el desarrollo correcto de una célula, y, de alguna manera, comprometa su viabilidad. De ser internalizados por las células, los nanomateriales pueden interactuar con una amplia variedad de componentes intracelulares como lipoproteínas y ácidos nucleicos, ocasionando daño celular. Se presume que la función fisiológica de cada tipo celular y sus reacciones bioquímicas particulares pueden determi-



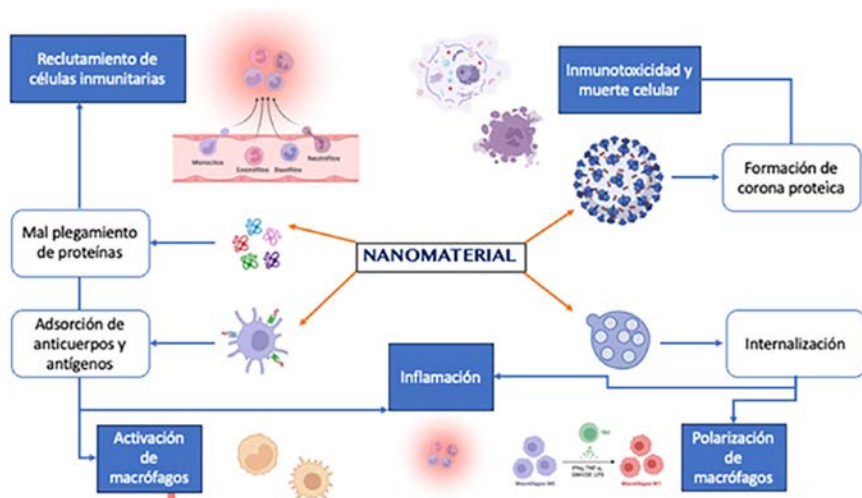
nar la variabilidad en los mecanismos de toxicidad y las respuestas celulares ante un mismo nanomaterial (figura 3) (Sohaebuddin, Thevenot, Baker, Eaton y Tang, 2010). En estudios de citotoxicidad, las propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales cobran importancia para dilucidar cómo pueden desencadenar el daño celular, la disposición de los nanomateriales dentro de la célula y, en conjunto, el daño al huésped (Sohaebuddin *et al.*, 2010). Algunos autores sugieren que la gran mayoría de los efectos adversos inducidos por los nanomateriales en el sistema inmunológico se ejercen sobre el sistema inmunitario innato, principalmente en los macrófagos o las células dendríticas, al ser uno de los principales componentes celulares fungiendo como puentes entre ambos tipos de inmunidad (Boraschi, Italiani *et al.*, 2017; Husain *et al.*, 2012; X. Liu *et al.*, 2021; Pallardy *et al.*, 2017).

Los efectos indirectos de los nanomateriales, por el contrario, recaen sobre los linfocitos B y T, los cuales son componentes del sistema inmunitario adaptativo. Un ejemplo de estos efectos adversos se reportó en un estudio *in vitro* con macrófagos en exposición a nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NPs), un nanomaterial frecuentemente utilizado en la industria alimentaria como aditivo para mejorar el sabor, textura y color de los alimentos, así como en la industria cosmética en los bloqueadores solares y en el maquillaje para mejorar la textura y durabilidad de estos. Se encontró que en presencia de ZnO NPs existía una disminución en la estabilidad de los lisosomas de los macrófagos, por lo cual estas células fagocíticas se veían comprometidas a la muerte celular (Liu *et al.*, 2016). En un caso similar, se demostró que las nanopartículas de óxido de grafeno inducen la necrosis de los macrófagos a través de la señalización por el receptor tipo toll 4 (TLR4). Se ha reportado que las nanopartículas metálicas, son capaces de intervenir con la expresión de los receptores tipo toll (TLRs), afectando la reactividad de las células inmunitarias ante infecciones. La biopersistencia de los nanomateriales contribuye a la inmunotoxicidad inducida por los nanomateriales, pues se ha observado que muchos de estos entran en contacto con los lisosomas. No obstante, el ambiente lisosomal resulta insuficiente para la eliminación de algunos nanomateriales en un intento de la célula por degradarlos enzimáticamente y, como resultado, podría ocasionarse la ruptura del lisosoma y la consecuente liberación de moléculas en el citoplasma de algunas células fagocíticas, lo cual puede ser considerado como señales de peligro pudiendo inducir la muerte celular (Boraschi, Moein Moghimi y Duschl, 2016). Existen algunos nanomateriales como los nanotubos de carbono, los cuales han demostrado ser propensos a la degradación enzimática, condición que puede aumentar en relación con el tipo y cantidad de moléculas adsorbidas en su superficie (Boraschi, Italiani *et al.*, 2017).

Por otra parte, recientemente se ha descubierto que el sistema inmunológico podría detectar los nanomateriales como señales de peligro emergentes o patrones moleculares asociados con nanopartículas (NAMP, por sus siglas en inglés) que estarían relacionados con sus propiedades fisicoquímicas y modificaciones superficiales (Boraschi, Italiani *et al.*, 2017). La detección de NAMPs

podría asociarse con la constitución de inflamosomas, cuya activación tiene como paso inicial la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Pallardy *et al.*, 2017). La formación de la corona proteica alrededor de las nanopartículas puede ser un factor determinante para la activación del sistema del complemento, lo cual, a su vez, puede ocasionar un proceso inflamatorio severo (Hulander *et al.* 2011). En este sentido, la adsorción de proteínas de plasma sanguíneo de forma inespecífica alrededor de las nanopartículas puede inducir cambios conformacionales en las proteínas de la corona suave que a su vez activen el sistema de complemento provocando así una respuesta inmunológica no deseada (Gbadamosi *et al.*, 2002). Por ejemplo, la adsorción de proteínas como la albúmina sérica bovina (BSA, por sus siglas en inglés), adquiere una conformación tridimensional diferente, ocasionando que los macrófagos puedan internalizarlas a través de los receptores de tipo *scavenger* y promuevan una respuesta inflamatoria debido al incremento en la citocina IL-6 (Shanahan *et al.*, 2015). También se ha reportado que la adsorción de BSA en nanopartículas de poli-metacrilato induce cambios conformacionales en esta proteína, lo cual promueve la endocitosis en macrófagos mediada por los receptores *scavenger* y, a su vez, la secreción de citocinas pro-inflamatorias en la línea celular de macrófagos diferenciados THP-1 (Yan *et al.*, 2013). Por lo tanto, establecer con claridad los efectos toxicológicos de los nanomateriales contribuirá a prevenir la activación continua de la respuesta inmunológica que promueva el desarrollo de alergias o enfermedades autoinmunes y/o a evitar la inmunosupresión incontrolada resultante en infecciones más incidentes y graves (Yuanchang Liu *et al.*, 2017).

FIGURA 3. Efectos generales de los nanomateriales en algunas células del sistema inmunológico.



Fuente: Elaboración de las autoras.

## Nanomateriales como aliados del sistema inmunológico: futuras inmunoterapias

Partiendo del descubrimiento de los efectos celulares anteriormente mencionados, y muchos otros, la comunidad científica ha dedicado sus esfuerzos a tomar ventaja de las interacciones célula-nanomaterial y redireccionarlas con fines terapéuticos. Las nanopartículas se han propuesto para generar nuevas estrategias de inmunoterapia, consistentes en la modulación intencionada del sistema inmunológico (Rezaei *et al.*, 2019). El diseño ideal de la inmunoterapia basada en nanomateriales consiste en la aplicación de componentes de tamaño nanométrico que modulen las respuestas inmunológicas, y que, además, sean capaces de escapar de la vigilancia inmunitaria para ejercer su potencial terapéutico de manera eficaz. Para reducir las interacciones de los nanomateriales con los receptores inmunes se utiliza como estrategia principal un recubrimiento que funja como barrera entre el núcleo de las nanopartículas y la corona proteica; de tal manera, este recubrimiento del nanomaterial prolongará su tiempo en la circulación sanguínea. Este contexto se emplea en el desarrollo de nuevas vacunas basadas en la liberación controlada de moléculas que funjan como antígenos encapsulados en liposomas provocando respuestas inmunológicas similares o superiores a las obtenidas con las vacunas tradicionales. Las nanopartículas presentes en este tipo de vacunas son parecidas en tamaño y algunas veces en su composición proteica a entes virales, y buscan reproducir su capacidad de inmunogenicidad (Farrera y Fadeel, 2015).

Para el caso particular del cáncer, una enfermedad posicionada durante décadas como una de las más incidentes y mortales a nivel mundial, la inmunoterapia se basa en generar una señal proinflamatoria adecuada contra los antígenos tumorales. Para lograrlo, se ha propuesto internalizar nanopartículas cargadas con fármacos antitumorales en macrófagos, tomando como ventaja la capacidad fagocítica de estas células, la facilidad con la cual podrían entregar su carga a las células tumorales y comprometerlas al proceso de muerte celular (Yuanchang Liu *et al.*, 2017). Se ha reportado la existencia de nanopartículas con el poder de tener actividad inmunomoduladora activando las células T ayudadoras, y polarizando los macrófagos hacia el Tipo 1, promoviendo así un efecto de inflamación aguda, lo cual contribuye a la movilización de células que puedan ser benéficas para la eliminación de neoplasias (Farrera y Fadel, 2015). Por otro lado, el uso de nanopartículas con propiedades inmunosupresoras propicia la inhibición de la respuesta inmunológica y por ende esto podría ser de utilidad para el estudio de alergias, enfermedades autoinmunes y trasplantes de órganos. Un estudio al respecto demostró que las nanopartículas de oro (AuNPs) tienen actividad antiinflamatoria, al regular negativamente las respuestas inducidas por la expresión de IL-1<sup>®</sup>, una citosina asociada con trastornos autoinmunes (García *et al.*, 2013). A pesar de todos los hallazgos mencionados, aún se requiere conocer más

acerca de la interacción de los nanomateriales con el sistema inmunológico para continuar con el diseño de productos nanomédicos con potencial para mejorar la calidad y esperanza de vida (Smith, Brown, Zamboni y Walker, 2014).

## Conclusiones y perspectivas

Con el desarrollo de la nanotecnología, los nanomateriales son parte de la mayoría de los aspectos de la vida diaria, por lo cual se vuelve necesario determinar el alcance de sus efectos en los seres vivos y su impacto al medio ambiente. Para ello es fundamental caracterizar fisicoquímicamente los nanomateriales y sus posibles interacciones celulares. Por un lado, los nanomateriales pueden verse como amenazas para el sistema inmunológico, debido a su presencia incidental en productos comerciales y también a la elevada síntesis de nanoprodutos pudiendo, en algún punto, entrar en contacto con los sistemas biológicos por diferentes vías de exposición, por lo cual las propiedades fisicoquímicas de la materia nanométrica tienen un papel determinante en las respuestas celulares que pueden producir. No obstante, son estas mismas propiedades las que han convertido a los nanomateriales en la estrategia más prometedora para la resolución de muchos problemas de salud pública. En particular, la modulación de las respuestas inmunes a partir del diseño de nanomateriales ha sido enfocada en la vacunación y en el tratamiento del cáncer, pero, a pesar de los alentadores hallazgos, es necesario continuar con el estudio de las interacciones entre los nanomateriales y el sistema inmunológico con el fin de esclarecer las interrogantes acerca de su bioseguridad.

## Referencias

- Boraschi, D., Castellano, L. R. C. e Italiani, P. (2017). Interaction of nanomaterials with the immune system: role in nanosafety and nanomedicine. (Editorial). *Frontiers in Immunology*, 8: 28, noviembre. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01688>.
- Boraschi, D., Italiani, P., Palomba, R., Decuzzi, P., Duschl, A., Fadeel, B. y Moghimi, S. M. (2017). Nanoparticles and innate immunity: new perspectives on host defence. *Seminars in Immunology*, 34: 33-51. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2017.08.013>.
- Boraschi, D., Moein Moghimi, S. y Duschl, A. (2016). Interaction between the immune system and nanomaterials: safety and medical exploitation. (Editorial). *Current Bionanotechnology*, 2(1): 3-5. <https://doi.org/10.2174/221352940201160718174904>.
- Camacho, Á. y Zapata, M. (2017). ¿Qué es un nanomaterial? <https://biblat.unam.mx/es/revista/momento/articulo/que-es-un-nanomaterial>. (Consultado, mayo 11, 2021).
- Casals, E. Pfaller, T., Duschl, A., Oostingh, G. J. y Puentes, V. (2020). Time evolution

- of the nanoparticle protein corona. *ACS. Nano*, 4(7): 3623-3632. <https://doi.org/10.1021/nn901372t>.
- Comisión Europea. (2010). *Scientific basis for the definition of the term “nanomaterial”*. [http://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/emerging/docs/scenih\\_r\\_o\\_032.pdf](http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenih_r_o_032.pdf).
- Dwivedi, P. D., Misra, A., Shanker, R. y Das, M. (2009). Are nanomaterials a threat to the immune system? *Nanotoxicology*, 3(1): 19-26. <https://doi.org/10.1080/17435390802604276>.
- Fadeel, B. (2012). Clear and present danger? Engineered nanoparticles and the immune system. *Swiss Medical Weekly*, 142, jun. <https://doi.org/10.4414/smw.2012.13609>.
- Fadeel, B. (2019). Hide and seek: nanomaterial interactions with the immune system. *Frontiers in Immunology*, 10: 133, febrero. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00133>
- Farrera, C. y Fadeel, B. (2015). It takes two to tango: understanding the interactions between engineered nanomaterials and the immune system. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 95: 3-12. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.03.007>.
- García, C. P., Sumbayev, V., Gilliland, D., Yasinska, I. M., Gibbs, B. F., Mehn, D., Rossi, F. (2013). Microscopic analysis of the interaction of gold nanoparticles with cells of the innate immune system. *Scientific Reports*, 3(1): 1326. <https://doi.org/10.1038/srep01326>.
- Gbadamosi, J. K., Hunter, A. C. y Moghimi, S. M. (2002). PEGylation of microspheres generates a heterogeneous population of particles with differential surface characteristics and biological performance. *FEBS Letters*, 532(3): 338-344. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(02\)03710-9](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(02)03710-9).
- Ghafari, J., Moghadasi, N. y Omari Shekaftik, S. (2020). Oxidative stress induced by occupational exposure to nanomaterials: a systematic review. *Industrial Health*, 58(6): 492-502. <https://doi.org/10.2486/indhealth.2020-0073>.
- Hulander, M., Lundgren, A., Berglin, M., Ohrlander, M., Lausmaa, J. y Elwing, H. (2011). Immune complement activation is attenuated by surface nanotopography. *International Journal of Nanomedicine*, 6: 2653-2666. <https://doi.org/10.2147/IJN.S24578>.
- Hussain, S., Vanoirbeek, J. A. J. y Hoet, P. H. M. (2012). Interactions of nanomaterials with the immune system. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 4(2): 169-183. <https://doi.org/10.1002/wnan.166>.
- Liu, J., Feng, X., Wei, L., Chen, L., Song, B. y Shao, L. (2016). The toxicology of ion-shedding zinc oxide nanoparticles. *Critical Reviews in Toxicology*, 46(4): 348-384. <https://doi.org/10.3109/10408444.2015.1137864>.
- Liu, X., Xie, X., Jiang, J., Lin, M., Zheng, E., Qiu, W., ..., Meng, H. (2021). Use of nanoformulation to target macrophages for disease treatment. *Advanced Functional Materials*, 2104487. <https://doi.org/10.1002/ADFM.202104487>.
- Liu, Yuan, Yin, Y., Wang, L., Zhang, W., Chen, X., Yang X., ..., Ma, G. (2013). Surface hydrophobicity of microparticles modulates adjuvanticity. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(32): 3888-3896. <https://doi.org/10.1039/c3tb20383b>.

- Liu, Yuanchang, Hardie, J., Zhang, X. y Rotello, V. M. (2017). Effects of engineered nanoparticles on the innate immune system. *Seminars in Immunology*, 34: 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2017.09.011>.
- Pallardy, M. J., Turbica, I. y Biola-Vidamment, A. (2017). Why the immune system should be concerned by nanomaterials? *Frontiers in Immunology*, 8, mayo. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00544>.
- Rezaei, R., Safaei, M., Mozaffari, H. R., Moradpoor, H., Karami, S., Golshah, A., ..., Karami, H. (2019). The role of nanomaterials in the treatment of diseases and their effects on the immune system. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 7(11): 1884-1890. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.486>.
- Shannahan, J. H., Podila, R., Aldossari, A. A., Emerson, H., Powell, B. A., Ke, P. C., Rao, A. M. y Brown, J. M. (2015). Formation of a protein corona on silver nanoparticles mediates cellular toxicity via scavenger receptors. *Toxicological Sciences*, 143(1): 136-146. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfu217>.
- Smith, M. J., Brown, J. M., Zamboni, W. C. y Walker, N. J. (2014). From immunotoxicity to nanotherapy: the effects of nanomaterials on the immune system. *Toxicological Sciences*, 138(2): 249-255. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfu005>.
- Sohaebuddin, S. K., Thevenot, P. T., Baker, D., Eaton, J. W. y Tang, L. (2010). Nanomaterial cytotoxicity is composition, size, and cell type dependent. *Particle and Fibre Toxicology*, 7. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-7-22>.
- Szakal, C., Tsytsikova, L., Carlander, D. y Duncan, T. V. (2014). Measurement methods for the oral uptake of engineered nanomaterials from human dietary sources: summary and outlook. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13: 669-678, 1 de julio. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12080>.
- Yan, Y., Gause, K. T., Kamphuis, M. M. J., Ang, C.-S., O'Brien-Simpson, N. M., Lenzo, J. C., Reynolds, E. C., Nice, E. C. y Caruso, F. (2013). Differential roles of the protein corona in the cellular uptake of nanoporous polymer particles by monocyte and macrophage cell lines. *ACS Nano*, 7(12): 10960-10970. <https://doi.org/10.1021/nn404481f>.

# POLÍTICA EDITORIAL

Vol. 17, Núm. 33, julio–diciembre 2024 / <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2024.33>

## Objetivo y alcance

*Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* es una publicación científica de acceso abierto que no cobra cuotas por procesamiento de artículos. Todos los textos que se postulan para su posible publicación son previamente revisados por pares, bajo la modalidad doble ciego. Tiene como objetivo dar a conocer los avances y principales resultados de investigación en el área, incluyendo sus implicaciones sociales, ambientales, éticas y legales, así como de aspectos regulatorios. Por su naturaleza, es una publicación de alcance internacional pero con mayor incidencia en Iberoamérica. Publica exclusivamente artículos de investigación y revisiones del campo de conocimiento de interés, escritos en español, inglés o portugués. La revista cuenta con un código de ética basado en los lineamientos del Comité de Ética en Publicaciones (COPE, por sus siglas en inglés) al cual se suscribe.

Se publica dos veces al año (aparece los meses de enero y julio), en formato electrónico, editada y patrocinada desde 2008, de forma ininterrumpida, por la Universidad Nacional Autónoma de México.

## Secciones de la revista

### Editorial

Esta sección es escrita por los editores. Tiene como objeto destacar las temáticas abordadas en cada fascículo, haciendo énfasis en las principales tendencias de investigación en el área. De igual forma, es un espacio donde se presentan los avances y logros de la revista, así como los temas de interés editorial.

### Presentación

Esta sección, escrita por los(as) editores(as) invitados, da cuenta, de manera breve, del estado del arte del tema abordado, y no es objeto de dictamen académico.

### Artículos de investigación

Artículos de alto nivel, producto de investigaciones originales e inéditas dentro del campo de las nanociencias y la nanotecnología, incluyendo sus implicaciones sociales, ambientales, éticas y legales, así como de aspectos regulatorios. Hallazgos o resultados originales de proyectos de investigación que evidencien una postura teórica, metodología clara, resultados, discusión y conclusiones. Todas las colaboraciones dirigidas a esta sección serán sometidas a dictamen académico bajo la modalidad de revisión por pares doble ciego.

### Artículos de revisión

Incluyen avances y controversias en el campo de las nanociencias y la nanotecnología, con una amplia revisión bibliográfica, destacando puntos de vista analíticos. Su principal propósito es ofrecer una actualización integral acerca de los temas que trata la revista. Todas las colaboraciones solicitadas para esta sección serán sometidas a dictamen académico bajo la modalidad de revisión por pares doble ciego.

## Sistema de arbitraje

### Dictamen editorial

Los autores que postulen un artículo para su posible publicación en *Mundo Nano* deberán remitir —completa y en su versión final— la documentación que se indica en normas para autores(as), en la sección: requisitos para la pos-

tulación de originales, además del formato de originalidad disponible en el siguiente enlace:

<https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Carta-de-declaratoria-de-originalidad.docx>

Una vez que el equipo editorial acredite que el envío cumple con todos los requisitos de postulación, el texto será remitido a dictamen editorial el cual contempla las siguientes etapas:

1. Acreditar una revisión bajo el *software* IThenticate aprobada por el Comité Editorial para detección de plagio, solo posterior a ello será posible continuar con las siguientes etapas del dictamen editorial.
2. Se verificará que el texto postulado guarde relación con el enfoque y alcance de la revista. No se considerarán aquellos trabajos que no contemplen explícitamente como componente relevante la dimensión nano.
3. Se revisará que el texto cumpla con todas y cada una de las indicaciones señaladas en las normas para autores(as) y en los requisitos para la postulación y entrega de originales.
4. Se revisará que la bibliografía a la que se recurre sea pertinente y actualizada, y que esté debidamente estandarizada según la norma Chicago, véase:

[http://www.chicagomanualofstyle.org/tools\\_citationguide.html](http://www.chicagomanualofstyle.org/tools_citationguide.html)

5. De acuerdo con los lineamientos de política editorial aprobados por el Comité Editorial, se dará prioridad a los textos cuya bibliografía se entregue gestionada electrónicamente y con hipervínculos activos a los DOI (Digital Object Identifier) respectivos, en los casos que así corresponda.

Una vez que el artículo postulado acredite el dictamen editorial, se notificará formalmente al autor de contacto el registro e inicio del proceso de dictamen académico.

### Dictamen académico

Los artículos deberán acreditar favorablemente el proceso de dictamen académico, el cual operará bajo la modalidad de revisión por pares doble ciego, donde la identidad tanto de los autores como de los dictaminadores permanecerán en anonimato, para ello se tomarán en consideración los siguientes lineamientos:

1. Los artículos que acrediten el dictamen editorial serán enviados a académicos expertos en la misma área disciplinar y temática que las del texto postulado. Los revisores serán seleccionados de la cartera de árbitros —integrada por especialistas de instituciones nacionales e internacionales— quienes emitirán comentarios acerca de la pertinencia y calidad académica del texto propuesto y determinarán la factibilidad de la publicación del texto en cuestión.
2. Los dictaminadores tendrán bajo su responsabilidad revisar y analizar la pertinencia académica, teórica y metodológica de todos y cada uno los artículos que les sean asignados. Serán ellos los responsables de revisar la presencia explícita del apartado teórico-metodológico, así como su congruencia respecto del campo de estudios, la coherencia entre el aporte académico y la relevancia de los hallazgos descritos, así como la actualidad y oportunidad de la bibliografía a la que se recurre.

3. Todos los textos serán remitidos a dos expertos —ads-critos a una institución distinta de la adscripción de los autores— quienes emitirán sus comentarios. En caso de discrepancia en los dictámenes, se recurrirá a un tercer evaluador para que dirima la diferencia.
4. Finalmente, con base en las recomendaciones de los revisores, la decisión de los editores de *Mundo Nano* será:
  - a. Recomendar su publicación sin modificaciones.
  - b. Recomendar su publicación con cambios menores, y que no hacen necesaria una segunda revisión por parte de los árbitros.
  - c. Condicionar su publicación a la realización de cambios importantes, lo que obliga a una nueva revisión por parte de los revisores. Este proceso se puede repetir hasta un máximo de tres rondas, si a este punto el documento aún no es recomendado para su publicación, el artículo será rechazado sin opción a un nuevo envío.
  - d. No recomendar su publicación.
5. Para que un texto sea aprobado para su publicación es indispensable que al menos dos de los tres dictámenes sean positivos.
6. Los editores garantizarán, en todos los casos, que los dictámenes entregados a los autores contengan argumentos sólidos que respalden la decisión editorial.
7. Los resultados del proceso de dictamen académico serán inapelables en todas las circunstancias.
8. La evaluación de los árbitros seleccionados tomará como guía el formato de dictamen disponible en el siguiente enlace:

<https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Formato-de-dictamen.docx>

9. En caso de recibir observaciones, el autor tendrá un plazo de quince días naturales para hacer llegar al editor en jefe la nueva versión del trabajo. De hacerlo fuera de este plazo el documento iniciará un nuevo proceso de dictamen.
10. El tiempo para que el documento sea turnado a dictamen estará en función del número de artículos en la lista de espera. Los árbitros, una vez recibido el artículo, tendrán cuatro semanas para realizar la revisión y entregar el resultado.
11. Los documentos aceptados para su publicación iniciarán el proceso de producción editorial: corrección de estilo, verificación de metadatos, formación, marcado de archivos XML, maquetación de archivos HTML, generación de archivos e-PUB, verificación de números DOI por artículo y fascículo completo.
12. La corrección de estilo de los textos en un idioma distinto al español (inglés y portugués) será responsabilidad de los autores.
13. Una vez concluido el proceso de producción editorial y con el visto bueno de los editores de la revista y los editores invitados, el artículo se publicará en línea: publicación continua (en el portal de la revista), en tanto se integra el contenido completo del fascículo.

### Política de acceso abierto

Esta revista es de acceso libre inmediato a su contenido, bajo el principio de hacer disponible al público gratuitamente las investigaciones publicadas.

Los autores que publiquen en *Mundo Nano* aceptan las siguientes condiciones:

1. De acuerdo con la legislación de derechos de autor, *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* reconoce y respeta el derecho moral de los autores, así como la titularidad del derecho patrimonial, el cual será transferido —de forma no exclusiva— a la revista, para su difusión en acceso abierto.
2. *Mundo Nano* no realiza cargos a los autores por enviar y procesar artículos para su publicación.
3. Todos los textos publicados por *Mundo Nano* —sin excepción— se distribuyen amparados bajo la licencia [Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional](#), la cual permite a terceros utilizar lo publicado siempre que mencionen la autoría del trabajo y a la primera publicación en esta revista.



Esta obra está bajo una licencia *Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional*.

4. Los autores pueden realizar otros acuerdos contractuales independientes y adicionales para la distribución no exclusiva de la versión del artículo publicado en *Mundo Nano*, por ejemplo, incluirlo en un repositorio institucional o darlo a conocer en otros medios en papel o electrónicos, siempre que indique clara y explícitamente que el trabajo se publicó por primera vez en *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*.

Para todo lo anterior, los autores deben remitir el formato de carta de transmisión de derechos patrimoniales de la primera publicación debidamente requisitado y firmado disponible en el siguiente enlace:

<https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Carta-de-transmision-de-derechos-patrimoniales.docx>

### Código de ética

*Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* se suscribe al código de ética para la actuación y desempeño de los actores involucrados en el proceso de publicación de esta revista (editores, comité editorial, comité científico, autores(as) y revisores(as)) establecido por el Comité de Ética en Publicaciones (COPE, por sus siglas en inglés), y disponible en:

<https://publicationethics.org/resources/code-conduct>

### Políticas de sanción a conductas antiéticas

El conjunto de conductas inadecuadas incluye: la falsificación de datos, la manipulación de datos a favor de ciertos resultados, la postulación de un artículo con información redundante o postulado previa o simultáneamente a otro espacio editorial, el uso indiscriminado de autocitas, así como también autoría injustificada o fantasma. En caso de identificar alguna de las prácticas mencionadas en algún artículo postulado, el Comité Editorial evaluará el caso y someterá a sanción de acuerdo con el tipo de falta.

### Uso de inteligencia artificial (IA)

En consideración con la adopción reciente de medidas éticas sobre el uso de la inteligencia artificial por parte de UNESCO,



de diversas revistas científicas, así como de la propia UNAM, *Mundo Nano, Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* establece los siguientes lineamientos:

- No se puede listar ningún sistema o herramienta de inteligencia artificial como autor.
- No se acepta ningún texto o imagen generada mediante inteligencia artificial, incluyendo sistemas NLP (Natural Language Processing) o LLM (Large Language Models), tales como ChatGPT, Reuters-GPT, Llama-2 de Meta, Bloomz, entre otros.
- Los autores deben hacer expreso que la versión del texto sometida a *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* fue editada por autores humanos.
- Se permite el uso de sistemas o herramientas de inteligencia artificial en procesos de investigación que involucren el meta-análisis de literatura, consultas generales para constatar hipótesis o preguntas de investigación, y la traducción y corrección de estilo en diversos idiomas. Todo uso de sistemas o herramientas de inteligencia artificial debe ser reportado, indicando la plataforma empleada, el tipo de uso de tales sistemas o herramientas de inteligencia artificial en la elaboración del trabajo sometido, y las potenciales limitaciones, sesgos o inconsistencias detectadas en la información generada con inteligencia artificial.
- Los editores de *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* se reservan el derecho de someter a un dictamen puntual el proceso del uso de inteligencia artificial cuando así lo consideren pertinente. Dicho dictamen sobre el uso de inteligencia artificial no sustituye la evaluación a doble ciego sobre la calidad científica del trabajo sometido.

## Detección de plagio

En *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* se utiliza un software especializado para la detección de plagio: iThenticate. Los textos recibidos serán sometidos a revisión antes de enviarlos a dictamen editorial y académico, se rechazarán si el porcentaje de similitud con otro texto publicado o disponible en Internet sea superior a 35%.

Si se detecta o sospecha el uso de información redundante o duplicada en un texto postulado, el procedimiento a seguir es el que el Comité de Ética de Publicaciones (COPE) resume en el siguiente diagrama:

<https://publicationethics.org/files/Spanish%20%281%29.pdf>

## Lineamientos y buenas prácticas editoriales

Estos lineamientos hacen referencia a las políticas de buenas prácticas editoriales del COPE y están disponibles en:

<http://publicationethics.org/resources/guidelines>

## Funciones y responsabilidades del Comité Científico

- Promover entre la comunidad académica nacional e internacional la postulación de trabajos para su publicación en la revista.
- Sugerir lineamientos académicos para actualizar la política editorial de la revista.

- Promover la difusión de la revista en medios académicos nacionales e internacionales.
- Participar como dictaminadores de trabajos recibidos para su publicación o recomendar a otros expertos como dictaminadores.

## Funciones y responsabilidades del Comité Editorial

- Promover entre la comunidad académica nacional e internacional la postulación de trabajos para su publicación en la revista.
- Apoyar en la selección de los dictaminadores para los trabajos recibidos, así como deliberar sobre las mejores opciones de dictaminadores en casos necesarios.
- Decidir sobre la pertinencia de publicación de los materiales recibidos, apoyándose en los dictámenes de expertos.
- Aprobar el contenido propuesto para cada número de la revista.
- Revisar y evaluar cada número publicado.
- Colaborar con las instancias correspondientes para mantener la periodicidad establecida para la publicación.

## Funciones y responsabilidades del editor en jefe y editores

- Coordinar las acciones conducentes al cumplimiento de los objetivos de la revista.
- Procurar un alto nivel académico en el contenido que se publica.
- Recibir los trabajos propuestos para su publicación y solicitar los dictámenes académicos.
- Vigilar el cumplimiento de las recomendaciones de los dictaminadores.
- Informar a los autores la fase del proceso editorial en la que se encuentre el texto enviado.
- Informar al Comité Editorial sobre el proceso de arbitraje de todos los materiales recibidos, cuidando la confidencialidad.
- Proponer al Comité Editorial el contenido de cada número de la revista, a partir de los textos que estén corregidos y aprobados al momento.

## Funciones y responsabilidad de los editores(as) invitados(as)

- El Comité Editorial podrá invitar a especialistas de un tema específico para coordinar, en colaboración con los editores de la revista, el contenido y orientación del tema a tratar en el fascículo correspondiente.
- Sus funciones incluyen invitar a potenciales autore(as), y dictaminadores, y colaborar con los editores de la revista en el proceso de dictamen académico, siempre garantizando su calidad y carácter de doble ciego.
- Elaborar un texto de presentación en el que posibiliten la importancia temática del fascículo y presenten los trabajos que lo componen.

## Funciones y responsabilidades del editor asociado

- Coordinar el proceso de dictamen editorial.
- Planificar y coordinar el proceso de producción editorial de la revista.
- Aplicar el software iThenticate para la detección de plagio.
- Supervisar el procesamiento técnico de los materiales aprobados por el Comité Editorial, una vez que hayan cubierto los requisitos académicos establecidos.
- Supervisar la corrección de estilo y la calidad técnica de la revista y cuidado de la edición.

- Colaborar para mantener la periodicidad establecida para la publicación de la revista y para que la difusión y distribución de cada número inicie durante el primer mes del periodo correspondiente.
- Mantener actualizada la información y procesos requeridos por los espacios en los que se encuentra indexada la revista, así como promover su incorporación a nuevos índices.

#### Funciones y responsabilidades del editor técnico

- Verificar los números DOI de cada artículo y el del fascículo correspondiente de la revista y actualizar, si es el caso, los metadatos de envío.
- Formación de los trabajos aprobados para su publicación.
- Incorporar correcciones a los trabajos formados.
- Gestión y actualización de contenidos y diseño de la plataforma OJS.
- Supervisar la elaboración de los archivos XML, HTML y ePub de cada uno de los artículos y su incorporación a OJS.
- Supervisar el diseño de la portada y la página legal de cada número.

#### Responsabilidades de los autores

- Atender los requisitos de publicación de la revista relativos a: originalidad, que el texto sea inédito, pertinencia.
- Presentar sus resultados con honestidad y sin mentira, falsificación o manipulación de datos.
- Asumir la responsabilidad colectiva, si es el caso, para el trabajo presentado y publicado.

#### Registro en directorios y bases de datos de contenido científico

	Sistema de Información Científica Redalyc
	Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (Latindex-Catálogo)
	Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico
	Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias
	Bibliografía Latinoamericana
	Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
	Scientific Electronic Library Online
	Portal de difusión de la producción científica hispana
	DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS

- Las fuentes de financiamiento y los conflictos de interés pertinentes deben señalarse en el artículo.
- Citar el trabajo de los demás con precisión y solo referir publicaciones utilizadas en el texto.
- Los autores deben informar a los editores si los resultados han sido publicados con anterioridad o si varios informes o análisis múltiples de un mismo conjunto de datos están bajo consideración para su publicación en otro lugar. Los autores deben proporcionar copias de las publicaciones o trabajos afines presentados a otras revistas.

#### Responsabilidades de los dictaminadores

- Aceptarán la revisión de textos que se ajusten a su área de especialidad, con el fin de realizar una evaluación adecuada.
- Declarará desde el inicio del proceso si existe conflicto de interés. Si sospecha la identidad del autor(es) notificar a la revista si este conocimiento plantea cualquier posible conflicto de intereses.
- Rechazarán la revisión de inmediato si no les es posible entregarla en el plazo acordado.
- Emitirán su evaluación basándose en la originalidad, la contribución del artículo a la temática, la metodología empleada, la pertinencia y actualidad de la bibliografía utilizada; el estilo, la coherencia y la calidad en la estructura y en la redacción del texto.
- Informarán al editor de la revista, o editores(as) invitados, de inmediato, si durante la evaluación encuentran o descubren que no tienen la experiencia necesaria para evaluar todos los aspectos del texto.
- Sus críticas serán objetivas, específicas y constructivas.
- Definirán con claridad la aprobación, rechazo o condicionamiento del texto.
- Emitirán su evaluación en el plazo acordado.
- Respetarán la confidencialidad durante y después del proceso de evaluación.
- No utilizarán contenido del texto revisado o en revisión.
- No involucrarán a otras personas en la revisión que les fue solicitada.
- Comunicarán al editor de la revista, o editores(as) invitados, si detectan similitud del texto con otro que hayan revisado o si identifican cualquier tipo de plagio.

No se permite transferir la responsabilidad de realizar un dictamen a ninguna otra persona, asistente o colaborador.

#### Garantizar una evaluación por pares anónima

Para asegurar la integridad de la evaluación por pares anónima para el envío a la revista, se debe intentar que los autores y los revisores desconozcan sus identidades entre ellos. Esto implica que los autores, editores y revisores (los cuales suben documentos como parte de su revisión) comprueben si los siguientes pasos se han seguido cuidadosamente en cuanto al texto y las propiedades del archivo:

1. Los autores del documento han eliminado sus nombres del texto, con "Autor/a" y el año que se usa en las referencias y en las notas a pie de página, en vez del nombre de los autores/as, el título del artículo, etcétera.
2. En los documentos de Microsoft Office, la identificación del autor también debe eliminarse de las propiedades del archivo.

3. En los PDFs, los nombres de los autores/as también deben ser eliminados de las propiedades del documento que se encuentran debajo de *Archivo* en el menú principal de Adobe Acrobat.

### Requisitos para la postulación de originales

Los artículos que sean postulados para su posible publicación en *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología* deberán remitir la siguiente documentación completa y en su versión final, a través de la interfase Open Journal Systems. No se aceptarán postulaciones que no sean enviadas por este medio:

1. **Carta de originalidad y no postulación simultánea**, esta carta también deberá ser llenada con los datos del autor o autores, y, en el caso de artículos con dos o más autores, se deberán proveer los datos de todos y cada uno de ellos, incluyendo su número de identificador normalizado ORCID. Se deberá identificar al autor que firma como responsable del texto, así como el autor de correspondencia.

<https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Carta-de-declaratoria-de-originalidad.docx>

2. **Formato de cesión de derechos patrimoniales**, deberá ser llenado y firmado con los datos del autor o autores. En el caso de artículos con dos o más autores, se deberán proveer los datos de todos y cada uno de ellos, y se deberá identificar al autor que firma como responsable del texto, así como al autor de correspondencia.

<https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Carta-de-transmision-de-derechos-patrimoniales.docx>

3. **Anexar el contenido completo** del artículo que se postula y los archivos adicionales, en su versión final. No se aceptarán cambios una vez iniciado el proceso.

### Requisitos para la entrega de originales

1. Entregar el contenido textual en archivos en formato electrónico para procesador de textos, sin clave de contraseña (el envío de archivos en PDF no es pertinente para el proceso editorial).
2. Entregar fotografías e imágenes en archivos electrónicos en formato TIFF y/o JPG, (o compatible) con al menos 300 dpi de resolución. Las imágenes de gráficas, cuadros o tablas podrán estar en el texto, aunque es indispensable anexar las gráficas en archivo independiente. Las tablas o cuadros se deberán entregar también por separado en hoja de cálculo.
3. Contar con los derechos de reproducción del material gráfico, imágenes, fotografías, obra artística, etcétera, ya sea por parte del propio autor (autores), o bien de terceros.
4. Una vez cumplidos los requisitos de postulación el texto será remitido a dictamen editorial.

### Política de recepción de materiales

1. **Exclusividad**: los trabajos enviados a Mundo Nano deberán ser inéditos y sus autores se comprometen a no someterlos simultáneamente a la consideración de otras publicaciones, por lo cual es necesario adjuntar este

documento: Carta de originalidad y no postulación simultánea.

2. **Naturaleza de los trabajos**: las contribuciones que se reciban para su eventual publicación deben ser resultados originales derivados de un trabajo académico de alto nivel. Solo se aceptarán documentos vinculados con la nanociencia y la nanotecnología, incluyendo abordajes que destaquen sus implicaciones sociales, ambientales, éticas y legales, así como de aspectos regulatorios, con la condición de presentar de manera explícita y detallada las estrategias teórico-metodológicas a las que se recurre y enfatizar los hallazgos producto de su aplicación.
3. **Anonimato en la identidad de los autores**: los artículos no deberán incluir en el cuerpo del artículo, ni en las notas a pie de página, información que revele su identidad, ello con el fin de asegurar una evaluación anónima por parte de los pares académicos que realizarán el dictamen. El nombre de los autores, adscripción laboral, el número de identificación normalizado ORCID, agradecimientos, se incluirán en un archivo separado denominado "carta de presentación".
4. **Coautorías**: de acuerdo con la política editorial y respecto de la autoría colectiva, se aceptarán como máximo cuatro autores, si se postularán artículos con más autores se deberá justificar la razón y naturaleza de la coautoría, quedando a juicio del Comité Editorial la aceptación o rechazo editorial del documento. En todos los casos se deberá indicar el tipo de participación de cada uno de los autores. Por ningún motivo se aceptará cambio en el orden en que fueron presentados los autores al momento de la postulación, y no será posible omitir ni agregar ningún autor que no hubiese sido señalado desde el inicio, por lo cual será necesario identificar dicha información en los datos de registro.
5. **No se publicarán** más de 2 trabajos del mismo autor(a) o coautor(a) en el mismo número de la revista.
6. **Frecuencia de publicación**: cuando un autor(a) ha publicado en *Mundo Nano*, deberá esperar un año para publicar nuevamente. El Comité Editorial podrá autorizar la publicación consecutiva, de acuerdo con la pertinencia y relevancia del trabajo puesto a consideración.
7. **Idiomas de publicación**: se recibirán textos escritos en español, inglés o portugués. La revisión de estilo se hará solo en trabajos escritos en español.

### Presentación de originales

1. **La página de presentación** se deberá integrar en el siguiente orden:
  - Título del artículo, de no más de 15 palabras, deberá incluirse tanto en español como en inglés, lo más descriptivo, claro y conciso posible.
  - Es indispensable que todos y cada uno de los autores proporcionen su número de identificador normalizado ORCID. Para mayor información ingresar a [www.orcid.org](http://www.orcid.org).
  - Se deberán indicar las instituciones de adscripción y país de todos y cada uno de los autores, evitando el uso de siglas o acrónimos. Asimismo, se evitará la traducción de los nombres de instituciones.
  - En esta página, se precisará cuál es el autor que firma como responsable del texto, así como el autor de correspondencia. En caso de ser el mismo esto deberá ser aclarado explícitamente.
  - Se deberá indicar el correo electrónico, solo en el caso del autor de correspondencia.

2. **Resumen estructurado:** en español e inglés, y deberá integrar los siguientes elementos en un máximo de 200 palabras:
    - Objetivo del artículo
    - Diseño y metodología
    - Principales resultados y conclusiones.
  3. **Palabras clave:** en español e inglés, describiendo temática y analíticamente el objetivo del artículo.
  4. **Extensión y formato:** los artículos de investigación podrán tener una extensión entre 8,000 y 10,000 palabras y las revisiones entre 7,000 y 12,000 palabras. Se pueden recibir revisiones de mayor extensión, previo acuerdo con los editores. Deberán estar escritos en procesador de texto, en tamaño carta con márgenes de 2.54 centímetros, en fuente Times New Roman de 12 puntos, interlineado doble, sin espacio entre párrafos. Las páginas deberán estar foliadas desde la primera hasta la última en el margen inferior derecho. La extensión total incluye abordaje textual, bibliografía, tablas, gráficas, figuras, imágenes y todo material adicional.
  5. **Estructura de los artículos:** los artículos incluirán una introducción que refleje con claridad los antecedentes del trabajo, el método o estrategia de análisis a la que se recurre, discusión, resultados, conclusiones y bibliografía. Si así lo consideran los autores, se podrán presentar secciones y apartados propiamente jerarquizados y diferenciados solo con el uso de tipografía (sin usar números arábigos o romanos).
  6. **Uso de siglas y acrónimos:** para el uso de acrónimos y siglas en el texto, la primera vez que se mencionen, se recomienda escribir el nombre completo al que corresponde y enseguida colocar la sigla entre paréntesis. Ejemplo: Petróleos Mexicanos (Pemex), después solo Pemex.
  7. **Material suplementario:** refiere a información o figuras que son útiles para aquellos lectores interesados en mayores detalles, pero que no son imprescindibles para la comprensión de los principales resultados del artículo. El material suplementario debe ser claro, sintético y consistente con el artículo. Este será publicado, por separado, como archivo digital con su correspondiente DOI.
  8. **Notas:** las notas deberán indicarse a pie de página, estar numeradas y ser las estrictamente necesarias. Las notas a pie de página se reservarán para ampliaciones al texto o aclaraciones, no podrán utilizarse para indicar bibliografía con locuciones latinas.
  9. **Tablas y figuras:** podrán estar incluidas en el texto, o se anotarán con indicaciones precisas sobre su lugar en el texto. Por ejemplo: "tabla 1, aquí". La numeración de las tablas será consecutiva, en orden ascendente y con números arábigos. De la misma manera, el título se colocará en la parte superior y la fuente completa en la parte inferior. Los autores tendrán la responsabilidad de verificar que la fuente de todas las tablas y figuras aparezca en la bibliografía final.
  10. **Elementos gráficos:** todos los elementos gráficos, esquemas, mapas, etc., se nombrarán Figuras y tendrán una numeración consecutiva en números arábigos. El título se ubicará en la parte superior y la fuente completa a pie de cada figura. El autor tendrá la obligación de revisar que la fuente de todas las figuras estén indicadas en la bibliografía final. Además de poderlos incluir en el texto del artículo, todo elemento gráfico se entregará en archivo independiente en formato TIFF y/o JPG, con una resolución mínima de 300 dpi. Si las gráficas son elaboradas en Microsoft Excel, se deberá anexar el archivo fuente.
  11. **Información adicional:** los artículos no incluirán epígrafes ni dedicatorias.
  12. **Contribución de autorías:** Al final de artículo, antes del listado de referencias se deberá incluir, para cada autor/a, su contribución al artículo propuesto para su publicación.

En la lista de autores/as deben figurar las personas que han contribuido intelectualmente al desarrollo del trabajo. Contribuciones que se limitan a la búsqueda o procesamiento de datos, elaboración de gráficas o figuras, no son suficientes para figurar como autor/a. En ese caso, los autores/as podrán indicar dichas participaciones y, en su caso, hacer los agradecimientos correspondientes.

Al momento de enviar el artículo, se deberán indicar las contribuciones de cada autor/a, considerando los siguientes rubros:

    - Concepción y diseño del artículo.
    - Desarrollo metodológico.
    - Minería de datos, análisis e interpretación.
    - Modelación en software (de ser el caso).
    - Redacción del borrador original.
    - Revisión y edición final del texto.
    - Preparación de materiales suplementarios (de ser el caso).

*Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* declina cualquier responsabilidad sobre posibles conflictos derivados de la autoría de los trabajos que publica. Con el envío del artículo, los autores/as implícitamente aceptan haber leído íntegramente este texto y estar de acuerdo con su contenido.

En caso de solicitud de cambio de autoría de un manuscrito recibido o de un artículo ya publicado, *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* seguirá el árbol de decisiones recomendado por la COPE: (<http://publicationethics.org/files/Spnish%20%281%29.pdf>).
  13. **Las referencias y citas bibliográficas:** al final del artículo deberán indicarse todas y cada una de las fuentes citadas en el cuerpo del texto (incluyendo notas, fuentes de las tablas y figuras). El autor debe revisar cuidadosamente que no haya omisiones ni inconsistencias entre las obras citadas y la bibliografía. Se incluirán en la lista de referencias solo las obras citadas en el cuerpo y notas del artículo. La bibliografía deberá presentarse estandarizada recurriendo a la norma Chicago, tomando como guía los siguientes ejemplos:
- Artículos en revistas (no se abrevien los títulos ni de los artículos ni de las revistas):  
Takeuchi, N. 1998. Cálculos de primeros principios: un método alternativo para el estudio de materiales. *Ciencia y Desarrollo*, 26(142): 18.
  - Libros:  
Delgado, G. C. 2008. *Guerra por lo invisible: negocio, implicaciones y riesgos de la nanotecnología*. México: CEIICH, UNAM.
  - Internet:  
NobelPrice.org. 2007. *The Nobel Prize in Physics 1986*. [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/physics/laureates/1986/press.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1986/press.html)

Se dará prioridad a los textos cuya bibliografía se entregue gestionada electrónicamente y con hipervínculos activos a los DOI respectivos, en todos los casos que así corresponda.

### Enviar un artículo

El registro y el inicio de sesión son necesarios para enviar elementos en línea y para comprobar el estado de los envíos recientes. Ir a [Entrar](#) para una cuenta existente o [Registrarse](#) para una nueva cuenta.

### Lista de comprobación de preparación de envíos

Como parte del proceso de envío, los autores/as están obligados a comprobar que su envío cumpla todos los elementos que se muestran a continuación. Aquellos envíos que no cumplan con estas directrices serán devueltos a los autores/as.

- El envío no ha sido publicado previamente ni se ha enviado previamente a otra revista.
- El archivo enviado está en procesador de palabras, sin contraseña de lectura.
- Se ha incluido el número de identificación normalizado ORCID de los(as) autores(as).
- El texto tiene interlineado doble; el tamaño de fuente es 12 puntos; se usa cursiva en vez de subrayado (exceptuando las direcciones URL).
- Todas las ilustraciones, figuras y tablas podrán estar dentro del texto en el sitio que les corresponde, o indicar, por ejemplo: "Figura 1, aquí". Las imágenes, si las hay, se incluirán

en archivos separados en formato TIFF o JPG. Es indispensable anexar las gráficas, tablas o cuadros en hoja de cálculo por separado.

- El texto cumple con los requisitos bibliográficos y de estilo indicados en las Normas para autores/as, que se pueden encontrar en la sección: Sobre la revista.
- Bibliografía gestionada electrónicamente y con hipervínculos activos a los DOI respectivos, en todos los casos que así corresponda.
- Si está enviando a una sección de la revista que se revisa por pares, asegurarse de que las instrucciones en garantizar una evaluación por pares anónima han sido seguidas.

### Declaración de privacidad

Los nombres y direcciones de correo-e introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines declarados por la revista y no estarán disponibles para ningún otro propósito u otra persona.

— o o o —

*Estos lineamientos, que actualizan los establecidos el 12 de febrero de 2018, fueron aprobados por el Comité Científico y el Comité Editorial de Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología, el 18 de abril de 2022, y se reflejarán en los contenidos que se publiquen a partir del segundo semestre de 2022.*

*Fecha de la última actualización: 15 de diciembre de 2023.*



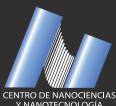




Coordinación de la  
Investigación Científica



COORDINACIÓN  
DE HUMANIDADES



**ICAT**  
Instituto de Ciencias  
Aplicadas y Tecnología

