



# Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera

División de estudios de posgrado

Maestría en Ciencias y Tecnología de la Madera

Tesis

**“Síntesis de nanoestructuras de carbono de la colofonia de *Pinus*  
sp y su efecto en el proceso de germinación *Prosopis glandulosa*”**

Que para obtener el grado de Maestro en Ciencias y Tecnología de la Madera

Presenta:

**QFB. Juan Luis Ignacio De la Cruz.**

Asesora:

**Dra. Lada Domratcheva Lvova**

Co-Asesor:

**Dr. Juan Manuel Sánchez Yáñez**

Morelia Michoacán a diciembre de 2021.

## **Agradecimientos**

Se agradece el apoyo brindado para el desarrollo de esta investigación a:

- La Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y a la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería y Tecnológica de la Madera por la aceptación al programa.
- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología 2019-21 por el apoyo de la beca.
- La Universidad Veracruzana y al Centro de Investigaciones en Micro y Nanotecnología.
- Al Instituto Tecnológico de Morelia y al Departamento de Posgrado de la carrera de Ingeniería en Materiales.
- La Universidad Nacional Autónoma de México-ENES Campus Morelia.
- Al Instituto de Investigaciones Metalúrgicas de la UMSNH, Morelia, Mich,
- La empresa Bionutra S.A de C.V., Maravatío, Mich, México por financiar parte de este trabajo.

## Resumen

En la actualidad, la síntesis y estudio de materiales a escala nanométrica como los nanotubos de capa múltiple y única, esferas de carbono, tienen gran interés por poseer propiedades físicas, químicas y mecánicas únicas, que los hace excelentes candidatos con un alto potencial en diferentes campos de la ciencia e ingeniería. Es común que durante la síntesis se utilicen precursores orgánicos derivados del petróleo debido a que han sido utilizados exitosamente, sin embargo, son compuestos no renovables, costosos y que pueden causar negativas en el ambiente. Por lo que es necesario buscar nuevas alternativas como fuentes de carbono, que sean renovables, de fácil acceso y degradables en la naturaleza, que simultáneamente por el método de deposición química de vapor (CVD) se reduzca o elimine la cantidad de desechos tóxicos producidos durante el proceso de síntesis mediante la consideración de los principios de la química verde.

Así en este trabajo se propuso como solución ecológica sintetizar nanoestructuras de carbono (CNs) a partir de la colofonia de *Pinus* sp como precursor orgánico renovable por la técnica CVD evaluado por los principios de la química verde. Para ello, la colofonia se usó como fuente de carbono por el método CVD, como catalizador una barra de acero inoxidable AISI 304 y el argón como gas de arrastre. Los materiales resultantes se caracterizaron por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), Espectroscopia de Energía Dispersa (EDS), Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), Espectroscopia Raman y Difracción de Rayos X (DRX). En invernadero semillas de *Prosopis glandulosa* (mezquite) se inocularon con géneros y especies de bacterias endófitas promotoras de crecimiento vegetal (BEPCV): *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* potenciadas con las CNs sintetizadas y el fertilizante nitrogenado (FN) al 50%, mediante las variables-respuesta: porcentaje de germinación, fenología y biomasa fresca y seca a plántula, los datos experimentales fueron analizados por ANOVA/Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Los resultados de las micrografías SEM mostraron la presencia de micro y nanoesferas de carbono, en tanto que el análisis EDS indicó que estas nanoestructuras contienen un alto porcentaje de carbono, así como oxígeno y trazas de metales. Mientras que FTIR mostró la presencia de grupos funcionales de tipo: C=C, OH, C=O y CH<sub>3</sub>. Las bandas típicas de las esferas de carbono (CSs) fueron observadas por espectroscopia Raman.

En relación al tratamiento de las semillas de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* plus 10 ppm de CSs y el FN al 50%, los resultados mostraron el 95.8% de germinación, valor numérico con diferencia estadística con el 62.5 y 66.6% de *P. glandulosa* sin inocular, tratadas con 10 y 20 ppm de las CSs más el FN al 50%; y con el 70.8% de *P. glandulosa* sin inocular, ni con las CSs y el FN al 100% (control relativo). Mientras que en la fenología y biomasa a nivel de plántula, *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* potenciadas por 10 o 20 ppm de CSs plus el FN al 50% registró valores estadísticamente diferentes en relación a la misma planta sin inocular, ni tratar solo con el FN al 100% o CR. Estos resultados apoyan que las CSs potenciaron las fitohormonas de *B. thuringiensis* y *M. echinospora* de los exudados de la semilla y raíz con lo que se mejoró la germinación y crecimiento de *P. glandulosa*.

**Palabras clave:** nanoestructuras de carbono, precursor orgánico, descomposición catalítica, mezquite, crecimiento vegetal.

## Abstract

Actually, the synthesis and study of nanoscale materials such as multilayer and single layer nanotubes, carbon spheres, are of great interest because of their unique physical, chemical and mechanical properties. This makes these nanostructures have a high potential in different fields of science and engineering. It is common that during the synthesis organic precursors derived from petroleum are used because they have been successfully used, however, they are non-renewable, expensive and can cause negative effects on the environment. Therefore, it is necessary to look for new alternatives as carbon sources, which are renewable, easily accessible and degradable in nature, which by the method of chemical vapor deposition (CVD) reduces or eliminates the amount of toxic waste produced during the synthesis process by considering the principles of green chemistry.

In the present work it is proposed as an environmental solution to synthesize carbon nanostructures from the rosin of *Pinus* sp as a renewable organic precursor by the CVD technique evaluated by the principles of green chemistry. For this purpose, rosin was used as carbon source by CVD method, AISI 304 stainless steel rod as catalyst and Argon as carrier gas. The resulting materials were characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM), Energy Dispersive Spectroscopy (EDS), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Raman Spectroscopy and X-Ray Diffraction (XRD). In greenhouse seeds of *Prosopis glandulosa* (mesquite) were inoculated with genera and species of endophytic plant growth promoting bacteria: *Bacillus thuringiensis* and *Micromonospora echinospora* enhanced with the synthesized carbon nanostructures and nitrogen fertilizer (NF) at 50%, using the only variable-response: germination percentage, the experimental data were analyzed by ANOVA/Tukey ( $P \leq 0.05$ ). SEM micrographs results showed the presence of carbon microspheres and nanospheres, while EDS analysis indicated that these nanostructures contain a high percentage of carbon, as well as oxygen and trace metals. While FTIR showed the presence of C=C, OH, C=O and CH<sub>3</sub> functional groups. Typical bands of carbon spheres (CSs) were observed by Raman spectroscopy.

In relation to the treatment of *P. glandulosa* seeds with *B. thuringiensis* and *M. echinospora* plus 10 ppm CSs and 50% NF, the results showed 95.8% germination, numerical value with statistical difference with 62.5 and 66.6% of *P. glandulosa* without inoculation,

treated with 10 and 20 ppm of CSs; and with 70.8% of *P. glandulosa* without inoculation, nor potentiation with CSs and 100% NF (relative control). While in phenolgia and biomass at the plant level, *P. glandulosa* with *B. thuringiensis* and *M. echinospora* plus 10 or 20 ppm of CSs plus 50% NF registered statistically different values in relation to the same plant without inoculation, nor treated only with 100% NF or RC. These results support that CSs potentiated *B. thuringiensis* and *M. echinospora* phytohormones from seed exudates thereby enhancing germination and growth of *P. glandulosa*.

**Key words:** carbon nanostructures, organic precursor, catalytic decomposition, mesquite, plant growth.

## Índice general

Resumen	III	
Abstract	V	
Índice general	VII	
Índice de figuras	X	
Índice de Tablas	XII	
Índice de ecuaciones	XII	
Abreviaturas	XIII	
Capítulo 1 Introducción	14	
1.1 Objetivos		16
1.1.1 Objetivo general		16
1.1.2 Objetivos específicos		16
1.2 Justificación		16
1.3 Hipótesis		17
Capítulo 2 Marco teórico	18	
2.1 Nanociencia y Nanotecnología		18
2.2 Nanoestructuras de carbono		18
2.3 Clasificación de nanoestructuras de carbono		18
2.3.1 Fullerenos		18
2.3.2 Grafeno		20
2.3.3 Nanotubos de carbono		21
2.4 Esferas de carbono		25
2.5 Métodos para la síntesis de nanoestructuras de carbono		26
2.5.1 Ablación láser		26
2.5.2 Descarga por arco eléctrico		27
2.5.3 Deposición química de vapor		28
2.6 Técnicas de caracterización		29
2.6.1 Microscopía electrónica de barrido		29
2.6.2 Microscopía de dispersión de energía		31
2.6.3 Espectroscopía infrarroja		31
2.6.4 Espectroscopía Raman		32
2.6.5 Difracción de Rayos X		34
2.7 Química verde		35

2.8	Uso de precursores orgánicos en la síntesis de nanoestructuras de carbono	37
2.9	Aplicación de las nanoestructuras de carbono	39
2.10	Generalidades de <i>Prosopis glandulosa</i>	40
Capítulo 3 Metodología		42
3.1	Síntesis de nanoestructuras de carbono	42
3.2	Descripción de reactivos y materiales	44
3.3	Equipo utilizados para la caracterización	44
3.3.1	Microscopía electrónica de barrido/ Microscopía de emisión de campo	44
3.3.2	Espectroscopia por transformada de Fourier	45
3.3.3	Espectroscopía Raman	46
3.3.4	Difracción de Rayos X	46
3.4	Tratamiento de semillas de <i>Prosopis glandulosa</i>	47
3.4.1	Condiciones experimentales del invernadero	48
3.4.2	Origen y análisis del suelo empleado	48
3.4.3	Activación de las bacterias endófitas promotoras de crecimiento vegetal	49
3.4.4	Escarificación y desinfección de las semillas de <i>Prosopis glandulosa</i>	50
3.4.5	Tratamiento de las semillas con las nanoestructuras y las bacterias endófitas	50
3.4.6	Análisis estadístico	51
Capítulo 4 Resultados y discusión		52
4.1	Caracterización de las nanoestructuras de carbono obtenidas de la colofonia por CVD con o en ausencia de catalizador durante 60 min	52
4.1.1	Análisis por Microscopia electrónica de barrido y Espectroscopia de energía dispersa	52
4.1.2	Análisis Espectroscopia por transformada de Fourier	55
4.1.3	Análisis por Espectroscopía Raman	55
4.1.4	Análisis por Difracción de Rayos X	57
4.2	Caracterización de las nanoestructuras de carbono a partir de la colofonia por CVD con o en ausencia de catalizador a 30 min.	58
4.2.1	Análisis por Microscopia electrónica de barrido y Espectroscopia de energía dispersa	58
4.2.2	Análisis Espectroscopia por transformada de Fourier	61
4.2.3	Análisis por Espectroscopía Raman	61
4.2.4	Análisis por Difracción de Rayos X	62
4.3	Efecto de nanoestructuras de carbono plus <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> en la germinación de <i>Prosopis glandulosa</i> .	64

4.4 Proceso evaluador de las nanoestructuras de carbono con la química verde	70
Conclusiones	72
Actividades de difusión	73
Referencias	74
Anexos	88

## Índice de figuras

FIGURA 1 TIPOS DE FULLERENOS: A) C <sub>60</sub> , B) C <sub>70</sub> Y C) C <sub>76</sub> [29].....	19
FIGURA 2 ESQUEMA DEL GRAFENO Y SUS DIFERENTES FORMAS ALOTRÓPICAS [36] .....	20
FIGURA 3 TIPOS DE NANOTUBOS DE CARBONO DE CAPA ÚNICA (SWCNTs) Y MÚLTIPLE (MWCNTs) [44].....	22
FIGURA 4 VECTORES UNITARIOS Y VECTOR QUIRAL [48].....	23
FIGURA 5 TIPOS DE ESTRUCTURAS DE NANOTUBOS: A) ARMCHAIR, B) ZIGZAG Y C) QUIRAL [48] .....	23
FIGURA 6 MORFOLOGÍA DE NANOTUBOS DE CAPA MÚLTIPLE [51] .....	24
FIGURA 7 ESQUEMA DE LAS ORIENTACIONES RADIALES, CONCÉNTRICAS Y ALEATORIAS DE LAS CAPAS DE ESFERAS DE CARBONO [55].....	25
FIGURA 8 ESTRUCTURA DE ANILLOS DE HOJAS DE GRAFITO: A) HEXAGONAL, PENTAGONAL Y HEPTAGONAL, Y B) FORMACIÓN DE ESFERA DE CARBONO [58] .....	26
FIGURA 9 MONTAJE EXPERIMENTAL DE LA ABLACIÓN LASER EN AGUA [61] .....	27
FIGURA 10 DIAGRAMA DE DESCARGA ELÉCTRICA .....	28
FIGURA 11 ESQUEMA DEL MÉTODO DE DEPOSICIÓN QUÍMICA DE VAPOR [69].....	29
FIGURA 12 COMPONENTES DE UN MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO.....	30
FIGURA 13 PARTES DE UN ESPECTROSCOPIO FTIR .....	32
FIGURA 14 SALTOS ENERGÉTICOS DE UN ELECTRÓN [80] .....	33
FIGURA 15 DIFRACTÓMETRO DE RAYOS X .....	34
FIGURA 16 <i>PROSOPIS GLANDULOSA</i> (MEZQUITE).....	41
FIGURA 17 REACTOR DE CVD.....	42
FIGURA 18 A) SEM DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE MORELIA Y B) SEM CAMPUS UNAM, MORELIA.....	45
FIGURA 19 ESPECTROFOTÓMETRO INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER .....	46
FIGURA 20 ESPECTROFOTÓMETRO RAMAN .....	46
FIGURA 21 DIFRACTÓMETRO DE RAYOS X .....	47
FIGURA 22 DIAGRAMA DE LA SÍNTESIS DE CNS A PARTIR DE LA COLOFONIA Y SU EFECTO EN LA GERMINACIÓN DE <i>PROSOPIS GLANDULOSA</i> .....	48
FIGURA 23 MICROGRAFÍAS SEM DE LAS CNS OBTENIDAS DE LA COLOFONIA POR CVD CON CATALIZADOR A: A) 750, B) 800, C) 850 Y 950°C/60 MIN.....	53
FIGURA 24 MICROGRAFÍAS SEM DE LAS CSS OBTENIDAS DE LA COLOFONIA POR CVD SIN CATALIZADOR A: A) 750 Y B) 800°C/60 MIN .....	53
FIGURA 25 ANÁLISIS EDS DE LAS CNS A PARTIR DE LA COLOFONIA A: A) 750, B) 800, C) 850 Y 950°C/60 MIN .....	54
FIGURA 26 ANÁLISIS FTIR DE LAS CNS OBTENIDAS POR CVD USANDO UNA BARRA DE ACERO COMO CATALIZADOR A 60 MIN .....	55
FIGURA 27 ESPECTRO RAMAN DE LAS CNS USANDO LA COLOFONIA COMO PRECURSOR VERDE Y UNA BARRA DE ACERO COMO CATALIZADOR POR 60 MIN .....	56
FIGURA 28 ESPECTRO XRD DE LAS NANOESTRUCTURAS OBTENIDAS DE LA COLOFONIA POR CVD USANDO UNA BARRA DE ACERO COMO CATALIZADOR A 60 MIN .....	57
FIGURA 29 MICROGRAFÍAS SEM DE CNS DE LA COLOFONIA POR CVD CON CATALIZADOR DURANTE 30 MIN A: A) 750, B) 800, C) 850 Y 950°C/30 MIN .....	58
FIGURA 30 MICROGRAFÍAS SEM DE CNS DE LA COLOFONIA POR CVD SIN CATALIZADOR POR 30 MIN: A) 750, 800, 850 Y 900°C/30 MIN.....	59

FIGURA 31 ANÁLISIS EDS DE LAS CNS A PARTIR DE LA COLOFONIA OBTENIDAS A: A) 750°C, 800°C, 850°C Y 900°/30 MIN .....	60
FIGURA 32 ANÁLISIS FTIR DE MUESTRAS OBTENIDAS DE LA COLOFONIA DURANTE 30 MINUTOS POR EL MÉTODO DE CVD USANDO UNA BARRA DE ACERO COMO CATALIZADOR. ....	61
FIGURA 33 ESPECTRO RAMAN DE LAS CNS DE LA COLOFONIA POR CVD Y UNA BARRA DE ACERO A 30 MIN. ....	62
FIGURA 34 ESPECTRO XRD DE LAS NANOESTRUCTURAS DE CARBONO DE LA COLOFONIA POR CVD CON CATALIZADOR A 30 MIN. ....	63
FIGURA 35 RESPUESTA DE <i>P. GLANDULOSA</i> A <i>B. THURINGIENSIS</i> Y <i>M. ECHINOSPORA</i> POTENCIADAS CON CSS Y FN AL 50%.....	65
FIGURA 36 CRECIMIENTO DE <i>P. GLANDULOSA</i> CON <i>B. THURINGIENSIS</i> Y <i>M. ECHINOSPORA</i> PLUS CSS Y FN AL 50% A NIVEL DE PLÁNTULA. ....	69

## Índice de Tablas

TABLA 1 CONDICIONES EXPERIMENTALES PARA LA SÍNTESIS DE NANOESTRUCTURAS DE CARBONO POR EL MÉTODO DE CVD. ....	43
TABLA 2 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DEL SUELO AGRÍCOLA .....	49
TABLA 3 DISEÑO EXPERIMENTAL PARA EVALUAR EL EFECTO DE LAS NANOESTRUCTURAS DE CARBONO CON <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> Y <i>MICROMONOSPORA ECHINOSPORA</i> EN LA GERMINACIÓN DE <i>PROSOPIS GLANDULOSA</i> .....	51
TABLA 4 DATOS DEL ESPECTRO RAMAN DE LAS CNS POR CVD CON CATALIZADOR A 60 MIN .....	57
TABLA 5 DATOS DEL ESPECTRO RAMAN DE CNS DE LA COLOFONIA POR CVD CON CATALIZADOR DURANTE 30 MIN.....	62
TABLA 6 PORCENTAJE DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE <i>P. GLANDULOSA</i> CON <i>B. THURINGIENSIS</i> Y <i>M. ECHINOSPORA</i> POTENCIADOS CON NANOESTRUCTURAS DE CARBONO. ....	64
TABLA 7 CRECIMIENTO DE <i>PROSOPIS GLANDULOSA</i> CON <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> Y <i>MICROMONOSPORA ECHINOSPORA</i> EN LA FENOLOGÍA A PLÁNTULA CON ESFERAS DE CARBONO Y EL FN AL 50%.....	66
TABLA 8 CRECIMIENTO DE <i>PROSOPIS GLANDULOSA</i> EN LA BIOMASA A PLÁNTULA CON <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> Y <i>MICROMONOSPORA ECHINOSPORA</i> PLUS ESFERAS DE CARBONO Y EL FN AL 50% .....	68

## Índice de ecuaciones

Ecuación 1 .....	23
Ecuación 2 ley de braag.....	35

## Abreviaturas

<b>Θ</b>	Angulo quiral	<b>DXR</b>	Difracción de rayos X
<b>μm</b>	Micrómetro	<b>Ec</b>	Ecuación
<b>Å</b>	Angstrom	<b>EDS</b>	Espectroscopía de energía dispersa
<b>BEPCV</b>	Bacterias promotoras de crecimiento vegetal	<b>EPA</b>	Environmental protection agency
<b>C=C</b>	Carbono doble enlace	<b>FN</b>	Fertilizante nitrogenado
<b>C=O</b>	Carbono oxígeno doble enlace	<b>FTIR</b>	Espectroscopia de infrarrojo por trasformada de Fourier
<b>CA</b>	Control absoluto	<b>He</b>	Configuración electrónica
<b>CH<sub>3</sub></b>	Grupo metil	<b>IR</b>	Espectroscopia infrarrojo
<b>CNs</b>	Nanoestructuras de carbono	<b>Kg</b>	Kilogramos
<b>CNTs</b>	Nanotubos de carbono	<b>MWCNTs</b>	Nanotubos de carbono de pared múltiple
<b>CR</b>	Control relativo	<b>Nm</b>	Nanómetro
<b>CSs</b>	Esferas de carbono	<b>OH</b>	Grupo hidroxilo
<b>CVD</b>	Deposición química de vapor	<b>SWCNTs</b>	Nanotubos de carbono de pared única

## Capítulo 1 Introducción

La síntesis y estudio de materiales a escala nanométrica como los nanotubos de pared única y múltiple, nanofibras, esferas de carbono, etc. [1], han incrementado debido a las propiedades físicas, químicas y mecánicas únicas que presentan tales como: una alta estabilidad térmica, excelente conductividad eléctrica, alta resistencia a la tensión y baja reactividad [2]. Ventajas que los hacen excelentes candidatos para la aplicación y explotación en diversos campos científicos y tecnológicos [3].

La alta demanda de nanoestructuras de carbono (CNs) ha generado que durante la síntesis se utilicen precursores orgánicos derivados del petróleo [4], que son compuestos no renovables, costosos y que pueden causar efectos adversos al ambiente [5]. Aunado a que, durante la producción de estos nanomateriales se utilizan técnicas como: el arco eléctrico, la ablación laser, electrolisis, spray pirolisis, que requieren de reactivos y equipos especializados, además de causar residuos sólidos en el producto final que posteriormente requiere una purificación adicional, con lo que aumenta el costo de la producción y tiempo [6,7].

En la actualidad, debido al impacto que tiene la síntesis de las CNs en el ambiente, se buscan nuevas alternativas para la producción de estos nanomateriales como la fuente de carbono, que sean renovable, de fácil acceso y degradable en la naturaleza, mientras que el método de síntesis reduzca o elimine la cantidad de desechos tóxicos producidos en el proceso de producción de las CNs [8]. Lo que puede ser posible mediante la consideración y aplicación de los principios de la química verde [9,10].

Una alternativa solución ecológica en la síntesis de nanomateriales de carbono es la colofonia de *Pinus* sp por ser un precursor orgánico verde renovable, accesible y de bajo costo [11,12], mediante el método de deposición química de vapor (CVD) [13,14], debido a la versatilidad que presenta en cuanto al uso de distintas fuentes de carbono, catalizadores y condiciones de proceso, así como tener un rendimiento mayor en comparación con otras técnicas y el bajo costo [15,16].

En la literatura se reporta exitosamente el uso de nanomateriales a base de carbono y de metales como la plata, el oro y el cobre [17,18], para la remediación ambiental, la industria alimenticia, la aeronáutica, la ingeniería automotriz, entre otros [19,20,21]. Con ello, el creciente interés de que las CNs puedan ser empleadas en áreas poco exploradas por el ser

humano como la agricultura forestal, donde se podría revolucionar el sistema de cultivo a través de la utilización eficiente del agua, la reducción de fertilizantes químicos, la protección contra insectos y enfermedades. Por lo anterior, en la presente investigación se propuso utilizar el potencial de las CNs sintetizadas como un enfoque en la nueva revolución verde para mejorar la germinación de leguminosas como *Prosopis glandulosa* (mezquite).

## 1.1 Objetivos

### 1.1.1 Objetivo general

Sintetizar nanoestructuras de carbono a partir de la colofonia de *Pinus* sp mediante el método de deposición química de vapor aplicando los principios de la química verde y evaluar el efecto de estas nanoestructuras en la germinación de *P. glandulosa*.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- a) Sintetizar nanoestructuras de carbono de la colofonia de *Pinus* sp por el método de deposición química de vapor variando tiempo y temperatura de síntesis; aplicando los principios de la química verde como protocolo evaluador.
- b) Caracterizar las nanoestructuras de carbono por diferentes técnicas microscópicas y espectroscópicas.
- c) Analizar los resultados y proponer las mejores condiciones para la síntesis de los nanomateriales de carbono.
- d) Evaluar el efecto de las nanoestructuras de carbono en la germinación de *P. glandulosa*.

## 1.2 Justificación

Las nanoestructuras de carbono conciernen en numerosas aplicaciones en los campos de la ciencia e ingeniería. Esto ha generado una creciente demanda en la producción de nanomateriales mediante precursores no renovables como los hidrocarburos del petróleo. Al mismo tiempo, los métodos que se utilizan para la síntesis requieren de reactivos y catalizadores específicos que pueden generar desechos tóxicos al ambiente, los cuales sobrepasan la disposición o reutilización de las materias primas. En contraste, es necesario encontrar precursores orgánicos verdes cuya emisión de residuos sólidos se reduzca en la síntesis de nanoestructuras de carbono y minimizar el daño al ambiente. En este trabajo se propuso un proceso de síntesis verde para la generación de materiales nanoestructurados de carbono que aplicados en semillas de *Prosopis glandulosa* (mezquite) causen un efecto positivo durante la germinación.

### 1.3 Hipótesis

Es posible sintetizar nanoestructuras de carbono a partir de la colofonia de *Pinus* sp mediante el método de deposición química de vapor aplicando los principios de la química verde y evaluar el efecto de estas nanoestructuras en la germinación de *P. glandulosa*.

## Capítulo 2 Marco teórico

### 2.1 Nanociencia y Nanotecnología

La Nanociencia del prefijo “nano” proveniente del griego “enano” se emplea comúnmente para referirse al estudio de los fenómenos y el manejo de la materia a escala nanométrica ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ) [22], mientras que la nanotecnología se encarga del estudio, creación, diseño, síntesis, identificación, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas a través del control de la materia en dimensiones cercanas al intervalo de 1-100 nm, así como de la exploración de fenómenos y propiedades de la materia a dicha escala [23].

### 2.2 Nanoestructuras de carbono

El carbono es el cuarto elemento en mayor abundancia del universo tras el hidrógeno, helio y oxígeno; tiene un número atómico de 6, posee una configuración electrónica  $[\text{He}] 2s^2 2p^2$  y cuatro electrones de valencia que forman enlaces covalentes. Los átomos de carbono pueden adoptar tres tipos de hibridación de orbitales:  $sp^3$ ,  $sp^2$  y  $sp$ , que dan lugar a una amplia variedad de formas alotrópicas de carbono como el diamante y el grafito que presentan interesantes propiedades físicas y químicas. Sin embargo, en las últimas décadas se han ido descubriendo otras nuevas formas: fullerenos, grafeno, nanotubos y esferas de carbono, entre otros [24,25].

### 2.3 Clasificación de nanoestructuras de carbono

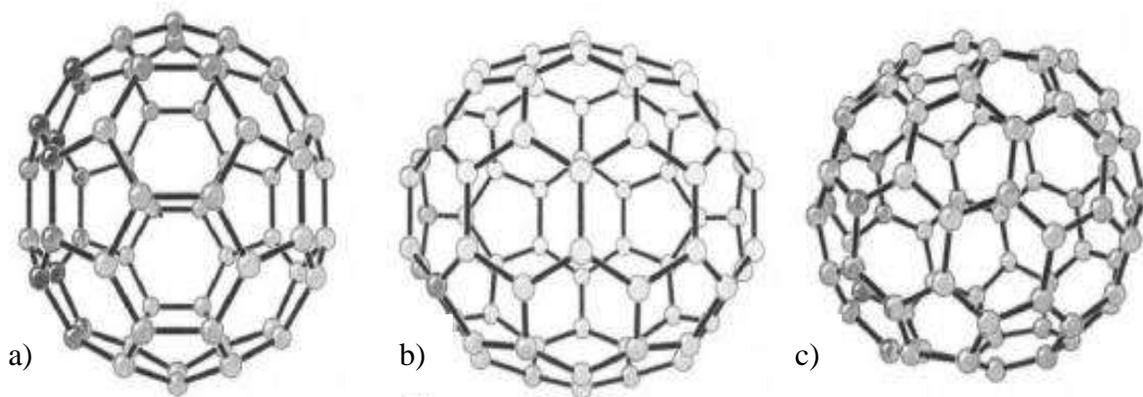
#### 2.3.1 Fullerenos

Los fullerenos fueron descubiertos por Harold Kroto, Robert Curl y Richard Smalley en 1985, hecho por el cual los investigadores recibieron el premio Nobel de Química en 1996 [26]. Estas moléculas están constituidas principalmente por un número par de átomos de carbono con hibridación  $sp^2$  y unidos por enlaces covalentes, formado por “n” anillos pentagonales y “m” anillos hexagonales [27].

Los fullerenos son moléculas esféricas grandes, la más común es la molécula  $C_{60}$ , sin embargo, existen otras del tipo  $C_{70}$ ,  $C_{76}$ ,  $C_{84}$  (figura 1) [28,29,30]. La estructura del fullereno  $C_{60}$  es una molécula que consta de 60 átomos de carbono, los cuales forman 12 pentágonos y 20 hexágonos dando origen a la forma de una pelota de fútbol. La propiedad

más importante de la molécula  $C_{60}$  es la alta simetría, pues presenta 120 operaciones, tales como rotaciones de eje o reflexiones en el plano del tipo:  $C_2$ ,  $C_3$  y  $C_5$ . Este último se considera como el que pasa a través de los centros de dos pentágonos como se muestra en la figura 3. Como hay 12 pentágonos, se tienen seis diferentes ejes 5 (cada eje pasa a través de dos pentágonos). Además, hay 20 hexágonos con 10 diferentes ejes 3, así como 30 bordes entre los hexágonos con 15 diferentes ejes 2, pues los planos espejo tienen dos bordes. Finalmente, la molécula  $C_{60}$  tiene un centro de inversión. Al combinar todas estas transformaciones se pueden encontrar las 120 diferentes operaciones de simetría [31].

La familia de los fullerenos incluye una serie de estructuras esféricas o elípticas compuestas de distinto número de átomos de carbono. Las esferas de fullereno tienen diámetros de 7-15 angstrom ( $\text{\AA}$ ), el cual es 6-10 veces mayor que el diámetro de un átomo típico. A nivel atómico son enormes, pero en realidad son pequeños en comparación con muchas moléculas orgánicas. Los fullerenos son bastante estables puesto que para destruirlos se necesitan temperaturas mayores de  $1000^\circ\text{C}$ , mientras que a temperaturas más bajas, los fullerenos se subliman sin destrucción de las esferas. Químicamente la molécula  $C_{60}$  es muy electronegativa y forma fácilmente compuestos con átomos donadores de electrones. Una combinación obvia es la molécula  $C_{60}$  y un metal alcalino, ya que los metales alcalinos son muy electropositivos [32,33].

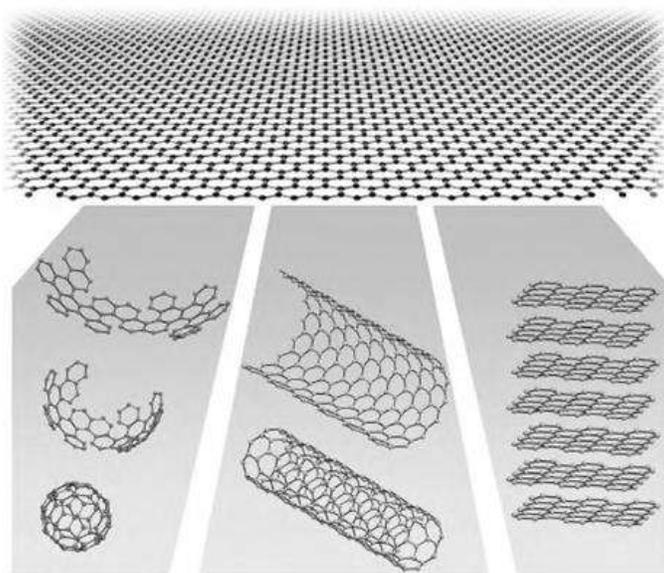


**Figura 1** Tipos de Fullerenos: a)  $C_{60}$ , b)  $C_{70}$  y c)  $C_{76}$  [29]

### 2.3.2 Grafeno

En el año 2004, los físicos Andre K. Geim y Konstantin S. Novoselov, mediante el método de exfoliación mecánica de grafito, utilizando una cinta adhesiva lograron aislar y caracterizar una estructura nanométrica que denominaron grafeno, trabajo con lo que en el año 2010 recibieron el Premio Nobel de Física, tiempo en el que este material comenzó a generar interés en el resto de los científicos [34].

El grafeno se define como una fina lámina plana de átomos de carbono con hibridación  $sp^2$  en dos dimensiones (2D), formando una estructura similar a un panal de abeja, condición que puede apilarse para formar grafito (3D), enrollarse para formar nanotubos de carbono (1D) o envolverse para formar fullerenos (0D) (figura 2) [35,36]. De acuerdo a diversas investigaciones el grafeno por la configuración o arreglo peculiar que posee, se desprenden propiedades electrónicas, mecánicas y químicas excepcionales que lo convierten en un material ideal para aplicaciones en dispositivos eléctricos, transistores, electrodos transparentes, sensores, dispositivos para almacenamiento de energía, etc. Además, presenta gran flexibilidad y área superficial, es funcionalizado fácilmente y es biocompatible [37,38].



**Figura 2** Esquema del grafeno y sus diferentes formas alotrópicas [36]

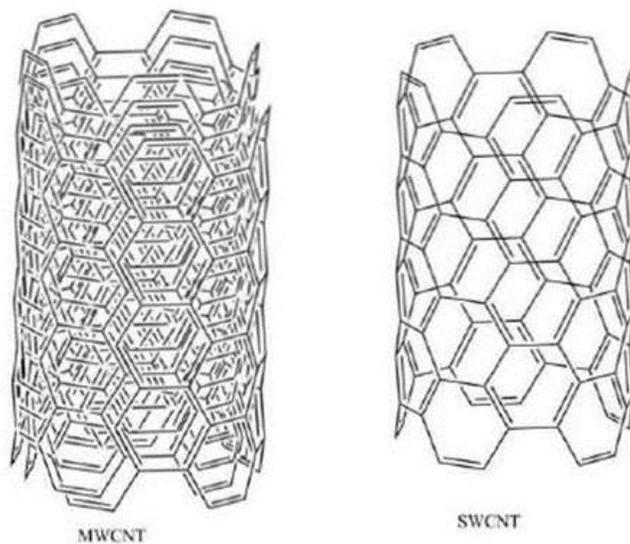
### **2.3.3 Nanotubos de carbono**

Los nanotubos de carbono (CNTs) son alótopos del carbono, como el diamante, el grafito o los fullerenos, descubiertos accidentalmente por el Dr. Sumio Iijima (Japón) en 1991 por medio de la descarga de arco, ya que en un principio se pensó que eran fullerenos. Sin embargo se encontró con estructuras tubulares procedentes de una lámina de grafeno enrollada sobre sí misma. Debido al grado de enrollamiento y la manera como se conforma la lámina original, mostró distintos diámetros y geometría interna [39,40].

El entendimiento de los CNTs se basa en la teoría de la descripción del grafeno, que está formado por carbono puro con átomos dispuestos en un patrón regular hexagonal similar al grafito pero en una hoja de un átomo de espesor (llamada grafeno) enrollada en un cilindro, con un diámetro del orden nanométrico. Las estructuras de los CNTs tienen micrómetros ( $\mu\text{m}$ ) de largo, y de 1-100 nm de diámetro. Las primeras muestras fueron denominadas nanotubos de pared múltiple, ya que representaban un grupo de cilíndricos concéntricos de tubos separados a 0.34 nm. Los nanotubos suelen presentar una elevada relación longitud/radio, ya que el radio suele ser inferior a un par de nm, no obstante, la longitud puede llegar a ser incluso de  $10^5$  nm. Esta dependencia hace que tengan diferente quiralidad, influyendo en sus propiedades geométricas y físicas [41,42].

#### **2.3.3.1 Clasificación de nanotubos de carbono**

Los CNTs por la existencia de anillos de carbono hexagonal, pentagonal y heptagonal de la hibridación  $sp^2$  y  $sp^3$  pueden formar una gran variedad de estructuras rectas, curvas y helicoidales. Estas últimas se pueden clasificar por la naturaleza helicoidal en: hélice simple, doble o triple, de trenza, de espiral, de bobina, de resorte, etc. Por otro lado, dependiendo del grado de enrollamiento y la manera como se conforma la lámina original, el resultado puede llevar a nanotubos rectos de diámetro y geometría interna distintos, que se pueden clasificar en dos tipos diferentes según sea el número de capas, como los nanotubos de carbono de capa única (SWCNTs) y los nanotubos de carbono de capa múltiple (MWCNTs) (figura 3) [43,44,45,46].

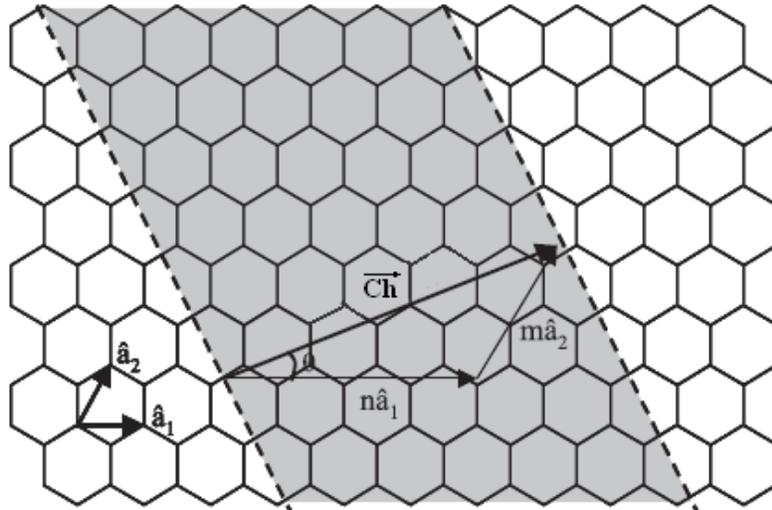


**Figura 3** Tipos de nanotubos de carbono de capa única (SWCNTs) y múltiple (MWCNTs) [44]

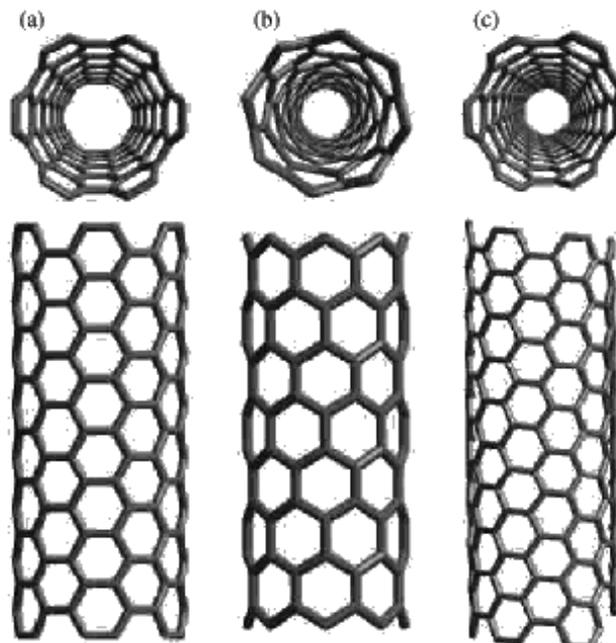
### 2.3.3.2 Nanotubos de carbono de capa única

Los SWCNTs se pueden considerar como un cilindro que resulta al enrollarse una lámina de grafeno sobre sí misma. Las dimensiones típicas del mismo son un átomo de grosor, unas decenas de átomos de circunferencia y algunas micras de longitud. En comparación con el diámetro del nanotubo, el largo del mismo es muchísimo mayor, por lo que simplemente se los suele considerar como si estos fueran elementos de una sola dimensión [47].

Las propiedades de los SWCNTs dependen principalmente de dos parámetros que son el diámetro ( $dt$ ) y el ángulo quirral ( $\Theta$ ) llamado también ángulo de helicidad, de estos dos parámetros nacen los llamados índices de Hamada, que no son más que un par de números enteros ( $n, m$ ) que describen el número de vectores unitarios a lo largo de las direcciones  $\vec{a}_1$  y  $\vec{a}_2$ , (figura 4) [48].



**Figura 4** Vectores unitarios y vector quiral [48]



**Figura 5** Tipos de estructuras de nanotubos: a) armchair, b) zigzag y c) quiral [48]

La circunferencia de cualquier nanotubo se puede expresar en términos de lo que se denomina vector quiral, comúnmente llamado  $C_h$ , el cual define la posición relativa entre dos puntos en la lámina que será enrollada  $(n, m)$  y que está dado por:

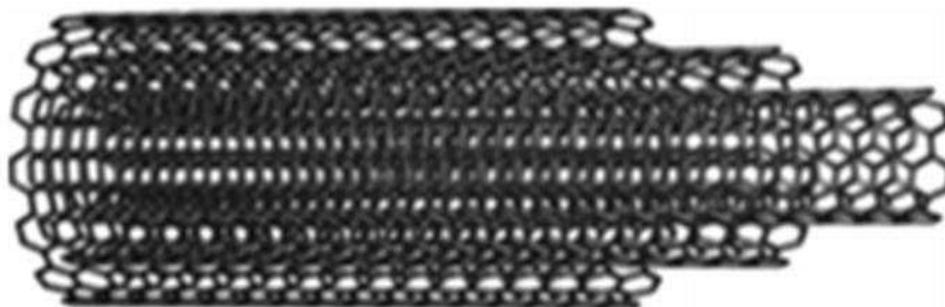
$$\vec{C}_h = n\vec{a}_1 + m\vec{a}_2 \dots\dots\dots$$

*Ec (1)*

Este vector, conecta dos posiciones equivalentes en una lámina de grafeno imaginaria, denotando la posición relativa de un par de átomos en la lámina de grafeno. Usando los índices  $(n, m)$  y los vectores de la base hexagonal  $a_1$  y  $a_2$  se define el ángulo quiral  $(\theta)$ , ángulo formado entre el vector quiral y la dirección zigzag ( $\theta= 0$ ). Se pueden generar tres tipos distintos de nanotubos por el enrollamiento de la lámina de grafeno. Los nanotubos aquirales que son, los zig-zag ( $m= 0, n>0$ ) y los armchair ( $n= m$ ), corresponden respectivamente a los ángulos de  $\theta= 0$  y  $30^\circ$ ; y los nanotubos quirales ( $0< m, 0< n$ ) corresponden a ángulos entre  $0$  y  $30^\circ$  como se observa en la figura 5 [49]. La diferencia en estos tipos de nanotubos de carbono se crea dependiendo de cómo se enrolla el grafito durante el proceso de síntesis. La elección del eje de rodadura en relación con la red hexagonal de la hoja de grafeno y el radio del cilindro de cierre permite diferentes tipos de SWCNTs. Estos vienen caracterizados por su diámetro y ángulo de quiralidad que les confieren propiedades diferentes. Así mientras que los tipos zigzag y armchair son conductores, los de tipo quiral son semiconductores. Un vector quiral está representado por un par de índices, donde dos enteros corresponden al número de vectores unitarios a lo largo de las dos direcciones en la red cristalina del grafeno en forma de panal [50].

### 2.3.3.3 Nanotubos de carbono de capa múltiple

Los MWCNTs son un conjunto de nanotubos de pared única concéntricos (figura 6) [51]. Estos nanotubos están radialmente separados por aproximadamente 0.34 nm, además poseen un diámetro externo de 10 a 50 nm. En algunas investigaciones se han observado otra clase de MWCNTs con una estructura alternativa donde los elementos se presentan como una lámina enrollada varias veces sobre sí misma, sin embargo la formación de esta estructura es poco común en el proceso de fabricación de los nanotubos [52].



**Figura 6** Morfología de nanotubos de capa múltiple [51]

## 2.4 Esferas de carbono

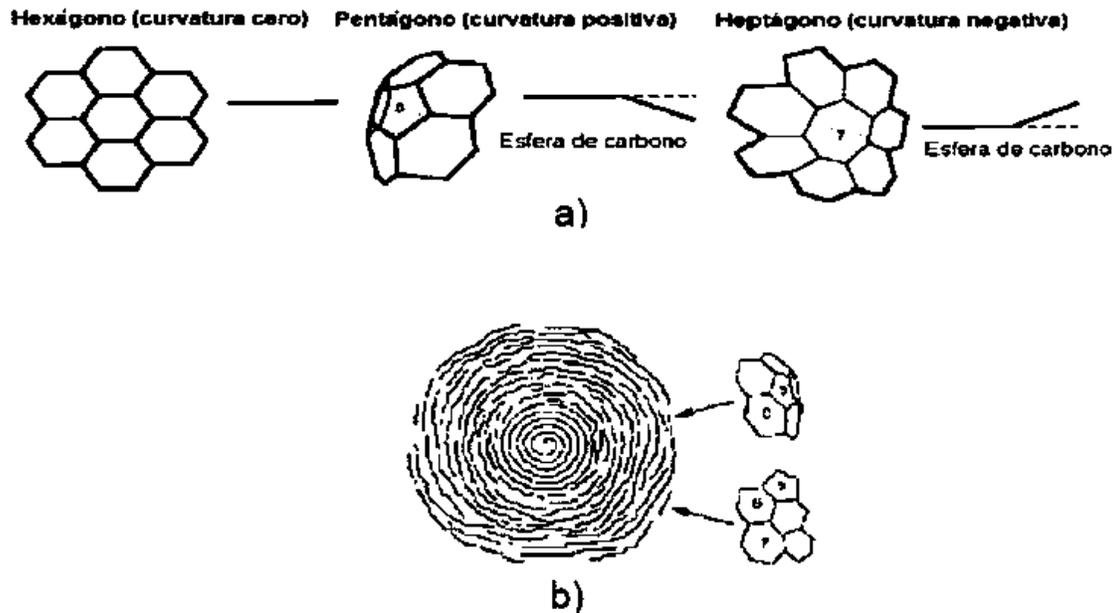
Las esferas de carbono (CSs) son alótropos que pueden sintetizarse con gran variedad de formas a escala coloidal, pues adopta fácilmente la nucleación. Las CSs pueden ser semicristalinas o cristalinas, con un diámetro menor a los 100 nm [53]. La forma esférica de las partículas se obtiene durante la síntesis y está determinada por consideraciones de minimización de la energía potencial de la misma, y se difiere de los fullerenos en que tiene más de una capa de carbono de espesor [54].

Las CSs se clasifican de acuerdo al tamaño, orientación de las capas de carbono en su interior: concéntrica, radial o al azar; la morfología: sólida, hueca o corteza-núcleo; y el método de síntesis (figura 7) [55]. Algunas formas esféricas tienden acrecentarse y formar estructuras de cuentas o collares [56]. Algunas de las estructuras incluyen: carbon black, cebollas (2-20 nm), nanoesferas (50 nm-1  $\mu\text{m}$ ), microperlas y microperlas mesoporosas de carbono (superior a 1  $\mu\text{m}$ ) [57].



**Figura 7** Esquema de las orientaciones radiales, concéntricas y aleatorias de las capas de esferas de carbono [55]

Las esferas sólidas se asocian a un proceso de nucleación a partir de un anillo de carbono pentagonal seguido de un crecimiento de revestimiento espiral. Cuando la partícula se hace más grande, los segmentos gráficos de espesor atómico se nuclean en la superficie debido a la llegada de anillos de carbono pentagonales-heptagonales (P-H). La presencia de los pares P-H en redes hexagonales es la clave para el crecimiento de grandes esferas. Las configuraciones geométricas de las hojas gráficas se pueden construir cualitativamente utilizando la combinación de anillo de carbono pentagonal, heptagonal y hexagonal (figura 8) [58].



**Figura 8** Estructura de anillos de hojas de grafito: a) hexagonal, pentagonal y heptagonal, y b) formación de esfera de carbono [58]

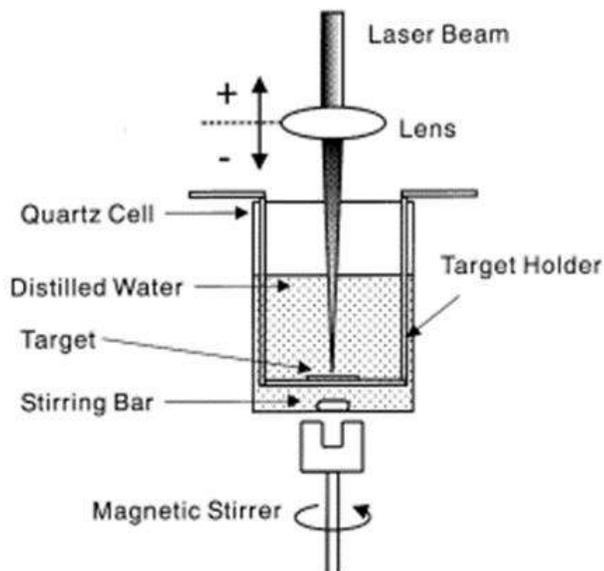
## 2.5 Métodos para la síntesis de nanoestructuras de carbono

Para la síntesis de materiales nanométricos de carbono se conocen diversas técnicas como la ablación láser, descarga por arco eléctrico y deposición química de vapor (CVD), de las que su proceso es de forma catalítica con una fuente de carbono elemental usando el grafito o algún compuesto con alto contenido de carbono, un catalizador de hierro, cobre, etc., que sea la base del crecimiento del material, una transferencia de energía y una atmosfera inerte con gas como el argón o helio [59,60].

### 2.5.1 Ablación láser

La ablación o vaporización láser, es uno de los procesos físicos más utilizados para la nanofabricación de materiales (figura 9) [61]. Este método consiste en la incidencia de un láser en un blanco de grafito con partículas de metales como catalizador dentro de un tubo de cuarzo y un reactor a alta temperatura bajo una atmósfera inerte. La obtención de formas geométricas de carbono como los nanotubos se forman cuando el blanco de grafito es vaporizado por el haz de láser, que luego es arrastrado por el flujo de argón (gas inerte) a través del reactor calentado en el horno a temperaturas que pueden alcanzar los 1200°C,

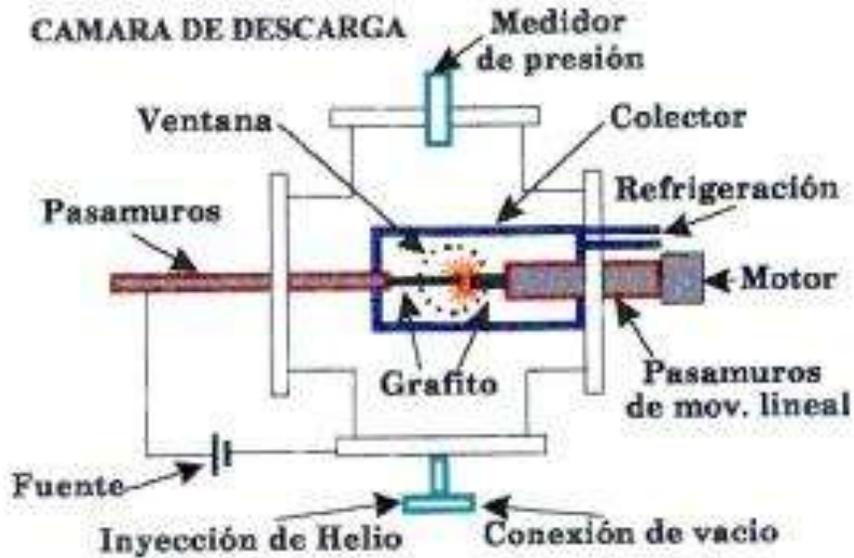
enseguida el material se condensa sobre la superficie fría del colector, donde comienza la formación de los CNTs. Con el uso de la ablación laser es posible obtener rendimientos menores al 75% de nanotubos en un periodo corto, con alta pureza [62,63,64].



**Figura 9** Montaje experimental de la ablación laser en agua [61]

### 2.5.2 Descarga por arco eléctrico

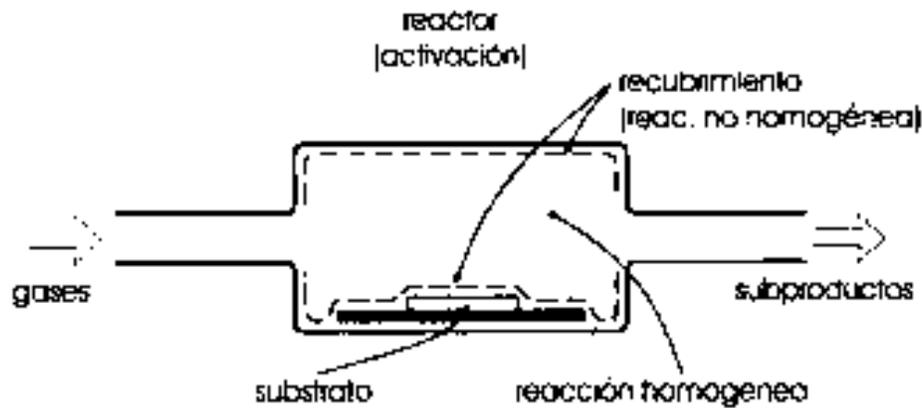
El método de descarga por arco eléctrico (figura 10) [65], es utilizado para la síntesis de nanoestructuras tubulares que consiste en dos barras de grafito (ánodo y cátodo) con distintos diámetros de 0.5 hasta 40 mm conectados a una fuente de voltaje, separadas por menos de un centímetro, con un arco de corriente de aproximadamente  $120 \text{ \AA}$  dentro de una atmosfera inerte por helio entre 50 y 700 mbar. Esto origina un plasma caliente donde el carbono del ánodo se evapora debido a las altas temperaturas (2000 y  $3000^\circ\text{C}$ ), enseguida parte del mismo carbono se deposita en el cátodo pero en forma de CNTs y otras formas alotrópicas. Por esta técnica es posible obtener rendimientos bajos y altos dependiendo de la fuente de carbono, catalizador, corriente, etc. [66,67,68].



**Figura 10** Diagrama de descarga eléctrica

### 2.5.3 Deposición química de vapor

La deposición química de vapor (CVD) es una técnica ampliamente utilizada para la producción de nanomateriales de carbono (figura 11) [69]. El proceso consiste en la descomposición catalítica de un precursor o fuente de carbono con la presencia de un metal que funciona como catalizador, un ejemplo el hierro. Ambos se colocan dentro de un tubo de cuarzo encerrado en un horno a altas temperaturas que varían entre los 500 y 1000°C, luego se hace pasar un gas inerte (argón) durante el tiempo de reacción requerido. Finalmente el sistema CVD se deja enfriar hasta una temperatura ambiente y se recolecta la muestra con los nuevos materiales de carbono. Generalmente el proceso de crecimiento de las nanoestructuras por CVD se basa en la descomposición elemental de la fuente de carbono, que después se precipita en el catalizador que conduce a la generación de diferentes formas alotrópicas del carbono. Las características de nanomateriales por este método dependen de distintos parámetros como la temperatura y la presión del gas, el precursor, el volumen, el tiempo de reacción, entre otros. Las ventajas de síntesis mediante CVD con respecto a otras técnicas son el bajo costo, alto rendimiento y flexibilidad para ser empleado a escala industrial [70,71].



**Figura 11** Esquema del método de deposición química de vapor [69]

## 2.6 Técnicas de caracterización

Las técnicas microscópicas y espectroscópicas se han convertido actualmente en una necesidad en cualquier campo científico, para la caracterización estructural y textural, así como la composicional elemental de las muestras a analizar [72,73].

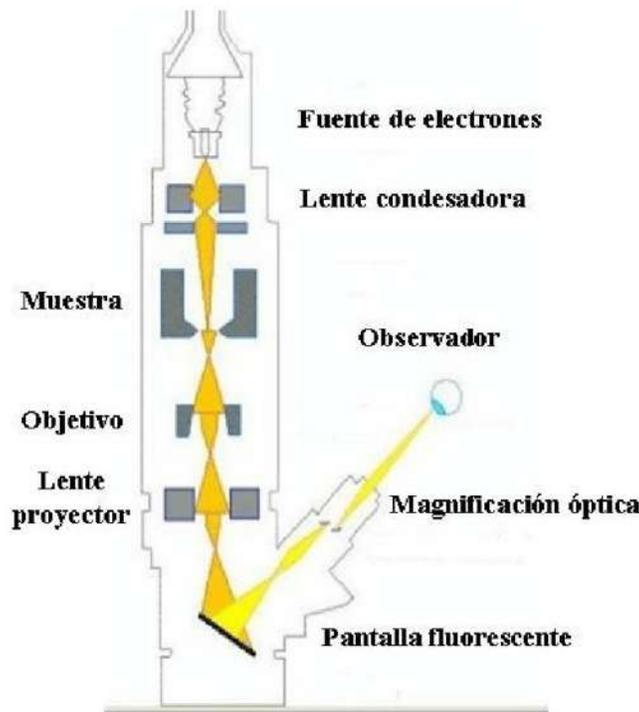
### 2.6.1 Microscopía electrónica de barrido

El microscopio electrónico de barrido (SEM) se emplea como técnica de análisis superficial, donde un haz de electrones emitidos desde el cátodo atraviesa una muestra, que son acelerados con un voltaje desde 0.5 hasta 30 kV formando un haz con una pequeña sección transversal con un diámetro alrededor de 10-15  $\mu\text{m}$ , el cual con el uso de un sistema de lentes dan origen a la imagen de alta resolución que permite obtener información morfológica y topográfica de las muestras.

El SEM (figura 12) está constituido principalmente por una columna de electrones que contiene en el interior lo siguiente:

- Un cañón de electrones con un filamento que actúa como emisor o fuente de iluminación.
- Un sistema de lentes electromagnéticas encargado de focalizar y reducir el haz de electrones producido por el filamento.
- Un sistema de barrido que hace recorrer el haz de electrones ya focalizado por la superficie de la muestra.

- Uno o varios sistemas de detección que permiten captar el resultado de la interacción del haz de electrones con la muestra y transformarlo en una señal eléctrica.
- Una salida conectada a una o varias bombas que producen el vacío necesario para que el conjunto funcione adecuadamente.



**Figura 12** Componentes de un microscopio electrónico de barrido

La técnica de SEM es una de las mayormente utilizadas debido a la diversidad de características que presenta como la fácil preparación de las muestras, la resolución espacial que oscila entre los 10 hasta los 1, 000, 000 X y la fácil interpretación de la imagen adquirida. Además por SEM dependiendo del equipo se puede acceder a la espectroscopia de energía dispersa o técnicas de difracción. También presenta una alta calidad de enfoque, contraste e iluminación que permiten la visualización de las formas geométricas presentes en la muestra; y se pueden examinar muestras de mayor tamaño en comparación con la microscopía de transmisión [74,75].

### **2.6.2 Microscopía de dispersión de energía**

El análisis por espectroscopia de dispersión de energía (EDS), esta una técnica usada para identificar la composición elemental de un área de interés de una muestra.

El análisis EDS se realiza dentro de SEM, donde se puede utilizar un detector de electrones secundarios. Estos son electrones de baja energía (2 a 5 eV) y se producen cuando un electrón del haz incidente interactúa con los electrones que están dentro de los orbitales de los átomos de la muestra, de tal manera que son desprendidos y emitidos como electrones libres, los cuales pueden escapar de la superficie si son generados muy cerca de la misma, pero si los electrones en los orbitales en lugar de desprenderse del átomo son llevados a un nivel de mayor energía, es decir, hasta que el átomo es excitado. Al volver a su estado de energía estable puede radiar la diferencia de energía como radiación X característica del átomo que la emite, lo cual permite realizar un análisis químico, mismo que puede ser interpretado con el uso de programas informáticos y una referencia a los materiales estándar de microanálisis [74,76].

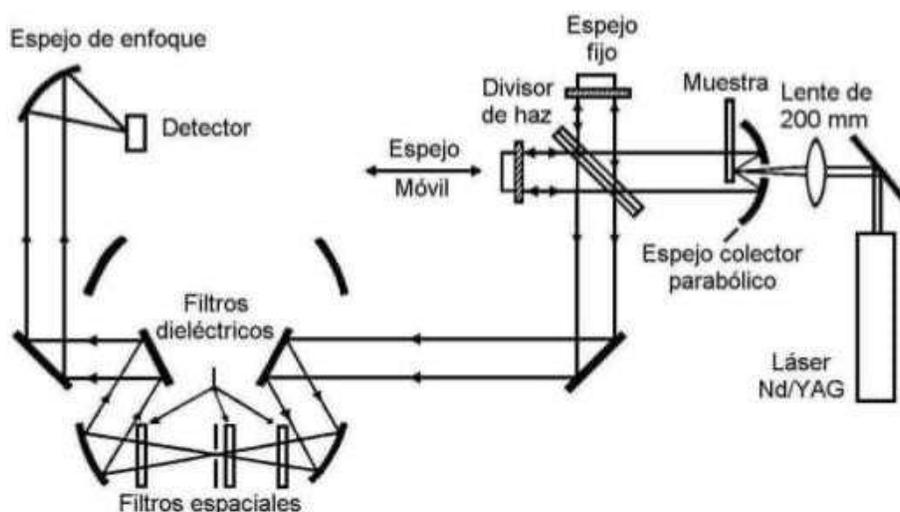
### **2.6.3 Espectroscopía infrarroja**

La espectroscopía infrarroja (IR) es el método por el cual se estudia la absorción o emisión de energía radiante originada por la interacción entre la radiación electromagnética y el material en estudio. La IR se basa en que las moléculas tienen la posibilidad de rotar y vibrar a distintas frecuencias o modos normales, donde una molécula puede absorber la energía de fotones en el rango energético de infrarrojo en el caso de que exista una diferencia en el momento bipolar de la molécula, mientras ocurre un movimiento vibracional rotacional y cuando la frecuencia asociada con la radiación resuena con el movimiento vibracional. Los componentes de los enlaces químicos tienen movimientos vibracionales con frecuencias naturales dentro de los distintos rangos de frecuencia del infrarrojo denominados: cercano ( $12500-4000\text{-cm}^{-1}$ ), medio ( $4000-650\text{ cm}^{-1}$ ) y lejano ( $650-10\text{ cm}^{-1}$ ).

Existen modos vibracionales que inducen oscilaciones que pueden entrar en resonancia con un haz de IR, lo que produce un intercambio de energía entre el haz y las moléculas constituyentes. Existe un comportamiento característico para un enlace con un tipo atómico, un entorno químico y una concentración de enlaces determinados. Se puede decir

entonces, que en un espectro infrarrojo se pueden manifestar bandas asociadas a prácticamente todos los compuestos moleculares. Cada una de estas bandas correspondería a un movimiento de vibración de uno de los enlaces dentro de la molécula. Entonces se sostiene que el conjunto constituye la huella dactilar del compuesto, pues cada uno tendrá un comportamiento particular frente a un haz de infrarrojo [77,78].

Los espectrofotómetros infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR) son instrumentos a base de un interferómetro, que cuenta con un láser a una longitud de onda estable que funciona como referencia de la luz, y un espejo móvil y otro fijo que sirven para generar la interferencia, con lo que este dispositivo proporciona exactitud, precisión y rapidez (figura 13). Por lo tanto FTIR es una técnica que tiene la capacidad de medir la cantidad de radiación absorbida y transmitida por un material o sustancia orgánica e inorgánica sólida, líquida y gaseosa en la región del espectro electromagnético en tiempo real, lo que permite su identificación cualitativa y cuantitativa [79].



**Figura 13** Partes de un espectroscopio FTIR

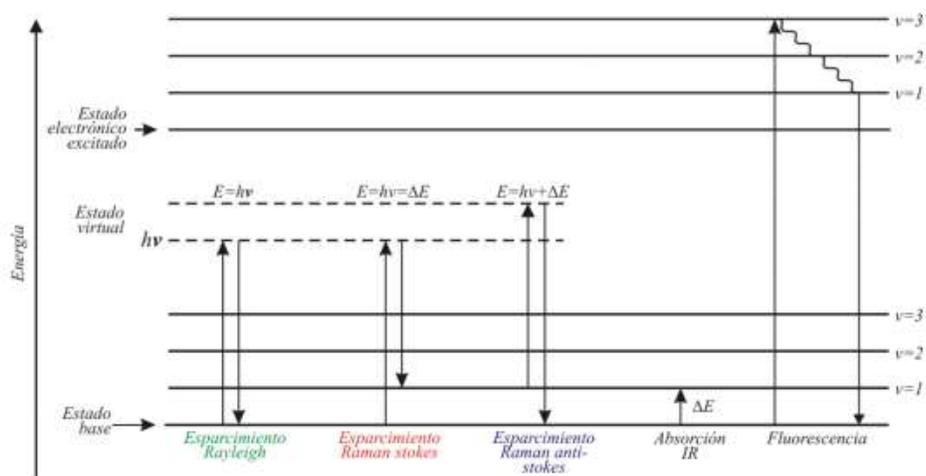
### 2.6.4 Espectroscopía Raman

En 1928 el físico indio Chandrasekhara Ventaka Raman dio el nombre de efecto Raman al fenómeno que ocurre debido a la dispersión inelástica de la radiación electromagnética como resultado de un intercambio energético entre radiación y vibración molecular, descubrimiento que lo hizo acreedor al premio Nobel de Física en 1930.

El análisis mediante espectroscopía Raman se basa en hacer incidir un haz de luz monocromática de frecuencia  $h\nu_0$  sobre una muestra cuyas características moleculares se

desean determinar, así como examinar la luz dispersada por dicha muestra. La mayor parte de la luz dispersada presenta la misma frecuencia que la luz incidente, pero una pequeña porción de la luz experimenta ligeros cambios de frecuencia que son característicos del material analizado e independiente de la frecuencia de la luz incidente.

La luz que mantiene la frecuencia  $h\nu_0$  de incidencia se conoce como dispersión Rayleigh y no aporta ninguna información sobre la composición de la muestra analizada. Por el contrario, la luz dispersada que presenta frecuencias distintas a la de radiación incidente, es la que proporciona la información sobre la composición molecular de la muestra, que se conoce como dispersión inelástica Raman que puede emitir energía vibracional  $h\nu_0 \pm h\nu_s$ , puede ser de menor frecuencia (radiación Stokes) o de mayor frecuencia (radiación anti-Stokes) (figura 14) [80,81].



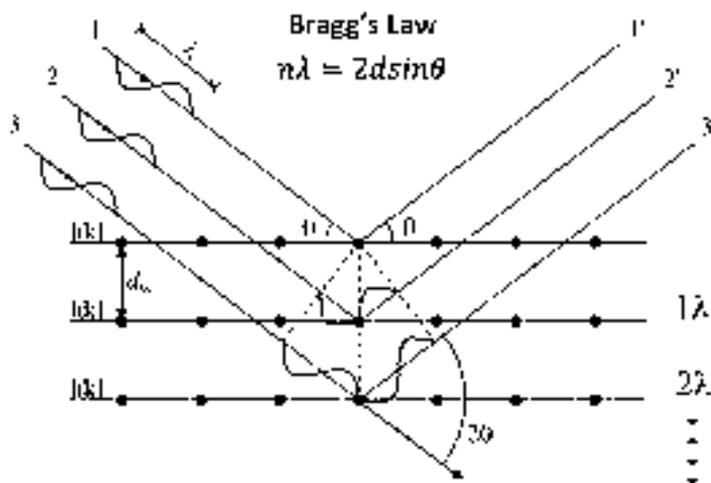
**Figura 14** Saltos energéticos de un electrón [80]

La espectroscopía Raman es una técnica que se realiza directamente sobre el material a analizar, que en función a otras técnicas de caracterización de compuestos, no requiere ningún tipo de preparación lo que puede influir en la alteración de la superficie sobre la que se realiza el análisis. Además por espectroscopía Raman se puede realizar la composición química de compuestos orgánicos e inorgánicos sin destruir las muestras y pueden ser estudiadas en cualquier estado: sólido, líquido o gaseoso [82].

### 2.6.5 Difracción de Rayos X

Los rayos X son radiación electromagnética de la misma naturaleza que la luz pero de longitud de onda mucho más corta. La unidad de medida en la región de los rayos X es el Å, igual a  $10^{-10}$  m. Los rayos X usados en difracción tienen longitudes de onda en el rango 0.5-2.5 Å, mientras que la longitud de onda de la luz visible está en el orden de 6000 Å.

Los rayos X son producidos mediante la aceleración de electrones desde un cátodo hacia un blanco metálico (ánodo), por medio de alto voltaje. Los electrones acelerados chocan con los átomos del metal utilizado como blanco, removiendo electrones de niveles internos y ocasionando que electrones de niveles superiores cubran los lugares vacantes, emitiendo así, fotones de rayos X. Debido a que los rayos X tienen una frecuencia correspondiente a la diferencia de energía entre esos dos niveles, también son llamados radiación característica. Los rayos X que se generan de esta forma se utilizan para bombardear muestras cristalinas y así obtener su patrón de difracción de rayos X (figura 15).



**Figura 15** Difractómetro de Rayos X

En una muestra cristalina, los átomos se encuentran agrupados de forma periódica y ordenada, por lo que al recibir esta radiación, son dispersados en todas direcciones, produciendo fenómenos de interferencia, tanto constructiva como destructiva. La mayor parte de las dispersiones son del tipo destructivo, cancelándose entre sí, pero en determinadas ocasiones, debido a la periodicidad de los átomos, puede ocurrir que las ondas dispersadas se encuentren en fase y se refuercen, dando origen al fenómeno de

difracción. Esto se cumple cuando los rayos X difractados por planos paralelos separados por una distancia “d”, presentan una diferencia de camino recorrido igual a un entero de la longitud de onda del haz incidente.

Lo cual se traduce matemáticamente como la ley de Bragg, donde indica que la probabilidad de que la interferencia sea constructiva sería muy pequeña, si no existiera el hecho de que los átomos de los cristales están ordenados de forma regular y repetitiva.

$$n \cdot \lambda = 2d \cdot \text{sen}\theta \dots\dots\dots Ec (2)$$

Por lo tanto, si no se cumple la ley de Bragg, la interferencia es de naturaleza no constructiva y el campo del haz difractado es de muy baja intensidad. Cuando la interferencia es constructiva se obtiene una respuesta que se conoce como difractograma, el cual proporciona información para identificar y cuantificar los componentes presentes en los materiales, debido a que cada componente tiene un patrón/difractograma único, es decir, su huella dactilar.

La ventaja de usar el método de DRX, es que no es destructiva a pesar de ser de las más potentes y más comúnmente utilizadas para el análisis estructural de cristales. Otra ventaja importante es que no requiere ningún proceso específico de preparación de muestras para ser analizadas [83,84].

### 2.7 Química verde

La química verde consiste en el esfuerzo colectivo para reducir al mínimo, o de ser posible eliminar por completo la contaminación producida en procesos químicos evitando al máximo el desperdicio o uso indiscriminado de las materias primas no renovables, así como el empleo de materiales peligrosos contaminantes en la elaboración de productos químicos limpios, que no atenten contra la salud y el ambiente. Las áreas de estudio que utilizan la química verde se centran en la disminución y eliminación del uso de productos químico tóxicos y el reciclaje de los desechos producidos por el avance tecnológico de una manera creativa, de tal forma que se consiga un mínimo impacto en los seres vivos y el ambiente, sin sacrificar el avance científico y tecnológico [85].

Con lo anterior, es necesario no confundir la química ambiental con la química verde, pues la diferencia es que la primera tiene como objetivo el saneamiento y remediación de los efectos en el ambiente por los procesos contaminantes, mientras que la química verde intenta prevenir la contaminación desde su origen. Debido a ello existe cada vez un mayor avance en la aplicación del criterio de prevenir la contaminación antes de que esta se produzca, en lugar de reprocesar productos antes de contaminar [86].

En 1990 en Estados Unidos, la Environmental Protection Agency (EPA) con el objetivo de cuidar la salud humana y el ambiente aprobó la Ley de Prevención de la Contaminación. Ley que define la prevención de contaminación a través de la reducción en la fuente, en el origen, en prácticas que reduzcan o eliminen la creación de contaminantes, ya sea a partir de una mayor eficiencia en el uso de materias primas, energía, agua u otros recursos, o con la protección y conservación de los recursos naturales. La principal importancia está dada por el traslado del enfoque habitual del problema de la contaminación (el control y tratamiento) a uno preventivo, evitando así la generación de contaminación. Por ello los químicos Paul Anastas & John Warner a finales del siglo XX, que trabajaban en esa época en la EPA, proponen el concepto de Química verde para referirse a aquellas tecnologías químicas que apuntan a prevenir la contaminación [87].

La química verde en general busca procesos para obtener los mismos productos que la química tradicional de manera menos contaminante y también producir sustancias no contaminantes que sustituyan a otros productos perjudiciales pero necesarios para la sociedad. La metodología se basa en 12 principios básicos que a continuación se enumeran [88].

1. Prevención. Es preferible evitar la producción de un residuo que reciclarlo, tratarlo o disponer de él una vez que se haya formado.
2. Economía atómica. Los métodos de síntesis deberán diseñarse de manera que se incorporen al máximo los reactivos en el producto final, minimizando la formación de subproductos, lo que favorece también al principio.
3. Uso de metodologías que generen productos con toxicidad reducida. Siempre que sea posible, los métodos de síntesis deberán diseñarse para utilizar y generar sustancias que tengan poca o ninguna toxicidad, tanto para el hombre como para el ambiente.

4. Generar productos eficaces pero no tóxicos. Los productos químicos deberán ser diseñados de manera que mantengan la eficacia a la vez que reduzcan su toxicidad.
5. Reducir el uso de sustancias auxiliares. Se evitará, en lo posible, el uso de sustancias que no sean imprescindibles (solventes, reactivos para llevar a cabo separaciones, etc.) y en el caso de que se utilicen, que sean lo más inocuos posible.
6. Disminuir el consumo energético. Los requerimientos energéticos serán catalogados por su impacto medioambiental y económico, reduciéndose todo lo posible.
7. Utilización de materias primas renovables. Las materias primas han de ser preferiblemente renovables en vez de agotables, siempre que sean técnica y económicamente viables.
8. Evitar la derivatización innecesaria. Se evitará en lo posible la formación de derivados (grupos de bloqueo, de protección/desprotección, modificación temporal de procesos físicos y químicos).
9. Potenciación de la catálisis. Se emplearán catalizadores (lo más selectivos), reutilizables en lo posible, en lugar de reactivos estequiométricos.
10. Generar productos biodegradables Los productos químicos se diseñarán de tal manera que al finalizar su función no persistan en el ambiente sino que se transformen en productos de degradación inocuos.
11. Desarrollar metodologías analíticas para la monitorización en tiempo real. Las metodologías analíticas serán desarrolladas para permitir el monitoreo y control en tiempo real de los procesos, previo a la formación de productos secundarios.
12. Minimizar el potencial de accidentes químicos. Se elegirán las sustancias empleadas en los procesos químicos de forma que se minimice el riesgo de accidentes químicos, incluidas las emanaciones, explosiones e incendios.

### **2.8 Uso de precursores orgánicos en la síntesis de nanoestructuras de carbono**

En la actualidad debido a la alta demanda de materiales a escala nanométrica durante la síntesis se utilizan con éxito precursores orgánicos derivados del petróleo como el: metano, hexano, ciclohexano, benceno, naftaleno, antraceno etc., los cuales son compuestos no renovables, costosos y que pueden causar negativas en el ambiente [4,5].

Esto ha originado la búsqueda y utilización de precursores orgánicos renovable, de fácil acceso y degradable en la naturaleza que por distintas técnicas de síntesis se puedan obtener diferentes CNs, tal como lo reportan: [89] Kumar & Ando, 2003, quienes sintetizaron MWCNTs a partir del alcanfor por la técnica de CVD. La temperatura que utilizaron fue a 900°C/15 min, un catalizador de ferroceno y argón como gas de arrastre con un flujo de 50 mL/min. Otros como [90] Andrews et al., 2006, produjeron SWCNTs a partir del alcanfor en un reactor CVD. La temperatura de reacción fue a 865°C y argón con un flujo de 200 cm<sup>3</sup>/min. Mientras que [91] Afre et al., 2006, sinterizaron CNTs del aceite de la trementina por la técnica de spray pirolisis. La temperatura fue entre 500-900°C, el hierro y las sales de cobalto se utilizaron como catalizadores en polvo; el argón como un precursor base y como arrastre el N<sub>2</sub> con un flujo de 100 mL/min. En tanto que [92] John & Vemula, 2006, obtuvieron MWCNTs a partir de la biomasa de cascara de nuez por el método de CVD, la temperatura de reacción fue 800°C y como catalizador fue el ferroceno. Por otra parte Mendoza et al., 2006 [93], reportaron la síntesis de MWCNTs del hexano y el etanol con la técnica de CVD. La temperatura que utilizaron fue entre 700-900°C/30-40 min, como catalizador el hierro y como gas de arrastre el hidrógeno. Algunos otros como Ghosh et al., 2008 [94], quienes produjeron SWCNTs del aceite de trementina con la técnica spray pirolisis. La temperatura a la cual se llevó a cabo la reacción fue a 850°C/25 min, como catalizador el hierro y el cobalto; y el nitrógeno como gas de arrastre a un flujo de 100 cm<sup>3</sup>/min. Mientras que Paul & Samdarshi, 2011 [95], obtuvieron MWCNTs a partir del aceite de coco como precursor orgánico mediante el método CVD. La temperatura de pirolisis fue 600°C/2 h, como catalizador fue el hierro y como gas de arrastre el argón. Por otro lado Granados-Martínez et al., 2016 [96], sintetizaron CNTs a partir de cuatro precursores orgánicos diferentes por el método de CVD. La temperatura del éter dietílico fue de 680°C, para el etil acetato fue 790 y 815°C, para el butanol fue 800 y 850°C y para el hexano fueron 750, 800 y 850°C; con un tiempo de proceso que osciló entre los 30 y 60 min, como catalizador se utilizó un tubo de acero inoxidable y como gas de arrastre el argón con un flujo alrededor de 80 mL/min. En tanto que Ambriz-Torres et al., 2018 [97], reportaron CNTs y nanobeads de carbono obtenidos del benceno como precursor orgánico con el método de CVD. La temperatura primeramente fue a 90°C para sublimar el ferroceno y el segundo a 760°C para la pirolisis, el tiempo de reacción fue 60 min y como

gas de arrastre se empleó el argón con un flujo de 87 mL/min. Mientras que Gutiérrez-García et al., 2019 [98], sintetizaron CSs a partir de hidrocarburos aromáticos del tipo: benceno, naftalina, antraceno y pireno mediante la técnica de CVD. La temperatura que se utilizó fue cercana a la pirolisis entre 800, 850, 875°C con un tiempo de reacción que de entre 40-50 min, se empleó como catalizador una barra de acero inoxidable austenítico AISI 304 y como gas de arrastre el argón a un flujo a 10 mL/min.

Lo anterior hace evidente la existencia y escasa información sobre el uso de precursores orgánicos renovables y no renovables como principal fuente de carbono para la producción de nanomateriales de carbono, por lo que en este trabajo se propuso como aspecto innovador y original sintetizar CNs a partir de la colofonia por el método de CVD.

## 2.9 Aplicación de las nanoestructuras de carbono

En la literatura se reportan investigaciones sobre la aplicación de distintas formas alotrópicas de CNs y otros nanomateriales a base de metales como la plata, el zinc y el titanio, en diversos productos tecnológicos, médicos, agrícolas, etc. [99,100,101]. Algunos ejemplos en los cuales participan los materiales a nanoescala son: la purificación del agua, el tratamiento de aguas residuales, la remediación ambiental, el procesamiento y envasado de alimentos, aplicaciones industriales y domésticas [102,103,104]. Esto ha causado gran interés de que las CNs puedan ser empleadas en áreas poco exploradas por el ser humano como la agricultura forestal que podría revolucionar el sistema de cultivo, a través de la utilización eficiente del agua y de los fertilizantes químicos, la protección contra insectos y enfermedades [105,106,107].

En la actualidad hay evidencia que las CNs se han utilizado para el tratamiento de enfermedades de las plantas [108]. Otros estudios demuestran el potencial en la mejora de germinación y crecimiento de semillas de importancia comercial [109,110]. Un ejemplo de lo anterior es lo reportado por Khodakovskaya et al., 2009 [111], quienes al tratar semillas de *Solanum lycopersicum* (tomate) con 10 y 20 ppm de CNTs, registraron un mayor porcentaje de germinación en comparación con las semillas de *S. lycopersicum* sin tratar o control. En tanto que Tripathi et al., 2011 [112], demostraron que plantas de *Cicer arietinum* (garbanzo) con concentraciones de 6 ppm de CNTs dispersados en agua mejoraron el crecimiento de *C. arietinum*: raíces, brotes y ramificaciones en comparación

con *C. arietinum* irrigada solo con agua. Mientras que Wang et al., 2012 [113], mencionan que *Triticum aestivum* (trigo) con MWCNTs pudieron mejorar la elongación de las raíces y aumentar la producción de biomasa de *T. aestivum* en comparación con la misma planta sin tratar con las nanoestructuras. Otros como Khodakovskaya et al., 2012 [114], registraron en *Nicotiana tabacum* (tabaco) con una dosis entre 5-500 ppm de MWCNTs mejora en un 55 a 64% del crecimiento de la planta sobre *N. tabacum* o control. En tanto que Khodakovskaya et al., 2013 [115], reportan que *S. lycopersicum* cultivada en suelo complementado con MWCNTs tuvieron un efecto positivo en *S. lycopersicum* al registrar dos veces más flores y frutos en comparación con las plantas de *S. lycopersicum* sembradas en suelo control. Por otro lado Rahimi et al., 2016 [116], observaron que al tratar semillas de *Alnus subcordata* (aliso caucásico) con CNTs en condiciones de estrés incrementaron el índice de vigor de las semillas, las longitudes de raíz y tallo, así como aumento de la biomasa seca.

De acuerdo con la bibliografía consultada, la aplicación de nanomateriales de carbono causan un efecto positivo en la germinación y crecimiento de plantas como gramíneas y leguminas, sin embargo, es escasa la información sobre el efecto de CNs en la germinación y crecimiento de plantas con importancia forestal. Por lo que en esta investigación se propuso como aporte de conocimiento evaluar el efecto de las CNs en *P. glandulosa* como un enfoque en la nueva revolución verde

### 2.10 Generalidades de *Prosopis glandulosa*

El género *Prosopis* está constituido por 45 especies de leguminosas que forman árboles o arbustos espinosos. Es un árbol de aproximadamente 10 m de altura, con un sistema radical de 50 m de profundidad y hasta 15 m en sus laterales; los tallos son de corteza oscura y las ramas cuentan con abundantes espinas axilares o terminales. Las hojas son compuestas, bipinnadas con 12 a 15 pares de folíolos oblongos o lineares, de 5 a 10 mm de largo. Las flores son de color amarillo verdoso, son agrupadas en racimos, miden de 4 a 10 mm, son bisexuales, actinomorfas, con cinco sépalos y 10 estambres. El fruto es una vaina de color paja o rojizo violáceo; con forma de lomento drupáceo, alargado, recto o arqueado y espiralado en algunos casos, indehiscente, de 10 a 30 cm de longitud, puede ser plano o cilíndrico en la madurez y contiene de 12 a 20 semillas [117,118].



**Figura 16** *Prosopis glandulosa* (mezquite)

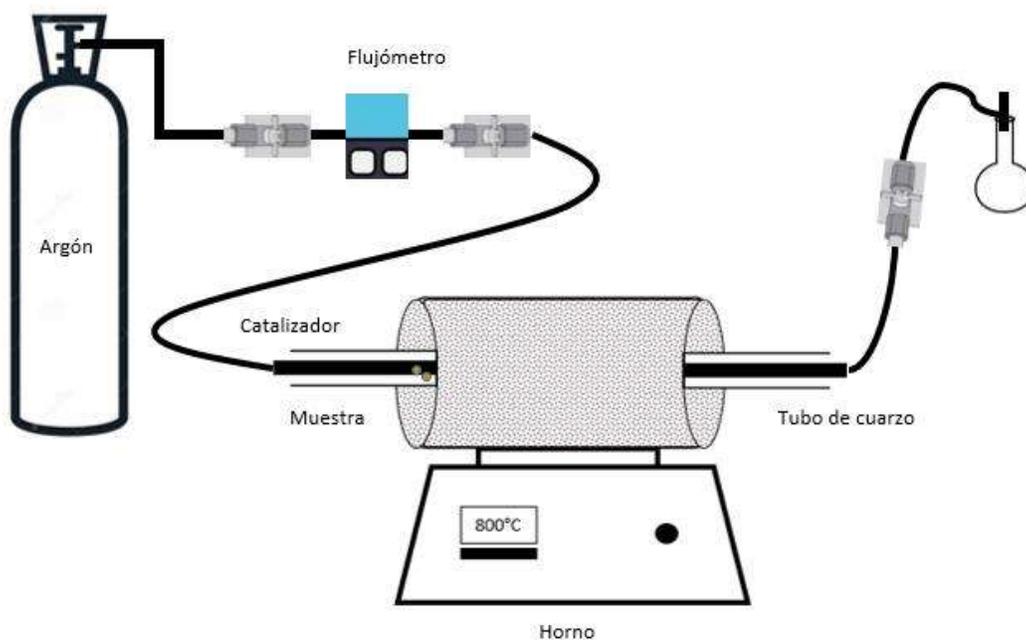
El género *Prosopis*, es uno de los recursos forestales más importantes, constituye una parte importante de la flora nacional y es de gran utilidad para los habitantes de las zonas áridas y semiáridas de México. *Prosopis* sp es uno de los recursos vegetales más útiles, ya que de él se obtiene: leña, carbón, goma, material para la fabricación de muebles fuertes y durables, alimento, forraje, néctar y cera en la apicultura, medicina, entre otros [119].

## Capítulo 3 Metodología

En este capítulo se describen los materiales y métodos utilizados para la síntesis de nanomateriales de carbono por el método de CVD, al igual que las técnicas de caracterización empleadas. Además se trata el proceso de la aplicación de las CNs en las semillas de *P. glandulosa* para mejorar la germinación.

### 3.1 Síntesis de nanoestructuras de carbono

La obtención de las CNs se llevó a cabo por CVD (figura 17); para lo cual se utilizó un reactor de cuarzo con una longitud de 0.60 m y un diámetro de 0.24 cm, un horno tubular, atmósfera inerte con argón como gas de arrastre de la fuente de carbono, un flujómetro y una trampa de acetona. Se introdujo el catalizador de acero inoxidable AISI 304 dentro del tubo de cuarzo apoyado por un soporte del mismo material en cada extremo, después el reactor se colocó en forma horizontal en el interior del horno y sellaron los extremos. En seguida el argón se hizo pasar a flujo constante (10 mL/min) al interior del reactor, luego el horno se encendió y se programó la temperatura cercana a la de pirolisis del precursor (tabla 1). Los gases remanentes que salieron de la zona de reacción se atraparon en acetona [98].



**Figura 17** Reactor de CVD

**Tabla 1** Condiciones experimentales para la síntesis de nanoestructuras de carbono por el método de CVD.

<b>*Número de experimento</b>	<b>Tiempo (min)</b>	<b>Flujo (ml/min)</b>	<b>Catalizador</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
1	60	10	+	750
2			+	800
3			+	850
4			+	900
5	60		-	750
6			-	800
7			-	850
8			-	900
9	30		+	750
10			+	800
11			+	850
12			+	900
13	30		-	750
14			-	800
15			-	850
16			-	900

\*n (número de repeticiones) = 3

### 3.2 Descripción de reactivos y materiales

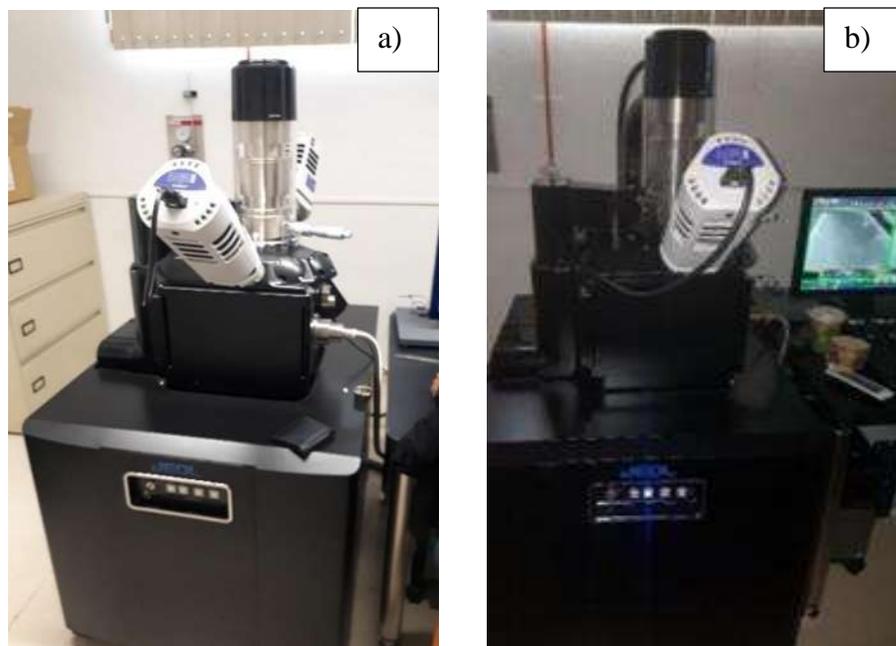
- ✿ La fuente de carbono empleada fue la colofonia (brea) proporcionada por la industria “La Soledad”, Morelia, Michoacán, que tiene una temperatura de pirolisis entre 690-720°C, presenta un índice de acidez de 158.2 y un punto de reblandecimiento de 69.6°C según el anexo 1.
- ✿ El catalizador que se uso fue una barra de acero inoxidable austenítico AISI 304 de fácil acceso como se observa en el anexo 2.
- ✿ El gas de arrastre empleado fue el argón de alta pureza del Grupo Infra (anexo 3).
- ✿ El reactor fue un tubo de cuarzo de 2.54 cm de diámetro y 60 cm de largo
- ✿ El horno tubular (Termo scientific) fue un modelo F21135 de 120 volts, 13.3 amps, 50/60 Hz y 1350 watts.
- ✿ El Fluviómetro (AALBORG) fue modelo GFM 17 con un rango de 0-110 mL/min
- ✿ La parrilla eléctrica utilizada (Termo scientific) modelo SP131325 de 120 volts, 8.9 amps y 60 Hz.
- ✿ La balanza analítica para registrar los pesos de las muestras fue un modelo AR 2140 (Adventure OHAUS Corp) con sensibilidad de 0.0001 g.

### 3.3 Equipo utilizados para la caracterización

La recolección de las muestras con las CNs se llevó a cabo una vez que el equipo CVD se apagó y se dejó a temperatura ambiente, después el catalizador se extrajo con cuidado y con ayuda de una espátula de aluminio se retiró el producto formado en la superficie, se colocó en viales de cristal y registró el peso. Posteriormente las CNs se caracterizaron con varios equipos microscópicos y espectroscópicos.

#### 3.3.1 Microscopía electrónica de barrido/ Microscopía de emisión de campo

La morfología de las CNs sintetizadas a partir de la colofonia por el método de CVD, se caracterizaron mediante un microscopio JEOL SSM-5910LV (figura 18a) del Instituto Tecnológico de Morelia (ITM) y un equipo JEOL JSM-IT300LV de la ENES, UNAM campus Morelia (figura 18b). Así como con un microscopio de emisión de campo JEOL-JSM-7600F localizado en las instalaciones del centro en Micro y Nanotecnología (UV-MicroNa) de la universidad Veracruzana.



**Figura 18** a) SEM del Instituto Tecnológico de Morelia y b) SEM campus UNAM, Morelia

### 3.3.2 Espectroscopia por transformada de Fourier

Previo al análisis, un remanente de las muestras con las CNs se utilizó para formar pastillas de bromuro de potasio con una fuerza de dos toneladas por minuto. Después las pastillas se analizaron con un espectrómetro FTIR TENSOR 27 BRUKER marca Bruker (figura 19), modelo Tensor del Instituto en Investigaciones Metalúrgicas de la UMSNH.



**Figura 19** Espectrofotómetro Infrarrojo por Transformada de Fourier

### 3.3.3 Espectroscopía Raman

La medición de los espectros Raman fue a través de un equipo Raman Thermo Scientific DXR de UV-MicroNa, Universidad Veracruzana (figura 20), con una longitud de onda del láser de 532 nm a 10 mW, 25  $\mu\text{m}$  de apertura, objetivos de 50x y tiempo de 5 segundos. La muestra no requirió un tratamiento especial.

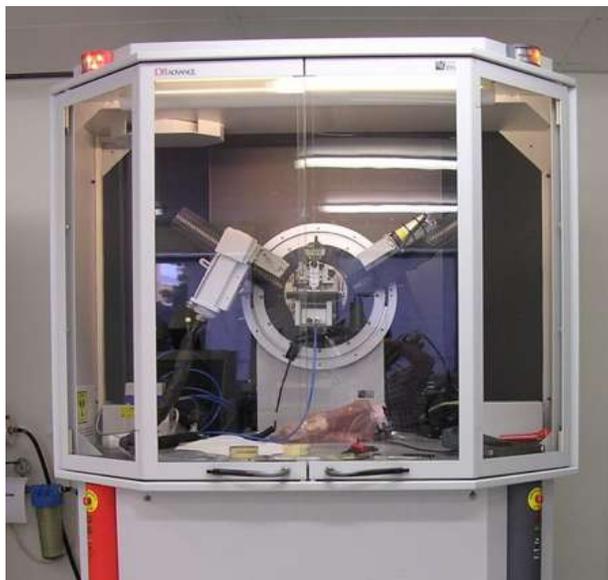


**Figura 20** Espectrofotómetro Raman

### 3.3.4 Difracción de Rayos X

La estructura cristalina de las CNs se obtuvo con un difractor marca Bruker modelo D8 Advance (figura 21) de MicroNa perteneciente a la Universidad Veracruzana. Las

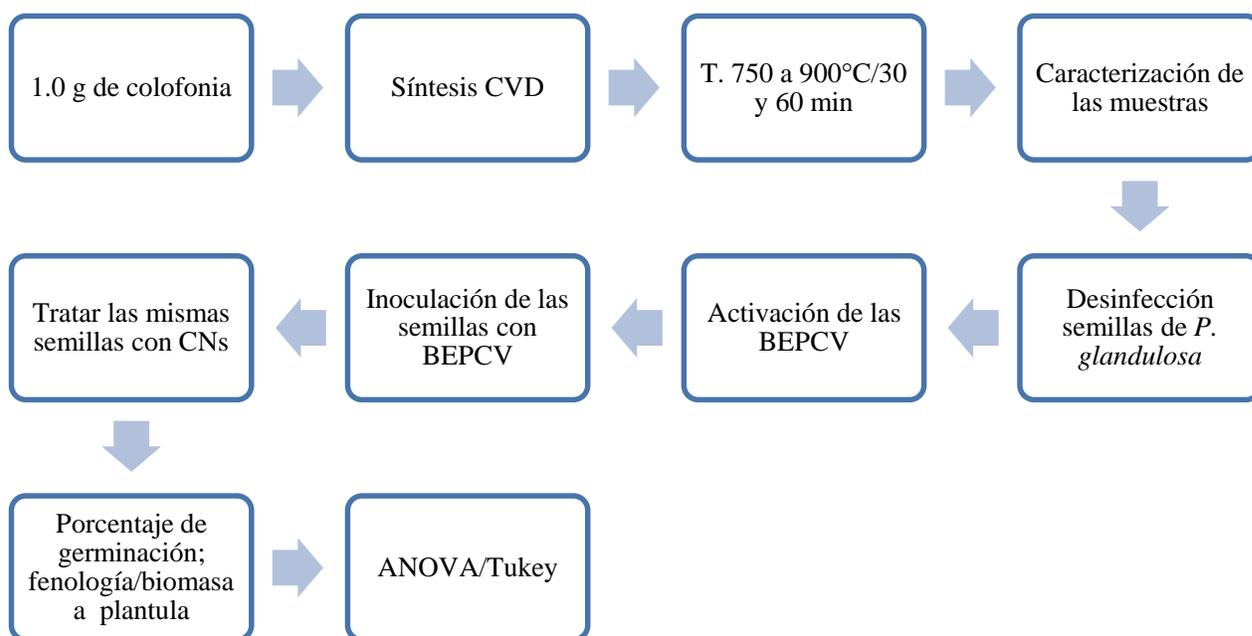
muestras fueron analizadas usando un haz de electrones  $\text{Cu-K}\alpha = 1.5418 \text{ \AA}$ , con un rango de  $20^\circ$  a  $80^\circ$ , un tamaño de paso de  $0.05^\circ$  y  $0.5 \text{ s}$  tiempo de paso.



**Figura 21** Difractómetro de Rayos X

#### 3.4 Tratamiento de semillas de *Prosopis glandulosa*

En esta parte de la investigación se presenta el proceso de tratamiento de las semillas de *P. glandulosa* con géneros y especies de bacterias endófitas promotoras de crecimiento vegetal (BEPCV) y las CNs sintetizadas a partir de la colofonia (figura 22).



**Figura 22** Diagrama de la síntesis de CNs a partir de la colofonia y su efecto en la germinación de *Prosopis glandulosa*

### 3.4.1 Condiciones experimentales del invernadero

Esta parte de la investigación se llevó a cabo en un invernadero que tiene una temperatura promedio de 23.2 °C, una luminosidad de 450  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , una humedad relativa de 67%.

### 3.4.2 Origen y análisis del suelo empleado

El suelo que se utilizó fue colectado de un sitio ubicado a los 19° 37' 10" de latitud norte 101° 16' 41.999" de longitud oeste, con una altitud de 2013 msnm de clima templado en un terreno agrícola denominado "Uruapilla" perteneciente al municipio de Morelia, sobre la carretera Morelia-Pátzcuaro, Mich, México. El suelo se tamizó con malla del No. 20 y se solarizó a 70°C/48 h para minimizar el problema de plagas y enfermedades [120], se clasificó como arcilloso con una textura: arcilla 50%, limo 7% y arena 43%, con un pH moderadamente ácido de 6.02, un bajo contenido de materia orgánica de 3.58%, una capacidad de intercambio catiónico de 26.64 C mol (+)  $\text{Kg}^{-1}$  (tabla 2), de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000 [121].

**Tabla 2** Propiedades fisicoquímicas del suelo agrícola

Parámetro	Valor	Impetración
pH (1:20)	6.02	Moderadamente Ácido
Materia orgánica (%)	3.58	Bajo
Capacidad de intercambio iónico C mol(+) Kg <sup>-1</sup> )	26.64	Medio
Textura (%)	50 (Ac)-7(L)-43 (Ar)	Arcilloso
Densidad real (g/cm <sup>3</sup> )*	2.22	Medio
Densidad aparente (g/cm <sup>3</sup> )*	1.05	Medio
Porosidad (%)*	47.5	Medio
Capacidad de campo (%)*	54	Alto

Ar: arena, L: limo, AC: arcilla. \* Estimada a partir de textura. +Reportada para suelos arcillosos NOM-021-RECNAT-2000 [121].

### 3.4.3 Activación de las bacterias endófitas promotoras de crecimiento vegetal

Se activaron los géneros y especies de BEPCV del tipo: *Bacillus thuringiensis* (aislada de raíces de *Zea mays var mexicana* o teocintle) y *M. echinospora* (aislada de raíces de *Medicago* sp o alfalfa silvestre), ambas pertenecientes a la colección de Microorganismos Promotores de Crecimiento Vegetal del Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, UMSNH, Morelia, Mich. Para ello *B. thuringiensis* se reprodujo en agar nutritivo con la siguiente composición (g/L): extracto de carne, 3.0; peptona de carne, 5.0; agar, 18.0, el pH se ajustó a 7.0 e incubó 30°C/24 h. En tanto que *M. echinospora* se activó en agar hueso de aguacate con la siguiente composición (g/L): hueso de aguacate, 10.0; peptona caseína, 5.0; extracto de levadura, 1.3; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.17; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2.61; MgSO<sub>4</sub>, 1.5; NaCl, 0.9; CuSO<sub>4</sub>, 0.05; azul de bromotimol, 10 ppm; detergente al 10%, 2.5 mL/L; solución de oligoelementos, 1 ml/L; agar 18.0, el pH se ajustó a 7.0 e incubó a 30°C/72 h [120].

### 3.4.4 Escarificación y desinfección de las semillas de *Prosopis glandulosa*

Las semillas de *P. glandulosa* se escarificaron mecánicamente con unas tijeras estériles y se lavaron con agua potable estéril [122], luego se desinfectaron con NaClO al 0.2%/5 min y se lavaron seis veces con agua potable estéril, después se colocaron en alcohol al 70% (v/v)/5 min y se enjuagaron seis veces con agua potable estéril. [120]

### 3.4.5 Tratamiento de las semillas con las nanoestructuras y las bacterias endófitas

Por cada 10 semillas de *P. glandulosa* se inocularon con 1.0 mL de *B. thuringiensis* y *M. echinospora* en relación 1:1 (v/v) equivalente a una concentración de  $1 \times 10^6$  UFC/mL, que se obtuvo por cuenta viable en placa en Agar nutritivo y Agar hueso de aguacate, después se inocularon con 1.0 mL de una concentración de 10 y/o 20 ppm de las CNs suspendidas en NaCl al 0.85% con detergente Roma<sup>MR</sup> al 0.5% (p/v). Las semillas con *B. thuringiensis* y/o *M. echinospora* plus las nanoestructuras se agitaron a 200 rpm/30min/28°C para asegurar el ingreso de las BEPCV y las CNs en las semillas de *P. glandulosa*, que se sembraron en 100 g de suelo en un contenedor almacigo según lo descrito en la tabla 3 del diseño experimental de bloques al azar con 2 controles, 10 tratamientos y 6 repeticiones: *P. glandulosa* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* irrigado con agua o control absoluto (CA); *P. glandulosa* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* alimentado con fertilizante nitrogenado (FN) al 100% o control relativo (CR); *P. glandulosa* inoculado individual o en mezcla con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* potenciados con 10/20 ppm de las CNs y el FN al 50% en una solución mineral con la siguiente composición química (g/L): NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 10; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2.5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2.0; MgSO<sub>4</sub> 0.5; NaCl, 0.1; CaCl<sub>2</sub>, 0.1; FeSO<sub>4</sub> y 1.0 ml/L de una solución de microelementos (g/L): H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2.86; ZnSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O 0.22; MgCl<sub>2</sub>•7H<sub>2</sub>O 1.8, el pH a 6.8. Se aplicaron 5 mL del FN cada 3 días/mes a una capacidad de campo del 80%. Las variables-respuesta fueron: el porcentaje de germinación; la fenología: altura de planta (AP) y longitud radical (LR); la biomasa: peso fresco aéreo/radical (PFA/PFR) y peso seco aéreo/radical (PSA/PSR) [120].

**Tabla 3** Diseño experimental para evaluar el efecto de las nanoestructuras de carbono con *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* en la germinación de *Prosopis glandulosa*

<i>*Prosopis glandulosa</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Micromonospora Echinospora</i>	CNs (ppm)	Agua	FN
Control absoluto	-	-	-	+	-
Control relativo	-	-	-	-	100%
Tratamiento 1	-	-	10	+	-
Tratamiento 2	-	-	10	-	50%
Tratamiento 3	+	-	10	-	50%
Tratamiento 4	-	+	10	-	50%
Tratamiento 5	+	+	10	-	50%
Tratamiento 6	-	-	20	+	-
Tratamiento 7	-	-	20	-	50%
Tratamiento 8	+	-	20	-	50%
Tratamiento 9	-	+	20	-	50%
Tratamiento 10	+	+	20	-	50%

\*Número de repeticiones (n) = 6; fertilizante nitrogenado (FN); nanoestructuras de carbono (CNs); agregado (+); no agregado (-).

### 3.4.6 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se validaron con el uso del análisis de varianza ANOVA mediante la prueba comparativa de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) y el programa estadístico Statgraphics Centurion [123].

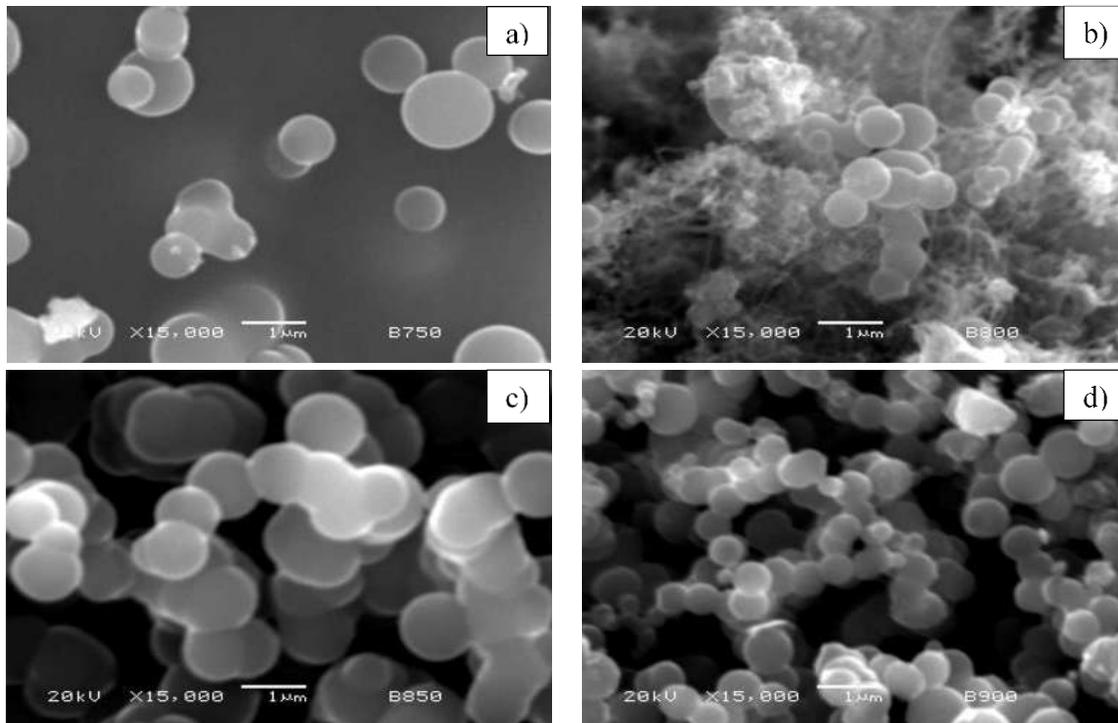
## Capítulo 4 Resultados y discusión

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos a partir de las diferentes técnicas microscópicas y espectroscópicas de las CNs crecidas sobre la barra de acero inoxidable usando la colofonia como única fuente de carbono por el método de CVD. Además se reporta el efecto de las nanoestructuras en la germinación de *P. glandulosa*.

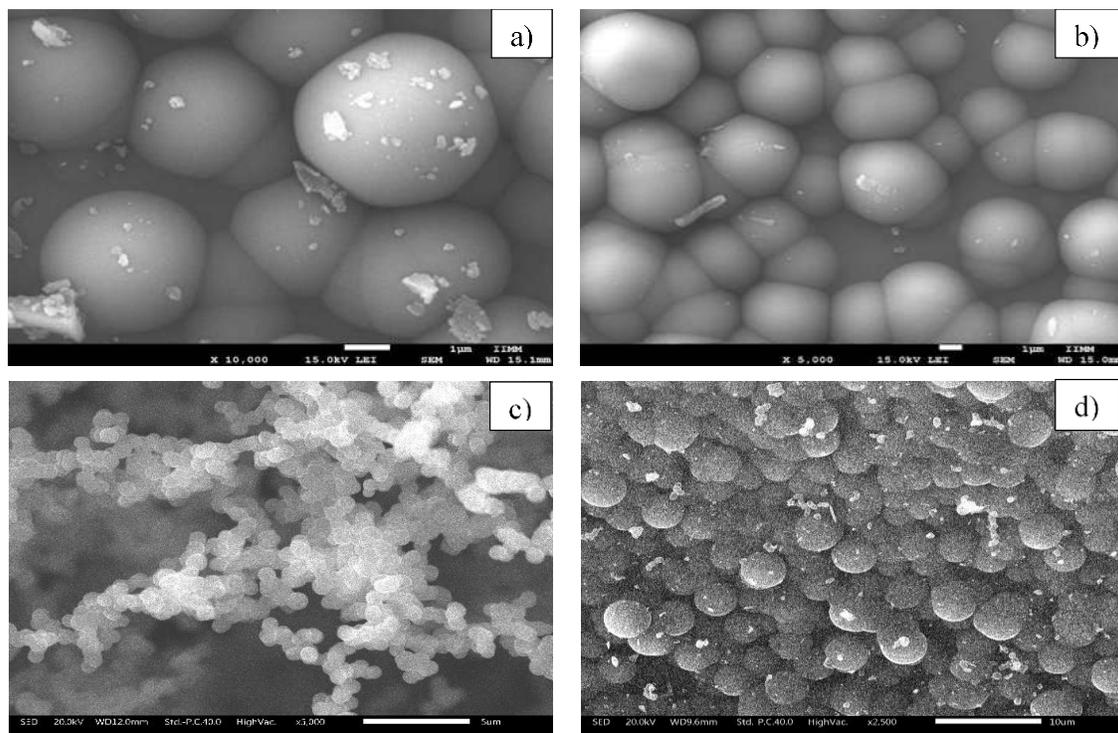
### 4.1 Caracterización de las nanoestructuras de carbono obtenidas de la colofonia por CVD con o en ausencia de catalizador durante 60 min

#### 4.1.1 Análisis por Microscopía electrónica de barrido y Espectroscopia de energía dispersa

En la figura 23, las micrografías SEM muestran la morfología de las CNs a partir de la colofonia con el catalizador de acero inoxidable AISI 304. A la temperatura de 750°C/60 min se observan diferentes tamaños de esferas entre 742, 859 y 954 nm, así como algunas de 1.16 hasta 1.38  $\mu\text{m}$  (figura 23a), mientras que a la temperatura de 800°C/60 min se presenta la formación de estructuras tubulares enredadas y CSs de diversos tamaños entre 298, 488 y 660 nm, al igual que una escasa cantidad de láminas gráficas (figura 23b). Respecto a la temperatura de 850/60 min fue posible observar la formación de CSs de tamaños entre 700 y 820 nm, otras CSs registraron una longitud de hasta 1.10  $\mu\text{m}$  (figura 23c); y en 900°C/60 min se registraron CSs de tamaños entre 409 y 644 nm como el único producto de la síntesis (figura 23 d). En la figura 24 se pudo apreciar la morfología estructural por SEM de las CNs obtenidas de la colofonia sin catalizador. En la temperatura a 750°C/60 min se observan diferentes tamaños de esferas entre los 1.99 y 5.89  $\mu\text{m}$ , así como también se presentaron cascaras de grafito sobre las CSs (figura 24a). En la temperatura de 800°C/60 min fue posible registrar CSs de 982 nm, y otras de entre 1.20 y 5.69  $\mu\text{m}$  como el único producto de la síntesis. Algunas de estas CSs presentan aglomeración por defecto de coalescencia (figura 24b). Mientras que a las temperatura de 850°C/60 min se observan esferas de 1.92 y 2.49  $\mu\text{m}$  (figura 24c). En tanto que a los 900°C/60 min se presentó la formación de CSs como único producto de síntesis menores a 4.13  $\mu\text{m}$ . De acuerdo a los resultados obtenidos la formación de las CSs se podría atribuir a la presencia de anillos aromáticos que posiblemente pueden ser pentagonales y heptagonales los cuales modularon la curvatura de las CSs [124].

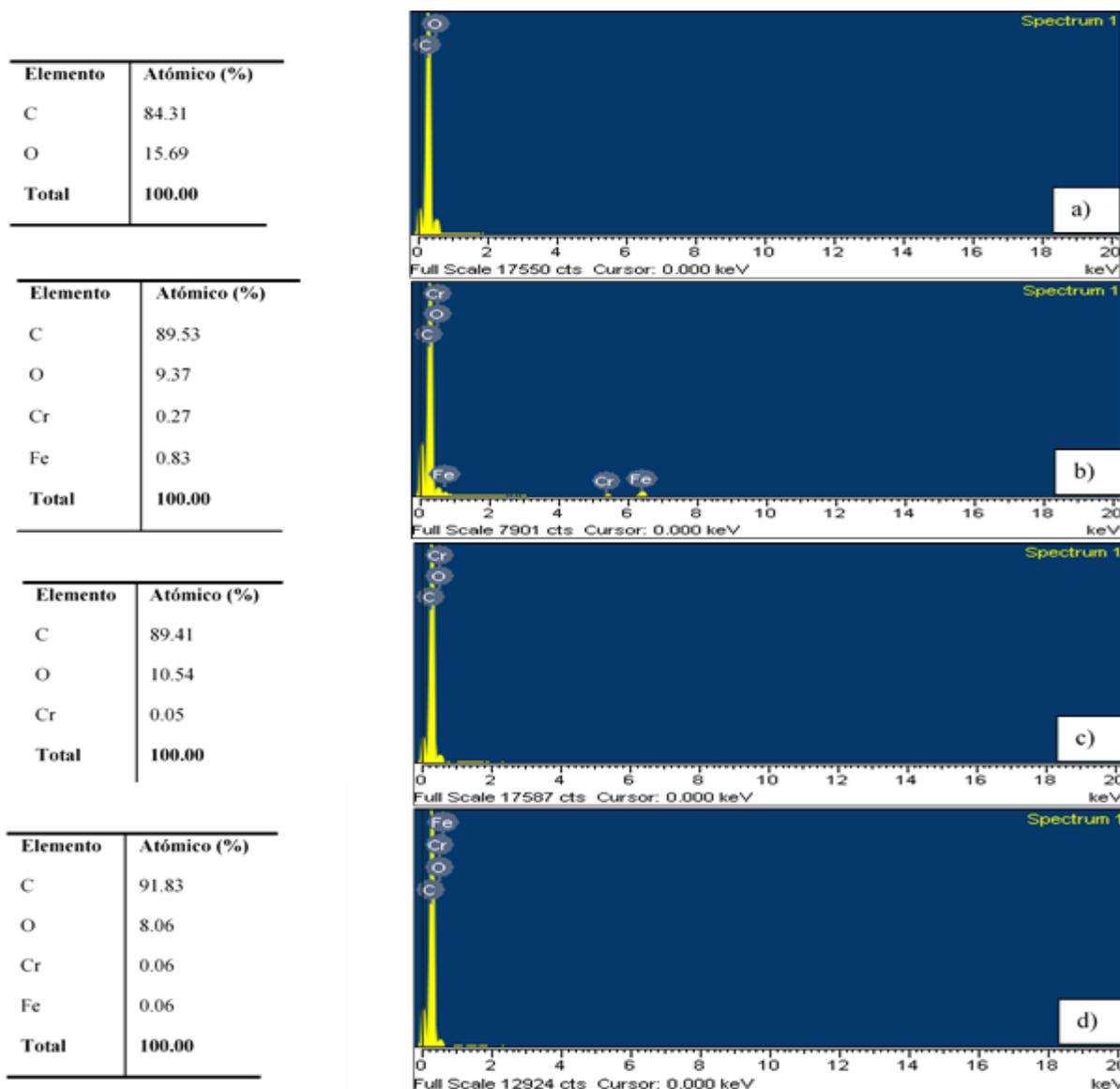


**Figura 23** Micrografías SEM de las CNs obtenidas de la colofonia por CVD con catalizador a: a) 750, b) 800, c) 850 y 950°C/60 min



**Figura 24** Micrografías SEM de las CSs obtenidas de la colofonia por CVD sin catalizador a: a) 750 y b) 800°C/60 min

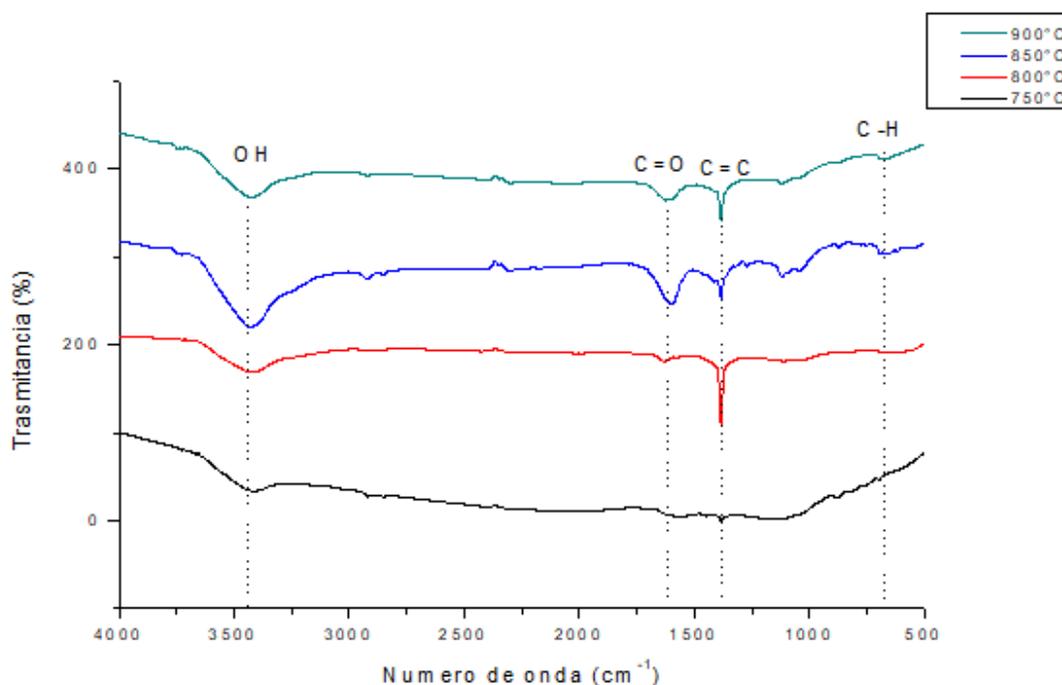
En la figura 25a-d, se presentan los resultados del análisis EDS para los experimentos donde se utilizó la colofonia como precursor orgánico verde con diferentes temperaturas con o sin catalizador. Las muestras de las CSs presentaron un porcentaje atómico de carbono entre un 84 hasta un 91%, siendo este el principal elemento. También hubo presencia de oxígeno de un 8 al 15% atómico, así como un remanente de hierro y cromo menor al 1% atómico únicamente cuando se empleó el catalizador. La presencia de hierro y cromo posiblemente se debe a la composición química de la barra de acero AISI-304 empleado en el CVD, el cual contiene estos metales [98].



**Figura 25** Análisis EDS de las CNs a partir de la colofonia a: a) 750, b) 800, c) 850 y 950°C/60 min

#### 4.1.2 Análisis Espectroscopia por trasformada de Fourier

En la figura 26, el análisis FTIR de las nanoestructuras obtenidas de la colofonia durante una hora por el método de CVD y como catalizador una barra de acero inoxidable AISI 304, mostró una banda ancha atribuida al grupo hidroxilo (OH) en la región  $3400\text{ cm}^{-1}$ , también es posible observar el estiramiento del grupo funcional C-H en la región  $2900\text{ cm}^{-1}$ , bandas correspondientes del grupo carboxilo (C=O) en el rango de  $1600\text{ cm}^{-1}$ . También es posible observar una banda marcada por el estiramiento del doble enlace carbono C=C en la región de  $1390\text{ cm}^{-1}$  característicos para nanoestructuras esféricas a partir de un precursor verde como la colofonia [125,126]. Las vibraciones de C-H fuera del plano son encontradas en la región  $900\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ . Para las muestras sintetizadas sin catalizador a 60 min presentaron un comportamiento similar al anterior, donde se detectó un decremento en la intensidad de las bandas OH, C=O y C-H.

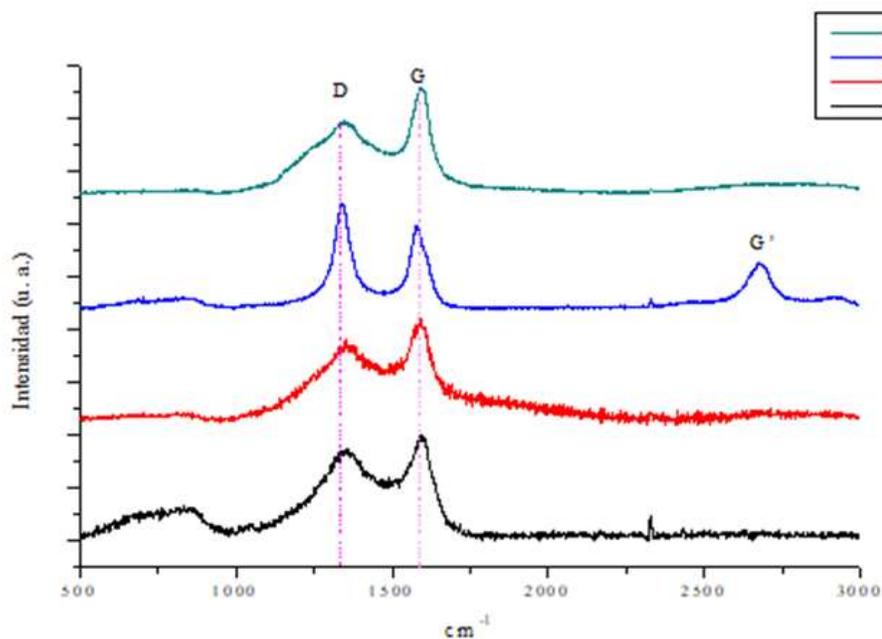


**Figura 26** Análisis FTIR de las CNs obtenidas por CVD usando una barra de acero como catalizador a 60 min

#### 4.1.3 Análisis por Espectroscopía Raman

En la figura 27, se muestran los espectros de Raman para las nanoestructuras de carbono obtenidas a partir de la colofonia. La banda D ( $1340\text{-}1360\text{ cm}^{-1}$ ), que representa desorden

en la red gráfrica [127], se puede apreciar en los cuatro experimentos a las temperaturas: 750, 800, 850 y 900°C/1 h. La banda G (1582-1600  $\text{cm}^{-1}$ ) corresponde a un estiramiento del grafito [128], que se puede apreciar en las muestras obtenidas en los experimentos a las temperaturas 750, 800 y 850°C/1 h. La banda G' (2662-2667  $\text{cm}^{-1}$ ) fue posible observarla en los experimento a 850 y 900°C/1 h, banda conocida como un resuene de la D, reportada también por Dresselhaus, 2005 [129].



**Figura 27** Espectro Raman de las CNs usando la colofonia como precursor verde y una barra de acero como catalizador por 60 min

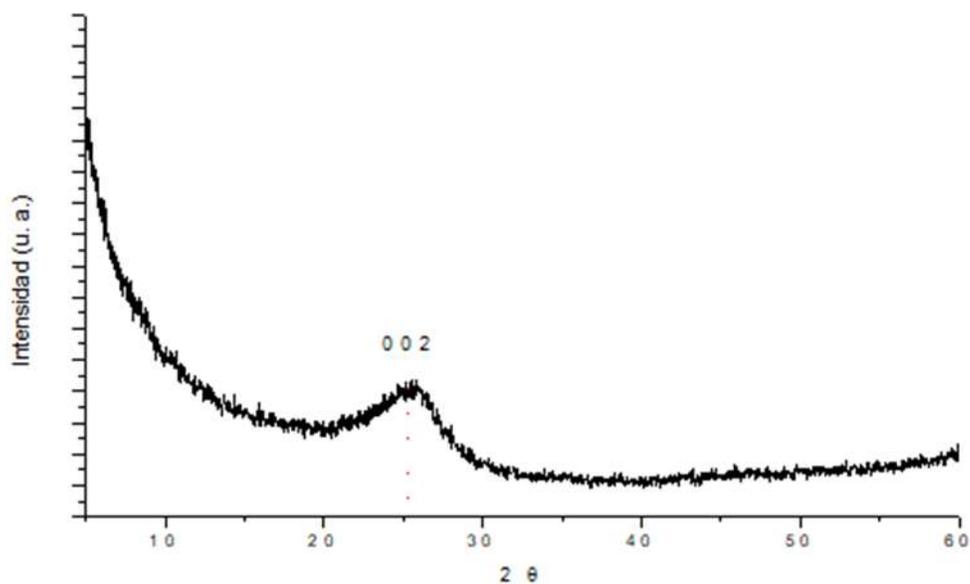
En la tabla 4, se observan los valores de la relación ID/IG de las diferentes muestras obtenidas por la técnica de CVD; ahí la muestra obtenida a temperatura de 850°C registró un ID/IG >1, lo que sugiere una presencia de defectos en la red gráfrica o de las CSs comparadas con el ID/IG de la muestras obtenidas a temperaturas de 750°C, 800°C y 900°C. Mientras que la relación IG'/IG de la muestra a 850°C fue <1, lo que apoya indirectamente que las CNs obtenidas podrían contener hojas de grafito multicapa [98,130,131].

**Tabla 4** Datos del espectro Raman de las CNs por CVD con catalizador a 60 min

Tratamiento	T (°C)	D (cm <sup>-1</sup> )	G (cm <sup>-1</sup> )	G' (cm <sup>-1</sup> )	ID/IG	IG'/IG
1	750°C	1354.40	1597.87	-	0.87	-
2	800°C	1353.92	1583.89	-	0.89	-
3	850°C	1348.61	1579.07	2681.18	1.04	0.87
4	900°C	1347.17	1598.83	-	0.92	-

#### 4.1.4 Análisis por Difracción de Rayos X

Se utilizó un difractómetro para obtener los espectros XRD de las CNs obtenidas a partir de la colofonia con catalizador durante 60 min. El análisis se realizó mediante un Bruker D8 Advance utilizando radiación Cu-K $\alpha$ =1,5418 Å en un rango de 5-60° 2 $\theta$  con un tamaño de paso de 0,02° y un tiempo de paso de 5 segundo. Las CSs obtenidas de la colofonia se muestran en la Figura 28, donde se muestra un pico a 2 $\theta$  = 25,30° que puede asignarse a (0 0 2) plano correspondiente al carbono grafitico hexagonal que se encuentra en la formación de las nanoestructuras esféricas de acuerdo con la ficha JCPDS 96-900-8570, mientras que la distancia interplanar para las CSs fue de 0.2456 nm [132,133].

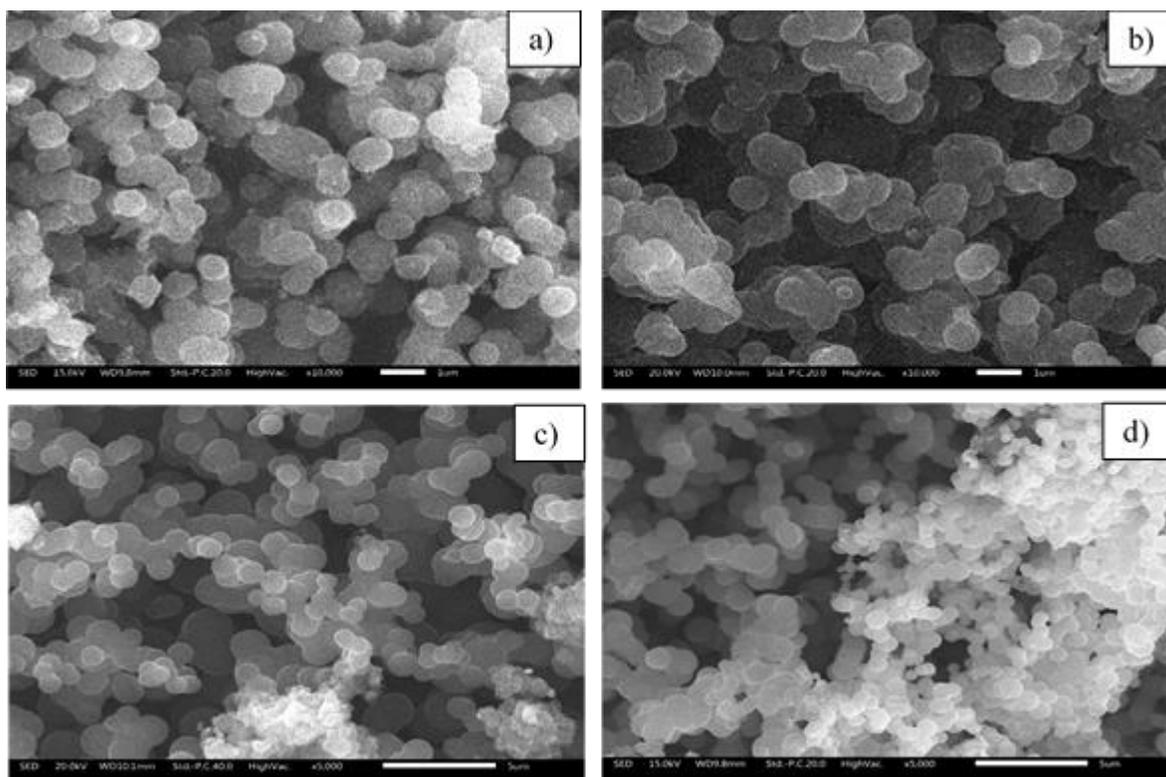


**Figura 28** Espectro XRD de las nanoestructuras obtenidas de la colofonia por CVD usando una barra de acero como catalizador a 60 min

## 4.2 Caracterización de las nanoestructuras de carbono a partir de la colofonia por CVD con o en ausencia de catalizador a 30 min.

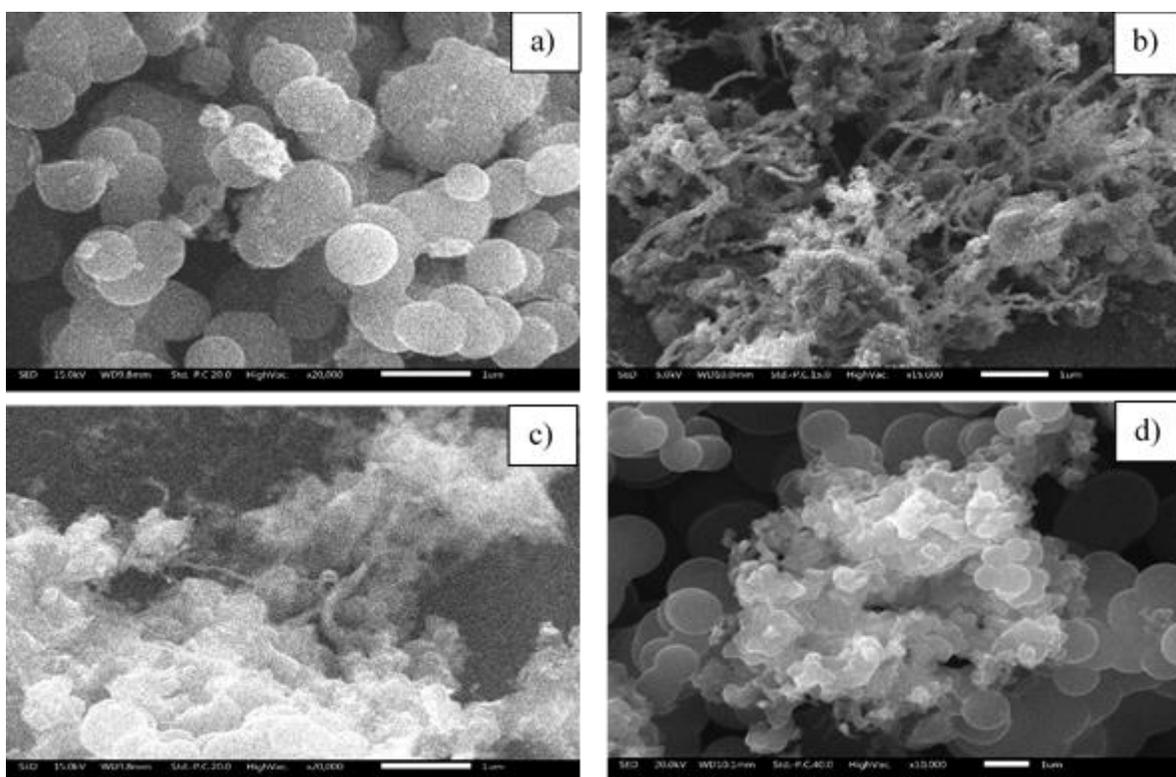
### 4.2.1 Análisis por Microscopia electrónica de barrido y Espectroscopia de energía dispersa.

En la figura 29, las micrografías SEM muestran la morfología de las nanoestructuras obtenidas a partir de la colofonia con el catalizador de acero inoxidable AISI 304. A la temperatura de 750 y 800°C/30 min, se observan diferentes tamaños de CSs entre 430 a 620 nm (figura 29a y b), en tanto que a la temperatura de 850°C/30 min se presenta la formación de CSs de diversos tamaños de entre 320-480 nm, al igual que una escasa cantidad de láminas gráficas (figura 29b). En tanto que a la temperatura de los 850°C con el mismo tiempo de reacción se observan estructuras esféricas menores a 2.21 µm (figura 29c) como único producto de síntesis, mientras que a la temperatura de 900°C se detectaron CSs con una longitud de 960 nm, así como algunas superiores a los 1.55 µm (figura 29d).



**Figura 29** micrografías SEM de CNs de la colofonia por CVD con catalizador durante 30 min a: a) 750, b) 800, c) 850 y 950°C/30 min

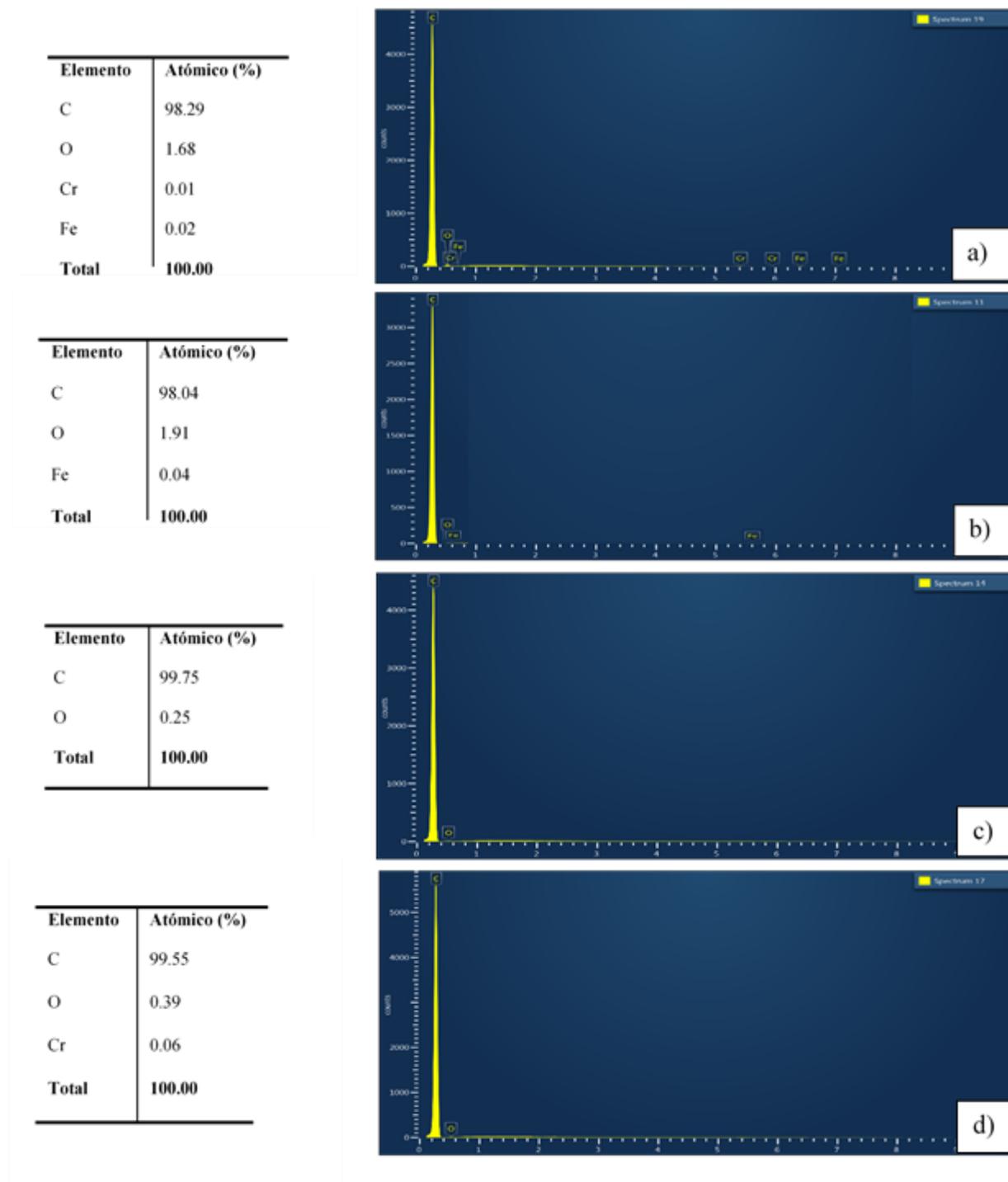
En la figura 30, las micrografías SEM presentan la morfología de las CNs de la colofonia sin el catalizador. A la temperatura de 750°C/30 min se presenta la formación de CSs de diversos tamaños entre 760 y 950 nm, al igual cascaras de láminas gráficas y aglomeraciones por efecto de coalescencia (figura 30a), en tanto que a temperatura de 800 y 850°C en el mismo tiempo de reacción, se observan dos formas geométricas estructurales: CNTs y CSs, estas últimas entre los 300 y 510 nm (figura 30b y c). En la temperatura de 900°C/30 min se presenta la formación de CSs como único producto de la pirólisis de la colofonia por CVD, donde las CSs tuvieron tamaños entre 800 y 900 nm, al igual cascaras de láminas gráficas y aglomeraciones por efecto de coalescencia (figura 30d).



**Figura 30** micrografías SEM de CNs de la colofonia por CVD sin catalizador por 30 min:  
a) 750, 800, 850 y 900°C/30 min

En la figura 31a-d, se presentan los resultados del análisis EDS para las CNs sintetizadas a diferentes temperaturas con un tiempo de reacción de 30 min, donde se muestra un porcentaje atómico de carbono superior al 98%, como el principal elemento. También hubo presencia de oxígeno menor al 2% atómico, así como trazas de hierro y cromo atribuidos a

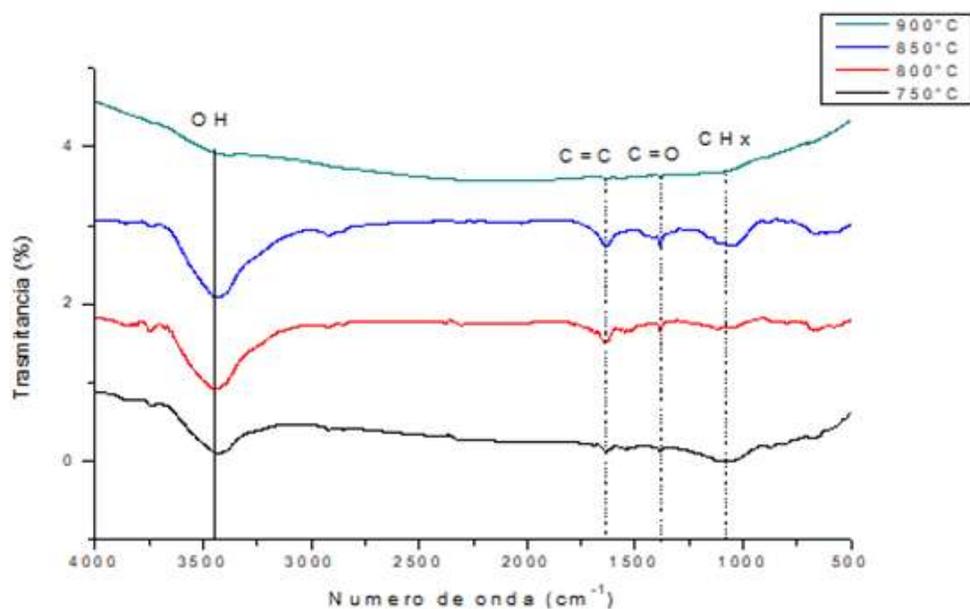
la barra de acero inoxidable utilizada como catalizador, que promueve el crecimiento de las nanoestructuras.



**Figura 31** Análisis EDS de las CNs a partir de la colofonia obtenidas a: a) 750°C, 800°C, 850°C y 900°/30 min

#### 4.2.2 Análisis Espectroscopia por trasformada de Fourier

En la figura 32, se observa el espectro FTIR de las muestras de nanomateriales obtenidos de la colofonia por el método de CVD con catalizador a 30 min de reacción. En las temperaturas: 750, 800, 850 y 900°C fue posible detectar una banda ancha en el rango de 3450-3400  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente al grupo OH, mientras que en el rango de 1640  $\text{cm}^{-1}$  se registró una banda de flexión el grupo C=O, a su vez en la región de 1400  $\text{cm}^{-1}$  se puede apreciar un estiramiento asociado con el grupo C=O. Fuera del plano se registró la presencia de CHx [134]. Estos grupos funcionales podrían influir durante el proceso de germinación de las semillas de *P. glandulosa*, para aumentar el área de absorción de agua y favorecer la hidrólisis del almidón, así como también el crecimiento vegetal [135]. En las muestras de CNs sin el catalizador, las flexiones vibraciones de las principales OH, C=O, CHx tendieron a tener similitud con las nanoestructuras con el catalizador.

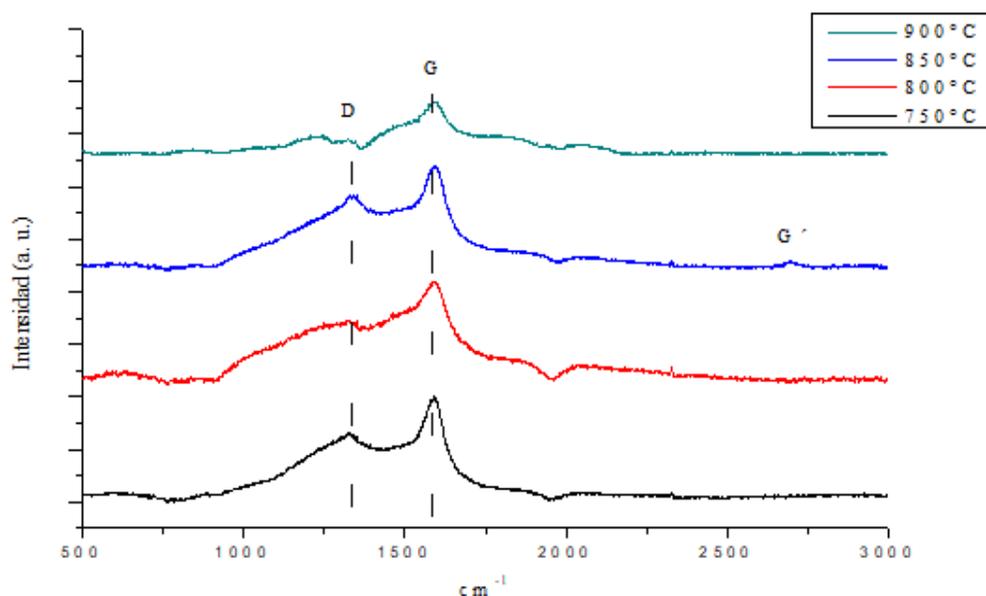


**Figura 32** Análisis FTIR de muestras obtenidas de la colofonia durante 30 minutos por el método de CVD usando una barra de acero como catalizador.

#### 4.2.3 Análisis por Espectroscopía Raman

En la figura 33, es posible observar los espectros Raman de las CNs obtenidas a partir de la colofonia con catalizador. Las bandas D y G en las posiciones 1330  $\text{cm}^{-1}$  y 1590  $\text{cm}^{-1}$  se pueden observar en las cuatro temperaturas a 30 min, que corresponden al defecto del

grafito mal organizado y al grado de grafitización. También fue posible detectar el sobretono (banda G') sobre 2690  $\text{cm}^{-1}$  para la temperatura a 850°C [136].



**Figura 33** Espectro Raman de las CNs de la colofonia por CVD y una barra de acero a 30 min.

En la tabla 5, se observan los valores de la relación ID/IG de las cuatro muestras de CNs obtenidas por la técnica de CVD. A las temperaturas 750, 800, 850 y 900°C por 30 min se registró un ID/IG <1, lo que sugiere defectos en las CSs. En la relación IG'/IG de la muestra a 850°C fue <1, que podría indicar hojas de grafeno en las CSs [137].

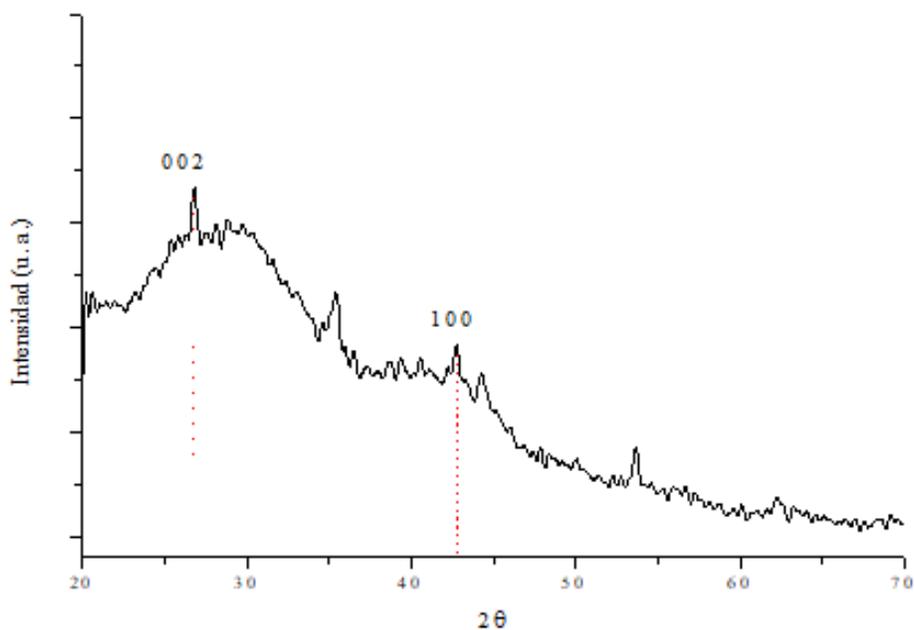
**Tabla 5** Datos del espectro Raman de CNs de la colofonia por CVD con catalizador durante 30 min

Tratamiento	T (°C)	D ( $\text{cm}^{-1}$ )	G ( $\text{cm}^{-1}$ )	G' ( $\text{cm}^{-1}$ )	ID/IG	IG'/IG
1	750°C	1329.92	1581.97	-	0.60	-
2	800°C	1319.14	1592.75	-	0.80	-
3	850°C	1341.28	1592.75	2687.21	0.91	0.71
4	900°C	1341.28	1592.75	-	0.90	-

#### 4.2.4 Análisis por Difracción de Rayos X

El patrón de rayos X de las CSs sintetizadas de la colofonia con catalizador a 30 min se muestra en la figura 34. Los picos  $2\theta = 26,90^\circ$  y  $42,82^\circ$  se pueden asignar a los planos (0 0

2) y (1 0 0) que corresponde al carbono grafítico hexagonal según la ficha JCPDS 96-101-1061. Distancia interplanar de estas esferas fue de 0.270 nm. Estos picos fueron reportados por otros autores para CNs [138].



**Figura 34** Espectro XRD de las nanoestructuras de carbono de la colofonia por CVD con catalizador a 30 min.

### 4.3 Efecto de nanoestructuras de carbono plus *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* en la germinación de *Prosopis glandulosa*.

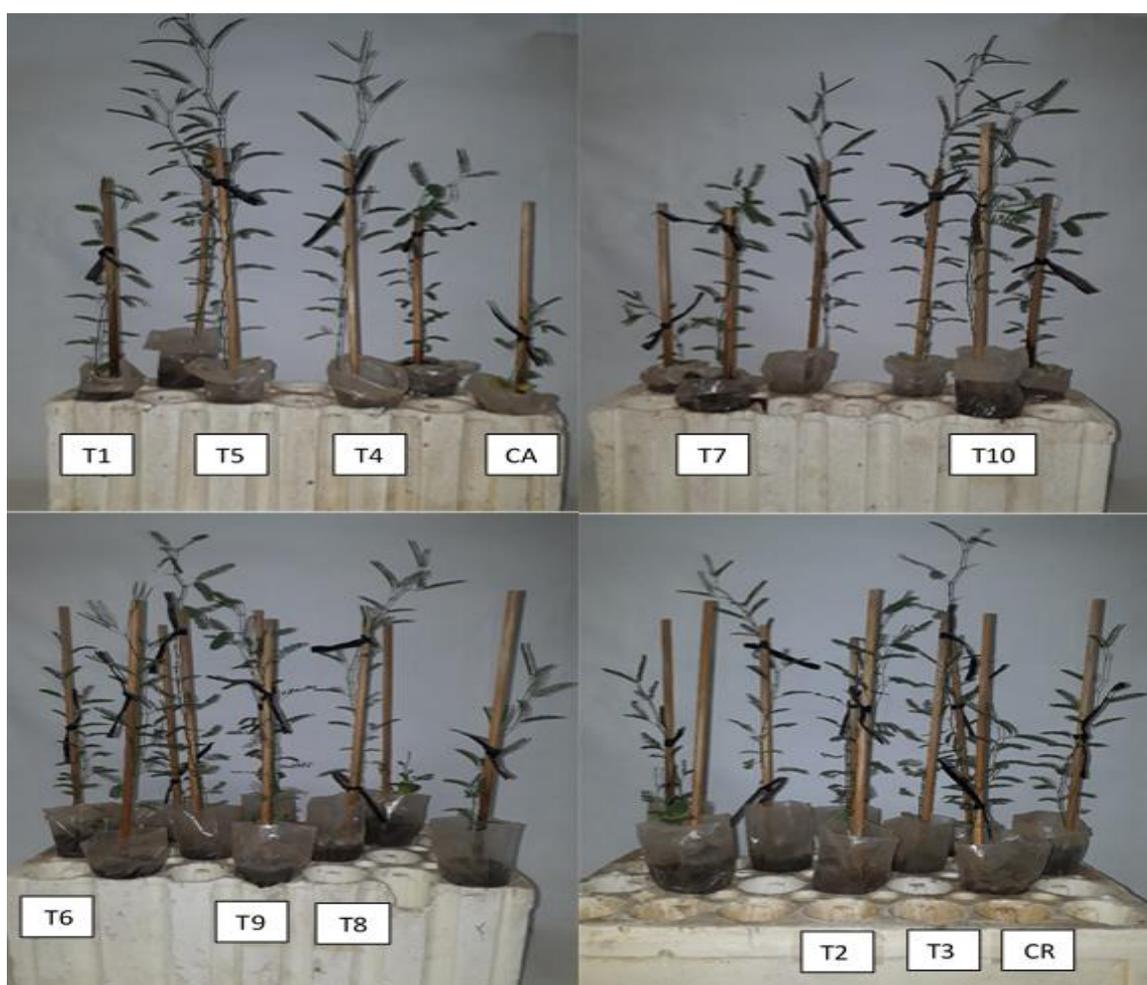
**Tabla 6** Porcentaje de germinación de semillas de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* potenciados con nanoestructuras de carbono.

* <i>Prosopis glandulosa</i>	Germinación (%)
CA = irrigado solo con agua	50 <sup>e**</sup>
CR = alimentado con FN al 100%	<b>70.8<sup>d</sup></b>
T1 = irrigado con agua y 10 ppm de CSs	55.3 <sup>e</sup>
T2 = con 10 ppm de CSs y FN al 50%	66.6 <sup>d</sup>
T3 = con <i>B. thuringiensis</i> más 10 ppm de CSs y FN al 50%	<b>91.6<sup>ab</sup></b>
T4 = con <i>M. echinospora</i> más 10 ppm de CSs y FN al 50%	87.5 <sup>bc</sup>
T5 = con <i>B. thuringiensis</i> / <i>M. echinospora</i> plus 10 ppm de CSs y FN al 50%	<b>95.8<sup>a</sup></b>
T6 = irrigado con agua y 20 ppm de CSs	52.5 <sup>e</sup>
T7 = con 20 ppm de CSs y FN al 50%;	62.5 <sup>d</sup>
T8 = con <i>B. thuringiensis</i> más 20 ppm de CSs y FN al 50%;	83.3 <sup>c</sup>
T9 = con <i>M. echinospora</i> más 20 ppm de CSs y FN al 50%	87.5 <sup>bc</sup>
T10 = con <i>B. thuringiensis</i> / <i>M. echinospora</i> plus 20 ppm de CSs y FN al 50%.	<b>91.6<sup>ab</sup></b>

\*n= 6; Control absoluto (CA); Control relativo (CR); Tratamiento (T); fertilizante nitrogenado (FN); esferas de carbono (CSs). \*\*Valores con letra indican diferencia estadística (P>0.05) según ANOVA/Tukey.

En la tabla 6, se muestra el porcentaje (%) de germinación de las semillas de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* potenciados con 10 ppm de CSs y FN al 50%; con el 95.8%, valor sin diferencia estadística con el 91.6% de *P. glandulosa* inoculado solo con *B. thuringiensis* plus 10 ppm de CSs más FN al 50%; comparado con el mismo valor numérico de *P. glandulosa* coinoculada con las BEPCV más 20 ppm de CSs y FN al 50%. Sin embargo estos valores numéricos, si tuvieron diferencia estadística con el 83.7% de *P. glandulosa* inoculada con *M. echinospora* y 10 ppm de CSs más FN al 50%; comparado con el 83.3% de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* y 20 ppm de CSs y FN al 50%; comparado con 62.5% de *P. glandulosa* sin inocular, solo tratadas con 20 ppm de CSs y FN al 50%; y comparados con el 70.8% de *P. glandulosa* sin las BEPCV, ni con las CSs con el FN al 100% o control relativo (CR). El efecto positivo en la germinación de las semillas de

*P. glandulosa* apoya que al embeber agua se reactivó la actividad de la  $\alpha$ -amilasas que hidroliza el almidón con la liberación de aminoácidos, azúcares simples y ácidos orgánicos [139,140,141], los cuáles *B. thuringiensis* y *M. echinospora* transformaron en fitohormonas del tipo giberelinas [142,143,144], que potenciadas con las CSs estimularon una mayor emergencia de las semillas de *P. glandulosa* [145,146].



**Figura 35** Respuesta de *P. glandulosa* a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* potenciadas con CSs y FN al 50%.

Control absoluto (CA) = semilla de *P. glandulosa* irrigado solo con agua; Control relativo (CR) = semilla de *P. glandulosa* alimentado con FN al 100%; Tratamiento 1 = semilla de *P. glandulosa* con agua y 10 ppm de CSs; Tratamiento 2 = semilla de *P. glandulosa* con 10 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 3 = semilla de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* plus 10 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 4 = semilla de *P. glandulosa* con *M. echinospora* plus 10 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 5 = semilla de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis*/*M. echinospora* plus 10 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 6 = semilla de *P. glandulosa* con agua y 20 ppm de CSs; Tratamiento 7 = semilla de *P. glandulosa* con 20 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 8 = semilla de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* plus 20 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 9 = semilla de *P. glandulosa* con *M. echinospora* plus 20 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 10 = semilla de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis*/*M. echinospora* plus 10 ppm de CSs y FN al 50%.

En la figura 35, se muestra el crecimiento de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* plus 20 ppm de las CSs más el FN al 50% (tratamiento 10) en 4 meses; ahí se registró un aumento en el diámetro del tallo en relación con lo observado en *P. glandulosa* sin inocular, solo tratada con 10/20 ppm de CSs y agua (tratamiento 1 y 6); comparado con *P. glandulosa* sin inocular, con 20 ppm de CSs y FN al 50% (tratamiento 7); comparado con *P. glandulosa* solo con el FN al 100% o CR, que registraron el menor diámetro del tallo. El sano crecimiento de *P. glandulosa* hace evidente que las CSs potenciaron la actividad fitohormonal de *B. thuringiensis* y *M. echinospora* para mantener el saludable desarrollo de la planta, sin causar toxicidad [142, 143,144].

**Tabla 7** Crecimiento de *Prosopis glandulosa* con *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* en la fenología a plántula con esferas de carbono y el FN al 50%

<i>Prosopis glandulosa</i> *	Altura de planta (cm)	Longitud radical (cm)	Número de hojas/planta
CA = irrigado solo con agua	13.63 <sup>f</sup>	13.73 <sup>h</sup>	14.83 <sup>h</sup>
CR = alimentado con FN al 100%	<b>21.56<sup>de</sup></b>	<b>20.85<sup>f</sup></b>	<b>22.66<sup>ef</sup></b>
T1 = irrigado con agua y 10 ppm de CSs	17.45 <sup>e</sup>	17.11 <sup>g</sup>	19.33 <sup>fg</sup>
T2 = con 10 ppm de CSs y FN al 50%	22.48 <sup>de</sup>	21.53 <sup>f</sup>	23.16 <sup>ef</sup>
T3 = con <i>B. thuringiensis</i> más 10 ppm de CSs y FN al 50%	30.43 <sup>c</sup>	27.40 <sup>cd</sup>	35.66 <sup>cd</sup>
T4 = con <i>M. echinospora</i> más 10 ppm de CSs y FN al 50%	28.83 <sup>cd</sup>	26.41 <sup>d</sup>	32.16 <sup>d</sup>
T5 = con <i>B. thuringiensis</i> / <i>M. echinospora</i> plus 10 ppm de CSs y FN al 50%	<b>40.10<sup>b</sup></b>	<b>33.95<sup>b</sup></b>	<b>44.0<sup>b</sup></b>
T6 = irrigado con agua y 20 ppm de CSs	18.63 <sup>e</sup>	19.03 <sup>fg</sup>	20.5 <sup>f</sup>
T7 = con 20 ppm de CSs y FN al 50%;	24.26 <sup>d</sup>	22.78 <sup>e</sup>	25.16 <sup>e</sup>
T8 = con <i>B. thuringiensis</i> más 20 ppm de CSs y FN al 50%;	42.01 <sup>b</sup>	30.71 <sup>c</sup>	37.0 <sup>cd</sup>
T9 = con <i>M. echinospora</i> más 20 ppm de CSs y FN al 50%	42.25 <sup>b</sup>	33.61 <sup>b</sup>	38.33 <sup>c</sup>
T10 = con <i>B. thuringiensis</i> / <i>M. echinospora</i> plus 20 ppm de CSs y FN al 50%.	<b>48.36<sup>a</sup></b>	<b>38.80<sup>a</sup></b>	<b>50.5<sup>a</sup></b>

\*n= 6; Control absoluto (CA); Control relativo (CR); Tratamiento (T); fertilizante nitrogenado (FN); esferas de carbono (CSs). \*\*Valores con letra indican diferencia estadística (P>0.05) según ANOVA/Tukey.

En la tabla 7, se muestra el crecimiento de *P. glandulosa* en la fenología a plántula con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* plus 20 ppm de CSs y el FN al 50%; ahí se registró 48.36 cm de AP y 38.80 cm de LR; valores numéricos con diferencia estadística en comparación con los registrados en *P. glandulosa* tratado individualmente con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* más 20 ppm de CSs y el FN al 50%. Estos resultados sugieren que el incremento en la AP y LR de *P. glandulosa* fue dependiente de que *B. thuringiensis* y *M. echinospora* colonizaron el interior del primordio de raíz, sito de transformación de los compuestos orgánicos de la fotosíntesis en fitohormonas que potenciados por las CSs indujeron un sistema radical más denso y eficaz para absorber y optimizar al máximo el FN al 50%, sin comprometer el sano crecimiento de *P. glandulosa* [147,148,149]. Los valores numéricos de la fenología cuando *P. glandulosa* se inoculó con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* más la dosis de las CSs y el FN al 50% tuvieron diferencia estadística en relación con los 21.56 cm de AP y los 20.85 cm de LR de *P. glandulosa* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora*, ni las CSs, alimentado exclusivamente con el FN al 100% o control relativo (CR), lo que demostró que en esta condición el sistema radical de *P. glandulosa* fue insuficiente para poder absorber eficazmente el FN, lo que implica que un parte se perdió en el suelo.

**Tabla 8** Crecimiento de *Prosopis glandulosa* en la biomasa a plántula con *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* plus esferas de carbono y el FN al 50%

<i>Prosopis glandulosa</i> *	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
	Aéreo	Radical	Aéreo	Radical
CA = irrigado solo con agua	0.2201 <sup>f**</sup>	0.1282 <sup>d</sup>	0.0651 <sup>e</sup>	0.0169 <sup>f</sup>
CR = alimentado con FN al 100%	<b>0.6477<sup>d</sup></b>	<b>0.5416<sup>bc</sup></b>	<b>0.3573<sup>cd</sup></b>	<b>0.2103<sup>e</sup></b>
T1 = irrigado con agua y 10 ppm de CSs	0.4558 <sup>e</sup>	0.4201 <sup>c</sup>	0.2176 <sup>d</sup>	0.1002 <sup>ef</sup>
T2 = con 10 ppm de CSs y FN al 50%	0.6862 <sup>d</sup>	0.5776 <sup>bc</sup>	0.3801 <sup>cd</sup>	0.3359 <sup>d</sup>
T3 = con <i>B. thuringiensis</i> más 10 ppm de CSs y FN al 50%	1.0252 <sup>bc</sup>	0.9792 <sup>a</sup>	0.5311 <sup>b</sup>	0.5104 <sup>b</sup>
T4 = con <i>M. echinospora</i> más 10 ppm de CSs y FN al 50%	0.9756 <sup>bc</sup>	0.9432 <sup>a</sup>	0.5255 <sup>b</sup>	0.5036 <sup>b</sup>
T5 = con <i>B. thuringiensis</i> / <i>M. echinospora</i> plus 10 ppm de CSs y FN al 50%	<b>1.2158<sup>ab</sup></b>	<b>1.0775<sup>a</sup></b>	<b>0.7833<sup>a</sup></b>	<b>0.6799<sup>a</sup></b>
T6 = irrigado con agua y 20 ppm de CSs	0.5152 <sup>d</sup>	0.4221 <sup>c</sup>	0.2761 <sup>d</sup>	0.1031 <sup>c</sup>
T7 = con 20 ppm de CSs y FN al 50%;	0.7954 <sup>c</sup>	0.7005 <sup>b</sup>	0.4686 <sup>c</sup>	0.4182 <sup>ef</sup>
T8 = con <i>B. thuringiensis</i> más 20 ppm de CSs y FN al 50%;	1.0946 <sup>b</sup>	1.0316 <sup>a</sup>	0.5631 <sup>b</sup>	0.5221 <sup>b</sup>
T9 = con <i>M. echinospora</i> más 20 ppm de CSs y FN al 50%	1.1131 <sup>b</sup>	1.0479 <sup>a</sup>	0.5545 <sup>b</sup>	0.5161 <sup>b</sup>
T10 = con <i>B. thuringiensis</i> / <i>M. echinospora</i> plus 20 ppm de CSs y FN al 50%.	<b>1.4494<sup>a</sup></b>	<b>1.1576<sup>a</sup></b>	<b>0.8769<sup>a</sup></b>	<b>0.6998<sup>a</sup></b>

\*n= 6; Control absoluto (CA); Control relativo (CR); Tratamiento (T); fertilizante nitrogenado (FN); esferas de carbono (CSs). \*\*Valores con letra indican diferencia estadística (P>0.05) según ANOVA/Tukey.

En la tabla 8, se muestra el crecimiento de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* plus 20 ppm de CSs y el FN al 50%, donde se registró 1.4494 g de PFA y 1.1576 g de PFR, así como 0.8769 g de PSA y 0.6998 g de PSR, valores sin diferencia estadística con los registrados en *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* y 10 ppm de CSs con el FN al 50%. El crecimiento de *P. glandulosa* a plántula, indican que tanto *B. thuringiensis* como *M. echinospora* pudieron colonizar la endodermis del sistema radical; ahí convirtieron metabolitos de la fotosíntesis en fitohormonas, que potenciadas con las CSs se mejoró la absorción radical para optimizar al máximo el FN al 50% [150,151,152]. Lo anterior apoya que el empleo de CSs potencia la capacidad de *B. thuringiensis* y *M. echinospora* en *P. glandulosa* para que las fitohormonas que generan en el interior de las raíces aumenten la capacidad de absorción radical y la eficaz optimización del FN al 50%,

sin causar un efecto adverso en el sano crecimiento [153,154,155]. Estos valores numéricos de los parámetros de la biomasa de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* y las CSs tuvieron diferencia estadística en comparación con los 0.6477 g de PFA, 0.5416 g de PFR, 0.3573 g de PSA y los 0.2103 g de PFR de *P. glandulosa* con el FN al 100% o CR, que sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora*, ni las CSs son factores limitantes de la capacidad de absorción radical de *P. glandulosa*, pues sin ellos la dosis del FN al 100% se pierde en el suelo, así pues la planta no alcanzó el nivel de crecimiento esperado, lo que hace evidente el empleo de esta doble estrategia para el saludable desarrollo de la leguminosa.



**Figura 36** Crecimiento de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* plus CSs y FN al 50% a nivel de plántula.

Control absoluto (CA) = semilla de *P. glandulosa* irrigado solo con agua; Control relativo (CR) = semilla de *P. glandulosa* alimentado con FN al 100%; Tratamiento 1 = semilla de *P. glandulosa* con agua y 10 ppm de CSs; Tratamiento 2 = semilla de *P. glandulosa* con 10 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 3 = semilla de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* plus 10 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 4 = semilla de *P. glandulosa* con *M. echinospora* plus 10 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 5 = semilla de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis*/*M. echinospora* plus 10 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 6 = semilla de *P. glandulosa* con agua y 20 ppm de CSs; Tratamiento 7 = semilla de *P. glandulosa* con 20 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 8 = semilla de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis* plus 20 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 9 = semilla de *P. glandulosa* con *M. echinospora* plus 20 ppm de CSs y FN al 50%; Tratamiento 10 = semilla de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis*/*M. echinospora* plus 10 ppm de CSs y FN al 50%.

En la figura 36, se muestra a plántula el efecto positivo de *B. thuringiensis* y *M. echinospora* potenciado con las concentraciones de 10 y 20 ppm de CSs en el crecimiento de *P. glandulosa* con el FN al 50%; ahí se registró una mayor altura de la parte aérea y un

sistema radical más denso comparado con el de *P. glandulosa* sin inocular con las BEPCV, tratada con las CSs y el FN al 50%; y con el de *P. glandulosa* sin inocular con *B. thuringiensis* y *M. echinospora*, ni tratada con las CSs solo con el FN al 100% o CR. Lo anterior demuestra que las CSs mejoraron la actividad benéfica de *B. thuringiensis* y *M. echinospora* para la síntesis de los exudados de las raíces en fitohormonas del tipo auxinas, que indujeron un mayor número de pelos radicales para la absorción y optimización del FN reducido al 50% para que *P. glandulosa* tuviese un crecimiento saludable [148,156,157].

#### 4.4 Proceso evaluador de las nanoestructuras de carbono con la química verde

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el proceso de síntesis de las CNs a partir de la colofonia por el método de CVD, con el propósito de minimizar la reducción de contaminación en la naturaleza. A continuación se enlistan los principios de la química verde que se lograron cumplir en la obtención de las CNs:

- Prevención. La reacción de síntesis por CVD fue bajo presión atmosférica por lo que no se produjeron residuos sólidos secundarios.
- Economía atómica. La colofonia como precursor orgánico se aprovechó al máximo para la formación de las CNs en fase de vapor depositados en el catalizador o en las paredes del reactor.
- Uso de metodologías que generen productos con toxicidad reducida. Las CNs se obtuvieron por descomposición térmica, los gases que no reaccionaron se atraparon en acetona.
- Generar productos eficaces pero no tóxicos. Los productos nanoestructurales tienen potencial de ser usados en el sector forestal.
- Reducir el uso de sustancias auxiliares. La síntesis de las CNs se llevó en fase de vapor, lo que evito el uso de sustancias auxiliares.
- Disminuir el consumo energético. El proceso fue a presión atmosférica con tiempos de reacción de 60 y 30 min.
- Utilización de materias primas renovables. La colofonia de *Pinus* sp es renovable, de fácil acceso y bajo costo.
- Evitar la derivatización innecesaria. No se usaron productos intermediarios para la obtención de las CNs.

- Potenciación de la catálisis. Se empleó una barra de acero inoxidable reutilizable necesaria para la formación de las CNs.
- Generar productos biodegradables. Las CNs sintetizadas no causan efectos negativos en el ambiente.
- Desarrollar metodologías analíticas para la monitorización en tiempo real. La síntesis de los nanomateriales se llevó por CVD a temperaturas cercanas a la pirolisis del precursor utilizado en tiempos de reacción cortos.
- Minimizar el potencial de accidentes químicos. El proceso de síntesis fue en fase de vapor con un gas inerte como el argón para disminuir la posibilidad de combustión durante la obtención de las CNs.

## Conclusiones

- Fue posible sintetizar CNs a partir de un precursor orgánico por el método de CVD incorporando los principios de la química verde.
- Emplear la técnica de CVD con un precursor de baja toxicidad permitió una síntesis limpia de CSs.
- Se utilizó la colofonia como precursor por ser renovable, de bajo costo y de fácil acceso.
- La síntesis de los nanomateriales se logró realizar bajo distintas condiciones de temperatura y tiempos de reacción.
- Los materiales resultantes se caracterizaron por distintas técnicas microscopias y espectroscópicas.
- Bajo las técnicas de caracterización se determinaron las mejores condiciones de síntesis.
- Las semillas de *P. glandulosa* con *B. thuringiensis/M. echinospora* plus 10 ppm de CSs más el FN al 50% alcanzaron el 95.8% germinación valor estadísticamente diferente con las semillas de *P. glandulosa* con 10/20 ppm de CSs y el FN al 50%.
- La fenología y biomasa de *P. glandulosa* a plántula con *B. thuringiensis/M. echinospora* potenciadas con 10 ppm de CSs plus FN al 50% fue estadísticamente diferente que *P. glandulosa* sin inocular con las BEPCV, ni tratar con las CSs solo con el FN al 100% o CR.

## Actividades de difusión

La presente investigación permitió la divulgación de datos como ponencias en congresos nacionales. A continuación se citan las participaciones:

- ♣ XLI Encuentro Nacional de la AMIDIQ 2020. “Síntesis de nanoestructuras de carbono a partir de un precursor verde por el método de CVD”.
- ♣ 15° Congreso Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación 2020. Obtención de esferas de carbono por pirolisis de un precursor verde.
- ♣ 17° Foro en Ingeniería e Investigación en Materiales 2020. “Crecimiento de nanoestructuras de carbono a partir de la brea de *Pinus* sp”.
- ♣ LXIII Congreso Nacional de Física 2020. “Resina: una opción ecológica en la síntesis de nanoestructuras de carbono”.
- ♣ XLII Encuentro Nacional de la AMIDIQ 2021. “Optimización en el proceso de síntesis de esferas de carbono a partir de la colofonia a través del método CVD”.
- ♣ LXIV Congreso Nacional de Física 2021. “Influencia del catalizador de acero inoxidable en la síntesis de esferas de carbono usando un precursor verde por CVD”.
- ♣ XXIX International Materials Research Congress 2021. “Rosin: an ecological option in the synthesis of carbon nanostructures”.
- ♣ XIV International Conference on Surfaces, Materials and Vacuum 2021. “Effect of temperature on the growth diameter of carbon spheres using rosin”
- ♣ 16° Congreso Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación 2020. “Aplicación de esferas de carbono en semillas de importancia forestal”.
- ♣ 16° Congreso Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación 2020. “Desarrollo de esferas de carbono por CVD y su efecto potencial con *Bacillus thuringiensis* en el crecimiento del Mezquite.

## Referencias

1. Rao, C. N. R., & Cheetham, A. K. (2001). Science and technology of nanomaterials: current status and future prospects. *Journal of Materials Chemistry*, *11*(12), 2887-2894.
2. Coleman, J. N., Khan, U., Blau, W. J., & Gun'ko, Y. K. (2006). Small but strong: a review of the mechanical properties of carbon nanotube-polymer composites. *Carbon*, *44*(9), 1624-1652.
3. Yu, B., & Meyyappan, M. (2006). Nanotechnology: Role in emerging nanoelectronics. *Solid-state electronics*, *50*(4), 536-544.
4. Lai, H. J., Lin, M. C. C., Yang, M. H., & Li, A. K. (2001). Synthesis of carbon nanotubes using polycyclic aromatic hydrocarbons as carbon sources in an arc discharge. *Materials science and engineering: C*, *16*(1-2), 23-26.
5. EPA, 2017. Legislación Agentes ambientales Nanotecnología en Estados Unidos. [https://ws003universitatpolit.netdnassl.com/php\\_preencionintegral/sites/default/files/noticia/38894/field\\_adjuntos/aug\\_ust2017guidance8-7-2017002.pdf](https://ws003universitatpolit.netdnassl.com/php_preencionintegral/sites/default/files/noticia/38894/field_adjuntos/aug_ust2017guidance8-7-2017002.pdf)
6. Arepalli, S. (2004). Laser ablation process for single-walled carbon nanotube production. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, *4*(4), 317-325.
7. Li, H., Guan, L., Shi, Z., & Gu, Z. (2004). Direct synthesis of high purity single-walled carbon nanotube fibers by arc discharge. *The Journal of Physical Chemistry B*, *108*(15), 4573-4575.
8. Basiuk, E. V., & Basiuk, V. A. (2014). Green chemistry of carbon nanomaterials. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, *14*(1), 644-672.
9. Salinas Estevané, J. P., & Sánchez Cervantes, E. M. (2012). La química verde en la síntesis de nanoestructuras. *Ingenierías*, *15*(54), 7-16.
10. Lu, Y., & Ozcan, S. (2015). Green nanomaterials: On track for a sustainable future. *Nano Today*, *10*(4), 417-420.
11. Paul, S., & Samdarshi, S. K. (2011). A green precursor for carbon nanotube synthesis. *New Carbon Materials*, *26*(2), 85-88.
12. Quiroz Carranza, J. A., Alejandro, M., & Alberto, M. (2015). Resinas naturales de especies vegetales mexicanas: usos actuales y potenciales. *Madera y bosques*, *21*(3), 171-183.

13. Qian, H. S., Han, F. M., Zhang, B., Guo, Y. C., Yue, J., & Peng, B. X. (2004). Non-catalytic CVD preparation of carbon spheres with a specific size. *Carbon*, 42(4), 761-766.
14. Carrasco, J. A., Prima-Garcia, H., Romero, J., Hernández-Saz, J., Molina, S. I., Abellán, G., & Coronado, E. (2016). CVD synthesis of carbon spheres using NiFe-LDHs as catalytic precursors: structural, electrochemical and magnetoresistive properties. *Journal of Materials Chemistry C*, 4(3), 440-448.
15. Zheng, G. B., Kouda, K., Sano, H., Uchiyama, Y., Shi, Y. F., & Quan, H. J. (2004). A model for the structure and growth of carbon nanofibers synthesized by the CVD method using nickel as a catalyst. *Carbon*, 42(3), 635-640.
16. Shah, K. A., & Tali, B. A. (2016). Synthesis of carbon nanotubes by catalytic chemical vapour deposition: A review on carbon sources, catalysts and substrates. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 41, 67-82.
17. Villafuerte-Robles, L. (2009). Nanotecnología farmacéutica. *Razón y palabra*, 14(68), 1-20.
18. Lira-Saldivar, R. H., & Méndez-Argüello, B. (2018). Nanotecnología: Un nuevo paradigma científico en la producción agropecuaria del siglo XXI. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 5(13), 1-2.
19. Wei, C., Yamato, M., Wei, W., Zhao, X., Tsumoto, K., Yoshimura, T., ... & Chen, Y. J. (2007). Genetic nanomedicine and tissue engineering. *Medical Clinics of North America*, 91(5), 889-898.
20. Byrappa, K., Ohara, S., & Adschiri, T. (2008). Nanoparticles synthesis using supercritical fluid technology—towards biomedical applications. *Advanced drug delivery reviews*, 60(3), 299-327.
21. Zhang, L., & Webster, T. J. (2009). Nanotechnology and nanomaterials: promises for improved tissue regeneration. *Nano today*, 4(1), 66-80.
22. Asiyanbola, B., & Soboyejo, W. (2008). For the surgeon: an introduction to nanotechnology. *Journal of surgical education*, 65(2), 155-161.
23. Murphy, P., Munshi, D., Kurian, P. A., Lakhtakia, A., & Bartlett, R. V. (2011). Nanotechnology, Society, and Environment. In *Comprehensive Nanoscience and Technology* (pp. 443-476). Elsevier Inc..

24. Falcao, E. H., & Wudl, F. (2007). Carbon allotropes: beyond graphite and diamond. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 82(6), 524-531.
25. Segawa, Y., Ito, H., & Itami, K. (2016). Structurally uniform and atomically precise carbon nanostructures. *Nature Reviews Materials*, 1(1), 1-14.
26. Kroto, H. W., Heath, J. R., O'Brien, S. C., Curl, R. F., & Smalley, R. E. (1985). C 60: buckminsterfullerene. *nature*, 318(6042), 162-163.
27. Mojica, M., Alonso, J. A., & Méndez, F. (2013). Synthesis of fullerenes. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 26(7), 526-539.
28. Diederich, F., Ettl, R., Rubin, Y., Whetten, R. L., Beck, R., Alvarez, M., ... & Koch, A. (1991). The higher fullerenes: isolation and characterization of C76, C84, C90, C94, and C70O, an oxide of D5h-C70. *Science*, 252(5005), 548-551.
29. Diederich, F., & Whetten, R. L. (1992). Beyond C60: the higher fullerenes. *Accounts of chemical research*, 25(3), 119-126.
30. Fowler, P. W., Heine, T., & Zerbetto, F. (2000). Competition between even and odd fullerenes: C118, C119, and C120. *The Journal of Physical Chemistry A*, 104(42), 9625-9629.
31. Vasilievna Kharissova, O., & Ortiz Méndez, U. (2002). La estructura del fullereno C60 y sus aplicaciones. *Ciencia UANL*, 5(4).
32. Zheng, L. A., Lairson, B. M., Barrera, E. V., & Shull, R. D. (2000). Formation of nanomagnetic thin films by dispersed fullerenes. *Applied Physics Letters*, 77(20), 3242-3244.
33. Yadav, B. C., & Kumar, R. (2008). Structure, properties and applications of fullerenes. *International Journal of Nanotechnology and Applications*, 2(1), 15-24.
34. Ferrari, A. C., Meyer, J. C., Scardaci, V., Casiraghi, C., Lazzeri, M., Mauri, F., ... & Geim, A. K. (2006). Raman spectrum of graphene and graphene layers. *Physical review letters*, 97(18), 187401.
35. Rodríguez González, C., & Kharissova, O. V. (2008). Propiedades y aplicaciones del grafeno. *Ingenierías*, 11(38), 17-23.
36. Giraldo, A. V. (2011). El Grafeno. *Revista Colombiana de Materiales*, (1).

37. Neto, A. C., Guinea, F., Peres, N. M., Novoselov, K. S., & Geim, A. K. (2009). The electronic properties of graphene. *Reviews of modern physics*, 81(1), 109.
38. Novoselov, K. S. (2012). Fal' Ko, VI; Colombo, L.; Gellert, PR; Schwab, MG; Kim, K. *Nature*, 490(7419), 192-200.
39. Iijima, S. (1991). Helical microtubules of graphitic carbon. *nature*, 354(6348), 56-58.
40. Mehra, N. K., & Jain, N. K. (2016). Multifunctional hybrid-carbon nanotubes: new horizon in drug delivery and targeting. *Journal of drug targeting*, 24(4), 294-308.
41. Roche, S., & Saito, R. (1999). Effects of magnetic field and disorder on the electronic properties of carbon nanotubes. *Physical Review B*, 59(7), 5242.
42. Karimi, M., Solati, N., Amiri, M., Mirshekari, H., Mohamed, E., Taheri, M., ... & Hamblin, M. R. (2015). Carbon nanotubes part I: preparation of a novel and versatile drug-delivery vehicle. *Expert opinion on drug delivery*, 12(7), 1071-1087.
43. Somanathan, T., & Pandurangan, A. (2010). Helical multiwalled carbon nanotubes (h-MWCNTs) synthesized by catalytic chemical vapor deposition. *New carbon materials*, 25(3), 175-180.
44. Andrade Guel, M. L., López López, L. I., & Sáenz Galindo, A. (2012). Nanotubos de carbono: funcionalización y aplicaciones biológicas. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43(3), 9-18.
45. Shaikjee, A., & Coville, N. J. (2012). The synthesis, properties and uses of carbon materials with helical morphology. *Journal of Advanced Research*, 3(3), 195-223.
46. Fan, Z., Gong, F., Nguyen, S. T., & Duong, H. M. (2015). Advanced multifunctional graphene aerogel–poly (methyl methacrylate) composites: experiments and modeling. *Carbon*, 81, 396-404.
47. Domingo, C., & Santoro, G. (2007). Espectroscopía Raman de nanotubos de carbono. *Opt. Pura Apl*, 40(2), 175-186.
48. Herbst, M. H., Macêdo, M. I. F., & Rocco, A. M. (2004). Tecnologia dos nanotubos de carbono: tendências e perspectivas de uma área multidisciplinar. *Química Nova*, 27, 986-992.
49. Thostenson, E. T., Ren, Z., & Chou, T. W. (2001). Advances in the science and technology of carbon nanotubes and their composites: a review. *Composites science and technology*, 61(13), 1899-1912.

50. Eltahir, M. A., Almalki, T. A., Ahmed, K. I., & Almitani, K. H. (2019). Characterization and behaviors of single walled carbon nanotube by equivalent-continuum mechanics approach. *Advances in nano research*, 7(1), 39.
51. Saifuddin, N., Raziah, A. Z., & Junizah, A. R. (2013). Carbon nanotubes: a review on structure and their interaction with proteins. *Journal of Chemistry*, 2013.
52. Dresselhaus, M. S., & Endo, M. (2001). Relation of carbon nanotubes to other carbon materials. *Carbon nanotubes*, 11-28.
53. Moreno-Castilla, C. (2016). Colloidal and micro-carbon spheres derived from low-temperature polymerization reactions. *Advances in colloid and interface science*, 236, 113-141.
54. Haynes, C. L., & Van Duyne, R. P. (2001). Nanosphere lithography: a versatile nanofabrication tool for studies of size-dependent nanoparticle optics. *The Journal of Physical Chemistry B*, 105(24), 5599-5611.
55. Deshmukh, A. A., Mhlanga, S. D., & Coville, N. J. (2010). Carbon spheres. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 70(1-2), 1-28.
56. Inagaki, M. (1997). Discussion of the formation of nanometric texture in spherical carbon bodies. *Carbon*, 35(5), 711-713.
57. Coville, N. J., Mhlanga, S. D., Nxumalo, E. N., & Shaikjee, A. (2011). A review of shaped carbon nanomaterials. *South African Journal of Science*, 107(3), 1-15.
58. Wang, Z. L., & Kang, Z. C. (1996). Pairing of pentagonal and heptagonal carbon rings in the growth of nanosize carbon spheres synthesized by a mixed-valent oxide-catalytic carbonization process. *The Journal of Physical Chemistry*, 100(45), 17725-17731.
59. Dupuis, A. C. (2005). The catalyst in the CCVD of carbon nanotubes—a review. *Progress in materials science*, 50(8), 929-961.
60. Purohit, R., Purohit, K., Rana, S., Rana, R. S., & Patel, V. (2014). Carbon nanotubes and their growth methods. *Procedia materials science*, 6, 716-728.
61. Tsuji, T., Iryo, K., Nishimura, Y., & Tsuji, M. (2001). Preparation of metal colloids by a laser ablation technique in solution: influence of laser wavelength on the ablation efficiency (II). *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 145(3), 201-207.

62. Arepalli, S. (2004). Laser ablation process for single-walled carbon nanotube production. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 4(4), 317-325.
63. Chrzanowska, J., Hoffman, J., Małolepszy, A., Mazurkiewicz, M., Kowalewski, T. A., Szymanski, Z., & Stobinski, L. (2015). Synthesis of carbon nanotubes by the laser ablation method: Effect of laser wavelength. *physica status solidi (b)*, 252(8), 1860-1867.
64. Rashad, A., Noaman, R., Mohammed, S., & Yousif, E. (2016). Journal of Nanoscience and Technology. *Journal of Nanoscience and Technology*, 2(3), 155-162.
65. Hernández, Y., Holguina, G., Baquero, M., & Gómez-Baquero, F. (2004). Síntesis de nanotubos de carbono por el método de arco de descarga eléctrica. *Revista colombiana de física*, 36(2).
66. Li, Z., Zhao, B., Wang, H., & Zhang, Y. (2008). Improving the synthesis of single-walled carbon nanotubes by pulsed arc discharge in air by preheating the catalysts. *Carbon*, 46(13), 1819-1822.
67. Prasek, J., Drbohlavova, J., Chomoucka, J., Hubalek, J., Jasek, O., Adam, V., & Kizek, R. (2011). Methods for carbon nanotubes synthesis. *Journal of Materials Chemistry*, 21(40), 15872-15884.
68. Arora, N., & Sharma, N. N. (2014). Arc discharge synthesis of carbon nanotubes: Comprehensive review. *Diamond and related materials*, 50, 135-150.
69. Albella, J. M., Gómez-Aleixandre, C., Martí, F. J., & Ojeda, F. (2003). Síntesis de materiales cerámicos mediante técnicas químicas en fase vapor (CVD). *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 42(1), 27-31.
70. Kumar, M., & Ando, Y. (2010). Chemical vapor deposition of carbon nanotubes: a review on growth mechanism and mass production. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 10(6), 3739-3758.
71. Magrez, A., Seo, J. W., Smajda, R., Mionić, M., & Forró, L. (2010). Catalytic CVD synthesis of carbon nanotubes: towards high yield and low temperature growth. *Materials*, 3(11), 4871-4891.
72. Whitesides, G. M. (2005). Nanoscience, nanotechnology, and chemistry. *Small*, 1(2), 172-179.

73. Reales, O. A. M., & Toledo Filho, R. D. (2017). A review on the chemical, mechanical and microstructural characterization of carbon nanotubes-cement based composites. *Construction and Building Materials*, 154, 697-710.
74. Vázquez, S.B. and I.E. Cabrera, *Microscopía electrónica de barrido*. Introducción a la microscopía electrónica, 2012. 1: p. 1-30.
75. Penagos, J. I. C. (2013). Caracterización de materiales a través de medidas de microscopía electrónica de barrido (SEM). *Elementos*, 3(3), 133-146.
76. Goldstein, J. I., Newbury, D. E., Echlin, P., Joy, D. C., Lyman, C. E., Lifshin, E., ... & Michael, J. R. (2003). Special topics in scanning electron microscopy. In *Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis* (pp. 195-270). Springer, Boston, MA.
77. Theophanides, T. (2012). Introduction to infrared spectroscopy. *Infrared Spectroscopy-Materials Science, Engineering and Technology*, 1-10.
78. Piqué, T. M., & Vázquez, A. (2012). Uso de Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) en el estudio de la hidratación del cemento. *Concreto y cemento. Investigación y desarrollo*, 3(2), 62-71.
79. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. A. (2014). *Introduction to spectroscopy*. Cengage Learning.
80. Ramos, J. C., Luna, A. E. V., & Lima, C. M. O. (2013). Espectroscopia Raman y sus aplicaciones. *Opt. Pura. Apl*, 83-95.
81. Smith, E., & Dent, G. (2019). *Modern Raman spectroscopy: a practical approach*. John Wiley & Sons.
82. Schrader, B. (Ed.). (2008). *Infrared and Raman spectroscopy: methods and applications*. John Wiley & Sons.
83. Willard, H. H., Merritt, L. L., Dean, J. A., & Settle, F. A. (1991). *Métodos instrumentales de análisis* (No. QR148 W71e).
84. Hoyle, S. (1993). Introduction to crystallography; Royal Microscopical Society microscopy handbooks 19: By C. Hammon. Oxford/New York: Oxford University Press (1992); 132 pp. Price: \$19.95 (pbk). ISBN 0-19-856433-3.
85. Anastas, P. T., & Zimmerman, J. B. (2003). Twelve Principles of Green Engineering. *Env. Sci. Tech*, 37, 94A-101A.

86. Cívicos, J. G. (2008). Ingeniería Verde: Doce principios para la sostenibilidad. *Ingeniería química*, (458), 168-175.
87. García-Serna, J., Pérez-Barrigón, L., & Cocero, M. J. (2007). New trends for design towards sustainability in chemical engineering: Green engineering. *Chemical Engineering Journal*, 133(1-3), 7-30.
88. Anastas, P., & Eghbali, N. (2010). Green chemistry: principles and practice. *Chemical Society Reviews*, 39(1), 301-312.
89. Kumar, M., & Ando, Y. (2003). A simple method of producing aligned carbon nanotubes from an unconventional precursor—Camphor. *Chemical Physics Letters*, 374(5-6), 521-526.
90. Andrews, R. J., Smith, C. F., & Alexander, A. J. (2006). Mechanism of carbon nanotube growth from camphor and camphor analogs by chemical vapor deposition. *Carbon*, 44(2), 341-347.
91. Afre, R. A., Soga, T., Jimbo, T., Kumar, M., Ando, Y., Sharon, M., ... & Umeno, M. (2006). Carbon nanotubes by spray pyrolysis of turpentine oil at different temperatures and their studies. *Microporous and Mesoporous Materials*, 96(1-3), 184-190.
92. John, G., & Vemula, P. K. (2006). Design and development of soft nanomaterials from biobased amphiphiles. *Soft Matter*, 2(11), 909-914.
93. Mendoza, D., Santiago, P., & Reyes Pérez, E. (2006). Carbon nanotubes produced from hexane and ethanol. *Revista mexicana de física*, 52(1), 1-5.
94. Ghosh, P., Soga, T., Afre, R. A., & Jimbo, T. (2008). Simplified synthesis of single-walled carbon nanotubes from a botanical hydrocarbon: Turpentine oil. *Journal of alloys and compounds*, 462(1-2), 289-293.
95. Paul, S., & Samdarshi, S. K. (2011). A green precursor for carbon nanotube synthesis. *New Carbon Materials*, 26(2), 85-88.
96. Granados-Martínez, F. G., Contreras-Navarrete, J. J., García-Ruiz, D. L., Gutiérrez-García, C. J., Durán-Navarro, A., Gama-Ortega, E. E., ... & Domratcheva-Lvova, L. (2016). Carbon nanotubes synthesis from four different organic precursors by CVD. *MRS Online Proceedings Library Archive*, 1817.
97. Ambriz-Torres, J. M., Granados-Martínez, F. G., de Jesús Contreras-Navarrete, J., Gutiérrez-García, C. J., García-Ruiz, D. L., de Lourdes Mondragón-Sánchez, M., ... &

- Domratcheva-Lvova, L. (2018). Carbon nanotubes and carbon nanobeads synthesis by one-pot chemical vapor deposition method: morphology and crystallinity. *Materials Research Express*, 5(8), 085008.
98. Gutiérrez-García, C. J., Ambriz-Torres, J. M., de Jesús Contreras-Navarrete, J., Granados-Martínez, F. G., García-Ruiz, D. L., García-González, L., ... & Domratcheva-Lvova, L. (2019). Synthesis of carbon spheres by atmospheric pressure chemical vapor deposition from a serial of aromatic hydrocarbon precursors. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 112, 78-85.
99. Xu, P., Zeng, G. M., Huang, D. L., Feng, C. L., Hu, S., Zhao, M. H., ... & Liu, Z. F. (2012). Use of iron oxide nanomaterials in wastewater treatment: a review. *Science of the Total Environment*, 424, 1-10.
100. Lugo-Medina, E., García-Gutiérrez, C., & Ruelas-Ayala, R. D. (2010). Nanotecnología y nanoencapsulación de plaguicidas. *Ra Ximhai*, 6(1), 63-67.
101. Lira Saldivar, R. H., Méndez Argüello, B., Vera Reyes, I., & De los Santos Villarreal, G. (2018). Agronanotecnología-Agronanotechnology. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 50(2).
102. Rizwan, M., Singh, M., Mitra, C. K., & Morve, R. K. (2014). Ecofriendly application of nanomaterials: nanobioremediation. *Journal of Nanoparticles*, 2014.
103. Sharma, V. P., Sharma, U., Chattopadhyay, M., & Shukla, V. N. (2018). Advance applications of nanomaterials: a review. *Materials Today: Proceedings*, 5(2), 6376-6380.
104. Ameta, S. K., Rai, A. K., Hiran, D., Ameta, R., & Ameta, S. C. (2020). Use of nanomaterials in food science. *Biogenic Nano-Particles and their Use in Agroecosystems*, 457.
105. Khot, L. R., Sankaran, S., Maja, J. M., Ehsani, R., & Schuster, E. W. (2012). Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: a review. *Crop protection*, 35, 64-70.
106. Garg, D., & Payasi, D. K. (2020). Nanomaterials in agricultural research: an overview. *Environmental Nanotechnology Volume 3*, 243-275.

107. Jain, A., Ranjan, S., Dasgupta, N., & Ramalingam, C. (2018). Nanomaterials in food and agriculture: an overview on their safety concerns and regulatory issues. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(2), 297-317.
108. Rai, M., & Ingle, A. (2012). Role of nanotechnology in agriculture with special reference to management of insect pests. *Applied microbiology and biotechnology*, 94(2), 287-293.
109. Kopittke, P. M., Lombi, E., Wang, P., Schjoerring, J. K., & Husted, S. (2019). Nanomaterials as fertilizers for improving plant mineral nutrition and environmental outcomes. *Environmental Science: Nano*, 6(12), 3513-3524.
110. Zulfiqar, F., Navarro, M., Ashraf, M., Akram, N. A., & Munné-Bosch, S. (2019). Nanofertilizer use for sustainable agriculture: Advantages and limitations. *Plant Science*, 289, 110270.
111. Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F., & Biris, A. S. (2009). Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS nano*, 3(10), 3221-3227.
112. Tripathi, S., Sonkar, S. K., & Sarkar, S. (2011). Growth stimulation of gram (*Cicer arietinum*) plant by water soluble carbon nanotubes. *Nanoscale*, 3(3), 1176-1181.
113. Wang, X., Han, H., Liu, X., Gu, X., Chen, K., & Lu, D. (2012). Multi-walled carbon nanotubes can enhance root elongation of wheat (*Triticum aestivum*) plants. *Journal of Nanoparticle Research*, 14(6), 841.
114. Khodakovskaya, M. V., De Silva, K., Biris, A. S., Dervishi, E., & Villagarcia, H. (2012). Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells. *ACS nano*, 6(3), 2128-2135.
115. Khodakovskaya, M. V., Kim, B. S., Kim, J. N., Alimohammadi, M., Dervishi, E., Mustafa, T., & Cernigla, C. E. (2013). Carbon nanotubes as plant growth regulators: effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community. *Small*, 9(1), 115-123.
116. Rahimi, D., Kartoolinejad, D., Nourmohammadi, K., & Naghdi, R. (2016). Increasing drought resistance of *Alnus subcordata* CA Mey. seeds using a nano priming technique with multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Forest Science*, 62(6), 269-278.

117. Valenzuela-Núñez, L. M., Trucíos-Caciano, R., Ríos-Saucedo, J. C., Flores Hernández, A., & González-Barrios, J. L. (2011). Caracterización dasométrica y delimitación de rodales de mezquite (*Prosopis* sp) en el estado de Coahuila. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 17(SPE), 87-96.
118. Saucedo, E. N. R., Martínez, G. E. R., Valverde, B. R., Ruiz, R. M., Hermida, M. D. L. C. C., Torres, S. M. M., & Ruiz, H. H. P. (2014). Análisis técnico del árbol del mezquite (*Prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. ex Willd.) en México. *Ra Ximhai*, 10(3), 173-193.
119. Passera, C. (2000). Fisiología de *Prosopis* spp. *Multequina*, 9(2), 53-80.
120. Sánchez-Yáñez, JM. (2007). Breve tratado de microbiología agrícola, teórica y práctica. (1a ed). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, CIDEM, Secretaria de Desarrollo Agropecuario del Gobierno del Estado de Michoacán. CONSUTENTA, SA de CV Morelia, Mich, México. ISBN: 978970-95424-1
121. Norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. México. DOF Secretaria de Gobernación. 2013.
122. Varela, S. A., & Arana, V. (2011). Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. *Sistema Forestal Integrado*, 1-10
123. Walpole E.R., Myers R., Myers LS. 2007. Probabilidad & Estadística para Ingeniería & Ciencias. Ed. Pearson, 8ª, ISBN: 13:978-970-26-0936
124. Kang, Z. C., & Wang, Z. L. (1996). On accretion of nanosize carbon spheres. *The Journal of Physical Chemistry*, 100(13), 5163-5165.
125. Corredor, J. A. G., & Villa, R. A. S. (2013). Obtención de colofonia y trementina a partir de resina de pino de la especie patula y posterior evaluación de los parametros de calidad. *Jou. Cie. Ing*, 5(1), 88-91.
126. Țucureanu, V., Matei, A., & Avram, A. M. (2016). FTIR spectroscopy for carbon family study. *Critical reviews in analytical chemistry*, 46(6), 502-520.
127. Antunes, E. F., Lobo, A. O., Corat, E. J., & Trava-Airoldi, V. J. (2007). Influence of diameter in the Raman spectra of aligned multi-walled carbon nanotubes. *Carbon*, 45(5), 913-921.

128. Ermakova, M. A., Ermakov, D. Y., Chuvilin, A. L., & Kuvshinov, G. G. (2001). Decomposition of methane over iron catalysts at the range of moderate temperatures: the influence of structure of the catalytic systems and the reaction conditions on the yield of carbon and morphology of carbon filaments. *Journal of Catalysis*, 201(2), 183-197.
129. Dresselhaus, M. S., Dresselhaus, G., Saito, R., & Jorio, A. (2005). Raman spectroscopy of carbon nanotubes. *Physics reports*, 409(2), 47-99.
130. Cançado, L. G., Takai, K., Enoki, T., Endo, M., Kim, Y. A., Mizusaki, H., ... & Pimenta, M. A. (2006). General equation for the determination of the crystallite size L a of nanographite by Raman spectroscopy. *Applied Physics Letters*, 88(16), 163106.
131. Le, H. D., Ngo, T. T. T., Le, D. Q., Nguyen, X. N., & Phan, N. M. (2013). Synthesis of multi-layer graphene films on copper tape by atmospheric pressure chemical vapor deposition method. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 4(3), 035012.
132. Wyckoff, R. W. (1963). Hexagonal closest packed, hcp, structure. *Cryst. Struct*, 1, 7-83.
133. Fayos, J. (1999). Possible 3D carbon structures as progressive intermediates in graphite to diamond phase transition. *Journal of Solid State Chemistry*, 148(2), 278-285.
134. Huang, Z. H., Zhang, F., Wang, M. X., Lv, R., & Kang, F. (2012). Growth of carbon nanotubes on low-cost bamboo charcoal for Pb (II) removal from aqueous solution. *Chemical Engineering Journal*, 184, 193-197.
135. Mondal, A., Basu, R., Das, S., & Nandy, P. (2011). Beneficial role of carbon nanotubes on mustard plant growth: an agricultural prospect. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(10), 4519-4528.
136. Dresselhaus, M. S., Jorio, A., Souza Filho, A. G., & Saito, R. (2010). Defect characterization in graphene and carbon nanotubes using Raman spectroscopy. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 368(1932), 5355-5377.
137. Cançado, L. G. D. O. L. (2006). Raman spectroscopy of nanographites.

138. Romero Rodríguez, P. (2017). Synthesis of carbon nanomaterials by catalytic chemical vapor deposition: growth mechanisms on metal powders and foils.
139. Rosenblueth, M., & Martínez-Romero, E. (2006). Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular plant-microbe interactions*, 19(8), 827-837
140. Rives, N., Acebo, Y., & Hernández, A. (2007). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). Perspectivas de su uso en Cuba. *Cultivos tropicales*, 28(2), 29-38.
141. Trujillo, M. E., Alonso-Vega, P., Rodríguez, R., Carro, L., Cerda, E., Alonso, P., & Martínez-Molina, E. (2010). The genus *Micromonospora* is widespread in legume root nodules: the example of *Lupinus angustifolius*. *The ISME journal*, 4(10), 1265-1281.
142. Quiñones-Aguilar, E. E., Evangelista-Martínez, Z., & Rincón-Enríquez, G. (2016). Los actinomicetos y su aplicación biotecnológica. *Elementos*, 101, 59-64.
143. Chowdhury, S. P., Hartmann, A., Gao, X., & Borriss, R. (2015). Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42—a review. *Frontiers in microbiology*, 6, 780.
144. Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & Santos-Villalobos, S. D. L. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(1), 95-130.
145. Mondal, A., Basu, R., Das, S., & Nandy, P. (2011). Beneficial role of carbon nanotubes on mustard plant growth: an agricultural prospect. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(10), 4519-4528.
146. Lai, H. J., Lin, M. C. C., Yang, M. H., & Li, A. K. (2001). Synthesis of carbon nanotubes using polycyclic aromatic hydrocarbons as carbon sources in an arc discharge. *Materials science and engineering: C*, 16(1-2), 23-26.
147. Abdulkhair, W. M., & Alghuthaymi, M. A. (2016). Enzymes and Phytohormones from *Micromonospora*. *Actinobacteria: Basics and Biotechnological Applications*, 9, 291.
148. Mukherjee, A., Majumdar, S., Servin, A. D., Pagano, L., Dhankher, O. P., & White, J. C. (2016). Carbon nanomaterials in agriculture: a critical review. *Frontiers in plant science*, 7, 172.

149. Azizoglu, U. (2019). *Bacillus thuringiensis* as a biofertilizer and biostimulator: a mini-review of the little-known plant growth-promoting properties of Bt. *Current microbiology*, 76(11), 1379-1385.
150. Ling, D. H., & Xing, B. S. (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root elongation. *Environ. Pollut*, 150, 243-250.
151. Swarnalakshmi, K., Senthilkumar, M., & Ramakrishnan, B. (2016). Endophytic actinobacteria: nitrogen fixation, phytohormone production, and antibiosis. In *Plant growth promoting actinobacteria* (pp. 123-145). Springer, Singapore.
152. de Melo, L. H. V., Rocha, F. Y. O., Vidal, M. S., de Medeiros Gitahy, P., Arruda, G. M., Barreto, C. P., ... & Baldani, J. I. (2021). Diversity and biotechnological potential of endophytic *Bacillus* species originating from the stem apoplast fluid of sugarcane plants. *Applied Soil Ecology*, 166, 103985.
153. Wild, E., & Jones, K. C. (2009). Novel method for the direct visualization of in vivo nanomaterials and chemical interactions in plants. *Environmental science & technology*, 43(14), 5290-5294.
154. Gamalero, E., & Glick, B. R. (2011). Mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. In *Bacteria in agrobiolgy: plant nutrient management* (pp. 17-46). Springer, Berlin, Heidelberg.
155. Tiwari, S., Prasad, V., & Lata, C. (2019). *Bacillus*: Plant growth promoting bacteria for sustainable agriculture and environment. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 43-55). Elsevier.
156. Menendez, E., & Garcia-Fraile, P. (2017). Plant probiotic bacteria: solutions to feed the world. *AIMS microbiology*, 3(3), 502.
157. Ismail, M. A., Amin, M. A., Eid, A. M., Hassan, S. E. D., Mahgoub, H. A., Lashin, I., ... & Fouda, A. (2021). Comparative Study between Exogenously Applied Plant Growth Hormones versus Metabolites of Microbial Endophytes as Plant Growth-Promoting for *Phaseolus vulgaris* L. *Cells*, 10(5), 1059.

## Anexos

### Anexo 1 Ficha técnica de la colofonia



Proporcionada por la industria "La Soledad", Morelia, Michoacán.

Características:

- Índice de acidez = 158.2
- Punto de reblandecimiento = 69.6°C
- Color = 4+

Índice de Acidez ASTM D 465-92

Este procedimiento se utiliza para determinar el índice de acidez o número ácido de materia prima, derivados de brea y materiales relativos. Representa el número de miligramos de hidróxido de potasio requeridos para neutralizar un gramo de muestra.

Punto de Ablandamiento Anillo y Bola (R&B) ASTM E-28

Este método de ensayo, se define como la temperatura a la que un disco de muestra dentro de un anillo horizontal es forzado hacia abajo una distancia de 25.4 mm.

Estos métodos de ensayo están destinados para determinar el punto de reblandecimiento de resinas (incluyendo resinas de colofonia y terpénicas), así como de sus productos derivados.

Color ASTM D-1544

El comparador de color Gardner usa 18 estándares permanentes de vidrio coloreado en dos discos que van desde valores de 1.0 a 9.0 y de 9.0 a 18.0 con aumento de intensidad en el color. El comparador incorpora un prisma de aumento que pone los estándares de color y la muestra de prueba uno al lado del otro en una sola imagen, lo cual facilita la determinación

de color, siendo importante para la brea y productos derivados a partir de ella, debido a que en muchas ocasiones es considerado uno de los factores más importantes al determinar el uso al que va a ser destinada.

## Anexo 2 Ficha técnica de barra de acero inoxidable (catalizador) AISI 304.



**Aluminio – Bronce - Celorón  
Latón – Nylomaq - Plomo  
Polymaq – PTFE - PVC.**

1/4

### ACERO INOXIDABLE:

#### **Características:**

Los Aceros Inoxidables contienen como mínimo el 10.5% de Cromo el cual genera una capa protectora sobre su superficie generando una increíble resistencia a la corrosión.

Los 3 Grupos más comunes de Aceros Inoxidables son:

1. Austeníticos: (18% Cr. y 8% Ni.) Son los más resistentes a la corrosión de los 3 grupos. Son muy dúctiles.
2. Ferríticos: (15% al 20% de Cromo, Bajo Carbono y 0% Ni.) Menos dúctiles que los austeníticos.
3. Martensíticos: (Hasta 18% Cr. y 0% Ni) Contenido de Carbono más alto que los ferríticos y con buena resistencia a la fatiga.

La selección del acero inoxidable adecuado es vital para el funcionamiento y aplicación de la pieza, es por eso que a continuación damos características generales y específicas de diferentes Inoxidables.

- Excelente resistencia a la corrosión
- Buena Ductilidad
- Buena combinación en resistencia
- Material Higiénico
- Material 100% Reciclable

<b>AISI 304</b>	<p>Es un acero Inoxidable Austenítico, antimagnético no templable, con excelentes propiedades de ductibilidad y resistencia al golpe.</p> <p>Posee buena resistencia a la corrosión a temperatura de hasta 920°C (1700°F) en servicio continuo y 870°C (1600°F) en servicio intermitente y su bajo contenido de carbono lo hace muy apropiado para someterse a procesos de soldadura.</p> <p>APLICACIONES: Evaporadores, Tanques en general, Muebles de cocina y Laboratorio, partes para válvulas, Ind. Aeronáutica, ferroviaria, naval, petroquímica, de papel y celulosa, de hospitales, alimentos, láctea, farmacéutica, cosmética, instalaciones criogénicas, destilerías y otras. (Id. Color Azul).</p>
-----------------	---

### Anexo 3 Ficha técnica del argón (Ar) de alta pureza INFRA.



---

#### 1. DATOS GENERALES

**INFRA S.A. DE C.V.**  
Félix Guzmán No. 16  
Naucalpan de Juárez, Edo. de México, C.P. 53390

#### Teléfonos:

Conmutador: 5329 -3000

Tels. Directos Ventas:

Gases Especiales: 5329 -3039  
Gases Industriales: 5329 -3044  
Gases Medicinales: 5329 -3042

**Emergencias: (24 Hrs) 01 -800 221 9844 / (01-55) 5310 -6799**

Servicio al Cliente: 01-800 712 2525

**Fecha:** Elaboración Mayo 2004  
Actualización Enero 2013

---

#### 2. DATOS DE LA SUSTANCIA QUIMICA PELIGROSA

**Nombre:** Argón

**Nombre Comercial y Sinónimos:** Argón Alta Pureza (A.P.)  
Argón Líquido (LAR)

**Familia Química:** Gases Inertes

**Nombre Químico y Sinónimos:** Argón

**Fórmula:** Ar P.M. 39.95