



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN METALURGIA Y MATERIALES

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN METALURGIA Y CIENCIAS DE LOS MATERIALES

“Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata empleando los extractos de las plantas *Equisetum Hyemale L*, *Gnaphalium Conoideum kunth* y *Arctostaphylos Pungens kunth*”

Tesis que para obtener el Grado de Maestro en Metalurgia y Ciencias de los
Materiales presenta:

Ing. Gabriela González García

Director de tesis:

Dr. Gerardo Antonio Rosas Trejo

Morelia, Michoacán, México, Enero, 2017

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a mi director de tesis el Dr. Gerardo Antonio Rosas Trejo, por haberme guiado, asesorado y enseñado a lo largo de mis estudios de maestría.

Agradezco al comité tutorial, Dra. Ma. Eugenia Contreras, Dr. Juan Serrato, Dr. Juan Zárate, Dra. Noemí Ortiz y al Dr. Ariosto Medina por haberme prestado su tiempo para aconsejarme y colaborar en la revisión de mi tesis.

Agradezco a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y al Instituto de Investigaciones en Metalurgia y Materiales por las instalaciones y los equipos prestados en estos dos años de estudio.

Agradezco a mi familia por todo el apoyo brindado, tanto emocional como económico.

Finalmente quiero agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo financiero brindado durante los dos años de estudios, con el cual pude realizar mi proyecto.

DEDICATORIA

Dedico de manera especial esta tesis a toda mi familia, principalmente a mis padres Roberto González Palacios y María Guadalupe García Abad ya que ellos fueron el cimiento para la construcción de mi vida profesional, sentaron en mí las bases de responsabilidad y deseos de superación, doy gracias a Dios todos los días por haberme brindado unos padres llenos de virtudes y gran corazón.

A mis hermanos Roberto, Gardenia y Galilea, que siempre han estado a mi lado en todo momento.

A mis abuelitos Lupita, Adrián, Vicente y Pachita, que siempre han estado a lo largo de mi vida aconsejándome y enseñándome cosas valiosas de la vida que me han ayudado a crecer como persona. Siempre los llevaré en mi mente y en mi corazón.

A mi esposo Aish Valdemar Escamilla Flores, que me ha acompañado a lo largo de toda mi formación académica y que ha estado conmigo en las buenas y sobre todo en las malas, siempre brindándome paciencia y cariño.

Y finalmente a todo el resto de mi familia, amigos y maestros, que en algún momento me aconsejaron y me alentaron para el cumplimiento de mis metas.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT.....	xv
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	16
1.1 Objetivo general	17
1.2 Objetivos específicos	17
1.3 Justificación.....	17
1.4 Hipótesis.....	18
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO.....	19
2.1 Nanotecnología y nanociencia	19
2.2 Nanomateriales y su clasificación.....	19
2.3 Nanopartículas.....	20
2.3.1 Estructura y morfología.....	20
2.4 Métodos de síntesis de nanopartículas	22
2.4.1 Métodos arriba-abajo.....	23
2.4.1.1 Evaporación térmica	23
2.4.1.2 Molienda mecánica.....	23
2.4.2 Métodos abajo-arriba.....	24
2.4.2.1 Método de reducción química.....	25

2.4.2.2 Método de biosíntesis	26
2.4.2.2.1 Biosíntesis de nanopartículas metálicas utilizando extractos de plantas	26
2.5 Nucleación y crecimiento de nanopartículas metálicas	27
2.6 Propiedades de nanopartículas metálicas	29
2.6.1 Propiedades ópticas	29
2.6.2 Propiedades antibacterianas.....	31
2.7 Aplicaciones de las nanopartículas metálicas	33
2.8 Discusión del estado del arte.....	33
2.8.1 Influencia de factores en la formación de nanopartículas por medio de plantas.....	36
2.8.1.1 Efecto del pH en la reacción	36
2.8.1.2 Efecto de la temperatura y concentración del extracto	37
2.8.1.3 Posibles compuestos responsables de la síntesis de nanopartículas empleando plantas.....	39
2.8.1 Cola de caballo (<i>Equisetum hyemale</i> L.)	41
2.8.2 Gordolobo (<i>Gnaphalium conoideum</i> kunth)	42
2.8.3 Pingüica (<i>Arctostaphylos pungens</i> kunth).....	42
CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	43
3.1 Selección y características de las plantas	44
3.2 Adquisición de las plantas.....	44
3.3 Preparación de extractos	44
3.4 Preparación de las sales precursoras	45
3.5 Síntesis de nanopartículas de plata.....	45
3.5.1 Planta Cola de caballo (<i>Equisetum hyemale</i> L)	45
3.5.2 Planta de Gordolobo (<i>Gnaphalium conoideum</i> kunth).....	46
3.5.3 Planta de Pingüica (<i>Arctostaphylos pungens</i> kunth).....	46

3.5.3.1 Experimentación con hojas de pingüica	47
3.5.3.2 Experimentación con fruto de pingüica	47
3.6 Caracterización estructural de nanopartículas de plata	47
3.6.1 Espectroscopía de ultra violeta visible (Uv-vis).....	48
3.6.2 Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	48
3.6.3 Microscopía electrónica de transmisión (MET).....	48
3.6.4 Espectroscopía infrarroja (FT-IR)	49
3.6.5 Difracción de rayos X (DRX).....	49
CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS	50
4.1 Resultados con la planta Cola de caballo (<i>Equisetum hyemale L.</i>).....	50
4.2 Resultados con la plata Gordolobo (<i>Gnaphalium conoideum kunth</i>)	68
4.3 Resultados de la planta Pingüica (<i>Arctostaphylos pungens kunth</i>).....	81
4.3.1 Experimentación con hojas.....	81
4.3.2 Experimentación con fruto	83
4.3.2.1 Síntesis de nanoflores empleando extracto de fruto de pingüica en ausencia de la luz.	83
4.3.2.2 Síntesis de nanoflores empleando extracto de fruto de pingüica en presencia de luz.	95
CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	101
5.1 Mecanismo de la síntesis de nanopartículas de Ag.....	108
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES	110
ANEXO I.....	112
CAPÍTULO 7. REFERENCIAS.....	116

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1	Morfologías de nanopartículas que se han reportado en los últimos años.	22
Tabla 2.2	Reactivos utilizados por el método químico para la síntesis de nanopartículas de Ag [20].....	25
Tabla 2.3	Biosíntesis de nanopartículas usando algunos extractos de plantas [21].	41
Tabla 3.1	Cantidades de la planta utilizada para la realización de los extractos.	45
Tabla 3.2	Serie de experimentos con cola de caballo.	46
Tabla 3.3	Serie de experimentos con gordolobo.	46
Tabla 3.4	Serie de experimentos realizados con las hojas de pingüica.	47
Tabla 3.5	Serie de experimentos realizados con el fruto de pingüica.	47
Tabla 5.1	Resultados obtenidos durante la experimentación de todas las plantas.	101

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1	Formas principales de partículas que se han observado a escala nanométrica: a) cubo-octaédricas, b) icosaédricas, c) decaédricas regulares pentagonales, d) decaédricas en estrella, e) decaédricas en estrella sin picos y f) decaédricas circulares [10].	21
Figura 2.2	(a, b) Microscopías del microscopio electrónico de barrido que muestran partículas de óxido de vanadio [12].	21
Figura 2.3	Durante la molienda los polvos o partículas son repetidamente deformadas o aplastadas, unidas o soldadas en frío, fracturadas y re-unidas [19].	24
Figura 2.4	Representación esquemática de la concentración de un soluto disuelto antes y después de la nucleación como una función del tiempo [25].	28
Figura 2.5	La copa de Licurgo se ve verde cuando la luz incide sobre él (a), pero de color rojo cuando la luz brilla dentro (b). La copa contiene nanopartículas de oro [8].	30
Figura 2.6	Fotografía de una serie completa (izquierda) tras la síntesis de nanopartículas de plata y espectro visible (derecha) mostrando algunas bandas de plasmón experimentales representativas. La foto insertada en el espectro muestra un “nanoprisma” de caras triangulares 111 (bolas blancas) con caras laterales 100 (bolas rojas) [30].	31
Figura 2.7	Micrografía Electrónica de Transmisión en la cual se observa tanto el tamaño como la forma de las nanopartículas de plata [40].	34
Figura 2.8	Espectro UV-Visible de nanopartículas de plata sintetizados en función del tiempo [41].	35
Figura 2.9	Espectro de difracción de rayos X [42].	35
Figura 2.10	Imágenes de TEM de AgNps a diferentes pH. a) pH 4, b) pH 7 y c) pH 10 [43].	36
Figura 2.11	Micrografías de TEM de AgNps, (a) Ag28A, (b) Ag28B, (c) Ag28C, (d) Ag50A, (e) Ag50A y (f) Ag50C [44].	37
Figura 2.12	TEM micrografía de AgNps: (a) la barra de escala corresponde a 200 nm, (b) la barra de escala corresponde a 100 nm, (c) la barra de escala corresponde a 10 nm (recuadro: patrón de difracción) y (d) de imágenes de alta resolución que muestra franjas reticulares con una separación de 0,21 nm [45].	38
Figura 2.13	(a) Micrografía de SEM y (b) espectro de EDS [46].	39

Figura 2.14	Espectro de FT-IR del extracto de cáscara de plátano (BPE) y las nanopartículas de plata [47].	40
Figura 3.1	Diagrama de flujo de las actividades experimentales.	43
Figura 3.2	Plantas empleadas para la síntesis de nanopartículas de plata, a) hojas de pingüica, b) fruto de pingüica, c) gordolobo y d) cola de caballo.	44
Figura 4.1	Cambio de color de las soluciones sintetizadas con extracto de cola de caballo en función de tiempo.	50
Figura 4.2	Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 6, 8 y 10 mM de AgNO ₃ variando los gramos de la planta a) 2 g, b) 3 g y c) 4 g, con una relación 1:1.	51
Figura 4.3	Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 6, 8 y 10 mM de AgNO ₃ variando los gramos de la planta a) 2 g, b) 3 g y c) 4 g, con una relación 1:2.	52
Figura 4.4	a) Imagen de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas con 3 g de cola de caballo y 10 mM de AgNO ₃ con una relación 1:2 y b) análisis químico por EDS.	53
Figura 4.5	Patrón de difracción de rayos X de nanopartículas de Ag sintetizadas con extracto de cola de caballo. Los planos (1 1 1), (2 0 0), (220), (311) y (222) corresponde a la difracción de rayos X estándar del cristal de Ag.	54
Figura 4.6	Espectro de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 8 mM de AgNO ₃ variando los gramos de la planta en el extracto.	55
Figura 4.7	a) Imagen de MEB de muestra sintetizada con 1 g de cola de caballo y 8 mM de AgNO ₃ , b) análisis químico por EDS.	56
Figura 4.8	Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 1 gr de planta, variando la molaridad a distintos tiempos de reacción, a) 1 día, b) 15 días y c) 60 días.	57
Figura 4.9	Espectro de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 1 gr de la planta y 12 mM de AgNO ₃ variando la temperatura de la sal en grados centígrados.	58
Figura 4.10	Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con 1 gr de cola de caballo y 12 mM de AgNO ₃ con sus respectivos análisis químicos por EDS, variando la temperatura de la sal, a) 50 °C, b) 60 °C y c) 70 °C.	59

Figura 4.11	a-b) Imágenes de MEB de la muestra sintetizada por cola de caballo con 12 mM de AgNO ₃ , c-d) mapeo químico.	60
Figura 4.12	Espectro de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 1 g de la planta y 9 mM de AgNO ₃ con una relación 1:1, reacción de 1 hora.	61
Figura 4.13	Espectro de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 1 gr de la planta y 9 mM de AgNO ₃ variando la relación extracto/sal.	62
Figura 4.14	Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con 1 gr de cola de caballo y 9 mM de AgNO ₃ con sus respectivos análisis químicos por EDS, variando la relación extracto/sal, a) 1:6 y b) 1:12.	62
Figura 4.15	Espectros de FT-IR de a) extracto de la planta cola de caballo y b) nanopartículas de plata sintetizadas.	63
Figura 4.16	a-b) Imágenes de MET de las nanopartículas de Ag sintetizadas mediante cola de caballo.	64
Figura 4.17	a-f) Imágenes de alta resolución de MET de nanopartículas sintetizadas con cola de caballo.	65
Figura 4.18	a) Imagen de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución, b) FFT de la nanopartícula.	66
Figura 4.19	a-c) Imágenes de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución, nanopartículas con su respectiva FFT.	67
Figura 4.20	Cambio de color de las soluciones sintetizadas con extracto de gordolobo en función de tiempo.	68
Figura 4.21	Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de gordolobo con 6, 8 y 10 mM de AgNO ₃ variando los gramos de la planta a) 1 gr, b) 1.5 gr y c) 2 gr, con una relación 1:1.	69
Figura 4.22	Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con 1.5 gr de gordolobo y 8 mM, a una relación 1:1, a) 40,000 X, b) 100,000 X y c) análisis químico por EDS.	70
Figura 4.23	Imágenes de SEM de muestras sintetizadas con 2 gr de gordolobo y 8 mM, a una relación 1:1, a) 40,000 X, b) 100,000 X y c) análisis químico por EDS.	71

Figura 4.24	Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de gordolobo con 6, 8 y 10 mM de AgNO ₃ variando los gramos de la planta a) 1 gr, b) 1.5 gr y c) 2 gr, con una relación 1:2.	72
Figura 4.25	Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con 1.5 gr de gordolobo y 8 mM, a una relación 1:2, a) 10,000 X, b) 40,000 X y c) 100,000 X y d) análisis químico por EDS.	73
Figura 4.26	Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con 1.5 gr de gordolobo y 6 mM a diferentes relaciones extracto/sal, a) en ausencia de luz y b) con la influencia de la luz.	74
Figura 4.27	Micrografías de MEB de nanopartículas de Ag sintetizadas con 1.5 gr de gordolobo y 6 mM a diferentes relaciones extracto/sal con su respectivo EDS con la influencia de la luz, a) 1:2, b) 1:3 y c) 1:4.	75
Figura 4.28	Patrón de difracción de rayos X de nanopartículas de Ag sintetizadas con extracto de gordolobo. Los planos (1 1 1), (2 0 0), (220) y (311) corresponde a la difracción de rayos X estándar del cristal de Ag.	77
Figura 4.29	Espectros de FT-IR de a) extracto de la planta gordolobo y b) nanopartículas de plata sintetizadas.	78
Figura 4.30	a-b) Imágenes de MET de campo claro y su histograma.	79
Figura 4.31	a-g) Imágenes de MET de alta resolución, nanopartículas de diversas morfologías.	80
Figura 4.32	Cambio de color de las soluciones sintetizadas con extracto de pingüica en función de tiempo.	81
Figura 4.33	Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de hojas de pingüica con 6, 8 y 10 mM de AgNO ₃ variando los gramos de la planta a) 2gr, b) 3 gr y c) 4 gr, con una relación 1:1.	82
Figura 4.34	Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de hojas de pingüica con 6, 8 y 10 mM de AgNO ₃ variando los gramos de la planta a) 2gr, b) 3 gr y c) 4 gr, con una relación 1:2.	82
Figura 4.35	Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con hojas de pingüica, a) 5,000 X, b) 10,000 X y c) análisis químico por EDS.	83

Figura 4.36	Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de fruto de pingüica con 6, 8 y 10 mM de AgNO ₃ , en oscuridad.	84
Figura 4.37	Imágenes de MEB de muestras en función del tiempo sintetizadas con fruto de pingüica y 6 mM de AgNO ₃ , a-b) 3 días de reacción, c-d) 5 días de reacción y e-f) 8 días de reacción.....	86
Figura 4.38	a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 6 mM de AgNO ₃ y d) análisis químico por EDS.	87
Figura 4.39	Patrón de difracción de rayos X de nanopartículas de Ag sintetizadas con extracto de fruto de pingüica. Los planos (1 1 1), (2 0 0), (220), (311) y (222) corresponde a la difracción de rayos X estándar del cristal de Ag.	88
Figura 4.40	Imágenes de MEB de muestras en función del tiempo sintetizadas con fruto de pingüica y 8 mM de AgNO ₃ , a-b) 3 días de reacción, c-d) 5 días de reacción y e-f) 8 días de reacción.....	90
Figura 4.41	a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 8 mM de AgNO ₃ y d) análisis químico por EDS.	91
Figura 4.42	Imágenes de MEB de muestras en función del tiempo sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO ₃ , a-b) 3 días de reacción, c-d) 5 días de reacción y e-f) 8 días de reacción.....	92
Figura 4.43	a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 10 mM de AgNO ₃ y d) análisis químico por EDS.	93
Figura 4.44	Imágenes de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO ₃ , a) 2,000 X y b) 100,000 X.....	94
Figura 4.45	Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de fruto de pingüica con 6, 8 y 10 mM de AgNO ₃ , en presencia de luz.	95
Figura 4.46	Imágenes de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas con fruto de pingüica y 6 mM de AgNO ₃ en presencia de luz, a) 10,000 X y b) 40,000 X.....	96
Figura 4.47	a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 6 mM de AgNO ₃ , en presencia de luz y d) análisis químico por EDS.....	97
Figura 4.48	Imágenes de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas con fruto de pingüica y 8 mM de AgNO ₃ , en presencia de luz. a) 2,000 X, b) 10,000 X y c) 40,000 X.	98

Figura 4.49	a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 8 mM de AgNO_3 , en presencia de luz y d) análisis químico por EDS.....	99
Figura 4.50	Imagen de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO_3 , en presencia de luz.	100
Figura 4.51	a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 10 mM de AgNO_3 , en presencia de luz y d) análisis químico por EDS.....	100
Figura 5.1	Espectro de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 1 g de la planta y 9 mM de AgNO_3 con una relación 1:1 a 1 hora de reacción.	103
Figura 5.2	Espectros de UV-Vis de nanopartículas de plata, sintetizadas con gordolobo y cola de caballo a un tiempo de tres días.	104
Figura 5.3	a-e) Secuencia de crecimiento de una nanoestructura en forma de árbol, en la que se encuentran varios estados intermedios y formas diversas de las partículas biosintetizadas de plata.	105
Figura 5.4	a-b) Secuencia de agregación de partículas triangulares y pentagonales, c) las partículas más pequeñas se agregan en los huecos de las más grandes.	107
Figura 5.5	Molécula de Geranodiol.	109

RESUMEN

Actualmente las nanopartículas de plata son de gran importancia, ya que éstas tienen un alto grado de comercialización, debido a sus múltiples aplicaciones ya sea en electrónica, textiles, pintura, cosméticos, bactericidas, biofungicidas, aplicaciones biomédicas, en la industria médico-farmacéutica y alimenticia. En el presente trabajo, se exploró la síntesis de nanopartículas de plata, por una técnica económica y no tóxica, la cual consistió en la reducción química de nitrato de plata (AgNO_3) a partir del extracto de las plantas cola de caballo (*Equisetum hyemale L.*), gordolobo (*Gnaphalium conoideum Kunth*) y pingüica (*Arctostaphylos pungens Kunth*). Se observó el comportamiento de la reacción variando la concentración de la sal precursora AgNO_3 y del extracto, temperatura, bajo la influencia de la luz y sin luz. La caracterización de las nanopartículas fue realizada por espectroscopía de absorción ultra-violeta-visible (UV-Vis), microscopía electrónica de barrido (MEB), microscopía electrónica de transmisión (MET). Se realizaron análisis de difracción de rayos X (DRX) para determinar la reducción de la plata y espectroscopía de infrarrojo (FT-IR), para identificar los posibles grupos funcionales que ayudan a la síntesis de nanopartículas de plata.

Las técnicas de caracterización de Uv-vis, MEB, MET y DRX, demostraron que se logran obtener nanopartículas, nanoesferas y nanoflores del metal de plata en diversos tamaños, controlados por medio de la relación extracto del fruto de pingüica - sal precursora (AgNO_3) y el tiempo, mientras que se obtienen únicamente nanopartículas de plata, por medio de los extractos de las plantas gordolobo y cola de caballo.

De los resultados experimentales derivados por la influencia de la luz, se nota que independientemente de la planta hay una velocidad mayor de reducción. La planta pingüica redujo los iones de plata en un tiempo relativamente pequeño de reacción (20 min aproximadamente) y a concentraciones relativamente grandes de sal se pueden sintetizar nanoesferas de plata, las cuales aún no se han reportado utilizando síntesis verde.

PALABRAS CLAVE: Biosíntesis, Nanopartículas de plata, *Equisetum Hyemale L.* *Gnaphalium Conoideum kunth* y *Arctostaphylos pungens kunth*.

ABSTRACT

Currently, the silver nanoparticles are of great importance, since they have a high degree of commercialization, due to its multiple applications either in electronics, textiles, paint, cosmetics, bactericides, bio-fungicides, biomedical applications in the medical and pharmaceutical industry food. In this paper, the synthesis of silver nanoparticles explored by an economic and non-toxic technique, which involved the chemical reduction of silver nitrate (AgNO_3) from the extract of the plant's Cola de Caballo (*Equisetum hyemale* L.), Gordolobo (*Gnaphalium conoideum* Kunth) and Pingüica (*Arctostaphylos pungens* Kunth). The behavior of the reaction was observed by varying the concentration of the precursor salt and extract AgNO_3 , the temperature under the influence of light and no light. The characterization of the nanoparticles was performed by absorption spectroscopy-visible ultraviolet (UV-Vis), scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM). Analysis of X-ray diffraction (XRD) was performed to determine the silver reduction and infrared spectroscopy (FT-IR), to identify potential functional groups that help the synthesis of silver nanoparticles.

The characterization techniques Uv-vis, SEM, TEM, and XRD, showed that is possible to obtain: nanoparticles, nanospheres and nanoflowers silver metal in various sizes. Controlled by the extract relation of the fruit of Pingüica - precursor salt (AgNO_3) and time, while only silver nanoparticles are obtained using extracts from plants Gordolobo and Cola de Caballo.

From the experimental results derived from the influence of light, it noticed that independently of the plant there is a greater rate of reduction. The pendulum plant reduced the silver ions in a relatively small reaction time (about 20 min) and at relatively large concentrations of salt silver nanospheres can be synthesized, which have not yet been reported using green synthesis.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

En el presente siglo, la nanotecnología ha llamado la atención en diversos campos como la electrónica, química, biotecnología, bioanalítica, industria alimentaria, entre otras. Los recientes avances en el campo de la nanotecnología, tales como la capacidad de preparar nanopartículas altamente ordenadas de cualquier tamaño y forma, han llevado al desarrollo de nuevos agentes biocidas.

Hay un creciente uso de la nanotecnología en los alimentos y productos de consumo, por lo cual, hay una necesidad de la detección y caracterización de los métodos exactos y precisos para la síntesis de las nanopartículas [1]. Por este motivo, recientemente los investigadores se están concentrando en el método de la química verde para un diseño y desarrollo más eficiente, que es más respetuoso con el medio ambiente para la síntesis de nanopartículas de metal [2].

Las nanopartículas presentan un desarrollo en la investigación científica debido a que poseen propiedades distintas a sus contrapartes micrométricas, dependiendo de su tamaño, morfología y distribución, permitiendo crear y mejorar productos, realizando síntesis de nanopartículas de diferentes materiales, desde polímeros naturales como la celulosa, poli (ácido láctico) (PLA); nanopartículas metálicas de diferentes tipos como cobre, plata, zinc, titanio u oro. Especialmente, las nanopartículas de plata, tienen un gran potencial como agentes antimicrobianos, lo que las hace atractivas en nuevas aplicaciones como aditivos en la industria textil, embalaje y protección de alimentos [3].

En el presente trabajo se sintetizaron nanopartículas de plata, de modo que no se generan desechos tóxicos para el medio ambiente, además de que están libres de contaminantes que dañan a los seres vivos, en específico a los humanos, por lo cual, para que éstas puedan ser utilizadas con fines en la industria alimentaria, se utilizó la síntesis con extractos de plantas, las cuales tienen como característica principal que no son tóxicas, además de sus beneficios económicos. Para este propósito se utilizaron los extractos de las plantas: cola de caballo (*Equisetum hyemale L.*), gordolobo (*Gnaphalium conoideum Kunth*) y pingüica (*Arctostaphylos pungens Kunth*). Durante la reacción de biosíntesis se evaluó la concentración del té con respecto a la sal precursora (AgNO_3) y concentración del AgNO_3 , además del efecto de otros factores tales como, la luz y la temperatura.

La caracterización de las nanopartículas se realizó por espectroscopía de absorción ultra-violeta-visible (UV-Vis), microscopía electrónica de barrido (MEB), microscopía electrónica de

transmisión (MET). Se realizó análisis de difracción de rayos X (DRX) para determinar la reducción de la plata, espectroscopía de infrarrojo (FT-IR) con la cual se determinaron los posibles grupos funcionales que ayudan a la síntesis de nanopartículas de plata.

1.1 Objetivo general

Sintetizar y caracterizar nanopartículas de Ag empleando extractos de las plantas cola de caballo (*Equisetum hyemale L.*), gordolobo (*Gnaphalium conoideum Kunth*) y pingüica (*Arctostaphylos pungens Kunth*) variando la relación volumétrica extracto-sal precursora.

1.2 Objetivos específicos

- Llevar a cabo la obtención de nanopartículas de plata a partir de una solución acuosa de la sal metálica respectiva (AgNO_3), usando extractos de plantas como agente reductor y estabilizante.
- Optimizar el proceso de obtención variando la concentración del extracto y la sal precursora durante la síntesis.
- Caracterizar las nanopartículas metálicas por medio de espectroscopia Ultravioleta-Visible, espectroscopia de infrarrojo (FT-IR), microscopía electrónica de barrido y transmisión (MEB y MET) y difracción de rayos X (DRX).

1.3 Justificación

El presente trabajo, pretende la biosíntesis de nanopartículas de plata, las cuales pueden ser aplicadas en la industria alimenticia, tratamiento de agua, medicina, etc. Para lo cual se emplearon extractos de plantas como agentes reductores y estabilizadores, provenientes del estado de Michoacán o nacionales, las cuales puedan contener compuestos orgánicos (flavonoides, catequinas, taninos, alcaloides, etc.) que actúan como agentes reductores de los iones de la sal de plata a nanopartículas. Las nanopartículas de plata tienen una gran variedad de aplicaciones, sin embargo, los métodos de síntesis, hasta ahora empleados, requieren materiales costosos y tóxicos, los cuales limitan en gran medida la aplicación de las mismas en algunas áreas como alimentos y

textiles, entre otras. Debido a lo anterior, existe un gran interés en utilizar métodos de síntesis empleando materiales orgánicos provenientes de las plantas, los cuales sean económicos, no tóxicos y cuyos subproductos no sean dañinos para el medio ambiente, ampliando en gran medida sus aplicaciones.

1.4 Hipótesis

Las sustancias activas que hay en las plantas Cola de caballo (*Equisetum hyemale L.*), Gordolobo (*Gnaphalium conoideum Kunth*) y Pingüica (*Arctostaphylos pungens Kunth*) como los taninos: ácidos aconítico, cafeínico, ferúlico y silícico, los flavonoides: metoxiflavonas y charconas, actuarán como agentes reductores de los iones de plata presentes en la solución acuosa de nitrato de plata mientras que las saponinas actuarán como agentes estabilizadores de las nanopartículas de plata para sus posibles usos en la medicina, ya que, estarán libres de contaminantes.

CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO

El campo de la nanotecnología es una de las áreas más activas de investigación en la ciencia de los materiales modernos. Las nanopartículas metálicas han sido de gran interés debido a sus propiedades distintivas de las que se obtienen del material a granel tales como: catalíticas, ópticas, magnéticas y eléctricas. Debido a las características específicas como el tamaño, la distribución y la morfología, las nanopartículas exhiben propiedades completamente nuevas o mejoradas que están haciendo un impacto en todos los aspectos de la vida humana. Entre las nanopartículas, las de plata son uno de los productos prometedores en la industria de la nanotecnología, debido a sus aplicaciones en muchas áreas, incluyendo biomédicas, catálisis, energía, materiales, industria alimenticia, etc. [4].

2.1 Nanotecnología y nanociencia

La nanotecnología se puede definir como el diseño, caracterización, producción y aplicación de materiales, dispositivos y sistemas mediante el control de la forma y el tamaño a nivel nanoescala. La propia escala nanométrica es en la actualidad considerada entre 1 a 100 nm. Un matiz ligeramente diferente se refiere a la manipulación deliberada y controlada, medición, modelado y producción de la materia a escala nanométrica para crear materiales, aparatos y sistemas con nuevas propiedades y funciones. Mientras que la nanociencia algunas veces es definida como “la ciencia que fundamenta la nanotecnología”, pero esto realmente es la biología, la química y la física o "ciencias moleculares", dado que los científicos de este campo están estudiando un campo dimensional muy pequeño para una mejor comprensión del mundo que nos rodea [5].

2.2 Nanomateriales y su clasificación

Nanomateriales, es un término usado para describir una amplia y disparada gama de materiales, que contiene elementos característicos de dimensiones inferiores a 100 nm [6]. Los nanomateriales se pueden clasificar de acuerdo a sus dimensiones, un nanomaterial n -dimensional es ese material que tiene n dimensiones fuera de la nanoescala, es decir, n dimensiones mayores de cien nanómetros [7]. Basándose en este criterio, se tendrían así nanomateriales de acuerdo a lo siguiente:

- Cero-dimensionales (0-D). Son materiales en los que todas sus dimensiones están dentro de la escala nanométrica.
- Unidimensionales (1-D). A diferencia de las nanoestructuras 0-D, estas tienen una de sus dimensiones fuera de la escala nanométrica.
- Bidimensionales (2-D). Son materiales en los cuales dos de sus dimensiones no se encuentran en el rango nanométrico, como las películas delgadas.
- Tridimensionales (3-D). A esta escala son conocidos como nanomateriales a granel, no tienen ninguna de sus dimensiones en el rango nanométrico, sin embargo, estos materiales tienen una estructura nanocristalina, es decir, están compuestos de un arreglo múltiple de cristales de tamaño nanométrico, que en su mayoría están en la misma o diferente orientación [8].

2.3 Nanopartículas

En el presente trabajo se tiene especial interés en los nanomateriales cero-dimensionales, dentro de esta clasificación entran las nanopartículas. Las nanopartículas se definen como partículas con tamaño en el intervalo de 10 a 100 nm, debido a esta escala de tamaño muy pequeño poseen un área superficial por unidad de volumen inmenso, una alta proporción de átomos en la superficie y la capacidad de exhibir efectos cuánticos. Las propiedades únicas de las nanopartículas resultantes no pueden preverse a partir de una simple extrapolación de las propiedades de los materiales a granel. Existen nanopartículas con gran diversidad química en la forma de metales, óxidos metálicos, semiconductores, polímeros, materiales de carbono, orgánicos o biológicos [9].

2.3.1 Estructura y morfología

El análisis a fondo de una gran cantidad de nanopartículas ha confirmado la idea común de que ellas adoptan estructuras diferentes y gran diversidad morfológica con formas tales como esferas, cilindros, discos, plaquetas, esferas huecas, tubos, etc. En la figura 2.1 se muestran las diversas formas de las nanopartículas observadas con mayor frecuencia y las más interesantes en nanopartículas de oro. Sus dimensiones están en el rango de 1-100 nm y se generan aplicando

técnicas diferentes de crecimiento, como son: la deposición química de un vapor (CVD), los métodos coloidales y los electroquímicos [9, 10].

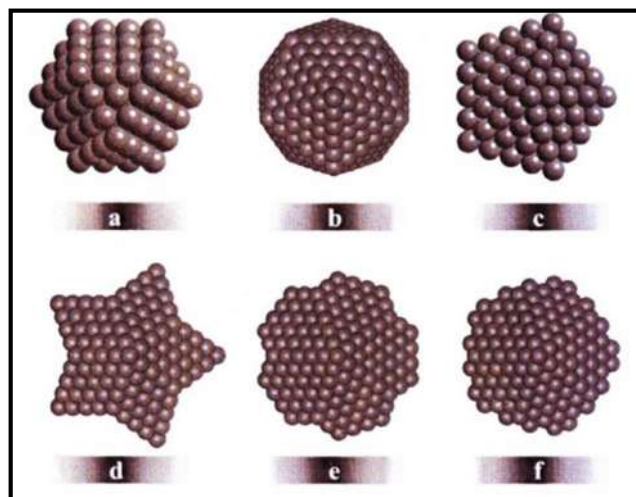


Figura 2.1 Formas principales de partículas que se han observado a escala nanométrica: a) cubo-octaédricas, b) icosaédricas, c) decaédricas regulares pentagonales, d) decaédricas en estrella, e) decaédricas en estrella sin picos y f) decaédricas circulares [10].

La forma y estructura en las nanopartículas de plata al igual que en las de oro, también varía dependiendo de diversos factores como son concentración, temperatura, pH, poder reductor, etc. [11]. Liang y Col. [12] reportaron partículas de óxido de vanadio con estructuras en forma de estrellas de mar (figura 2.2), sintetizadas por un método hidrotérmico. Aunque las partículas en sí no están dentro de los nanomateriales 0-D, si entran en la clasificación 1-D debido a que los extremos de las estrellas son menores a 100 nm.

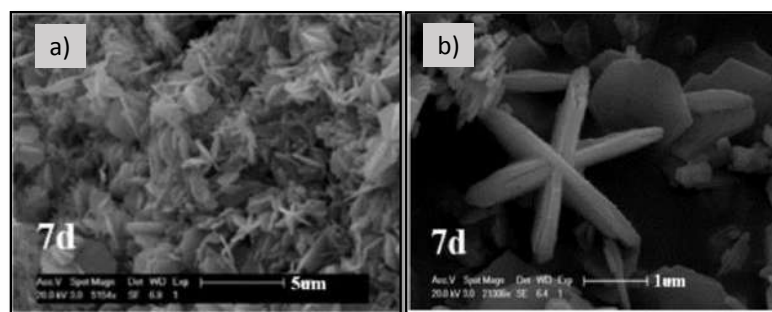


Figura 2.2 (a, b) Microscopías del microscopio electrónico de barrido que muestran partículas de óxido de vanadio [12].

Se han reportado diversas morfologías que adoptan las nanopartículas metálicas, generalmente lo atribuyen al control y al tipo de agente surfactante que se utiliza para la síntesis, en la tabla 2.1 se muestran algunas formas de nanopartículas que se han obtenido mediante varios métodos.

Tabla 2.1 Morfologías de nanopartículas que se han reportado en los últimos años.

Agente precursor	Agente reductor	Agente estabilizante	Forma obtenida	Referencia
Nitrato de plata	Citrato trisódico dihidratado	Polivinilpirrolidona y dodecil sulfato de sodio	Nanoplacas triangulares de plata	[13]
Nitrato de plata	<i>Mucor circinelloides</i>	<i>Mucor circinelloides</i>	Nanocubos de plata	[14]
Ácido cloroplatínico	<i>Azadirachta indica</i>	<i>Azadirachta indica</i>	Nanoesferas de platino	[15]
Ácido tetracloroáurico	Borohidruro de sodio	PDDA (35% w/w, solución acuosa)	Nanoestrellas de oro	[16]
Nitrato de plata	Borohidruro de sodio	Citrato trisódico	Nanoprismas de plata	[17]

2.4 Métodos de síntesis de nanopartículas

Las nanopartículas pueden ser sintetizadas por una variedad de métodos que utilizan gas, líquido o procesos en fase sólida. Estos incluyen procedimientos en fase gas como, evaporación con alta temperatura, síntesis de plasma, irradiación de microondas, deposición física y química de vapor. El método coloidal o métodos en fase líquida son en la que las reacciones químicas en disolventes conducen a la formación de coloides; también está el auto-ensamblaje molecular y los procesos mecánicos de reducción de tamaño, incluyendo trituración y molienda [9]. Los métodos para la síntesis de los nanomateriales mencionados anteriormente, se pueden dividir en dos clases principales: los métodos de arriba-abajo y los de abajo-arriba.

2.4.1 Métodos arriba-abajo

En el método arriba-abajo, se reestructura un material a granel (es decir, se desmantela, mecaniza, procesa o deposita) para formar nanomateriales. Para estos métodos, los desafíos aumentan a medida que los dispositivos de tamaño se reducen y mientras, los diseños de los componentes deseados se hacen más grandes y más complejos. Además, el conjunto de arriba-abajo de nanocomponentes en grandes áreas es difícil y costoso [6]. Este enfoque puede involucrar la molienda o el desgaste, métodos químicos, y la volatilización de un sólido seguido por la condensación de los componentes volatilizados. Existen varios métodos que utilizan la aproximación de arriba-abajo, los más representativos son:

- Evaporación térmica
- Proceso de explosión
- Ablación laser
- Molienda mecánica
- Sputtering

A continuación se mencionan algunos de los más importantes solo para dar una idea de lo que son los métodos de arriba-abajo:

2.4.1.1 Evaporación térmica

Consiste en el calentamiento hasta la evaporación del material que se pretende depositar. Se lleva a cabo en una cámara de vacío en la que se condensa el vapor sobre una lámina fría, requiriendo en todo momento un control preciso de las condiciones de crecimiento para no producir una modificación de la morfología de la capa depositada [18].

2.4.1.2 Molienda mecánica

La molienda es un método para la síntesis de materiales, en el cual los polvos a moler son introducidos en las proporciones deseadas en el vial (recipiente contenedor) junto con los medios de molienda (bolas de acero). Una vez que el vial ha sido cargado como se ha descrito anteriormente, este es vigorosamente agitado por un molino.

Esta vigorosa agitación por parte del molino, produce colisiones entre las bolas, o entre el vial y las bolas (figura 2.3). Quedando los polvos en medio de estas colisiones, lo cual involucra la repetida deformación plástica, fractura y soldadura continua de las partículas que están sujetas a una molienda constante. Este método ha alcanzado gran popularidad dado que es un método simple, que puede ser aplicado a cualquier tipo de material y el costo del equipo en el que se lleva a cabo es relativamente bajo [19].

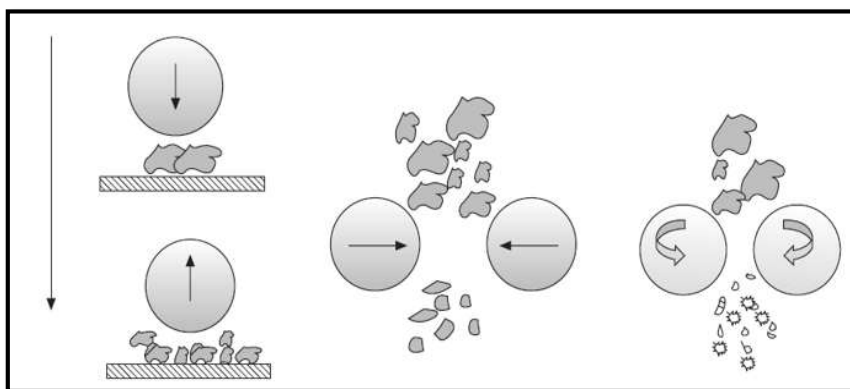


Figura 2.3 Durante la molienda los polvos o partículas son repetidamente deformadas o aplastadas, unidas o soldadas en frío, fracturadas y re-unidas [19].

Varios de los métodos que utilizan la aproximación arriba-abajo, salvo la molienda, requieren de instrumentación compleja y complicada, lo cual los hace costosos, por tanto, muchas veces se prefieren los métodos que utilizan la aproximación abajo-arriba.

2.4.2 Métodos abajo-arriba

Existen diversos métodos que utilizan la aproximación de “abajo hacia arriba” para la síntesis de nanopartículas, los más empleados son aquellos que utilizan procedimientos químicos. Por lo general, inician con la reducción de los iones metálicos a átomos metálicos, seguido por la agregación controlada de estos átomos. El método químico es el más conveniente para la obtención de nanopartículas uniformes y pequeñas [18].

Los métodos más representativos de esta aproximación son:

- Reducción fotoquímica
- Irradiación con microondas

- Síntesis solvotermal
- Reducción química
- Método sol-gel
- Biosíntesis o síntesis verde

2.4.2.1 Método de reducción química

Desde un punto de vista químico, la síntesis de nanopartículas en disolución (disolución coloidal) requiere del empleo de métodos que permitan obtener un control preciso sobre el tamaño y la forma de las nanopartículas para así obtener un conjunto de partículas monodispersas que presenten una propiedad determinada. En general, la síntesis de nanopartículas metálicas en disolución se lleva a cabo mediante el empleo de los siguientes componentes:

- i) Precursor metálico
- ii) Agente reductor
- iii) Agente estabilizante.

El mecanismo de formación de las disoluciones coloidales a partir de la reducción de iones de plata consta de dos etapas diferentes: nucleación y crecimiento. En la tabla 1 se muestran algunos de los precursores y estabilizantes que se utilizan en la síntesis de nanopartículas de plata (AgNps) por medio de este método.

Tabla 2.2 Reactivos utilizados por el método químico para la síntesis de nanopartículas de Ag [20].

Precursor	Reductor	Estabilizante
AgNO ₃	Citrato	-
AgNO ₃	NaBH ₄	-
AgNO ₃	Ac. Ascórbico	-
AgNO ₃	Polioles	Polivinilpirrolidona
Ag(COOCH ₃)	Acetaldehído	Hexadecilamina
AgNO ₃	N ₂ H ₄ ·H ₂ O	bis(2-etilhexil) sulfosuccinato de sodio

El método Creighton consiste en la reducción de AgNO_3 con el agente reductor NaBH_4 . Este método es el más popular en la actualidad y da lugar a la obtención de nanopartículas de plata (AgNps) de aproximadamente 10 nm y con una distribución estrecha de tamaños (monodispersas) [20].

2.4.2.2 Método de biosíntesis

Las nanopartículas suelen sintetizarse mediante métodos químicos y físicos, como ya se mencionó anteriormente. En los métodos químicos, se utilizan varios productos químicos tóxicos, que son perjudiciales para la salud de los seres vivos, por lo que actualmente las nanopartículas se sintetizan mediante el uso de métodos biológicos basados en la química verde para la reducción de los productos químicos tóxicos.

Hay varios recursos para la síntesis verde de nanopartículas metálicas (Nps), tales como bacterias, hongos, enzimas y extractos de plantas. Entre los métodos biológicos, la síntesis de Nps utilizando extractos de plantas es la mejor alternativa ecológica y que no utiliza un elaborado proceso de mantenimiento de cultivos celulares. Este método se utiliza principalmente para la producción a gran escala de Nps y para reducir la toxicidad en el desarrollo de la química verde. La síntesis verde o biosíntesis de Nps consta de tres pasos principales:

- La selección del medio disolvente
- La selección de los agentes reductores del medio ambiente
- La selección de sustancias no tóxicas para la estabilidad de Nps [21].

2.4.2.2.1 Biosíntesis de nanopartículas metálicas utilizando extractos de plantas

Una razón importante para la investigación de plantas en la síntesis de nanopartículas es su fácil disponibilidad. Las nanopartículas metálicas pueden producirse mediante un extracto con toda la planta o una parte en particular de ella; sin embargo, la cantidad de agentes reductores es bastante grande en el extracto de la planta entera. En este tipo de biosíntesis, simplemente se realiza un extracto de la planta seleccionada y se mezcla con una solución de la sal precursora a temperatura ambiente. La reacción generalmente se completa en poco tiempo [22].

Se ha investigado recientemente el proceso de biosíntesis, siendo reportados el efecto de las variables del proceso tales como, la concentración del extracto, la relación de mezcla de los reactivos, la concentración de sal, el tiempo de reacción y el pH. Más de 2000 plantas pertenecientes a diferentes familias han sido utilizadas por su capacidad para sintetizar diversas nanopartículas de metales como plata, oro, hierro, paladio, plomo y cobre. La reducción y estabilización de los iones de metales se debe a la combinación de biomoléculas tales como proteínas, aminoácidos, enzimas, polisacáridos, alcaloides, taninos, compuestos fenólicos, saponinas, terpenoides y vitaminas que ya están establecidas en los extractos de plantas [21, 23].

2.5 Nucleación y crecimiento de nanopartículas metálicas

En la síntesis química de nanopartículas metálicas, "nucleación" pueden definirse ampliamente como la formación de un pequeño grupo de átomos en la solución. Sin embargo, Xiong y Xia lo definen como la formación de semillas con una estructura estable y cristalinidad bien definida [24]. Existen dos tipos de nucleación, la homogénea y heterogénea, este trabajo se enfoca solamente en la primera.

El modelo básico propuesto para explicar la precipitación de una solución se basa en la teoría de nucleación clásica publicada por LaMer y Dinegar en 1950. El llamado diagrama de LaMer ilustra la variación de la concentración del soluto en función del tiempo como se muestra en la figura 2.4. Dicha teoría se basa en los mecanismos de nucleación y crecimiento en la cual considera la nucleación como la etapa limitante del proceso; el diagrama se divide en tres etapas.

Durante la etapa I, la concentración de sales va aumentando hasta alcanzar la concentración de nucleación (C_{min} , figura 2.4). Al llegar a esta concentración, el sistema se vuelve heterogéneo, y las moléculas de soluto se combinan para producir embriones o núcleos. Los núcleos se forman y disuelven de forma continua. La estabilidad de los núcleos críticos depende de la altura de la barrera de energía libre (ΔG): si es alta en comparación con la energía térmica (T), la posibilidad de la formación de dichos núcleos es insignificante y no se formarán partículas. Sin embargo, si la barrera de ΔG es lo suficientemente baja, la velocidad de nucleación tiende a ser infinita. Si no se logra la concentración crítica, se forma una fase esponjosa con una longitud de onda característica en lugar de partículas. Esto se conoce como descomposición espinodal.

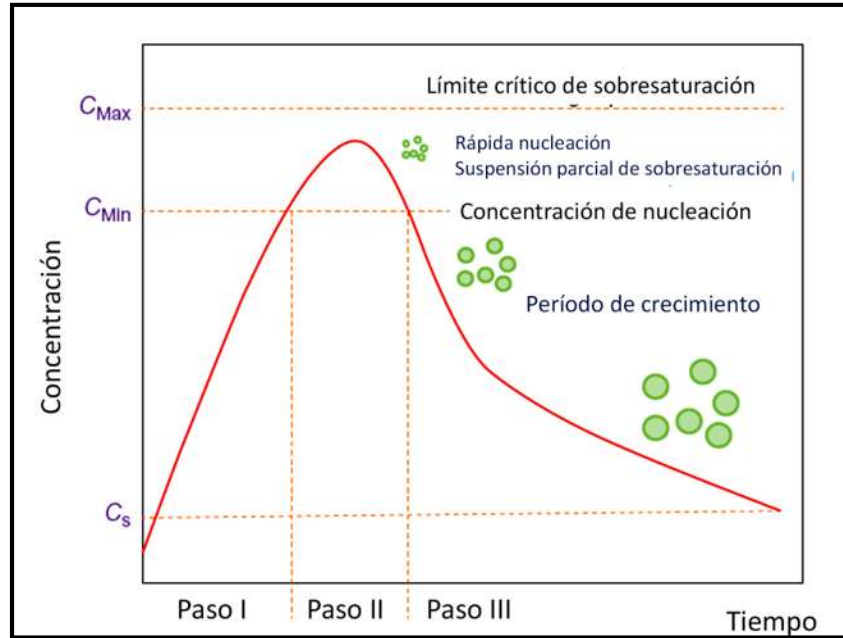


Figura 2.4 Representación esquemática de la concentración de un soluto disuelto antes y después de la nucleación como una función del tiempo [25].

En el paso II, la aparición de núcleos reduce parcialmente la sobresaturación, lo suficientemente rápido para que la velocidad de nucleación caiga inmediatamente casi a cero. La nucleación continuará hasta que la concentración caiga del límite crítico de sobresaturación (C_{Max} , figura 2.4) para C_{Min} , donde el crecimiento de partículas sustituye a la nucleación [25].

La distribución del tamaño de las nanopartículas depende del proceso de crecimiento subsiguiente de los núcleos. El proceso de crecimiento del núcleo participa en múltiples pasos siendo los principales:

- (i) Generación de especies de crecimiento
- (ii) Difusión de las especies de crecimiento a la superficie de la partícula en crecimiento
- (iii) Adsorción de las especies de crecimiento sobre la superficie de crecimiento
- (iv) Crecimiento de la superficie a través de la incorporación irreversible de las especies de crecimiento sobre la superficie sólida

El suministro de las especies de crecimiento a la superficie de crecimiento se denomina “difusión”, que incluye la generación, difusión y adsorción de las especies sobre la superficie de crecimiento, mientras que la incorporación de especies adsorbidas sobre la superficie en la estructura sólida se denota como el “crecimiento” [26].

2.6 Propiedades de nanopartículas metálicas

Propiedades insólitas de la física, química y biología pueden surgir en los materiales que se fabrican o manipulan a nivel nanométrico. Estas propiedades presentan una respuesta y comportamiento distinto a los materiales a granel. Una importante propiedad de las nanopartículas es que la relación entre el número de átomos superficiales y el tamaño de la partícula es de tipo exponencial. A medida que disminuye el tamaño de la partícula, el área superficial por unidad de masa aumenta, o que se traduce en un mayor número de átomos en la superficie. De hecho, a mayor superficie, mayor será su reactividad. Las propiedades relacionadas con la superficie de los materiales, son las propiedades magnéticas, ópticas, mecánicas y químicas [27].

2.6.1 Propiedades ópticas

Michael Faraday fue el primero en describir las nanopartículas metálicas, ya que en 1847 descubrió que las propiedades ópticas de los diminutos cristales de oro dispersados en agua diferían de las del metal a granel, las cuales presentaban una fuerte tonalidad de rojo rubí. Ésta fue probablemente la primera observación de los efectos de confinamiento cuántico, producido cuando los electrones son confinados en una partícula menor del espacio que tienden a recorrer espontáneamente en un determinado metal a una determinada temperatura [28].

Las nanopartículas pueden presentarse como un fino polvo, depositadas sobre una superficie, formando patrones ordenados o desordenados, embebidas en el interior de otro material sólido o dispersas en un líquido formando lo que se llama una suspensión coloidal. A principios del siglo XX, Gustav Mie propuso una explicación basada en la interacción de la luz con los electrones de las partículas. Para ciertos valores del tamaño de la partícula y de la frecuencia de la luz incidente sobre la misma, se puede lograr que los electrones se muevan oscilando de forma colectiva, dando lugar a lo que se denomina plasmón. La energía absorbida en una cierta frecuencia cambia el espectro de la luz reemitida. De esta manera, si se controla el tamaño y la forma de la nanopartícula, se pueden obtener disoluciones coloidales rojas, anaranjadas, verdosas, azules, etc. [29].

Una de las muestras más interesantes de las propiedades ópticas de las nanopartículas es la copa de Licurgo. La característica más notable de esta copa es que en condiciones normales de iluminación externa el vidrio asume un color verde, pero cuando se ilumina desde adentro, se

observa un rojo fuerte (figura 2.5). Los análisis han demostrado que el vidrio de la copa de Licurgo, contiene pequeñas cantidades de polvo de oro incrustadas dentro de él, estas pequeñas partículas metálicas en suspensión dentro de la matriz de vidrio, tienen diámetros comparables a las longitudes de onda de la luz visible. Como consecuencia, se puede producir una forma de excitación plasmónica (una oscilación de los electrones libres en la superficie de una partícula de metal, a una cierta frecuencia). En la copa, las propiedades de color dependen principalmente de la reflexión cuando la luz está externa a la taza y la absorción y transmisión, cuando la fuente de luz es interna [8].



Figura 2.5 La copa de Licurgo se ve verde cuando la luz incide sobre él (a), pero de color rojo cuando la luz brilla dentro (b). La copa contiene nanopartículas de oro [8].

Los causantes de las propiedades ópticas en los nanomateriales, en pocas palabras, son los plasmones de superficie localizados, los cuales, son las oscilaciones colectivas de electrones restringidos en pequeños volúmenes metálicos. Para que este fenómeno ocurra, la partícula tiene que ser mucho menor que la longitud de onda de la luz incidente [30]. En la figura 2.6 se muestran una serie típica de disoluciones coloreadas que contienen nanopartículas de plata y su espectro de UV-Vis para algunos de los tubos, mostrando su banda de plasmón. Se observa que a medida que el tamaño de la partícula va creciendo, la solución muestra un color más intenso, siendo las soluciones claras (amarillas) las más partículas pequeñas y los más oscuros (azul-negro) las partículas más grandes.

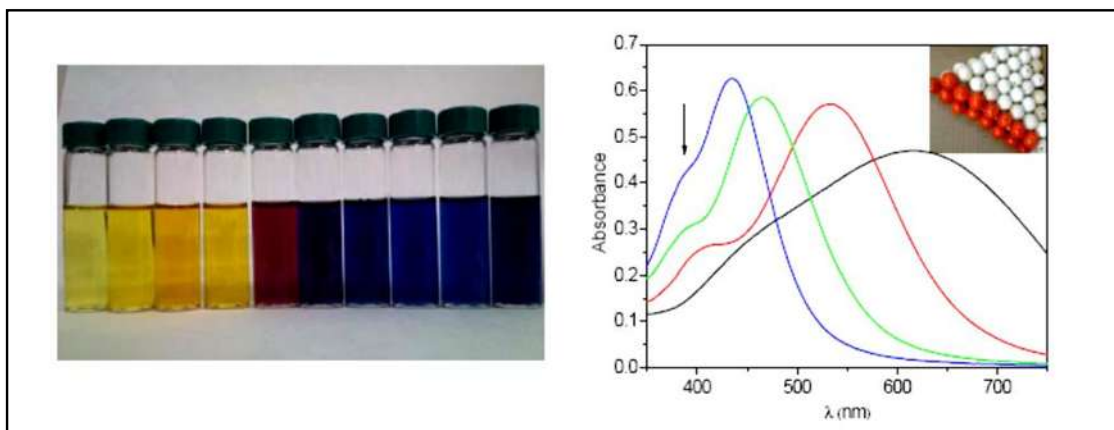


Figura 2.6 Fotografía de una serie completa (izquierda) tras la síntesis de nanopartículas de plata y espectro visible (derecha) mostrando algunas bandas de plasmón experimentales representativas. La foto insertada en el espectro muestra un “nanoprismo” de caras triangulares 111 (bolas blancas) con caras laterales 100 (bolas rojas) [30].

2.6.2 Propiedades antibacterianas

La actividad antibacteriana se relaciona con compuestos que matan las bacterias a nivel local o ralentizan su crecimiento, los cuales se pueden clasificar como bactericida y bacteriostático, los agentes antibacterianos son de suma importancia para luchar contra enfermedades infecciosas, pero, debido al hecho de que las bacterias desarrollan resistencia contra muchos agentes antibacterianos comunes, las enfermedades infecciosas siguen siendo uno de los mayores problemas de salud en todo el mundo. Esto ha impulsado el desarrollo de estrategias alternativas para el tratamiento de enfermedades bacterianas, entre ellos, los materiales a nanoescala han surgido como nuevos agentes antimicrobianos [31].

La plata metálica, el cual, es uno de los elementos básicos que componen nuestro planeta, la plata pura tiene la más alta conductividad eléctrica y térmica [32], además, muestra sorprendentes propiedades antibacterianas. Desde tiempos remotos, los griegos y chinos utilizaban plata para cocinar y comer porque se creía que esta práctica era más higiénica [7].

El mecanismo del efecto bactericida de la plata y las nanopartículas aún no se ha entendido del todo. Varios estudios proponen que las nanopartículas de plata se pueden adjuntar a la superficie de la membrana celular perturbando la permeabilidad y funciones de respiración de la célula. Las nanopartículas de plata más pequeñas tienen una gran área de superficie disponible para la

interacción con las bacterias, lo que daría un efecto más bactericida que el de las partículas más grandes. También es posible que las nanopartículas, no sólo interactuar con la superficie de la membrana, si no también puede penetrar dentro de la bacteria [33]. El mecanismo de acción de la plata está relacionada con su interacción con compuestos del grupo tiol que se encuentran en las enzimas respiratorias de las células bacterianas [34].

En las pruebas que se han realizado, las nanopartículas de plata muestran una elevada actividad antimicrobiana, tanto contra bacterias Gram negativas como positivas. Dicha eficiencia puede atribuirse a los múltiples mecanismos de acción que presenta:

- a) Liberación de Ag^+ que interacciona con tioles en proteínas inactivando su función o formando conjugados tóxicos, así como interacciones con bases nitrogenadas del ADN.
- b) Causando pérdida del gradiente protónico en la membrana celular lo cual inhibe el proceso respiratorio. Al desencadenar un aumento en la tasa respiratoria (con tal de mantener el gradiente de protones) se generan compuestos tóxicos como radicales superóxido e hidroxilo.
- c) Generando especies reactivas de oxígeno (ROS) en su superficie con el oxígeno disuelto en el medio.
- d) Ocasionan daños mecánicos a la membrana celular.

Sin embargo, el aporte de individual de cada uno de los mecanismos de acción varía según propiedades de las partículas sintetizadas (tamaño, morfología, recubrimientos), condiciones experimentales (luminosidad, temperatura, pH, concentración de oxígeno) y tipos de microorganismos empleados. Por ejemplo, algunos autores señalan que la liberación de ROS es el mecanismo principal, en otro estudio se observó que la liberación de Ag^+ resultaba determinante, mientras que en algunos casos el daño a la membrana se determinó como la causa principal [35].

Un aspecto importante de la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata es el efecto sinérgico que se produce cuando estas partículas se combinan con otros compuestos naturales y sintéticos. Por ejemplo, se ha reportado que las nanopartículas de plata y de fenazina-1-carboxamida juntos aumentan el efecto antibacteriano frente a cepas resistentes a la meticilina de *Staphylococcus aureus* (MRSA) por 32 veces, resultado de alteraciones morfológicas de la pared celular bacteriana [36].

2.7 Aplicaciones de las nanopartículas metálicas

Explorar los cambios que se producen en la materia a escala cuántica es la clave de las enormes posibilidades de innovación, del poder y del potencial de la nanotecnología. Manipulando los materiales a escala nanométrica, los científicos están transformando drásticamente y diseñando nuevos materiales. Las empresas fabrican ya nanopartículas que se utilizan en productos comerciales, desde pinturas que no se agrietan y tejidos que repelen la suciedad hasta calcetines que neutralizan los olores, cristales que se autolimpian y revestimientos anti-grafiti para muros. Por ejemplo, explotando las propiedades antibacterianas de la plata a escala nanométrica, Smith y Nephew han desarrollado vendas para heridas con un revestimiento de nanocristales diseñado para evitar las infecciones [37].

Las nanopartículas de Ag se han utilizado ampliamente como agentes antibacterianos en la industria de la salud, el almacenamiento de alimentos, recubrimientos textiles y una serie de aplicaciones ambientales. La industria textil utiliza nanopartículas de Ag en diferentes tejidos textiles, se preparan fibras de nanocompuestos que contienen nanopartículas de plata incorporadas dentro de la tela, las fibras de algodón que contienen estas partículas exhiben alta actividad antibacteriana contra *Escherichia coli* [38].

2.8 Discusión del estado del arte

Uno de los indicativos de la reducción de sales en nanopartículas metálicas es el cambio de coloración en la solución acuosa tal y como mencionan Mo y Col. [39] en sus estudios con extracto de diferentes hojas de eucalipto (*Eucalyptus*), el color de la solución cambio inmediatamente de café amarilloso a oscuro una vez añadido el extracto, se obtuvieron con un rango de tamaño de 4-60 nm con una morfología esférica. El extracto se realizó a 60 °C durante 1 h, se utilizaron 6 g de la planta con 200 ml de agua desionizada. Para la síntesis de AgNps, se agregaron 25 ml de extracto, 0.1 M de nitrato de plata (AgNO_3) con agitación de 150 rpm a 30°C.

Otra planta que ha sido empleada en la síntesis de AgNps es la *Sesbania grandiflora* usada por Das y Col. [40], quienes sintetizaron nanopartículas de plata empleando el extracto de las hojas de la planta. Dicha síntesis se llevó a cabo en un tiempo de incubación de 1hr después de que el extracto se adicionó al material precursor que en este caso se trató de nitrato de plata AgNO_3 . El

color de la mezcla de la reacción cambio de transparente a café, lo cual indicó la formación de las AgNps, además de la caracterización de espectroscopia UV-Vis en donde se observó un pico a 422 nm el cual se hace más intenso a medida que incrementa el tiempo de reacción, sugiriendo un incremento en la concentración de nanopartículas. La figura 2.7 es una micrografía del microscopio electrónico de transmisión, en donde se puede apreciar la forma esférica y el tamaño nanométrico de las partículas. Dicho tamaño nanométrico fue determinado por medio de la técnica de microscopía de fuerza atómica, cuyos resultados arrojaron que la mayoría de las nanopartículas se encontraban en un rango de tamaño de 10-20 nm.

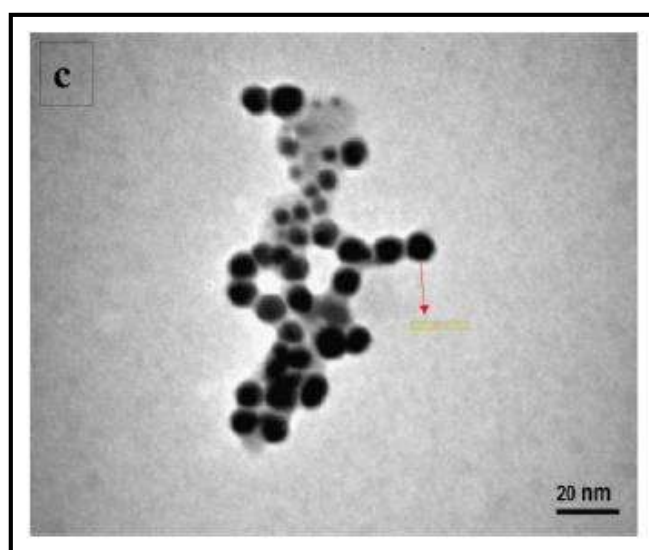


Figura 2.7 Micrografía Electrónica de Transmisión en la cual se observa tanto el tamaño como la forma de las nanopartículas de plata [40].

Kuppusamy y Col. [41] sintetizaron AgNps con brócoli (*Brassica oleracea L.*), se añadió un 1 gr de polvo fino de brócoli con 200 ml de etanol al 90% y se mantuvo en un agitador a 37 °C. Las AgNps se obtuvieron de un tamaño de 30-45 nm de forma esférica. El análisis de espectroscopia de ultravioleta visible (Uv-vis) muestra un pico de absorción a 450 nm, aproximadamente, en la figura 2.8 los espectros de Uv-Vis en diferentes intervalos de tiempo, con lo cual se confirma la exitosa síntesis de nanopartículas de plata.

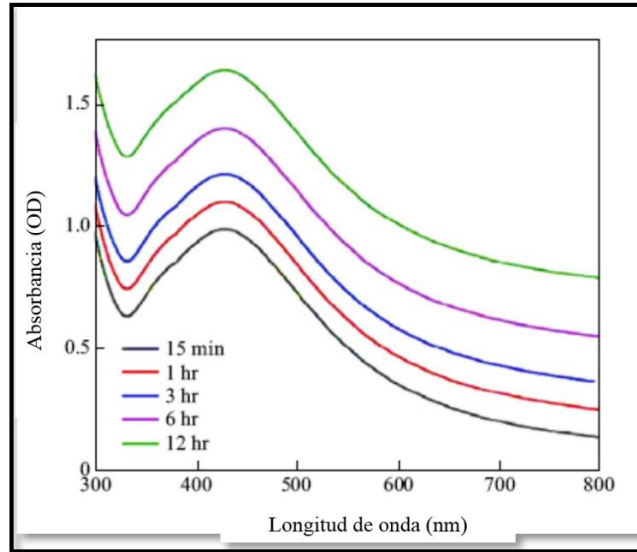


Figura 2.8 Espectro UV-Visible de nanopartículas de plata sintetizados en función del tiempo [41].

Por otro lado, Rathi y Col. [42], utilizaron *Erythrina indica lam* y obtuvieron AgNPs de 20 a 118 nm de forma esférica, el patrón de difracción de rayos X muestra los cuatro picos característicos en todo el espectro a valores de 2θ del 38° , 44.1° , 64.11° 68° , y 77.4° corresponden a los planos cristalinos 111, 200, 220 y 311 de plata metálica. Se muestra en la figura 2.9 dicho patrón.

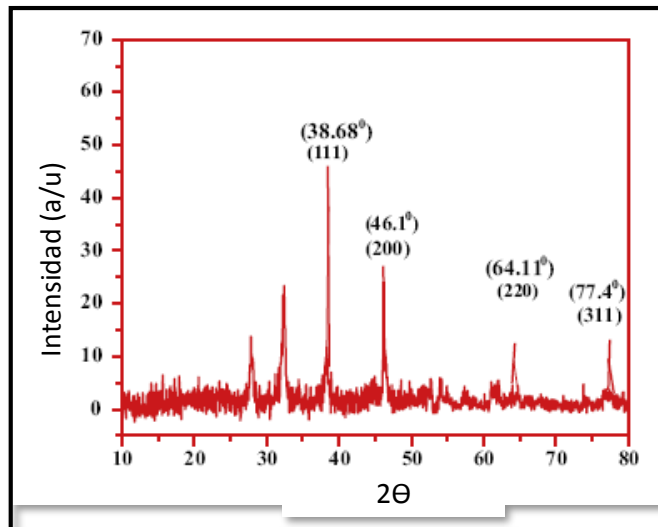


Figura 2.9 Espectro de difracción de rayos X [42].

2.8.1 Influencia de factores en la formación de nanopartículas por medio de plantas

Existen varios factores que juegan un papel importante en la síntesis de nanopartículas. La concentración, forma y tamaño de ellas dependen en gran medida de dichos factores entre los que se encuentran el pH, la temperatura y concentración del extracto.

2.8.1.1 Efecto del pH en la reacción

Por otra parte, Chowdhury y Col. [43] sintetizaron a temperatura ambiente AgNps en presencia del extracto de *Averrhoa carambola*, donde se utilizaron 25 g del fruto en 100 ml de agua a diferentes pH en completa oscuridad, el espectro de UV-Vis reveló, que con el aumento de pH de la solución, la intensidad de los picos incrementan y se hacen más estrechos junto con un desplazamiento, que significa la disminución del tamaño de la partícula, mientras que la microscopía electrónica de transmisión (TEM) mostró que el tamaño medio de partículas de Ag fue de 16, 13 y 12 nm para pH de 4, 7 y 10, como se muestra en la figura 2.10. El análisis de FT-IR confirmó la presencia de polioles, aldehídos, aminas y ácidos orgánicos en el extracto de la fruta que se convirtieron en útiles agentes reductores y estabilizantes para la síntesis de AgNps. La solución a pH neutro (pH 7) tuvo una mejor distribución del tamaño de partícula en comparación con ácido (pH 4) y pH alcalino (pH 10).

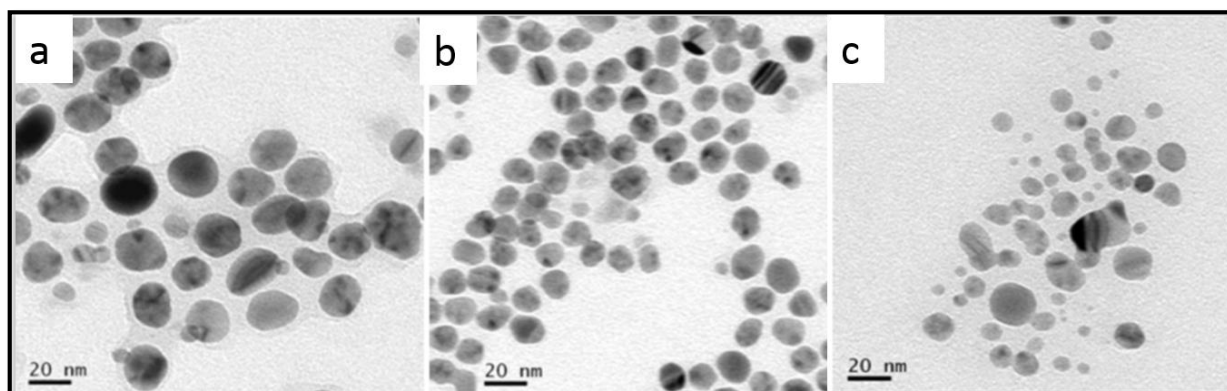


Figura 2.10 Imágenes de TEM de AgNps a diferentes pH. a) pH 4, b) pH 7 y c) pH 10 [43].

2.8.1.2 Efecto de la temperatura y concentración del extracto

Varios estudios han encontrado que el control de la temperatura y de la concentración del extracto, durante el proceso de síntesis por medio de plantas es crítico en el tamaño y forma de las nanopartículas obtenidas, esto fue reportado por Shankar y Col. [44], quienes utilizaron extracto de acetona *Rhodomyrtus tomentosa* a 0.01, 0.05 y 0.1% (w/v), se disolvió en 20 ml de agua. La solución acuosa de nitrato de plata (AgNO_3) se añadió gota a gota a la solución para hacer una concentración final de 1 mM de plata, se colocaron en matraces en un agitador rotatorio a 28 y 50 °C, en la oscuridad a 150 rpm. Después de 48 h de reacción, las muestras se centrifugaron a 14,000 rpm durante 30 min y se lavaron los precipitados con agua.

Los análisis de AgNps usando 0.01, 0.05 y 0.1% (w/v) del extracto a 28 °C fueron designados como Ag28A, Ag28B, y Ag28C, respectivamente, sin embargo, AgNps sintetizadas utilizando 0.01, 0.05 y 0.1% (w/v) a 50 °C fueron designados como Ag50A, Ag50B, y Ag50C, a continuación se exponen unas micrografías de TEM (figura 2.11) donde se observó la variación del tamaño de partícula.

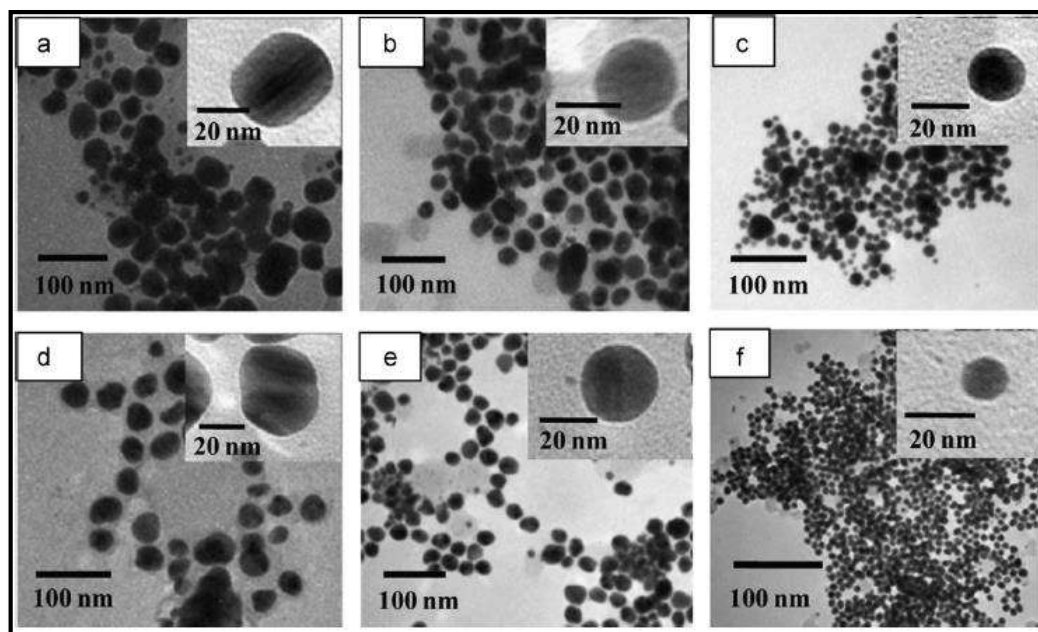


Figura 2.11 Micrografías de TEM de AgNps, (a) Ag28A, (b) Ag28B, (c) Ag28C, (d) Ag50A, (e) Ag50A y (f) Ag50C [44].

Las micrografías indican que la mayoría de las AgNps formadas son esféricas y tienen un rango de tamaño entre 10 y 30 nm. Las nanopartículas no están en contacto directo lo que indica una estabilización gracias al extracto. El tamaño de las nanopartículas fue más pequeño a más alta temperatura y a mayor concentración del extracto de la planta.

Bindhu y Col. [45], enfocaron sus estudios al efecto de la concentración del extracto en las características de las nanopartículas de plata, en el cual empleó un extracto de hojas de *Hibiscus cannabinus* como agente reductor y estabilizante, evaluó 4 diferentes concentraciones del extracto. El espectro de Uv-Vis reveló que a medida que la concentración del extracto aumenta, el ancho del pico disminuye y hay un desplazamiento del pico de 451 a 446 nm del plasmón, el cual indica que el diámetro medio de las nanopartículas de plata disminuye. Dicho desplazamiento y forma estrecha de la banda de resonancia de la superficie de plasmón indica la formación de nanopartículas esféricas, además de una distribución homogénea. Esto es comprobado mediante las imágenes de TEM (figura 2.12).

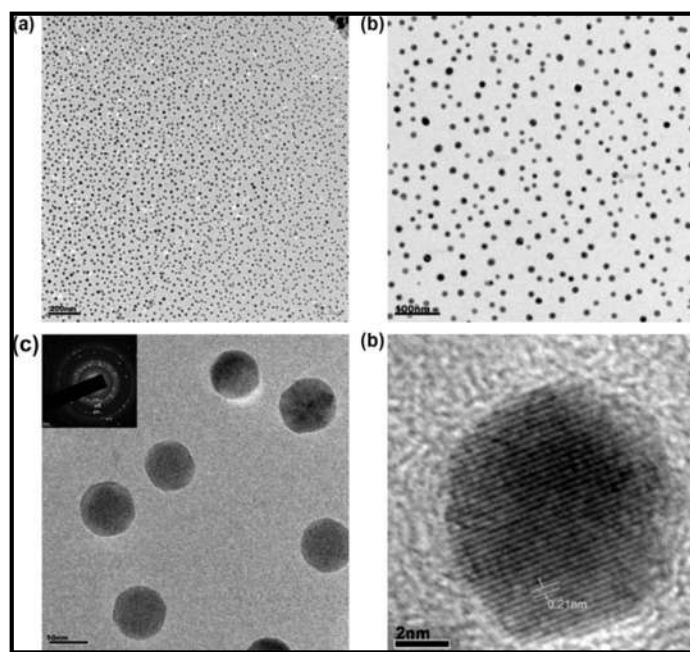


Figura 2.12 TEM micrografía de AgNps: (a) la barra de escala corresponde a 200 nm, (b) la barra de escala corresponde a 100 nm, (c) la barra de escala corresponde a 10 nm (recuadro: patrón de difracción) y (d) de imágenes de alta resolución que muestra franjas reticulares con una separación de 0,21 nm [45].

Por lo tanto, la influencia de la concentración del extracto sobre la síntesis de las nanopartículas se debe a que a medida que la concentración aumenta, mayor cantidad de ácido ascórbico está disponible para reducir iones de plata y formar un gran número de nanopartículas muy pequeñas.

Vijay [46], obtuvo AgNps con *Boerhaavia diffusa*, disolvió en 100 ml de agua destilada el polvo de la planta ya mencionada y añadió 10 ml del extracto anterior a 90 ml de solución de AgNO₃ 0.1 M y se incubó durante 24 h. Las imágenes obtenidas del microscopio electrónico de barrido (SEM) se presentan en la figura 2.13-a, donde se confirma la existencia de nanopartículas muy pequeñas y uniformemente esféricas, el análisis de energía dispersiva de rayos X (EDAX) se muestra en la figura 2.13-b, reveló señal en la región de plata y confirmó la formación de AgNps. Los nanocristales de plata metálica en general, muestran pico de absorción óptica típica aproximadamente a 2.983 keV debido a la resonancia de plasmones superficiales.

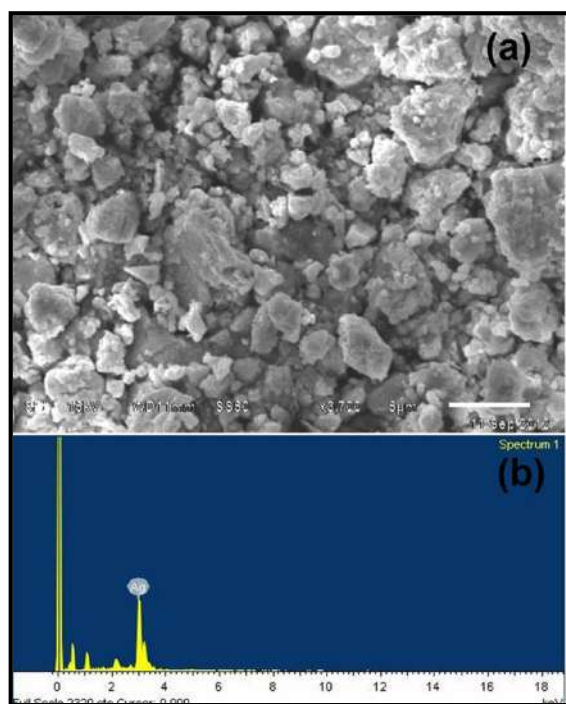


Figura 2.13 (a) Micrografía de SEM y (b) espectro de EDS [46].

2.8.1.3 Posibles compuestos responsables de la síntesis de nanopartículas empleando plantas

Ibrahim [47], estudió más a fondo las sustancias orgánicas contenidas en el extracto de cáscara de plátano (*Musa sapientum*), responsables de la reducción de AgNps. Se realizó por medio de FT-

IR, haciendo dos mediciones, una antes y otra después de la reacción. En la figura 2.14 se muestra el espectro (extracto sin AgNO_3) donde muestra varios picos que indican la compleja naturaleza del material biológico, las bandas aparecieron a 3411.5, 2932.6, 1749, 1637.6, 1386.5, 1146.5, 1077, 829.5 y 642.4 cm^{-1} que fueron asignados respectivamente a la vibración de estiramiento del O-H de alcohol o N-H de aminas, C-H de alcanos, C=O de ácido carboxílico o éster, N-C=O amida 1, CH_2 de alcanos, C-O de ácido carboxílico, éster o éter, C-N de aminas alifáticas o alcohol / fenol y N-H de la deformación de aminas. Después de la reacción con AgNO_3 hubo un cambio en los siguientes picos: 3411.5-3420.8, 2932.6-2927.7, 1749-1742.9, 1637.6-1626, 1386.5-1383.3, 1146.5-1141.1, 1077-1076.3, 829.5-824.5 y 642.4-651.3 cm^{-1} , indicando que los grupos carboxilo, hidroxilo y amida en la superficie del extracto de la cáscara de plátano pueden estar participando en el proceso de síntesis de nanopartículas. El tamaño medio de partícula obtenido fue de 23.7 nm, además mostraron buena actividad antimicrobiana contra los microorganismos patógenos seleccionados.

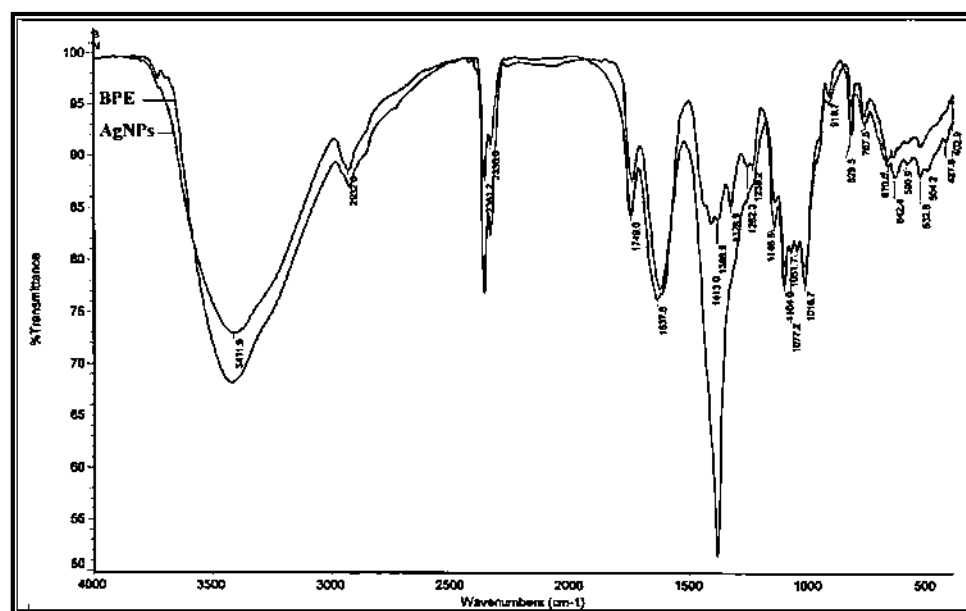


Figura 2.14 Espectro de FT-IR del extracto de cáscara de plátano (BPE) y las nanopartículas de plata [47].

Actualmente se han reportado una gran cantidad de plantas estudiadas para la síntesis de nanopartículas de planta, además de las ya mencionadas, en la tabla 2.3 se describen de manera resumida otras plantas utilizadas y el tamaño de partícula obtenido con cada una de ellas.

Tabla 2.3 Biosíntesis de nanopartículas usando algunos extractos de plantas [21].

Planta	Tamaño de AgNps	Planta	Tamaño de AgNps
<i>Cassia angustifolia</i>	9-31 nm	<i>Argemone maxicana</i>	30 nm
<i>Curcuma long</i>	-	<i>Azadirachta indica</i>	20-nm
<i>Ocimum tenuiflorum</i>	25-40 nm	<i>Crude Piper nigrum</i>	20-50 nm
<i>Punica granatum</i>	10 nm	<i>Boswellia ovalifoliolata</i>	30-40 nm
<i>Alstonia scholaris</i>	30-50 nm	<i>Desmodium trifolium</i>	5-20 nm
<i>Calotropis procera</i>	35 nm	<i>Euphorbia hirta</i>	40-50 nm
<i>Catharanthus</i>	5-10 nm	<i>Trianthema decandra</i>	15 nm
<i>Chenopodium album</i>	10-30 nm	<i>Cebolla del Allium Cepa</i>	33.67 nm
<i>Dioscorea batatas</i>	-	<i>Eucalyptus citriodora</i> y <i>Ficus bengalensis</i>	20 nm
<i>Eclipta prostrate</i>	10-20 nm	<i>Carica papaya</i>	25-50 nm
<i>Gelidilla acerosa</i>	16-40 nm	<i>Datura metel</i>	16-40 nm
<i>Mentha piperita</i>	57 nm	<i>Eclipta prostrate</i>	2-6 nm
<i>Piper longum</i>	18-41 nm	<i>Eucalyptus hybrid</i>	50-150 nm
<i>Polyalthia longifolia</i>	15-50 nm	<i>Jatropha curcas</i>	15-50 nm
<i>Polyalthia longifolia</i>	58 nm	<i>Aloe vera</i>	15.2 nm
<i>Rosa damascene</i>	10-30 nm	<i>Pelaryonium graveolens</i>	16-40 nm
<i>Vitex negundo</i>	18.2 nm	<i>Acalyphaindica</i>	20-30 nm

Las plantas que se utilizaron en este trabajo son Cola de caballo, Gordolobo y Pingüica, de las cuales se describen a continuación sus características y algunas de las sustancias fitoquímicas que se han logrado encontrar reportadas dentro de la literatura.

2.8.1 Cola de caballo (*Equisetum hyemale L.*)

La planta de Cola de caballo es una hierba de hasta 2 m de altura, con tallos huecos, quebradizo y cilíndrico, de color verde oscuro sin ramificaciones, con anillos espaciados que presentan pequeños dientes oscuros alrededor de las articulaciones. Originaria de Norteamérica, habita en climas

semiseco, seco y templado [48]. Esta planta es utilizada para aliviar enfermedades de los riñones y la próstata tomada como té hecho con los tallos, también ayuda con el dolor de apéndice [49].

Se ha reportado que la planta contiene taninos como ácidos aconítico, cafeínico, ferúlico y silícico; alcaloides que son la equisetina, nicotina y palustrina, también contiene una dimetilsulfona. En las partes aéreas de *E. hyemale*, se han identificado los carotenoides alfa y beta-caroteno, luteína su epóxido, licofíl, violaxantín y zeaxantín; por último se han encontrado los flavonoides triglucopiranosidos de herbacetín y camferol. [50, 51].

2.8.2 Gordolobo (*Gnaphalium conoideum kunth*)

La planta de Gordolobo es una hierba de 30 a 80cm de altura con tallos de apariencia aterciopelada. Las hojas son largas y angostas pegadas al tallo. Sus flores son amarillas y brillantes dispuestas en cabezuelas y los frutos como capsulitas alargadas, es originaria de México. Esta planta tiene propiedades relajantes y se utiliza comúnmente para tratar la tos, asma y bronquitis [51, 52]. Dentro de esta familia botánica se encontraron en un estudio que se realizó, saponinas, taninos, terpenoides y flavonoides (tres metoxiflavonas y una charcona) [53].

2.8.3 Pingüica (*Arctostaphylos pungens kunth*)

La planta de pingüica es un árbol o arbusto de hojas oblongas, las flores terminan en racimos, sus pétalos son de color rosado y el fruto es drupáceo, con pulpa granulosa y el aspecto de una manzanita. Por el alto contenido de taninos en toda la planta ésta se emplea como diurético, astringente y antinefrítico. Los indígenas prehispánicos de México comieron mucho esas frutillas de la planta pingüica, tanto por ser muy alimenticias como porque el sacaruro que contienen aumentan la orina y disminuye la albúmina [54]. En el fruto se han detectado pirocatequina, una resina y taninos [51].

Con lo anteriormente descrito, en cuanto a los métodos utilizados para la síntesis de nanopartículas de plata y toda la información recaudada, se apoyó para la realización de la metodología que se menciona a continuación en el capítulo 3 y para explicar el posible comportamiento en cuanto a los resultados obtenidos con cada una de las plantas (Cola de caballo, Gordolobo y Pingüica) que se estudiaron en este proyecto.

CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

En la figura 3.1 se muestra esquemáticamente de manera resumida los pasos en que consistió la metodología experimental.

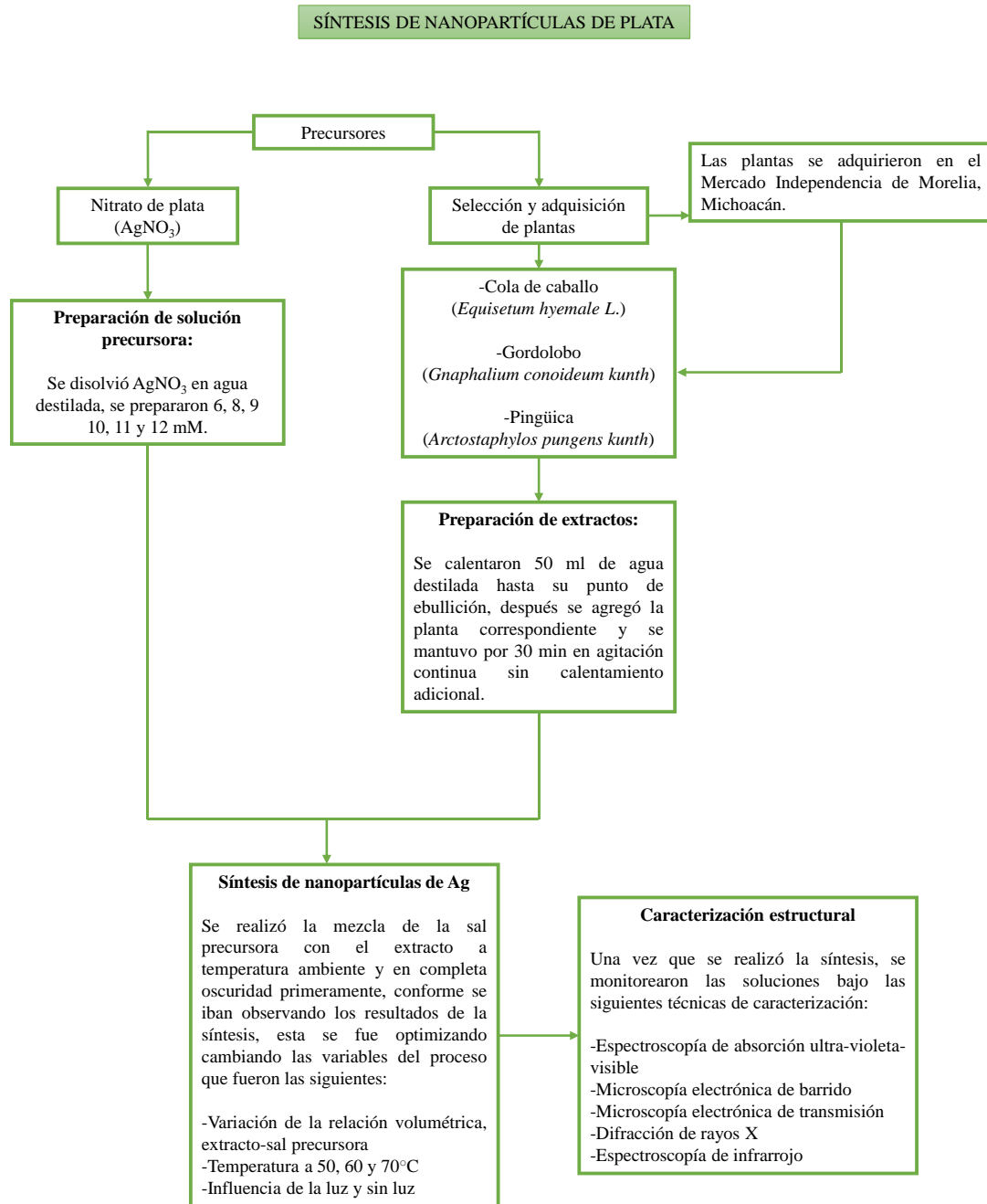


Figura 3.1 Diagrama de flujo de las actividades experimentales.

3.1 Selección y características de las plantas

Las plantas seleccionadas para el estudio de la síntesis de nanopartículas de plata fueron: cola de caballo (*Equisetum hyemale L*), gordolobo (*Gnaphalium conoideum kunth*) y pingüica (*Arctostaphylos pungens kunth*), elegidas principalmente porque son utilizadas en la medicina tradicional mexicana, son originarias de México y no han sido reportadas en la literatura, además se tiene la certeza que no son tóxicas por estudios previos [51].

3.2 Adquisición de las plantas

Las tres plantas se adquirieron secas para una mejor manipulación al momento de utilizarlas para su experimentación, en el mercado independencia ubicado en Morelia, Michoacán. En la figura 3.2 se muestran las características de las plantas bajo estudio.

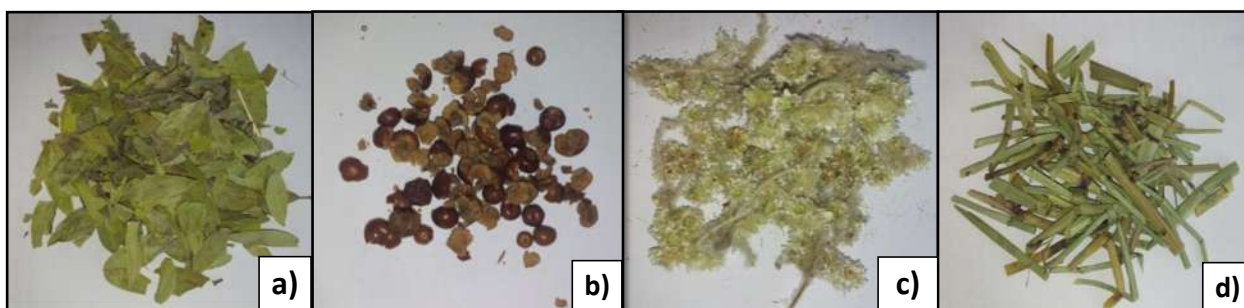


Figura 3.2 Plantas empleadas para la síntesis de nanopartículas de plata, a) hojas de pingüica, b) fruto de pingüica, c) gordolobo y d) cola de caballo.

3.3 Preparación de extractos

Los extractos se realizaron variando la cantidad de gramos de la planta en 50 ml de agua destilada, en la tabla 3.1 se muestran las cantidades utilizadas, estas fueron cambiando dependiendo de los resultados que se iban registrando con la finalidad de optimizar la obtención de las nanopartículas de Ag. Una vez que se midieron los 50 ml de agua destilada y se pesaron los gramos de la planta requeridos, el agua se sometió a calentamiento hasta punto de ebullición, en ese momento se apagó la parrilla y se agregó la planta, para posteriormente taparla y dejarla en agitación continua durante

30 minutos. Después los extractos se filtraron para eliminar la planta y partículas no deseadas con papel filtro de poro fino; estos se dejaron enfriar a temperatura ambiente, para proseguir con la síntesis de nanopartículas de Ag.

3.4 Preparación de las sales precursoras

Para la preparación de las soluciones precursoras, se utilizó la sal de nitrato de plata (AgNO_3), el cual fue disuelto en agua destilada, se prepararon las molaridades de 6, 8, 9, 10, 11 y 12 milimolar (mM). Esta preparación fue realizada en frascos ámbar para evitar la descomposición del AgNO_3

Tabla 3.1 Cantidades de la planta utilizada para la realización de los extractos.

Planta	Gramos utilizados
Hojas pingüica	2, 3 y 4
Fruto pingüica	2
Gordolobo	1, 1.5 y 2
Cola de caballo	1, 1.5, 2, 2.5, 3 y 4

3.5 Síntesis de nanopartículas de plata

La metodología experimental se divide en tres partes que consisten en la utilización de cada una de las plantas para la síntesis de nanopartículas, que a continuación se mencionan.

3.5.1 Planta Cola de caballo (*Equisetum hyemale L*)

Se realizaron una serie de experimentos, los cuales fueron variando dependiendo de los resultados que se iban obteniendo, con el fin de optimizar el proceso. En la tabla 3.2 se muestran estos experimentos. Las muestras que se realizaron sin la influencia de la luz, fueron tapadas con papel aluminio para evitar por completo el contacto con la luz durante la síntesis. Esto fue realizado también con las otras plantas.

Tabla 3.2 Serie de experimentos con cola de caballo.

Cantidad de planta (gr)	AgNO ₃ (mM)	Relación extracto/sal	Con temperatura (°C)	Influencia de la luz (S/N)
2, 3 y 4	6, 8 y 10	1:1 y 1:2	25	N
1, 1.5, 2, 2.5	8	1:1		
1	9, 10, 11 y 12			1:1-1:12
	9	S		
	12	1:1	50, 60 y 70	N

3.5.2 Planta de Gordolobo (*Gnaphalium conoideum kunth*)

Dentro de la experimentación con esta planta, se manejó de manera similar a la primera utilizando las mismas molaridades y condiciones de la luz (ver la tabla 3.3), aunque las condiciones cambiaron, específicamente los gramos, ya que esta planta absorbe mucha agua y fue difícil realizar los extractos con mucha cantidad de planta. En el caso del gordolobo, se realizó el extracto utilizando toda a planta (flor, tallo y hojas).

Tabla 3.3 Serie de experimentos con gordolobo.

Cantidad de planta (gr)	AgNO ₃ (mM)	Relación (extracto/sal)	Influencia de la luz (S/N)
1, 1.5 y 2	6, 8 y 10	1:1 y 1:2	N
1.5	6	1:1-1:5	N, S

3.5.3 Planta de Pingüica (*Arctostaphylos pungens kunth*)

La planta de pingüica se subdivide en dos partes, ya que se hicieron pruebas con las hojas de pingüica y por separado pruebas con el fruto.

3.5.3.1 Experimentación con hojas de pingüica

En la tabla 3.4 se muestran las variables experimentales que se hicieron con las hojas de pingüica; cabe señalar que en estos experimentos se aplicaron tres diferentes pesos de la planta, con tres distintas molaridades y dos relaciones volumétricas con respecto al extracto de la planta y la sal precursora.

Tabla 3.4 Serie de experimentos realizados con las hojas de pingüica.

Cantidad de panta (gr)	AgNO ₃ (mM)	Relación (extracto/sal)
2, 3 y 4	6, 8 y 10	1:1
		1:2

3.5.3.2 Experimentación con fruto de pingüica

En la tabla 3.5 se presentan las pruebas que se desarrollaron con el fruto de pingüica, en la cual se especifican las variables experimentales de peso en gramos de la planta, molaridad del AgNO₃ y relación volumétrica extracto-sal precursora.

Tabla 3.5 Serie de experimentos realizados con el fruto de pingüica.

Cantidad de panta (gr)	AgNO ₃ (mM)	Relación (extracto/sal)	Influencia de la luz (S/N)
2	6, 8 y 10	1:1	N y S

3.6 Caracterización estructural de nanopartículas de plata

La caracterización estructural, es de los aspectos fundamentales de la parte experimental, ya que gracias a esta se obtuvo diversa información y se comprobó la presencia de las nanopartículas de plata.

3.6.1 Espectroscopía de ultra violeta visible (Uv-vis)

Esta técnica es de gran relevancia en el estudio de las nanopartículas suspendidas en solución (coloides), debido a que se puede realizar el análisis de muestras líquidas y las corridas son relativamente rápidas [55]. Las nanopartículas metálicas, como las de plata, tienen la característica de que interactúan de manera muy importante con ciertas longitudes de onda de la luz, exhibiendo una banda de absorción característica en el UV- vis, la cual no está presente en el espectro del metal a granel. Esta banda de absorción se encuentra en un rango de 400 y 470 nm [56] para las nanopartículas de plata. Esta técnica es de gran importancia para determinar la formación de nanopartículas y se realizó por medio de un espectrofotómetro miniatura de la marca *Ocean Optics*, modelo USB 400.

3.6.2 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Por esta técnica de caracterización fueron analizadas las nanopartículas de Ag para corroborar los resultados obtenidos por UV-vis en lo referente al tamaño, forma aproximada y composición química, además, se realizó un análisis químico para constatar la presencia de Ag. Solo en muestras donde los tamaños de las partículas eran mayores a los rangos nanométricos se realizaron mapeos químicos, ya que en muestras de nanopartículas, los tamaños son demasiado pequeños y no se definen bien en un mapeo químico. El microscopio electrónico de barrido utilizado es de la marca JEOL JSM-7600F. Este microscopio cuenta con un detector de EDS para efectuar un análisis químico puntual.

3.6.3 Microscopía electrónica de transmisión (MET)

Una parte primordial para el estudio de los materiales por MET es la preparación de la muestra. En este caso, unas gotas de la suspensión, después de la reacción, fueron depositadas directamente en las rejillas de cobre con recubrimiento de carbón amorfo. Para este trabajo se utilizó el microscopio marca Phillips modelo Tecnai F20, para observar de manera más precisa el tamaño, morfología y distribución de las nanopartículas, además, se utilizó la técnica de alta resolución para definir el tipo de nanopartícula obtenida.

3.6.4 Espectroscopía infrarroja (FT-IR)

Se utilizó la técnica de espectroscopia de infrarrojo por medio de un espectrómetro Bruker Tensor 27 que trabaja con un rango de operación $4000-400\text{ cm}^{-1}$, en el cual se metieron dos muestras diferentes por cada planta, una del extracto sin AgNO_3 y otro con el mismo, con el cual se definieron los grupos funcionales presentes en el extracto, y se obtuvo una aproximación de las posibles sustancias que actúan como reductores y estabilizantes en la síntesis.

3.6.5 Difracción de rayos X (DRX)

Una vez obtenidas las nanopartículas, estas se estudiaron por difracción de rayos X en un difractor Bruker modelo D8 que trabaja a 40 kV para confirmar que se trata efectivamente de cristales de plata y se evaluó la formación de residuos no deseados en el caso de algunas muestras.

CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En esta sección se presentan los resultados, el cual, se centra en el desarrollo de distintos métodos de biosíntesis mediante el uso de los extractos, Cola de caballo, Gordolobo y Pingüica, para la producción de nanopartículas de plata.

4.1 Resultados con la planta Cola de caballo (*Equisetum hyemale L.*)

Los resultados de cola de caballo se muestran en la figura 4.1 la secuencia sistemática de la observación directa del cambio de color, el cual está relacionado con la evolución de la bio-reducción de los iones de plata como nitrato. Como se logra constatar el cambio de color de amarillo a café oscuro comienza a los 60 minutos de reacción, mientras que se consolida a los 240 min. En principio este es un buen indicativo de que el extracto de esta planta tiene sustancias antioxidantes, las cuales permite la obtención de nanopartículas de plata. Este cambio de coloración como el aquí obtenido, ha sido reportado en múltiples investigaciones [57].

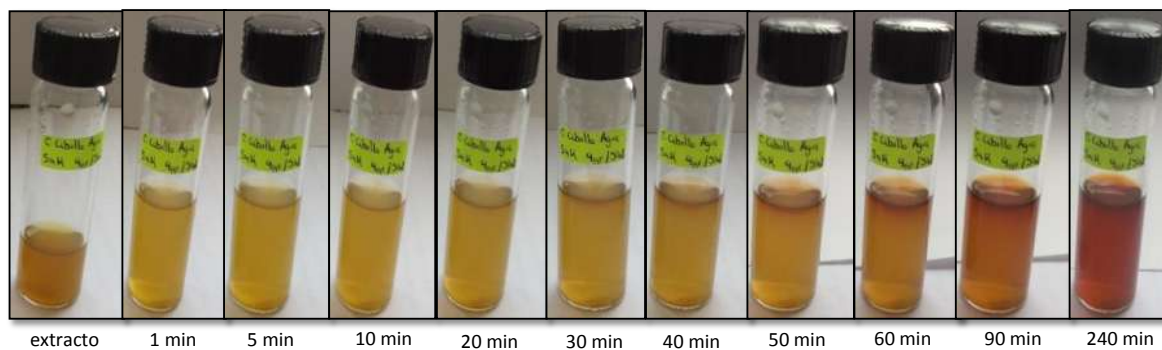


Figura 4.1 Cambio de color de las soluciones sintetizadas con extracto de cola de caballo en función de tiempo.

La espectroscopía de ultravioleta-visible (UV-vis) es un método indirecto pero muy eficiente y rápido para examinar la evolución de la reacción de bio-reducción de las nanopartículas de Ag, a partir de la solución acuosa de AgNO_3 y el extracto, el espectro de absorción de partículas esféricas aisladas se caracteriza por la resonancia de Mie que se produce a una frecuencia w_0 tal que:

$$\epsilon_{1s}(w_0) = -2\epsilon_m \quad (1)$$

donde $\epsilon_s(w)$ es la función dieléctrica de las partículas esféricas de plata y ϵ_m es la función dieléctrica del medio que las rodea [58]. De esta forma la banda a 460 nm puede ser atribuida a la dispersión de Mie que sólo responde al metal de plata [59]. De acuerdo a lo anterior, se presentan los espectros generados en la figura 4.2, en donde los experimentos corresponden a la variación de la molaridad en cada inciso de acuerdo a 6, 8 y 10 mM de AgNO_3 , además variando los gramos de la planta empleada en a) 2 g, b) 3 g y c) 4 g, con una relación volumétrica de 1:1. Se observa que bajo estas condiciones no se presenta un pico del plasmón superficial característico de las nanopartículas de Ag, excepto para la muestra de 2 g con 8 mM.

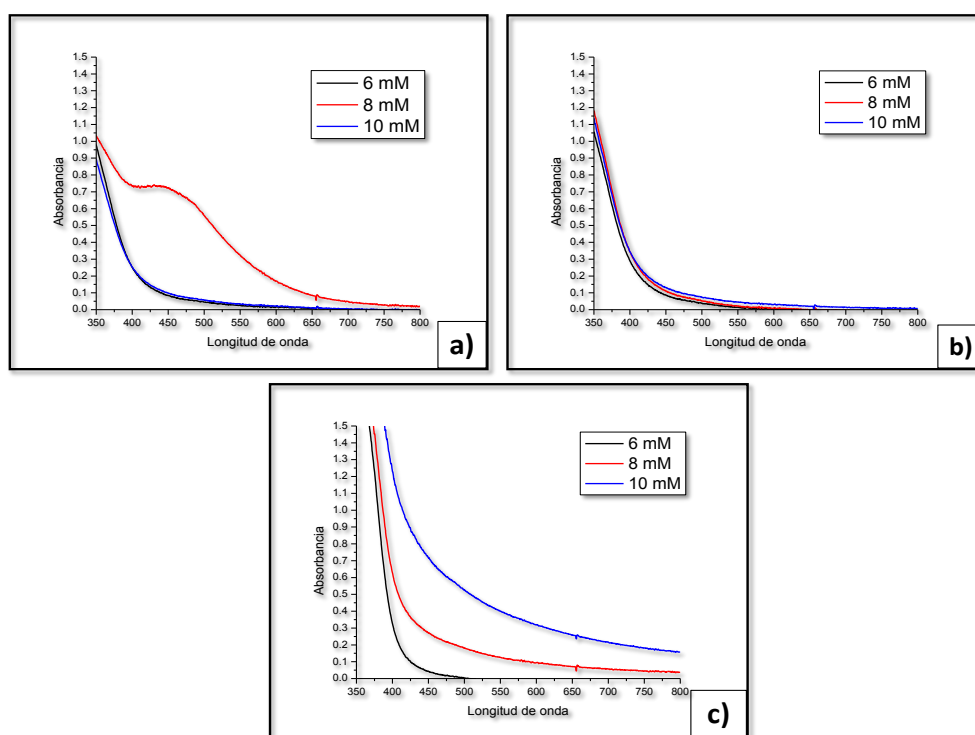


Figura 4.2 Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 6, 8 y 10 mM de AgNO_3 variando los gramos de la planta a) 2 g, b) 3 g y c) 4 g, con una relación 1:1.

Esto se puede entender a partir de la siguiente manera: las cantidades de las sustancias reductoras son excesivas, las cuales permiten el crecimiento incontrolado de las partículas de plata obteniendo tamaños más allá del rango nanométrico, en donde la técnica de Uv-vis no puede detectarlas. Para mejorar estos resultados las pruebas experimentales fueron ampliadas manejando las mismas

concentraciones de extracto y de sal de plata, aunque incrementando la relación volumétrica respectivamente en 1:2, los resultados son presentados en la figura 4.3.

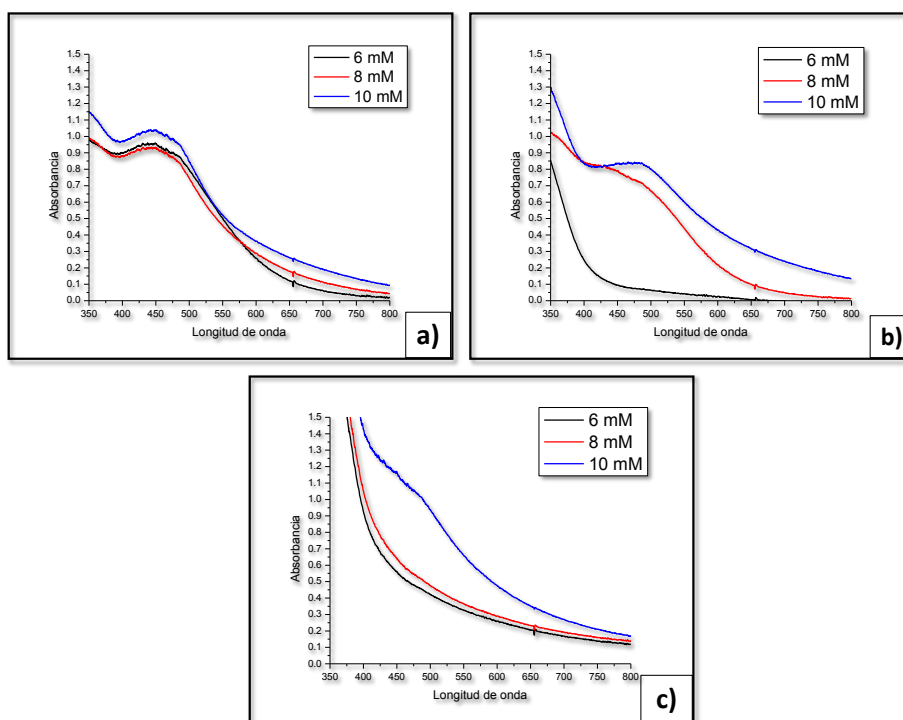


Figura 4.3 Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 6, 8 y 10 mM de AgNO₃ variando los gramos de la planta a) 2 g, b) 3 g y c) 4 g, con una relación 1:2.

Como se nota, los datos obtenidos difieren claramente de los presentados en la relación 1:1, en donde, la mayoría de los espectros presentan curvas con un pico del plasmón característico de las nanopartículas de Ag alrededor de los 450 y 500 nm. Se observa que si se incrementa la cantidad de planta en el extracto, el pico de resonancia del plasmón superficial (SPR por sus siglas en inglés) disminuye o no se presentan, mientras que para la mínima cantidad de planta en el extracto empleada (2 g de planta, figura 4.3-a), todas las curvas presentaron un pico del plasmón, por lo tanto, estos resultados sugieren que la planta cola de caballo no presenta un crecimiento controlado de las especies reducidas, dado que las sustancias tensoactivas deben ser insuficientes para recubrir una gran cantidad de iones de plata bioreducidos convertidos en sólidos, haciendo que estos crezcan y se desarrollen en tamaños más allá del rango esperado. La última deducción es reforzada observando nuevamente los espectros correspondientes a 3 g de planta (figura 4.3-b) en

donde dos máximos en la curva, es decir, la meseta que se presentan en las curvas se aprecian como señal de dos distribuciones de tamaño de partícula.

De igual forma las anteriores observaciones generadas por la técnica de espectroscopía de Uv-vis se comprueban, observando las imágenes generadas por microscopía electrónica de barrido mostradas en la figura 4.4. Se aprecia en la imagen nanopartículas de plata siendo los puntos más brillantes y pequeños, mientras que por otro lado, se logran ver partículas que se salen del rango de los 100 nm, siendo éstas los puntos blancos más intensos, de esta forma quedan comprobados los resultados discutidos anteriormente. Es importante señalar que el análisis químico realizado mediante EDS (figura 4.4-b), se muestra que el elemento plata viene ahora acompañado de varios otros elementos, por ejemplo el Cl y K, los cuales se presume deben proceder del extracto de cola de caballo. Según el estudio fitoquímico realizado en [51], esta planta efectivamente contiene cloruros.

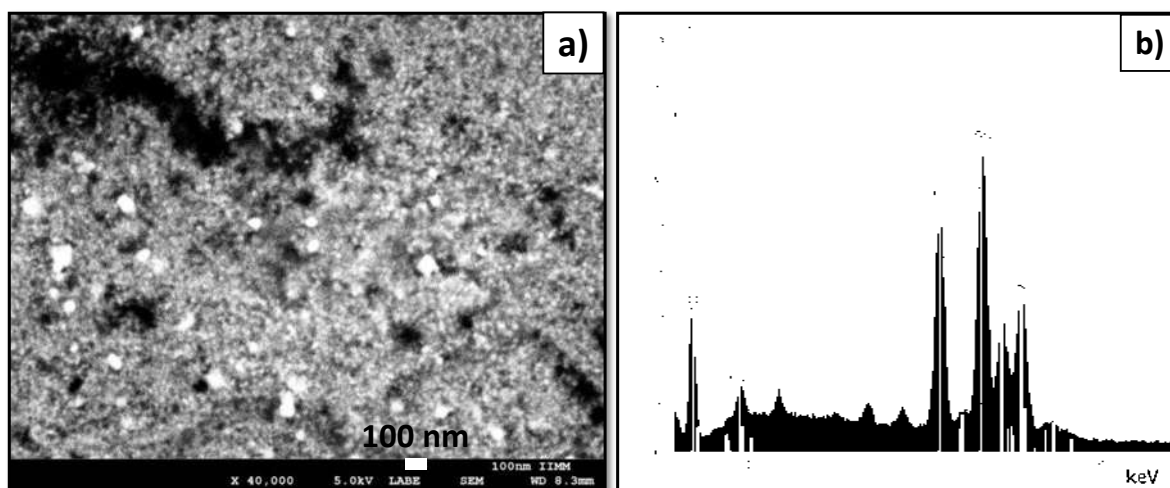


Figura 4.4 a) Imagen de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas con 3 g de cola de caballo y 10 mM de AgNO_3 con una relación 1:2 y b) análisis químico por EDS.

Para comprobar este resultado fueron realizados experimentos mediante la técnica de difracción de rayos X a una muestra preparada mediante evaporación como se muestra en la figura 4.5. Como se aprecia de la misma, los picos correspondientes a los planos de difracción (111), (200), (220), (311) y (222) se presentan confirmando la reducción de iones de plata a un sólido cristalino (JCPDS no. 87-0720) de sistema cúbico y red de Bravais fcc, sin embargo, se aprecian también del difractograma intensas reflexiones que son indexadas con el compuesto AgCl (JCPDS no. 85-

1355), en este resultado se ha presentado ya para otras composiciones de tal forma que se comprueba la presencia de cloro que contiene la planta de cola de caballo. Por otro lado, se observa la presencia de otros compuestos (*CDP) que no se lograron indexar, lo que se atribuye a los compuestos derivados de la misma planta, los cuales también se presentan en otros estudios hechos anteriormente [47].

La presencia de estos compuesto en la planta de cola de caballo si bien no tiene influencia en la toxicidad de las nanopartículas empleadas, puede tener algún efecto en la velocidad de bioreducción, por causa de una sobresaturación, impulsando al sistema a incrementar la cinética del proceso, esto podría en parte explicar porque los espectros de Uv-vis no presentan un pico del plasmón a medida que la concentración del extracto se incrementa. De acuerdo a esto fueron efectuados experimentos para las mismas condiciones, con una molaridad de 8 mM de AgNO_3 de bioreducción variando los gramos de la planta del extracto de cola de caballo.

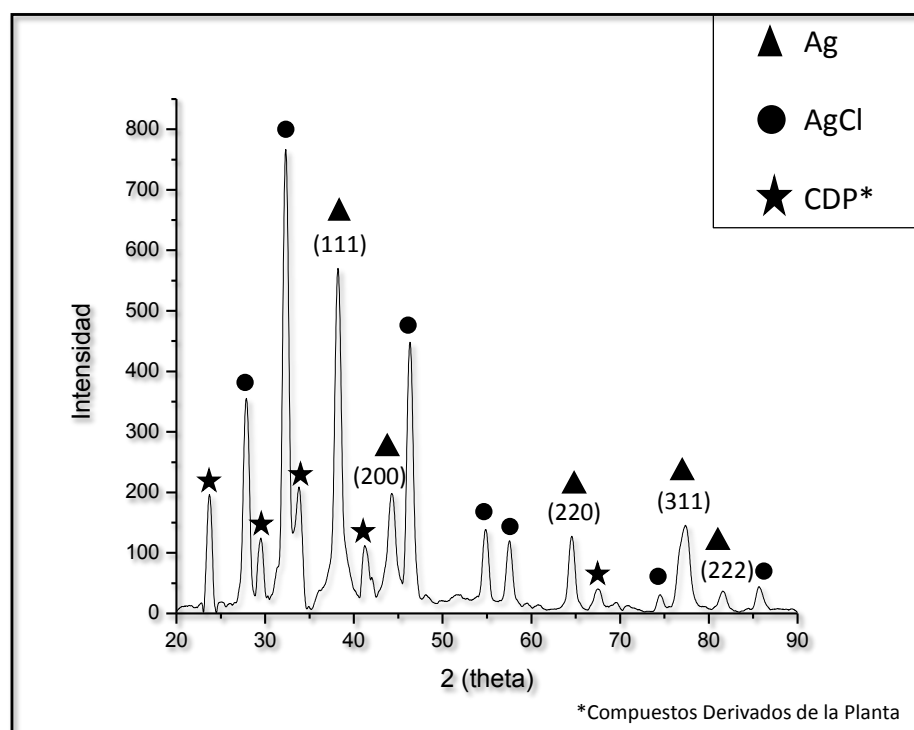


Figura 4.5 Patrón de difracción de rayos X de nanopartículas de Ag sintetizadas con extracto de cola de caballo. Los planos (1 1 1), (2 0 0), (220), (311) y (222) corresponde a la difracción de rayos X estándar del cristal de Ag.

Mediante la técnica de Uv-vis se lograron monitorear los resultados los cuales son ilustrados en la figura 4.6, como se aprecia, básicamente no existe un pico de plasmón superficial cuando la cantidad de planta presente en el extracto de cola de caballo fue mayor a 1 g, indicando con esto que la planta bioreduce pero controla poco el crecimiento de las partículas de acuerdo con los anteriores resultados pero, por otro lado, para una concentración de 1 g de extracto ya se logran sintetizar nanopartículas de plata, confirmando que también en esta planta al igual que otras que se han reportado anteriormente, se puede realizar la síntesis de nanopartículas eco-amigable y de bajo costo.

El pico de SPR de esta gráfica es esbelto indicando una distribución de tamaño homogénea de las nanopartículas y además, se encuentra ubicado en los 430 nm, siendo una posición un poco hacia la derecha del pico característico el cual es a 425 nm, no obstante, esta posición no únicamente puede variar con el tamaño de los sólidos reducidos sino también varía por las constantes dieléctricas del medio [60].

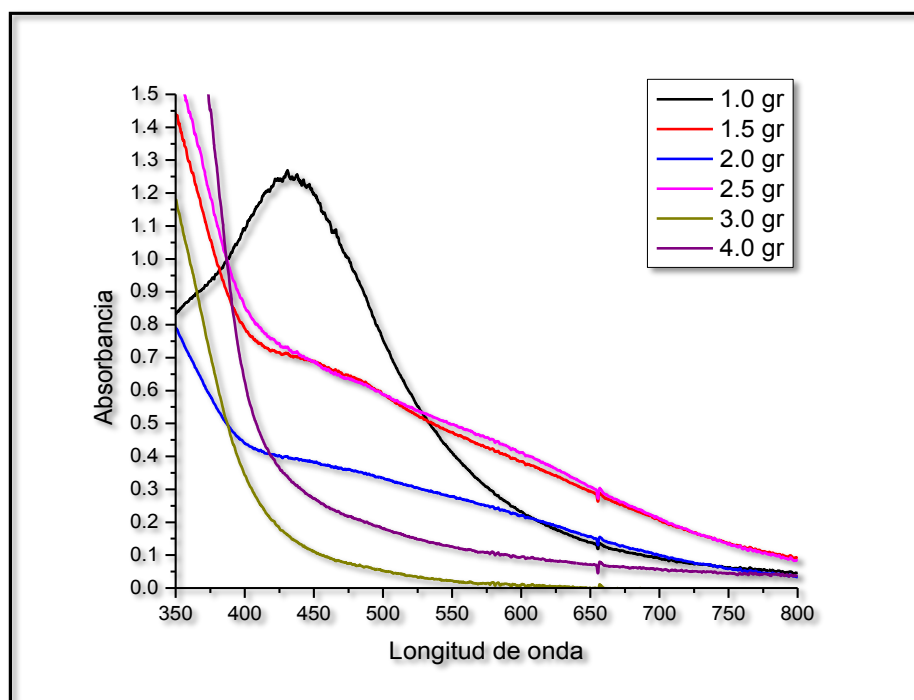


Figura 4.6 Espectro de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 8 mM de AgNO_3 variando los gramos de la planta en el extracto.

Estos resultados se lograron comprobar mediante la figura 4.7, la cual presenta una imagen de microscopía de barrido utilizando 1 g de extracto de la planta. Se logra apreciar una gran densidad de nanopartículas de plata formadas, las cuales se encuentran bien dispersas y aproximadamente en un rango de tamaño homogéneo. Los resultados derivados de los análisis químicos siguen confirmando que varios elementos son encontrados como residuos de la planta, entre los que encontramos al K, Cl, S, P y Si. A partir de que en la gráfica anterior se constata que la concentración de 1 g de planta en el extracto presenta buenos resultados, fueron realizados estudios para comprobar la evolución de la reacción como función del tiempo de reacción.

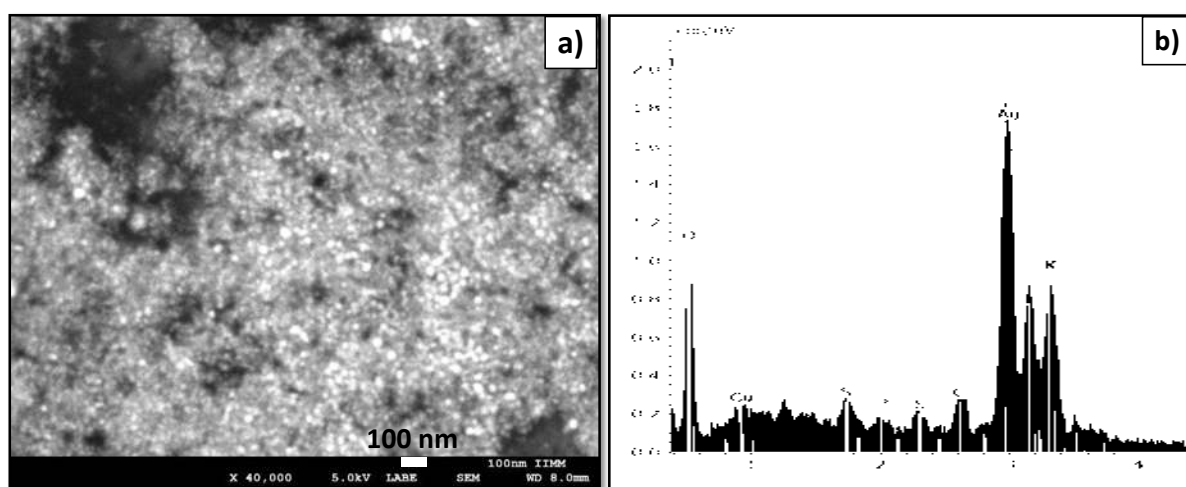


Figura 4.7 a) Imagen de MEB de muestra sintetizada con 1 g de cola de caballo y 8 mM de AgNO_3 , b) análisis químico por EDS.

Las figuras 4.8 a-c, muestran los espectros registrados mediante Uv-vis, de la variación del tiempo de reacción en: a) 1 día, b) 15 días y c) 60 días, variando en cada uno de ellos la molaridad de la sal empleada desde 9 hasta 12 mM. Como se logra apreciar de la primera de esas figuras (figura 4.8-a), picos de Uv-vis bien definidos se aprecian ubicados en 445 nm, los cuales crecen en intensidad a medida que la concentración de la sal de plata aumenta, esto como indicativo de que una mayor densidad de nanopartículas de Ag se obtiene. Resultados similares son comúnmente encontrados en la literatura por el uso de otros extractos de plantas [61]. Estos resultados muestran que el proceso de bioreducción mediante cola de caballo se optimizó en cuanto a la cantidad de nanopartículas que se pueden obtener reducidas y estabilizadas, logrando las mejores condiciones cuando se utiliza 1 g de cola de caballo y 12 mM.

Cuando el tiempo de proceso se incrementa hasta 15 días (figura 4.8-b) se observa que aún los picos, independientemente de la concentración de sal, se incrementan ligeramente en intensidad de señal lo que indica que aún continuó el proceso de bioreducción, sin embargo, todos los espectros muestran picos ensanchados lo cual es un indicativo de que la distribución de tamaño de partícula se incrementa aunque más partículas se obtienen, por lo tanto, en cuanto a estos resultados sí se desea contar con tamaños de partícula más homogéneos es mejor parar la reacción después de 1 día manejando las presentes condiciones.

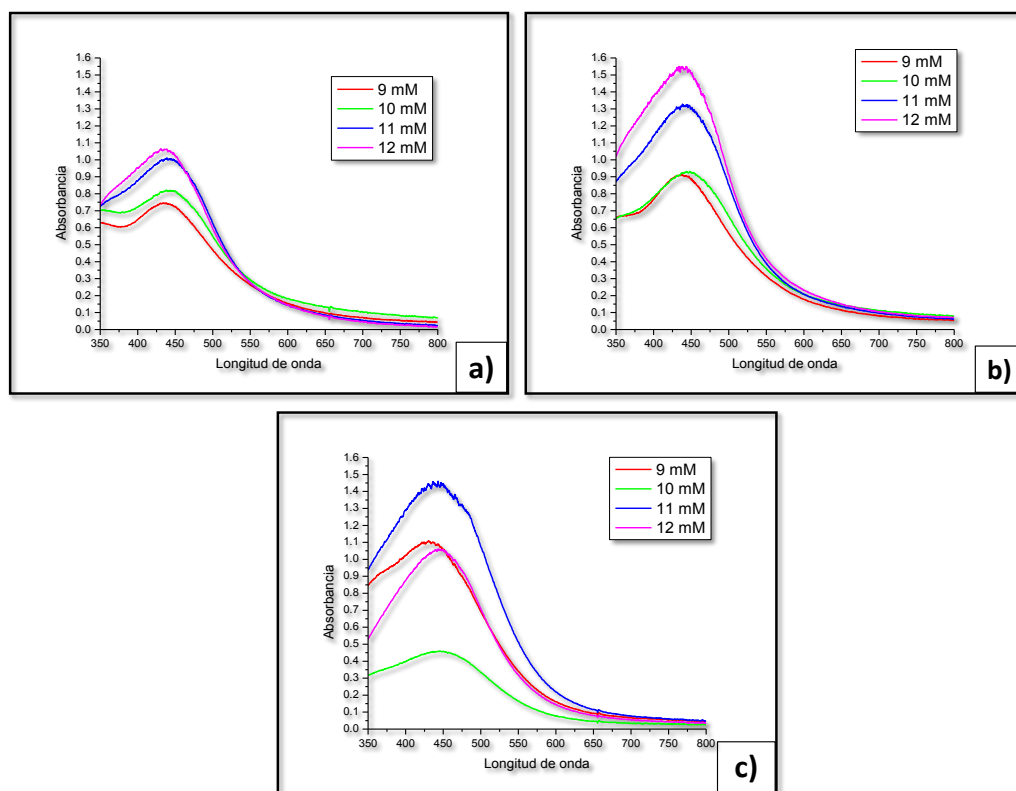


Figura 4.8 Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 1 gr de planta, variando la molaridad a distintos tiempos de reacción, a) 1 día, b) 15 días y c) 60 días.

Cuando el tiempo de reacción se extendió hasta los 60 días de reacción (figura 4.8-c), se aprecia que las intensidades de los espectros se comienzan a alterar en función de la molaridad de la sal, lo cual nos sugiere que la reacción de reducción aún continuó haciendo crecer a las partículas fuera del rango nanométrico, por lo que, aún hay presencia de iones de plata libres y agentes reductores;

aunque por otro lado, se muestra que las nanopartículas en cola de caballo siguen manteniéndose en general estables.

Aunque en principio, se desea que la reacción de reducción de nanopartículas mediante extractos de plantas, el cual es un método eco-amigable y económico, se logre efectuar con buenos resultados a temperatura ambiente, para conocer la influencia de la misma en la cinética y características de la bio-reducción empleando cola de caballo, fueron realizados varios experimentos variando la temperatura en 50, 60 y 70 °C, y para las condiciones de 1 g de extracto y 12 mM de sal empleada.

Como se ve en la figura 4.9 buenos resultados se obtienen variando la temperatura en cuanto a cantidad de nanopartículas reducidas, homogeneidad de la muestra en cuanto a tamaño de las nanopartículas obtenidas, esto se deduce respectivamente a partir de la intensidad del pico del SPR, el cual crece en la medida que se emplea una temperatura mayor, pero su posición se desplaza hacia el rojo lo cual indica un tamaño de partícula mayor, con el incremento de la temperatura.

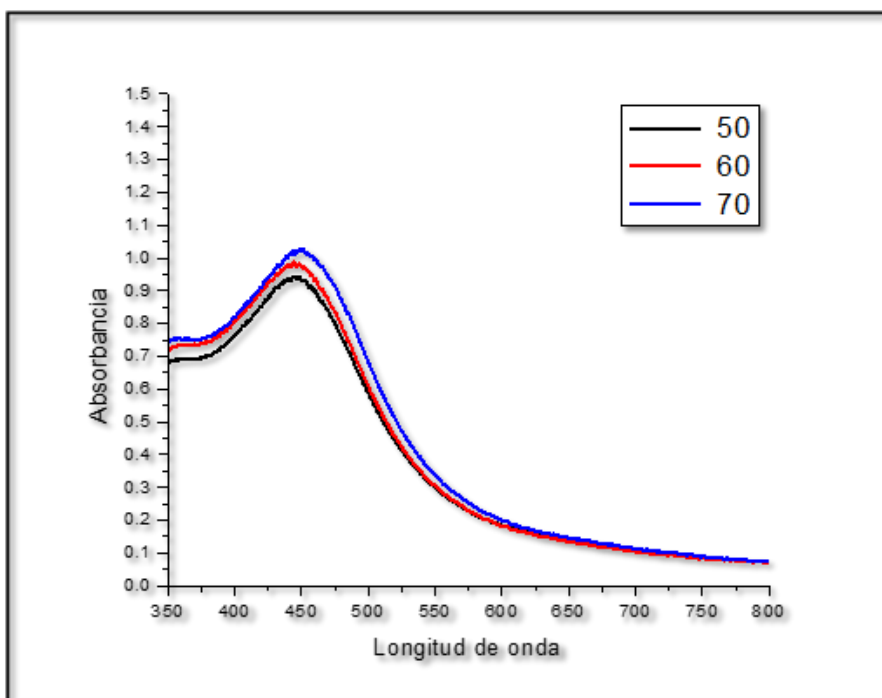


Figura 4.9 Espectro de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 1 gr de la planta y 12 mM de AgNO_3 variando la temperatura de la sal en grados centígrados.

Esta tendencia de crecimiento es bien constatada por los análisis efectuados mediante microscopía electrónica de barrido, en donde, se observa de la figura 4.10, los resultados obtenidos para cada

temperatura que se empleó. Como se aprecia unas formaciones en forma de flor se presentan en las muestras las cuales en cantidad aproximadamente se incrementan con el incremento de la temperatura de reacción. Es importante mencionar que esas formaciones presentan pétalos con dimensiones en el rango nanométrico (figura 4.11 a-b) las cuales serían como ensambles y se deben investigar en cuanto a su capacidad de funcionalizarse con otras sustancias para aplicaciones dentro de la nanomedicina, tratamiento de aguas de desecho o catálisis.

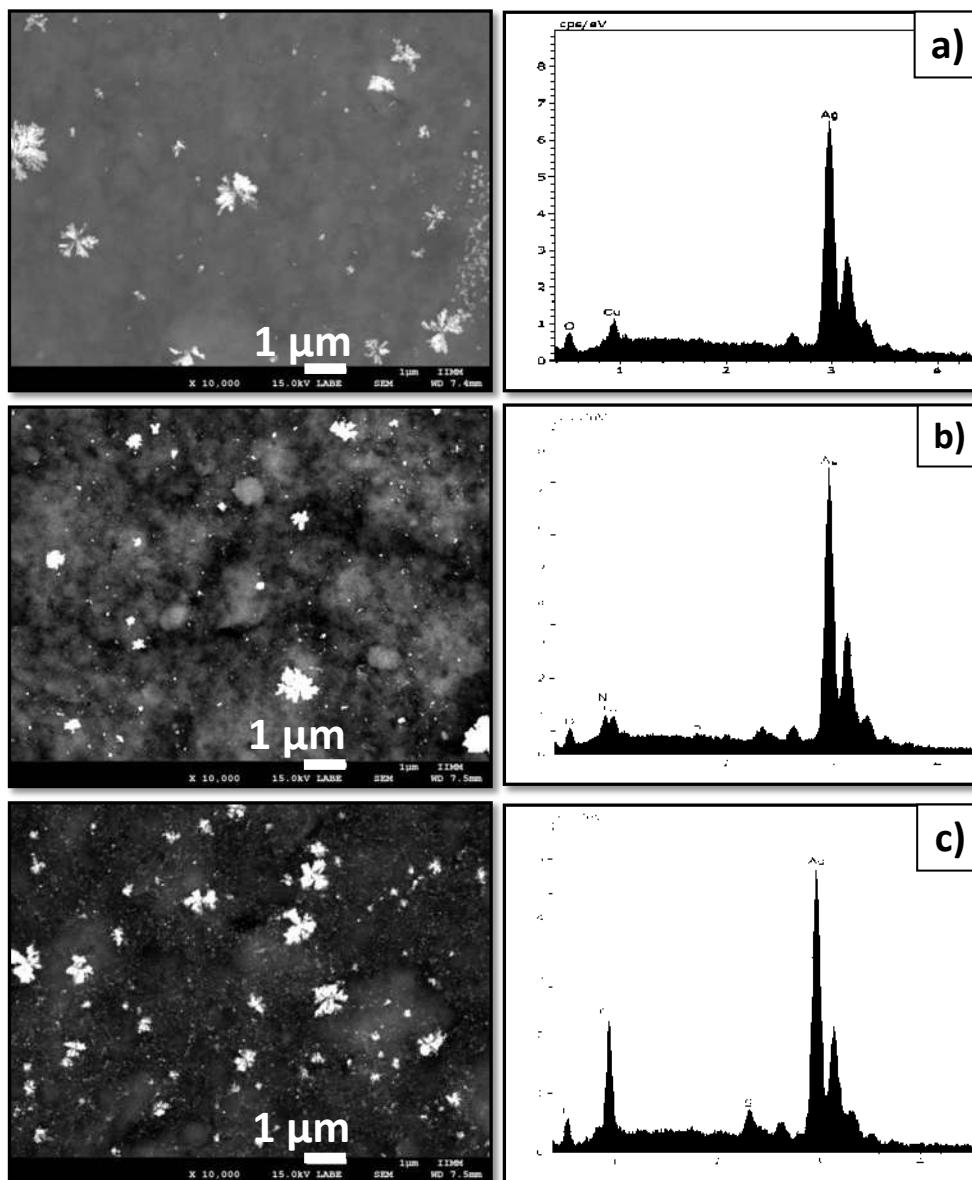


Figura 4.10 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con 1 gr de cola de caballo y 12 mM de AgNO_3 con sus respectivos análisis químicos por EDS, variando la temperatura de la sal, a) 50 °C, b) 60 °C y c) 70 °C.

Esas dimensiones pueden constatarse muy claramente de las imágenes a mayores ampliaciones en donde se logra apreciar el crecimiento dendrítico de la nanoestructura y los pétalos conformados de estructuras nanométricas, en la misma figura se aprecia que la composición química de estas nanoestructuras se encuentra basada en plata (4.11 c-d).

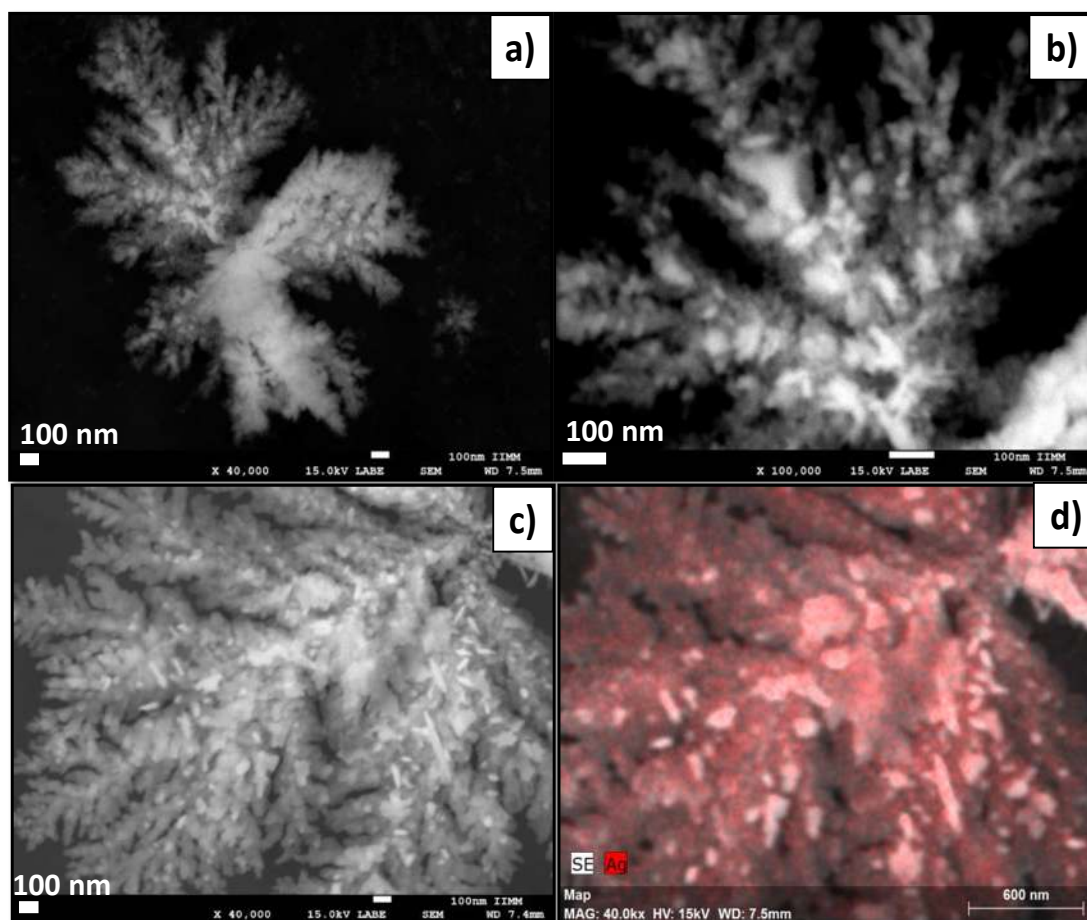


Figura 4.11 a-b) Imágenes de MEB de la muestra sintetizada por cola de caballo con 12 mM de AgNO_3 , c-d) mapeo químico.

Para conocer el efecto de la luz en la formación de las nanopartículas de plata fueron realizados dos experimentos los cuales fueron medidos mediante la técnica de Uv-vis, como se logra apreciar de la figura 4.12. En estos experimentos el extracto de cola de caballo fue mantenido en 1 gr de la planta y la concentración de la sal de plata fue de 9 mM de AgNO_3 con una relación 1:1, a un tiempo de reacción de 1 hora. Como se aprecia el efecto de la luz es fundamental ya que mientras no hay luz no existe pico del plasmón y cuando la luz influye en la reacción, un pico del plasmón

claramente es observado del espectro, por tanto, se puede acertar que la influencia de esta radiación es fundamental para una mejor eficiencia de la reacción, lo cual se podría atribuir a que las sustancias orgánicas de los tallos de cola de caballo son activadas mediante la energía luminosa, reconociendo los mecanismos biológicos de su función natural al estar expuestas a la luz solar.

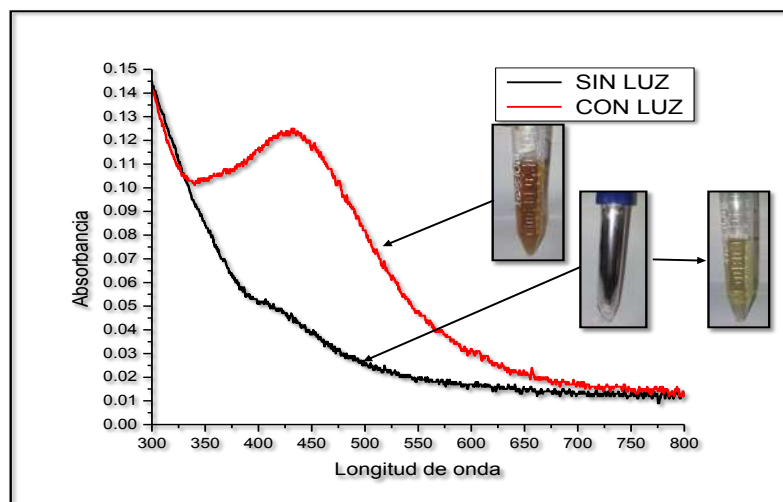


Figura 4.12 Espectro de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 1 g de la planta y 9 mM de AgNO_3 con una relación 1:1, reacción de 1 hora.

Por otro lado, la figura 4.13 muestra los resultados derivados de la influencia de la relación extracto-sal precursora en la formación de nanopartículas de metal. Como se logra apreciar el pico del plasmón correspondiente a la absorción de las nanopartículas de Ag se presenta ubicado en la longitud de onda aproximada de 450 nm, el cual se incrementa con la disminución de la sal empleada y además se desplaza hacia la derecha en la misma medida que la reacción se efectúa con mayor concentración de sal.

Estos resultados sugieren que en la medida que la concentración de sal se incrementa, no existe la suficiente cantidad de agente desaglomerante (saponinas) que permita estabilizar a las nanopartículas causando su crecimiento el cual está indicado por el desplazamiento del pico del plasmón hacia la longitudes de onda mayores y por la reducción en la intensidad del pico del plasmón, esto último debido al crecimiento de partículas más allá del rango nanométrico, en donde la técnica de Uv-vis no las puede detectar.

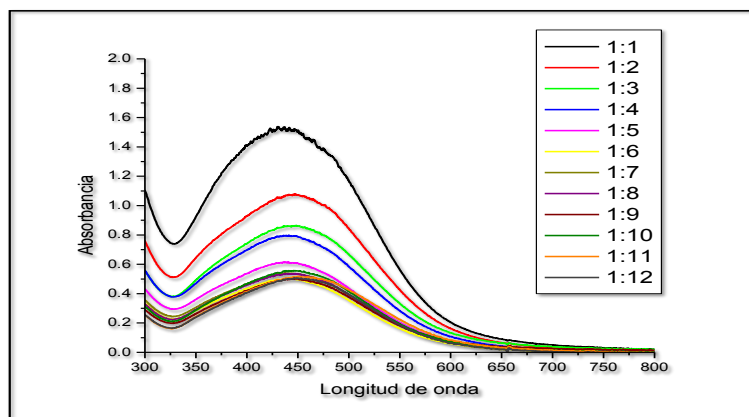


Figura 4.13 Espectro de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 1 gr de la planta y 9 mM de AgNO_3 variando la relación extracto/sal.

Los resultados son constatados mediante las observaciones derivadas de los estudios de MEB presentes en la figura 4.14 a, como se logra observar de estas imágenes las nanopartículas de metal se presentan aunque también partículas fuera del rango nanométrico son observadas.

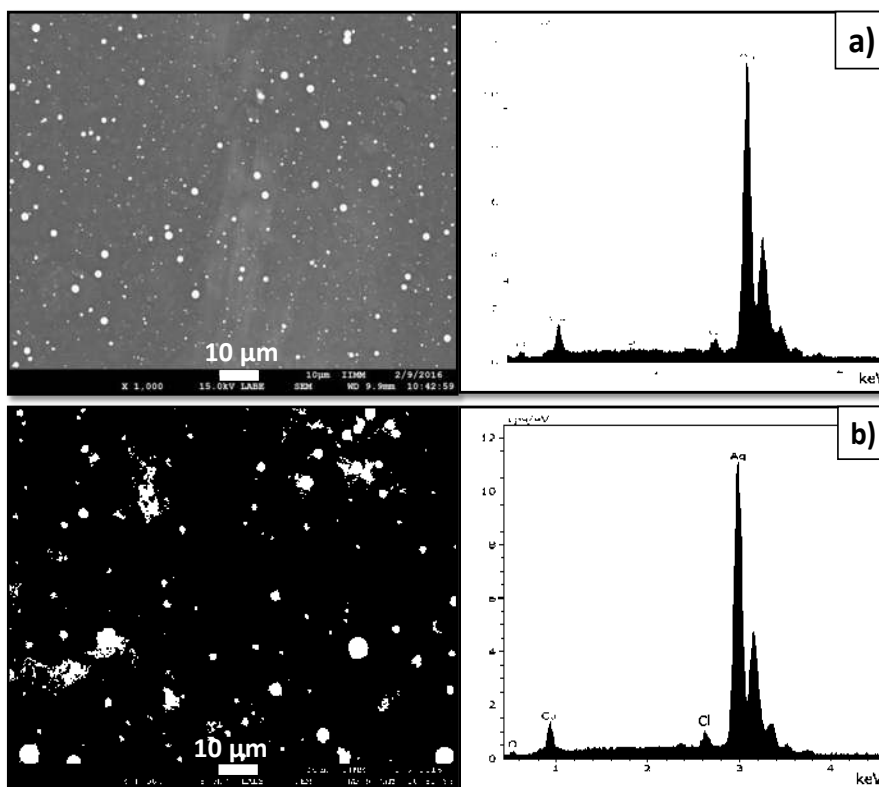


Figura 4.14 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con 1 gr de cola de caballo y 9 mM de AgNO_3 con sus respectivos análisis químicos por EDS, variando la relación extracto/sal, a) 1:6 y b) 1:12.

Los resultados derivados de los análisis químicos realizados mediante EDS se presentan en la figura 4.14 b, en donde claramente se observan los elementos del espécimen, la plata como el principal componente y el cloro proveniente del material orgánico, el cual suele reaccionar con la plata formando un cloruro insoluble.

Para corroborar lo que se ha discutido acerca de las sustancias reductoras y estabilizantes que tiene la planta Cola de caballo, se utilizó la técnica de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), la cual mide la absorción de la radiación por vibraciones fotónicas de alta frecuencia (en una región óptica), que son sensibles a la presencia de determinados grupos funcionales, como el hidroxilo (-OH), metilo (-CH₃), amino (-NH) y amido (-NH₂). Cada uno de estos grupos absorbe la radiación infrarroja a una frecuencia característica, que depende del medio [62]. Por lo tanto, se obtuvieron dos espectros de FT-IR, del extracto de la planta cola de caballo y otro con las nanopartículas de plata, que se presentan a continuación en la figura 4.15 a-b.

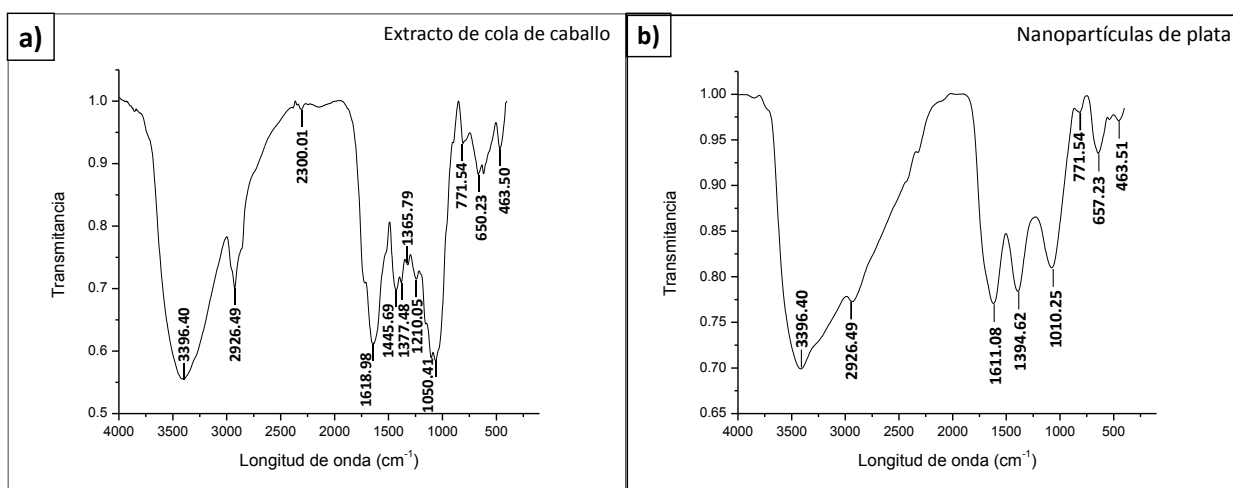


Figura 4.15 Espectros de FT-IR de a) extracto de la planta cola de caballo y b) nanopartículas de plata sintetizadas.

Estos resultados corresponden a la muestra en donde se emplea 1 g de planta en el extracto y 9 mM de AgNO₃. En la figura 4.15-a (extracto), la línea de absorción vibracional a los 3396.40 cm⁻¹, es característica del grupo fenólico OH, la banda a 2926.49 cm⁻¹ pertenece al grupo C=O presente en los flavonoides que están en el extracto de cola de caballo; en 2300.01cm⁻¹ corresponde al grupo alquilo, mientras que el valor de 1618.98 cm⁻¹ indica el grupo carbonil, que muestra la presencia de ácido carboxílico en el extracto. Las bandas agudas de absorción a 1445.69, 1377.48 y 1365

cm^{-1} son grupos C-C; la banda observada a 1210.05 cm^{-1} es característica de los fenoles y a 1050.41 cm^{-1} pertenece al grupo de los alcoholes, mientras que las bandas a 771 cm^{-1} , 650 y 463.50 cm^{-1} pertenecen respectivamente a los grupos de C-Cl, C-Br y C-I. Estos valores determinados coinciden con los ya reportados en otros trabajos [63, 64].

Se observa en el espectro de FTIR de la figura 4.15-b, el cual se obtiene posterior a la reacción de reducción, que se suprime la banda característica de los flavonoides (2926 cm^{-1}) al igual que las bandas: 2300.01 cm^{-1} (grupo alquilo), 1445.69 , 1377.48 y 1365.79 cm^{-1} (C-C), 1210.05 cm^{-1} (fenoles) y por último 771.54 cm^{-1} (C-Cl). A estos compuestos se les puede atribuir la reducción del AgNO_3 a Ag^0 . Sin embargo, los grupos funcionales que prevalecen, pueden encontrarse sobre la superficie de las nanopartículas de Ag atribuyéndoles su estabilización. Otra banda ubicada en 1394.62 cm^{-1} puede ser atribuida a un nitrato iónico [64], esto debido a la disociación del AgNO_3 en Ag^+ y $(\text{NO}_3)^-$ [65].

Por otro lado, la figura 4.16 a-b despliega dos micrografías obtenidas del microscopio electrónico de transmisión (MET) por la técnica de campo claro de las nanopartículas sintetizadas mediante el extracto de cola de caballo (1 g de planta) y nitrato de plata (9 mM), en las cuales se puede observar que se encuentran bien dispersas, indicando que para bajas concentraciones de la sal de plata empleada, la planta cola de caballo contiene las sustancias tenso-activas adecuadas que pueden estabilizar a las nanopartículas formadas.

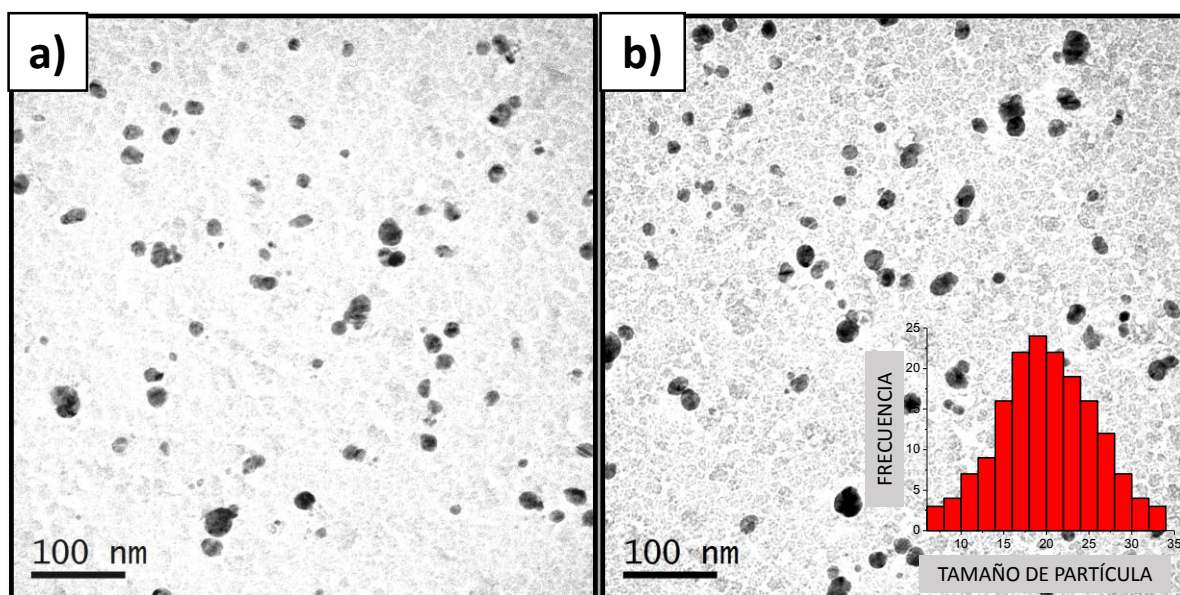


Figura 4.16 a-b) Imágenes de MET de las nanopartículas de Ag sintetizadas mediante cola de caballo.

Del histograma anexo se observa que los nanosólidos en general presentan un tamaño menor a los 50 nm encontrándose en un rango de 5-35 nm aunque la mayor frecuencia de tamaños fue encontrada en 20 nm. Estos resultados son comparables con Gengan y Col. [66] y Thirunavoukkarasu y Col. [67], los cuales emplearon las plantas *Albizia adianthifolia* y *Desmodium gangeticum L*, respectivamente, aunque son mejores que los obtenidos por Rajakumar y Col. [68] y Sankar y Col. [69] quienes obtienen tamaños superiores empleando las plantas de *Manilkara zapota* y *Origanum vulgare*.

La figura 4.17, muestra una serie de imágenes de microscopía electrónica de alta resolución (HRTEM), en donde se pueden apreciar diversos tamaños y formas de nanopartículas de Ag obtenidas. Por ejemplo, se observa en cuanto a la forma que esta puede ser facetada (a), esférica (b), elipsoidal (c), sin forma (d), triangular (e) y alargada (f). Una característica general en todas es su policristalinidad la cual es más remarcada en este caso en la partícula elipsoidal, la cual presenta un crecimiento polinuclear que es consecuencia de una alta velocidad de agregación, lo que sugiere que crecieron rápidamente aunque los reactivos se agotaron a la misma velocidad generando la maduración de Ostwald.

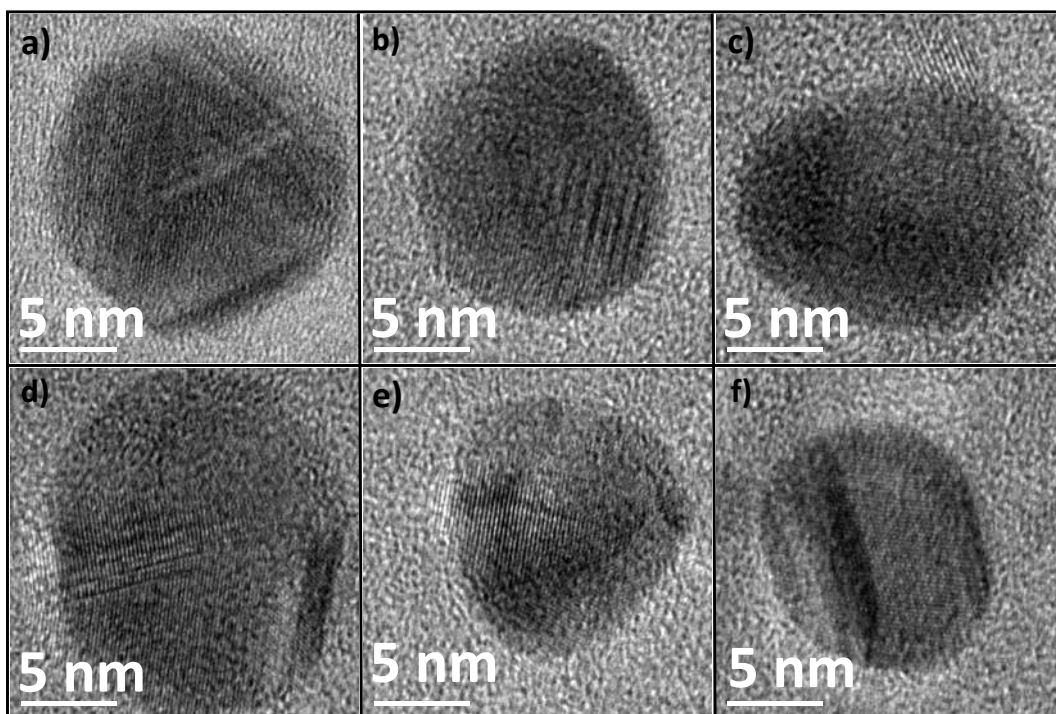


Figura 4.17 a-f) Imágenes de alta resolución de MET de nanopartículas sintetizadas con cola de caballo.

La figura 4.18-a muestra precisamente una nanopartícula policristalina en la cual se puede observar una resolución lineal que se presenta complemente al azar en varias segmentos, lo que sugiere que se formó a partir de la agrupación de varias partículas más pequeñas como resultado de la maduración de Ostwald que es una consecuencia del agotamiento de los reactivos. El comportamiento policristalino puede también ser observado mediante la trasformada rápida de Fourier (FFT) (figura 4.18-b), en donde varios anillos concéntricos se aprecia en vez de un comportamiento de puntos discreto a distancias correspondientes.

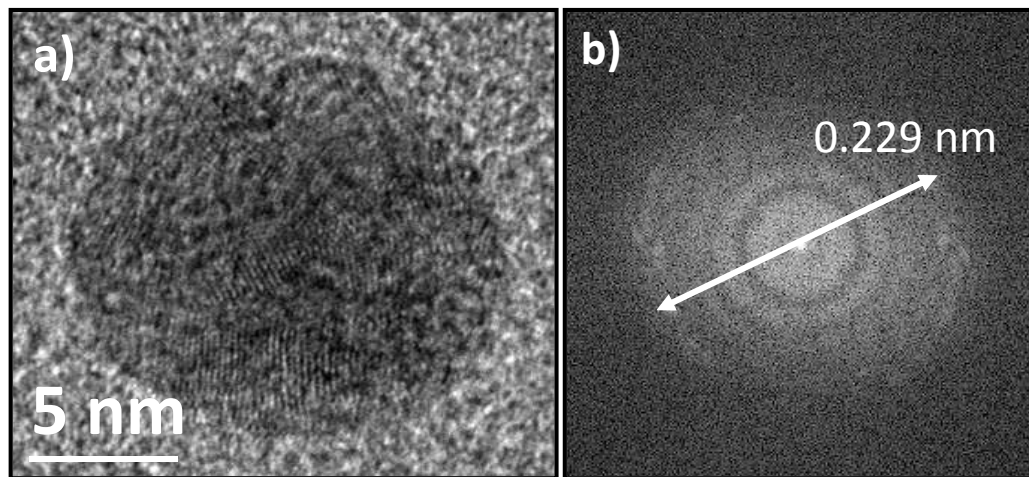


Figura 4.18 a) Imagen de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución, b) FFT de la nanopartícula.

Por otro lado fue analizada la estructura de algunas de las nanopartículas de Ag, como se puede observar de la imagen en la figura 4.19, en esta se muestran partículas de diversas formas, aunque una característica en ellas es la presencia de una simetría pseudo-hexagonal o hexagonal tal como se puede apreciar de la parte inferior en sus correspondientes patrones de FFT. Como se logra apreciar las distancias interplanares que dominan en las primeras dos imágenes (a-b), es idéntico en ambas mostrando pseudo-hexágonos en los cuales predominan las distancias 0.200 nm correspondientes a los planos (200) de la estructura fcc de la plata.

Estos resultados sugieren que en la medida que las partículas crezcan adoptarán una estructura similar hexagonal cuya simetría es normalmente observada en un cubo, consistente con la estructura de la plata, mientras que en la última de estas imágenes (c) se aprecia una partícula de estructura completamente hexagonal en donde las distancias interplanares corresponden a 0.23 nm

que pertenecen a los planos (111) de la misma estructura cúbica de plata. Estos resultados confirman en forma contundente los obtenidos mediante las anteriores técnicas, en donde únicamente los sólidos nanométricos de plata fueron sintetizados mediante cola de caballo.

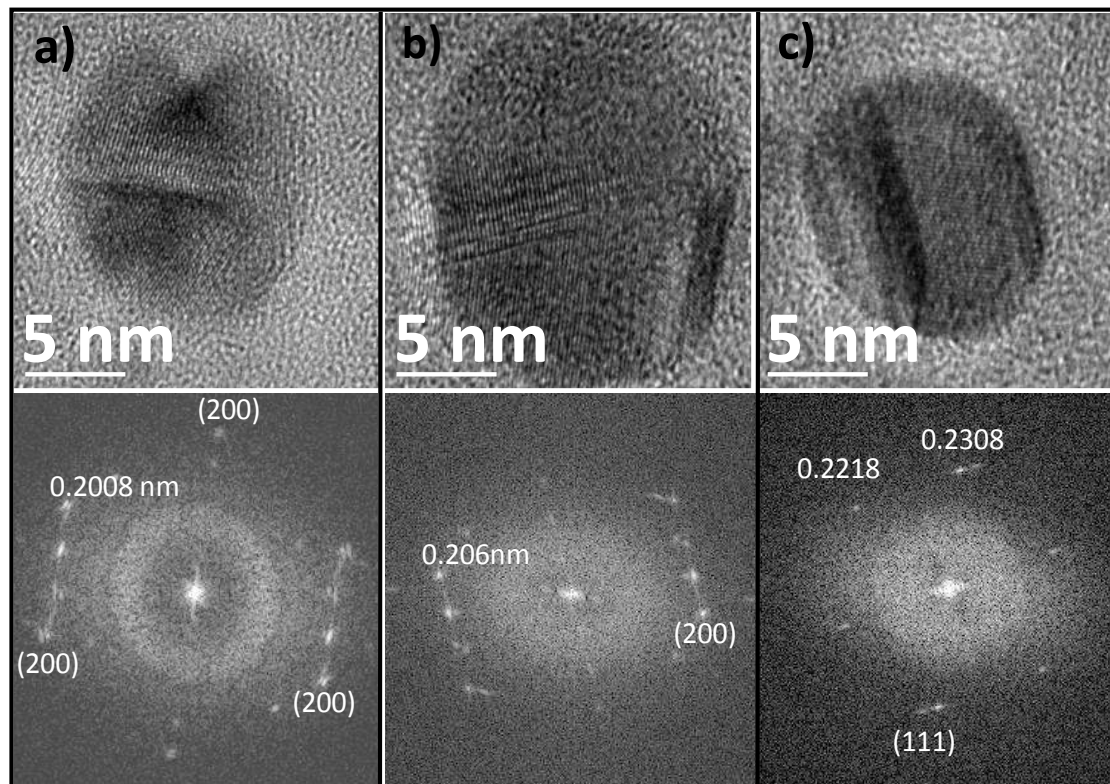


Figura 4.19 a-c) Imágenes de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución, nanopartículas con su respectiva FFT.

4.2 Resultados con la plata Gordolobo (*Gnaphalium conoideum kunth*)

Los resultados del cambio de color bajo la observación directa de la bio-reducción de los iones de nitrato de plata mediante el extracto de hojas de gordolobo se muestran en la figura 4.20. Estos resultados corresponden a la muestra de 1 g de planta en el extracto de gordolobo y 5 mM de nitrato de plata AgNO_3 utilizados. En esta imagen de izquierda a derecha se presentan los resultados como función del tiempo de reacción, ilustrando el primero de ellos el color generado por el simple té de gordolobo.

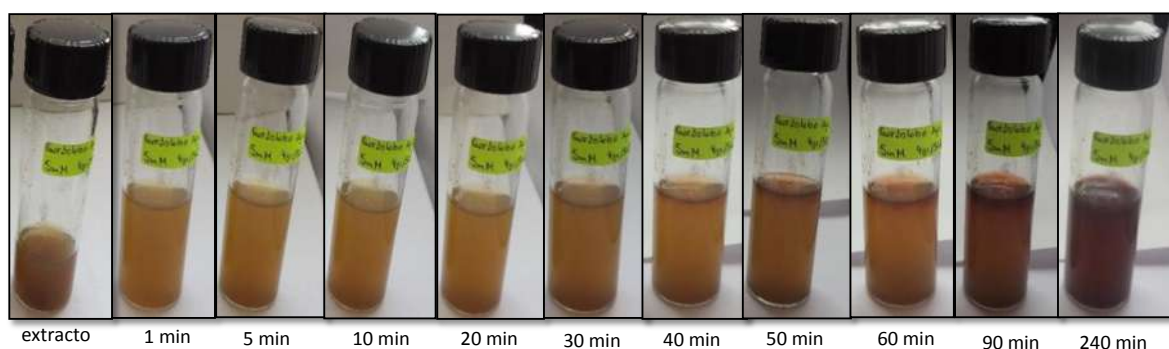


Figura 4.20 Cambio de color de las soluciones sintetizadas con extracto de gordolobo en función de tiempo.

Como se puede apreciar el cambio de coloración, indicativo de la síntesis de nanopartículas de plata, se obtiene hasta los 50 minutos de la reacción y finalmente se consolida cuando la misma alcanza los 90 min., aunque posteriormente sigue cambiando hasta llegar a los 240 min de reacción.

Estos cambios de coloración de amarillo a café oscuro, en principio indican que hay presencia de nanopartículas de Ag, como se ha mencionado anteriormente [30], tienen la propiedad de presentar el fenómeno de resonancia plasmónica, derivada de los electrones libres que poseen, muestran plasmón de resonancia en el espectro visible dando lugar a colores que no son observados en los mismos materiales a granel. Aproximadamente a la hora y media de reacción mediante el extracto de gordolobo se observa notoriamente el cambio. Para confirmar estos resultados acerca del cambio de coloración fueron medidas las muestras mediante la técnica de Uv-vis.

La figura 4.21 a-c, muestra los espectros de UV-Vis de los productos de reacción procesados mediante el extracto de gordolobo con 6, 8 y 10 mM de AgNO_3 variando los gramos de la planta en; a) 1, b) 1.5 y c) 2 g, en una relación de 1:1. Como se aprecia de estas figuras, hay poca evidencia

del pico de absorción del plasmón superficial (por sus siglas en inglés, SPR), se presenta tímidamente para las dos primeras concentraciones, mientras que aparece más definido para la última, en donde a medida que la cantidad de extracto se incrementa un aumento en la intensidad del pico del plasmón se obtiene como indicativo de una mayor densidad presente de nanopartículas de Ag. El pico del plasmón de resonancia superficial debe presentarse a los 425 nm, siendo este típico de las nanopartículas de plata [70].

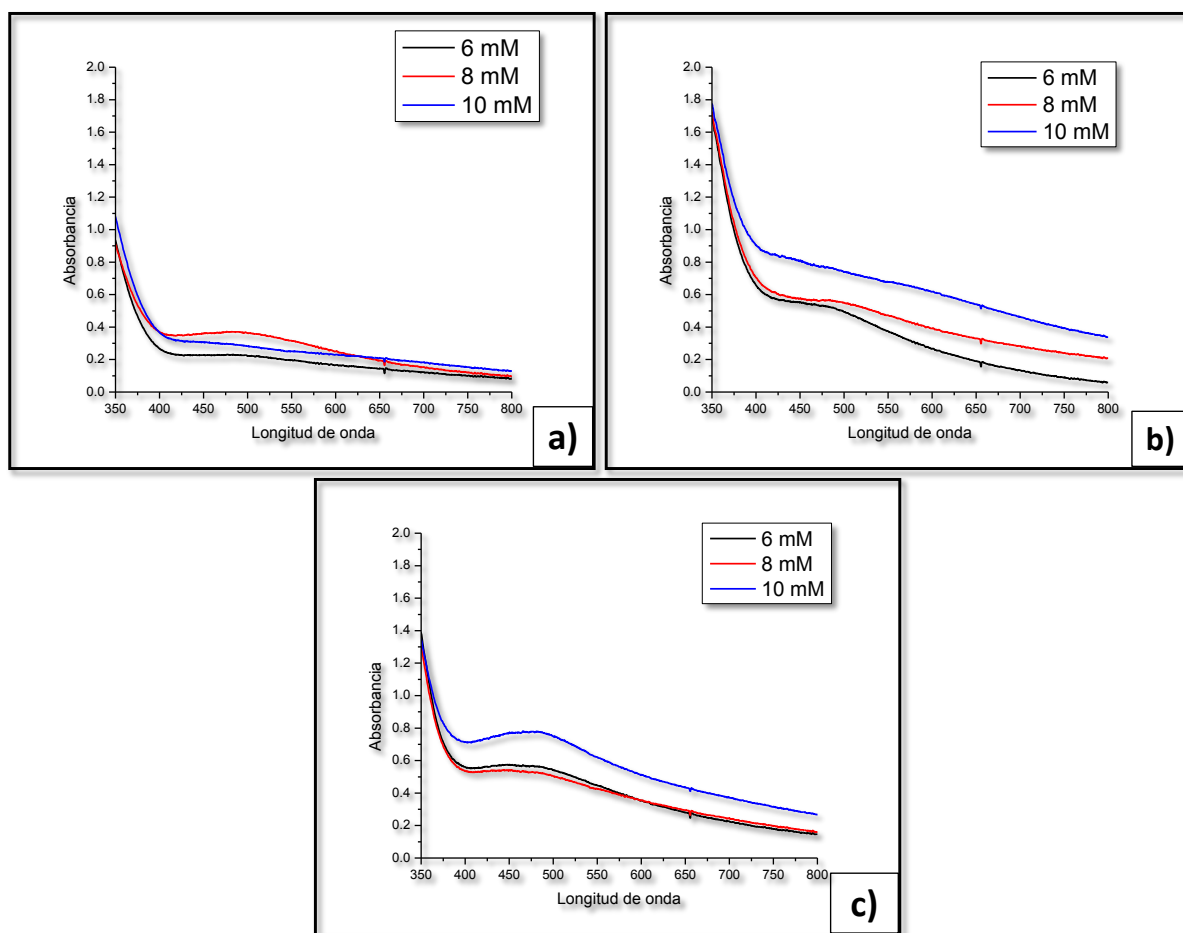


Figura 4.21 Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de gordolobo con 6, 8 y 10 mM de AgNO₃ variando los gramos de la planta a) 1 gr, b) 1.5 gr y c) 2 gr, con una relación 1:1.

Para confirmar los resultados anteriores un análisis de las muestras mediante microscopía electrónica de barrido fue efectuado y se presenta en la figura 4.22. En las dos primeras imágenes (inciso a y b) se puede confirmar a bajas y altas ampliificaciones la presencia de nanopartículas de Ag, en la composición de 1.5 g de extracto y 8 mM de sal empleadas, confirmando que, aunque el

pico correspondiente al plasmón superficial en Uv-vis de las nanopartículas no es claramente distinguido, por suciedad de las nanopartículas que están embebidas en el orgánico, a partir de este análisis de microscopía queda demostrando que las nanopartículas de Ag fueron sintetizadas por medio del extracto del gordolobo. El inciso c de esta figura también confirma que los sólidos brillantes notados en las figuras anteriores corresponden a una composición basada en plata.

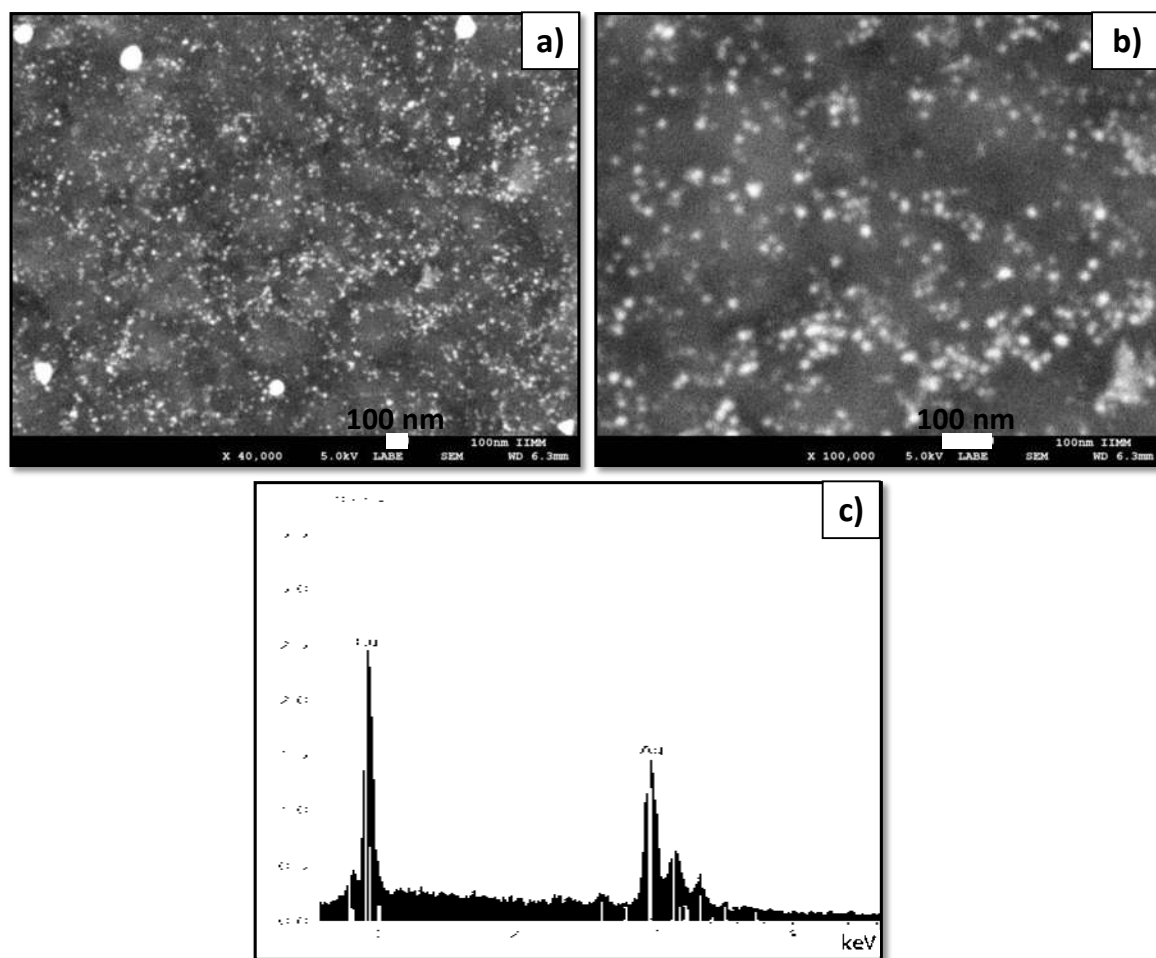


Figura 4.22 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con 1.5 gr de gordolobo y 8 mM, a una relación 1:1, a) 40,000 X, b) 100,000 X y c) análisis químico por EDS.

También fueron realizados los análisis de MEB para la muestra de composición 2 g de planta en el extracto y 8 mM de la sal empleada, se indica en la figura 4.23. Como se observa, los resultados son muy similares con respecto a la gráfica de Uv-vis del espécimen anterior, en donde, un pico tímido de Uv-vis se presenta dejando todavía la duda de la síntesis de este material, aunque al observar estas imágenes una evidencia contundente de la formación de los nanosólidos de plata se

obtiene. De igual forma, el inciso c de esta figura comprueba que esos sólidos son del elemento plata, mediante los estudios de EDS llevados a cabo.

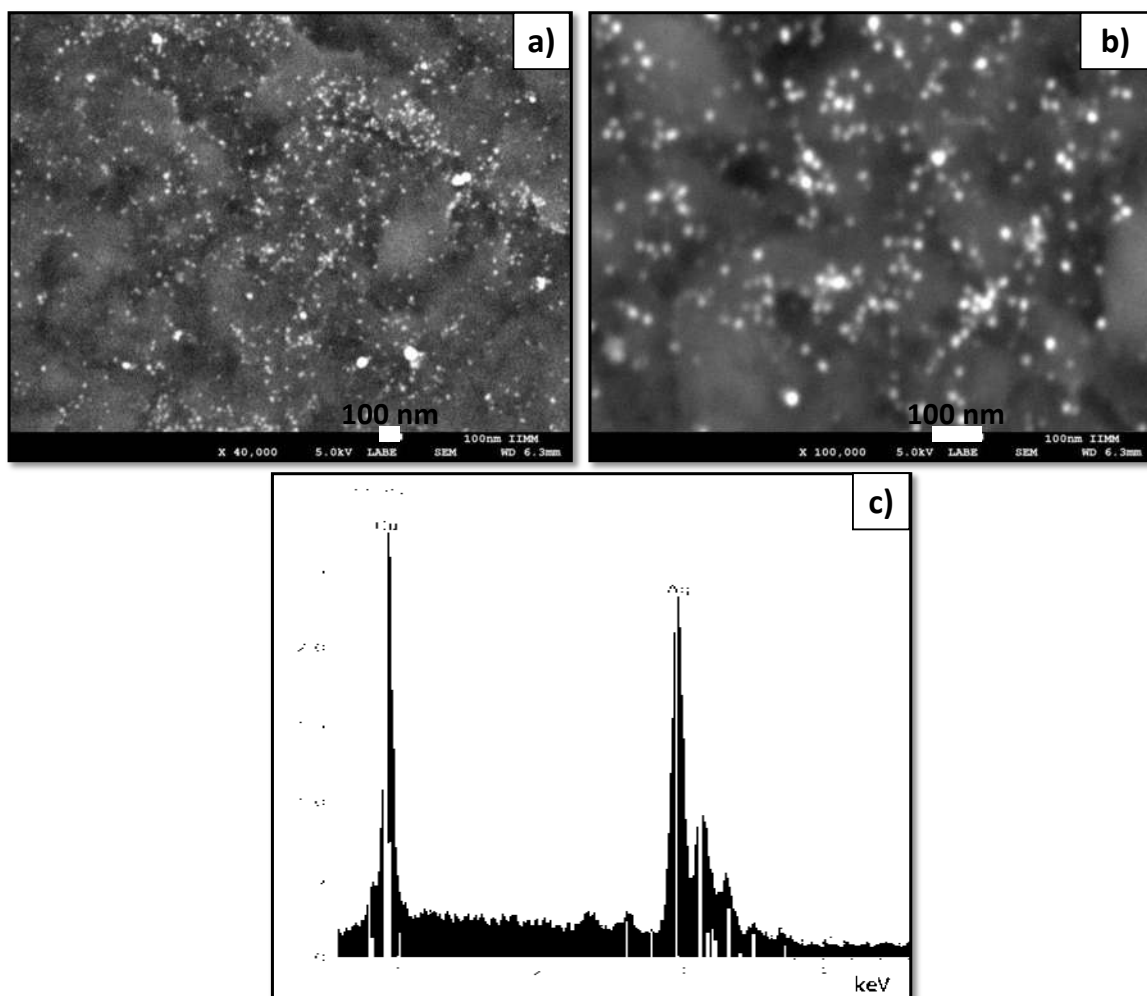


Figura 4.23 Imágenes de SEM de muestras sintetizadas con 2 gr de gordolobo y 8 mM, a una relación 1:1, a) 40,000 X, b) 100,000 X y c) análisis químico por EDS.

Con la finalidad de mejorar los resultados anteriores la relación volumétrica del extracto a sal fue incrementada en 1:2 respectivamente. La figura 4.24 confirma cómo a medida que la cantidad de sal se incrementa, la intensidad del pico del plasmón se obtiene indicando una mayor cantidad de nanopartículas de plata. El máximo del pico del plasmón se presenta a los 462 nm que es típico de la resonancia en la superficie de los electrones de plata, siendo este un fenómeno típico en nanopartículas de metal como ya se mencionó anteriormente. De estos últimos espectros se observa

también que el pico del plasmón superficial es ancho, lo que sugiere que los productos obtenidos contienen una polidispersividad.

Las imágenes registradas mediante microscopía electrónica demuestran los hechos anteriores (figura 4.25) en donde, las imágenes a bajas y altas ampliaciones de los productos obtenidos, señalan una alta densidad de nanopartículas presentes, aunque de igual forma, se aprecian partículas fuera del rango nanométrico a las que se les puede atribuir la forma del pico de Uv-vis como meseta que se presenta en algunas composiciones estudiadas.

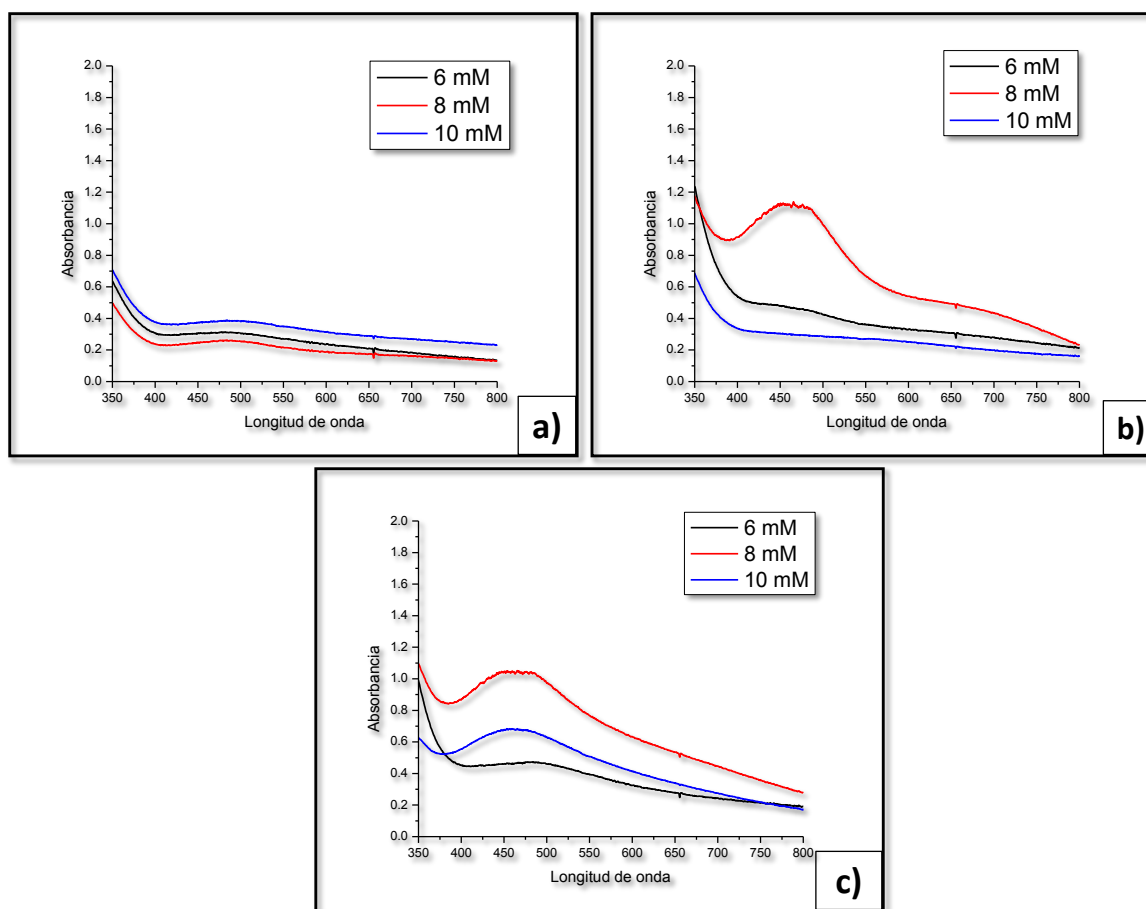


Figura 4.24 Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de gordolobo con 6, 8 y 10 mM de AgNO₃ variando los gramos de la planta a) 1 gr, b) 1.5 gr y c) 2 gr, con una relación 1:2.

La figura 4.25-d representa el análisis químico efectuado en forma puntual de donde se señala que los sólidos reducidos corresponden al elemento plata. El elemento cobre aparece dado que es constituyente del portamuestras. Estos resultados indican que para concentraciones menores de sal,

la velocidad de la reacción disminuye, lo que se presenta de acuerdo a la termodinámica del sistema en donde a medida que la concentración de los reactivos se incrementa la reacción de bio-reducción se efectuará con mayor posibilidad, incrementando el número de nanopartículas de Ag formadas.

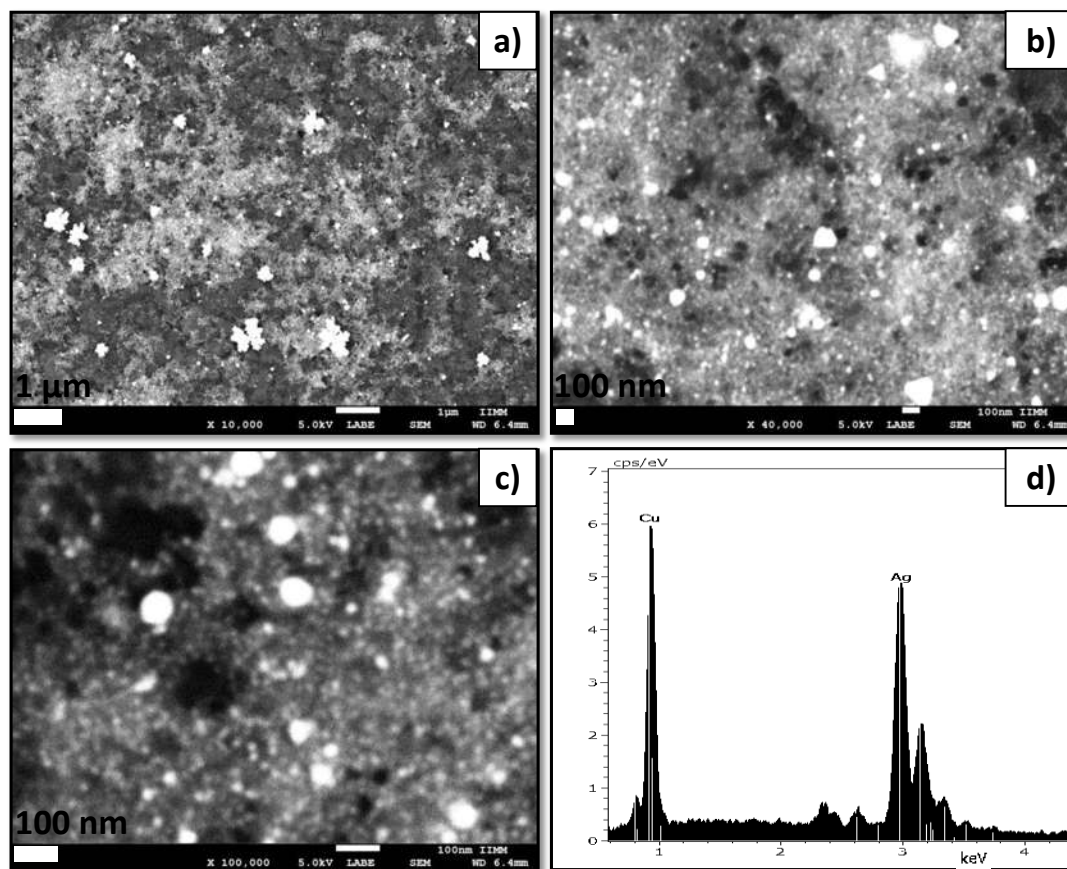


Figura 4.25 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con 1.5 gr de gordolobo y 8 mM, a una relación 1:2, a) 10,000 X, b) 40,000 X y c) 100,000 X y d) análisis químico por EDS.

No obstante, estos resultados también indican que aunque en el caso de este extracto, en general nanopartículas de metal se encuentran bien dispersas y sin casos de agrupación, aún la planta carece de suficientes sustancias estabilizantes dado el crecimiento de nanoestructuras fuera del rango nanométrico hacia mayores concentraciones de la sal empleada.

Dado que los resultados fueron mejores en cuanto al incremento de la relación extracto a sal, esto motivó a realizar algunos experimentos con relaciones mayores a las anteriormente manejadas, además se debe recordar que los resultados en cola de caballo que estuvieron influenciados por la energía solar reaccionaron con una mayor velocidad que las muestras que no tuvieron influencia

de luz, por lo que también se procedió a realizar comparaciones con luz y sin ella para la diversidad de relaciones, las cuales indican el camino para mejorar los resultados ya obtenidos. La figura 4.26-a presenta los espectros de Uv-vis, de las nanopartículas de Ag, sintetizadas en la ausencia de luz solar para diferentes relaciones del extracto del té de gordolobo a sal precursora. Se aprecia que los picos se encuentran muy disminuidos en intensidad, que en todo caso se incrementa con el incremento de la relación extracto/sal, mientras que en las muestras que se someten a la luz (figura 4.26-b), el pico del plasmón superficial se observa claramente, el cual presenta altibajos como función de la relación extracto/sal, por ejemplo, hacia bajas relaciones los picos del SPR se encuentran bien formados y se incrementa su intensidad hasta llegar a la relación de 1:3, no obstante para esta relación el pico se deforma posiblemente debido a la presencia de otro pico hacia longitudes de onda más grandes.

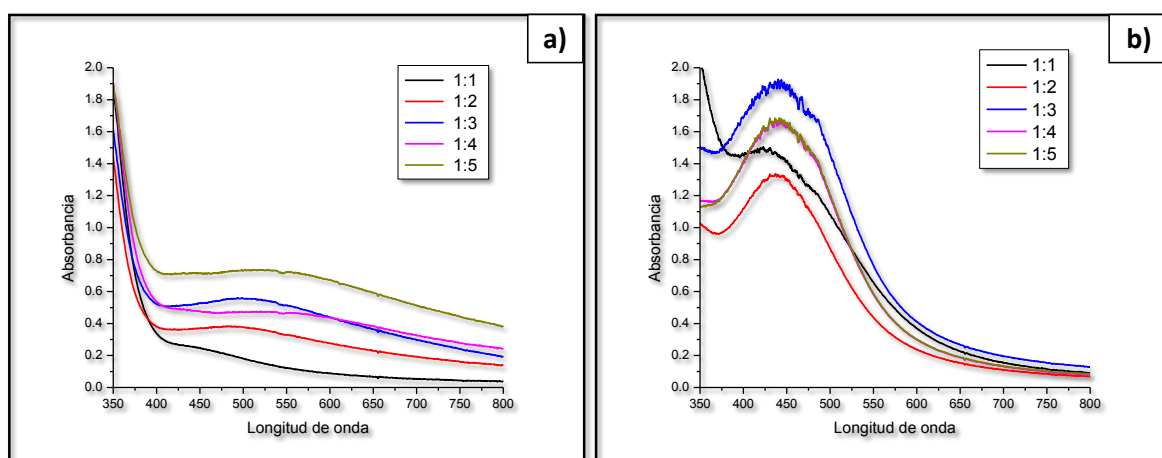


Figura 4.26 Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con 1.5 gr de gordolobo y 6 mM a diferentes relaciones extracto/sal, a) en ausencia de luz y b) con la influencia de la luz.

Para las dos siguientes relaciones (1:4 y 1:5), la intensidad del pico disminuye, lo cual da una idea de la cantidad máxima del agente surfactante empleado con la que cuenta la planta para estabilizar a las nanopartículas, ya que la disminución del pico se refiere a que mucha sal se ha reducido pero no se ha estabilizado, lo que conlleva a un crecimiento insostenible de las partículas saliendo del rango nanométrico en donde la técnica de Uv-vis no puede detectarlas, lo que causa la disminución en la intensidad del pico del plasmón superficial.

Los resultados derivados de las observaciones en microscopía de barrido pueden confirmar los obtenidos mediante la técnica de Uv-vis, tal y como se puede apreciar de la figura 4.27. La primera

serie de imágenes (4.27-a) corresponde a la relación 1:2 extracto-sal, en donde se muestra en la primera de estas una imagen a relativas bajas amplificaciones indicando la presencia de una buena densidad de nanopartículas, las cuales pueden ser mejor observadas en la imagen de a lado que está registrada a altas amplificaciones. En este mismo inciso de esta figura se indica la composición química elemental adquirida mediante EDS, en donde se observa que los sólidos se componen del elemento plata, el cobre proviene del portamuestras utilizado y el oxígeno es asociado a los compuestos orgánicos derivados de la planta, estos resultados coinciden muy bien con la gráfica de Uv-vis ilustrada en la figura 4.26-b, la cual presenta, la mejor forma en cuanto a intensidad, ancho y posición, en comparación a los demás espectros.

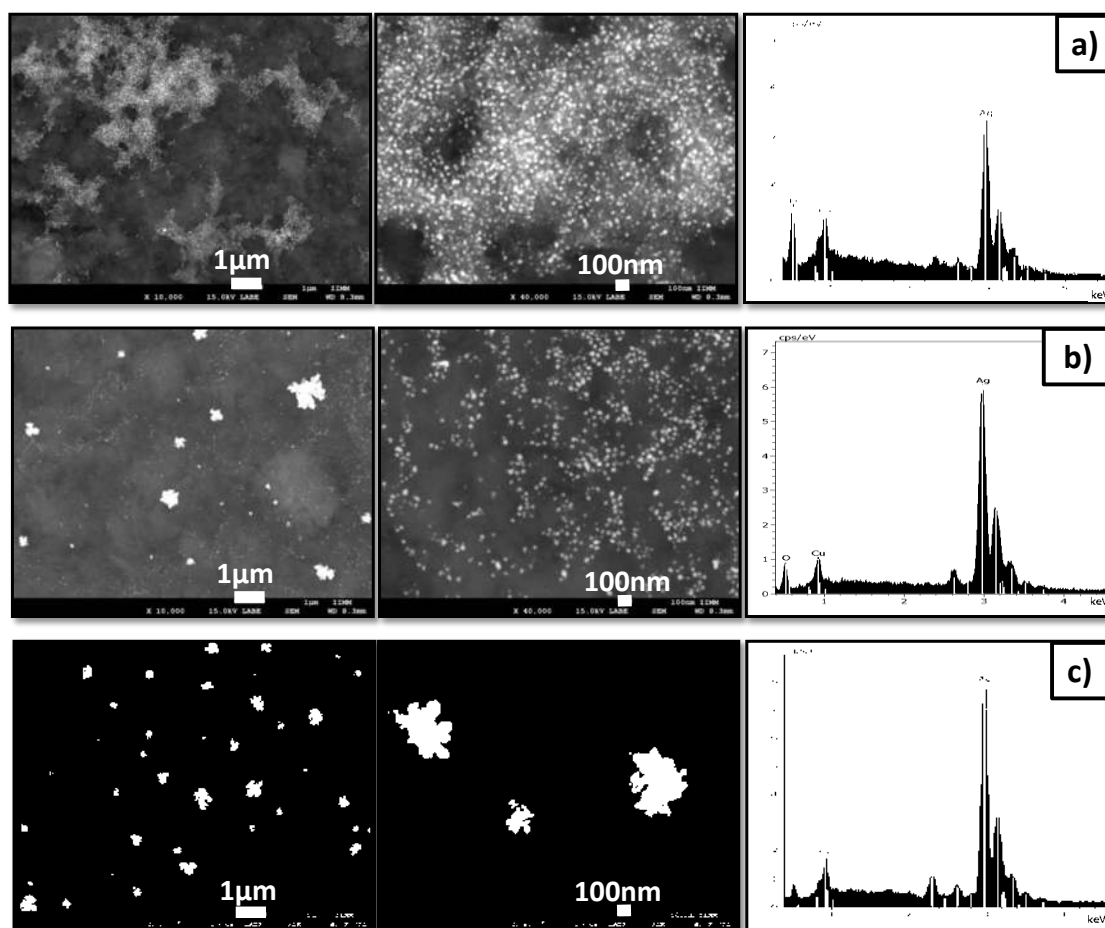


Figura 4.27 Micrografías de MEB de nanopartículas de Ag sintetizadas con 1.5 gr de gordolobo y 6 mM a diferentes relaciones extracto/sal con su respectivo EDS con la influencia de la luz, a) 1:2, b) 1:3 y c) 1:4.

La figura 4.27-b, resume los resultados derivados del uso de la relación 1:3 extracto-sal, como se logra ver la cantidad de nanopartículas es abundante, aunque, se aprecian estructuras en forma de flor que han crecido más allá del rango nanométrico, es importante notar que los pétalos de esta estructura pueden ser nanométricos. La presencia de estas partículas grandes esclarece el por qué el pico de Uv-vis mostrado en la figura 4.26-b correspondiente a esta composición, existe un doble pico, el primero se atribuye a las nanopartículas y el segundo al crecimiento de esas flores.

El análisis químico por EDS (figura 4.27-b) mostró de igual forma los mismos elementos que en la composición anterior pero siendo el principal la plata, derivada de la bio-reducción de la sal nitrato correspondiente. Finalmente, en la figura 4.27-c, se ilustran las imágenes registradas para la relación 1:4, en donde es claro notar la abundante cantidad de flores que se obtienen en esta composición, explicando porque el espectro de Uv-vis muestra una intensidad disminuida del pico del plasmón, esto porque existe una buena reducción de la sal pero sigue creciendo en forma no controlada o estabilizada que es por un surfactante específico inexistente o insuficiente en la planta de gordolobo, lo que permite que los iones reducidos a plata metálica, se sigan agregando y se van alejándose del rango de tamaño esperado, por otro lado, se logra un ensamble de pequeñas partículas en la superficie, las cuales se presentan en forma individual con dimensiones nanométricas, resultando en agregados de autoensamblaje interesantes.

Las dimensiones de estos agregados van desde las 400 a 800 nm, y se definen por crecimientos direccionados o anisotrópicos de pequeños cristales, que siguen las direcciones cristalográficas de acuerdo a la clase cristalina. Aún en el fondo de estas nanoestructuras se logran notar nanopartículas de plata las cuales coexisten con esos agregados complejos, lo que quiere decir que estas se encuentran segregadas o lejos de la posibilidad de crecer como agregados. Esto nuevamente indica que en esas partículas no agregadas se consumió el agente desaglomerante presente en el extracto de la planta de gordolobo. La figura 4.27-c muestra el análisis correspondiente generado por EDS, en donde se logra apreciar a la plata como el elemento principal.

Para comprobar este resultado, de que efectivamente se trata de plata pura, fueron realizados experimentos mediante la técnica de difracción de rayos X a una de las muestras que se mencionaron anteriormente (1.5 g de planta en el extracto y 6 mM de AgNO_3), se muestra en la figura 4.28. Se aprecia que los picos correspondientes a los planos de difracción (111), (200), (220) y (311) se presentan confirmando la reducción de iones de plata a un sólido cristalino (JCPDS no.

01-089-3722) de sistema cúbico y red de Bravais fcc, sin embargo, se aprecian también del difractograma intensas reflexiones que son indexadas con el compuesto AgCl (JCPDS no. 00-031-1238), este resultado es similar al de cola de caballo, donde también se presenta una contaminación de este mismo sólido, lo que indica a presencia de cloro en la planta y al igual que con la planta Cola de caballo, se presentaron compuestos derivados de la planta.

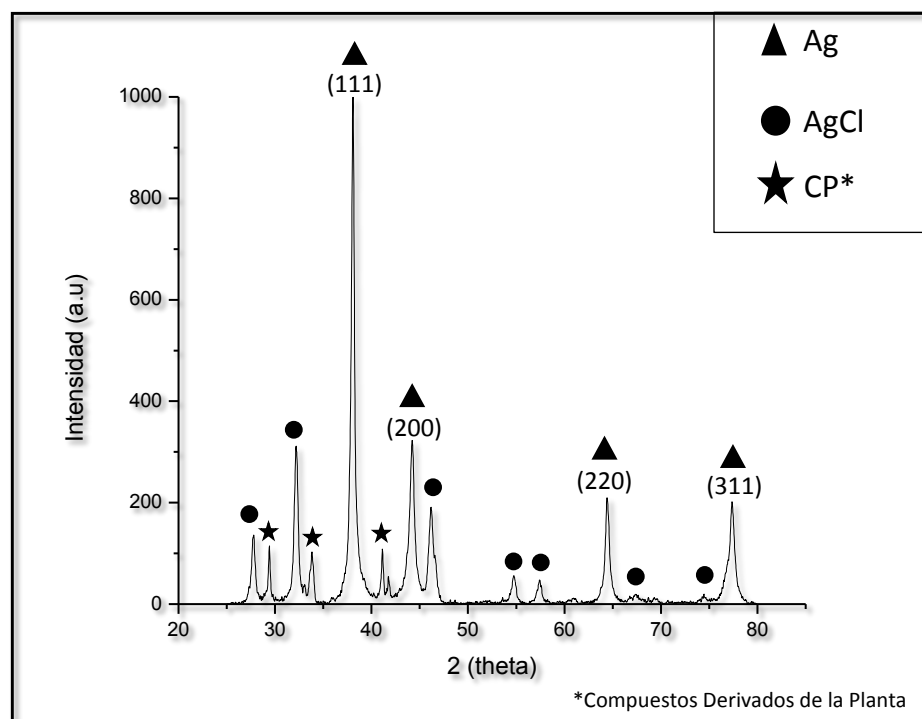


Figura 4.28 Patrón de difracción de rayos X de nanopartículas de Ag sintetizadas con extracto de gordolobo. Los planos (1 1 1), (2 0 0), (220) y (311) corresponde a la difracción de rayos X estándar del cristal de Ag.

Por otro lado se realizaron pruebas de espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), para identificar los grupos funcionales presentes en la planta que están actuando en la reducción de los iones de plata, la figura 4.29 muestra los espectros a) del extracto de gordolobo y b) nanopartículas de plata. Las bandas de absorción que se presentan en el primer espectro (inciso a) son: 3398.64 cm^{-1} (OH), 2925.59 cm^{-1} (C=O), 2309.09 cm^{-1} (grupo alquilo), 1611.08 cm^{-1} (C=O), 1395.94 cm^{-1} (C-C), 1271.43 cm^{-1} (C-N, aminas), 1114.65 cm^{-1} (C-O), 1062.43 cm^{-1} (C-N), 773.77 cm^{-1} (C-Cl) y 614.43 cm^{-1} (C-I). Se observa en la figura 4.29-b que después de la reacción de reducción se suprimen las bandas de absorción en 1611.08 , 1271.43 y 773.77 cm^{-1} que

corresponden a los grupos C=O, C-N y C-Cl, en donde, a los dos primeros se les considera como los responsables de la formación de las nanopartículas de Ag, mientras que, al último se le atribuye la formación del cloruro de plata. También se puede apreciar que después de la síntesis aparece una banda a 1391.87 cm^{-1} , característico del ion nitrato. Los grupos que se mantienen pueden ser los responsables de la estabilización de las partículas.

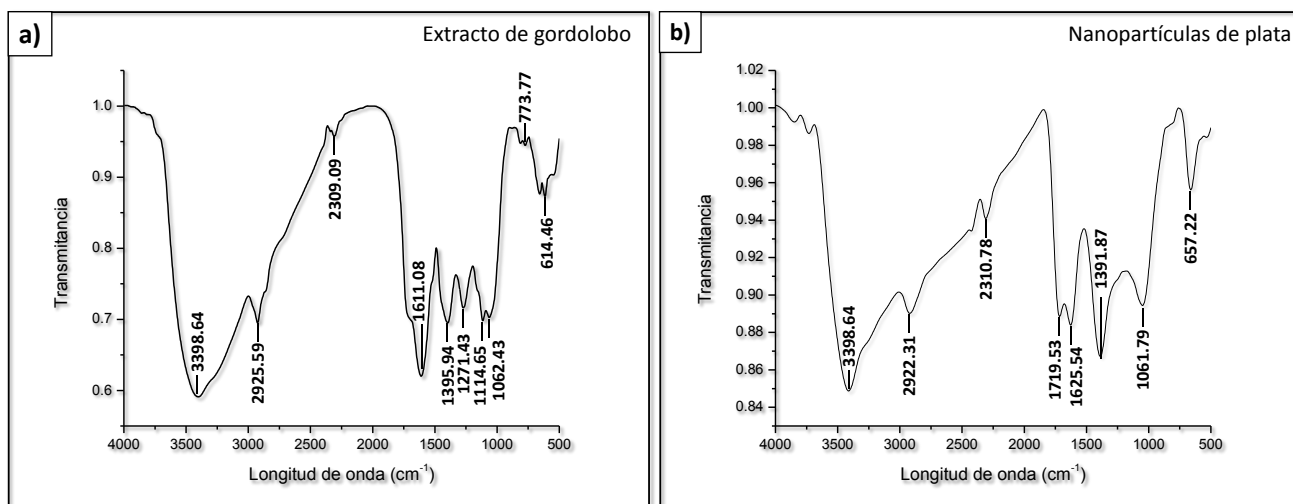


Figura 4.29 Espectros de FT-IR de a) extracto de la planta gordolobo y b) nanopartículas de plata sintetizadas.

Otra de las técnicas empleadas para este estudio se muestran en la figura 4.30 a-b, en la cual se observan un par de imágenes de microscopio electrónico de transmisión (MET) obtenidas mediante la técnica de campo claro en donde se aprecian las nanopartículas sintetizadas mediante el extracto de gordolobo y el nitrato de plata como sal precursora.

Como se observa las partículas se encuentran bien dispersas lo que sugiere que para estas concentraciones la planta contiene las sustancias surfactantes adecuadas para la estabilización y dispersión de las nanopartículas. Como se logra observar en el histograma el rango de tamaño de las partículas fue de 5 a 40 nm, aunque la mayoría de las nanopartículas se encuentran en un rango de 10 a 25 nm, estos resultados pueden compararse con los obtenidos por Ashokkumar y Col. [71] empleando la planta *Gloriosa superba L*, mientras que son mejores a los obtenidos por Vivek y Col. [72] en donde algunas de sus partículas se encuentran incluso fuera del rango de la nanoescala.

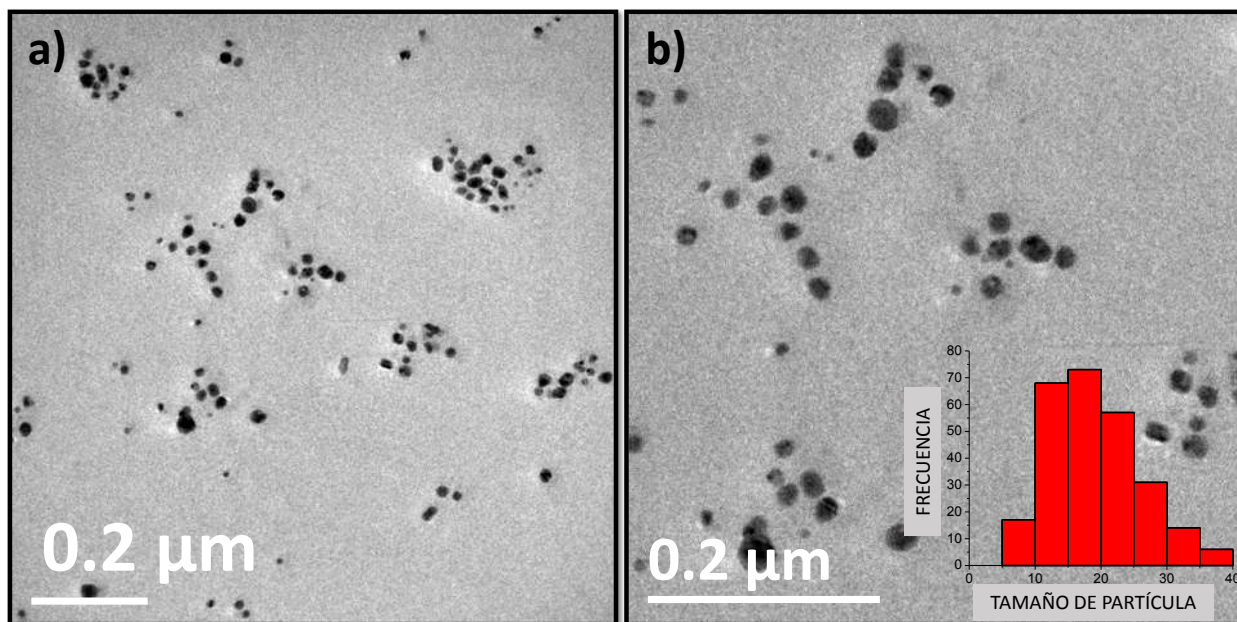


Figura 4.30 a-b) Imágenes de MET de campo claro y su histograma.

La figura 4.31, muestra varios tamaños de nanopartículas registradas mediante la técnica de alta resolución, en donde se aprecia desde una partícula que escasamente rebasa los 20 nm hasta una que solo cuenta con 5 nm. Es interesante observar de esta serie de imágenes, como diversas formas y estructuras se presentan en función del tamaño, por ejemplo, la partícula más pequeña es cuasiesférica mientras que las partículas entre 12 y 20 nm son partículas sin forma bien definida, rebasando esos tamaños, las partículas comienzan a tomar una forma pseudo-hexagonal.

La estructura va bien relacionada en las mismas, por ejemplo, la más pequeña es una partícula del tipo fcc, mientras que las que se encuentran entre 12 y 20 nm, son partículas policristalinas formadas por agregados de partículas tal vez de 5 nm o menores, en donde su origen se encuentra en el crecimiento en la superficie polinuclear por causa del agotamiento de los reactivos y una velocidad rápida de agregación de las mismas, lo que indica bajos contenidos de sustancias tensoactivas para recubrir tal cantidad de superficie hasta que estas encuentran un equilibrio entre el tamaño y esa cantidad de tensoactivo.

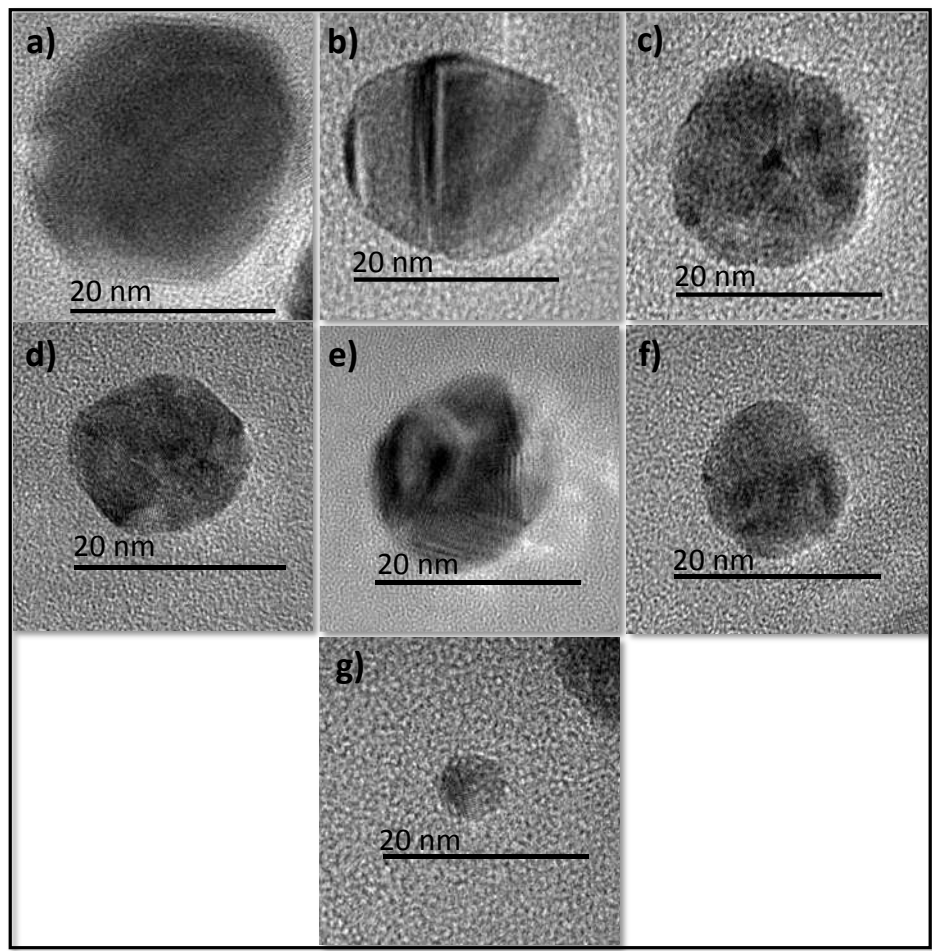


Figura 4.31 a-g) Imágenes de MET de alta resolución, nanopartículas de diversas morfologías.

4.3 Resultados de la planta Pingüica (*Arctostaphylos pungens kunth*)

4.3.1 Experimentación con hojas

A continuación se presentan los resultados obtenidos de la biosíntesis de nanopartículas de plata utilizando las hojas de la planta pingüica (*Arctostaphylos pungens kunth*) con diversas concentraciones de extracto y de sal precursora sin el efecto de la luz. Un cambio característico de color en las muestras, fue visualmente observado en la solución de reacción entre el nitrato de plata y el extracto acuoso de pingüica (*Arctostaphylos pungens kunth*). El típico de cambio de color fue de amarillo a café oscuro apreciado después de 20 minutos de reacción (figura 4.32) lo que nos permite en primera instancia, identificar la obtención de nanopartículas de plata [73]. Como se observa, el cambio de color se presenta a muy poco tiempo, comparado con las plantas Cola de caballo y Gordolobo, existe una mayor velocidad de reacción de reducción que puede estar siendo afectada principalmente por los componentes concentrados en esta planta.

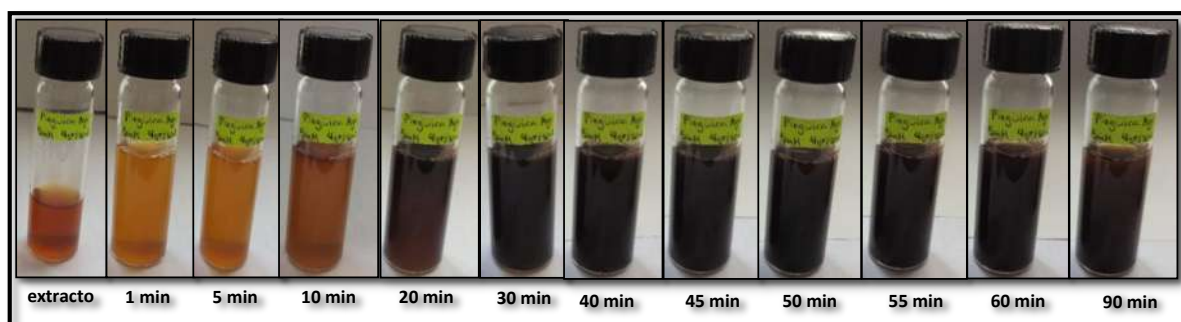


Figura 4.32 Cambio de color de las soluciones sintetizadas con extracto de pingüica en función de tiempo.

Para constatar estos resultados analizados mediante observación directa fue empleada la técnica de Uv-vis Las figuras 4.33 y 4.34 muestran los espectros de UV-Vis de las soluciones después de la reacción para obtener nanopartículas de Ag mediante hojas de pingüica con 6, 8 y 10 mM de AgNO_3 variando los gramos de la planta en: a) 2 g, b) 3 g y c) 4 g, con una relación 1:1 y 1:2 respectivamente, como se puede apreciar no hay evidencia de algún pico característico que corresponda a las nanopartículas de Ag formadas, por tanto, estas condiciones no son adecuadas para la formación de nanopartículas de plata.

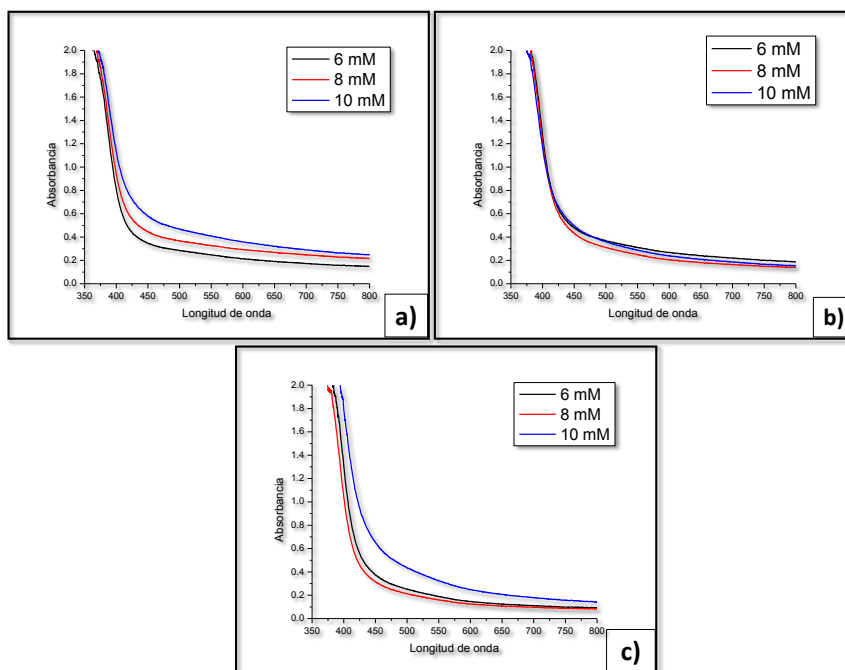


Figura 4.33 Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de hojas de pingüica con 6, 8 y 10 mM de AgNO₃ variando los gramos de la planta a) 2gr, b) 3 gr y c) 4 gr, con una relación 1:1.

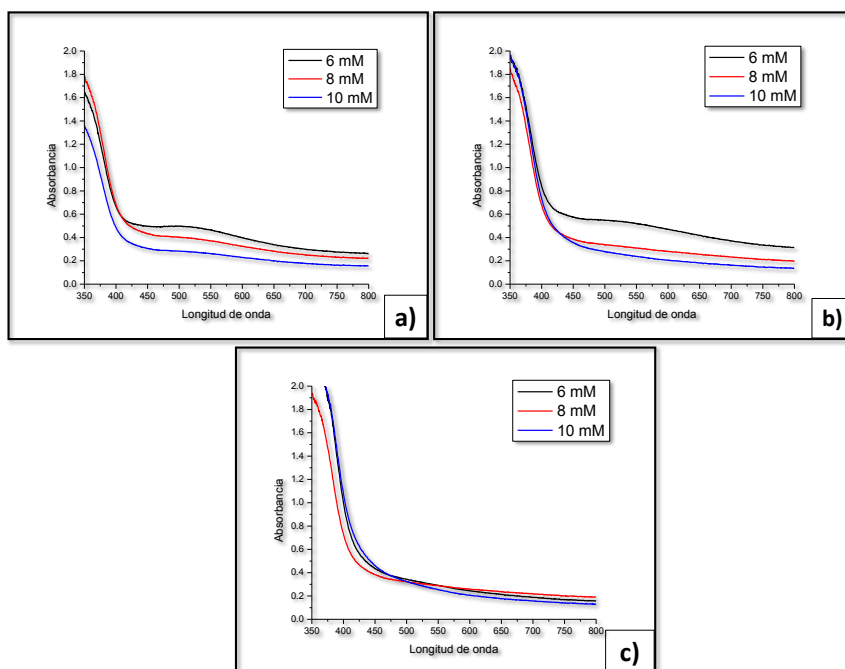


Figura 4.34 Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de hojas de pingüica con 6, 8 y 10 mM de AgNO₃ variando los gramos de la planta a) 2gr, b) 3 gr y c) 4 gr, con una relación 1:2.

Es interesante hacer notar que aunque los resultados mediante esa técnica no son halagadores, al realizar los análisis mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) se logran observar algunas nanopartículas de Ag formadas (ver figura 4.35), aunque su densidad fue baja, se explica por qué no se lograron detectar mediante Uv-vis, y esto es debido a la pobre densidad de nanopartículas. Para confirmar el resultado fue presentado el análisis químico registrado mediante EDS mostrado en el inciso c de esta figura en donde claramente se aprecia la presencia del elemento plata.

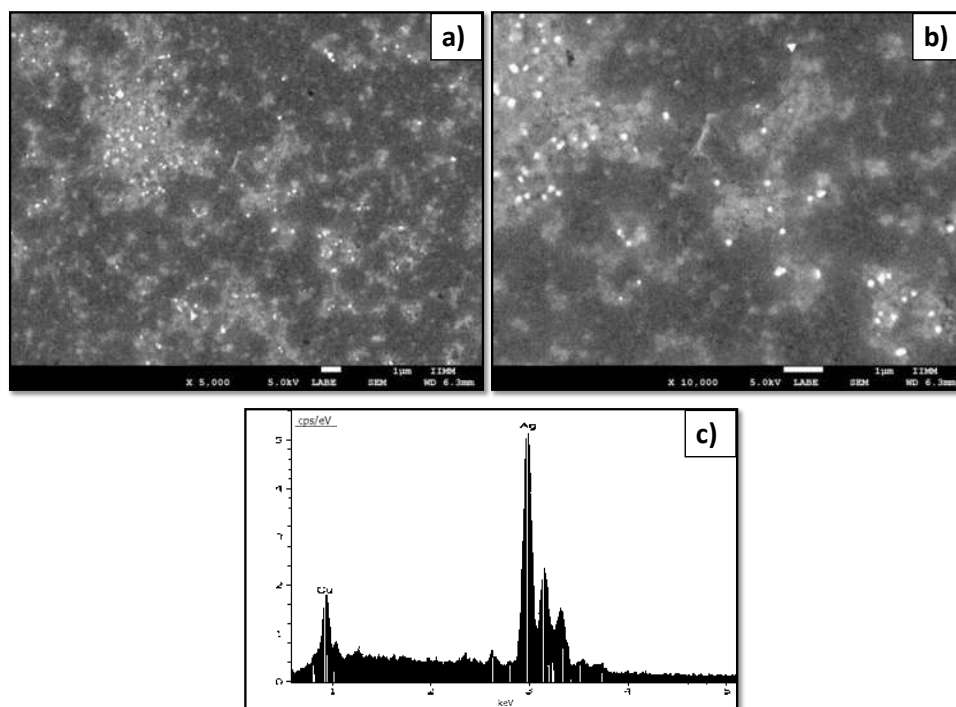


Figura 4.35 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con hojas de pingüica, a) 5,000 X, b) 10,000 X y c) análisis químico por EDS.

4.3.2 Experimentación con fruto

4.3.2.1 Síntesis de nanoflores empleando extracto de fruto de pingüica en ausencia de la luz.

En este apartado se muestran los resultados derivados de la exposición del extracto del fruto de pingüica en la biosíntesis de nanopartículas de Ag con la concentración del extracto 2 g de planta en 50 ml de agua destilada y variando la sal precursora en 6, 8 y 10 mM, sin el efecto de la luz, es

decir a oscuras. En el espectro de Uv-vis, se nota un pico agudo en alrededor de 460 nm que corresponde al espectro de absorbancia que emana de las nanopartículas de Ag (Figura 4.36).

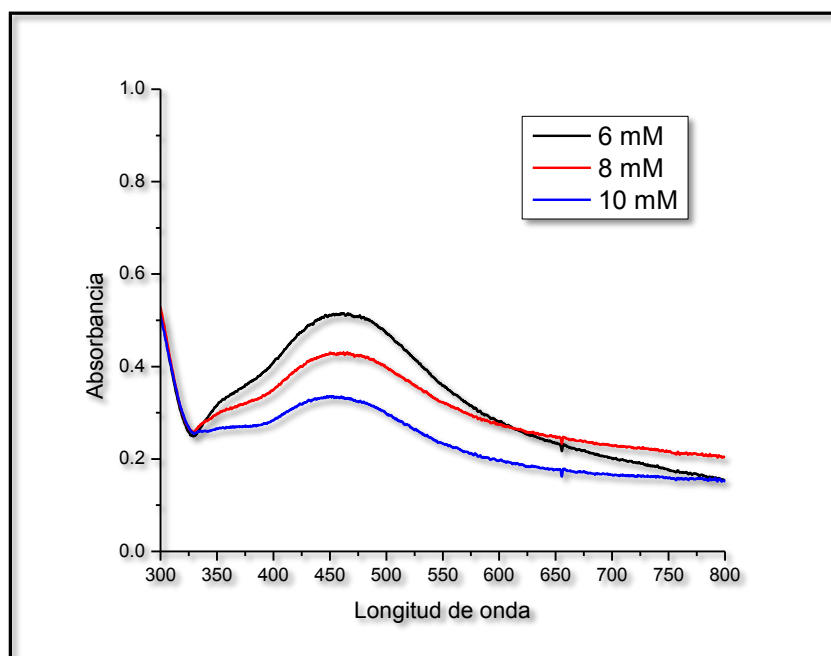


Figura 4.36 Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de fruto de pingüica con 6, 8 y 10 mM de AgNO₃, en oscuridad.

Los espectros de Uv-vis, han demostrado ser muy sensibles a la formación de coloides de plata dado que las nanopartículas de plata exhiben un pico de absorción intenso debido al plasmón superficial, que describe la excitación colectiva de electrones de conducción [74].

En la misma figura se aprecia que las partículas pueden contar con un rango de tamaño amplio o bien son polidispersas, debido al gran ensanchamiento de los picos del plasmón que se presenta. Otro aspecto es que la banda de absorción de la resonancia del plasmón superficial (SPR por sus siglas en inglés) se incrementa en intensidad a medida que la molaridad de la sal precursora se incrementa, lo cual indica una mayor densidad de nanopartículas formadas y que además, esa cantidad de extracto empleada sigue reduciendo al material.

La morfología del producto sintetizado para esas mismas condiciones se caracterizó por microscopía electrónica de barrido de emisión de campo como función del tiempo de reacción (por sus siglas en inglés, FE-SEM). La Figura 4.37 a-b muestra las imágenes de FE-SEM de los productos de la bioreducción después de 3 días, empleando el fruto de pingüica y 6 mM de sal

precursora. Como se aprecia, los resultados indican que no se trata de nanopartículas sino de una arquitectura en forma de flor, dispersada uniformemente con un diámetro que va desde aproximadamente 250 a 450 nm. También se revela que las nanoestructuras en forma de flor están ensambladas de muchas entidades pequeñas alineadas al azar de un espesor de aproximadamente 40 nm, formando una estructura de poros abiertos. Este tipo de ensambles son ensayados para su uso en las áreas de catálisis, remediación de aguas, y en la entrega de fármacos, entre otras.

Fue encontrado que el tamaño de las arquitecturas de Ag se puede controlar fácilmente mediante el tiempo de reacción. Las imágenes en la figura 4.37 c-d y 4.37 e-f, muestran los resultados obtenidos para dos diferentes tiempos de reacción 5 y 8 días respectivamente, en donde los diámetros de las estructuras de Ag resultantes aumentan hasta alrededor de 600 nm y 2 μm respectivamente. Más aún es importante notar, que la morfología en forma de flor de esas arquitecturas permanece y se encuentra uniformemente distribuida, aunque al último tiempo de reacción, la partícula se asemeja más a una bola de estambre, con la característica estructural de nanoláminas entrelazadas como bloques de construcción, para construir las estructuras jerárquicas de las flores. El efecto de enfoque de tamaño puede ocurrir dado que las partículas pequeñas crecen más rápidamente que las grandes como lo indica la teoría de la maduración de Ostwald.

Para revelar la distribución espacial de los diferentes elementos en la nanoestructura, un mapeo elemental se lleva a cabo. La figura 4.38 muestra las imágenes del análisis químico individual y el barrido composicional obtenido por fluorescencia de rayos X. Como se muestra en la figura, ambos la presencia y distribución homogénea de los átomos de Ag sobre toda la partícula, lo que indica que la reacción de reducción se produjo exitosamente.

La superposición de las nanoláminas como unidades de construcción que se ensamblan en estructuras más grandes, formando una unión de cristales de diversa orientación puede presuponerse de la forma a continuación mencionada. La compleja solución de diversas estructuras moleculares del fruto de pingüica desempeña un papel importante en la interacción de esas nanohojas que conlleva al proceso de ensamblaje 3D por la reducción del área superficial, tal vez, debida a la carencia de agentes estabilizantes que permiten el secuestro de las partículas primarias, las otras moléculas dan forma al crecimiento de la unidad en forma de lámina, en donde estas comienzan por agregación en su superficie auto-ensamblándose de acuerdo a sus energías más favorables dado el medio en el que se desarrollan.

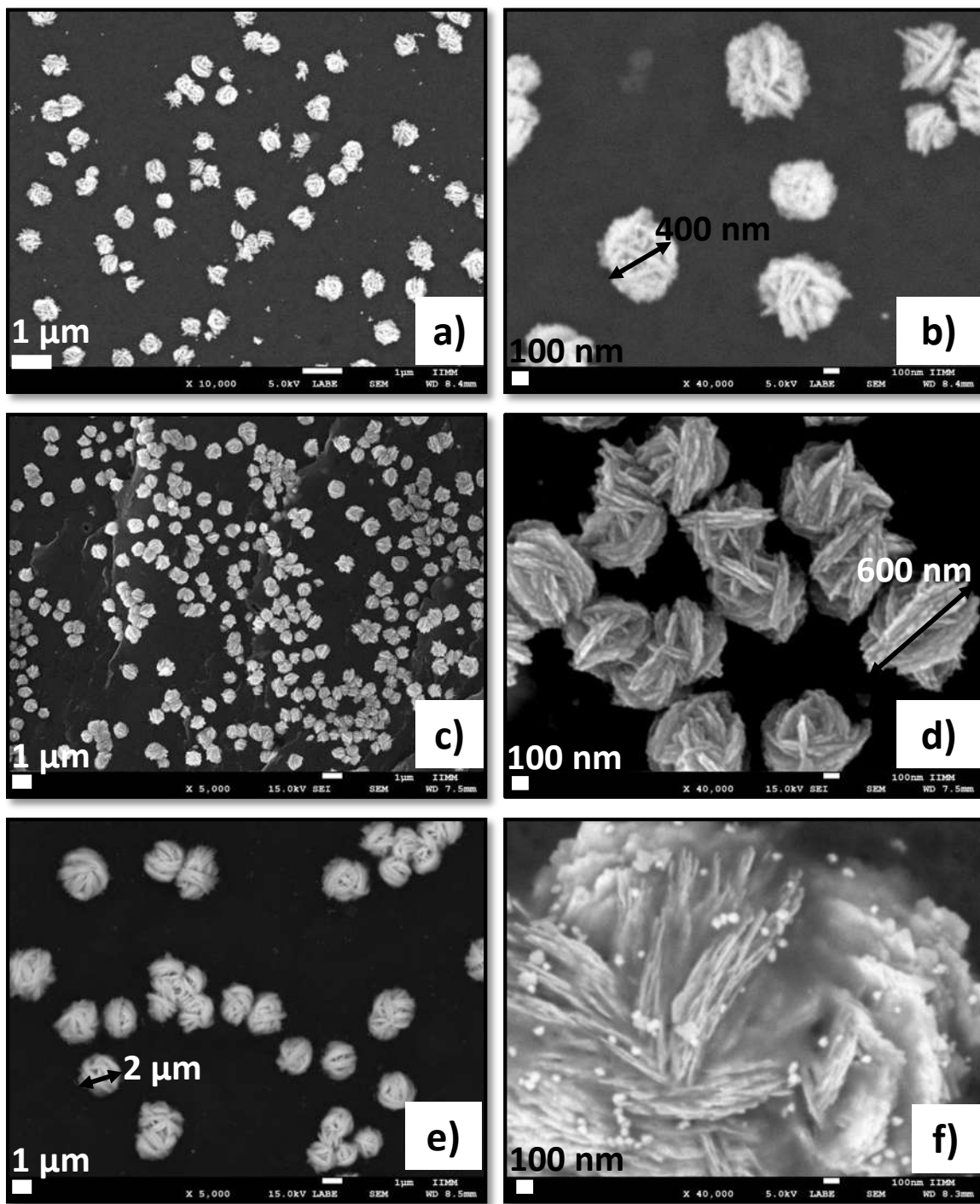


Figura 4.37 Imágenes de MEB de muestras en función del tiempo sintetizadas con fruto de pingüicia y 6 mM de AgNO₃, a-b) 3 días de reacción, c-d) 5 días de reacción y e-f) 8 días de reacción.

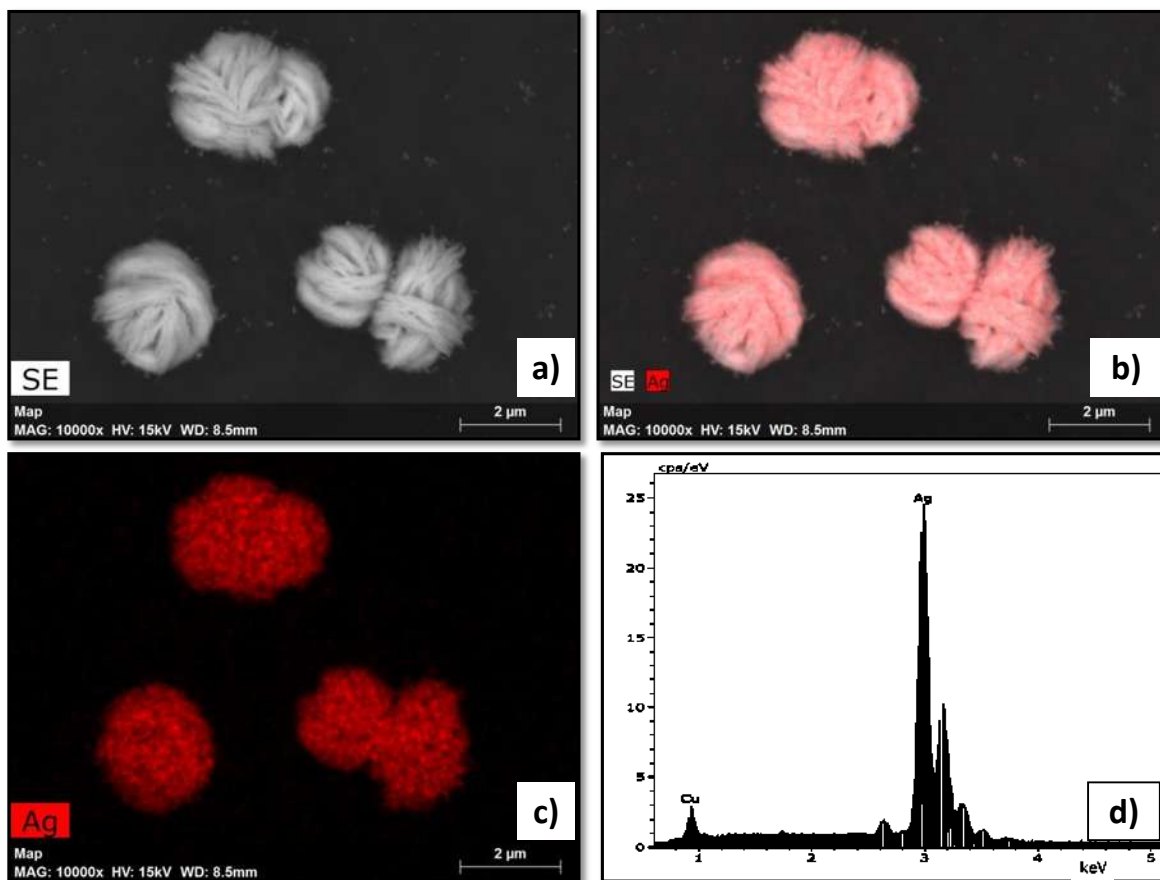


Figura 4.38 a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 6 mM de AgNO_3 y d) análisis químico por EDS.

Por lo tanto, éste método en solución, basado en una bioreducción empleando el fruto de pingüica, se puede extender fácilmente a la producción a gran escala de mesocristales en forma de flor compuestas de plata. La fase y la pureza de los productos fue examinada mediante difracción de rayos X (DRX). El patrón de DRX representativo del producto biosintetizado químicamente en húmedo, se ilustra en la figura 4.39. Todos los picos de difracción del producto presentes a los ángulos de difracción 2θ : 38.38, 44.48, 66.48, 77.78 y 81.68 se lograron indexar con los planos (111), (200), (220), (311) y (222), que corresponden a la estructura cúbica fcc de la Ag respectivamente (JCPDS no. 89-3722), sin embargo, se presenta otro pico a 31.82 que puede deberse a las biomoléculas o proteínas en el extracto que son precipitados desde la misma solución [75]. Este resultado confirma que las nanoestructuras de Ag, pueden ser obtenidas exitosamente por la reducción del AgNO_3 usando el extracto del fruto de pingüica como agente reductor.

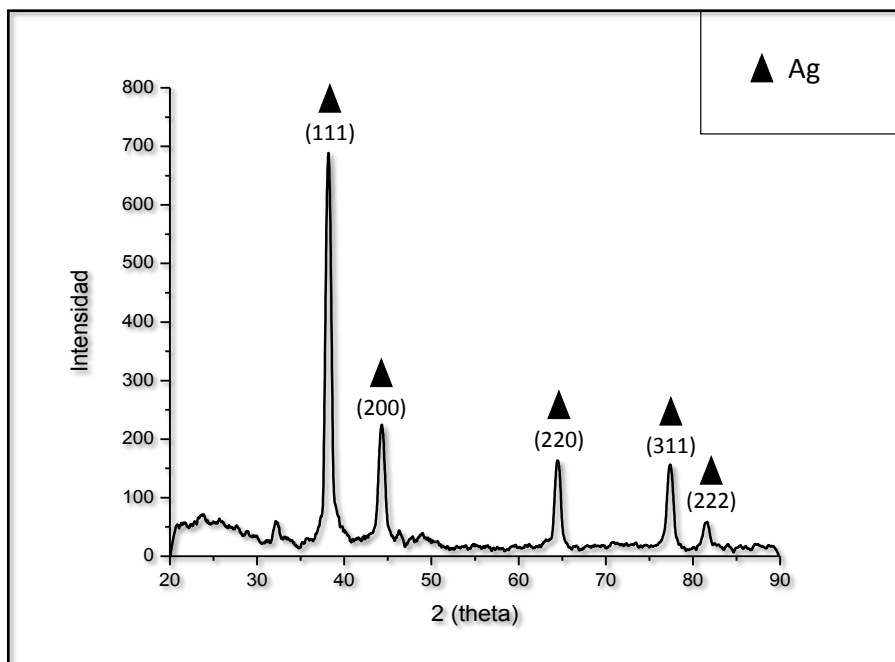


Figura 4.39 Patrón de difracción de rayos X de nanopartículas de Ag sintetizadas con extracto de fruto de pingüica. Los planos (1 1 1), (2 0 0), (220), (311) y (222) corresponde a la difracción de rayos X estándar del cristal de Ag.

Puede ser notado que existe un ensanchamiento del pico (111) que se puede relacionar con la reducción en el tamaño de cristal. De esta forma, se utilizó la ecuación de Scherrer para calcular el tamaño medio de los cristalitas:

$$D = 0.89\lambda / (\beta \cos\theta) \quad (2)$$

Donde β es la anchura total a la mitad del máximo del pico de difracción, λ se la longitud de onda del haz incidente (0.154 nm), y θ es el ángulo de difracción, de la reflexión a considerar. Se encontró que el tamaño promedio de los cristalitas constituyendo la nanoestructura fue de alrededor de 16 nm.

Como se puede observar, cuando el tiempo de reacción se incrementa a 8 días de reacción, se confirman los resultados anteriormente discutidos. La figura 4.40, muestra las imágenes de MEB correspondientes a las muestras preparadas con el fruto de pingüica a una concentración de 8 mM de AgNO_3 y en función del tiempo; a-b) 3 días de reacción, c-d) 5 días de reacción y e-f) 8 días de reacción.

Los resultados obtenidos son muy similares a la concentración anterior en cuanto a la evolución de nanoestructuras de plata en forma de flores. Al inicio de la reacción (3 días), únicamente se observan nanopartículas de plata, mientras que a medida que aumenta el tiempo de la reacción empiezan a desarrollarse esas nanoestructuras con la diferencia que hay un crecimiento más direccionado, notado por las sobresalientes puntas por encima de la estructura semiredonda (figura 4.40 b-c). Se puede en general notar que la cinética de crecimiento es mayor en comparación con la muestra anterior, lo que puede ser atribuido a que una mayor molaridad de sal, se traduce en una mayor cantidad de iones de plata reducidos creciendo la estructura en forma más rápida, esto es si la planta presenta una cantidad insuficiente de agente surfactante, el crecimiento no controlado se puede obtener, que es precisamente lo que sucede en estas muestras.

De igual forma, la figura 4.41 a-d ilustra el análisis químico y mapeo químico por EDS de la muestra sintetizada por el fruto de pingüica con 8 mM de AgNO_3 . La primera de estas imágenes (4.41-a) corresponde a la imagen en gris a relativas altas ampliaciones en donde claramente se observa que el tamaño de las nanoestructuras ha alcanzado alrededor de las 4 micras, confirmando claramente los resultados antes discutidos en donde, la velocidad de reducción fue mayor y la velocidad de crecimiento se incrementó consecuentemente a medida que la cantidad de sal empleada aumenta. También se presenta el análisis químico puntual realizado a la muestra en donde se observan los elementos plata y cobre (4.41-d), el último proveniente del porta-muestras lo que asegura la limpieza del producto y la ausencia de contaminación u oxidación de la pieza. En la segunda micrografía (4.41-b) se presenta una mezcla entre la imagen de electrones secundarios y la generada mediante el mapeo de rayos X, lo que confirma que la plata se encuentra distribuida en toda la flor.

Finalmente, la última de estas figuras (4.41-c) ilustra la colección de rayos X registrada del mapeo por EDS, en donde toda la señal fue proveniente de la flor de plata, lo que permite demostrar la obtención de estas flores con pétalos de componentes nanométricos son de plata.

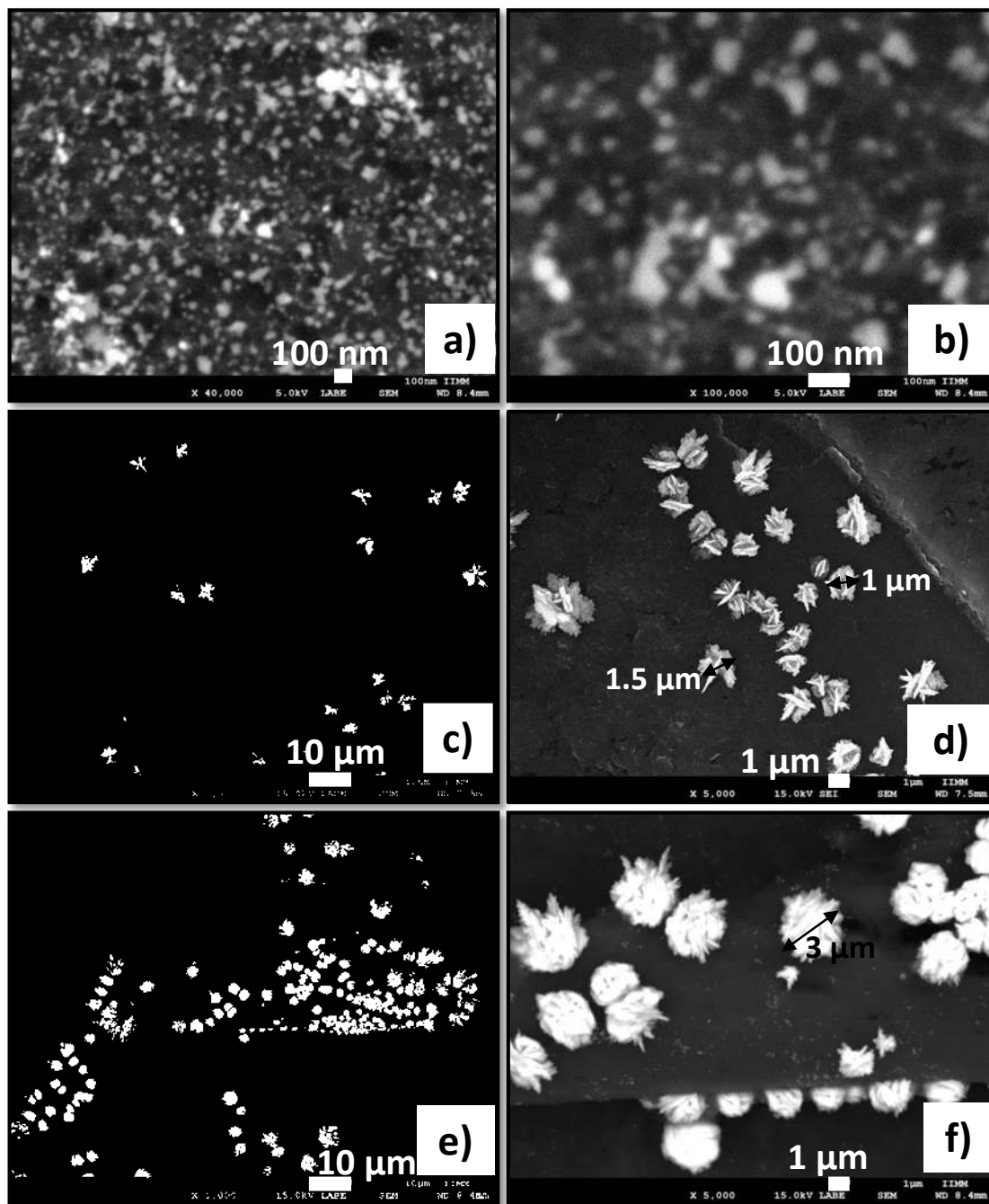


Figura 4.40 Imágenes de MEB de muestras en función del tiempo sintetizadas con fruto de pingüica y 8 mM de AgNO_3 , a-b) 3 días de reacción, c-d) 5 días de reacción y e-f) 8 días de reacción.

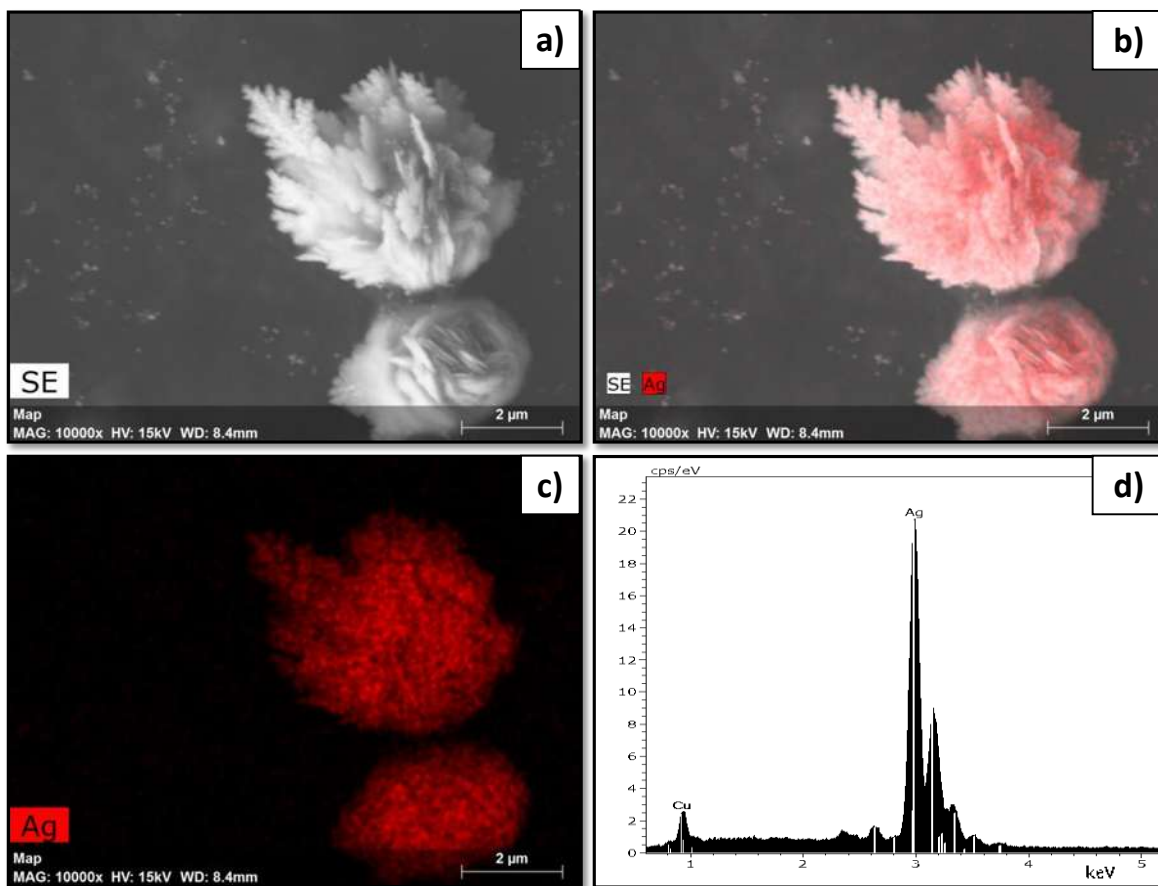


Figura 4.41 a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 8 mM de AgNO_3 y d) análisis químico por EDS.

Cuando la sal de plata se incrementa aún más hasta 10 mM, nuevamente los resultados arrojaron un comportamiento parecido al obtenido en las dos concentraciones molares anteriores. La figura 4.42, ilustra las imágenes registradas en donde se puede ver un caso muy similar a la concentración de 8 mM, ya que se presentan para el primer tiempo de reacción (3 días, figura 4.42 a-b), únicamente pequeños agregados que se han formado, los cuales para esta composición guardan la forma alargada en varias direcciones y se presentan de un tamaño de entre 2 y 3 micras, posteriormente para cuando el tiempo de reacción fue de 5 días (figura 4.42 c-d) se forman estructuras relativamente pequeñas entre 400 y 600 nm, las cuales tienen una morfología en forma de flor.

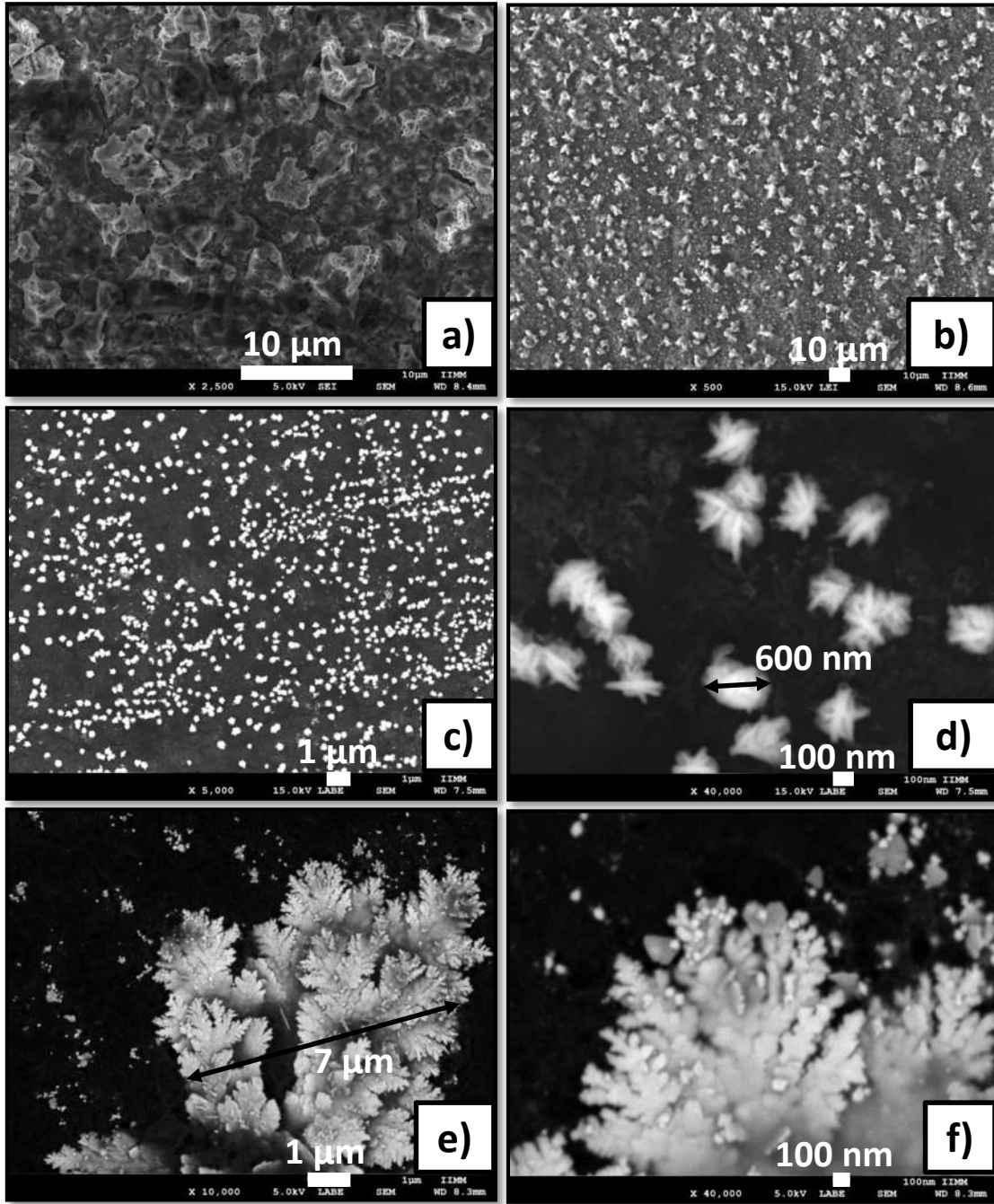


Figura 4.42 Imágenes de MEB de muestras en función del tiempo sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO_3 , a-b) 3 días de reacción, c-d) 5 días de reacción y e-f) 8 días de reacción.

La sorpresa es cuando el tiempo de reacción se incrementa hasta 8 días (figura 4.42 e-f) en donde se observa una estructura en forma de árbol la cual logra crecer hasta un tamaño de 5 a 7 micras. De esta manera puede claramente concluirse que a medida que la concentración y el tiempo de

reacción se incrementaron, hubo un aumento en la velocidad de reducción del fruto de pingüica que se manifiesta por el mayor tamaño de las estructuras observadas, aunque por otro lado se determina que la cantidad de agentes de superficie incluidos en el fruto no son suficientes para frenar la gran cantidad de iones reducidos a un tamaño controlado y nanométrico llegando a alcanzar hasta micras en la estructura formada. Es claro mencionar que estas estructuras requieren mayores tiempos de reacción, para permitir la difusión y su agregación de acuerdo al modelo de crecimiento mencionado previamente [76], esta evolución en el crecimiento de los agregados de plata hasta una condición estable termodinámicamente en forma de flor es atribuida al crecimiento anisotrópico [77].

En la figura 4.43, nuevamente se presentan los análisis químicos efectuados a los productos biosintetizados, en donde observamos, la imagen ampliada en gris mostrando uno de los árboles de plata (figura 4.43-a), los cuales se conforman de varias unidades pequeñas que registran tamaños nanométricos, como las que se despliegan en la figura 4.43-b.

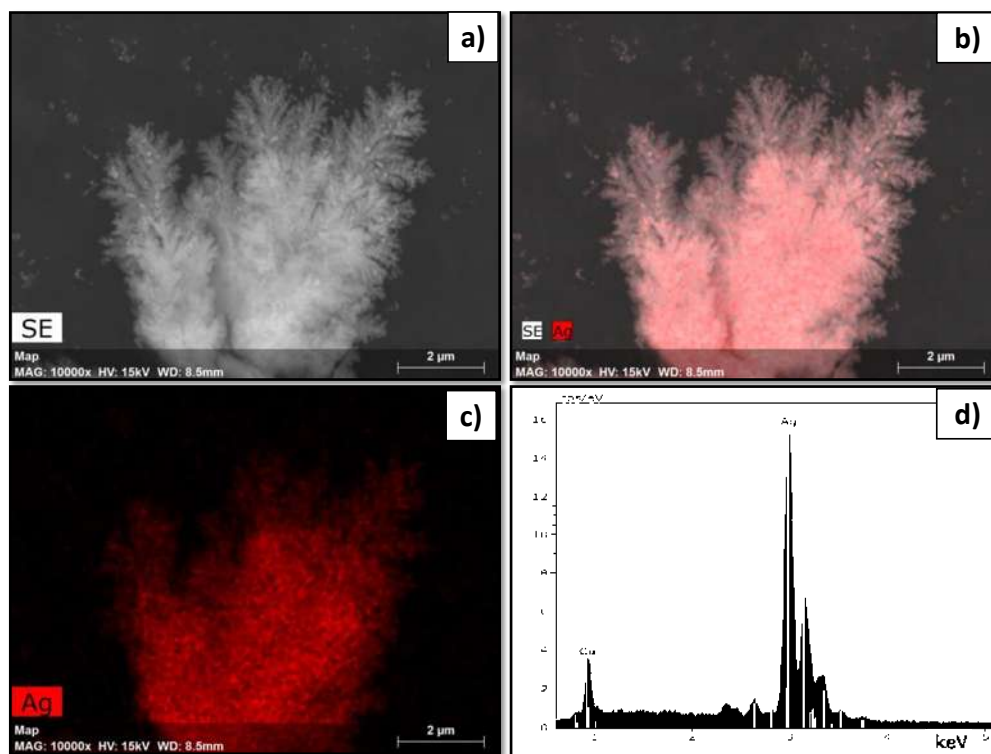


Figura 4.43 a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 10 mM de AgNO_3 y d) análisis químico por EDS.

La nanoestructura en forma de árbol se compone entonces de varias unidades con formas hexagonales y nanopartículas que se agregan y se encuentran interconectadas unas con otras formando hojas simétricas de ramificaciones, las cuales se ven como un árbol de múltiples hojas.

Se observa que la longitud de estas unidades (figura 4.44-b) varían desde un tamaño menor a 100 nm para las nanopartículas agregadas y de 120 nm aproximadamente para las formas triangulares y hexagonales agregadas, sin embargo, de acuerdo al número de dimensiones que caen en el rango nanométrico se puede decir que estas pertenecen a las nanoestructuras 1 D con una relación de aspecto baja.

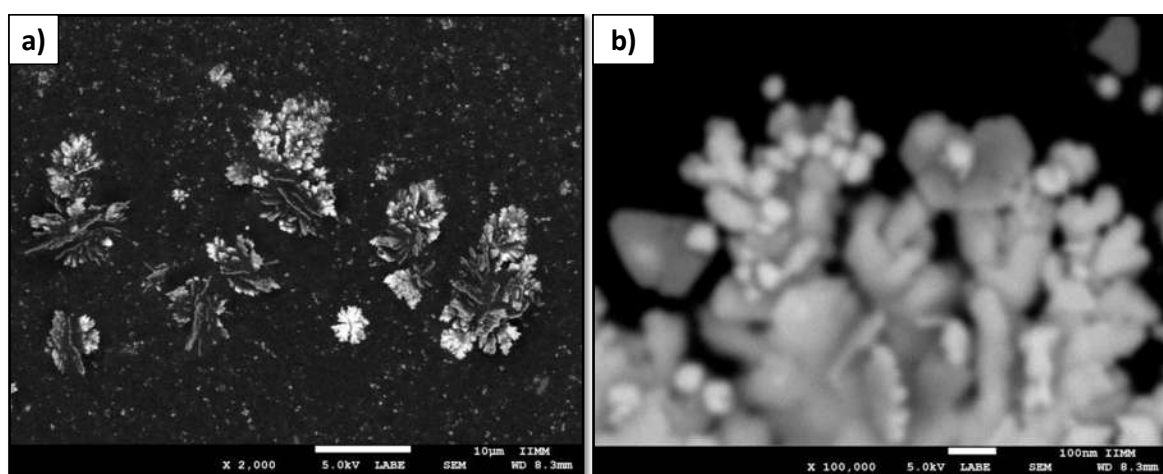


Figura 4.44 Imágenes de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO_3 , a) 2,000 X y b) 100,000 X.

El análisis químico puntual confirmando que las nanoestructuras se componen de plata en su composición es mostrado en la figura 4.43-d. Se puede concluir de estos resultados que el crecimiento y la morfología de las nanoestructuras se controlan mediante la concentración de la sal de plata utilizada y el tiempo de reacción en ausencia de la luz. Es importante recalcar que un estudio sistemático de estas flores realizado mediante biosíntesis no existe aún en la literatura, sin embargo, trabajos realizados por métodos no eco-amigables, utilizando una diversidad de sustancias se han logrado [78], con novedosas propiedades para sus aplicaciones como agentes antibacteriales y antimicrobiales, entre otras [79].

4.3.2.2 Síntesis de nanoflores empleando extracto de fruto de pingüica en presencia de luz.

A continuación se presentan los resultados obtenidos derivados de los mismos experimentos anteriores aunque aplicando la influencia de la luz. En principio dado la presencia de la luz implica mayor energía aplicada al sistema en una de sus formas como calor, también se debe considerar que tal vez las sustancias orgánicas presentes en el extracto de pingüica reconocen cierta radiación característica, la cual pueda estar estimulando los mecanismos de bioreducción y por lo tanto, los resultados se espera que mejoren en cuanto a la cinética del proceso.

La figura 4.45 muestra los espectros de UV-Vis de los productos de Ag biosintetizados con el extracto del fruto de pingüica en 6, 8 y 10 mM de AgNO_3 , en presencia de luz. Lo primero que se observa es que independientemente de la concentración de nitrato de plata utilizada, la intensidad de los picos de absorción del plasmón superficial ubicado en 450 nm, es mayor que la que se presentó en ausencia de luz, lo cual indica que una mayor densidad de nanopartículas de plata fue bioreducida, aunque es claro señalar que el pico del plasmón se encuentra ensanchado lo que implica una mayor distribución de tamaño de las nanoestructuras formadas.

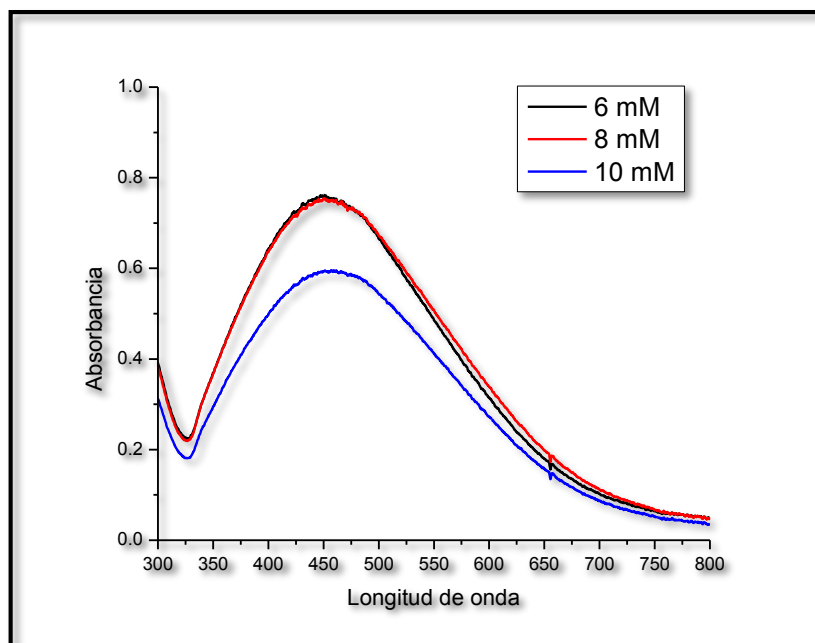


Figura 4.45 Espectros de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de fruto de pingüica con 6, 8 y 10 mM de AgNO_3 , en presencia de luz.

Se observan de los espectros que en la medida que la concentración de plata se incrementó hasta 10 mM, una reducción en la intensidad del pico del plasmón se registra, lo que debe indicar una reducción en las nanopartículas de Ag obtenidas, aunque esto se puede estar debiendo a un crecimiento excesivo de las mismas, como ya se ha confirmado de los resultados presentados para las muestras en ausencia de luz. También se puede notar que la intensidad del pico es similar entre 6 y 8 mM de nitrato de plata indicando que para estas condiciones de reducción, la velocidad del proceso se ve mínimamente influenciada por la concentración de la sal empleada. Este resultado ha sido poco discutido y puede estarse debiendo a que la cantidad de agente surfactante compensa este hecho, es decir, existe suficiente cantidad en ambos casos lo que controla la velocidad del proceso.

La figura 4.46 ilustra el tipo de productos obtenidos, que como se puede apreciar corresponden nuevamente a morfologías en forma de flores como se ha reportado y nombrado previamente de múltiples investigaciones acerca de estas nanoestructuras. En la primera de estas figuras nuevamente se aprecia que las nanoflores son el producto más encontrado, aunque en el fondo una serie de puntos blancos indicando la presencia de nanopartículas también se observa.

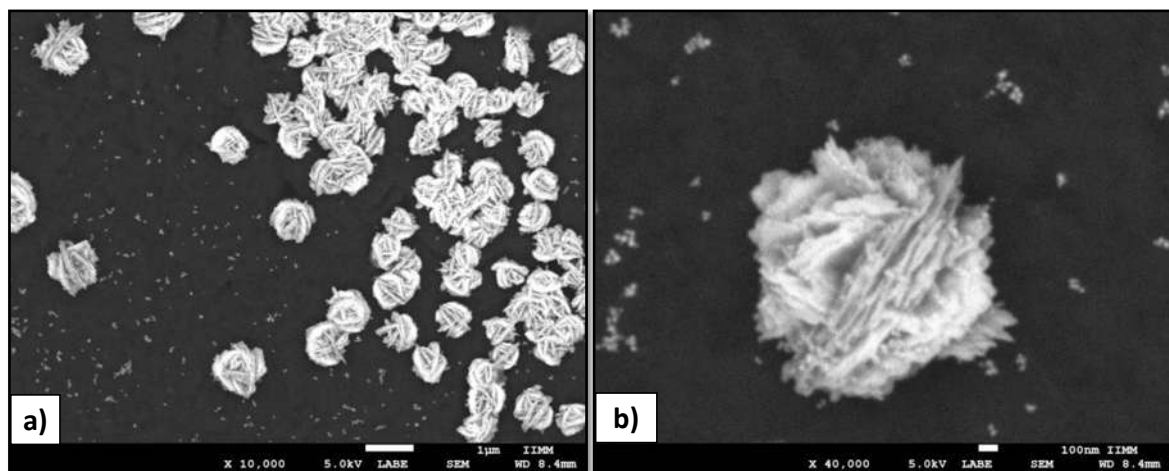


Figura 4.46 Imágenes de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas con fruto de pingüica y 6 mM de AgNO_3 en presencia de luz, a) 10,000 X y b) 40,000 X.

El tamaño de las flores es polidisperso encontrándose en el rango de los 600 nm hasta 1 μm , lo que confirma que la velocidad de reducción en medio de luz fue mayor, al comparar ese tamaño con el registrado bajo obscuridad (200- 450 nm). De igual forma se aprecia de la segunda de estas figuras

(inciso b), que la nanoestructura bien llamada así, se compone de varias láminas cuyo espesor es evidentemente nanométrico. El análisis químico, mostrado en la figura 4.47-a que corresponde a la imagen en gris del inciso b, sigue indicando la presencia únicamente del elemento plata y se confirma mediante la imagen compuesta de los incisos c y d, en donde se aprecia que toda la morfología presenta esa composición de plata, confirmándose nuevamente la capacidad del extracto del fruto de pingüica para bio-reducir y dejar crecer las nanoestructuras de plata, que como ya se ha discutido se debe a una carencia en la cantidad de los agentes surfactantes que gracias a que no cumplen su función de estabilizar pronto a todas las nanopartículas reducidas permiten el ensamble de estas nanoestructuras en forma de flor.

Como se observa, es evidente un crecimiento direccional aleatorio de las hojas, atribuido a algunas sustancias estabilizantes, se explica que se está originando una polaridad en la interacción cara-borde y ocasionando este tipo de crecimiento.

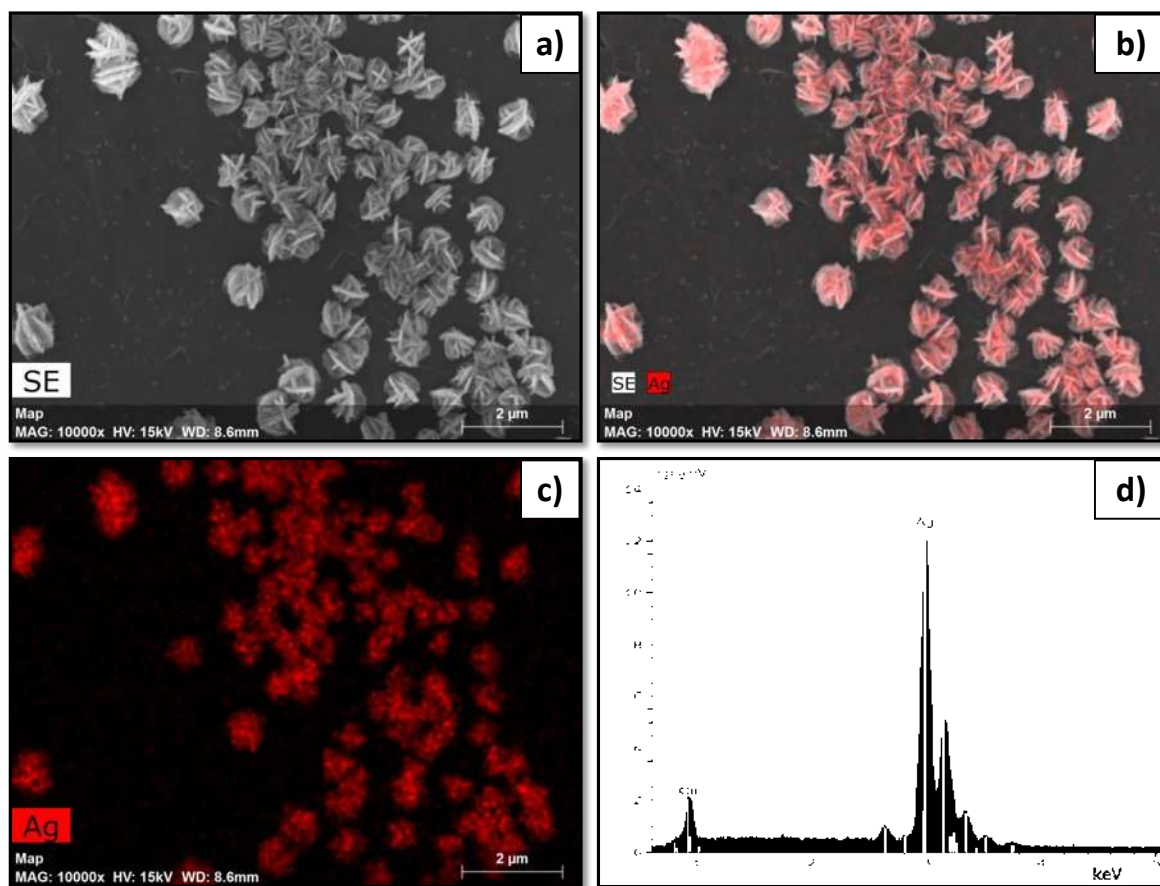


Figura 4.47 a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 6 mM de AgNO_3 , en presencia de luz y d) análisis químico por EDS.

Tal y como se observó mediante los estudios de Uv-vis en donde se menciona que la intensidad de los picos del plasmón fueron muy similares entre 6 y 8 mM, las imágenes de MEB registradas confirman este hecho (figura 4.48), ya que la forma y el tamaño de las flores es tal vez, ligeramente superior. Estas figuras muestran nuevamente el hecho de un crecimiento anisotrópico sobre la superficie de la partícula esférica y rugosa en su superficie ensambladas con nanoplacas en esencia idénticas y crecidas en todas las posibles direcciones. Esos pétalos presentan un espesor de tamaño de alrededor de 40 nm, mostrando un arreglo policristalino de la flor. El diámetro de las hojas de estas flores resulta mayor que el que se ha obtenido en previas investigaciones [80].

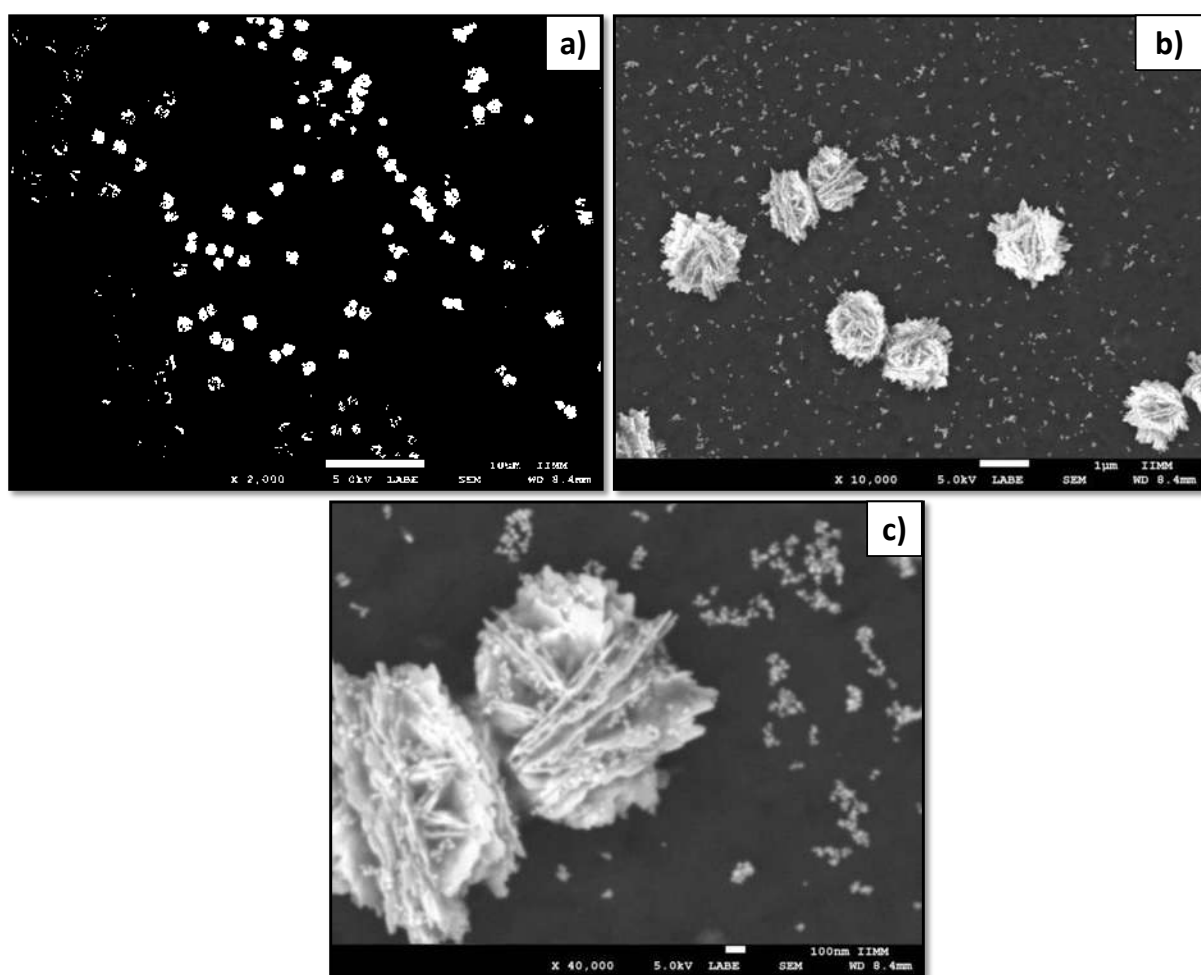


Figura 4.48 Imágenes de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas con fruto de pingüica y 8 mM de AgNO_3 , en presencia de luz. a) 2,000 X, b) 10,000 X y c) 40,000 X.

La figura 4.49 muestra nuevamente la confirmación de la composición química de las nanoestructuras, en donde se observa la imagen mezclada de electrones secundarios (a) y de la fluorescencia de rayos X (b), indica que de toda la morfología, se registra señal de la plata y por lo tanto, esas estructuras se obtienen al inducir la reacción de bio-reducción de los iones metálicos de plata provenientes del nitrato, con el extracto del fruto de pingüica.

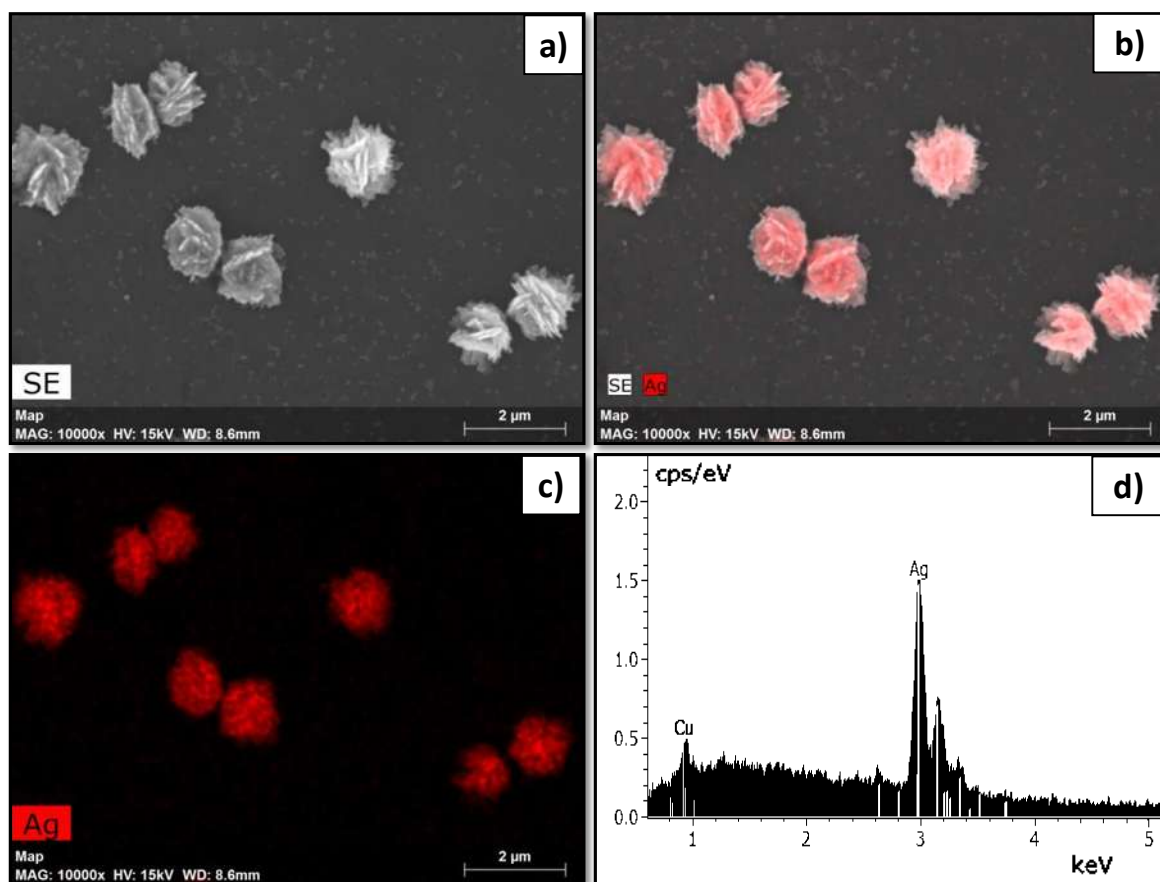


Figura 4.49 a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 8 mM de AgNO_3 , en presencia de luz y d) análisis químico por EDS.

A la composición de 10 mM se aprecia que la velocidad de crecimiento es mucho mayor formando las estructuras ubicadas en la figura 4.50, en donde se aprecia que son semiesféricas pero ya se encuentran saturadas de la sal de plata, formando una entidad completamente esférica y sin placas. El tamaño de estos esferoides oscila de entre 1.2 y 2 μm . Los análisis químicos confirman también la composición los cuales son presentados en la figura 4.51-c y 4.51-d.

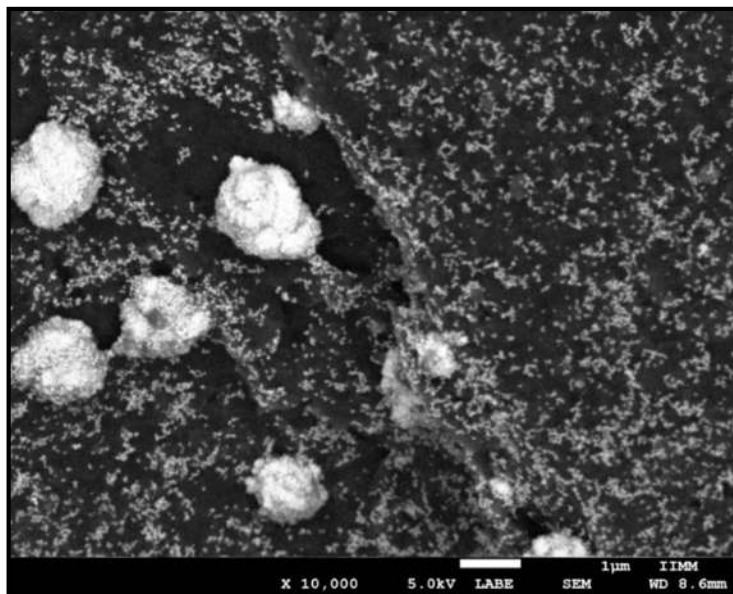


Figura 4.50 Imagen de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO_3 , en presencia de luz.

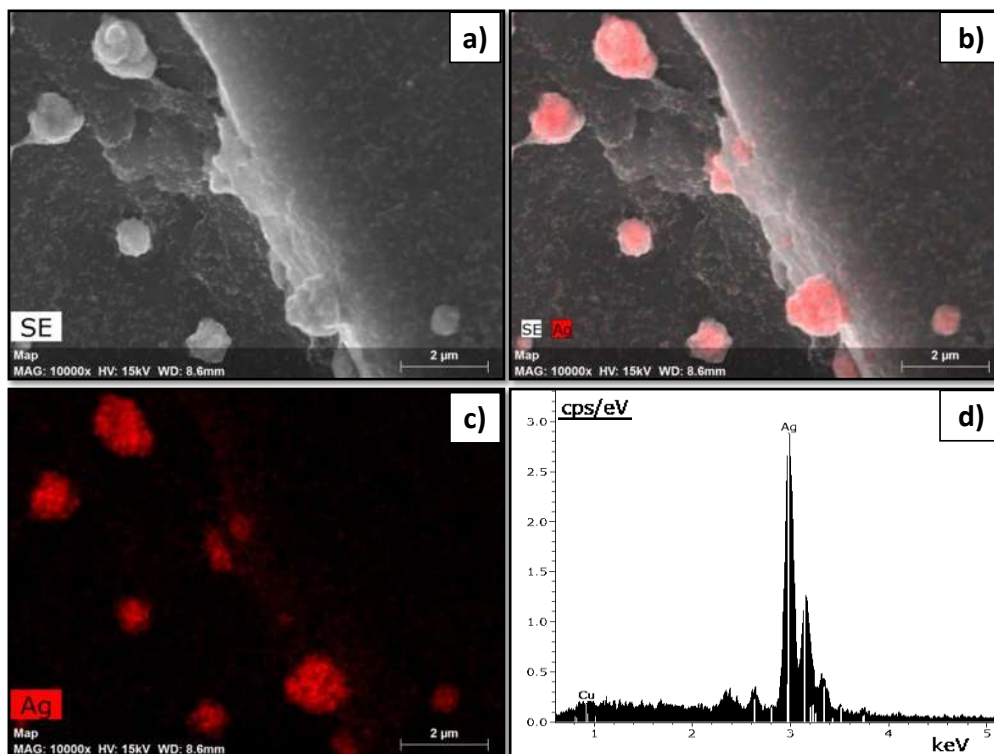


Figura 4.51 a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 10 mM de AgNO_3 , en presencia de luz y d) análisis químico por EDS.

CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La tabla 5.1 concentra los diferentes resultados generados de la actual tesis, en donde se describen las diversas características de los productos obtenidos, por ejemplo, en la columna 1 se muestran las plantas utilizadas como agentes reductores y estabilizantes llamadas *Equisetum Hyemale L*, *Gnaphalium Conoideum kunth* y *Arctostaphylos Pungens kunth*, conocidas comúnmente como Cola de caballo, Gordolobo y Pingüica. En la segunda columna para propósitos de identificación, se enumera el bloque de experimentos realizados. De igual forma, para los experimentos correspondientes al grupo No. 1, se indica la mejor concentración del extracto a 1 g de cola de caballo para 50 ml de agua (columna 3), molaridad de sal precursora a 9 mM (columna 4) y relación extracto-sal precursora de 1:1 (columna 5) utilizadas para sintetizar nanopartículas mediante la influencia de la luz (columna 6) con un rango de tamaño de 5-35 nm (columna 7), de morfología esférica (columna 8) obtenidas en un tiempo máximo de reacción de 3 días (columna 9).

Tabla 5.1 Resultados obtenidos durante la experimentación de todas las plantas.

Planta	Bloque de Experimentos	Gramos de planta en 50 ml de agua destilada	Mejor molaridad (mM)	Relación extracto-sal	Influencia de la luz	Tamaño promedio de partículas	Forma de partículas	Tiempo de reacción (días)
Cola de caballo	1	1	9 mM	1:1	Con luz	5-35 nm	Esféricas	3
Gordolobo	2	1.5	6 mM	1:2	Con luz	10-40 nm	Esféricas y triangulares	3
Hojas de pingüica	3	No hay presencia aparentemente de nanopartículas						
Fruto de pingüica	4	2	6	1:1	Sin luz	2 μ m	Nanoestambres	8
	5		8			3 μ m	Nanoflores	8
	6		10			7 μ m	Nanoárboles	8
	7		6		Con luz	1 μ m	Nanoflores	8
	8		8			1.2 μ m	Nanoflores	8
	9		10			1.7 μ m	Cuasiesferas sólidas	8

De esta tabla, logramos observar que todas las plantas lograron bio-sintetizar iones de plata, sin embargo, únicamente con las hojas de pingüica no se obtuvieron resultados satisfactorios, sino mediante el fruto, esto permite reconocer que mientras las hojas no contienen las suficientes sustancias reductoras suficientes el fruto si las contiene, esta situación es en cierta forma anormal a lo reportado en el literatura en donde principalmente las hojas son usadas para este fin [81], la flor o el fruto siempre entregan resultados menos halagadores, aunque por ejemplo, se ha logrado con éxito en los frutos de la mora [82], la baya de sauco [83] y arazá [84]. De igual forma, se han conseguido buenos resultados con la cascara de los frutos como el caso del plátano [85]. Aunque cabe mencionar, que en ninguno de los casos se reportaron partículas de plata bio-reducidas y crecidas con diversas morfologías fuera del rango nanométrico como en el trabajo actual realizado con el fruto de pingüica.

Así mismo, puede también constatarse comparando los resultados del presente trabajo, que aun variando las relaciones de concentración extracto-sal precursora, mediante el uso de las plantas Gordolobo y Cola de caballo, no fueron obtenidas diversas morfologías como en el caso de Pingüica, sino únicamente nanopartículas esféricas. Lo que se encuentra bajo los objetivos del presente trabajo. Aunque ordinariamente sucede en trabajos anteriores que el uso de cualquier parte de una planta adecuada genera nanopartículas del metal reducido, los resultados obtenidos mediante la planta de pingüica presentan un valor que debe ser publicado por su novedad.

El efecto de la influencia de la luz, podría tomar un valor importante en la velocidad de reducción puesto que de alguna forma es energía que se hace llegar al sistema impulsando la reacción a tomar velocidades mayores, sin embargo, como se aprecia no existe una relación con la forma de las partículas obtenidas, aunque más bien si con el tamaño de las mismas.

Como se aprecia utilizando las mismas relaciones de concentración sin luz y con luz y el fruto de pingüica se obtuvieron nanoflores aunque sin la influencia de la luz estas presentan tamaños más grandes lo que indica que esta influencia activa ciertas sustancias en la superficie de las nanopartículas que da origen a un crecimiento anisotrópico más propenso. Estos resultados no pueden ser comparados con otros en la literatura ya que no existe alguno similar publicado, sin embargo, el efecto de la luz en nanopartículas de plata se ha estudiado en detalle en varias investigaciones, en donde, comúnmente incrementa la velocidad de la reacción [86].

Fue también determinado que sin la influencia de la luz en la planta de Cola de caballo no se bio-reducen nanopartículas de Ag en el mismo tiempo que con la influencia de la luz, empleando

las mismas concentraciones estos resultados se derivan de la figura 5.1. Ahmed y Col. [87] mencionan que para lograr nanopartículas de plata es imprescindible el uso de la luz.

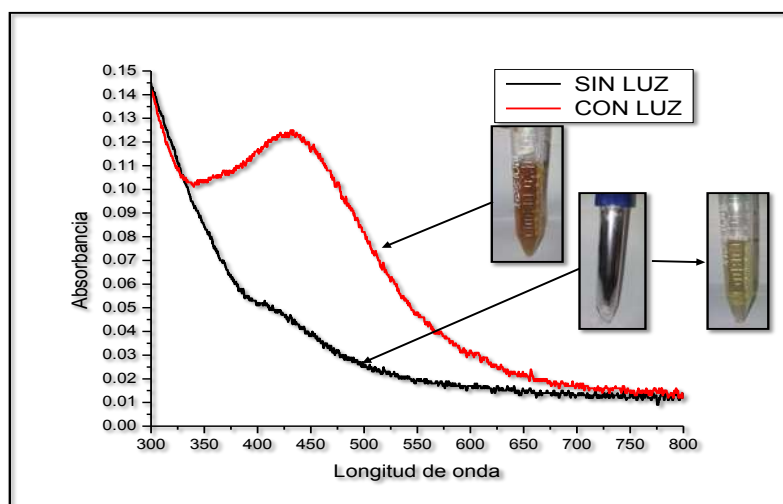


Figura 5.1 Espectro de UV-Vis de nanopartículas de Ag sintetizadas con el extracto de cola de caballo con 1 g de la planta y 9 mM de AgNO₃ con una relación 1:1 a 1 hora de reacción.

Comparando el tamaño promedio de las nanopartículas obtenidas con Cola de caballo y Gordolobo, se puede observar que fue menor en la primera, registrado un rango de 5-35 nm, para similares condiciones de bio-reducción indicadas en la tabla 5.1, sobre todo en los tiempos de reacción que es el mismo, lo que indica que la planta Cola de caballo es más eficiente en su velocidad de reducción para obtener menores tamaños de nanopartícula, lo que también indica una mayor generación de núcleos de crecimiento que a la postre indican una mayor cantidad de nanopartículas obtenidas más pequeñas que en la planta de Gordolobo. Estos resultados son precisamente derivados de la figura de Uv-vis 5.2, y coinciden con los obtenidos por Zargar, y Col. [88] los cuales obtuvieron nanopartículas con un tamaño promedio de 20 nm y son mejores que los obtenidos por Shivananda y Col. [89] los cuales obtuvieron un tamaño de partícula promedio entre 35 y 40 nm.

En cuanto al fruto de pingüica se presentaron espectaculares resultados derivados de la biosíntesis, tal como se aprecia en la misma tabla. Diversos tamaños y formas fueron obtenidos aplicando una ligera mayor cantidad de planta en el extracto en comparación a las plantas Gordolobo y Cola de caballo.

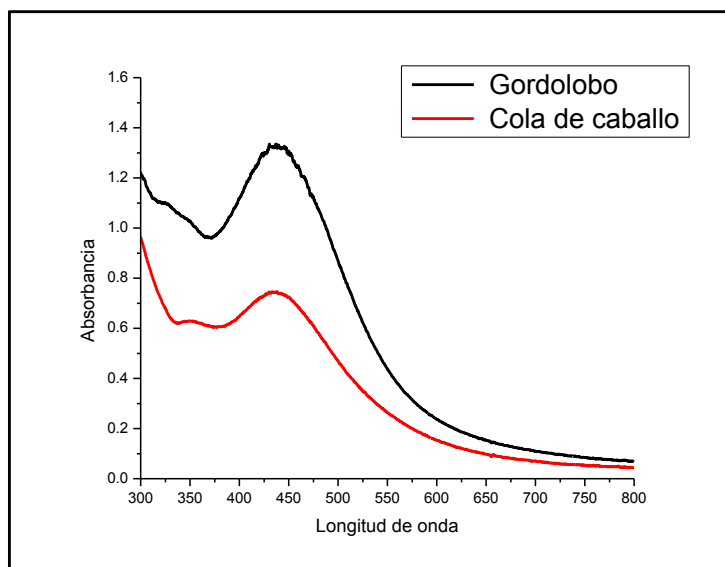


Figura 5.2 Espectros de UV-Vis de nanopartículas de plata, sintetizadas con gordolobo y cola de caballo a un tiempo de tres días.

El crecimiento espontáneo de todas esas formas se debió precisamente a la suficiente cantidad de sal precursora utilizada, que permite la bioreducción también por la adecuada cantidad del extracto del fruto de esta planta. Es importante mencionar que en su mayoría los extractos de las plantas juegan un doble papel importante que consiste en reducir los iones metálicos a nanopartículas y estabilizar la solución coloidal, ha sido reportado [90] que con muy pocas excepciones este doble papel no se cumple ya sea en una o las dos funciones. Sin embargo, en el actual trabajo la cantidad de sal precursora se encontró por encima de la capacidad de la planta para estabilizar las nanopartículas, es decir por encima de la cantidad requerida de los agentes surfactantes necesaria para mantener a las nanopartículas en una solución nanocoloidal estable, lo que significa que la planta presenta una desproporción considerable entre su capacidad de reducción y su capacidad de estabilización lo cual fue importante para el crecimiento incontrolado en algunos casos anisotrópico. Esa diferencia en capacidad de reducción y estabilización es fácil de entender ya que por lo general las plantas medicinales son reconocidas ancestralmente por sus capacidades antioxidantes y no por la presencia de sustancias tensoactivas.

El crecimiento insostenible de los núcleos de plata para dar lugar a la diversidad de formas encontradas mediante la planta de pingüica, se basó en la superación experimental en el laboratorio, de la capacidad de dicha planta para contar con las sustancias surfactantes adecuadas para estabilizar las nanoestructuras de Ag.

Esa diversidad de formas es principalmente una consecuencia de una alta velocidad de crecimiento en las partículas la cual es del tipo polinuclear que se encuentra ayudada por un crecimiento secundario combinada con una influencia anisotrópica. Por ejemplo, las partículas en forma de nanoestambres de tamaño aproximado a $2\ \mu$ (ver figura 5.3-a, b) están compuestas de fibras alargadas con una superposición aleatoria, aunque se presentan en forma de paquetes.

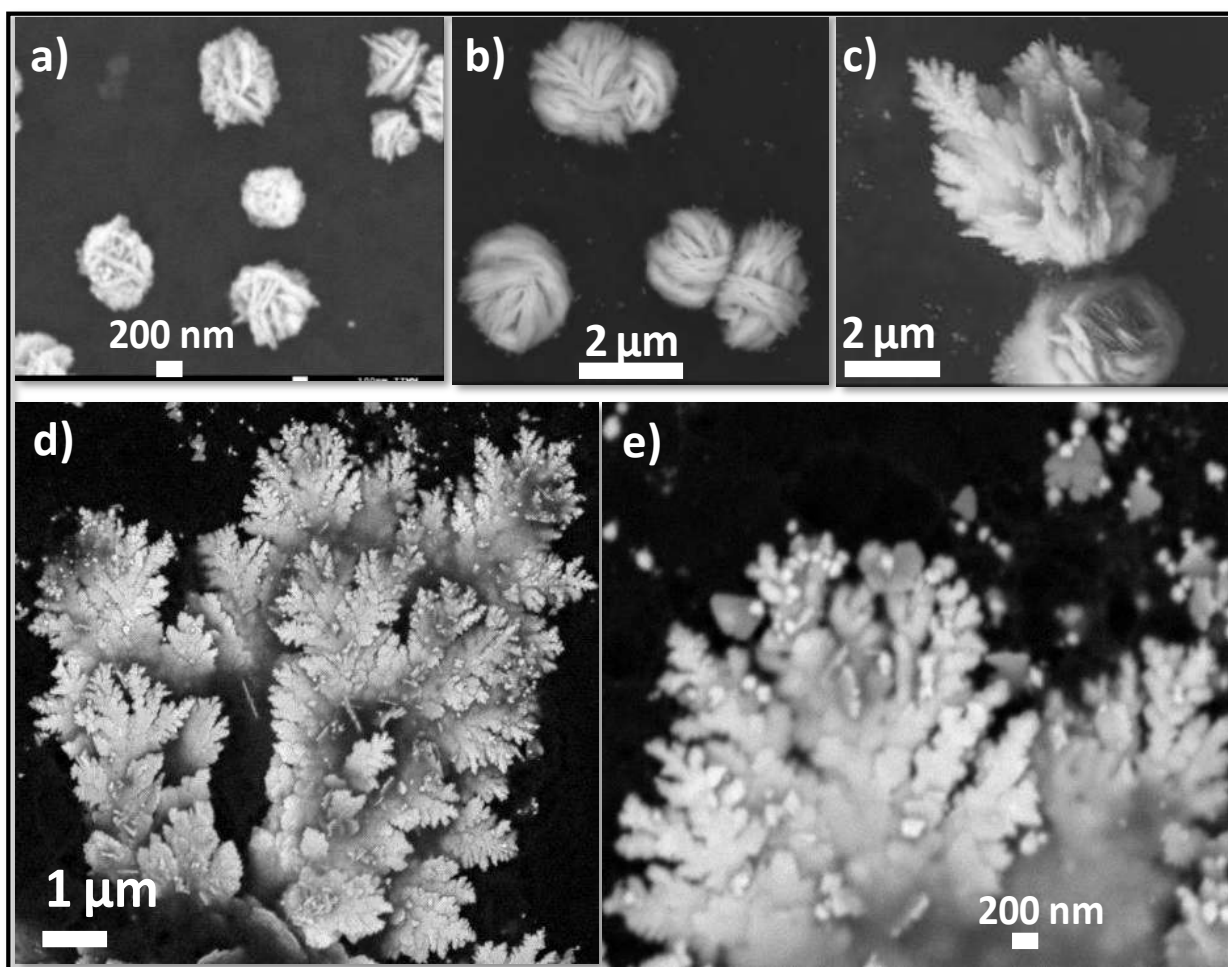


Figura 5.3 a-e) Secuencia de crecimiento de una nanoestructura en forma de árbol, en la que se encuentran varios estados intermedios y formas diversas de las partículas biosintetizadas de plata.

Éstas pequeñas fibras presentan solo una dimensión fuera del rango nanométrico (longitud) por lo que deben considerarse como estructuras 1D o unidimensionales. Es decir estas estructuras al ser alargadas obviamente demuestran un crecimiento anisotrópico, sin embargo su agregación aleatoria indica un crecimiento en la superficie del núcleo dominado por una nucleación secundaria

en donde las partículas se agregan unas con otras a una gran velocidad de difusión consecuente de la alta concentración de sal precursora, lo que produce que los átomos se agreguen a la superficie rápidamente.

Posteriormente, las partículas continúan creciendo después de adoptar esta forma semiesférica y van logrando agregados diversos, por ejemplo la figura 5.3-c muestra una partícula de dimensiones mayores en donde fácilmente se logra apreciar el inicio de crecimiento anisotrópico, mientras que la partícula en la parte inferior sigue conservando aún su forma semiesférica formada de diversas estructuras 1D.

Cuando el crecimiento se prolonga en función de la cantidad de sal precursora hasta 10 mM, el resultado obtenido es un nano-árbol como el mostrado en la figura 5.3-d. Interesantemente, este gran árbol no se compone estrictamente de una sola pieza desarrollada, sino de partículas que van agregándose y coalesciendo formando más grandes, esto se aprecia en la parte superior de la figura 5.3-e.

De la imagen se encuentra que las partículas que se agregan sobre la superficie presentan diversas formas, siendo las fundamentales triángulos con un tamaño que ligeramente rebasa el rango nanométrico aunque, una dimensión se encuentra dentro de los 100 nm, por lo que su clasificación es 2D, mientras que otra forma son nanoestructuras 0D, es decir nanopartículas esféricas menores a los 50 nm algunas de las cuales son pentagonales. Hasta donde se logra observar las partículas coalescen formando otras partículas más grandes tal y como se aprecia secuencialmente de la figura 5.4-b, los huecos que van dejando las partículas más grandes van siendo saturados por las partículas pequeñas tal y como se aprecia de la figura 5.4-c.

Estos resultados sugieren que aunque toda la nanoestructura presenta una forma de árbol inicialmente, no crece digamos desde su raíz o a partir de una sola semilla, sino mientras las partículas se van agregando esta va adoptando esa forma, la cual es similar al crecimiento anisotrópico ordinario del crecimiento de cristales no nanométricos. Dado que estas nanoestructuras se conforman de una asociación de partículas a esto se le conoce como una forma de autoensamble en la nanociencia que se presenta para construir el nanomaterial. Este autoensamble se ve conformado entonces de nanoestructuras tipo 2D y 0D.

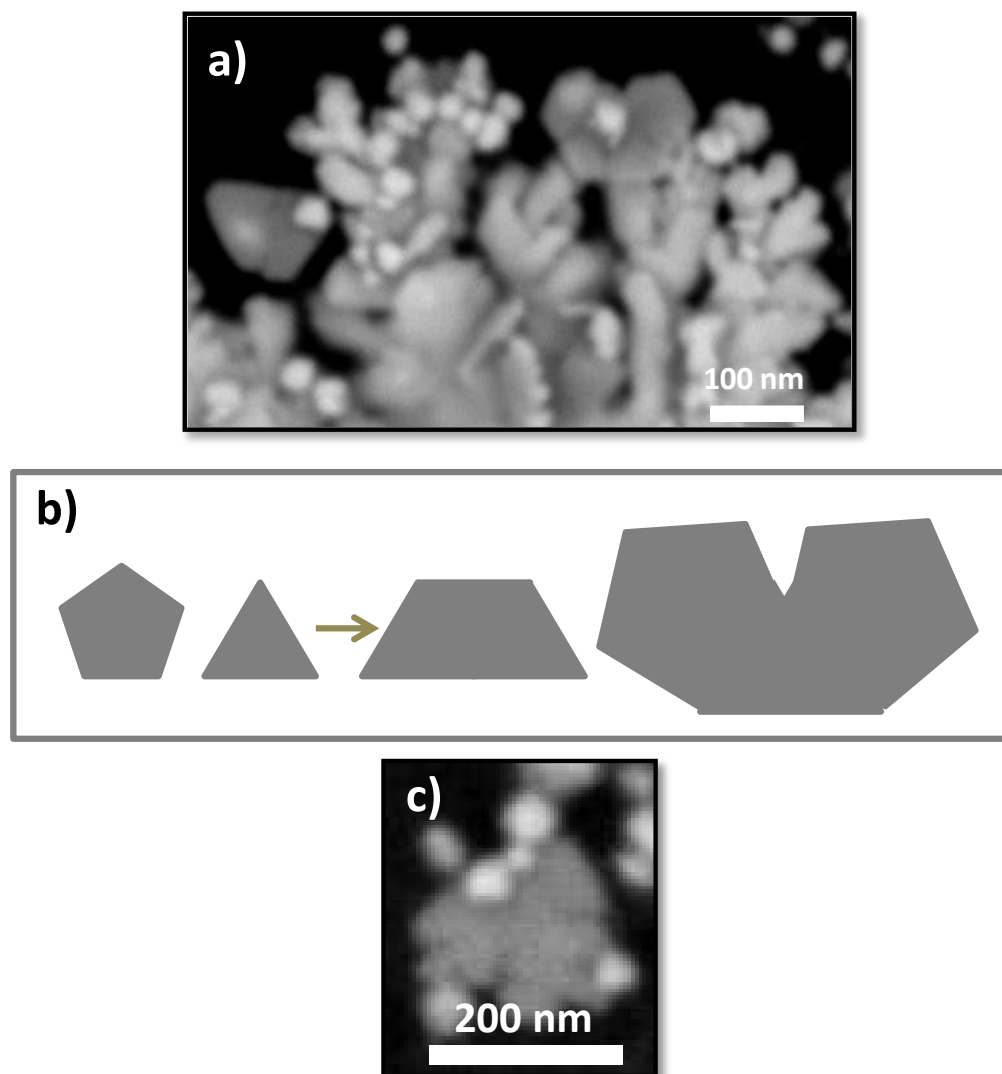


Figura 5.4 a-b) Secuencia de agregación de partículas triangulares y pentagonales, c) las partículas más pequeñas se agregan en los huecos de las más grandes.

Autoensambles de plata y diversas morfologías de partículas de plata se han conseguido mediante síntesis por reducción química aunque nunca por síntesis verde o ecológica. Por ejemplo, Wang y Col. [91] Realizaron autoensambles de nanoflores de Ag con SnO₂ donde se estudia la actividad fotocatalítica las cuales son estructuras muy similares a las de Li y Col. [92] aunque estas estructuras son de BiOCl. Por otro lado Cho y col. [93] realizaron un autoensamble en forma de nano-árbol de Co decorado con plata.

5.1 Mecanismo de la síntesis de nanopartículas de Ag.

Se ha informado que el mecanismo de síntesis de nanopartículas de plata es muy complejo. Las nanopartículas se obtienen por la presencia de entidades biológicas que se encuentran compuestas por un gran número de compuestos orgánicos tales como: hidratos de carbono, grasas, proteínas, enzimas y coenzimas, fenoles, flavonoides, terpenos, alcaloides, etc [94, 95], capaces de donar electrones para la reducción de los iones de Ag a Ag^0 . Aunque se sabe que los radicales libres se generan por las especies reactivas de oxígeno (ROS). Las biomoléculas tales como las proteínas, glicoproteína, lípidos, ácidos grasos, fenoles, flavonoides y azúcares controlan fuertemente la formación de radicales libres [96].

El mecanismo exacto en cada planta varía considerablemente ya que el fotoquímico involucrado varía, aunque el principal mecanismo implicado es la reducción de los iones. Estos fitoquímicos son reclamados en la conducción de electrones lo que involucra las propiedades reductoras, que es un mecanismo complejo ya que existen más de 5.000 fitoquímicos hasta ahora identificados [97].

De esta forma, la síntesis verde de nanopartículas de plata requerirá una extensa investigación que puede durar décadas para dar a conocer las biomoléculas exactas que actúan en la reducción o estabilización de las nanopartículas. No obstante, se ha informado en miles de artículos la capacidad de las plantas para la síntesis de nanopartículas de plata de una forma fácil, rápida y ecológica.

Una de las sustancias reconocidas que puede participar de la bio-reducción son los terpenos. Se debe reconocer que hay más de 50.000 terpenoides [98] que han sido aislados de las plantas terrestres, marinas y hongos, se entiende que eso puede complicar el mecanismo específico de la bio-reducción. Los terpenos son los responsables del olor de las plantas y su molécula básica es el isopreno. Por ejemplo, una clasificación de ellos son los tetraterpenos que poseen ocho unidades isopreno y tienen la fórmula molecular $C_{40}H_{56}$. Los tetraterpenos más importantes biológicamente incluyen al acíclico licopeno, el monocíclico gamma-caroteno y al bicíclico alfa- y beta-caroteno. En la figura 5.5 se observa el Geranodiol que es un terpeno común el cual presenta la molécula de isopreno arriba y una derivación hacia abajo encadenada a otra molécula de isopreno. Así muchas posibilidades de compuestos terpenoides se pueden presentar.

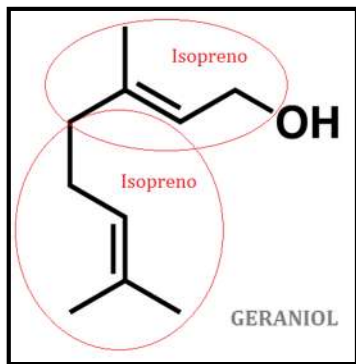


Figura 5.5 Molécula de Geranodiol.

Otras de las sustancias que han sido reportadas como las responsables de la bio-reducción son los flavonoides [99]. Los flavonoides son un grupo grande de compuestos polifenólicos que comprenden varias clases, incluyendo, antocianinas, isoflavonoides, flavonoles, chalconas, flavonas, flavanonas y, que pueden quelar activamente y reducir los iones metálicos en nanopartículas. Los flavonoides forman un grupo de aproximadamente nueve mil metabolitos vegetales que químicamente, pueden ser clasificados como polifenoles o compuestos fenólicos.

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos mediante el estudio de la bioreducción de iones de plata a partir de la sal de plata como nitrato y el extracto de las plantas Pingüica, Gordolobo y Cola de caballo, se puede concluir lo siguiente:

- Tanto las técnicas de caracterización de Uv-vis, MEB, MET y DRX, demostraron que se lograron obtener exitosamente las nanopartículas del metal de plata.
- Las mejores condiciones para la bioreducción de nanopartículas de plata al utilizar las hojas y tallo de gordolobo fueron una concentración del extracto de 1.5 g/ml y concentración de sal precursora igual a 6 mM en presencia de luz a una relación volumétrica extracto-sal de 1:2.
- Las mejores condiciones para la bioreducción de nanopartículas de plata al utilizar las hojas y tallo de cola de caballo fueron una concentración del extracto de 1 g/ml y concentración de sal precursora igual a 12 mM.
- Los estudios indicaron que a partir de las hojas de pingüica no es posible obtener nanopartículas de metal, por el contrario, fueron obtenidas nanopartículas de plata utilizando un extracto del fruto de pingüica. Mientras que mediante el extracto de las hojas y tallo de la planta cola de caballo y gordolobo fue posible bioreducir las nanopartículas de metal.
- De los resultados experimentales influenciados por la ausencia o presencia de la luz, indicaron que independientemente de la planta una velocidad de reducción mayor se registra siempre en presencia de la luz, sin embargo, para un tiempo relativamente pequeño de reacción (20 min), solo resultados de la bioreducción empleando pingüica fueron observados.
- Las mejores condiciones para la bioreducción de nanopartículas de plata al utilizar el fruto de pingüica fueron una concentración del extracto de 2 g/ml y concentración de sal precursora igual a 8 mM.
- Tanto para concentraciones en presencia o ausencia de la luz fue determinado que utilizando el fruto de pingüica y concentraciones relativamente grandes de sal se pueden sintetizar nanoesferas de plata, las cuales aún no se han reportado utilizando síntesis verde.

- Fue notado que con el incremento en el tiempo de reacción desde unos pocos minutos (20) hasta días de reacción las nanoesferas cambian su tamaño y morfología.

ANEXO I

Tabla A.1 Concentrado de resultados de la planta Cola de caballo.

Gramos de planta en 50 ml de agua destilada	Relación extracto-sal	Molaridad (mM)	Detección en UV-Vis (nm)	Forma de partículas	Tamaño promedio de partículas (nm)	
1	1:1	8	427	Esféricas	Menores a 100	
	1:1	9	435	Esféricas	5-35 nm	
	1:2		450	-	-	
	1:3		450	-	-	
	1:4		450	-	-	
	1:5		445	-	-	
	1:6		450	Esféricas	Mayores a 100	
	1:7			-	-	
	1:8			-	-	
	1:9			-	-	
	1:10			-	-	
	1:11			-	-	
	1:12		Semi-esféricas y aglomerados	Mayores a 100		
			10	450	-	-
			1:1	11	440	-
			*12	430	-	-
1.5	1:1	8	No detectado	-	-	
2	1:1	6	No detectado	-	-	

		8	450	-	-
		10	No detectado	-	-
	1:2	6	450	-	-
		8		-	-
		10		-	-
2.5	1:1	8	No detectado	-	-
3	1:1	6	No detectado	-	-
		8		-	-
		10		-	-
	1:2	6	No detectado	-	-
		8		-	-
		10		-	-
4	1:1	6	No detectado	-	-
		8		-	-
		10		-	-
	1:2	6	No detectado	-	-
		8		-	-
		10	478	-	-

**Experimento realizado también bajo la influencia de la luz, donde la diferencia fue que hubo una mayor velocidad de reacción.*

Tabla A.2 Concentrado de resultados de la planta Gordolobo.

Gramos de planta en 50 ml de agua destilada	Relación extracto- sal	Molaridad (mM)	Influencia de la luz	Detección en UV-Vis (nm)	Forma de partículas	Tamaño promedio de partículas (nm)	
1	1:1	6	No	No detectado	-	-	
		8		503	-	-	
		10		No detectado	-	-	
	1:2	6	No	No detectado	-	-	
		8			-	-	
		10			-	-	
1.5	1:1	6	No	No detectado	-	-	
			Sí	425	-	-	
	1:2		No	No detectado	-	-	
			Sí	440	Esféricas y triangulares	10-40	
	1:3		No	No detectado	-	-	
			Sí	450	Esféricas con aglomerados	Menores a 100	
	1:4		No	No detectado	-	-	
			Sí	445	Aglomerados	Mayores a 100	
	1:5		No	No detectado	-	-	
			Sí	445	-	-	
	1:1		8	No	480	Esféricas	Menores a 100

	1:2	10	No	475	-	-
		8		No detectado	Aglomerados	Mayores a 100
10	No detectado	-		-		
2	1:1	6		475	-	-
		8		475	Esféricas	Menores a 100
		10		477	-	-
1:2	1:2	6		No detectado	-	-
		8		Meseta 447-480	-	-
		10		460	-	-

Tabla A.3 Concentrado de resultados de la planta de Pingüica.

Gramos de planta en 50 ml de agua destilada	Relación extracto- sal	Molaridad (mM)	Influencia de la luz	Detección en UV-Vis (nm)	Forma de partículas	Tamaño promedio de partículas (µm)
2	1:1	6	No	460	Nanoestambres	2
			Sí	450	Nanoflores	1
		8	No	460	Nanoflores	3
			Sí	450	Nanoflores	1.5
		10	No	450	Nanoárboles	7
			Sí	450	Cuasiesferas sólidas	1.7

CAPÍTULO 7. REFERENCIAS

- [1] NASROLLAHZADEH M, MOHAMMAD SAJADI S, BABAEI F y MAHAM M. *Euphorbia helioscopia* Linn as a green source for synthesis of silver nanoparticles and their optical and catalytic properties. *Journal of colloid and interface science*. 450(374-380). 2015.
- [2] LOESCHNER K, NAVRATILOVA J, GROMBE R, LINSINGER T P J, KØBLER C, MØLHAVE K y LARSEN E H. In-house validation of a method for determination of silver nanoparticles in chicken meat based on asymmetric flow field-flow fractionation and inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *Food Chemistry*. 181(0), 78-84. 2015.
- [3] PATRA S, MUKHERJEE S, BARUI A K, GANGULY A, SREEDHAR B y PATRA C R. Green synthesis, characterization of gold and silver nanoparticles and their potential application for cancer therapeutics. *Materials Science and Engineering: C*. 53(0), 298-309. 2015.
- [4] ASHOKKUMAR S, RAVI S, KATHIRAVAN V y VELMURUGAN S. Synthesis of silver nanoparticles using *A. indicum* leaf extract and their antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 134(0), 34-39. 2015.
- [5] RAMSDEN J. *Essentials of Nanotechnology*. 2009.
- [6] NGO C y VAN DE VOORDE M. *Nanotechnology in a Nutshell: From Simple to Complex Systems*. 2014.
- [7] VELÁZQUEZ A M. *Una revolución en miniatura: Nanotecnología al servicio de la humanidad*. 2011.
- [8] SCHODEK D L, FERREIRA P y ASHBY M F. *Nanomaterials, Nanotechnologies and Design: An Introduction for Engineers and Architects*. 2009.
- [9] NAGARAJAN R, HATTON T A, COLLOID A C S D O, CHEMISTRY S y MEETING A C S. *Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Passivation, and Functionalization*. 2008.
- [10] GÓMEZ J C. *Utilización de nanopartículas en tribología, generación de energía y catálisis*. 2006.
- [11] MONGE M. *Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas*. *An. Quím.* 105(1), 337-41. 2009.
- [12] LIANG X, GAO G, WU G y YANG H. Synthesis and characterization of novel hierarchical starfish-like vanadium oxide and their electrochemical performance. *Electrochimica Acta*. 188(625-635). 2016.
- [13] YAN Y, CHEN K-B, LI H-R, HONG W, HU X-B y XU Z. Capping effect of reducing agents and surfactants in synthesizing silver nanoplates. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*. 24(11), 3732-3738. 2014.
- [14] SATHISHKUMAR Y, DEVARAYAN K, KI C, RAJAGOPAL K y SOO LEE Y. Shape-controlled extracellular synthesis of silver nanocubes by *Mucor circinelloides*. *Materials Letters*. 159(481-483). 2015.
- [15] THIRUMURUGAN A, ASWITHA P, KIRUTHIKA C, NAGARAJAN S y CHRISTY A N. Green synthesis of platinum nanoparticles using *Azadirachta indica* – An eco-friendly approach. *Materials Letters*. 170(175-178). 2016.

- [16] LI Y, MA J y MA Z. Synthesis of gold nanostars with tunable morphology and their electrochemical application for hydrogen peroxide sensing. *Electrochimica Acta*. 108(435-440). 2013.
- [17] SAADE J y DE ARAÚJO C B. Synthesis of silver nanoprisms: A photochemical approach using light emission diodes. *Materials Chemistry and Physics*. 148(3), 1184-1193. 2014.
- [18] ZANELLA R. Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*. 5(69-81). 2012.
- [19] HANNINK R H J y HILL A J. *Nanostructure Control of Materials*. 2006.
- [20] MONGE M. Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de Química*. 105 (1)(33-41). 2009.
- [21] GHAFARI-MOGHADDAM M, HADI-DABANLOU R, KHAJEH M, RAKHSHANIPOUR M y SHAMELI K. Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 31(4), 548-557. 2014.
- [22] RAJAN R, CHANDRAN K, HARPER S L, YUN S-I y KALAICHELVAN P T. Plant extract synthesized silver nanoparticles: An ongoing source of novel biocompatible materials. *Industrial Crops and Products*. 70(356-373). 2015.
- [23] AHMED S, AHMAD M, SWAMI B L y IKRAM S. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *Journal of Advanced Research*. 7(1), 17-28. 2016.
- [24] XIONG Y y XIA Y. Shape-Controlled Synthesis of Metal Nanostructures: The Case of Palladium. *Advanced Materials*. 19(20), 3385-3391. 2007.
- [25] DE LA FUENTE J M y GRAZU V. *Nanobiotechnology: Inorganic Nanoparticles Vs Organic Nanoparticles*. 2012.
- [26] CAO G. *Nanostructures & Nanomaterials: Synthesis, Properties & Applications*. 2004.
- [27] NAUKAS. *Grandes enigmas de la ciencia: Las curiosidades más sorprendentes de nuestro mundo*. 2013.
- [28] JOSEP SALDAÑA V P, JOAN ESCOFET. *Nanowiki, Manual de Operaciones 1.0*.
- [29] DOMINGO P A S. *La nanotecnología*. 2010.
- [30] CRUZ D A, RODRÍGUEZ M C, LÓPEZ J M, HERRERA V M, ORIVE A G y CREUS A H. NANOPARTÍCULAS METÁLICAS Y PLASMONES DE SUPERFICIE: UNA RELACIÓN PROFUNDA. *Avances en Ciencias e Ingeniería*. 3(67-78). 2012.
- [31] HAJIPOUR M J, FROMM K M, AKBAR ASHKARRAN A, JIMENEZ DE ABERASTURI D, LARRAMENDI I R D, ROJO T, SERPOOSHAN V, PARAK W J y MAHMOUDI M. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*. 30(10), 499-511. 2012.
- [32] RAMYA M y SUBAPRIYA M S. Green synthesis of silver nanoparticles. *International Journal of pharma medicine and biological sciences*. 1(2012).
- [33] SHARMA V K, YNGARD R A y LIN Y. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*. 145(1-2), 83-96. 2009.
- [34] RAIM, YADAV A y GADE A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*. 27(1), 76-83. 2009.
- [35] ALVARADO R, SOLERA F y VEGA-BAUDRIT J. SÍNTESIS SONOQUÍMICA DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE CINCO Y DE PLATA ESTABILIZADAS CON

- QUITOSANO. EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 15(134-148). 2014.
- [36] DURÁN N, DURÁN M, DE JESUS M B, SEABRA A B, FÁVARO W J y NAKAZATO G. Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 12(3), 789-799. 2016.
- [37] STARKE L y INSTITUTE W. La situación del mundo 2006: informe anual del Worldwatch Institute sobre progreso hacia una sociedad sostenible. 2006.
- [38] ABOU EL-NOUR K M M, EFTAIHA A A, AL-WARTHAN A y AMMAR R A A. Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry*. 3(3), 135-140. 2010.
- [39] MO Y-Y, TANG Y-K, WANG S-Y, LIN J-M, ZHANG H-B y LUO D-Y. Green synthesis of silver nanoparticles using eucalyptus leaf extract. *Materials Letters*. 144(165-167). 2015.
- [40] DAS J, PAUL DAS M y VELUSAMY P. Sesbania grandiflora leaf extract mediated green synthesis of antibacterial silver nanoparticles against selected human pathogens. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 104(0), 265-270. 2013.
- [41] KUPPUSAMY P, ICHWAN S J A, PARINE N R, YUSOFF M M, MANIAM G P y GOVINDAN N. Intracellular biosynthesis of Au and Ag nanoparticles using ethanolic extract of Brassica oleracea L. and studies on their physicochemical and biological properties. *Journal of Environmental Sciences*. 29(0), 151-157. 2015.
- [42] RATHI SRE P R, REKA M, POOVAZHAGI R, ARUL KUMAR M y MURUGESAN K. Antibacterial and cytotoxic effect of biologically synthesized silver nanoparticles using aqueous root extract of Erythrina indica lam. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 135(0), 1137-1144. 2015.
- [43] CHOWDHURY I, GHOSH S, ROY M y NASKAR M. Green synthesis of water-dispersible silver nanoparticles at room temperature using green carambola (star fruit) extract. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. 73(1), 199-207. 2015.
- [44] SHANKAR S, CHORACHOO J, JAISWAL L y VORAVUTHIKUNCHAI S P. Effect of reducing agent concentrations and temperature on characteristics and antimicrobial activity of silver nanoparticles. *Materials Letters*. 137(0), 160-163. 2014.
- [45] BINDHU M R y UMADEVI M. Synthesis of monodispersed silver nanoparticles using Hibiscus cannabinus leaf extract and its antimicrobial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 101(0), 184-190. 2013.
- [46] VIJAY KUMAR P P N, PAMMI S V N, KOLLU P, SATYANARAYANA K V V y SHAMEEM U. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Boerhaavia diffusa plant extract and their anti bacterial activity. *Industrial Crops and Products*. 52(0), 562-566. 2014.
- [47] IBRAHIM H M M y HASSAN M S. Characterization and antimicrobial properties of cotton fabric loaded with green synthesized silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*.
- [48] GALLARDO-PÉREZ J C, DE LOURDES ESPARZA-AGUILAR M y GÓMEZ-CAMPOS A. Importancia etnobotánica de una planta vascular sin semilla en México: Equisetum. 2006.
- [49] DE LOS DOLORES BARBA AVILA M, DUQUE M C H y DE LA CERDA LEMUS M. Plantas útiles de la región semiárida de Aguascalientes. 2003.
- [50] ALFARO M Á M, OLIVA V E, CRUZ M M, GARCÍA G M, OLAZCOAGA G T y LEÓN A W. Catalogo de plantas utiles de la sierra norte de Puebla, México. 2001.

- [51] UNAM. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana [en línea]. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php> [Consultado 2016].
- [52] HERNÁNDEZ B C R, ARELLANO G R, DE ALBA GARCÍA J E G, HERNÁNDEZ J Z, ROCHA A L S y DE ALBA VERDUZCO J G. Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *Desacatos. Revista de Antropología Social.* 39), 29-44. 2013.
- [53] HAIAT S W y BUCAY J W. Algunas plantas utilizadas en México para el tratamiento del asma. *An Orl Mex.* 54(4), 155. 2009.
- [54] RIVAS H G y NARRO J. *Cocina prehispánica mexicana: la comida de los antiguos mexicanos.* 1991.
- [55] PÉREZ G. Espectrometría ultravioleta-visible [en línea]. Disponible en: http://www.espectrometria.com/espectrometra_ultravioleta-visible [Consultado 2016].
- [56] CARDEÑO CALLE L y LONDOÑO M E. Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo (*Allium sativum*). 2014.
- [57] MULFINGER L, SOLOMON S D, BAHADORY M, JEYARAJASINGAM A V, RUTKOWSKY S A y BORITZ C. Synthesis and study of silver nanoparticles. *Journal of chemical education.* 84(2), 322. 2007.
- [58] ŠILEIKAITĖ A, PROSYČEVAS I, PUIŠO J, JURAITIS A y GUOBIENĖ A. Analysis of silver nanoparticles produced by chemical reduction of silver salt solution. *Mater. Sci.-Medzg.* 12(287-291). 2006.
- [59] CATALDO F. Green synthesis of silver nanoparticles by the action of black or green tea infusions on silver ions. *European Chemical Bulletin.* 3(3), 280-289. 2014.
- [60] HUANG X y EL-SAYED M A. Gold nanoparticles: Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. *Journal of Advanced Research.* 1(1), 13-28. 2010.
- [61] BAGHIZADEH A, RANJBAR S, GUPTA V K, ASIF M, POURSEYEDI S, KARIMI M J y MOHAMMADINEJAD R. Green synthesis of silver nanoparticles using seed extract of *Calendula officinalis* in liquid phase. *Journal of Molecular Liquids.* 207(159-163). 2015.
- [62] POOLE C P y OWENS F J. *Introducción a la nanotecnología.* 2007.
- [63] MANIKANDAN R, MANIKANDAN B, RAMAN T, ARUNAGIRINATHAN K, PRABHU N M, JOTHI BASU M, PERUMAL M, PALANISAMY S y MUNUSAMY A. Biosynthesis of silver nanoparticles using ethanolic petals extract of *Rosa indica* and characterization of its antibacterial, anticancer and anti-inflammatory activities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* 138(120-129). 2015.
- [64] JEEVA K, THIYAGARAJAN M, ELANGO VAN V, GEETHA N y VENKATACHALAM P. *Caesalpinia coriaria* leaf extracts mediated biosynthesis of metallic silver nanoparticles and their antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Industrial Crops and Products.* 52(714-720). 2014.
- [65] KONJARI R S, JACOB A A, JAYANTHI S, RAMALINGAM C y ETHIRAJ A S. INVESTIGATION OF BIOGENIC SILVER NANOPARTICLES GREEN SYNTHESIZED FROM *CARICA PAPAYA*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 7(3), 2015.
- [66] GENGAN R M, ANAND K, PHULUKDAREE A y CHUTURGOON A. A549 lung cell line activity of biosynthesized silver nanoparticles using *Albizia adianthifolia* leaf. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 105(87-91). 2013.

- [67] THIRUNAVOUKKARASU M, BALAJI U, BEHERA S, PANDA P K y MISHRA B K. Biosynthesis of silver nanoparticle from leaf extract of *Desmodium gangeticum* (L.) DC. and its biomedical potential. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 116(424-427). 2013.
- [68] RAJAKUMAR G y ABDUL RAHUMAN A. Acaricidal activity of aqueous extract and synthesized silver nanoparticles from *Manilkara zapota* against *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Research in Veterinary Science*. 93(1), 303-309. 2012.
- [69] SANKAR R, KARTHIK A, PRABU A, KARTHIK S, SHIVASHANGARI K S y RAVIKUMAR V. *Origanum vulgare* mediated biosynthesis of silver nanoparticles for its antibacterial and anticancer activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 108(80-84). 2013.
- [70] RITHEESH RAJ D, PRASANTH S, VINEESHKUMAR T V y SUDARSANAKUMAR C. Surface plasmon resonance based fiber optic dopamine sensor using green synthesized silver nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 224(600-606). 2016.
- [71] ASHOKKUMAR S, RAVI S y VELMURUGAN S. Green synthesis of silver nanoparticles from *Gloriosa superba* L. leaf extract and their catalytic activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 115(388-392). 2013.
- [72] VIVEK R, THANGAM R, MUTHUCHELIAN K, GUNASEKARAN P, KAVERI K y KANNAN S. Green biosynthesis of silver nanoparticles from *Annona squamosa* leaf extract and its in vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells. *Process Biochemistry*. 47(12), 2405-2410. 2012.
- [73] DWIVEDI A D y GOPAL K. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 369(1-3), 27-33. 2010.
- [74] JENSEN T R, MALINSKY M D, HAYNES C L y VAN DUYN R P. Nanosphere Lithography: Tunable Localized Surface Plasmon Resonance Spectra of Silver Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*. 104(45), 10549-10556. 2000.
- [75] DONG C, CAO C, ZHANG X, ZHAN Y, WANG X, YANG X, ZHOU K, XIAO X y YUAN B. Wolfberry fruit (*Lycium barbarum*) extract mediated novel route for the green synthesis of silver nanoparticles. *Optik - International Journal for Light and Electron Optics*. 130(162-170). 2017.
- [76] GU C y ZHANG T-Y. Electrochemical synthesis of silver polyhedrons and dendritic films with superhydrophobic surfaces. *Langmuir*. 24(20), 12010-12016. 2008.
- [77] DONG J, ZHENG H, YAN X, SUN Y y ZHANG Z. Fabrication of flower-like silver nanostructure on the Al substrate for surface enhanced fluorescence. *Applied Physics Letters*. 100(5), 051112. 2012.
- [78] BIAN J, SHU S, LI J, HUANG C, LI Y Y y ZHANG R-Q. Reproducible and recyclable SERS substrates: Flower-like Ag structures with concave surfaces formed by electrodeposition. *Applied Surface Science*. 333(126-133). 2015.
- [79] ZHANG J, LIU Q, YANG W, YANG B, WU M, YANG J, WU Q, WU B y LIN J. Facile fabrication and catalytic property of 'flower-like' silver nanoparticles. *Micro & Nano Letters, IET*. 7(4), 370-372. 2012.
- [80] XU M y ZHANG Y. Seed-mediated approach for the size-controlled synthesis of flower-like Ag mesostructures. *Materials Letters*. 130(9-13). 2014.
- [81] SÁNCHEZ G R, CASTILLA C L, GÓMEZ N B, GARCÍA A, MARCOS R y CARMONA E R. Leaf extract from the endemic plant *Peumus boldus* as an effective

- bioproduct for the green synthesis of silver nanoparticles. *Materials Letters*. 183(255-260). 2016.
- [82] KUMAR B, SMITA K, CUMBAL L y DEBUT A. Green synthesis of silver nanoparticles using Andean blackberry fruit extract. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2015.
- [83] MOLDOVAN B, DAVID L, ACHIM M, CLICHICI S y FILIP G A. A green approach to phytomediated synthesis of silver nanoparticles using *Sambucus nigra* L. fruits extract and their antioxidant activity. *Journal of Molecular Liquids*. 221(271-278). 2016.
- [84] KUMAR B, SMITA K, DEBUT A y CUMBAL L. Extracellular green synthesis of silver nanoparticles using Amazonian fruit Araza (*Eugenia stipitata* McVaugh). *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*. 26(9), 2363-2371. 2016.
- [85] BANKAR A, JOSHI B, KUMAR A R y ZINJARDE S. Banana peel extract mediated novel route for the synthesis of silver nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 368(1-3), 58-63. 2010.
- [86] KAMESWARA S S, DAYAL G D, BAHADUR P D, KUMAR M P y NATH U S. Light Induced Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Aqueous Extract of *Prunus amygdalus*. *Green and Sustainable Chemistry*. 6(26-33). 2016.
- [87] AHMED K B A, SENTHILNATHAN R, MEGARAJAN S y ANBAZHAGAN V. Sunlight mediated synthesis of silver nanoparticles using redox phytoprotein and their application in catalysis and colorimetric mercury sensing. *ScienceDirectJournal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 39-45. 2015.
- [88] ZARGAR M, SHAMELI K, NAJAFI G R y FARAHANI F. Plant mediated green biosynthesis of silver nanoparticles using *Vitex negundo* L. extract. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 20(6), 4169-4175. 2014.
- [89] SHIVANANDA C S, ASHA S, MADHUKUMAR R, SATISH S, NARAYANA B, BYRAPPA K, YOUJIANG W y SANGAPPA Y. Biosynthesis of colloidal silver nanoparticles: their characterization and antibacterial activity. *Biomedical Physics & Engineering Express*. 2(3), 035004. 2016.
- [90] BABU S A y PRABU H G. Synthesis of AgNPs using the extract of *Calotropis procera* flower at room temperature. *Materials Letters*. 65(11), 1675-1677. 2011.
- [91] WANG X, FAN H y REN P. Self-assemble flower-like SnO₂/Ag heterostructures: Correlation among composition, structure and photocatalytic activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 419(140-146). 2013.
- [92] LI Y, TIAN Y, ZHANG R, MA L, ZHOU C y TIAN X. Hierarchical BiOCl microspheres with narrow band gap as visible light active photocatalysts. *Inorganica Chimica Acta*. 439(123-129). 2016.
- [93] CHO Y-B, MOON S, LEE C y LEE Y. One-Pot Electrodeposition of Cobalt Flower-Decorated Silver Nanotrees for Oxygen Reduction Reaction. *Applied Surface Science*.
- [94] SUN Q, CAI X, LI J, ZHENG M, CHEN Z y YU C-P. Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 444(226-231). 2014.
- [95] SRIKAR S K, GIRI D D, PAL D B, MISHRA P K y UPADHYAY S N. Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Review. *Green and Sustainable Chemistry*. 6(34-56). 2016.
- [96] MARAMBIO-JONES C y HOEK E M V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *Journal of Nanoparticle Research*. 12(5), 1531-1551. 2010.

- [97] RK S, D S, K P, S G, I S y A S. Green Synthesis of Silver Nanoparticles using Plants. *International Journal of Nanomedicine and Nanosurgery*. 2.2(2016).
- [98] YAMADA Y, KUZUYAMA T, KOMATSU M, SHIN-YA K, OMURA S, CANE D E y IKEDA H. Terpene synthases are widely distributed in bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 112(3), 857-862. 2015.
- [99] MAKAROV V V, LOVE A J, SINITSYNA O V, MAKAROVA S S, YAMINSKY I V, TALIANSKY M E y KALININA N O. "Green" Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants. *Acta Naturae*. 6(1), 35-44. 2014.