



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN  
NICOLÁS DE HIDALGO  
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN  
METALURGIA Y MATERIALES



---

PROGRAMA DE MAESTRIA EN METALURGIA Y CIENCIAS DE  
LOS MATERIALES

**“Síntesis verde y optimización de nanopartículas y ensambles de  
plata empleando los extractos de las plantas *Larrea tridentata* y  
*Arctostphylos Pungens Kunth* y su evaluación antibacterial y  
catalítica”**

**TESIS**

PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN METALURGIA Y CIENCIAS DE LOS  
MATERIALES**

PRESENTA:

**Ing. Miguel Ángel Vázquez González**

Director de Tesis:

**Dr. Gerardo Antonio Rosas Trejo**

Morelia, Michoacán, México, Mayo del 2017.

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias Dios por permitirme terminar otro objetivo en mi vida por darme la fuerza, la inteligencia y la paciencia para lograrlo.

Agradezco profundamente a mi familia por siempre apoyarme y estar conmigo siempre.

Al Dr. Gerardo Antonio Rosas Trejo, por guiarme, apoyarme, enseñarme y aconsejarme en todo este ciclo de estudio.

Agradezco al comité tutorial: Dra. Ma. Eugenia Contreras, Dra. Diana Cholico, Dr. Guillermo Carreón, Dr. Ariosto Medina y al Dr. Jorge Verduzco por otorgarme su tiempo para colaborar y aconsejar en la revisión de tesis.

Finalmente agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo financiero otorgado, para la realización de este proyecto durante este tiempo.

## **DEDICATORIA**

Para ti quien eres y serás siempre lo más grande en mi vida, lo que hace que luche y logre cada una de mis metas, a ti que siempre estas a mi lado y nunca me abandonas, en quien siempre confío y todo para él es posible, con todo cariño a ti DIOS MÍO.

Para ti mopri, que estas en el cielo con todo mi cariño, mi Rafita.

Para mis padres que gracias a ellos soy lo que soy, y que gracias a ustedes he llegado a donde estoy, los amo.

Para mis hermanos Lupe, Machis, Cami, Maki, Marck, Lolis y Dianita: quienes siempre me han otorgado su apoyo, confianza y amor.

Para mi novia Gore que siempre me apoya y me comprende en todo, para ti amor.

Para todos mis familiares y amigos, para ustedes con mucho cariño.

## ÍNDICE GENERAL

|  |      |
|--|------|
| AGRADECIMIENTOS .....  | ii   |
| DEDICATORIA .....  | iii  |
| ÍNDICE GENERAL .....   | iv   |
| ÍNDICE DE TABLAS .....   | vi   |
| ÍNDICE DE FIGURAS .....  | vii  |
| RESUMEN .....  | xiii |
| ABSTRACT.....  | xiv  |
| CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN .....  | 1    |
| 1.1 Objetivo General .....   | 2    |
| 1.2 Objetivos Particulares .....   | 2    |
| 1.3 Justificación.....   | 3    |
| 1.4 Hipótesis.....   | 3    |
| CAPÍTULO II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....   | 4    |
| 2.1 Nanociencia y Nanotecnología.....  | 4    |
| 2.2 Métodos de Síntesis de nanopartículas (Nps) .....  | 7    |
| 2.3 Síntesis Verde.....  | 10   |
| 2.4 Características de la planta <i>Larrea tridentata</i> .....                                  | 12   |
| 2.5 Características de la planta <i>Arctostphylos Pungens Kunth</i> .....                        | 12   |
| 2.6 Actividad Antibacterial de las AgNps.....  | 13   |
| 2.7 Antecedentes .....   | 14   |
| CAPÍTULO III METODOLOGÍA .....   | 33   |
| 3.1 Adquisición de la planta <i>Larrea tridentata</i> y <i>Arctostphylos Pungens Kunth</i> ..... | 33   |
| 3.2 Preparación del extracto .....   | 34   |

|  |   |    |
|--|---|----|
| 3.3                                      | Preparación de las soluciones molares .....                                     | 34 |
| 3.4                                      | Síntesis de nanopartículas de plata.....  | 34 |
| 3.5                                      | Caracterización óptica, química y estructural .....                             | 35 |
| 3.6                                      | Prueba Antibacterial.....   | 36 |
| 3.7                                      | Prueba catalítica (degradación del Azul de Metileno) .....                      | 37 |
| CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN ..... |   | 38 |
| 4.1                                      | Resultados de la planta <i>Larrea tridentata</i> .....                          | 38 |
| 4.2                                      | Resultados de la planta <i>Arctosthylos Pungens Kunth</i> .....                 | 50 |
| 4.3                                      | Discusión de resultados .....   | 87 |
| 4.3.1                                    | Mecanismo de reacción .....   | 87 |
| 4.3.2                                    | Capacidad de las plantas de reducir, estabilizar y modificadores de forma. .... | 87 |
| 4.3.3                                    | Propiedades antibacteriales y fotocatalíticas. ....                             | 88 |
| CAPÍTULO V CONCLUSIONES .....            |   | 90 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....         |   | 92 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| Tabla 2.1 Nanoestructuras de las diferentes categorías (0D, 1D, 2D, 3D) [14]. ..... | 6  |
| Tabla 2.2 Sustancias involucradas en la síntesis de AgNps en disolución [16]. ..... | 9  |
| Tabla 2.3 Actividad Antibacterial de AgNps sintetizadas [27]. .....                 | 17 |
| Tabla 4.1 Resultados de la prueba catalítica. ....                                  | 89 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 2.1</b> Comparación de diversos seres vivos complejos hasta moléculas y átomos relacionados con la escala nanométrica [11].   | 4  |
| <b>Figura 2.2</b> Imágenes de microscopía electrónica de diferentes materiales nanoestructurados. (a) nanopartículas de Paladio (0D), (b) nanotubo de sílice (1D) y (c) Sílice con porosidad ordenada de forma cúbica en el rango de los nanómetros (3D) [14].          | 7  |
| <b>Figura 2.3</b> Síntesis química de AgNps.  | 8  |
| <b>Figura 2.4</b> Micrografías de MET y HR-MET de nanovaras de $Mn_3O_4$ . Obtenidas por el método coloidal, del lado derecho se muestran el patrón de difracción de electrones [15].   | 8  |
| <b>Figura 2.5</b> Estrategia de Reacción en la síntesis verde de AgNps.   | 13 |
| <b>Figura 2.6</b> Diagrama esquemático de la actividad antimicrobiana de AgNps (a) Muerte celular debido a la lisis de la membrana celular. (B) Muerte celular debida a ruptura en el ADN [26].   | 14 |
| <b>Figura 2.7</b> Extracto acuoso de la planta <i>Cassia tora</i> con $AgNO_3$ (a) y después del tratamiento con $AgNO_3$ (b) [27].   | 15 |
| <b>Figura 2.8</b> Espectro de UV-Vis de nanopartículas de plata sintetizadas [27].  | 15 |
| <b>Figura 2.9</b> Patrón de DRX de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extracto de <i>Cassia tora</i> [27].  | 16 |
| <b>Figura 2.10</b> Micrografía de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas [27].   | 17 |
| <b>Figura 2.11</b> (A) Espectros UV-visible de nanopartículas C. papaya obtenidos con la hoja de la planta. (B) FTIR de nanopartículas de plata. (C) Microscopía electrónica de barrido (MEB) micrografías de nanopartículas de plata sintetizadas [28].                | 18 |
| <b>Figura 2.12</b> (A y B) Micrografías obtenidas por MET de la síntesis verde de AGNPS y el histograma(C) que muestra la distribución de tamaño de partícula. (D)Patrón de DRX de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extracto de hoja de C. papaya [28]. | 19 |
| <b>Figura 2.13</b> (A) Espectro de UV-Vis de AgNps a diferentes tiempos de reacción. (B) Imágenes de MET de AgNps sintetizadas [30].  | 20 |
| <b>Figura 2.14</b> Espectro de UV-Vis a diferentes tiempos de reacción de la síntesis de AgNps a partir del extracto S. laureola. B) cambio de color de la reacción de síntesis [31].   | 20 |
| <b>Figura 2.15</b> Imágenes de MEB mostrando la morfología y tamaño de las nanopartículas sintetizadas [31].  | 21 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 2.16</b> Análisis de microscopía electrónica de AgNps sintetizadas con extracto de Tamarix gallica: a) imagen MEB, b) análisis EDS, c) micrografía MET, d) micrografía HRTEM mostrando los planos cristalinos de plata, y e) análisis de distribución de tamaños [1]. ..... | 21 |
| <b>Figura 2.17</b> Actividad antimicrobiana de los AgNps obtenidas con el extracto de Tamarix gallica [1]. .....  | 22 |
| <b>Figura 2.18</b> Imágenes de MEB de AgNps obtenidas cambiando la concentración de AgNO <sub>3</sub> (PVP se mantuvo igual) en solución de reacción y la agitación vigorosa de reacción. Todas las cotas son de 300 nm [32]......  | 23 |
| <b>Figura 2.19</b> Patrones de DRX de AgNps obtenidos cambiando la concentración de AgNO <sub>3</sub> : a) 0,06 mol / L, (b) 0,08 mol / L, (c) 0,1 mol / L; (d) 0,06 mol / L (mezclando la solución de reacción en campo ultrasónico) [32]. .....                                     | 23 |
| <b>Figura 2.20</b> (a) - (c) Micrografías de MEB en nanoestructuras de Ag. Todas las barras de escala son de 250 nm. (d) espectros UV-vis de once muestras tomadas de la misma reacción entre 0,5 h y 48 h [32]. .....  | 24 |
| <b>Figura 2.21</b> Imágenes de MEB del producto de síntesis (a, b); Imagen de MET (c) de una partícula individual tipo flor a alta amplificación; Patrón de difracción de electrones de la muestra (d) [33]......   | 25 |
| <b>Figura 2.22</b> Patrón de DRX de la muestra [33]. .....  | 25 |
| <b>Figura 2.23</b> Imágenes de MEB de partículas de Ag manteniendo las mismas condiciones con ayuda de acero a diversas temperaturas: (a) 343 K, (b) 333 K, (c) 303 K, y (d) 273 K [33]. .....  | 26 |
| <b>Figura 2.24</b> Imágenes de MET de nanopartículas de plata a concentraciones de PVP de (NTa) 0,005 g / mL, (NTb) 0,010 g / mL y (NTc) 0,015 g / mL [34]......  | 27 |
| <b>Figura 2.25</b> Imágenes de MET de nanopartículas de plata a una concentración de PVP de 0,020 g / mL (NTd) [34]......   | 28 |
| <b>Figura 2.26</b> Formación de nanodendritas de plata [34]......   | 29 |
| <b>Figura 2.27</b> Imágenes de MEB de estructuras dendríticas de plata, sintetizadas a diferentes temperaturas y concentraciones. Ambos factores influyen en la estructura de las dendritas de plata, no se puede deducir la regularidad [35]......                                   | 30 |
| <b>Figura 2.28</b> Una regulación de la velocidad de reacción (a) y estructuras de plata (b - d) sintetizadas a diferentes velocidades de reacción. Las barras de escala insertadas son de 2 μm [35]. .....   | 31 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 2.29</b> Imágenes de MET de estructuras dendríticas de plata formadas a diferentes niveles de reacción y difusión. Las cotas son de 2 $\mu\text{m}$ [35]. .....  | 31 |
| <b>Figura 3.1</b> Diagrama del procedimiento experimental. ....  | 33 |
| <b>Figura 3.2</b> Procedimiento para la preparación de muestra en el equipo MEB. ....  | 35 |
| <b>Figura 3.3</b> Procedimiento para la preparación de muestra en el equipo MET. ....  | 36 |
| <b>Figura 4.1</b> Espectros de UV-Vis de la concentración 5 mM de $\text{AgNO}_3$ variando la masa 0.5 a 1.5 g de la planta <i>Larrea tridentata</i> en 50 mL de agua destilada. ....                            | 38 |
| <b>Figura 4.2</b> Espectros de UV-Vis variando la concentración molar de 1 a 9 mM de $\text{AgNO}_3$ , manteniendo la concentración del extracto de <i>Larrea tridentata</i> 0.03 g/mL. ....                     | 39 |
| <b>Figura 4.3</b> Espectros de UV-Vis de la concentración 0.03 g/mL de extracto de <i>Larrea tridentata</i> y 9 mM de $\text{AgNO}_3$ respecto al tiempo. ....   | 40 |
| <b>Figura 4.4</b> Espectros de UV-Vis de la concentración 0.03 g/mL de extracto de <i>Larrea tridentata</i> y 7 mM de $\text{AgNO}_3$ respecto al tiempo. ....   | 41 |
| <b>Figura 4.5</b> Espectros de UV-Vis de la concentración 0.03 g/mL de extracto de <i>Larrea tridentata</i> y 5 mM de $\text{AgNO}_3$ , respecto al tiempo. ....   | 41 |
| <b>Figura 4.6</b> Espectros de UV-Vis de la concentración 0.03 g/mL de extracto de <i>Larrea tridentata</i> y 5 mM de $\text{AgNO}_3$ variando el tiempo de exposición a la luz solar desde 5 a 150 min. ....    | 42 |
| <b>Figura 4.7</b> Espectros de UV-Vis de la concentración 0.03 g/mL de extracto de <i>Larrea tridentata</i> y 5 mM de $\text{AgNO}_3$ , variando el tiempo de exposición en baño ultrasónico de 5 a 65 min. .... | 43 |
| <b>Figura 4.8</b> Espectros de UV-Vis de la concentración 0.03 g/mL de extracto de <i>Larrea tridentata</i> y 5 mM de $\text{AgNO}_3$ variando el tiempo de agitación de 20 a 70 min. ....                       | 43 |
| <b>Figura 4.9</b> Imágenes de MEB a diferentes ampliaciones mostrando las AgNps sintetizadas; (a) X40,000 y (b) X100,000. ....   | 44 |
| <b>Figura 4.10</b> EDS de las AgNps sintetizadas con 0.03 g/mL de extracto de <i>Larrea tridentata</i> y 5 mM de $\text{AgNO}_3$ a 48 horas. ....  | 45 |
| <b>Figura 4.11</b> (a) y (b) Imágenes de MET de campo claro de las AgNps y (c) histograma. ....  | 46 |
| <b>Figura 4.12</b> Imágenes de campo claro mostrando el encadenamiento de AgNps a diferentes magnificaciones. ....   | 46 |
| <b>Figura 4.13</b> (a)-(c) Imágenes de alta resolución de algunas Nanopartículas de Plata y (b)- (d) FTT de las partículas. ....   | 47 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 4.14</b> Difractograma de rayos X de las AgNps sintetizadas con 0.03 g/mL de extracto de <i>Larrea tridentata</i> y 5 mM de AgNO <sub>3</sub> a 48 horas. ....  | 48 |
| <b>Figura 4.15</b> Espectros de FTIR (a) de la planta <i>Larrea tridentata</i> y (b) de las AgNps sintetizadas con la planta.....   | 49 |
| <b>Figura 4.16</b> Halos de inhibición de la bacteria <i>E.coli</i> por efecto de las AgNps.....  | 50 |
| <b>Figura 4.17</b> Espectros de UV-Vis concentración del extracto de <i>Arctosthylos Pungens Kunth</i> de 0.04 g/mL y empleando 3 mM de AgNO <sub>3</sub> .....   | 51 |
| <b>Figura 4.18</b> Imágenes de MEB a distintas ampliaciones de las partículas sintetizadas con la concentración de extracto 0.04 g/mL de pingüica con 5mM de AgNO <sub>3</sub> . (a)-(b) X10,000, (c) X40,000 y (d)-(e) X100,000..... | 52 |
| <b>Figura 4.19</b> Micrografías de MEB a diferentes ampliaciones de dendritas y AgNps sintetizadas con 0.04 g/mL y 5mM de AgNO <sub>3</sub> . (a) X20,000, (b)-(c) X40,000, (d) X50,000 y (e) X100,000. ....                          | 54 |
| <b>Figura 4.20</b> Imágenes de MEB a diferentes ampliaciones de aglomerados de AgNps después de 3 meses de reacción.(a) X10,000, (b) X20,000 y (c) X40,000. ....  | 55 |
| <b>Figura 4.21</b> Micrografías de MEB del producto de síntesis de AgNps después de 3 meses de reacción.(a) X10,000, (b)-(c)-(d) X40,000 y (e) X100,000.....  | 56 |
| <b>Figura 4.22</b> EDS de los productos obtenidos usando la concentración de extracto de <i>Arctosthylos Pungens Kunth</i> en 0.04 g/mL y 3 mM de AgNO <sub>3</sub> .....   | 57 |
| <b>Figura 4.23</b> Espectros de UV-Vis concentración de extracto de <i>Arctosthylos Pungens Kunth</i> de 0.04 g/mL y 5 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....   | 58 |
| <b>Figura 4.24</b> Imágenes de MEB a las 48 horas de reacción de 0.04 g/mL de extracto de pingüica con 7 mM de AgNO <sub>3</sub> . (a) X2,500, (b) X10,000 y (c)-(d) X20,000.....   | 59 |
| <b>Figura 4.25</b> Imágenes de MEB de las partículas sintetizadas a las 48 horas de reacción a diferentes ampliaciones. (a) X25,000, (b) X40,000, (c) X60,000 y (d) X100,000. ....  | 60 |
| <b>Figura 4.26</b> Imágenes de MEB de partículas dendríticas sintetizadas a las 48 horas a diferentes ampliaciones. (a) X30,000, (b) X50,000 y (c) X100,000.....  | 61 |
| <b>Figura 4.27</b> (a) Micrografía de MET obtenida por campo claro, (b) imagen de alta resolución y (c) FTT.....  | 62 |
| <b>Figura 4.28</b> Imágenes de MEB después de 3 meses de reacción a diferentes ampliaciones.(a) X5,000 y (b)-(c)-(d) X10,000. ....  | 63 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 4.29</b> Micrografías de MEB después de 3 meses de reacción.(a) X20,000, (b)-(c) X40,000 y (d) X100,000.....  | 64 |
| <b>Figura 4.30</b> EDS correspondiente a los productos usando la concentración de extracto de <i>Arctostphylos Pungens Kunth</i> en 0.04 g/mL y 5 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....    | 65 |
| <b>Figura 4.31</b> Espectros de UV-Vis de la concentración correspondiente a 0.04 g/mL de <i>Arctostphylos Pungens Kunth</i> con 7 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....                   | 65 |
| <b>Figura 4.32</b> Imágenes de MEB de partículas sintetizadas después 48 horas de reacción. (a) X2500 y (b)-(c) X10,000. ....   | 66 |
| <b>Figura 4.33</b> (a)-(b) Micrografías de MEB de partículas sintetizadas a 48 horas de reacción a X40,000. ....  | 67 |
| <b>Figura 4.34</b> Imágenes de MEB de partículas sintetizadas a 48 horas de reacción a diferentes ampliificaciones.(a) X10,000, (b) X25,000 y (c) X100,000. ....                    | 67 |
| <b>Figura 4.35</b> (a)-(b) Imágenes de MET (campo claro), (c) imagen de alta resolución y (d) FTT. ....   | 68 |
| <b>Figura 4.36</b> Micrografía de contraste Z. ....   | 69 |
| <b>Figura 4.37</b> Imágenes de MEB de partículas a 3 meses de reacción. (a) X2,500, (b) X5,000, (c) X10,000 y (d) X20,000. ....   | 70 |
| <b>Figura 4.38</b> Micrografías de MEB a distintas ampliificaciones a 3 meses de reacción. (a) X10,000 y (b)-(c) X40,000. ....  | 71 |
| <b>Figura 4.39</b> EDS de la biosíntesis de Nps obtenidas usando la concentración de extracto de <i>Arctostphylos Pungens Kunth</i> en 0.04 g/mL y 7 mM de AgNO <sub>3</sub> . .... | 72 |
| <b>Figura 4.40</b> Espectros de UV-Vis de la concentración 0.04 g/mL de la planta <i>Arctostphylos Pungens Kunth</i> con 9 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....                           | 72 |
| <b>Figura 4.41</b> Imágenes de MEB de partículas sintetizadas con un tiempo de reacción de 48 horas. (a) X2500, (b) X10,000 y (c)-(d) X40,000. ....                                 | 73 |
| <b>Figura 4.42</b> Micrografías de MEB de partículas sintetizadas con un tiempo de reacción de 48 horas.(a) X20,000 y (b) X20,000. ....   | 74 |
| <b>Figura 4.43</b> Imágenes de MEB de partículas sintetizadas. (a) X5,000, (b) X10,000, (c) X20,000, (d) X40,000 y (e) X100,000. ....   | 75 |
| <b>Figura 4.44</b> Micrografías de MET a diferentes ampliificaciones (campo claro). ....  | 76 |
| <b>Figura 4.45</b> (a)-(c) Imágenes de alta resolución tomadas en las puntas de la partícula de plata y (b)-(d) FTT. ....   | 77 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 4.46</b> Imágenes de contraste Z de las partículas con crecimiento dendrítico. ....  | 78 |
| <b>Figura 4.47</b> Micrografías de MEB ilustrando los productos obtenidos después de 3 meses. (a) X10,000, (b)-(c) X20,000 y (d) X40,000. ....   | 79 |
| <b>Figura 4.48</b> Micrografías de MEB de diferentes zonas de la rejilla, ilustrando los productos obtenidos de la biosíntesis después de 3 meses de reacción con una concentración 0.04 g/mL de <i>Arctostphylos Pungens Kunth</i> y 9 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....                                     | 80 |
| <b>Figura 4.49</b> (a-d) Imágenes de MEB ilustrando los productos obtenidos a X100,000. ....   | 81 |
| <b>Figura 4.50</b> EDS del producto obtenido de la biosíntesis usando la concentración de extracto de <i>Arctostphylos Pungens Kunth</i> en 0.04 g/mL y 9 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....   | 82 |
| <b>Figura 4.51</b> Difractograma de difracción de rayos X de los productos de la síntesis con el extracto de pingüica. ....  | 83 |
| <b>Figura 4.52.</b> Mecanismo de la de la descomposición del azul de metileno y los espectros de UV-Vis de la prueba catalítica de la degradación del azul de metileno con las partículas sintetizadas con 0.04 g/mL del extracto de <i>Arctostphylos Pungens Kunth</i> y 3 mM de AgNO <sub>3</sub> . .... | 84 |
| <b>Figura 4.53</b> Espectros de UV-Vis de la prueba catalítica de la degradación del azul de metileno para condiciones de partículas sintetizadas de 0.04 g/mL del extracto de <i>Arctostphylos Pungens Kunth</i> y 5 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....   | 85 |
| <b>Figura 4.54</b> Espectros de UV-Vis de la degradación del azul de metileno, para condiciones de 0.04 g/mL del extracto de <i>Arctostphylos Pungens Kunth</i> y 7 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....   | 86 |
| <b>Figura 4.55</b> Espectros de UV-Vis de la degradación del azul de metileno, para las condiciones de 0.04 g/mL de extracto de <i>Arctostphylos Pungens Kunth</i> 9 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....  | 86 |
| <b>Figura 4.56</b> Mecanismos de reducción propuestos para las plantas gobernadora y pingüica. ....  | 87 |

## RESUMEN

En la actualidad las nanopartículas de plata (AgNps) y autoensambles de plata tienen una amplia variedad de aplicaciones en la medicina en el área de instrumentación quirúrgica, como membranas en tratamientos de aguas residuales, en la catálisis en reacciones de óxido-reducción, aplicaciones de uso cutáneo como cremas, cosméticos, en la industria electrónica en dispositivos optoelectrónicos; en medicina como biosensores y agentes antibacteriales.

Sin embargo, los métodos convencionales de síntesis requieren materiales tóxicos y costosos, que complican su aplicación en diversas áreas. Por consiguiente, existe un gran interés en los métodos de síntesis de nanopartículas empleando materiales orgánicos que reduzcan el uso de contaminantes y de reproducibilidad rentable.

La investigación en el desarrollo de nanopartículas Ag usando el método de síntesis verde es muy amplia, sin embargo, en la parte de autoensamblaje ha sido escasa, lo que atrae un amplio campo de estudio, aprovechado en este trabajo.

De esta forma, en este proyecto se exploró la síntesis, caracterización estructural y evaluación antibacterial contra *E. coli* y catalítica de nanopartículas y autoensambles de Ag, a partir del uso de extracto acuoso de las plantas medicinales *Larrea tridentata* y *Arctostphylos Pungens Kunth* empleadas como agente reductor y estabilizador, y en solución acuosa de la sal precursora de nitrato de plata. La presencia de las nanopartículas para la planta *Larrea tridentata* fueron de morfología cuasiesférica con un tamaño promedio de 18 nm. Mientras que para la planta *Arctostphylos Pungens Kunth* se obtuvieron autoensambles con diferentes morfologías tipo mariposa, flor, arboles dendrítico y fractales con tamaños entre 100 nm a 4  $\mu\text{m}$ .

Se confirmó por medio de diferentes técnicas como espectroscopía de UV-Vis, espectroscopía de IFTR, difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de barrido y de transmisión; la actividad antibacterial se demostró mediante discos de inhibición cubiertos de AgNps y por último la actividad catalítica se analizó por la técnica de espectroscopía de UV-Vis resultando positiva.

**PALABRAS CLAVE:** Síntesis verde, Nanopartículas, Plata, *Larrea tridentata* y *Arctostphylos Pungens Kunth*.

## ABSTRACT

Silver nanoparticles (AgNps) and silver auto-assemblies now have a wide variety of applications in medicine in the area of surgical instrumentation, such as membranes in wastewater treatment, catalysis in oxide-reduction reactions, cutaneous use as creams, cosmetics, in the electronic industry in optoelectronic devices; in medicine as biosensors and antibacterial agents.

However, conventional methods of synthesis require toxic and expensive materials, which complicate their application in several areas. Therefore, there is great interest in methods of synthesis of nanoparticles using organic materials that reduce the use of pollutants and cost-effective reproducibility.

The research in the development of Ag nanoparticles using the green synthesis method is very broad, however, in the part of self-assembly has been scarce, which attracts a wide field of study, used in this work.

In this project, we explored the synthesis, structural characterization and antibacterial evaluation against *E. coli* and catalysis of Ag nanoparticles and autoassemblies, from the use of aqueous extract of the medicinal plants *Larrea tridentata* and *Arctosthylos Pungens Kunth* used as agent Reductant and stabilizer, and in aqueous solution of the silver nitrate precursor salt. The presence of nanoparticles for the *Larrea tridentata* plant were of a quasi- spherical morphology with an average size of 18 nm. While for the *Arctosthylos Pungens Kunth* plant, self-assemblies with different butterfly, flower, dendritic tree and fractal morphologies ranging from 100 nm to 4  $\mu\text{m}$  were obtained.

It was confirmed by different techniques such as UV-Vis spectroscopy, IFTR spectroscopy, X-ray diffraction (XRD), scanning and transmission electron microscopy; the antibacterial activity was demonstrated by AgNps-covered inhibition disks and finally the catalytic activity was analyzed by the UV-Vis spectroscopy technique proving to be positive.

## CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha aumentado el estudio de ciertas ciencias, tal es el caso de la Nanociencia, donde se han realizado grandes avances científicos principalmente en la área de los nanomateriales, los cuales poseen propiedades diferentes a las convencionales cambiando su estructura física y comportamiento químico. Un aspecto importante de estos nuevos materiales es su síntesis, reto a resolver y en el que figuran las nanopartículas de metal. Existe una amplia variedad de métodos de obtención físicos y químicos que han resultado eficaces debido a la producción controlada que se caracteriza por forma y tamaños bien definidos de nanopartículas (Nps). Para ello es importante resaltar que la mayoría de estas metodologías emplean equipos costosos y sustancias químicas tóxicas que generan subproductos altamente peligrosos, que muchas de las veces son adsorbidas en la superficie del nanomaterial sintetizado ocasionando efectos adversos en sus aplicaciones. Por ejemplo en la medicina, la ingesta de AgNps obtenidas por síntesis química como fármaco, puede provocar intoxicación, si no se tiene la precaución al momento de la purificación de este nanomaterial. Por lo tanto, existe un gran interés para desarrollar nuevos procedimientos capaces de disminuir el uso de sustancias dañinas y que al mismo tiempo sean rentables.

Para lograr este objetivo, se desarrolló el método de síntesis verde de Nps, el cual consiste en utilizar fuentes biológicas como pueden ser algas, hongos, bacterias y en nuestro caso utilizando plantas. Esta última es preferida debido a su simplicidad, fácil adquisición, alta efectividad y bajo costo. La producción de Nps por esta síntesis ha conseguido la atención de los investigadores, ya que se han obtenido forma y tamaño homogéneos a partir de extractos vegetales. Tanto las Nps de oro como de plata han sido de mayor interés debido a sus potenciales aplicaciones que incluyen el suministro en fármacos, terapias, diagnósticos, sensores, purificación de agua, manejo de alimentos, industria textil, etc.

Algunos ejemplos de plantas muy conocidas que se han usado en este tipo de síntesis son: *Tamarix gallica* [1], *Aloysia triphylla* [2], *Aloe Vera*, *Camellia sinensis*, *Datura metel*, *Cymbopogon*, *Geranium* entre otras [3]. Así como éstas, varios tipos de flora originaria del país, contienen los compuestos químicos capaces de reducir y estabilizar Nps, reduciendo los iones metálicos provenientes de las sales precursoras, evitando la aglomeración de las mismas y

generando la síntesis de Nps de Ag. *Larrea tridentata* y *Arctostphylos Pungens Kunth* no han sido utilizadas en la síntesis de este tipo de Nps, constituyendo entonces una área de oportunidad para su estudio y posibles aplicaciones.

La idea central de esta investigación fue sintetizar y autoensamblar AgNps utilizando extracto de *Larrea tridentata* y *Arctostphylos Pungens Kunth* mediante el uso de la sal precursora AgNO<sub>3</sub>, en las cuales se estudió la capacidad reductora y estabilizadora de los iones en suspensión coloidal, su caracterización con diferentes técnicas de microscopía como su evaluación catalítica y antibacterial contra *E.coli*.

### **1.1 Objetivo General**

Sintetizar y autoensamblar nanopartículas de Ag, empleando para ello extracto de *Larrea tridentata* y *Arctostphylos Pungens Kunth* como agentes reductores y estabilizadores, además, caracterizar su estructura y evaluar el efecto catalítico y antibacterial.

### **1.2 Objetivos Particulares**

- Sintetizar y autoensamblar nanopartículas de Ag en solución acuosa de la sal metálica AgNO<sub>3</sub> y los extractos de plantas medicinales *Larrea tridentata* y *Arctostphylos Pungens Kunth*.
- Determinar la obtención de las nanopartículas y ensambles metálicos por medio de espectroscopía UV-Vis.
- Evidenciar la presencia de los grupos funcionales presentes en el extractos de la plantas antes y después de la síntesis por espectroscopía de infrarrojo (FTIR) y la existencia de los sólidos a través de difracción de rayos X (DRX).
- Valorar las características estructurales de las partículas sintetizadas, tales como tamaño, forma y estructura, por medio de microscopía electrónica de barrido (MEB) y microscopía electrónica de transmisión (MET).
- Evaluar el efecto antibacterial de las partículas sintetizadas contra la bacteria *E.coli*.
- Evaluar el efecto catalítico de las partículas sintetizadas degradando azul de metileno.

### **1.3 Justificación**

Las nanopartículas Ag adquieren importancia científica debido a sus posibles aplicaciones, principalmente en la medicina como apósitos para heridas, dispositivos, anticonceptivos, instrumental quirúrgico, cosméticos, fotocatalisis, fotodegradación entre otras [4]. Sin embargo, los métodos de síntesis, hasta ahora empleados como síntesis química, evaporación térmica, reducción fotoquímica y radioquímica, requieren materiales costosos y tóxicos como el uso de sustancias de poli-vinilpirrolidona (PVP) y borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ), los cuales limitan en gran medida la aplicación de las partículas en algunas áreas médicas. Debido a lo anterior, existe interés en el estudio de métodos de síntesis empleando materiales orgánicos, los cuales sean rentables, eficaces y cuyos subproductos sean amigables con el medio ambiente [5, 6]. Por lo anterior, a través del presente trabajo se pretende realizar la obtención y caracterización de partículas Ag, las cuales puedan ser aplicadas como cremas antibacteriales; en donde se emplearán sustancias orgánicas, como agentes reductores y estabilizadores, provenientes de los extractos de las plantas medicinales *Larrea tridentata* y *Arctostaphylos Pungens Kunth*.

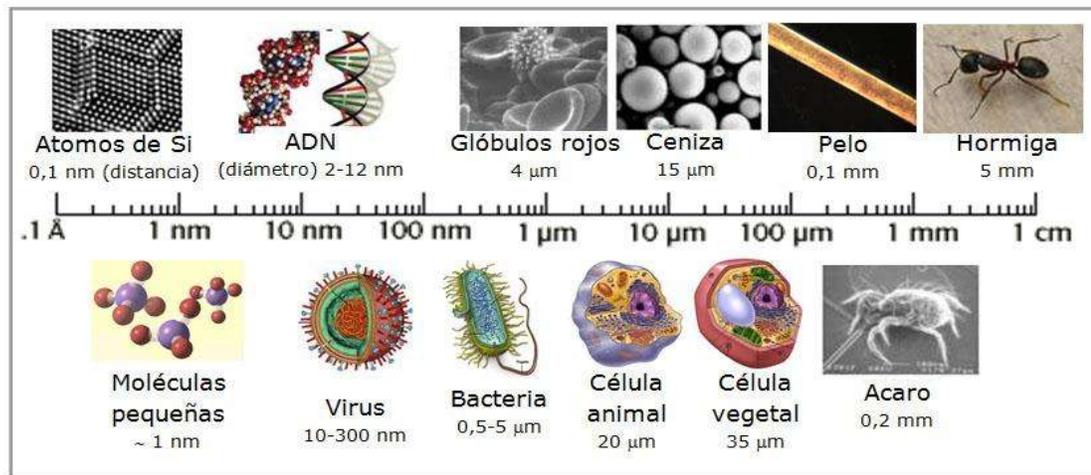
### **1.4 Hipótesis**

A partir de las diferentes sustancias orgánicas contenidas en los extractos medicinales de las plantas *Larrea tridentata* y *Arctostaphylos Pungens Kunth* se podrá biosintetizar nanopartículas y ensamblajes de Ag con diversas formas y tamaños. La influencia del extracto en la solución coloidal no impedirá las propiedades antibacteriales y catalíticas.

## CAPÍTULO II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Nanociencia y Nanotecnología

La nanociencia es el estudio de los procesos fundamentales que ocurren en las estructuras en un rango de tamaño entre 1 y 100 nanómetros, las cuales se conocen como nanoestructuras [7]. La nanotecnología se basa en estudiar, diseñar y fabricar materiales con tamaños inferiores a 100 nanómetros ( $1 \times 10^{-9}$  m) a las cuales se le atribuyen propiedades y comportamientos nuevos que dependen del confinamiento cuántico [8]. Esto ocurre porque las partículas que son menores, que las dimensiones de los materiales conocidos, manifiestan una nueva estructura física y comportamiento químico, que es atribuido al tamaño [9]. Así, por ejemplo, se ha observado que la estructura electrónica, conductividad, reactividad, temperatura de fusión y las propiedades mecánicas, varían con el tamaño en la escala nanométrica, creando un interés en el estudio de esta ciencia y sus posibles beneficios para la humanidad [10]. En la figura 2.1 se muestra una relación de tamaños donde se observan las comparaciones de diversos seres vivos complejos hasta moléculas y átomos relacionados con la escala nanométrica [11].



**Figura 2.1** Comparación de diversos seres vivos complejos hasta moléculas y átomos relacionados con la escala nanométrica [11].

Alrededor del mundo se invierte gran cantidad de recursos económicos para el desarrollo de la Nanotecnología, uno de los principales pioneros es Estados Unidos de América, también otros

países se integran a la lista como los de la Comunidad Europea, Japón, China y la India entre otros [11].

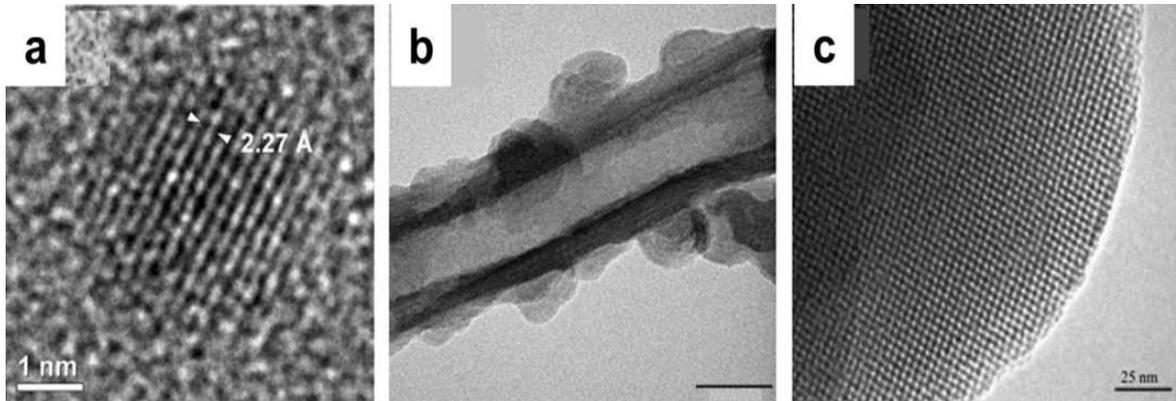
En México existen investigadores e instituciones que conocen la importancia de la Nanotecnología y que trabajan en ella, pero una escasa difusión, así como poca inversión en el país, impide que se logren resultados tangibles, se deben de conjuntar varios factores para tener en la sociedad un impacto real. Otro problema es el pequeño número de científicos en el país que se dedican a esta actividad multidisciplinaria (alrededor de un investigador por cada 10,000 habitantes), que se destaca por su amplio estudio sin límites entre teoría y experimentos. Sin embargo, existe mucho potencial que puede generar grandes descubrimientos en esta rama, ya que algunas de las instituciones, a pesar de las adversidades, han puesto el nombre de México en alto para el mundo.

Los científicos han conseguido manipular el tamaño y la forma de una gran variedad de materiales a escala molecular y atómica, descubriendo con ello un sin número de sus propiedades potenciales, muchas de ellas de carácter no convencional [12]. Técnicas analíticas como la microscopía electrónica de barrido y de transmisión, así como la de efecto túnel, han impulsado estos estudios para lograr entender los desenlaces de cada uno de los proyectos realizados y a su vez confirmar el cambio alcanzado a esta escala de la materia, teniendo aplicaciones en la química, biología, física entre otras [13].

Los materiales moleculares están constituidos por unidades, las cuales pueden ser sintetizadas aisladamente y organizadas posteriormente en algún tipo de fase condensada capaz de presentar propiedades físicas y químicas diferentes a las ya conocidas [12]. Estos se dividen en base a sus dimensiones, se establecen así cuatro categorías 0D, 1D, 2D y 3D, señalando con esta nomenclatura las dimensiones de las nanoestructuras que caen dentro del rango nanométrico. 0D se refiere a las nanopartículas o “Quantum dots”, 1D a los nanotubos, nanoalambres o nanorodillos y 2D a películas delgadas. Así, no debería de incluirse en la categoría de nanoestructuras a los materiales 3D, ya que sus dimensiones superan los 100 nm, sin embargo, se consideran nanomateriales 3D a aquellos en los que se utilizan nanoestructuras (0D, 1D y 2D) como bloques de construcción, replicándose en las 3 direcciones del espacio de forma ordenada [14], como se presenta en la Tabla 2.1 y en la Figura 2.2. Algunos ejemplos de estos materiales son el carbono, silicio, celulosa, fibras, esponjas, plata, etc.

**Tabla 2.1** Nanoestructuras de las diferentes categorías (0D, 1D, 2D, 3D) [14].

| Nanoestructura  | Categoría | Tamaño  | Material   |
|---|-----------|---|--|
| <b>Clusters, nanocristales o Quantum dots</b>               | 0D        | Radio de 1-10 nm                                    | Aislantes, semiconductores, metales, materiales magnéticos |
| <b>Otras nanopartículas</b>                                 | 0D        | Radio de 1-100 nm                                   | Óxidos cerámicos   |
| <b>Nanobiomateriales, Centro de reacción fotosintética.</b> | 1D        | Radio de 5-10 nm                                    | Proteínas de la membrana celular.                          |
| <b>Nanovarvas</b>   | 1D        | Diámetro de 1-100 nm                                | Metales, semiconductores, óxidos, sulfuros, nitruros       |
| <b>Nanotubos</b>  | 1D        | Diámetro de 1-100 nm                                | Carbono, calcogenuros en capas, BN, GaN                    |
| <b>Nanobiovarvas</b>  | 1D        | Diámetro de 5 nm                                    | DNA  |
| <b>Matrices bidimensionales de las nanopartículas</b>       | 2D        | Área de varios nm <sup>2</sup> -<br>µm <sup>2</sup> | Metales, semiconductores, materiales magnéticos            |
| <b>Superficies y películas delgadas</b>                     | 2D        | Espesor entre 1-100 nm                              | Aislantes, semiconductores, metales, ADN                   |
| <b>Superredes tridimensionales nanopartículas</b>           | 3D        | Varios nm en tres dimensiones                       | Metales, semiconductores, materiales magnéticos            |



**Figura 2.2** Imágenes de microscopía electrónica de diferentes materiales nanoestructurados. (a) nanopartículas de Paladio (0D), (b) nanotubo de sílice (1D) y (c) Sílice con porosidad ordenada de forma cúbica en el rango de los nanómetros (3D) [14].

## 2.2 Métodos de Síntesis de nanopartículas (Nps)

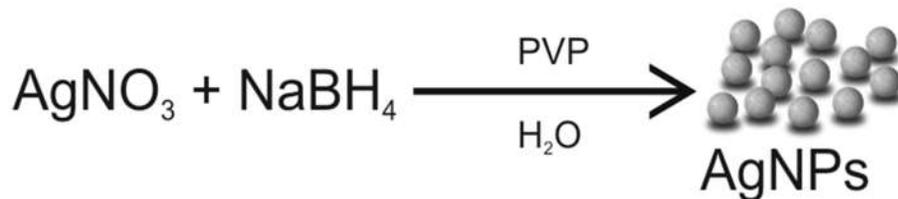
Los métodos más conocidos para la síntesis de Nps principalmente se agrupan en dos categorías: aproximaciones “de arriba hacia abajo” y las “de abajo hacia arriba”. La primera consiste en la división de sólidos básicos en porciones más pequeñas. Este enfoque incluye la molienda o el desgaste, métodos químicos y la volatilización de un sólido seguido por la condensación de los componentes evaporados. La segunda aproximación “de abajo hacia arriba” consiste en la fabricación de Nps a través de la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en solución. Este enfoque es mucho más usado en la síntesis de Nps, éstas pueden ser soportadas en materiales porosos o no, dándoles más estabilidad a las soportadas y conferir propiedades específicas [15].

Los métodos más representativos que se utilizan en la aproximación “de abajo hacia arriba” son:

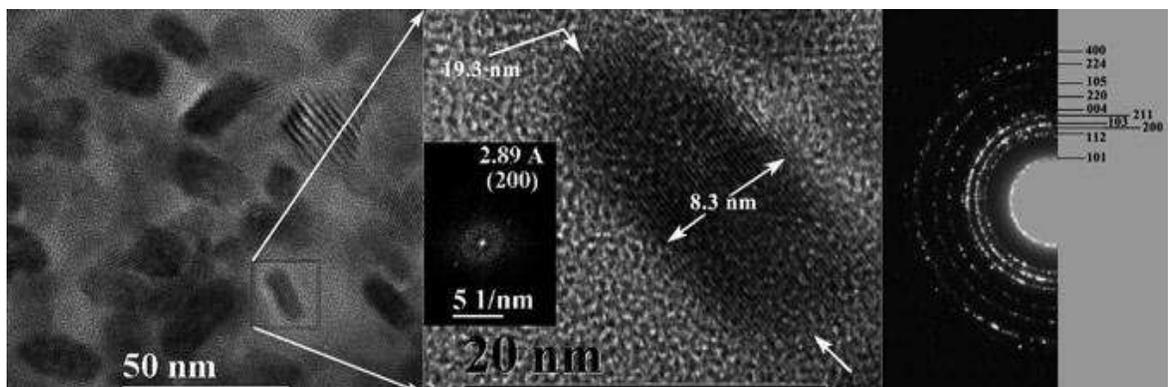
- 1) Método coloidal o síntesis química, el rango de tamaño en solución coloidal suele oscilar en la escala de nanómetros, por ello este método es eficiente para la producción de nanopartículas, además, es uno de los más usados. El método consiste en disolver una sal del precursor metálico o del óxido a preparar, un reductor y un estabilizante en una fase continua o dispersante (un líquido en este caso). Este último puede jugar el papel de reductor, de estabilizante o ambos. En principio el tamaño promedio, la distribución de tamaños y la morfología de las nanopartículas puede ser controlada variando las

concentraciones del reductor, del estabilizante y de la solución utilizada. Un ejemplo de las sustancias más comunes para síntesis de nanopartículas de plata son  $\text{AgNO}_3$  (sal precursora),  $\text{NaBH}_4$  (agente reductor), PVP poli-vinilpirrolidona (agente estabilizante) en solución acuosa [6], la Figura 2.3 muestra un esquema de la reacción, otro ejemplo de este método se muestra en la figura 2.4, donde se sintetizaron nanovaras de  $\text{Mn}_3\text{O}_4$  utilizando otras sustancias como precursoras y estabilizantes [15]. La Tabla 2.2 muestra otros ejemplos de las sustancias involucradas en esta síntesis [16].

Esta síntesis tiene dos etapas las cuales son nucleación y crecimiento, la primera es la etapa inicial donde se implica la unión de dos o más átomos, en nuestro caso de plata, para formar cúmulos. La segunda etapa es el crecimiento donde se agregan más átomos sobre los cúmulos por medio de colisiones se provoca el crecimiento de la nanopartícula a un tamaño estable [17].



**Figura 2.3** Síntesis química de AgNps.



**Figura 2.4** Micrografías de MET y HR-MET de nanovarvas de  $\text{Mn}_3\text{O}_4$ . Obtenidas por el método coloidal, del lado derecho se muestran el patrón de difracción de electrones [15].

**Tabla 2.2** Sustancias involucradas en la síntesis de AgNps en disolución [16].

| Precursor   | Reductor          | Estabilizante               |
|---|-------------------|-----------------------------|
| AgNO <sub>3</sub>                                 | Citrato           |                             |
| AgNO <sub>3</sub>                                 | NaBH <sub>4</sub> | Poli-vinilpirrolidona (PVP) |
| AgNO <sub>3</sub>                                 | Ac. Ascórbico     | PVP                         |
| AgNO <sub>3</sub>                                 | Polioles          | Almidón                     |
| AgNO <sub>3</sub>                                 | B-D-glucosa       |                             |
| [Ag(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> | Azúcares          |                             |
| AgNO <sub>3</sub>                                 | Dimetilformamida  |                             |
| AgNO <sub>3</sub>                                 | Dimetilformamida  |                             |

- 2) Reducción Fotoquímica y Radioquímica. La reducción fotoquímica, como la radiación química difiere en el nivel de energía usado, ya que las síntesis fotoquímica se caracteriza por el uso de energía por debajo de 60 eV, mientras que la síntesis por radiólisis maneja energías de 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> eV. Estos métodos suelen tener ventajas sobre otros debido a la pureza de las nanopartículas obtenidas, además de sintetizarlas en condiciones de estado sólido y a bajas temperaturas [18].
- 3) Irradiación por microondas. Esta técnica genera nanopartículas con una baja dispersión de tamaño, además no hay control en la morfología de éstas. Las microondas actúan como campos eléctricos de alta frecuencia, capaces de calentar cualquier material a través de la vibración de moléculas polares [19].
- 4) Uso de dendrímeros (macromolécula de construcción arborescente). Los dendrímeros son utilizados como nanorreactores que permiten la síntesis de nanopartículas de forma y tamaño definidos. Esto se logra alterando la naturaleza del dendrímero [18].
- 5) Síntesis solvotermal, consiste en reacciones heterogéneas en medio acuoso alcanzando tanto temperaturas mayores a 100 °C como presiones mayores a 1 Bar. El objetivo de esta

técnica es obtener una mejor disolución de los componentes de un sistema y lograr hacer reaccionar especies poco solubles en condiciones habituales [8].

- 6) Método sol-gel, es utilizado principalmente en la fabricación de nanomateriales habitualmente óxidos metálicos. Partiendo de una solución química o sol que actúa como un precursor de una red integrada de partículas discretas o una red de polímeros. Los precursores típicos son los alcóxidos metálicos y los cloruros metálicos, que sufren reacciones de hidrólisis y policondensación para formar una dispersión coloidal, que luego de una polimerización forma un gel [19].
- 7) Evaporación térmica, que consiste en el calentamiento hasta la evaporación del material que se pretende depositar. En una cámara al vacío donde se condensa el vapor sobre una lámina fría, manteniendo el control del crecimiento en la capa depositada en la lámina, para evitar morfología no deseada [15].
- 8) Depósito químico en fase vapor (CVD, por sus siglas en inglés), consiste en la descomposición de uno o varios compuestos volátiles en una cámara de vacío en o cerca de la superficie de un sólido para formar un material de capa delgada o Nps [15].

### **2.3 Síntesis Verde**

La síntesis verde se define como el uso de la química para reducir fuentes de energía o prevenir la contaminación, además de reducir o eliminar sustancias peligrosas dentro del proceso químico [5]. Consiste en disminuir al mínimo, o de ser posible eliminar por completo la contaminación producida por procesos químicos evitando al máximo el desperdicio o uso excesivo de materias primas no renovables, así como el manejo de materiales peligrosos o contaminantes en la elaboración de productos químicos “limpios”, que no atentan contra la salud o el ambiente. Todo lo anterior sin sacrificar el avance científico y tecnológico [20].

La química verde y sustentable es un nuevo concepto que surgió en la década de los 90's, refiriéndose al desarrollo de procesos y de tecnologías, que resultan en reacciones químicas más eficientes que generan pocos residuos y menos emisiones ambientales comparadas con las reacciones químicas tradicionales [21].es por ello que se postularon doce principios y se presentan a continuación [5]:

- 1) Prevención. Prevenir los residuos producidos y tratarlos de modo que no contaminen el medio ambiente.
- 2) Maximización de materias primas. Las etapas de reacciones deben ser diseñadas para maximizar la incorporación de todas las materias primas utilizadas hasta su producto final para evitar la generación, de productos secundarios no deseados.
- 3) Uso de productos químicos menos peligrosos. Los métodos de síntesis deben diseñarse para garantizar y generar sustancias que tenga poca o ninguna toxicidad para el medio ambiente y el ser humano.
- 4) Diseño de productos químicos más seguros. Productos químicos diseñados de forma que sean menos tóxicos a corto y a largo plazo.
- 5) Disolventes seguros. Evitar el uso de disolventes lo menos posible utilizándose en pocas porciones, si es imposible suspender su uso.
- 6) Diseño para la eficiencia de requerimientos de energía. Los procesos químicos deben ser reconocidos por su impacto ambiental y económico, para minimizarlos lo más posible, todas las reacciones deben de llevarse a cabo a temperatura y presión bajas.
- 7) Uso de materias primas renovables. Las materias primas han de ser renovables en vez de agotables, siempre que sea técnica y económicamente factible el proceso.
- 8) Reducción de derivados. La formación de subproductos debe ser evitada en lo posible.
- 9) Catálisis. Los reactivos catalíticos serán elegidos sobre los estequiométricos. El uso de catalizadores heterogéneos tiene varias ventajas sobre los catalizadores homogéneos o líquidos.
- 10) Diseño para la degradación. Los productos químicos se diseñarán de modo que al final de su función, descompongan el producto de degradación en productos inocuos que no contaminen el medio ambiente.
- 11) Análisis en el tiempo real para la prevención de la contaminación. Las metodologías analíticas deben mejorarse para monitorear y controlar la formación de sustancias peligrosas en tiempo real.
- 12) Química intrínsecamente segura para la prevención de accidentes. Las sustancias que se utilizan en un proceso químico deben ser elegidas para minimizar los accidentes químicos como explosiones, intoxicaciones e incendios.

## **2.4 Características de la planta *Larrea tridentata***

Los principales compuestos reportados en la literatura en la planta “Gobernadora” (*Larrea tridentata*), donde se destacan por su mayor contenido en base al peso seco del follaje los lignanos fenólicos, seguidos por las saponinas, flavonoides estos son principales compuestos que reducen y estabilizan las Nps, también otros compuestos como aminoácidos y minerales. El compuesto más importante de esta planta es el ácido nordihidroguaiarético (NDGA), uno de los antioxidantes mejor conocidos, al cual se le atribuye sus propiedades antioxidantes, anti-inflamatorio, citotóxica, antimicrobial e inhibidor de enzimas [22].

## **2.5 Características de la planta *Arctosthylos Pungens Kunth***

La planta medicinal Pingüica (*Arctosthylos Pungens Kunth*) es recomendada principalmente para el tratamiento de las afecciones renales (V. mal de orín, cerrada de orines, mal de piedra) como el dolor de riñón, que es causado por exceso de trabajo; para aliviarlo se utiliza la hoja, la raíz o toda la planta, en infusión, endulzada al gusto y tomada como agua de tiempo y en ayunas [23].

En la literatura no se encuentran estudios fitoquímicos los cuales muestren los principales compuestos contenidos en dicha planta, sin embargo; en el fruto se han detectado pirocatequina el cual se le atribuye gran poder reductor, también contiene resina y algunos taninos [23].

Debido a que en este trabajo la síntesis de las AgNps utiliza extracto de una planta, cumple con todos los postulados anteriores, el proyecto es sustentable debido al uso de sustancias que evitan contaminación y utiliza equipos amables con el medio ambiente realizando una “Biosíntesis verde”.

Esta síntesis es similar al método coloidal ya que presenta los mismos principios, en donde ambos parten de una sal precursora en solución, en este caso nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ); por otro lado requiriendo de la adición tanto de un agente reductor, como de un estabilizante, los cuales son utilizados en la metodología coloidal, sin embargo, ambas funciones las cumple el extracto de las plantas en la síntesis ecológica (Figura 2.5). Variando las concentraciones de la sal precursora en solución y de los extractos de *Larrea tridentata* y *Arctosthylos Pungens Kunth*, las Nps pueden llegar a obtener un tamaño promedio, distribución y morfología apropiada. Otros

factores que intervienen son la temperatura, el pH, la agitación mecánica o ultrasónica y el uso de las microondas.



**Figura 2.5** Estrategia de Reacción en la síntesis verde de AgNps.

## **2.6 Actividad Antibacterial de las AgNps.**

El efecto antibacterial de la plata ha sido conocido desde tiempos antiguos. Sin embargo, el mecanismo del efecto bactericida de las AgNps no es muy conocido, es por ello que la actividad antibacteriana probablemente se atribuya a interacciones electrostáticas entre la membrana celular cargada negativamente del microorganismo y las nanopartículas cargadas positivamente. Además también se le atribuye a la formación de fosas en la pared celular de las bacterias, relacionadas con la concentración de Ag [9].

Es posible que los AgNps actúen de manera similar a los agentes antimicrobianos usados para el tratamiento de infecciones bacterianas. Estos agentes muestran cuatro mecanismos de acción diferentes: (1) interferencia con la síntesis de la pared celular; (2) inhibición de la síntesis de proteínas; (3) interferencia con la síntesis de ácidos nucleicos; e (4) inhibición de una vía metabólica [24].

Feng et al. (2000) propuso los siguientes mecanismos de acción de las AgNps [25]:

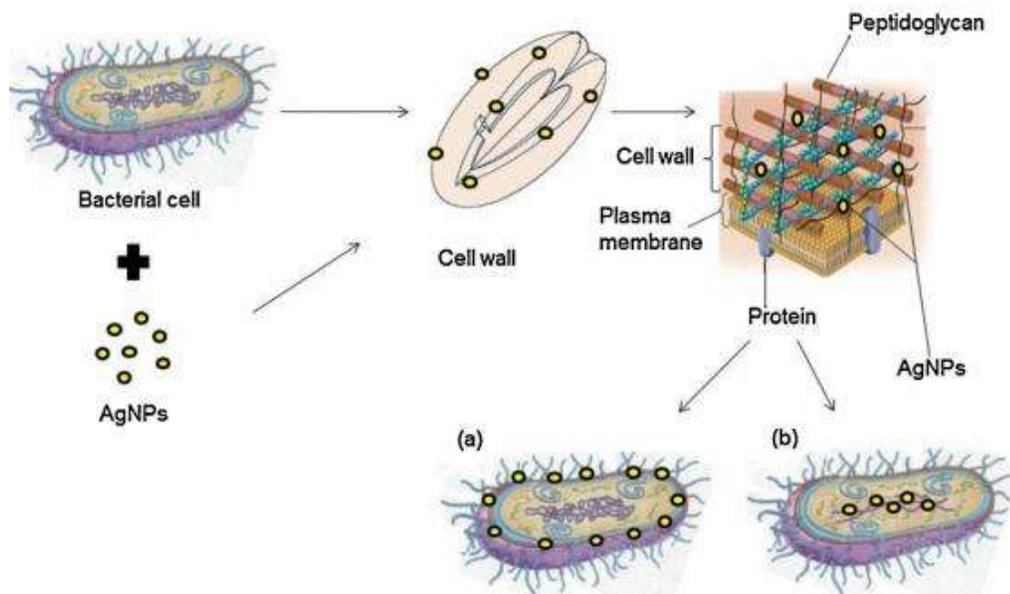
En primer lugar, las AgNps se adhieren a la superficie de la membrana celular y alteran sus funciones, como la permeabilidad y la respiración.

En segundo lugar, los AgNps son capaces de penetrar las bacterias y causar daño adicional, posiblemente al interactuar con compuestos que contienen azufre y fósforo, cuya alta afinidad con la plata imputa la propiedad antibacteriana, debido a la abundancia de estos elementos en toda la membrana celular. Además, se cree que las AgNps, después de la penetración inactivan enzimas, generando peróxido de hidrógeno y causando la muerte celular bacteriana.

En tercer lugar, los AgNps liberan iones de plata, que contribuyen al efecto bactericida. El mecanismo de inhibición por los iones de plata en los microorganismos es parcialmente

conocido. Se cree que el ADN pierde su capacidad de replicación y las proteínas celulares se inactivan en el tratamiento con iones de plata. Se ha demostrado que las concentraciones más altas de iones  $Ag^+$  interactúan con componentes citoplasmáticos y ácidos nucleicos.

Anteriormente se ha propuesto por Tamboli y Col. [26] un mecanismo para la actividad antimicrobiana de los AgNps basándose en el MEB y electroforesis en gel de una sola célula, como se muestra en la figura 2.6, donde concluyeron que el cambio en la morfología causa un aumento significativo en la permeabilidad, ocasionando que las células bacterianas sean incapaces de regular adecuadamente el transporte a través de la membrana plasmática permitiendo la penetración de las AgNps cuya acción es desnaturalizar el ADN, dando lugar a la muerte celular.

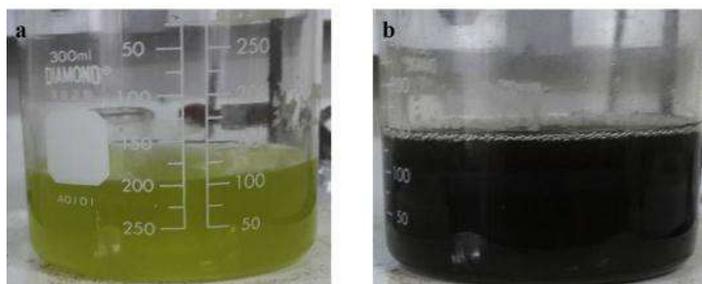


**Figura 2.6** Diagrama esquemático de la actividad antimicrobiana de AgNps (a) Muerte celular debido a la lisis de la membrana celular. (B) Muerte celular debida a ruptura en el ADN [26].

## 2.7 Antecedentes

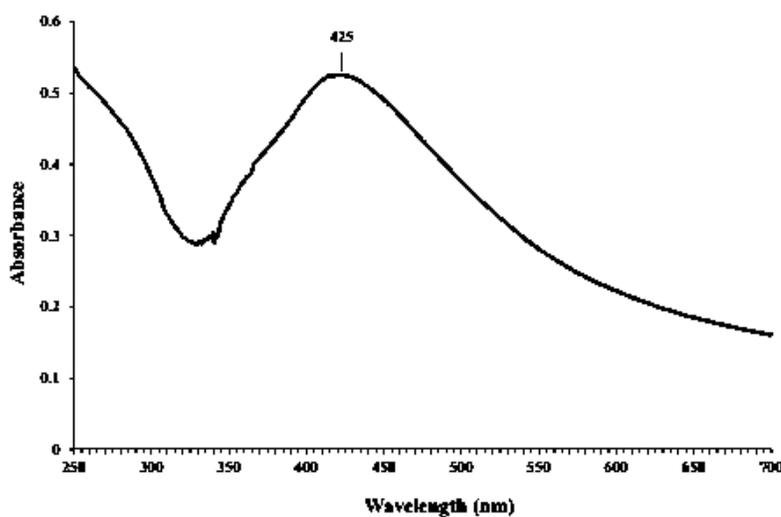
En la actualidad el estudio de nanopartículas se ha desarrollado en forma gigantesca ya que existen muchos estudios en los cuales a partir de extractos de plantas han obtenido nanopartículas de plata.

En 2015 Arthanari Saravanakumar y Col. [27], desarrollaron un estudio a partir de extracto de *Cassia tora*, la biosíntesis de nanopartículas de plata, donde las caracterizaron y evaluaron su actividad antibacterial. Su metodología se basó en preparar los materiales que fueron: 50 g de planta *Cassia tora*,  $\text{AgNO}_3$  y agua desionizada. Básicamente solo obtuvieron extracto de la planta diluida en agua desionizada y después la mezclaron con  $\text{AgNO}_3$  a 0.1 M. Sus resultados fueron que al pasar un tiempo, el contenedor y la mezcla, tuvieron un cambio de color indicado en la figura 2.7, referido al éxito de la reacción y con ello prosiguieron a caracterizar.



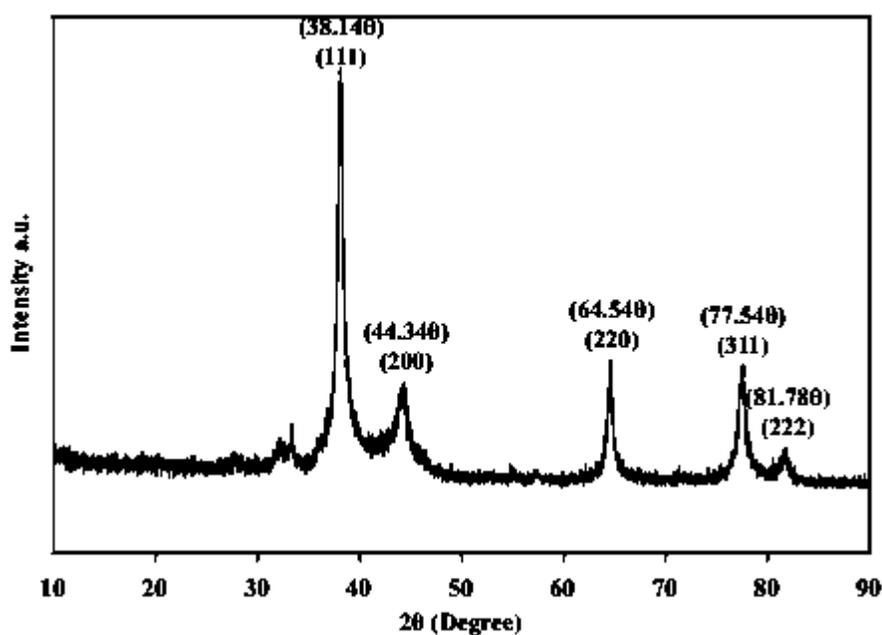
**Figura 2.7** Extracto acuoso de la planta *Cassia tora* con  $\text{AgNO}_3$  (a) y después del tratamiento con  $\text{AgNO}_3$  (b) [27].

Se caracterizó mediante espectroscopía UV-Vis donde arrojó un espectro con una banda que se encuentra entre 400-450 nm característica de la presencia de nanopartículas de plata (véase Figura 2.8).



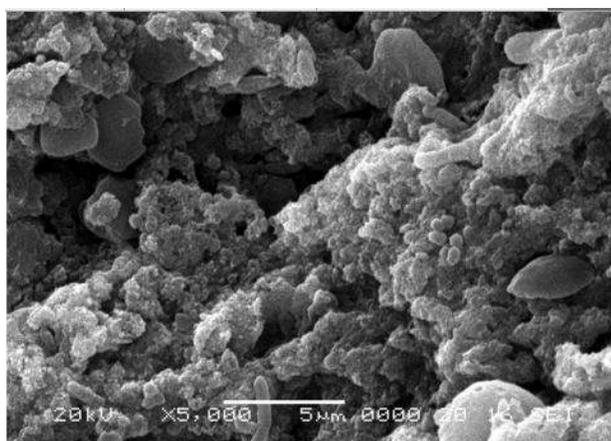
**Figura 2.8** Espectro de UV-Vis de nanopartículas de plata sintetizadas [27].

Se confirmó la naturaleza cristalina de los AgNps sintetizadas por análisis de DRX y se muestra en la figura 2.9. El difractograma ilustra cuatro picos diferentes en distintos ángulos: 38.14, 44.34, 64.54, 77.54 y 81.78 que corresponden respectivamente a los planos: (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0), (3 1 1) y (2 2 2) de la estructura cristalina cúbica centrada en las caras (FCC) del elemento plata. Los resultados obtenidos estuvieron en estrecho acuerdo con la referencia de la estructura FCC del patrón de difracción de polvo correspondiente a la tarjeta (JCPDS) No-04-0783 [27].



**Figura 2.9** Patrón de DRX de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extracto de *Cassia tora* [27].

Mediante microscopía electrónica de barrido se demostró la presencia de nanopartículas no uniformes, las cuales se ven aglomeradas lo que fue atribuido a la evaporación del disolvente durante la preparación de la muestra (Figura 2.10).



**Figura 2.10** Micrografía de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas [27].

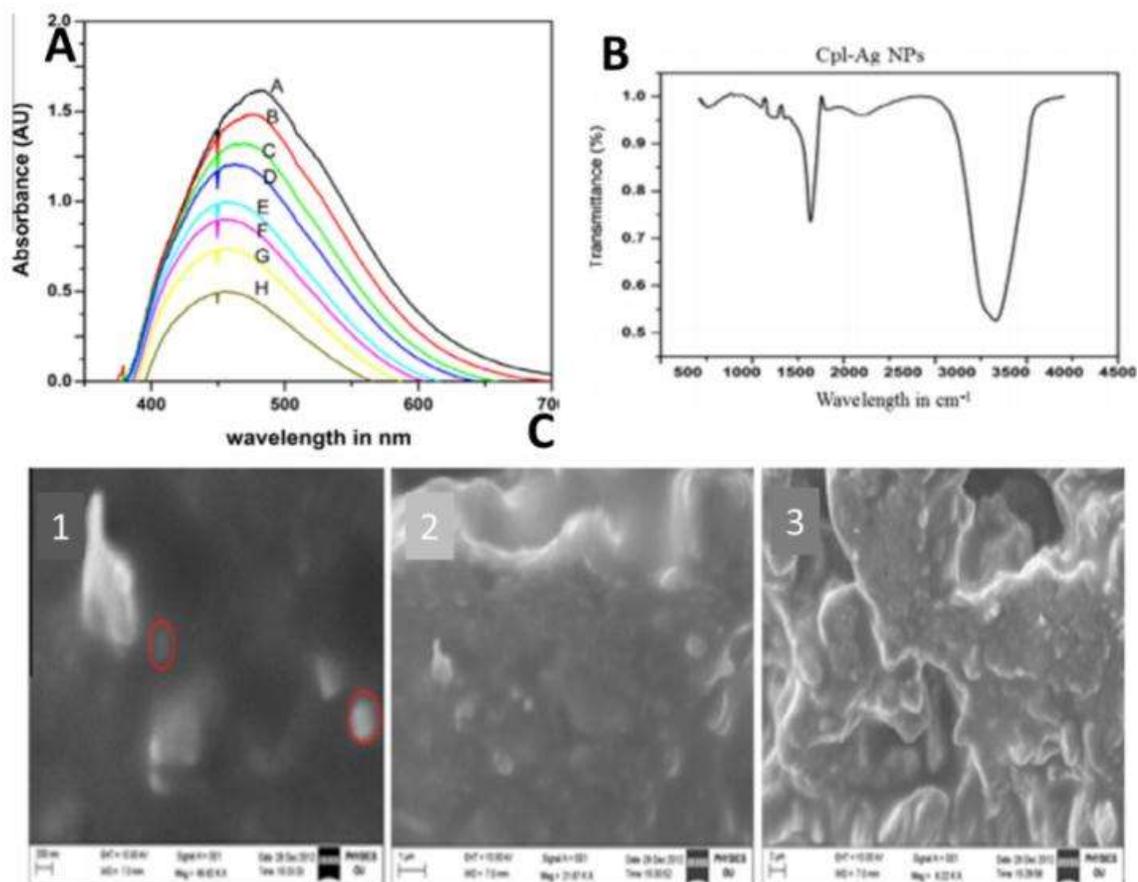
Se evaluó la actividad antibacteriana de las AgNps sintetizadas por el método de difusión en agar. Los resultados se muestran en la Tabla 2.3 y se observó que el aumento de la concentración de AgNps inhibe progresivamente el crecimiento. En los resultados, las bacterias gram positivas mostraron zona inferior de inhibición mientras que las bacterias gram negativas mostraron mejores resultados [27]. Concluyendo que la síntesis por esta vía es fácil, económica, rápida y amigable con el ambiente teniendo excelentes resultados en su caracterización y evaluación antibacterial.

**Tabla 2.3** Actividad Antibacterial de AgNps sintetizadas [27].

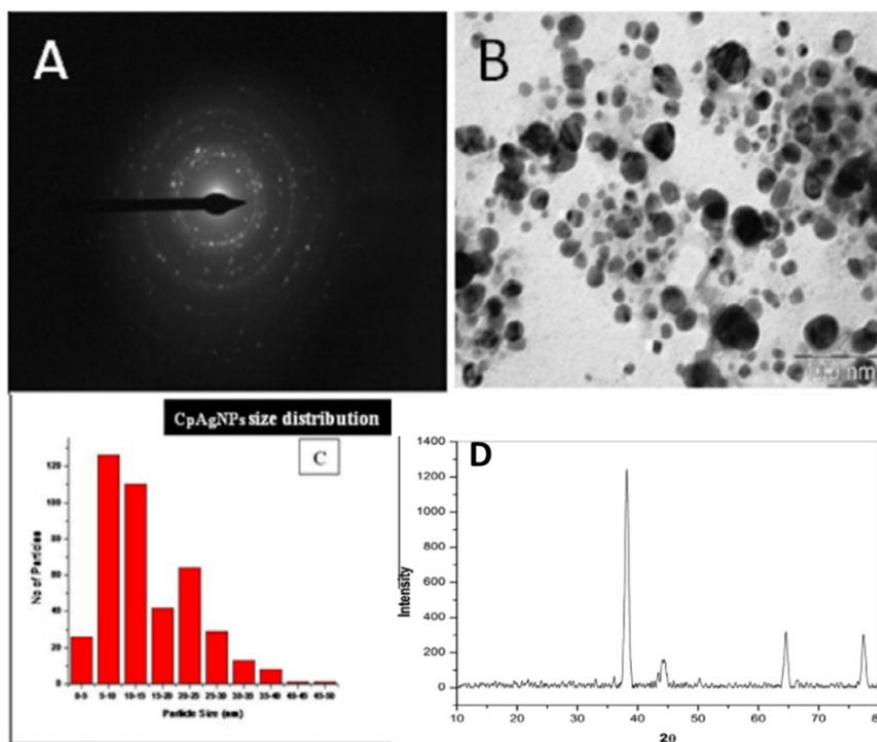
| Concentration<br>( $\mu\text{g/ml}$ ) | Zone of inhibition (mm) |                    |                  |                       |
|---------------------------------------|-------------------------|--------------------|------------------|-----------------------|
|                                       | <i>S. aureus</i>        | <i>B. subtilis</i> | <i>E. coli</i>   | <i>Ps. aeruginosa</i> |
| 3.125                                 | $6.21 \pm 0.06$         | $6.7 \pm 0.64$     | $9.25 \pm 0.09$  | $8.67 \pm 0.06$       |
| 6.25                                  | $7.32 \pm 0.21$         | $7.14 \pm 0.27$    | $10.81 \pm 0.49$ | $10.2 \pm 0.10$       |
| 12.5                                  | $9.37 \pm 0.34$         | $8.96 \pm 0.09$    | $12.28 \pm 0.19$ | $11.81 \pm 0.37$      |
| 25                                    | $12.86 \pm 0.08$        | $12.79 \pm 0.58$   | $16.76 \pm 0.23$ | $13.25 \pm 0.01$      |

Otros estudios similares como Rajkiran Reddy Banala y Col.[28], obtuvieron nanopartículas a partir de la planta *Carica papaya* el cual tuvo resultados exitosos donde la síntesis verde y caracterización de nanopartículas de plata es llevada a cabo y confirmada por espectrometría UV-visible, FTIR y caracterización estructural por MEB, MET y DRX. Arrojo nanopartículas de

forma esférica con superficie lisa y tamaño variado de 5 a 50 nm, pero entre ellas la mayoría de las partículas obtenidas se dimensionaron entre 5 y 15 nm (véase Figura 2.11 y 2.12). Las nanopartículas de plata habían exhibido valores inhibitorios > 25 µg/ml contra ambas especies de bacterias gram positivas y negativas. En resumen, la síntesis con el extracto de *Caricia papaya* de nanopartículas de plata fue eficiente y proporciona propiedades adicionales tales como eficiencia bactericida y podría actuar como alternativa similar a los antibióticos.



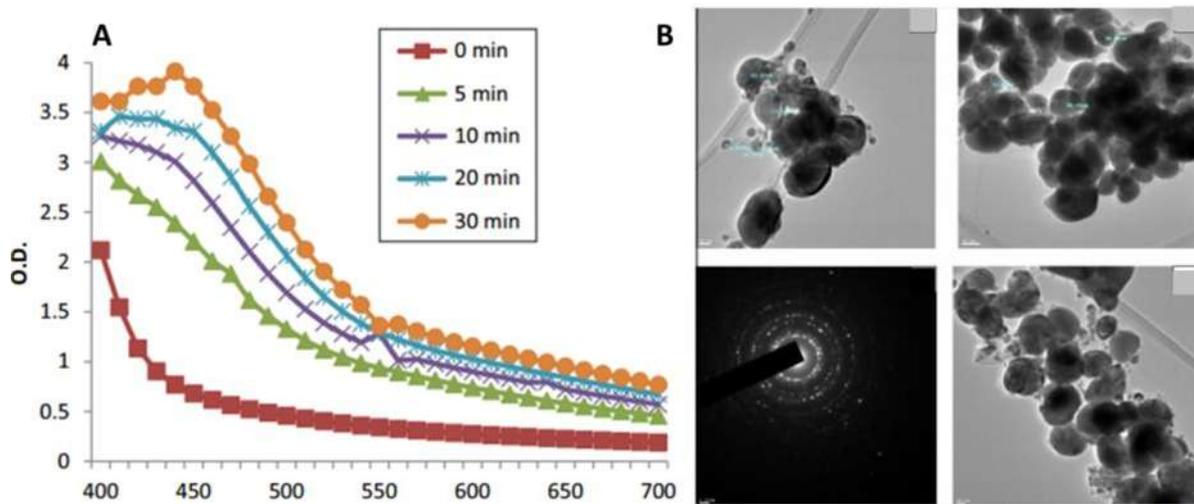
**Figura 2.11** (A) Espectros UV-visible de nanopartículas *C. papaya* obtenidos con la hoja de la planta. (B) FTIR de nanopartículas de plata. (C) Microscopía electrónica de barrido (MEB) micrografías de nanopartículas de plata sintetizadas [28].



**Figura 2.12** (A y B) Micrografías obtenidas por MET de la síntesis verde de AGNPS y el histograma(C) que muestra la distribución de tamaño de partícula. (D)Patrón de DRX de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extracto de hoja de *C. papaya* [28].

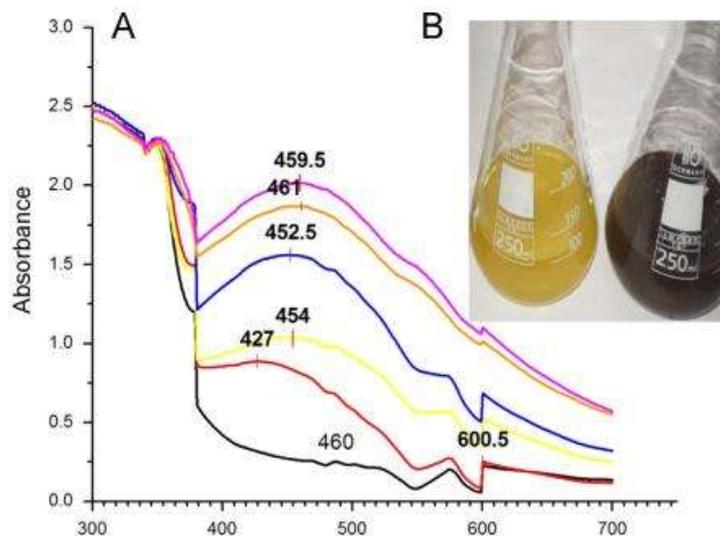
También Amit Kumar Mittal y Col. [29], llevan a cabo la biosíntesis de nanopartículas de plata con extracto de *Potentilla fulgens* con un tamaño promedio de 10-15 nm, llegando a la conclusión que esta vía tiene que estudiarse a fondo y optimizarse para lograr un escalamiento, debido a sus buenos resultados contra cáncer y bacterias. Además, no genera residuos peligrosos lo que conlleva al uso factible en aplicaciones de nanomedicina y combatir ciertas enfermedades; así también obtener nanopartículas homogéneas y con formas definidas.

Hemali Padalia y Col. [30], presentan un trabajo donde usan el método de síntesis verde de nanopartículas de plata a partir de extracto de la planta *Tagetes erecta* y monitorean la reacción a través del tiempo. Un aumento en la intensidad de la banda de UV-Vis relacionada a la obtención de AgNps para la muestra a 5 min se presenta y conforme avanza el tiempo la banda crece en intensidad indicando una velocidad rápida de reacción. La caracterización por MET mostró que el tamaño de las AgNps se encuentra entre 10-90 nm con formas esféricas, hexagonales e irregulares, además de su naturaleza cristalina (véase Figura 2.13).

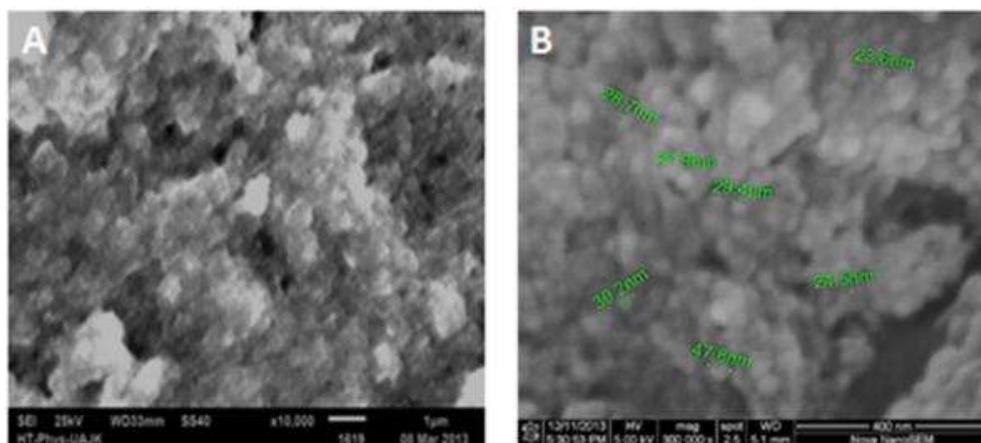


**Figura 2.13** (A) Espectro de UV-Vis de AgNps a diferentes tiempos de reacción. (B) Imágenes de MET de AgNps sintetizadas [30].

Al igual que el estudio anterior otro trabajo realizado por Muhammad Jamil Ahmed y Col. [31], mostró la eficiencia del extracto de la planta *Skimmia laureola* para la síntesis de AgNps con una rápida velocidad de reacción, en donde a los 10 min, con ayuda de la espectroscopía de UV-Vis, se presentaron las bandas a diferentes tiempos propias de las AgNps (Figura 2.14). En MEB se observó una forma relativamente esférica de partículas con un tamaño promedio de 40 nm, como lo muestra la Figura 2.15.



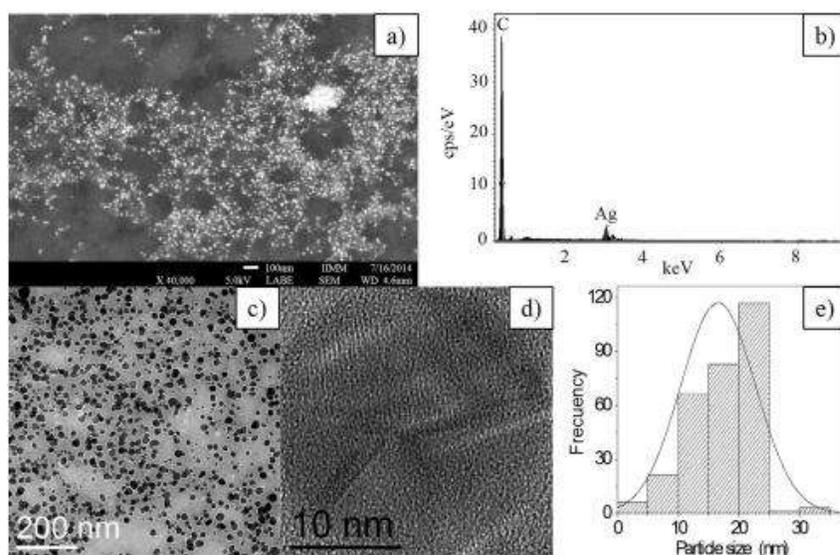
**Figura 2.14** Espectro de UV-Vis a diferentes tiempos de reacción de la síntesis de AgNps a partir del extracto *S. laureola*. B) cambio de color de la reacción de síntesis [31].



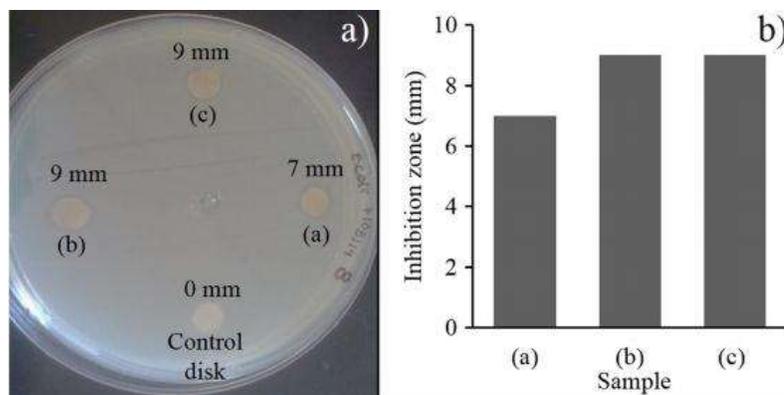
**Figura 2.15** Imágenes de MEB mostrando la morfología y tamaño de las nanopartículas sintetizadas [31].

J. Luis López-Miranda y Col. [1], obtuvieron nanopartículas de plata con un tamaño que varía de 5 a 40 nm y un promedio de 13 nm a partir del extracto de planta de *Tamarix gallica* en condiciones normales. Se caracterizaron por medio de técnicas UV-Vis, espectroscopía FTIR, difracción de rayos X y microscopía electrónica de barrido y transmisión (Figura 2.16).

Las nanopartículas presentaron formas esféricas con una alta tasa de biorreducción con un tiempo de reacción de 5 minutos. Se confirmó la actividad antibacteriana contra *Escherichia coli* de nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de *Tamarix gallica* (Figura 2.17) [1].



**Figura 2.16** Análisis de microscopía electrónica de AgNps sintetizadas con extracto de *Tamarix gallica*: a) imagen MEB, b) análisis EDS, c) micrografía MET, d) micrografía HRTEM mostrando los planos cristalinos de plata, y e) análisis de distribución de tamaños [1].



**Figura 2.17** Actividad antimicrobiana de los AgNps obtenidas con el extracto de *Tamarix gallica* [1].

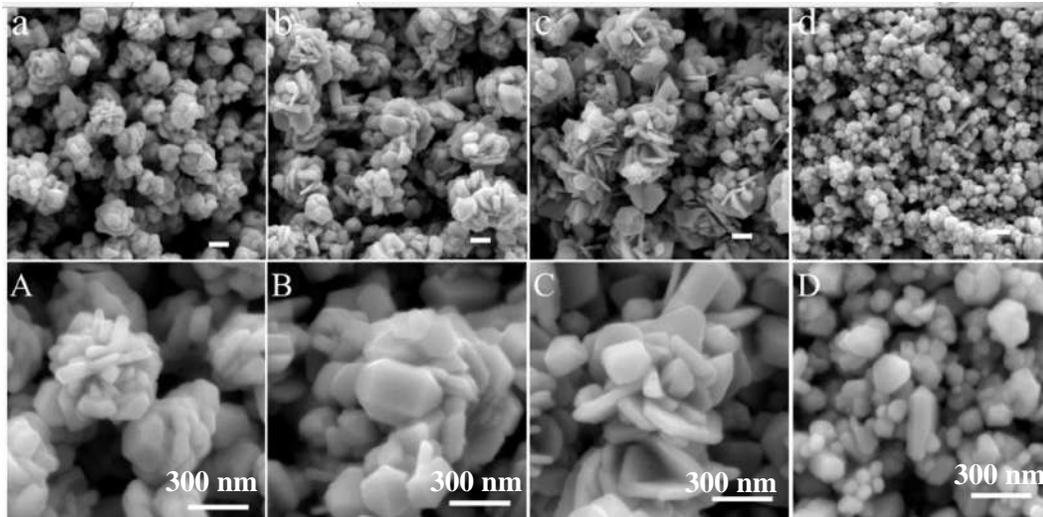
A continuación se presentan algunos estudios de la síntesis de ensambles de Ag:

Ya Lu y Col. [32], obtuvieron nanopartículas de plata tipo flor, a partir de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) como sal precursora con ácido ascórbico (AA) como agente reductor y polivinilpirrolidona (PVP) como agente estabilizante, bajo agitación vigorosa por medio de síntesis química convencional. Tales nanopartículas son agregados de nanoplacas pequeñas y nanorodillos. Se ha descubierto que la sustitución de la agitación mecánica por ultrasonido cambia drásticamente la morfología de las partículas, desde nanopartículas similares a flores hasta nanopartículas más pequeñas y bien dispersas. Además, cuando añadieron trazas de NaCl a los reactivos, se formaron nanopartículas de Ag bien dispersadas incluso en agitación vigorosa. Estos fenómenos pueden explicarse con la difusión y el suministro de reactantes durante la nucleación y el crecimiento de nanopartículas.

Primeramente el cambio de color a gris intenso es un indicativo de la síntesis de AgNps, enseguida caracterizaron en MEB y después analizaron las estructuras cristalinas mediante la difracción de rayos X en polvo (XRD).

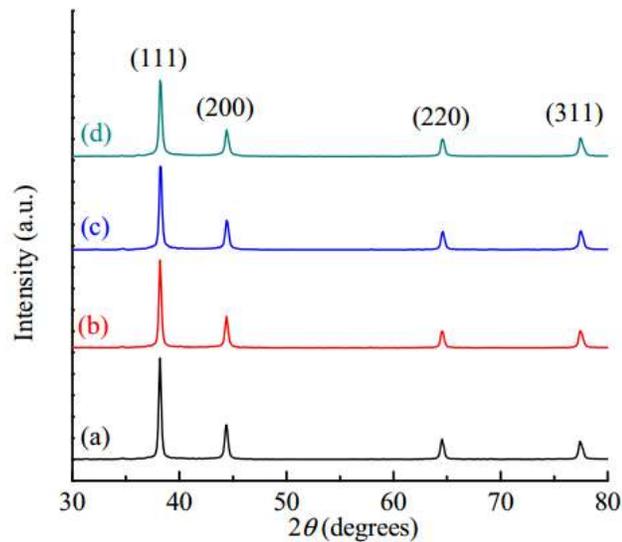
La Figura 2.18 muestra la morfología de los productos. La agitación mecánica puede causar morfologías muy diferentes. Las nanopartículas de Ag se incrementaron de 500 nm a 1000 nm al varezar la concentración de sal precursora. Las nanopartículas parecidas a pétalos se cambiaron gradualmente a nanorodillos y nanoláminas. La transformación se puede encontrar claramente en la Figura 2.18 A, B y C.

Cuando se utilizó agitación ultrasónica, se pueden observar nanopartículas dispersas con una distribución de gran tamaño (Figura 2.18 d y D) [32].



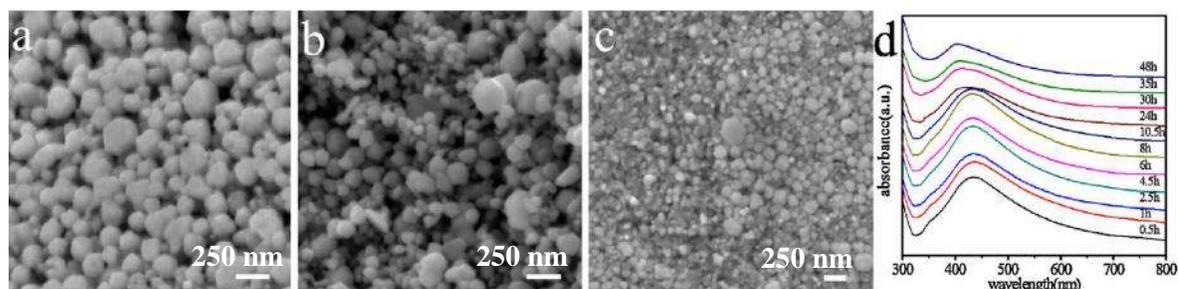
**Figura 2.18** Imágenes de MEB de AgNps obtenidas cambiando la concentración de  $\text{AgNO}_3$  (PVP se mantuvo igual) en solución de reacción y la agitación vigorosa de reacción. Todas las cotas son de 300 nm [32].

La Figura 2.19 muestra los patrones de DRX de las AgNps, indicando su formación con sus características; altamente puras y con cristalización perfecta. La relación de intensidad del pico (1 1 1) a (2 0 0) es mayor que la tarjeta estándar de plata (PDF # 87-0720), lo que indica que estas están creciendo a lo largo de la dirección (1 1 1). Esto se observa especialmente en la muestra C del difractograma mostrado.



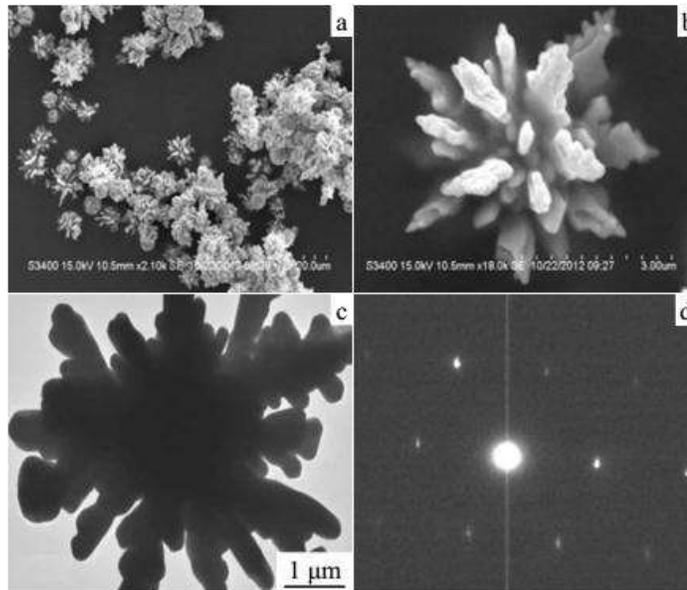
**Figura 2.19** Patrones de DRX de AgNps obtenidos cambiando la concentración de  $\text{AgNO}_3$ : a) 0,06 mol / L, (b) 0,08 mol / L, (c) 0,1 mol / L; (d) 0,06 mol / L (mezclando la solución de reacción en campo ultrasónico) [32].

La Figura 2.20 a-c representan las imágenes MEB de las nanopartículas de plata sintetizadas con adición de trazas de cloruro sódico ( $\text{NaCl}$  4.5 mol / L) en diferentes etapas 0, 5, 24 e incluso 48 h. Las condiciones de reacción son las mismas para las partículas mostradas en la Figura 2.18 a. No se observaron nanopartículas de Ag o semejantes a escamas, sino sólo nanopartículas de plata bien dispersadas (Figura 2.20a-c).

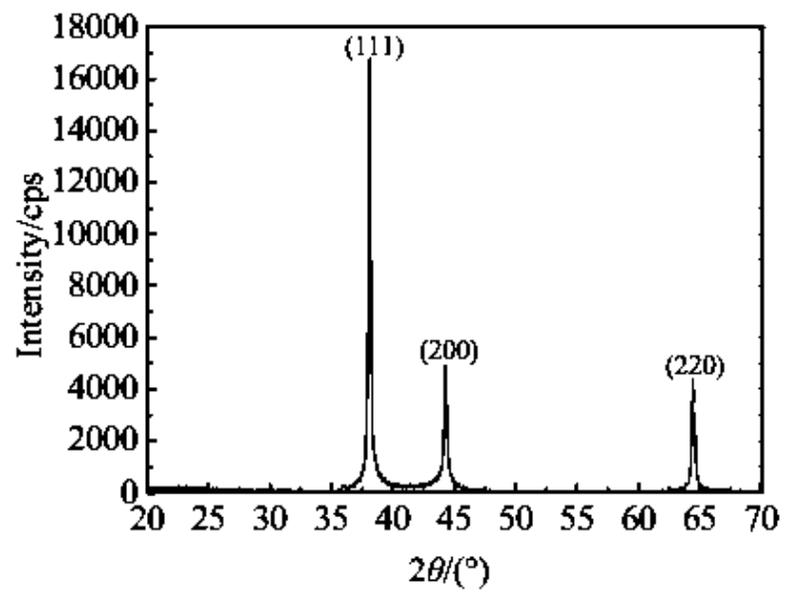


**Figura 2.20** (a) - (c) Micrografías de MEB en nanoestructuras de Ag. Todas las barras de escala son de 250 nm. (d) espectros UV-vis de once muestras tomadas de la misma reacción entre 0,5 h y 48 h [32].

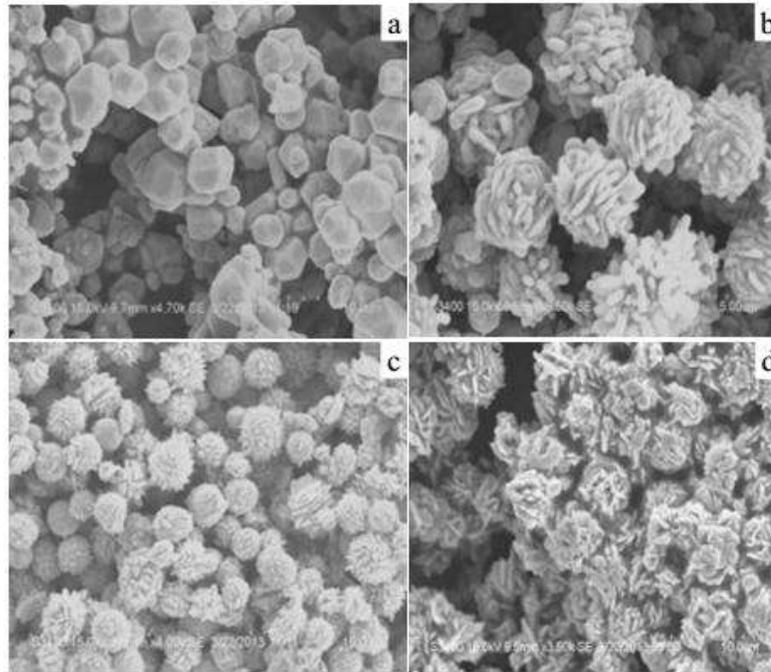
También Zhang Chunyong y Col. [33], sintetizaron partículas de plata tipo flor micrométricas (Ag) autoensambladas, utilizando  $\text{AgNO}_3$  como material de partida, por un método de reducción de vitamina C (Vc) asistida en acero inoxidable, con agitación y temperatura variable. Para caracterizar las fases y las morfologías de los productos se emplearon difractómetros de rayos X (DRX), microscopía electrónica de barrido (MEB) y microscopía electrónica de transmisión (MET). Los resultados muestran que las partículas de Ag presentan un tamaño de 1 - 6 micras compuestas de nanoplacas o nanorodillos con un espesor de alrededor de 200 nm, como lo muestra la Figura 2.21. Se observa en la Figura 2.22, la naturaleza cristalina de las partículas sintetizadas, a partir de la indexación de tarjetas propias de la plata. Se revela que las flores de plata, pueden ser ensambladas a partir de partículas pequeñas paso a paso. La presencia de acero inoxidable y la temperatura desempeñan un papel importante en esta síntesis, como se ilustra en la Figura 2.23.



**Figura 2.21** Imágenes de MEB del producto de síntesis (a, b); Imagen de MET (c) de una partícula individual tipo flor a alta amplificación; Patrón de difracción de electrones de la muestra (d) [33].

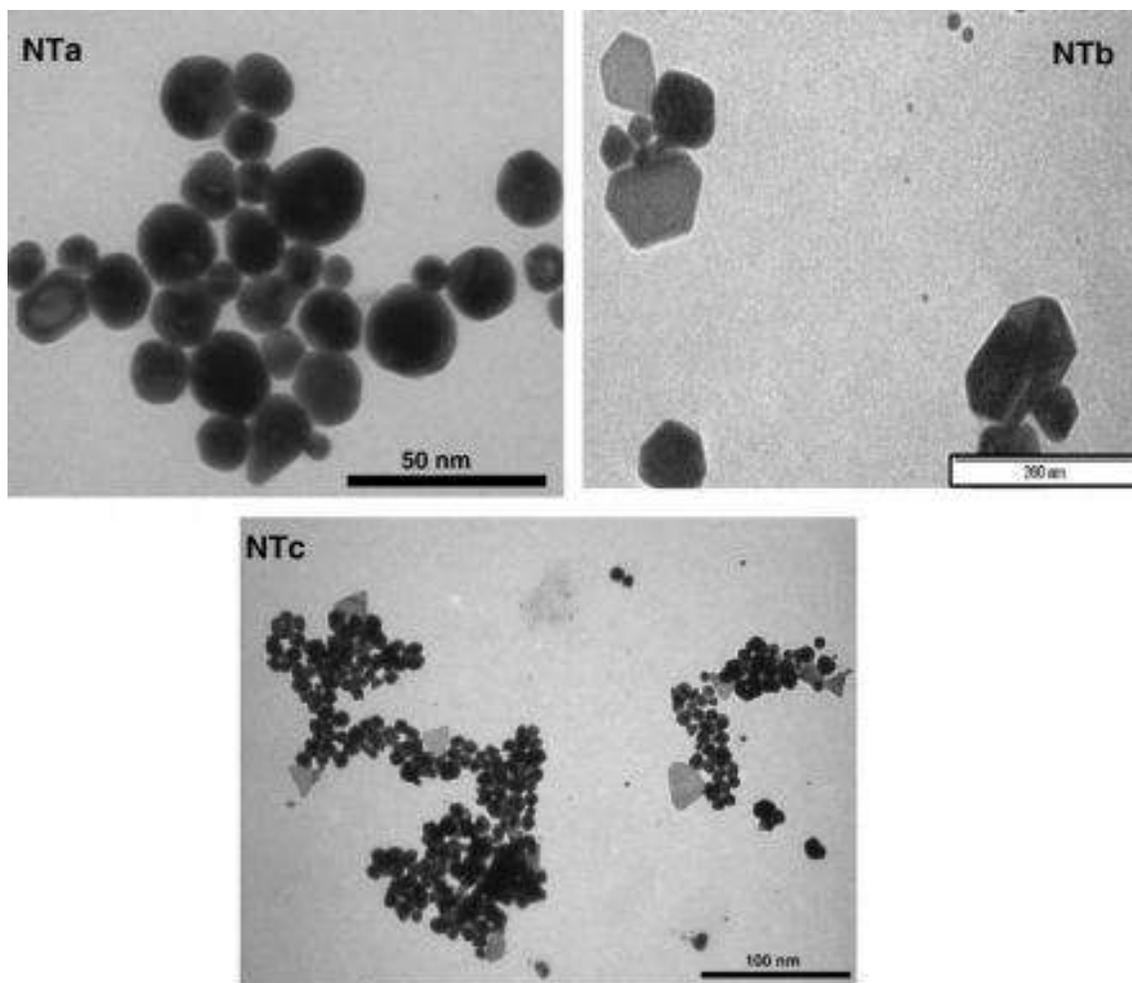


**Figura 2.22** Patrón de DRX de la muestra [33].

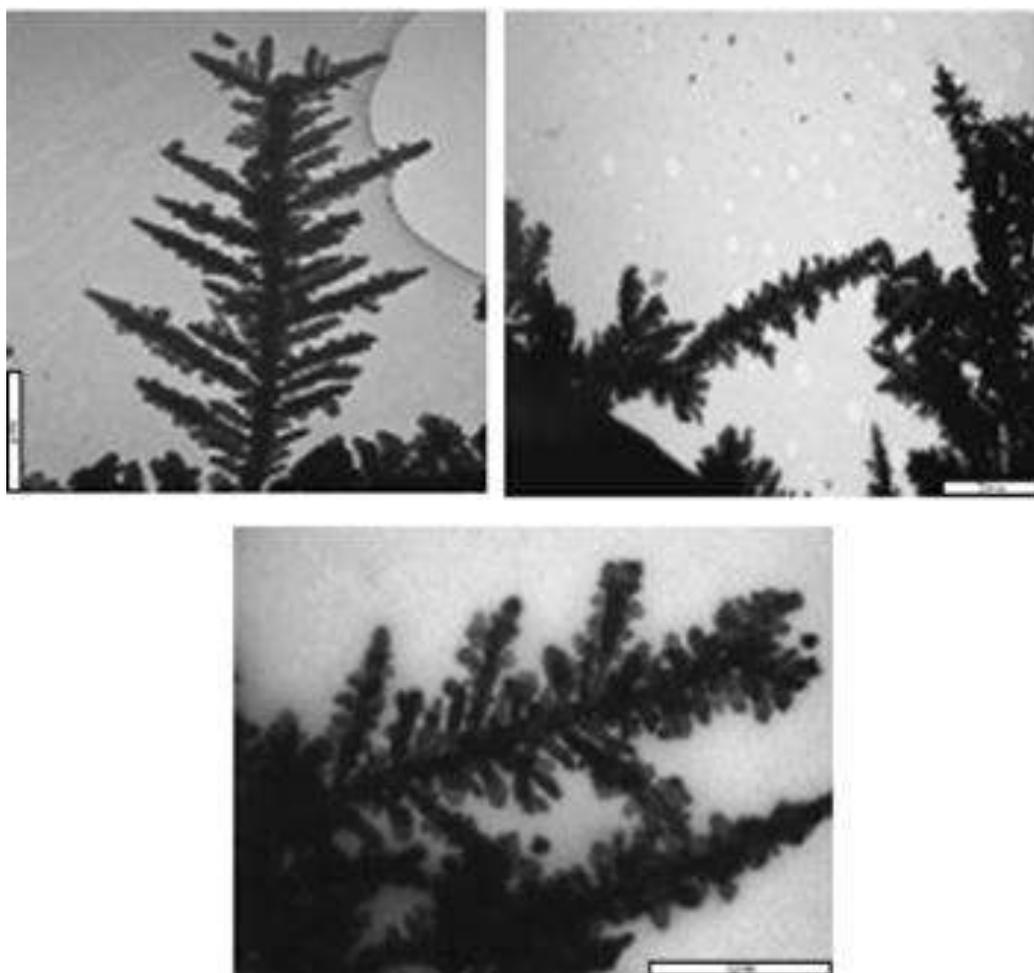


**Figura 2.23** Imágenes de MEB de partículas de Ag manteniendo las mismas condiciones con ayuda de acero a diversas temperaturas: (a) 343 K, (b) 333 K, (c) 303 K, y (d) 273 K [33].

P.S. Mdluli y colaboradores en 2009 [34], presentaron la síntesis de nanodendritas de plata, con una columna vertebral central alargada y distinguida. Este método implica la reducción de nitrato de plata con formamida y polivinil pirrolidona (PVP) como surfactante en ausencia de luz durante 30 días. La evolución de las nanoestructuras dendríticas se debió a la variación de la concentración de los reactivos. A baja concentración de PVP, las nanopartículas de plata isotrópicas son visibles en las imágenes de microscopía electrónica de transmisión (MET) (véase Figura 24). A medida que aumenta la concentración, se observan partículas anisotrópicas con la aparición de dendritas a la concentración más alta (véase Figura 2.25). Estas ramas secundarias de las dendritas tienen aproximadamente 100 nm de longitud. Las ramas están separadas de manera equivalente con un ángulo de  $45^\circ$  con respecto al tronco central presentando estabilidad a temperatura ambiente [34].

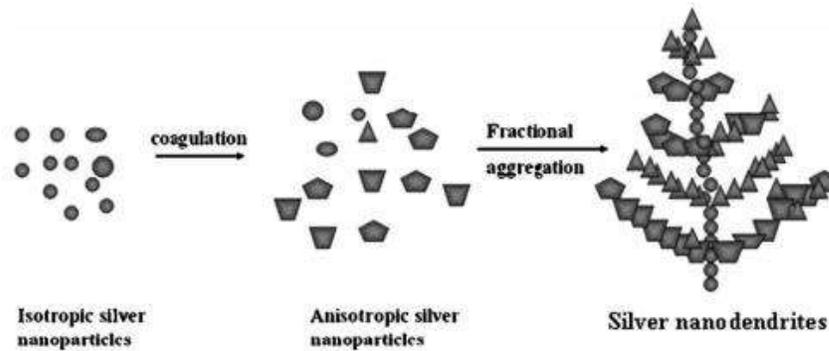


**Figura 2.24** Imágenes de MET de nanopartículas de plata a concentraciones de PVP de (NTa) 0,005 g / mL, (NTb) 0,010 g / mL y (NTc) 0,015 g / mL [34].



**Figura 2.25** Imágenes de MET de nanopartículas de plata a una concentración de PVP de 0,020 g / mL (NTd) [34].

Se creó que el mecanismo de crecimiento de la dendrítica o árbol-como estructuras sigue una difusión limitada de agregación (DLA). La formación de racimos se produce pegando partículas a una semilla en contacto con las partículas formando una estructura en crecimiento. El tensoactivo proporciona un control significativo sobre la nucleación y la agregación direccional que da lugar a no equilibrio, favoreciendo la formación de dendritas de plata. El crecimiento dendrítico se produce en las puntas y tallos de las ramas. A medida que el tallo crece en longitud nuevas ramas más cortas se forman continuamente en las puntas (véase Figura 2.26).

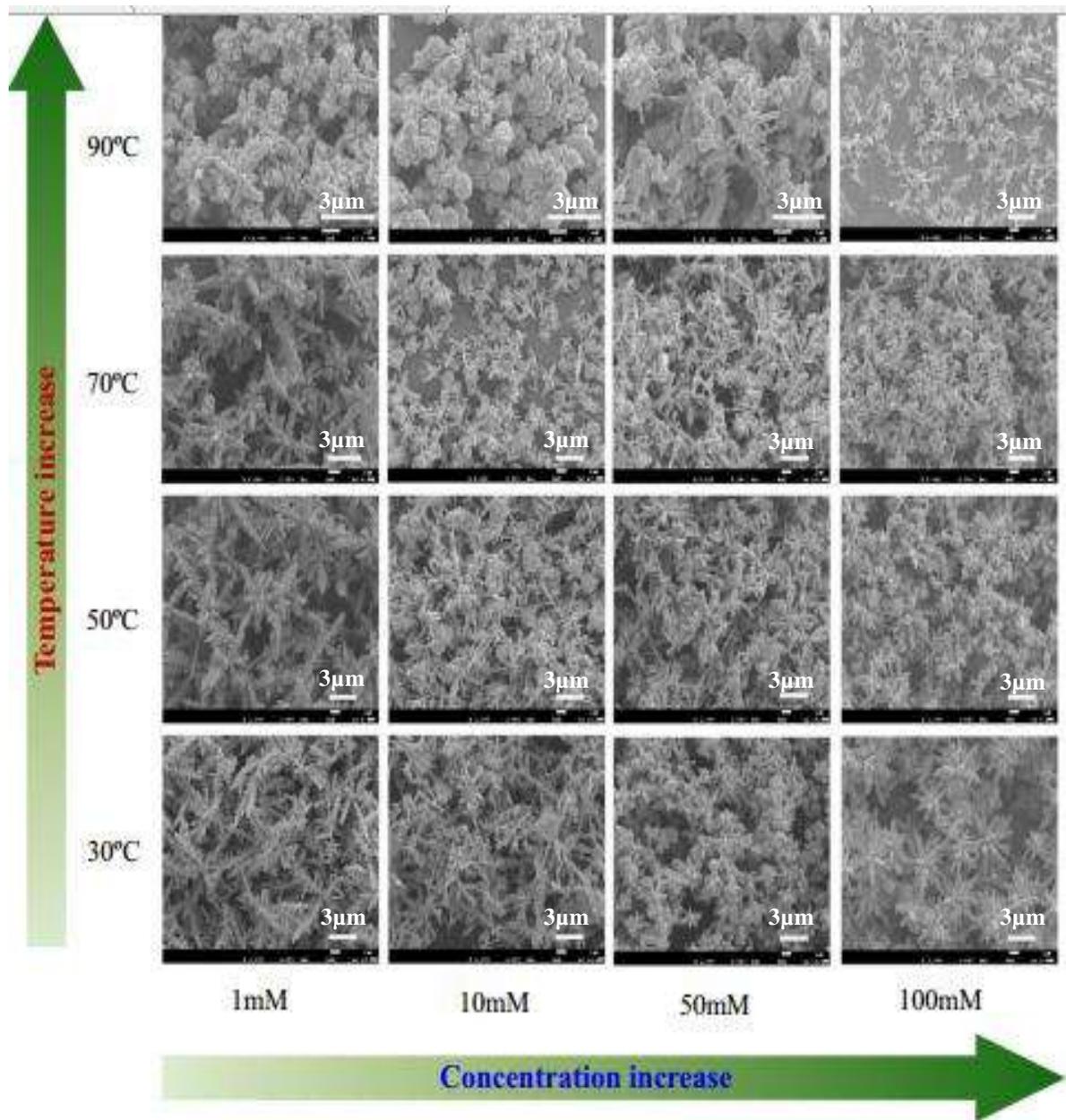


**Figura 2.26** Formación de nanodendritas de plata [34].

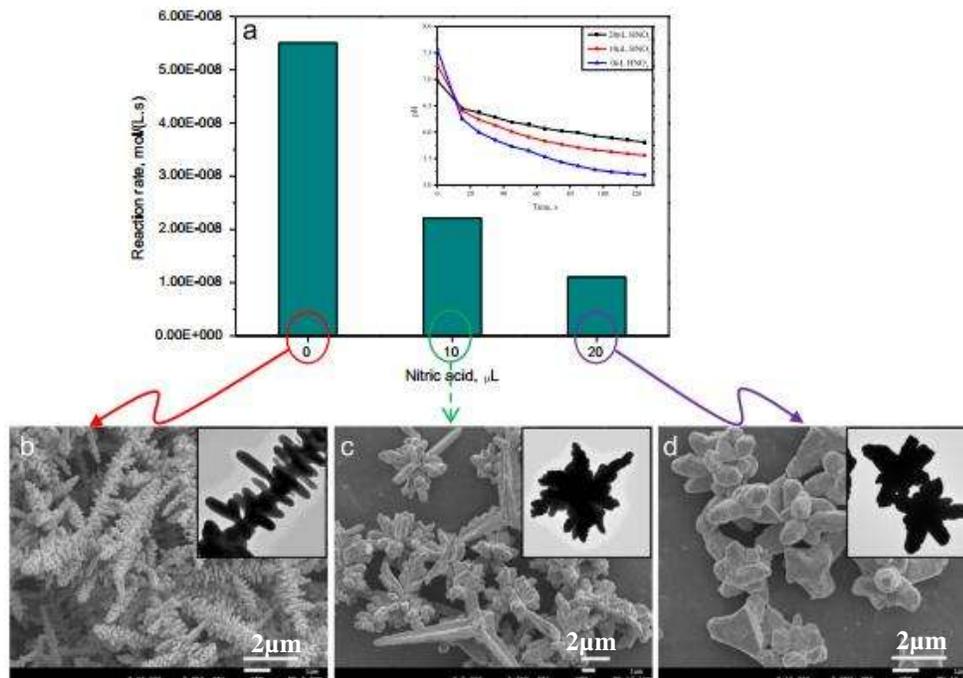
Se describe una síntesis en solución simple de nanodendritas de plata mediante la cual se reduce un nitrato de plata por formamida en PVP. Se observa que el tiempo y la concentración de PVP juegan un papel importante en el control de la morfología de crecimiento de las partículas de plata. Bajas concentraciones de PVP producen partículas isotrópicas mientras que altas concentraciones de PVP dan partículas en forma de dendritas [34].

Tao Yang y Col. [35], sintetizaron dendritas de plata, las cuales fueron ajustadas finamente por un enfoque de ingeniería química mediante el control de la difusión y la reacción química, lo que indicó que una regulación, esto permite obtener una forma prometedora para la síntesis controlada de estructuras dendríticas y un enfoque eficaz para suprimir el crecimiento de dendritas en las industrias.

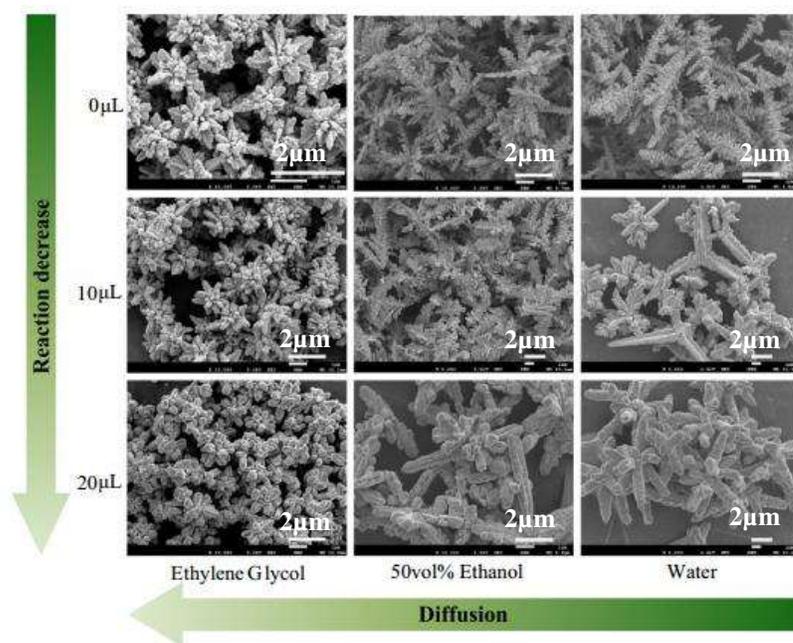
Una dendrita es una estructura estéticamente agradable, siendo el ejemplo más conocido los copos de nieve. Aunque la formación de dendritas ha sido estudiada durante siglos, la forma de controlar su crecimiento es limitada. Estas estructuras se sintetizan reduciendo los iones de plata en solución a partir de  $\text{AgNO}_3$  con hidroxilamina como agente reductor bajo agitación vigorosa, utilizando diferentes temperaturas. La difusión de agentes químicos se regula cambiando la viscosidad de la solución mientras que la reacción se regula añadiendo ácidos. La disminución de la velocidad de reacción conduce a la desaparición de la rama lateral de las dendritas mientras que la reducción de la velocidad de difusión acorta el tronco principal de las dendritas. La caracterización por MEB presenta los resultados obtenidos (Figura 2.27, 2.28 y 2.29) [35].



**Figura 2.27** Imágenes de MEB de estructuras dendríticas de plata, sintetizadas a diferentes temperaturas y concentraciones. Ambos factores influyen en la estructura de las dendritas de plata, no se puede deducir la regularidad [35].



**Figura 2.28** Una regulación de la velocidad de reacción (a) y estructuras de plata (b - d) sintetizadas a diferentes velocidades de reacción. Las barras de escala insertadas son de 2  $\mu\text{m}$  [35].



**Figura 2.29** Imágenes de MET de estructuras dendríticas de plata formadas a diferentes niveles de reacción y difusión. Las cotas son de 2  $\mu\text{m}$  [35].

Los resultados mostraron que la difusión influye en la dirección de crecimiento de las dendritas. La rápida difusión condujo al crecimiento tanto de facetas de alta energía como de facetas de baja energía [35].

## CAPÍTULO III METODOLOGÍA

Partiendo de la revisión bibliográfica se seleccionó la siguiente metodología; se inició con la adquisición de las plantas *Larrea tridentata* y *Arctostphylos Pungens Kunth* y la molienda para obtener polvos finos de las mismas. A continuación se procedió a la preparación acuosa de los extractos y las soluciones molares de la sal nitrato de plata,  $\text{AgNO}_3$ . Una vez desarrollados los pasos anteriores, se llevó a cabo la reacción para la síntesis de las AgNps, las cuales se caracterizaron en los diferentes equipos mencionados posteriormente. Fueron realizadas las pruebas antibacteriales, a fin de obtener resultados contra *E.coli*, enseguida se realizaron pruebas catalíticas mediante la degradación de azul de metileno, y por último se plantearon las conclusiones. En la Figura 3.1 se presentan los pasos realizados como parte de la metodología experimental.



**Figura 3.1** Diagrama del procedimiento experimental.

### 3.1 Adquisición de la planta *Larrea tridentata* y *Arctostphylos Pungens Kunth*

Se adquirieron en el mercado municipal Independencia de la ciudad de Morelia, Michoacán 50 g de hojas y tallo de las plantas *Larrea tridentata* y *Arctostphylos Pungens Kunth*. Se procedió a

realizar molienda pulverizadora utilizando un molino de bolas de la marca SPEX 8000M Mixer/mil. Lo anterior con la finalidad de incrementar el área superficial de las plantas para mejorar la extracción de las sustancias contenidas. La operación unitaria se realizó por 7 min a temperatura ambiente y posteriormente el polvo de la planta se almacenó en un contenedor hermético.

### **3.2 Preparación del extracto**

A partir de los polvos molidos, se tomaron 0.5, 1, 1.25, 1.5 g de *Larrea tridentata* y 2 g de *Arctostaphylos Pungens Kunth*, que se mezclaron con 50 mL de agua destilada, en vasos de precipitado de 100 mL cada uno de ellos. Cada una de las soluciones se colocaron en un termoagitador de la marca Thermo Scientific, donde éste se programó a 80 °C con una agitación de 10 STIR por un tiempo de 30 min, al término del tiempo la solución se dejó reposar por 10 min para posteriormente filtrarla mediante el uso de papel filtro Whatman de 150 mm con tamaño de poro de 25 µm. Las infusiones se almacenaron en contenedores herméticos a 4 °C.

### **3.3 Preparación de las soluciones molares**

Se prepararon diferentes soluciones molares de 1, 2, 3, 4, 5, 7 y 9 mM de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) en solución acuosa (Reactivos Química MEYER grado reactivo 99.99%). Después se almacenaron en frascos ámbar a temperatura ambiente debido a que el nitrato de plata reacciona con la luz solar.

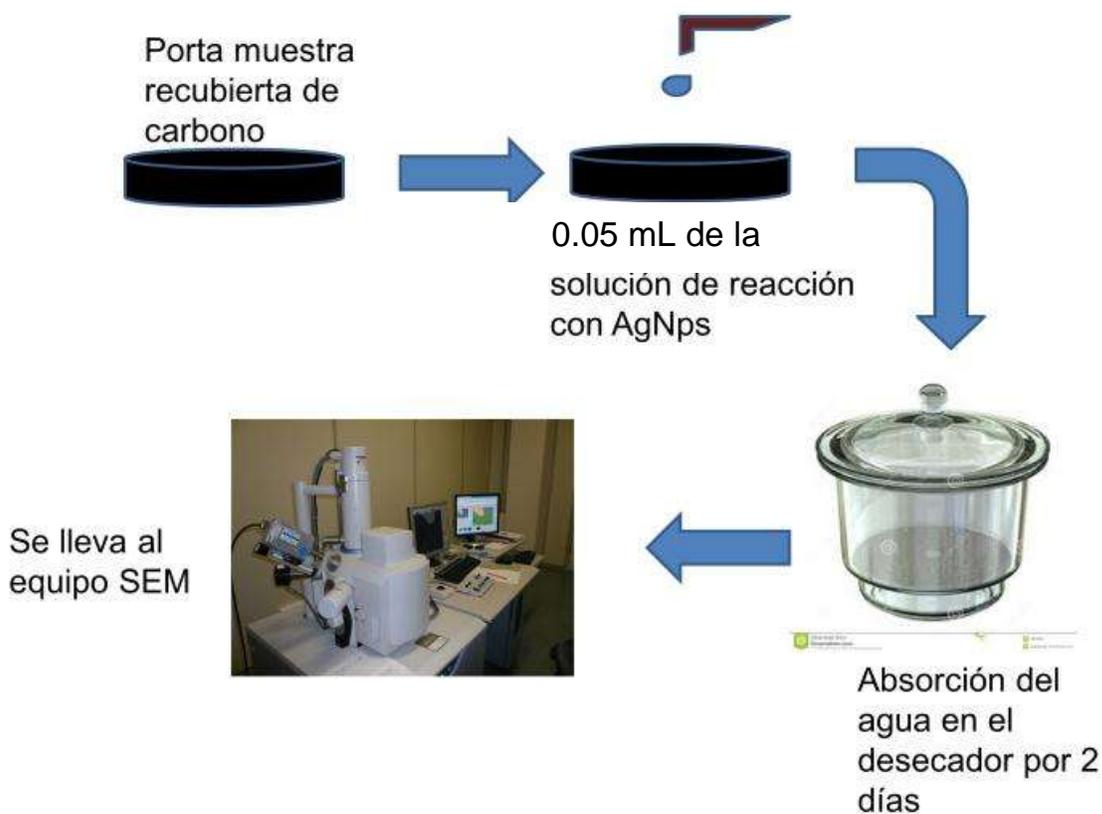
### **3.4 Síntesis de nanopartículas de plata**

En un vaso de precipitado de 50 mL, se adicionaron 5 mL de la concentración de los extractos a estudiar y 10 mL de  $\text{AgNO}_3$  en cada una de las concentraciones molares previamente preparadas a fin de obtener un volumen final de 15 mL. La reacción se dejó que procediera en diferentes tiempos desde horas hasta días y cada uno de los resultados se analizó visualmente mediante el cambio de color. Del mismo modo, para cada tiempo de reacción la solución se monitoreó mediante el uso de la espectroscopía de Ultravioleta-Visible (UV-Vis) en un rango de 150 a 900 nm con el equipo Ocean Optics USB-4000.

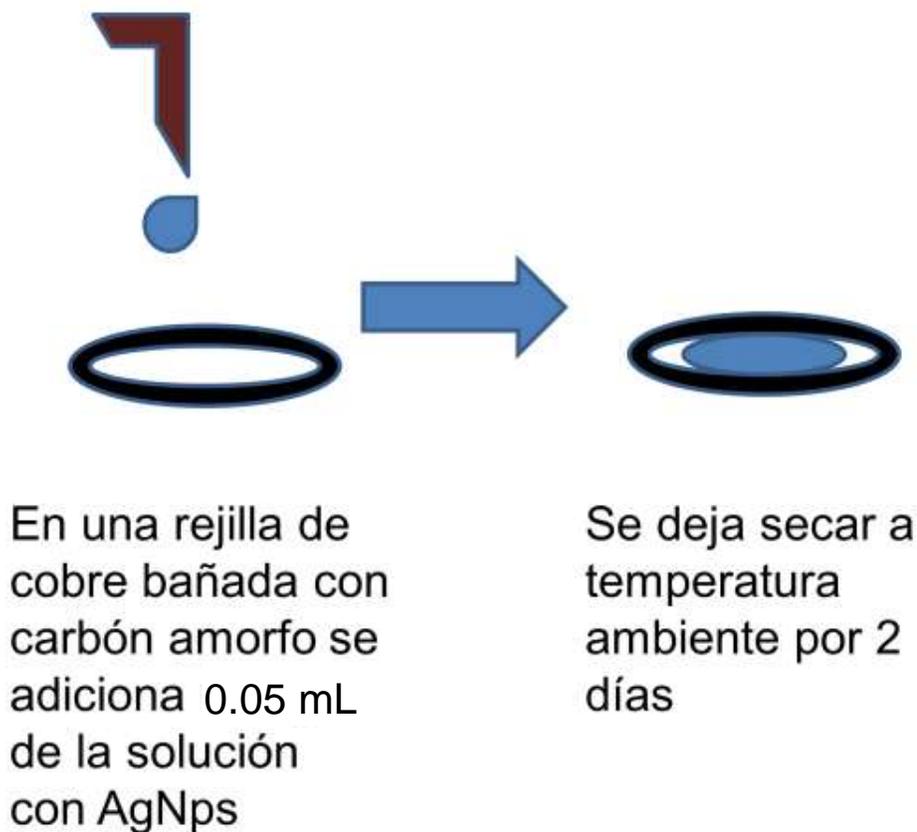
### 3.5 Caracterización óptica, química y estructural

Las técnicas que se utilizaron para la caracterización de las AgNps fueron: Espectroscopía de UV-Vis (equipo Ocean Optics USB-4000), espectroscopía de infrarrojo (FTIR) (equipo Bruker Tensor 27), difracción de rayos X (DRX) (equipo Siemens D500 X Ray Diffractometer), microscopía electrónica de barrido (MEB) (equipo Jeol JSM-7600F Field Emission Scanning Electron Microscope) y microscopía electrónica de transmisión (MET) (equipo Phillips Tecnai F20).

A continuación se presentan en las figuras 3.2 y 3.3 la preparación de muestras para MEB y MET.



**Figura 3.2** Procedimiento para la preparación de muestra en el equipo MEB.



**Figura 3.3** Procedimiento para la preparación de muestra en el equipo MET.

### 3.6 Prueba Antibacterial

Se prepararon 5.55 g de medio de cultivo Mueller Hinton con 150 mL de agua en un matraz Erlenmeyer de 500 mL, una vez agregados se procedió a calentar hasta disolver y hervir, posteriormente, se esterilizó el medio de cultivo junto con las cajas Petri, proceso que se realizó por una hora en un autoclave a 121 °C y 10.3421 kPa. Una vez estériles tanto el medio de cultivo como las cajas, se continuó agregando 15 mL de medio de cultivo en cada una de ellas, se dejó enfriar y solidificar en una zona estéril. A continuación las cajas Petri se sellaron y se llevaron a la incubadora a una temperatura de 36 °C para preservar hasta resembrar las bacterias *E. coli*.

La cepa de *E.coli*, se sembró en los medios de cultivos anteriormente preparados, usando la técnica de estriado e incubando a 36 °C por 24 horas. Al día siguiente, se observaron las cajas

con el cultivo y se seleccionó una colonia para nuevamente cultivar en una caja Petri e incubando por 24 horas, a fin de utilizar bacterias jóvenes y aisladas.

A partir del nuevo cultivo se realizó un césped por medio de hisopo estéril en dos cajas Petri, a las cuales se le colocaron 7 discos de papel filtro, previamente esterilizados, y, a 3 de ellos se le adicionaron 6 microlitros de las nanopartículas de Ag, usando agua esterilizada como control negativo de efecto antibacterial, a otro más se le adicionaron 6 microlitros de  $\text{AgNO}_3$  debido a la presencia de la plata en el nitrato, la cual en esta forma también cumple una función antibacterial, y por último se depositó en otro uno Antibiótico (cefatoxima 35.25 microgramos por microlitro), como control positivo de la prueba que inhibe el crecimiento de la bacteria. Luego se llevaron a incubar a la temperatura de 36 °C por 24 horas. La actividad antibacterial se determinó mediante la medición de los halos de inhibición.

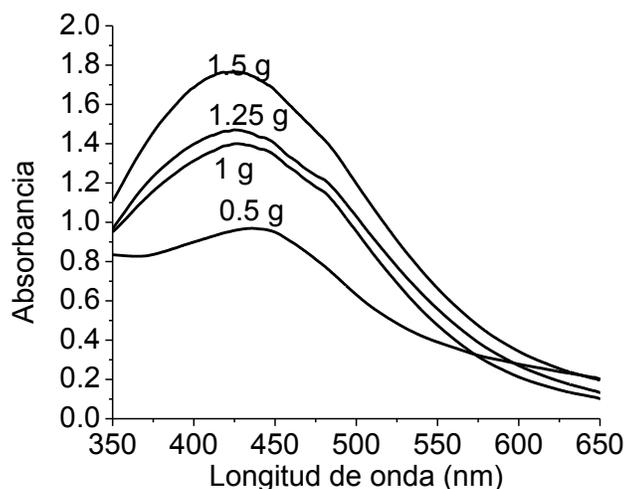
### **3.7 Prueba catalítica (degradación del Azul de Metileno)**

Se utilizaron cubetas de poliestireno para todos los ensayos catalíticos, en los cuales se adicionaron 2.5 mL de azul de metileno con una concentración de  $3 \times 10^{-7}$  M y 0.5 mL de AgNps. Se monitoreó con ayuda del UV-Vis por varios días observando el comportamiento de degradación del mismo.

## CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Resultados de la planta *Larrea tridentata*

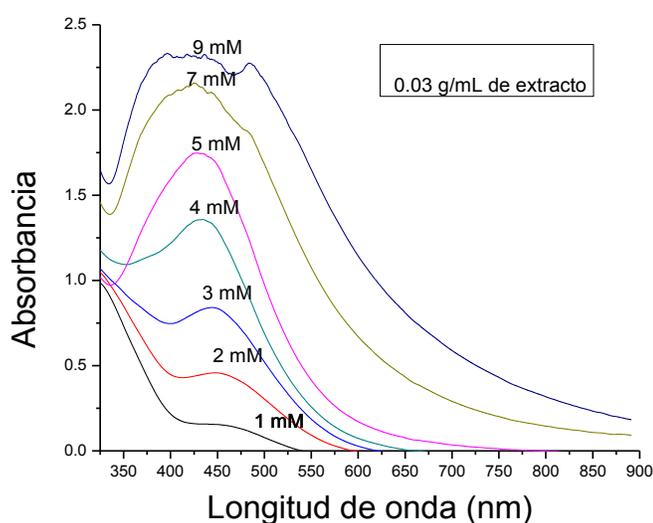
La Figura 4.1 presenta los espectros de UV-vis donde se modifica la concentración del extracto de 0.01 a 0.03 g/mL manteniendo constante la molaridad de la sal (5 mM  $\text{AgNO}_3$ ). En todos los espectros se observa un pico de absorción entre 400 y 500 nm correspondiente a la resonancia del plasmón superficial (SPR) característico de la AgNps, cuyo máximo se presenta a 425 nm. Se observa que a medida que la cantidad de extracto se incrementó un aumento en la intensidad del pico SPR se presenta, indicando un incremento en la cantidad de AgNps obtenidas. También se observa que en la misma medida una mayor distribución de tamaño de partícula se obtiene, observada como consecuencia del ensanchamiento del pico SPR, así como un desplazamiento hacia el azul lo que indica un menor tamaño promedio de nanopartícula[36]. Estos resultados sugieren que el extracto de *Larrea tridentata*, contiene la sustancias adecuadas para la bio-reducción y estabilización de las AgNps. Estos resultados son similares a los obtenidos por J. Luis López-Miranda mediante el empleo de la planta *Tamarix gallica* donde variaron la concentración de extracto [1].



**Figura 4.1** Espectros de UV-Vis de la concentración 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  variando la masa 0.5 a 1.5 g de la planta *Larrea tridentata* en 50 mL de agua destilada.

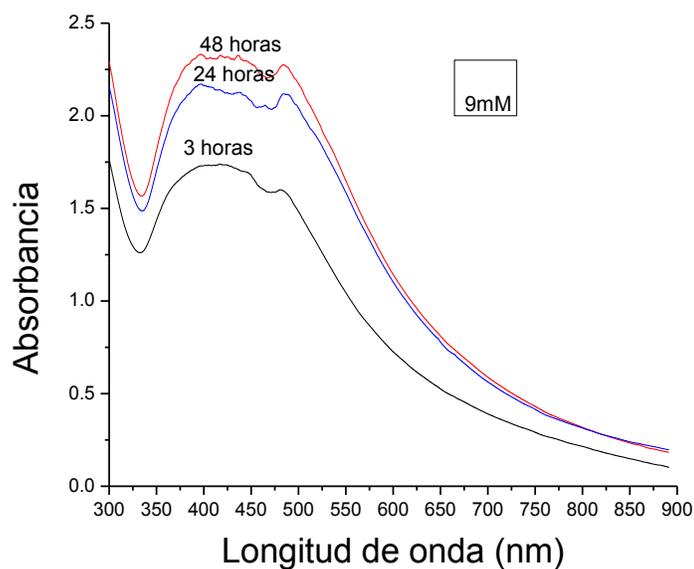
La Figura 4.2 despliega el espectro de UV-vis, en donde se mantuvo fija la concentración del extracto 0.03 g/mL variando la sal precursora de  $\text{AgNO}_3$  en 1, 2, 3, 4, 5, 7 y 9 mM, en estos

espectros, se presentan los picos característicos de las AgNps, observando un aumento en las intensidades conforme se incrementa la molaridad indicando mayor presencia de Nps formadas, además, existe un ensanchamiento de los picos a molaridades más grandes, que se debe a la aparición de un segundo pico que indica bimodalidad de tamaños de Nps [37]. Todo esto debido a que las sustancias estabilizadoras de la planta se han agotado para mantener encapsulada a la nanopartícula, haciendo que estas crezcan sin ningún impedimento, ya que hay bastante sal precursora y además que los agentes reductores son bastantes para lograr la biosíntesis.



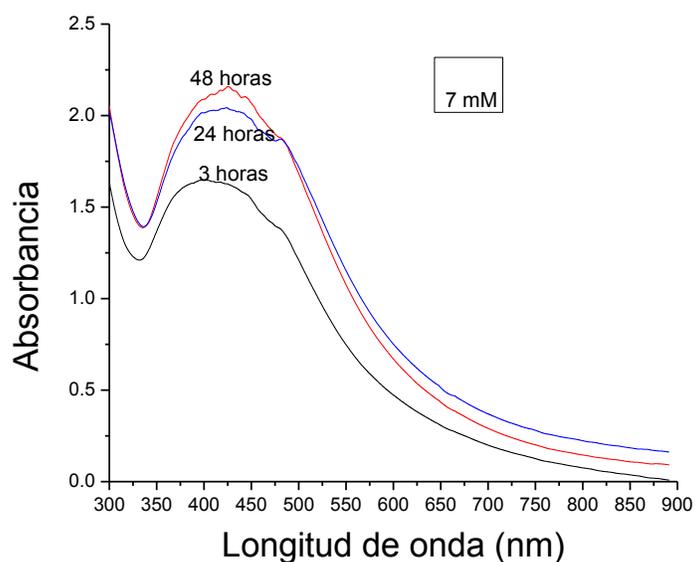
**Figura 4.2** Espectros de UV-Vis variando la concentración molar de 1 a 9 mM de  $\text{AgNO}_3$ , manteniendo la concentración del extracto de *Larrea tridentata*  $0.03 \text{ g/mL}$ .

En la Figura 4.3 se ilustran los espectros de UV-vis teniendo como variante el tiempo de reacción, manteniendo fijas la molaridad de la sal en 9 mM y la concentración del extracto en  $0.03 \text{ g/mL}$ , en donde se observa un incremento en la intensidad del pico. Conforme pasa el tiempo la banda tiende a ensancharse apareciendo un nuevo pico, lo que es atribuido a la gran cantidad de nanopartículas biosintetizadas con distribución de tamaños variables, dando la conclusión de que las sustancias con el papel de agentes estabilizadores son insuficientes para detener el crecimiento de las AgNps. A medida que avanza el tiempo las nanopartículas crecen saliendo del rango nanométrico y a la vez no cumpliendo con el objetivo principal de la biosíntesis de AgNps planteado en este trabajo.



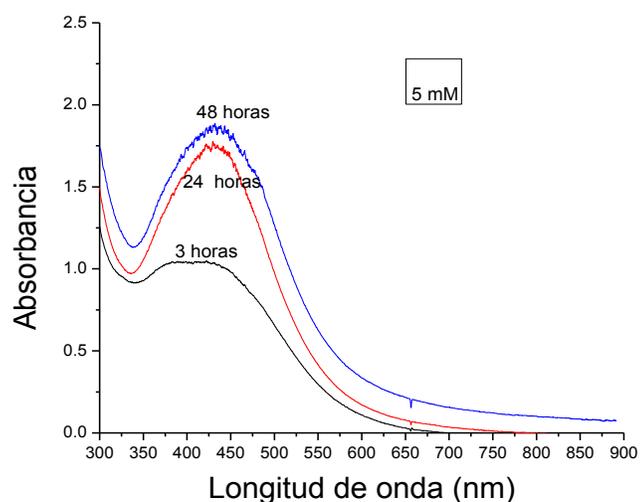
**Figura 4.3** Espectros de UV-Vis de la concentración 0.03 g/mL de extracto de *Larrea tridentata* y 9 mM de  $\text{AgNO}_3$  respecto al tiempo.

Al igual que la figura anterior, en la Figura 4.4 se mantuvo fija la concentración del extracto en 0.03 g/mL aunque se disminuyó la molaridad a 7 mM, conforme pasa el tiempo se nota el aumento de la intensidad del pico SPR, cuyo comportamiento es muy similar a la Figura 4.3, donde se percata del ensanchamiento y la aparición de un nuevo pico propios de las Nps sintetizadas y de la distribución de tamaños, al paso del tiempo, se podría pensar que estas Nps podrían salirse del rango nanométrico, a partir del presente comportamiento se determina un agotamiento de las sustancias estabilizadoras propias de la planta *Larrea tridentata*.



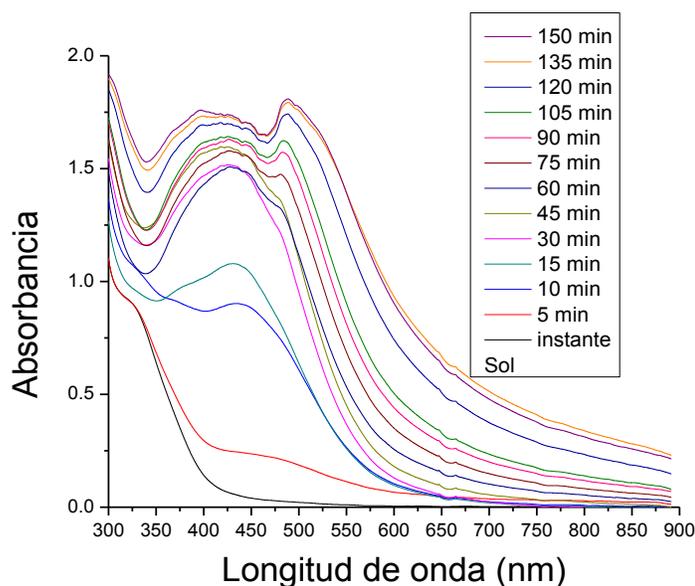
**Figura 4.4** Espectros de UV-Vis de la concentración 0.03 g/mL de extracto de *Larrea tridentata* y 7 mM de  $\text{AgNO}_3$  respecto al tiempo.

La Figura 4.5 muestra los resultados derivados mediante el uso de una concentración de sal igual a 5 mM (extracto constante 0.03 g/mL), donde se aprecia una banda bien formada, intensa y angosta conforme pasa el tiempo, lo que indica Nps biosintetizadas con tamaños homogéneos, estos resultados son comparables con los de J. Luis López-Miranda donde un pico bien formado se debe a la síntesis de Nps homogéneas [1].



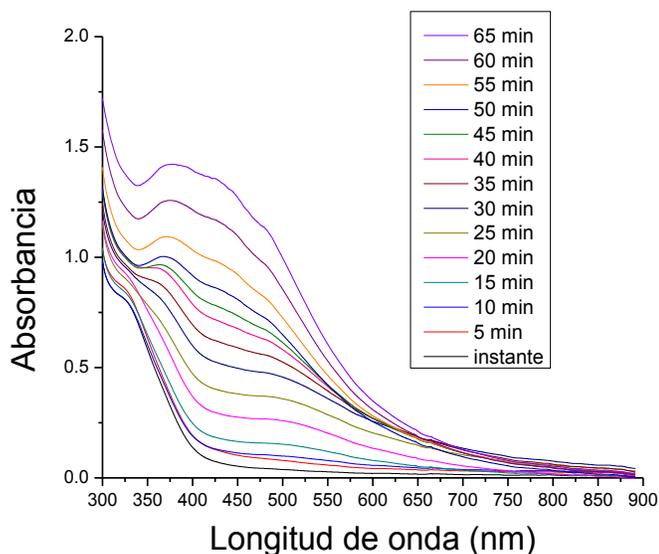
**Figura 4.5** Espectros de UV-Vis de la concentración 0.03 g/mL de extracto de *Larrea tridentata* y 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ , respecto al tiempo.

La Figura 4.6 corresponde a las condiciones donde se tiene fija la molaridad de 5 mM y concentración del extracto de 0.03 g/mL, adhiriendo energía solar con respecto al tiempo donde se observa un comportamiento esperado, ya que hay un aumento de la intensidad notable debido a la energía obtenida de la luz solar, produciendo que los átomos tengan energía para moverse rápidamente y con ello un choque más rápido para la formación de Nps lo que explica la aparición del doble pico y aumento de intensidad conforme pasa el tiempo. Además, se puede comparar con estudios de Yang [35] donde factores como temperatura y en nuestro caso energía solar movilizan la nucleación y crecimiento de nanopartículas y en este caso los agentes estabilizadores se agotan, otra explicación sería la presencia del sol que pudiera estar afectando a las sustancias activas de la planta degradándolas u oxidándolas debido a la energía absorbida inhibiendo su acción de estabilizar y con ello un crecimiento de partícula incontrolable.



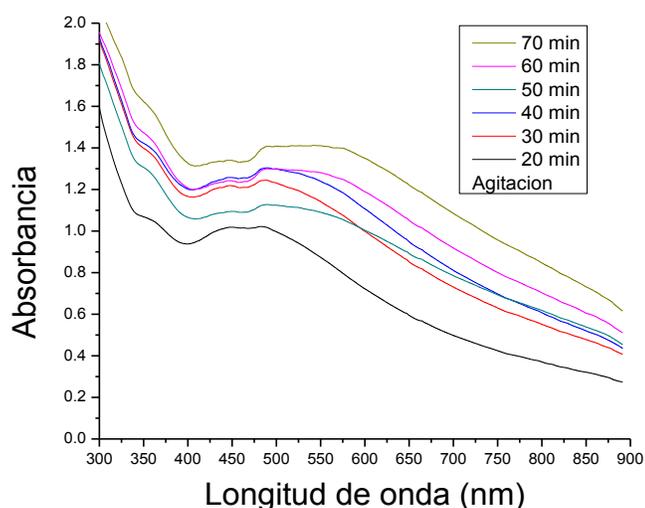
**Figura 4.6** Espectros de UV-Vis de la concentración 0.03 g/mL de extracto de *Larrea tridentata* y 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  variando el tiempo de exposición a la luz solar desde 5 a 150 min.

La Figura 4.7 presenta condiciones similares a las anteriores pero ahora en vez de energía del sol se sustituye por un baño ultrasónico, donde conforme pasa el tiempo, las ondas ultrasónicas tienen efecto negativo en la bioreducción, debido a la ausencia del pico SPR, lo que sugiere un retardo de los procesos de nucleación y crecimiento, frustrando para estas condiciones la biosíntesis de AgNps.



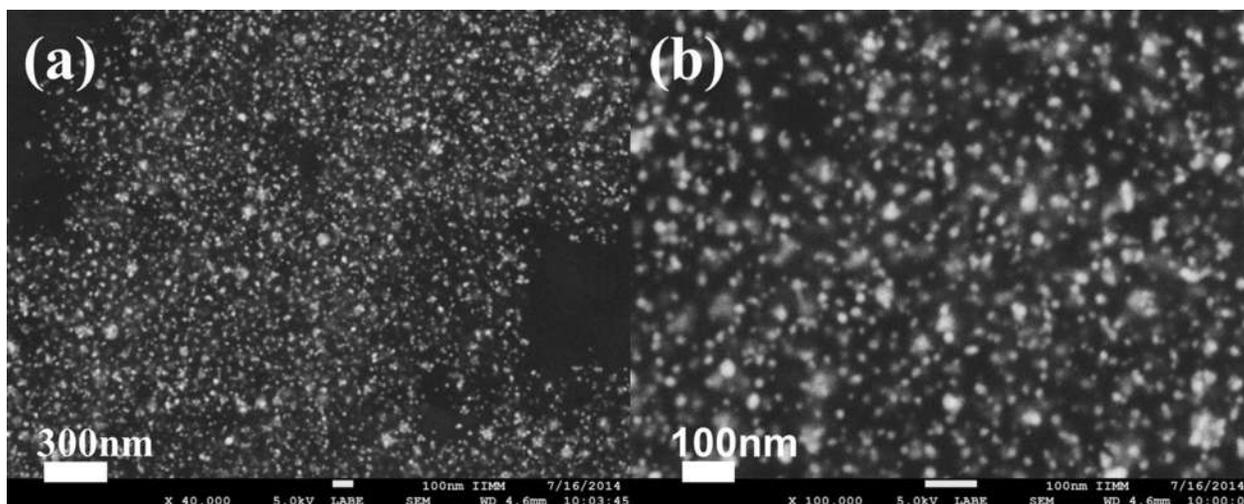
**Figura 4.7** Espectros de UV-Vis de la concentración 0.03 g/mL de extracto de *Larrea tridentata* y 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ , variando el tiempo de exposición en baño ultrasónico de 5 a 65 min.

En la Figura 4.8 se repite para las mismas condiciones anteriores el experimento pero ahora con energía mecánica por medio de agitación, esta energía logra tener influencia en la biosíntesis de AgNps, ya que se presentan un aumento de intensidad y ensanchamiento. Donde se puede percatar de un crecimiento rápido sin ningún impedimento debido a la energía aplicada, ya que los átomos se ven afectados por esta energía provocándoles más movilidad y con ello este comportamiento al paso del tiempo. Los estudios de Ya Lu [32] coinciden con estos resultados.



**Figura 4.8** Espectros de UV-Vis de la concentración 0.03 g/mL de extracto de *Larrea tridentata* y 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  variando el tiempo de agitación de 20 a 70 min.

Las imágenes de microscopía de barrido ilustradas en la Figura 4.9 corresponden a diversas ampliificaciones, que muestran los productos de la síntesis con el uso de 0.03 g/mL del extracto de *Larrea tridentata* y una concentración de 5 mM de la sal precursora ( $\text{AgNO}_3$ ). Se aprecia una gran cantidad de AgNps representadas por los puntos brillantes, concluyéndose una síntesis exitosa, fácil y ecológica. Puede percatarse que todas las partículas están distribuidas uniformemente y el tamaño se mantiene relativamente homogéneo por debajo de los 30 nm con formas semi-esféricas obtenidas en su totalidad.



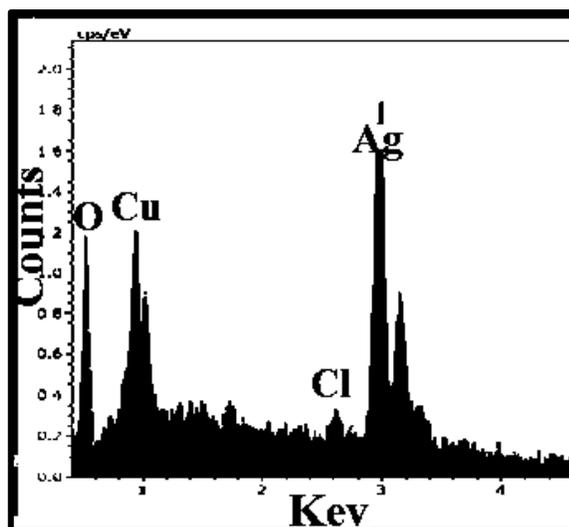
**Figura 4.9** Imágenes de MEB a diferentes ampliificaciones mostrando las AgNps sintetizadas; (a) X40,000 y (b) X100,000.

La técnica de espectroscopía de dispersión de energía (EDS) permite realizar un análisis elemental para la confirmación de la presencia del elemento plata en las Nps. Mediante esta técnica se pueden detectar todos los elementos químicos en estado sólido en la muestra analizada, que presenten un número atómico mayor a 4, de manera cualitativa y semicuantitativa. Como se nota en la Figura 4.10 se confirma la presencia de plata, dando por hecho la presencia de Nps biosintetizadas con esta composición de 0.03 g/mL de extracto con 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

Este espectrograma sólo presenta los diferentes tipos de radiaciones emitidas por el sólido que se pueden derivar de la excitación electrónica de los átomos del sólido cuando otros electrones provenientes del cañón constituyente del microscopio son dirigidos a una alta velocidad cercana a la velocidad de la luz.

Del espectro también se observa un pico correspondiente a la presencia de oxígeno, que se atribuye a sustancias presentes en el extracto de la planta como lignanos fenólicos, flavonoides,

saponinas, triterpenos, monoterpenos, aromáticos, esteroides, taninos entre otros, que pueden estar participando en la síntesis de nanopartículas y que contienen oxígeno en su estructura [22]. Se presenta en el espectrograma otro pico correspondiente al Cl, debido a los halogenuros presentes en la planta, cuyo halógeno es ionizado y reaccionado con la plata o también a las sales minerales presentes en la planta como cloruro de sodio, potasio etc.

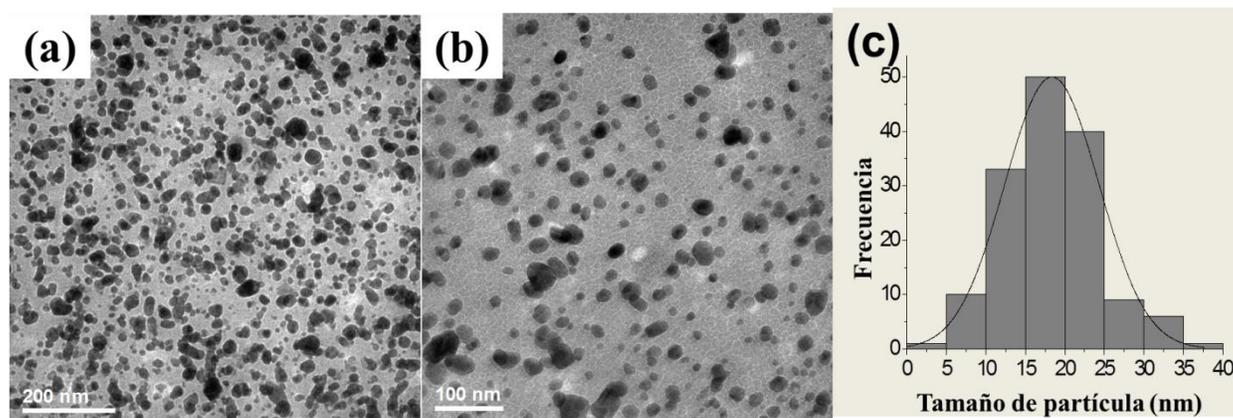


**Figura 4.10** EDS de las AgNps sintetizadas con 0.03 g/mL de extracto de *Larrea tridentata* y 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  a 48 horas.

Es importante mencionar que aunque se observan algunas partículas aparentemente grandes, se comprobó mediante la técnica de MET que son cúmulos de partículas, como es presentado en el párrafo siguiente. La Figura 4.11 presenta en sus incisos a y b, las imágenes de MET correspondientes a los productos de la síntesis utilizando 0.03 g/mL del extracto de *Larrea tridentata* y una concentración 5 mM de la sal precursora ( $\text{AgNO}_3$ ). Se observa por medio de la cota que las Nps, caen por debajo de los 200 nm de tamaño, lo que indica una distribución homogénea casi en su totalidad de partículas cuasiesféricas.

A partir de los resultados anteriores se presenta un histograma en el recuadro de la misma figura, donde gráficamente se describe la distribución de las nanopartículas, las cuales presentan un tamaño promedio de 18 nm, con un tamaño mínimo de 4 nm y uno máximo de 34 nm. Cabe mencionar que las diferencias en las mediciones de los tamaños entre MEB y MET, se derivan de que en el primero la magnificación posible no es tan alta como en el último resultando en una variación de la medición, aunque siendo mejor en MET. Estos resultados confirman que la síntesis de estas Nps, puede ser efectuada mediante el extracto de la planta *Larrea tridentata*

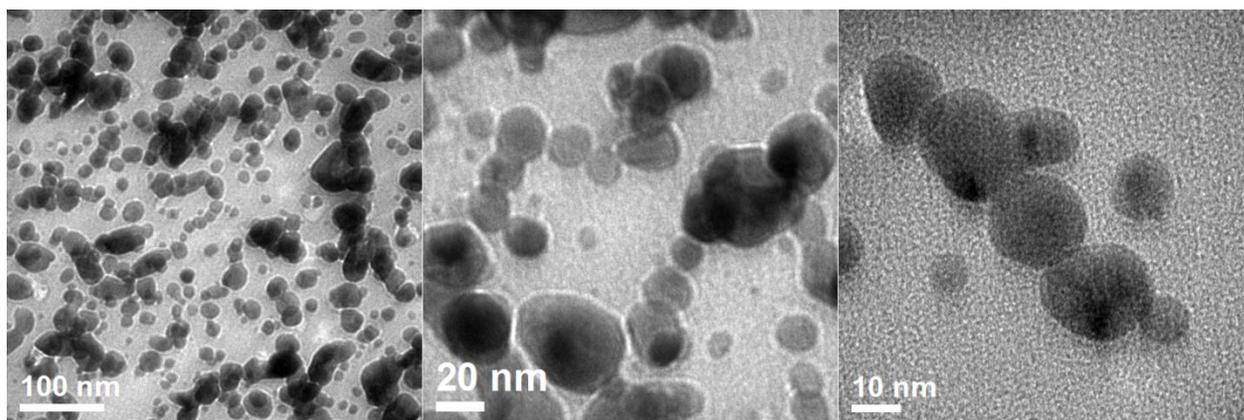
utilizado como agente reductor y estabilizador, además, tal y como se describen los resultados de UV-Vis las partículas están distribuidas uniformemente.



**Figura 4.11** (a) y (b) Imágenes de MET de campo claro de las AgNps y (c) histograma.

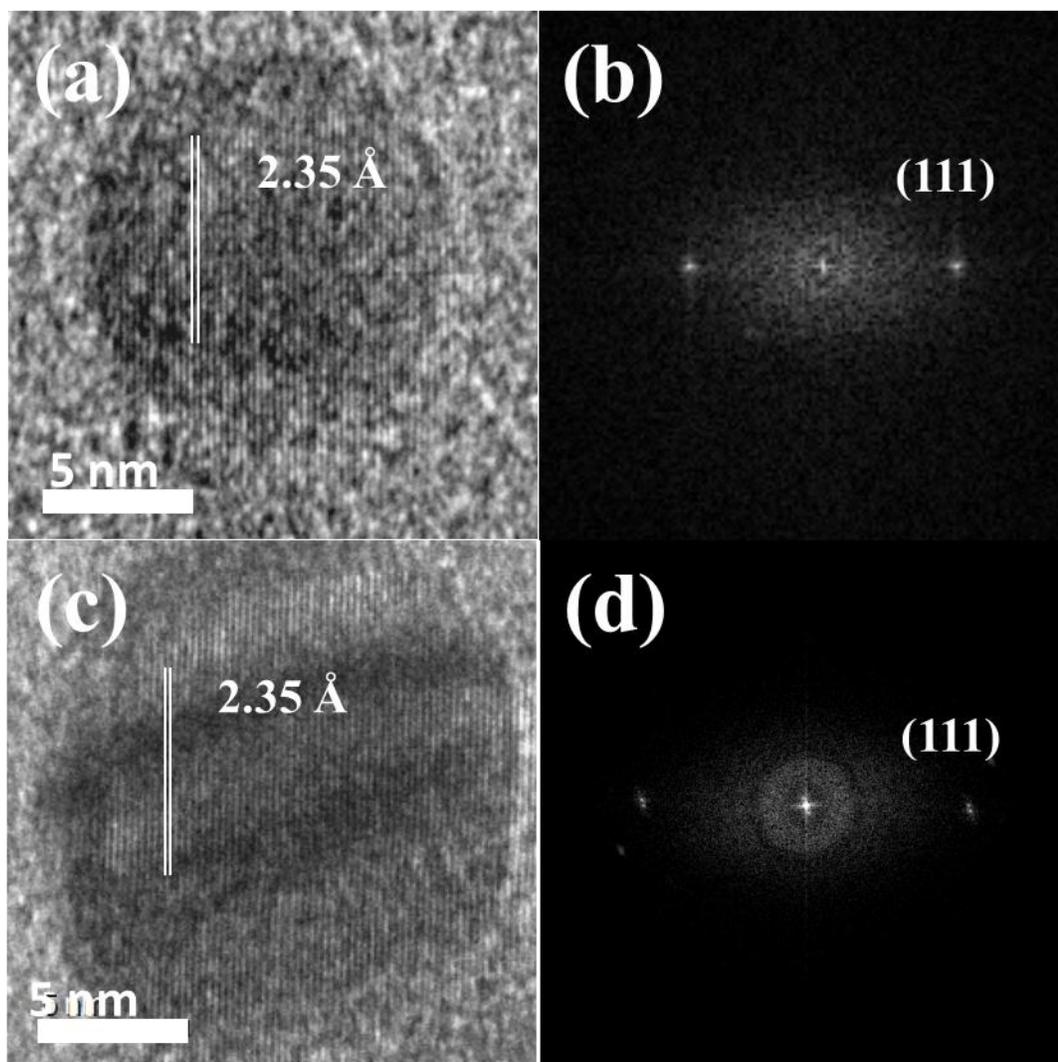
Es comparable con Mital y Col. donde obtuvieron partículas con tamaño promedio entre 10-15 nm [29].

En la Figura 4.12 se muestra un tipo de crecimiento muy peculiar ya que tiende a formar encadenamientos de Nps, donde se muestra un crecimiento preferencial para ciertos planos, atribuido a los agentes tensoactivos propios de la planta.



**Figura 4.12** Imágenes de campo claro mostrando el encadenamiento de AgNps a diferentes magnificaciones.

En la Figura 4.13 se observan imágenes por la técnica de alta resolución, en donde se puede observar la estructura de las AgNps, denotada por la resolución lineal dentro de ellas, como se podrá notar en las imágenes ilustran un tamaño aproximado de 13.5 nm, cuya forma es similar a las mostradas en las micrografías anteriores lo que confirma la síntesis de las AgNps.

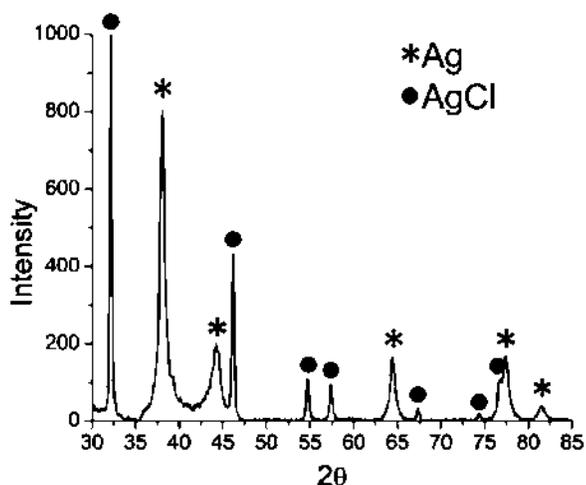


**Figura 4.13** (a)-(c) Imágenes de alta resolución de algunas Nanopartículas de Plata y (b)- (d) FFT de las partículas.

Mediante la transformada rápida de Fourier (FFT) se confirma la naturaleza cristalina, así como las distancias interplanares entre los puntos de difracción, los que presentan una distancia aproximada a  $2.35 \text{ \AA}$  que coinciden muy bien con la distancia interplanar correspondiente a los planos del tipo (111) de la estructura cúbica centrada en las caras (fcc) de la plata metálica. De acuerdo al rayado de estas partículas se presenta una estructura del tipo fcc.

En la Figura 4.14 muestra el difractograma de rayos X correspondiente a la concentración de  $0.03 \text{ g/mL}$  de extracto de *Larrea tridentata* con  $5 \text{ mM}$  de  $\text{AgNO}_3$ , el cual fue analizado con ayuda del programa Match. Cabe mencionar que ésta técnica permite conocer la estructura cristalina y los

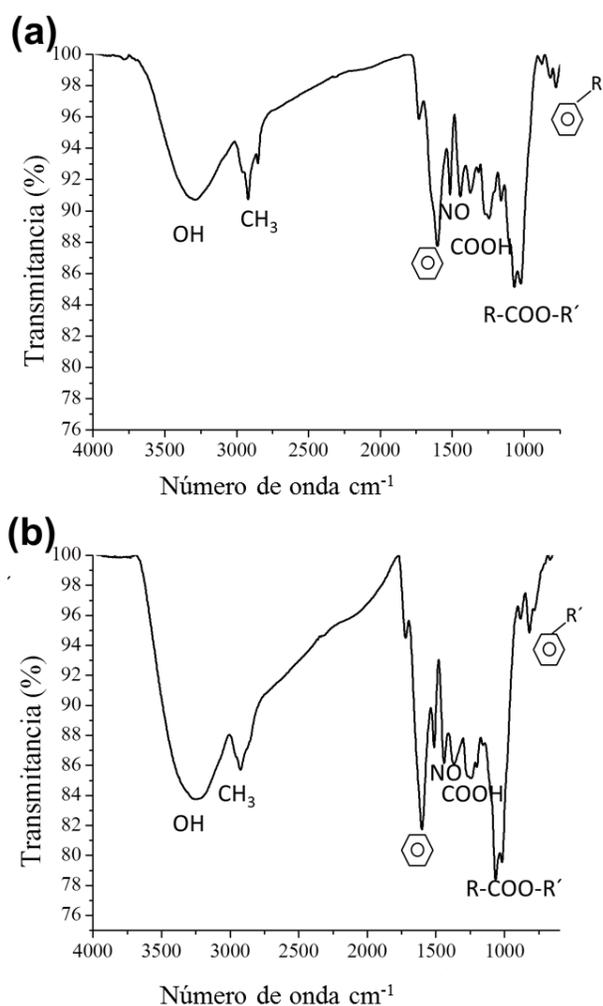
picos obtenidos se comparan con una base de datos los cuales se sobreponen a los mismos en cuya coincidencia se encuentra la identificación del sólido. Realizando la indexación de los picos, se encuentra que aparecen los planos (111), (200), (220), (311) y (222) correspondientes a la estructura cúbica centrada en las caras de la plata y así se concluye la presencia de este elemento. Del mismo difractograma aparecen otros picos que corresponden al cloruro de plata, cuyos planos (111), (200), (220), (311) y (222) coinciden con su estructura fcc. La presencia de este compuesto se atribuye a la gran cantidad de sustancias contenidas en la planta, de las cuales también se deriva la presencia de halogenuros, cuyo enlace es C-Cl o también Na-Cl y que reacciona para formar el cloruro de plata insoluble en el extracto, por tal, se deduce que la presencia de este compuesto es perjudicial en el sentido que consume plata de la reacción.



**Figura 4.14** Difractograma de rayos X de las AgNps sintetizadas con 0.03 g/mL de extracto de *Larrea tridentata* y 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  a 48 horas.

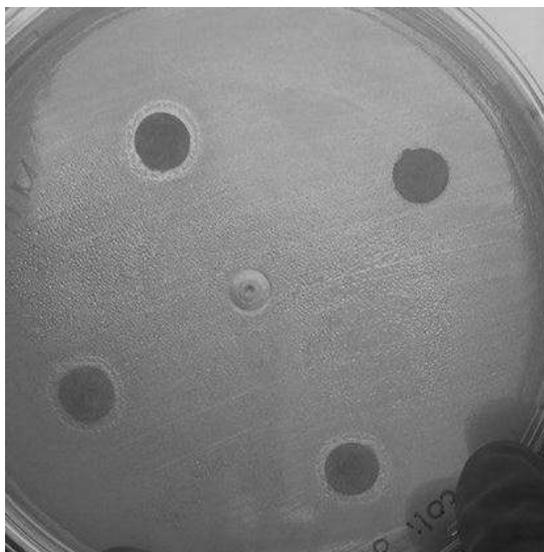
Los espectros del extracto de *Larrea tridentata* antes y después de la reacción con 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  empleando una concentración de 0.03 g/mL de extracto a las 72 horas se presentan en la Figura 4.15 a-b, de donde se deriva la siguiente información. El pico  $3271\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al grupo funcional O-H atribuido a la presencia de agua y alcoholes se presenta en ambos espectros. Antes y después de la reacción el pico del espectro ubicado en  $2933\text{ cm}^{-1}$ , muestra la presencia del grupo  $\text{CH}_3$  (alcanos) que se caracteriza en este rango por la presencia de estos picos.

A continuación se ubican los picos en 1722, 1602 y 1514  $\text{cm}^{-1}$  del espectro después de la reacción, que corresponden al enlace  $\text{C}=\text{C}$  del grupo de los aromáticos con núcleo bencénico. A diferencia de lo observado en el espectro antes de la reacción, las absorciones secundarias disminuyen su intensidad, deduciendo que estos compuestos reaccionan. Los picos en 1440 y 1372  $\text{cm}^{-1}$  en su conjunto corresponden al enlace  $\text{N}-\text{O}$  de los compuestos con nitrógeno en donde en ambos espectros se mantienen. Por lo tanto, se concluye que el grupo bencénico es el posible involucrado en la reacción al momento de la síntesis de AgNps. Los demás picos siguen el mismo comportamiento en ambos espectros.



**Figura 4.15** Espectros de FTIR (a) de la planta *Larrea tridentata* y (b) de las AgNps sintetizadas con la planta.

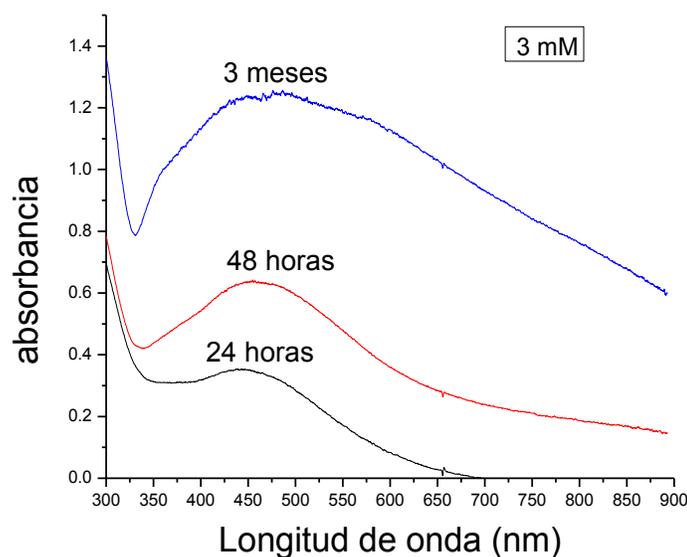
La Figura 4.16 muestra los halos de inhibición de la bacteria *E.coli* ocasionados por la presencia de las AgNps sintetizadas. Como se observa, esta prueba se realizó por triplicado en la misma caja Petri, como control se utilizó una muestra de extracto puro para descartar un efecto por parte de los componentes del extracto de la planta. Los resultados indican un diámetro de 9 mm de inhibición, lo que indica la eficiencia Antibacterial de las AgNps, estos resultados son comparables con los obtenidos por Tamboli [26].



**Figura 4.16** Halos de inhibición de la bacteria *E.coli* por efecto de las AgNps.

#### **4.2 Resultados de la planta *Arctostphylos Pungens Kunth***

La Figura 4.17 muestra los espectros de UV-Vis pertenecientes a la concentración del extracto de *Arctostphylos Pungens Kunth* de 0.04 g/mL y empleando 3 mM de  $\text{AgNO}_3$ , utilizando como variable el tiempo de reacción en 24, 48 horas y 3 meses. Como se puede percatar la intensidad del pico SPR va en aumento conforme el tiempo pasa y el ensanchamiento de la banda es notable, propio de una distribución de tamaños y formas variables. El efecto reductor-estabilizador de los componentes de la planta cumplen su función reduciendo los iones de plata desde el extracto para obtener partículas con dimensiones nanométricas. Esta técnica permite seguir con la caracterización de MEB y MET, ya que tenemos la presencia del pico del plasmón entre 350-650 nm que es propio de las AgNps.

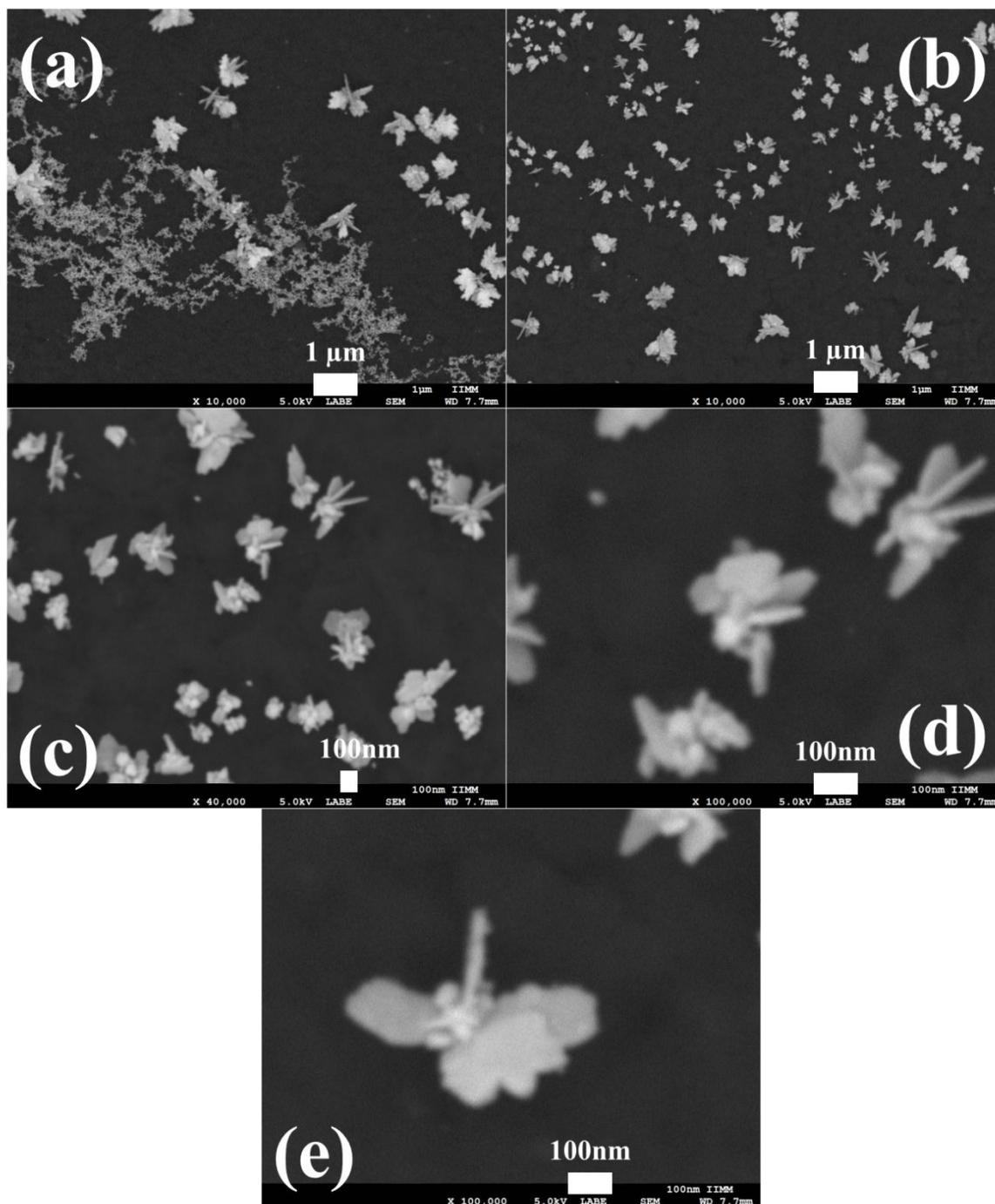


**Figura 4.17** Espectros de UV-Vis concentración del extracto de *Arctostaphylos Pungens Kunth* de 0.04 g/mL y empleando 3 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

La Figura 4.18(a-d) ilustra imágenes de MEB a las 48 horas de reacción, obtenidas de la relación de concentración mencionadas en la Figura 4.17, donde se pueden apreciar morfologías similares a una mariposa, con un rango de tamaño de 100-700 nm y un tamaño promedio de 300 nm. Estas entidades están constituidas por varias (4-10) nanoestructuras laminares de aproximadamente 200 nm de superficie y 25 nm de espesor, cuya clasificación cae en la del tipo 2D y en su totalidad son llamados ensambles, donde, como se nota de las imágenes, crecen en ciertas direcciones y planos preferenciales cumpliendo con la propiedad de anisotropía. También se logran observar de la Figura 4.18 (e), encadenamientos formados por nanopartículas presentes en la muestra. Estas imágenes pueden reafirmar lo observado en los espectros de UV-Vis, donde una apreciable distribución de tamaño y diversas formas de las partículas sintetizadas fueron indicadas. Estas formas anisotrópicas se obtienen ya que están afectadas por la cantidad de estabilizadores implícitos en la planta de *Arctostaphylos Pungens Kunth*, donde se argumenta que estos no son suficientes ya que solo cierta parte de la plata reducida es estabilizada y la demás sigue creciendo sin impedimento alguno.

En la literatura no se ha reportado alguna forma similar de agregados formados por nanopartículas (tipo mariposa), hay que recalcar que esta síntesis es verde, obteniendo estas partículas con peculiar forma a condiciones normales. Sin embargo, la forma de encadenamientos

llamados también fractales los ha reportado Jyotirmoy Sarkar [38], autoensamblados de AgNps sobre ácido esteárico en película de Langmuir-Blodgett.



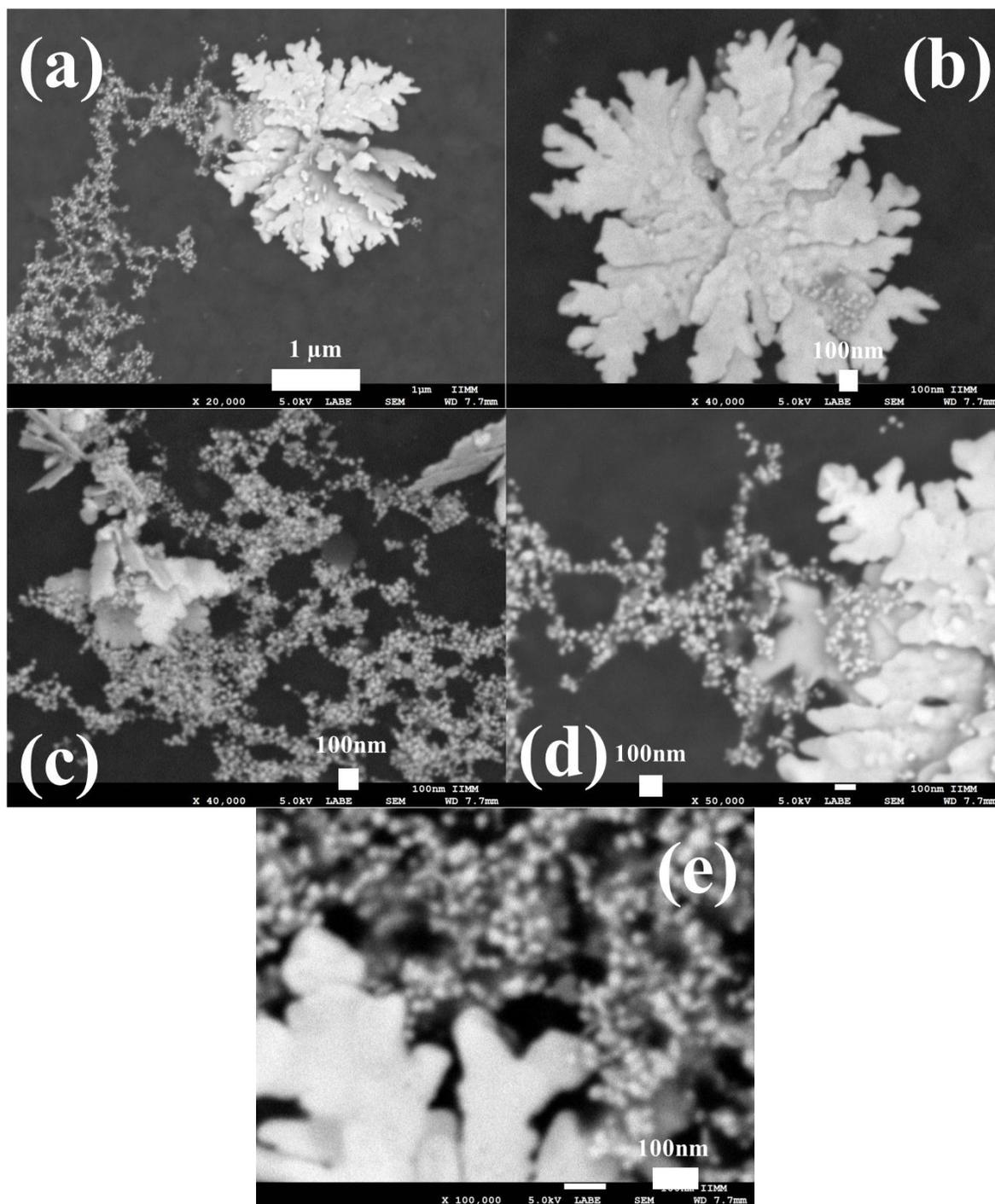
**Figura 4.18** Imágenes de MEB a distintas ampliaciones de las partículas sintetizadas con la concentración de extracto 0.04 g/mL de pingüica con 5mM de AgNO<sub>3</sub>. (a)-(b) X10,000, (c) X40,000 y (d)-(e) X100,000.

Se presentan más imágenes obtenidas de MEB en la Figura 4.19, mostrando otra forma de partícula dendrítica laminada, donde se observa un nanomaterial 2D con una dimensión nanométrica, aparentemente está formada por Nps que van formando este tipo de estructuras dendríticas y que superan el tamaño nanométrico, presentando un tamaño mayor a una micra. Es común que esta forma obtenida, se obtenga cuando los agentes tensoactivos obtenidos en la planta, son escasos o definitivamente no tiene, este tipo de crecimiento lo reporta Tao Yang [35] donde obtiene formas similares aunque existen diferencias marcadas.

El otro tipo de partículas que presenta la Figura 4.19 son encadenamientos (fractales), cuyo tamaño oscila entre los 2 a 4 micras. Jyotirmoy Sarkar presenta un encadenamiento similar de plata [38].

Con lo observado se determina que los fractales son parte del inicio de la biosíntesis, seguidos de la previa formación de las Nps, posteriormente estructuras laminares y por último las nanoestructuras ensambladas cuyo crecimiento es tipo dendrítico. Con estos resultados se puede concluir que los tensoactivos presentes en la planta, son insuficientes para detener el crecimiento de las Nps, ya que solo una parte de la plata reducida es estabilizada y la demás tiende al crecimiento sin impedimento alguno.

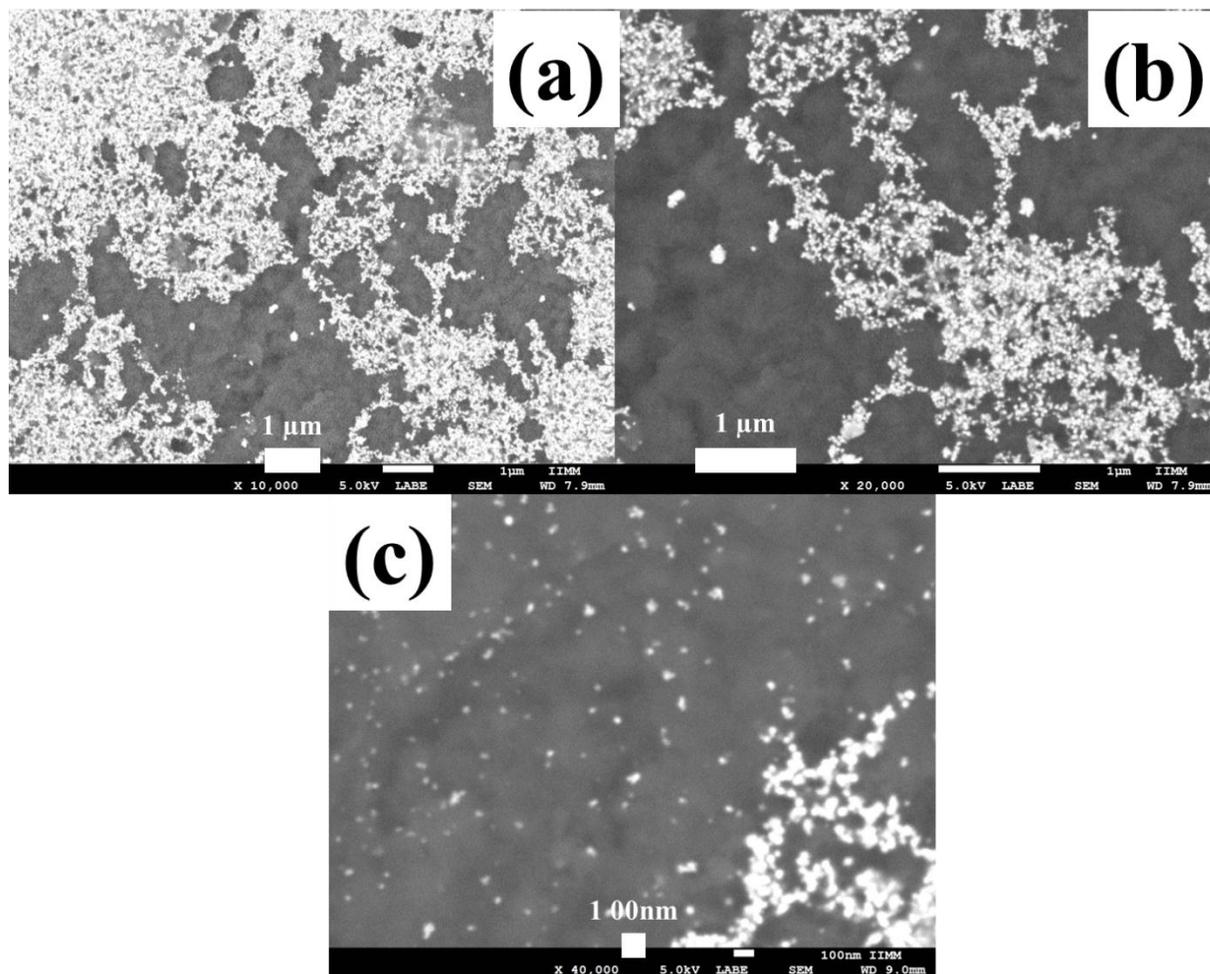
Como se observó en las Figuras 4.18 y 4.19 podemos concluir que se obtuvieron tres tipos de formas las cuales algunas superan la escala nanométrica, este comportamiento se atribuye a la concentración molar de la sal precursora y al tiempo expuesto de reacción, de igual forma, ya que la morfología en ambos trabajos es diferente, puede también atribuirse a las diversas biomoléculas contenidas en la planta, por lo que se deduce que las formas anisotrópicas en este trabajo obtenidas obedecen a un crecimiento inducido.



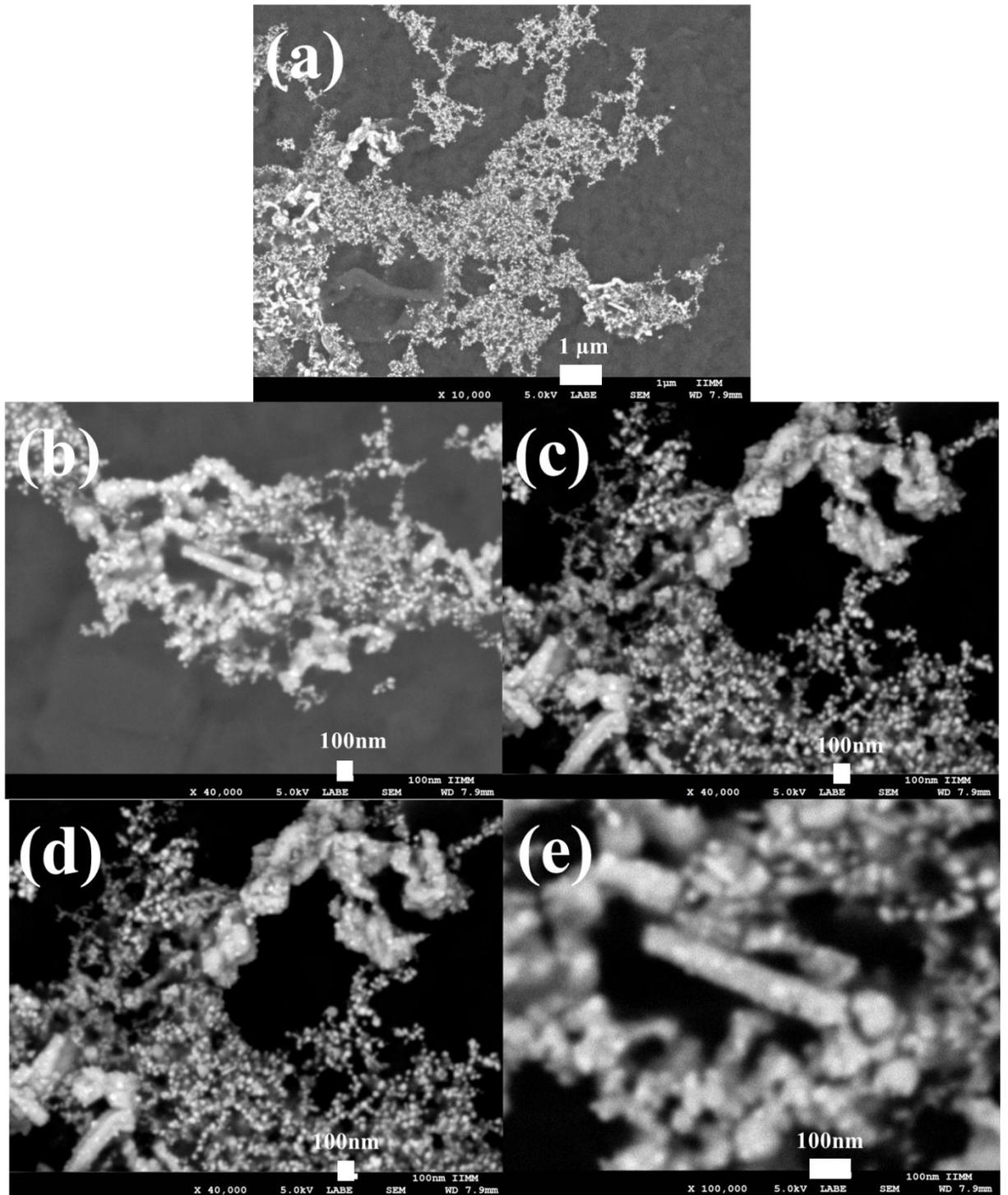
**Figura 4.19** Micrografías de MEB a diferentes ampliificaciones de dendritas y AgNps sintetizadas con 0.04 g/mL y 5mM de  $\text{AgNO}_3$ . (a) X20,000, (b)-(c) X40,000, (d) X50,000 y (e) X100,000.

A continuación se presentan en la Figura 4.20 y 4.21, imágenes de MEB del producto de la síntesis de AgNps, con las ya concentraciones mencionadas en la Figura 48, aunque empleando

un tiempo de reacción posterior de 3 meses. Al parecer las partículas obtenidas se han desfragmentado a partículas nanométricas encadenadas que oscilan entre 20 a 50 nm, se observan nanopartículas de diferentes tamaños y morfologías tales como cadenas, rectángulos, semiesferas y partículas irregulares, cuyo comportamiento explica la forma ensanchada e intensa del espectro de UV-Vis a los 3 meses de reacción mostrado en la Figura 4.17. Esta desfragmentación puede deberse al manejo y preparación de las muestras concluyendo que estas partículas son frágiles.

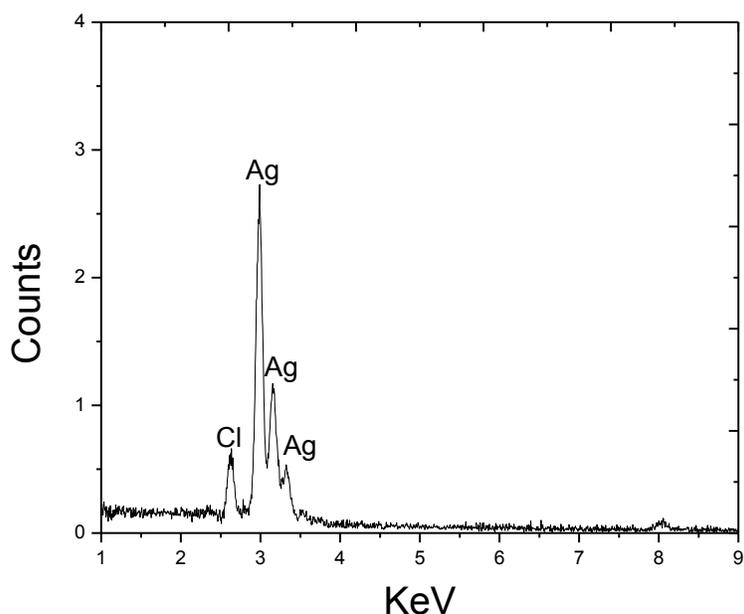


**Figura 4.20** Imágenes de MEB a diferentes ampliaciones de aglomerados de AgNps después de 3 meses de reacción.(a) X10,000, (b) X20,000 y (c) X40,000.



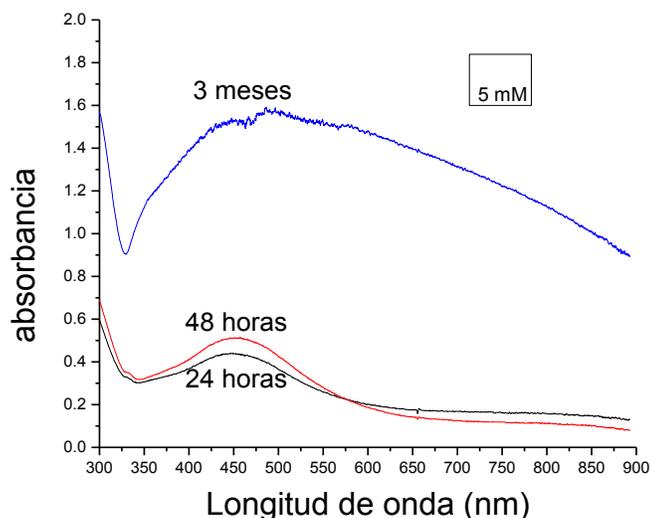
**Figura 4.21** Micrografías de MEB del producto de síntesis de AgNps después de 3 meses de reacción.(a) X10,000, (b)-(c)-(d) X40,000 y (e) X100,000.

En la Figura 4.22 se presenta un EDS de los productos obtenidos usando la concentración de extracto de *Arctostphylos Pungens Kunth* en 0.04 g/mL y 3 mM de  $\text{AgNO}_3$ , donde claramente se presenta los picos de Ag correspondientes a las Nps, también se muestra otro que corresponde al Cl, el cual es atribuido a los halogenuros presentes en la planta de *Arctostphylos Pungens Kunth*, cuyo producto no es deseado, ya que este tiende a reaccionar con la plata para formar cloruro de plata, disminuyendo la posibilidad de obtener un rendimiento óptimo en la biosíntesis dada una menor producción de Nps.



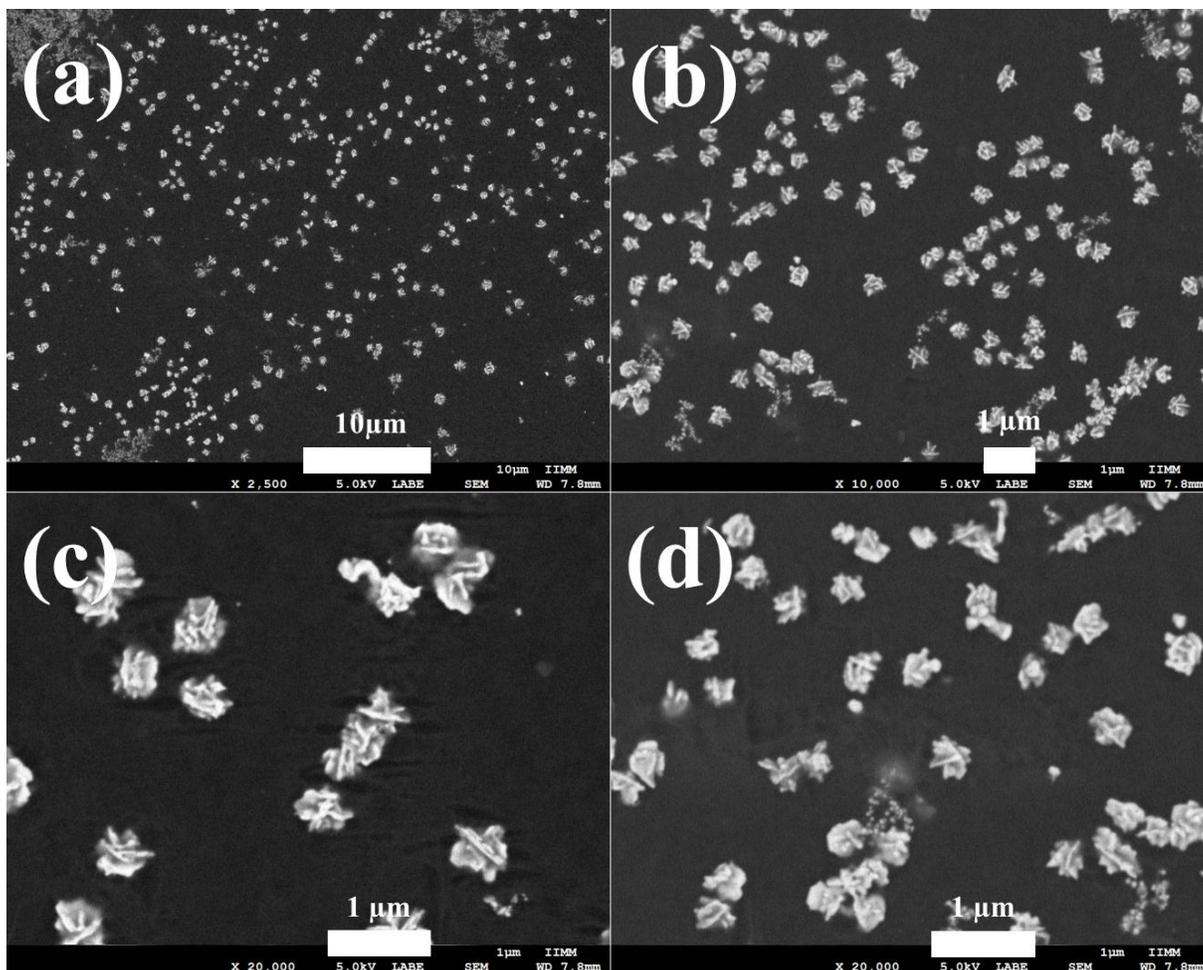
**Figura 4.22** EDS de los productos obtenidos usando la concentración de extracto de *Arctostphylos Pungens Kunth* en 0.04 g/mL y 3 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

La Figura 4.23 muestra otro resultado, aunque ahora utilizando una concentración de extracto de *Arctostphylos Pungens Kunth* de 0.04 g/mL y 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ . Los espectros de UV-Vis en esta figura, se presentan a diferentes tiempos de 24, 48 horas y 3 meses, conforme el tiempo transcurre se tiene un ensanchamiento y un aumento de intensidad del pico SPR, analizando los espectros se deduce que existen AgNps desde 24 horas de reacción, donde se tiene una distribución de tamaño menor en comparación a los 3 meses y se observa un espectro muy ancho e intensidad mayor correspondiente a una mayor cantidad de nanopartículas y una distribución de tamaños mayor, la siguiente caracterización sirve para comparar estos resultados.

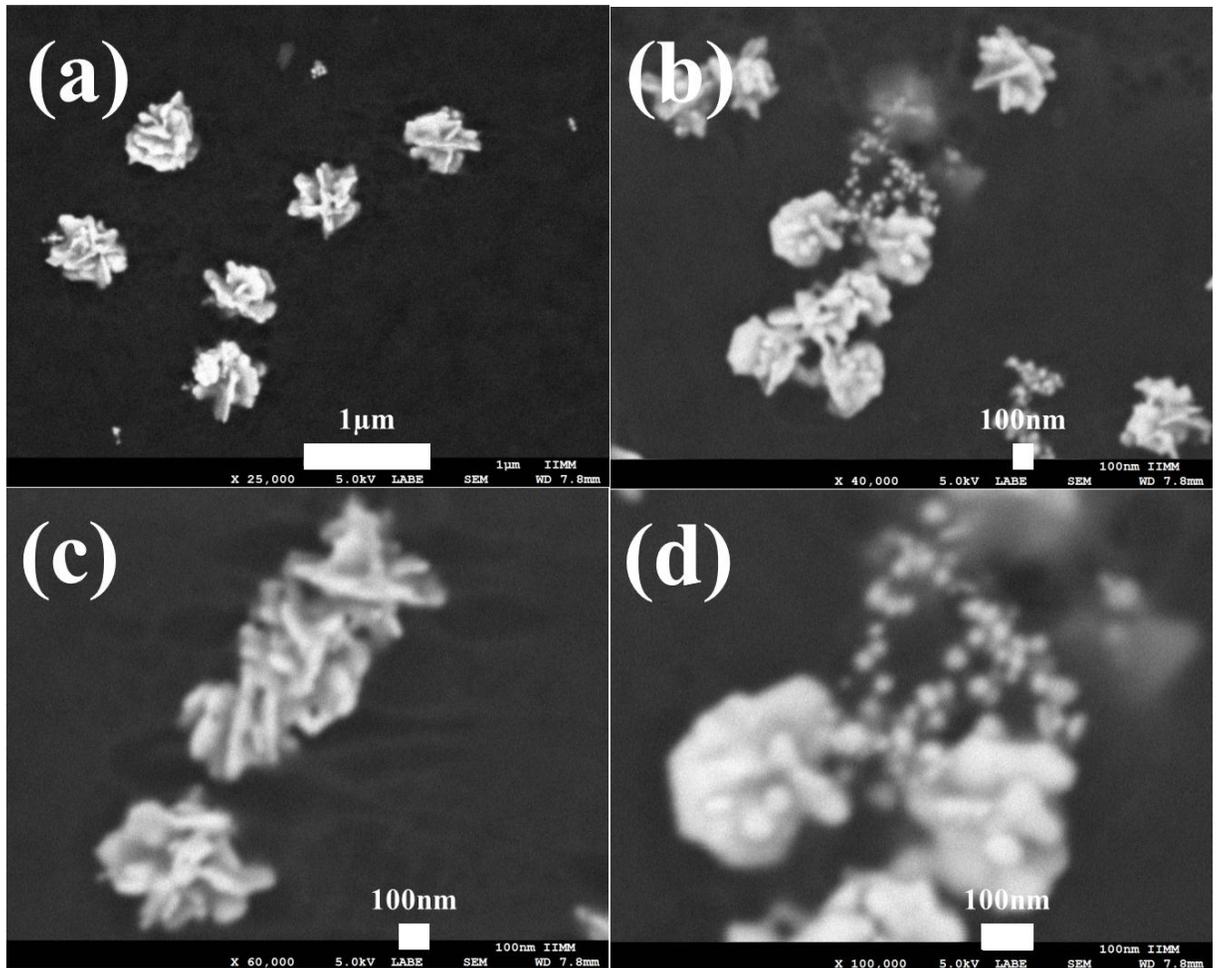


**Figura 4.23** Espectros de UV-Vis concentración de extracto de *Arctostaphylos Pungens Kunth* de 0.04 g/mL y 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

La Figura 4.24 y 4.25 ilustra imágenes de MEB a las 48 horas de reacción, obtenidas de la relación de concentración mencionadas en la Figura 4.23, se muestran morfologías similares a una flor, con un rango de tamaño de 200-500 nm y un tamaño promedio de 300 nm. Como se aprecia la nanoestructura está formada por placas de aproximadamente 20 nm de espesor y una longitud de 300 nm, características que la clasifican en la categoría 2D de los nanomateriales. Además, otra forma consiste de cúmulos de AgNps, cuyos tamaños oscilan entre los 20 y 50 nm, éstas Nps aparentan ser las formadoras de las estructuras tipo flores. En la literatura, Zhang Chunyon reportó nanoestructuras tipo flores pero por medio de un método de síntesis química convencional, utilizando diferentes temperaturas y a partir de vitamina C como agente reductor y nitrato de plata como sal precursora [33]. Ellos atribuyen, el crecimiento de las flores, al efecto de la temperatura y ausencia de sustancias surfactantes. En cambio en este trabajo la presencia de estas nanoestructuras se puede atribuir al extendido tiempo de reacción usado y a la pobre cantidad de sustancias estabilizantes presentes en la planta.

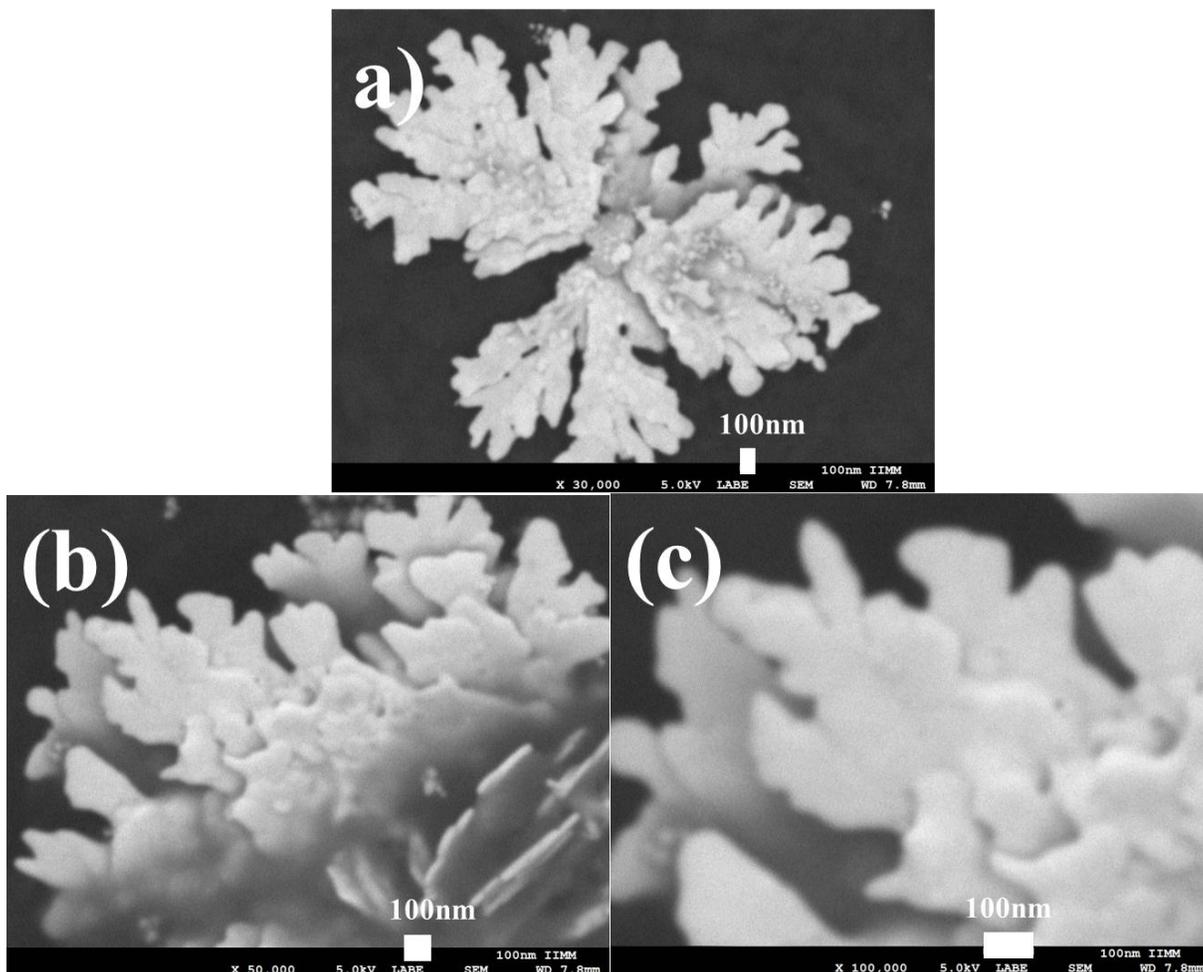


**Figura 4.24** Imágenes de MEB a las 48 horas de reacción de 0.04 g/mL de extracto de pingüica con 7 mM de  $\text{AgNO}_3$ . (a) X2,500, (b) X10,000 y (c)-(d) X20,000.



**Figura 4.25** Imágenes de MEB de las partículas sintetizadas a las 48 horas de reacción a diferentes ampliaciones. (a) X25,000, (b) X40,000, (c) X60,000 y (d) X100,000.

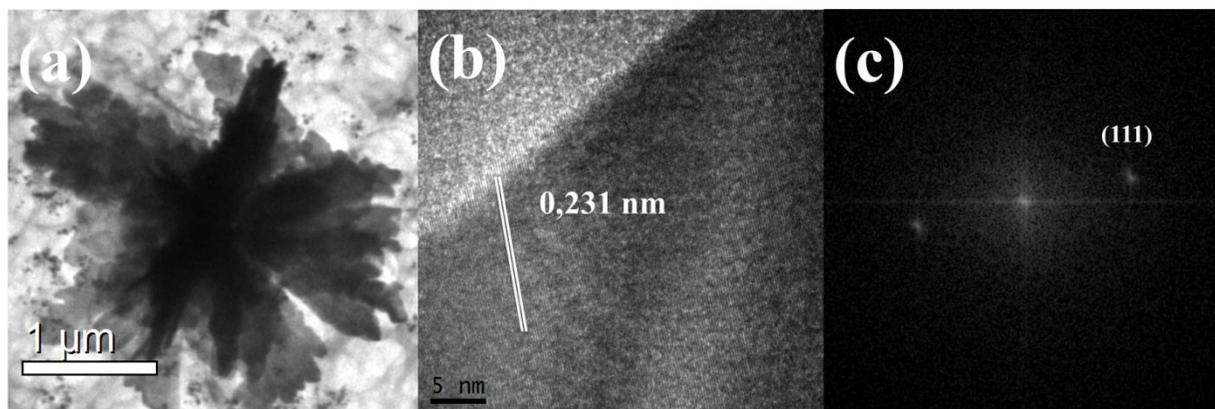
En la Figura 4.26 se muestran imágenes a diferentes ampliaciones con las relaciones de concentración antes dichas, en donde se observa una tercera morfología de partícula tipo árbol de crecimiento dendrítico, presente en la misma muestra, cuyo tamaño aproximado es de 2 micras y que se constituye de un ensamblado de láminas de un espesor aproximado de 20 nm. Este crecimiento puede ser atribuido a la escases de agentes surfactantes, los cuales propician un crecimiento anisotrópico. Se ha reportado esta forma de nanoestructuras en el trabajo de Tao Yang con hidroxilamina y nitrato de plata a diferentes temperaturas [35].



**Figura 4.26** Imágenes de MEB de partículas dendríticas sintetizadas a las 48 horas a diferentes ampliaciones. (a) X30,000, (b) X50,000 y (c) X100,000.

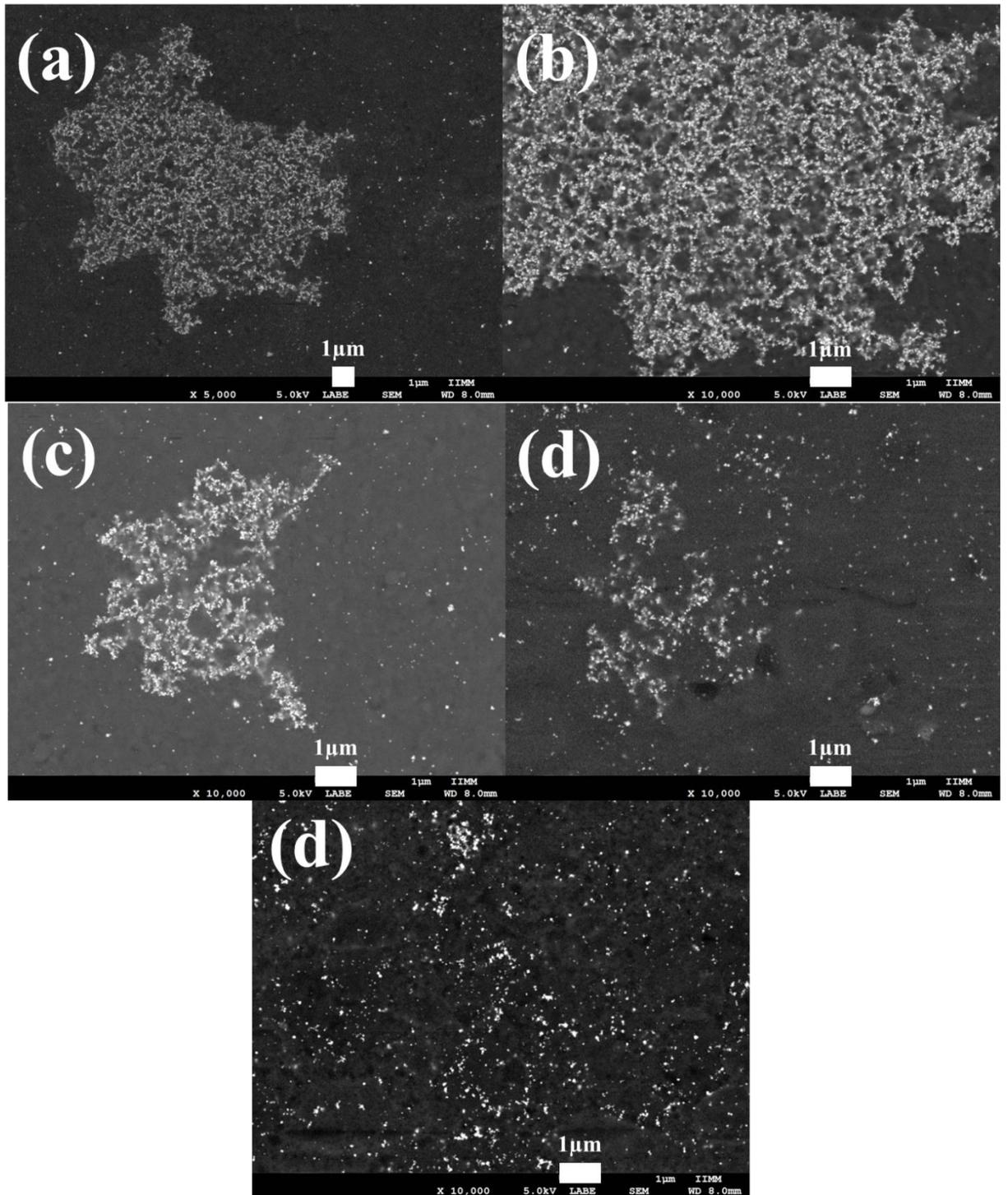
La Figura 4.27(a) muestra una micrografía de MET obtenida por campo claro de una partícula tipo árbol con crecimiento dendrítico y tamaño aproximado de 2 micras, donde se puede corroborar los resultados en la Figura 4.26, mostrando la misma morfología y tamaño así como sus características peculiares del producto de la reacción, estos resultados confirman la efectividad de las sustancias contenidas en la planta *Arctostaphylos Pungens Kunth* para reducir la plata, sin embargo, los agentes estabilizantes son escasos y con ello crece un tamaño de partícula mayor al nanométrico. La imagen de alta resolución mostrada en la Figura 4.27 (b), tomada en el borde de la partícula de plata, muestra el espaciado de red de las franjas alrededor de 0,231 nm demostrando su naturaleza cristalina, lo que coincide bien con la distancia interplanar

correspondiente a los planos (111) de la estructura cúbica centrada en las caras (fcc) de la plata metálica.

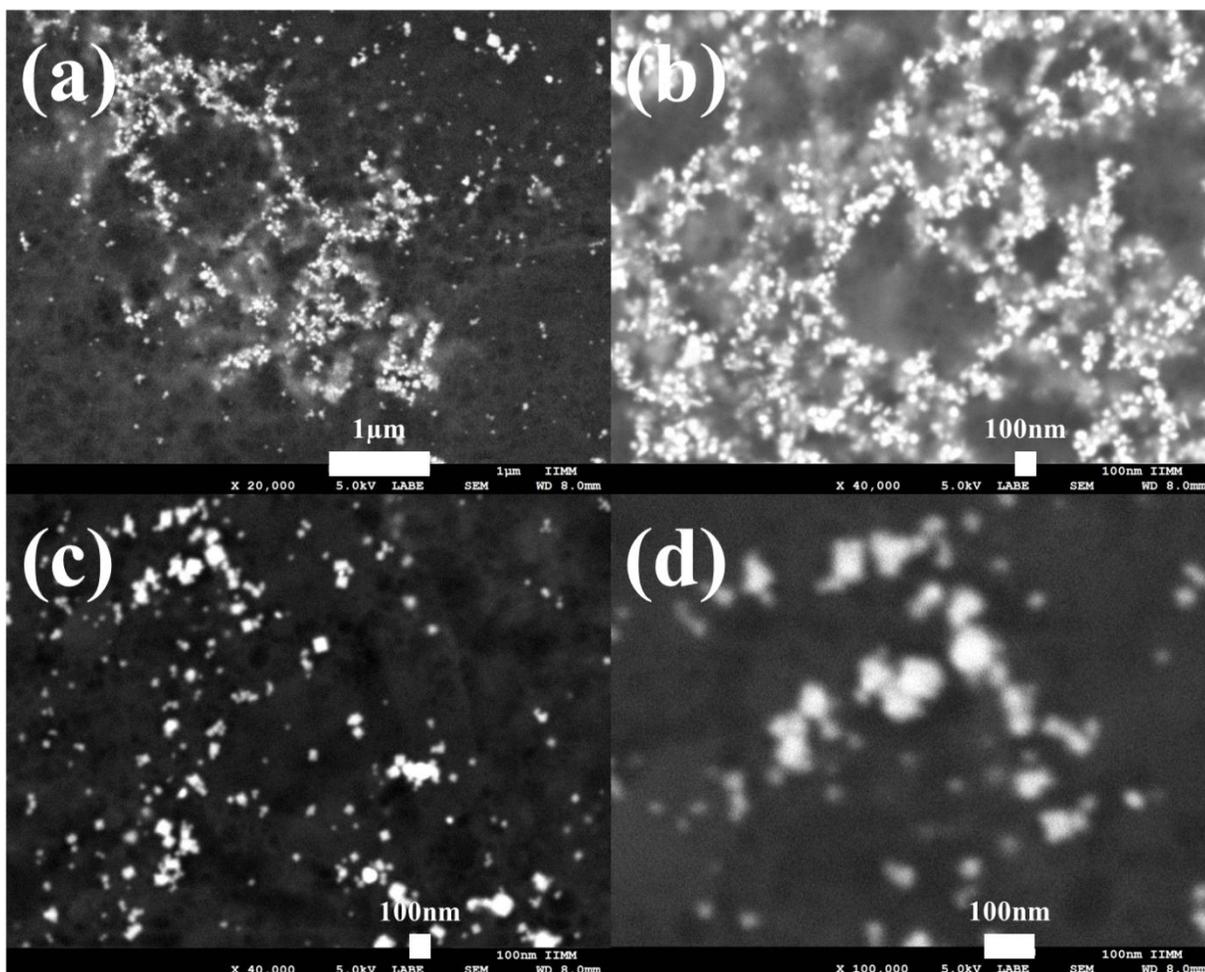


**Figura 4.27** (a) Micrografía de MET obtenida por campo claro, (b) imagen de alta resolución y (c) FTT.

Las Figuras 4.28 y 4.29 ilustran imágenes de MEB de las mismas concentraciones (0.04 g/mL de extracto y 5 mM) después de 3 meses de reacción. Se observan, en ambas figuras, fractales de Nps cuyo tamaño individual varía entre 20 y 40 nm, en comparación a las imágenes mostradas anteriormente (Figuras 4.24, 4.25 y 4.26), se puede observar la desfragmentación de las partículas micrométricas, que se obtuvieron a menor tiempo (48 h), en fractales lo que indica la pérdida de estabilidad del coloide en función del tiempo de reacción. Las pruebas de este fenómeno son en primer lugar la ausencia de algún nanoensamble durante la observación y registro mediante MEB con respecto a 48 h. En segundo lugar, el análisis detallado de las imágenes en cuestión muestra agregados de nanopartículas que tienden a ilustrar las formas de crecimiento previamente constituidas. Esta desfragmentación puede deberse al manejo y preparación de las muestras concluyendo que estas partículas son frágiles.

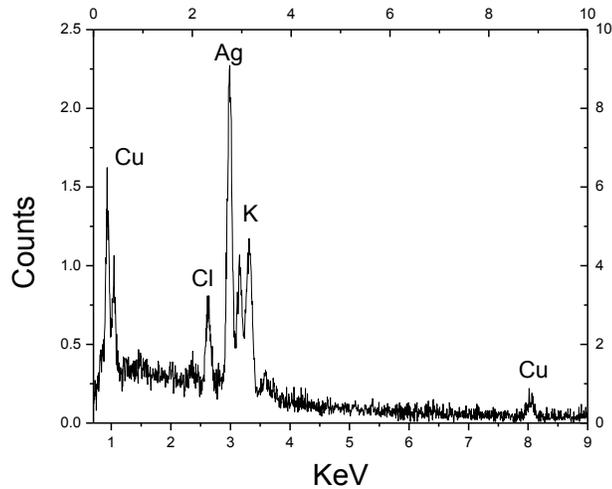


**Figura 4.28** Imágenes de MEB después de 3 meses de reacción a diferentes ampliaciones.(a) X5,000 y (b)-(c)-(d) X10,000.



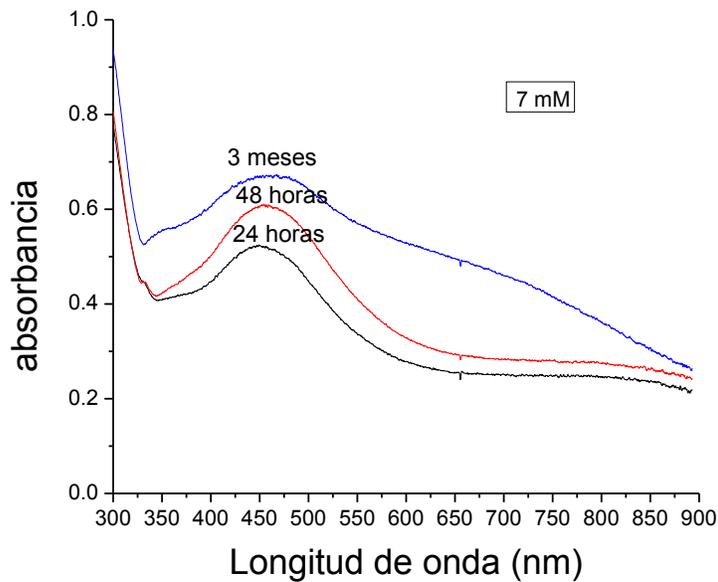
**Figura 4.29** Micrografías de MEB después de 3 meses de reacción.(a) X20,000, (b)-(c) X40,000 y (d) X100,000.

El EDS presente en la Figura 4.30 corresponde a los productos derivados usando la concentración de extracto de *Arctosthylos Pungens Kunth* en 0.04 g/mL y 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ , donde se observa un pico de Ag correspondiente a las Nps, también se muestra otro que corresponde al Cl, atribuido a los halogenuros presentes en la planta de *Arctosthylos Pungens Kunth*, cuyo producto no es deseado, debido a que reacciona con la plata para formar cloruro de plata. También se encuentra un pico perteneciente al potasio, el cual proviene de los compuestos de la planta *Arctosthylos Pungens Kunth* y por último el pico del cobre que pertenece a la rejilla donde se montó la muestra.



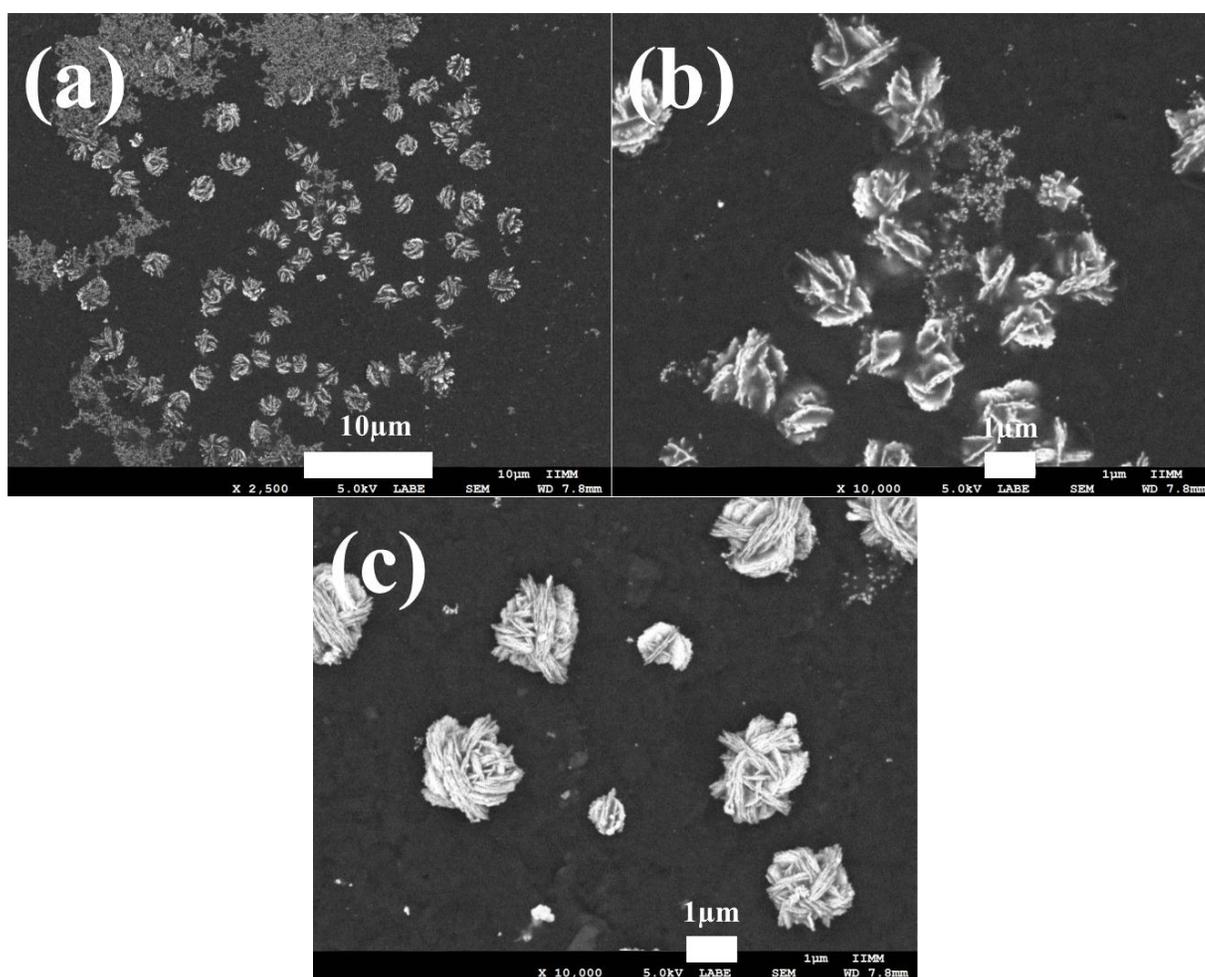
**Figura 4.30** EDS correspondiente a los productos usando la concentración de extracto de *Arctostphylos Pungens Kunth* en 0.04 g/mL y 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

La Figura 4.31 muestra los espectros de UV-Vis de la concentración correspondiente a 0.04 g/mL de *Arctostphylos Pungens Kunth* con 7 mM de  $\text{AgNO}_3$ , a diferentes tiempos de reacción 24, 48 horas y 3 meses. Puede percatarse que el tiempo es un factor influyente, ya que a medida que transcurre, el pico SPR se incrementa y se ensancha. Esto se debe a que el tamaño va creciendo, la morfología cambiando y la distribución de tamaños va aumentando.

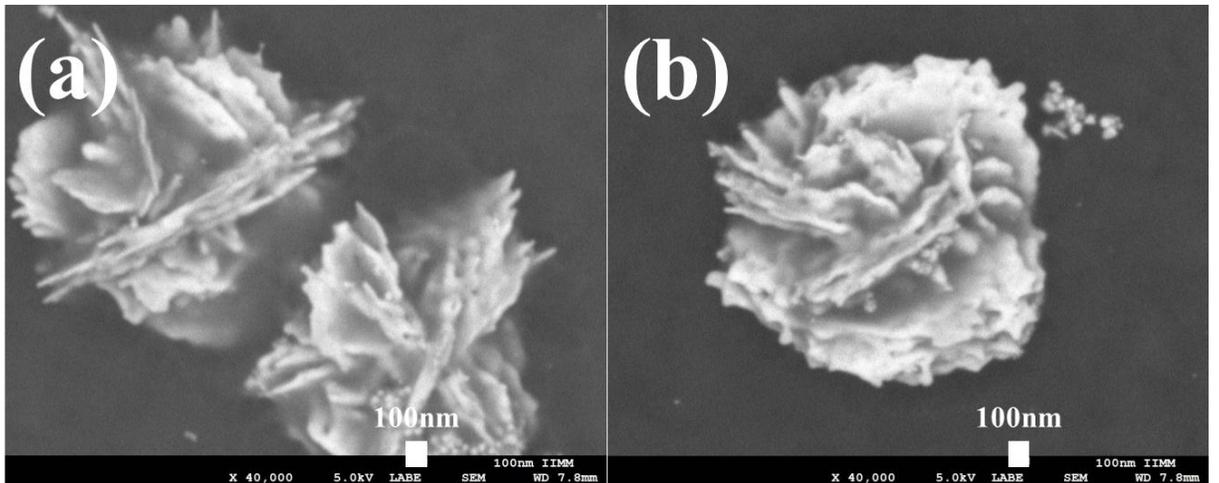


**Figura 4.31** Espectros de UV-Vis de la concentración correspondiente a 0.04 g/mL de *Arctostphylos Pungens Kunth* con 7 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

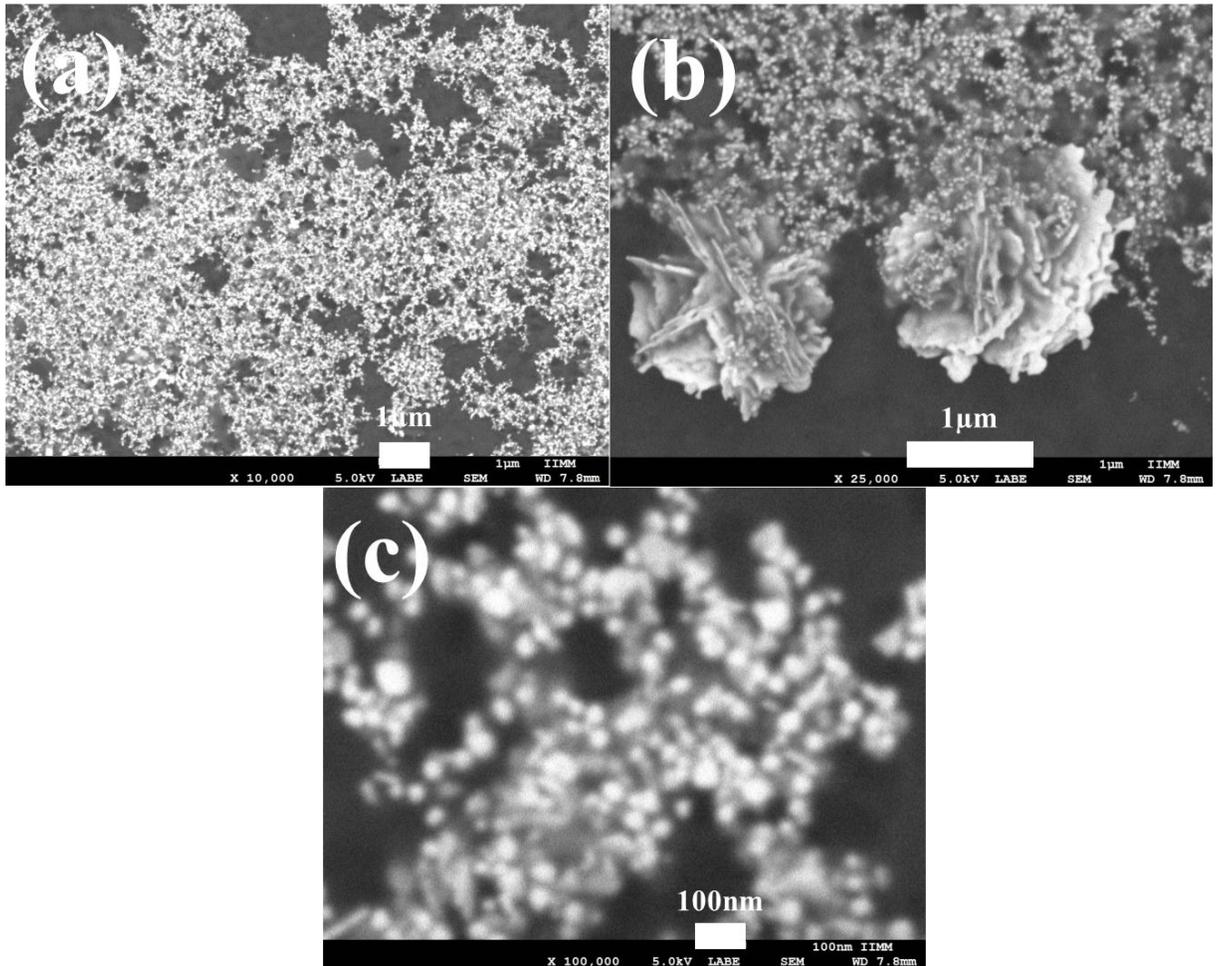
Las micrografías de MEB presentes en las Figuras 4.32, 4.33 y 4.34 corresponden al espectro de UV-Vis de 48 h de reacción, las cuales ilustran dos tipos de morfología de partícula, la primera ensamble tipo flor, cuyos tamaños se encuentran entre 1 y 2 micras, formadas por láminas con un espesor entre 20 y 40 nm, esta forma se le atribuye al escaso estabilizador contenido en la planta. Otro tipo de partículas encontradas son fractales, los cuales son encadenamientos cuyas partículas miden de 20 a 40 nm, concluyendo que los tensoactivos de la planta son insuficientes para detener el crecimiento y que solo una parte de la Ag es estabilizada y la demás tiende a crecer obteniendo las partículas tipo flor. Los resultados pueden compararse con los discutidos de los espectros de UV-Vis donde se mencionaban las diferentes formas y tamaños sintetizadas.



**Figura 4.32** Imágenes de MEB de partículas sintetizadas después 48 horas de reacción. (a) X2500 y (b)-(c) X10,000.

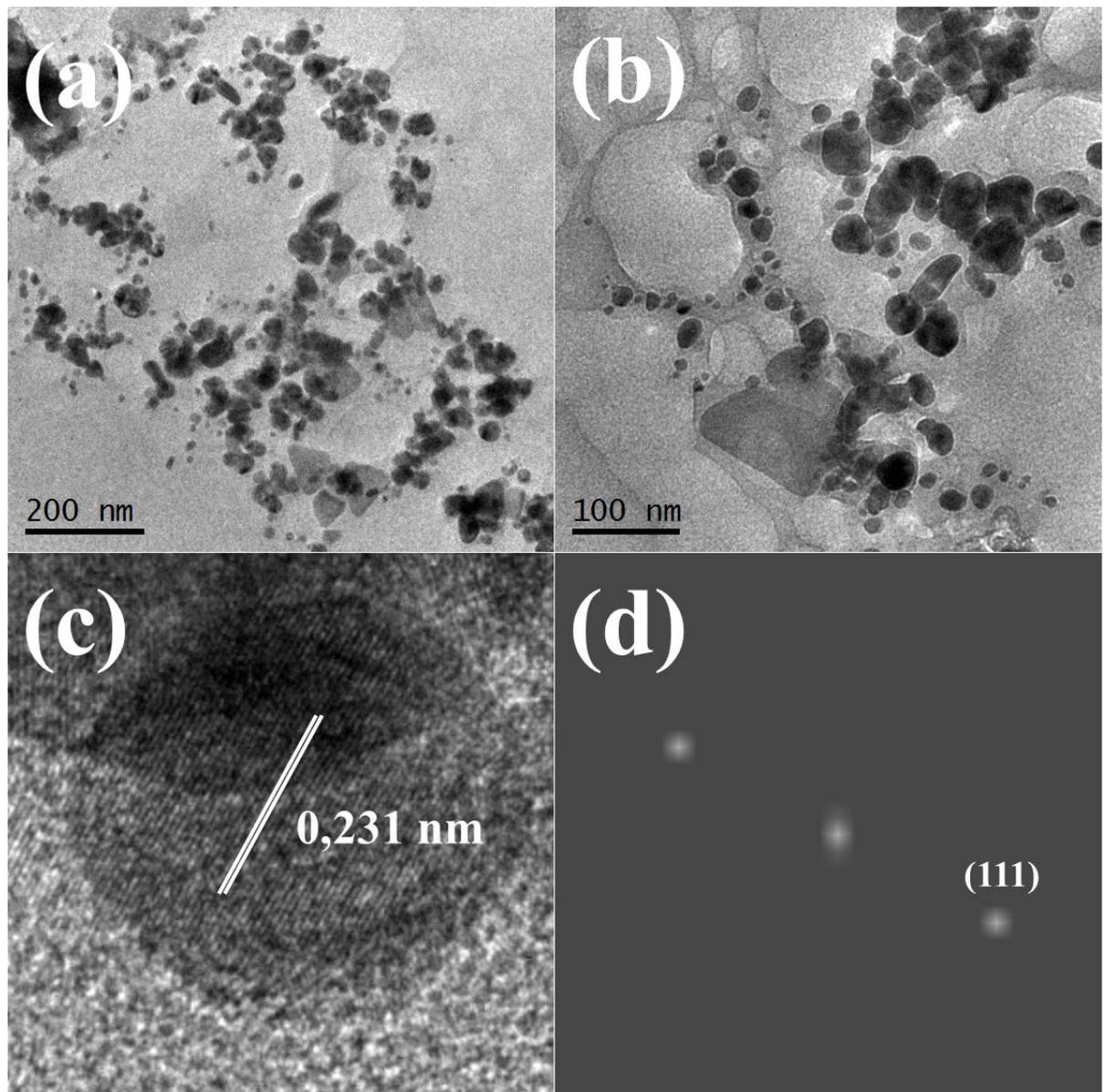


**Figura 4.33** (a)-(b) Micrografías de MEB de partículas sintetizadas a 48 horas de reacción a X40,000.



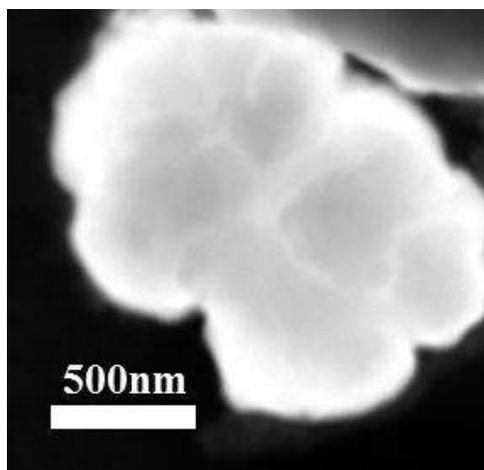
**Figura 4.34** Imágenes de MEB de partículas sintetizadas a 48 horas de reacción a diferentes ampliaciones. (a) X10,000, (b) X25,000 y (c) X100,000.

La Figura 4.35 ilustra imágenes de MET (campo claro), donde se pueden observar fractales de AgNps iguales a los obtenidos en las imágenes de MEB (Figura 4.34 a-b), claramente se aprecian encadenamientos de las AgNps cuyos tamaños y morfologías son iguales a los resultados anteriores, así también la imagen (c)-(d) de la Figura 4.35, muestra en alta resolución partículas de plata, cuya distancia interplanar es aproximadamente de 0.235 nm, correspondiente a los planos (111) propios de la plata con estructura fcc, demostrando la naturaleza cristalina de la muestra.



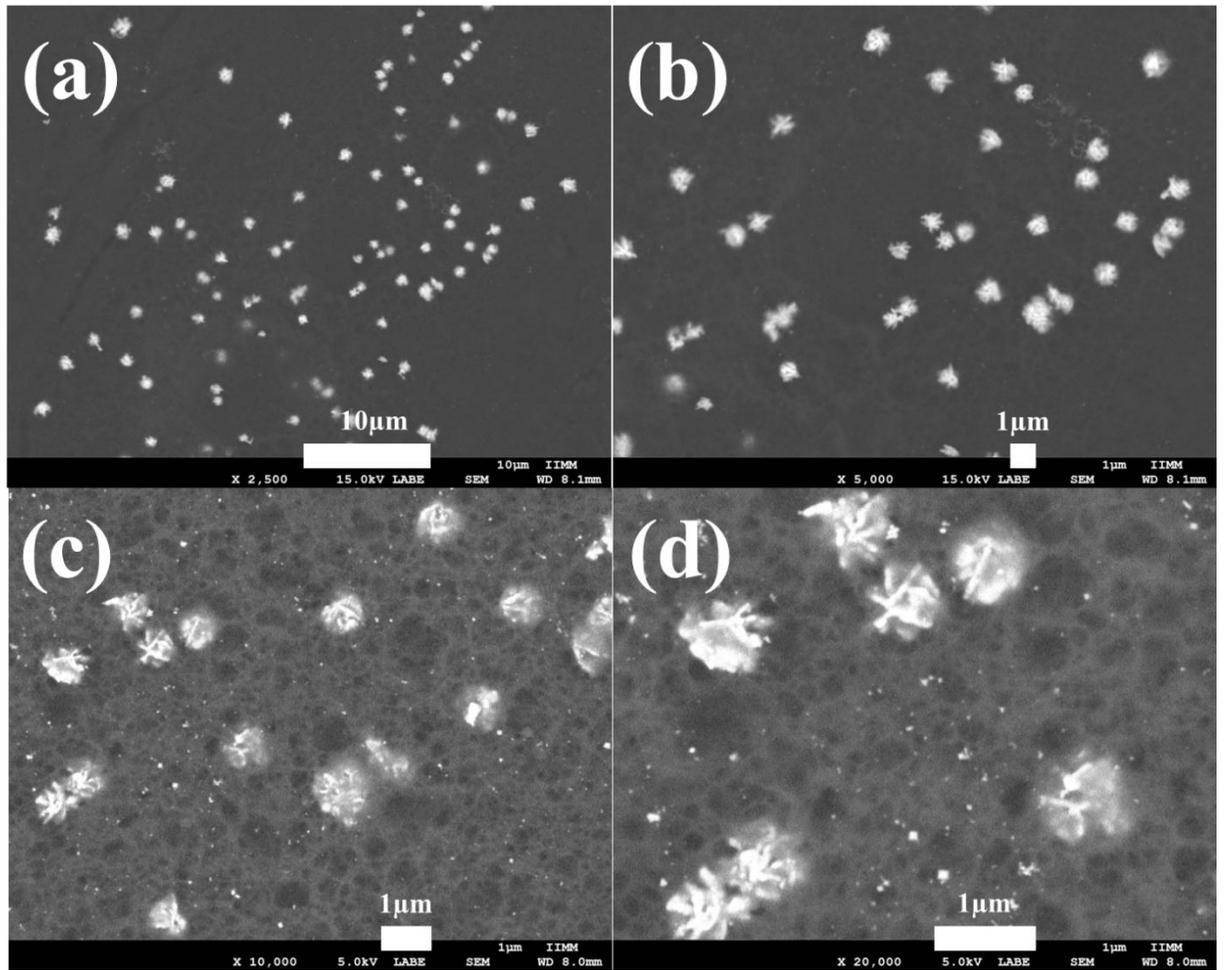
**Figura 4.35** (a)-(b) Imágenes de MET (campo claro), (c) imagen de alta resolución y (d) FTT.

En la Figura 4.36 se muestra una micrografía de contraste Z, donde se observa una partícula de un tamaño aproximado de 1.5 micras, la cual corrobora la existencia de este tipo de partícula, siendo igual a la de la Figura 4.34(c), la que presenta una estructura morfológica tipo flor cuyos tamaños son iguales, confirmando la actividad reductora así como la escasa actividad estabilizadora de la planta de *Arctostaphylos Pungens Kunth* lo que permite a su vez el crecimiento de estos interesantes agregados.

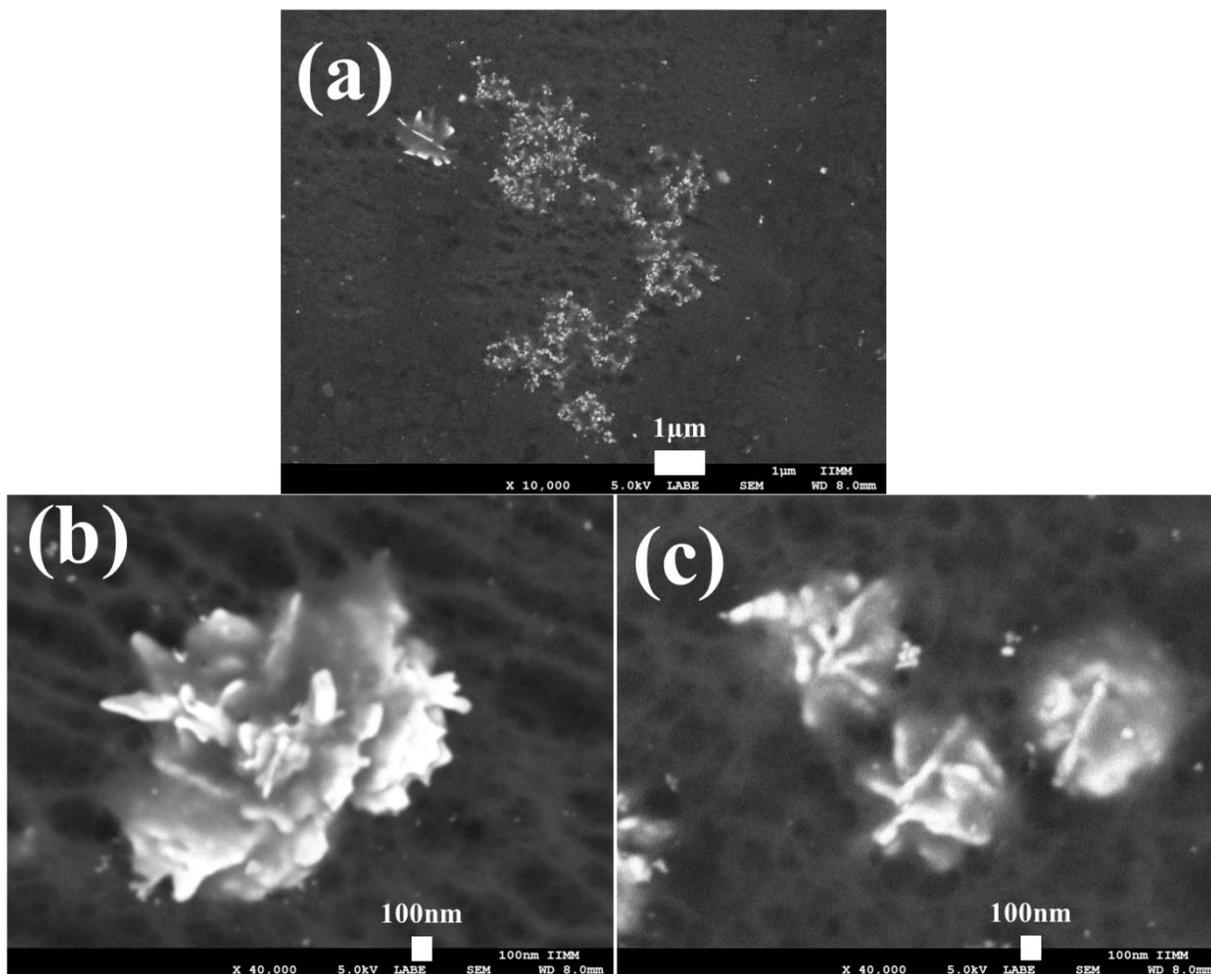


**Figura 4.36** Micrografía de contraste Z.

Las Figuras 4.37 y 4.36 ilustran imágenes de MEB de resultados con las concentraciones indicadas anteriormente con 3 meses de reacción (7 mM), en donde logramos observar las mismas formas de las Figuras 4.32, 4.33 y 4.34, demostrando que la estabilidad de los dos tipos de partículas tipo flor y fractales es mayor respecto al tiempo y en comparación con las otras concentraciones 3 y 5 mM, este factor se constituye de importancia durante la síntesis, donde a mayor concentración de la sal precursora la cantidad de los agentes tensoactivos es menor. Las nanoestructuras son uniformes y no varían en forma respecto al tiempo, como anteriormente fue ilustrado a concentraciones más bajas.

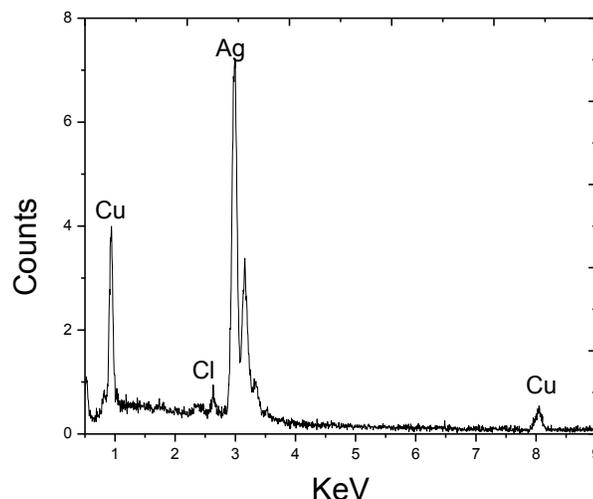


**Figura 4.37** Imágenes de MEB de partículas a 3 meses de reacción. (a) X2,500, (b) X5,000, (c) X10,000 y (d) X20,000.



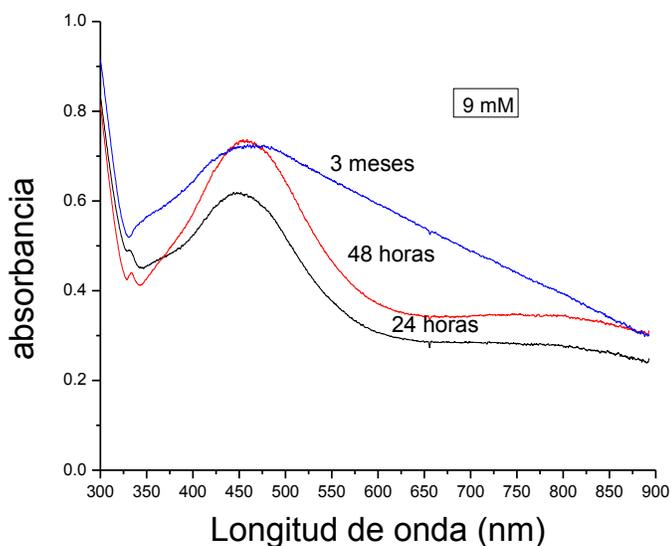
**Figura 4.38** Micrografías de MEB a distintas ampliaciones a 3 meses de reacción. (a) X10,000 y (b)-(c) X40,000.

La Figura 4.39 ilustra un EDS de la biosíntesis de Nps obtenidas usando la concentración de extracto de *Arctosthylos Pungens Kunth* en 0.04 g/mL y 7 mM de  $\text{AgNO}_3$ , observando claramente el pico de Ag que corresponde a las Nps, otro pico no tan intenso que corresponde al Cl, el cual es no deseado por razones mencionadas anteriormente y por último el pico de cobre propio de la rejilla utilizada.



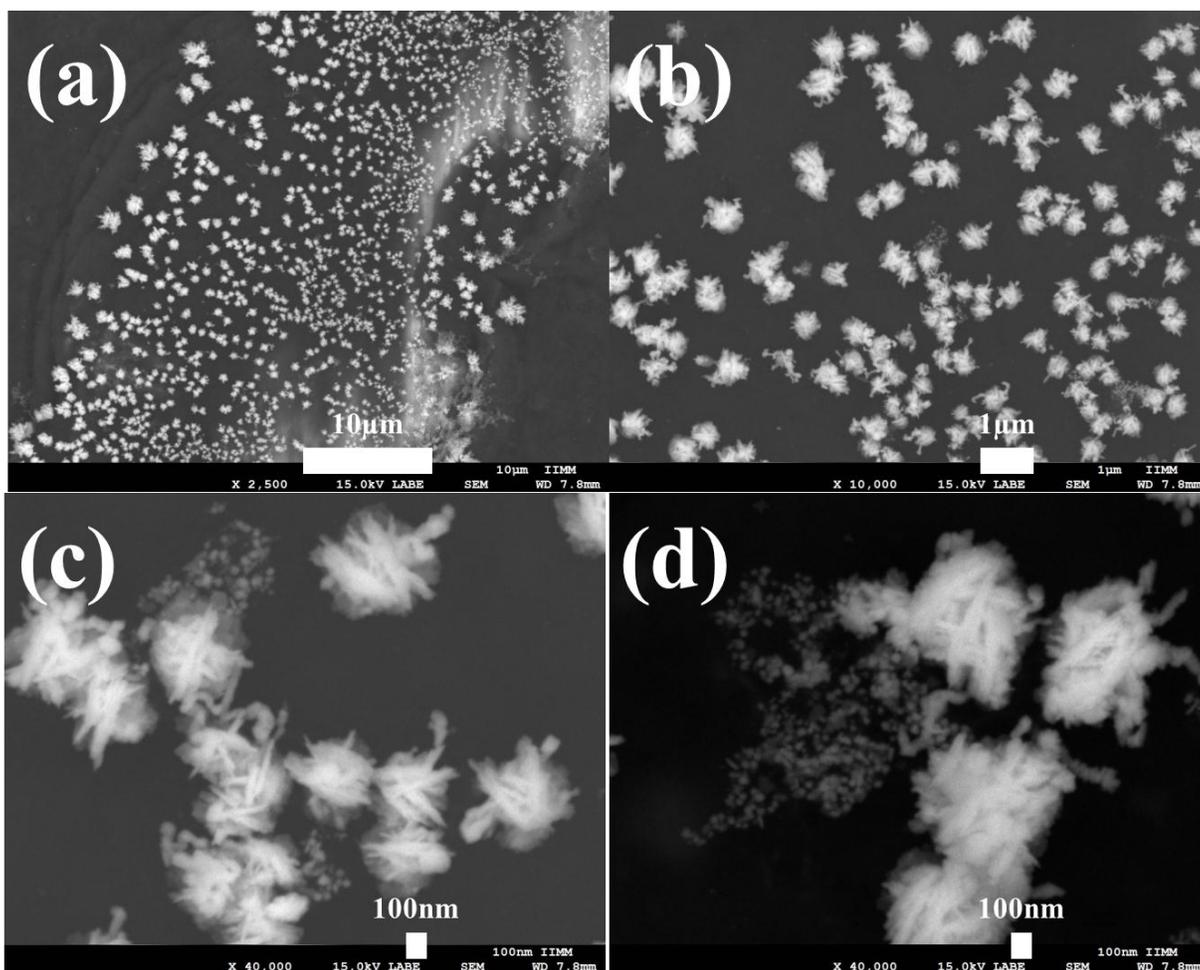
**Figura 4.39** EDS de la biosíntesis de Nps obtenidas usando la concentración de extracto de *Arctostphylos Pungens Kunth* en 0.04 g/mL y 7 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

Los resultados obtenidos de la concentración 0.04 g/mL de la planta *Arctostphylos Pungens Kunth* con 9 mM de  $\text{AgNO}_3$  se presentan en la Figura 4.40, donde se ilustran los espectros de UV-Vis pertenecientes a 24, 48 horas y 3 meses de reacción. Se observa un incremento tanto en la intensidad como en el ancho de los espectros aunque a los tres meses la intensidad no crece si no solamente se ensancha. A partir de lo observado variando los tiempos de reacción, se sugiere que incrementa la cantidad, distribución de tamaño y morfología de las Nps.

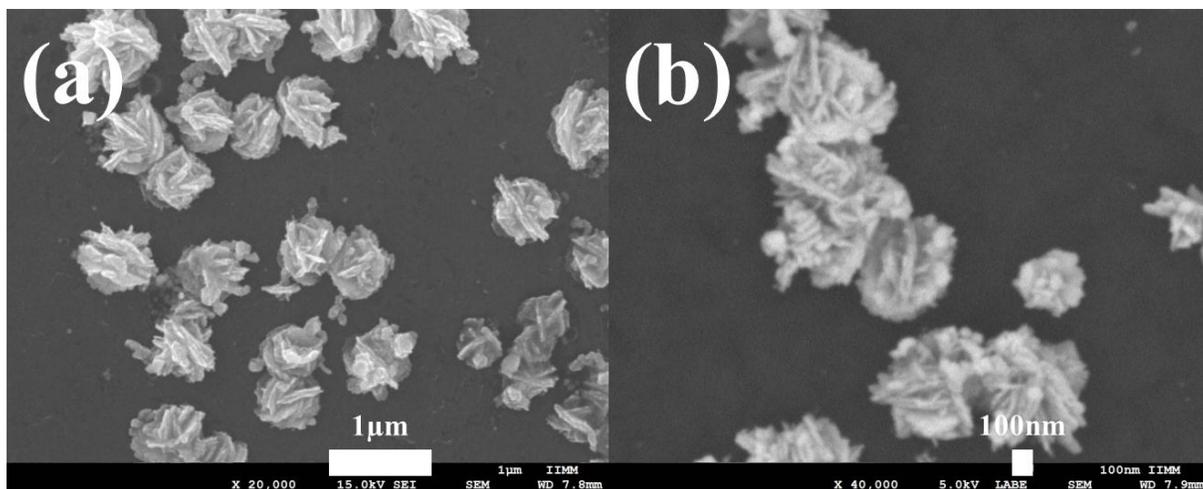


**Figura 4.40** Espectros de UV-Vis de la concentración 0.04 g/mL de la planta *Arctostphylos Pungens Kunth* con 9 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

En las Figuras 4.41 y 4.42 se observan imágenes de MEB a concentraciones ya mencionadas a un tiempo de reacción de 48 h. Se observa una numerosa cantidad de Nps tipo flor de las cuales sus tamaños son de 200 a 500 nm, todas ellas formadas de láminas con un espesor de 20 a 40 nm, como ya se ha mencionado en anteriores resultados, esto se debe a la empobrecida cantidad de elementos surfactantes, en donde el producto crece de esa forma.

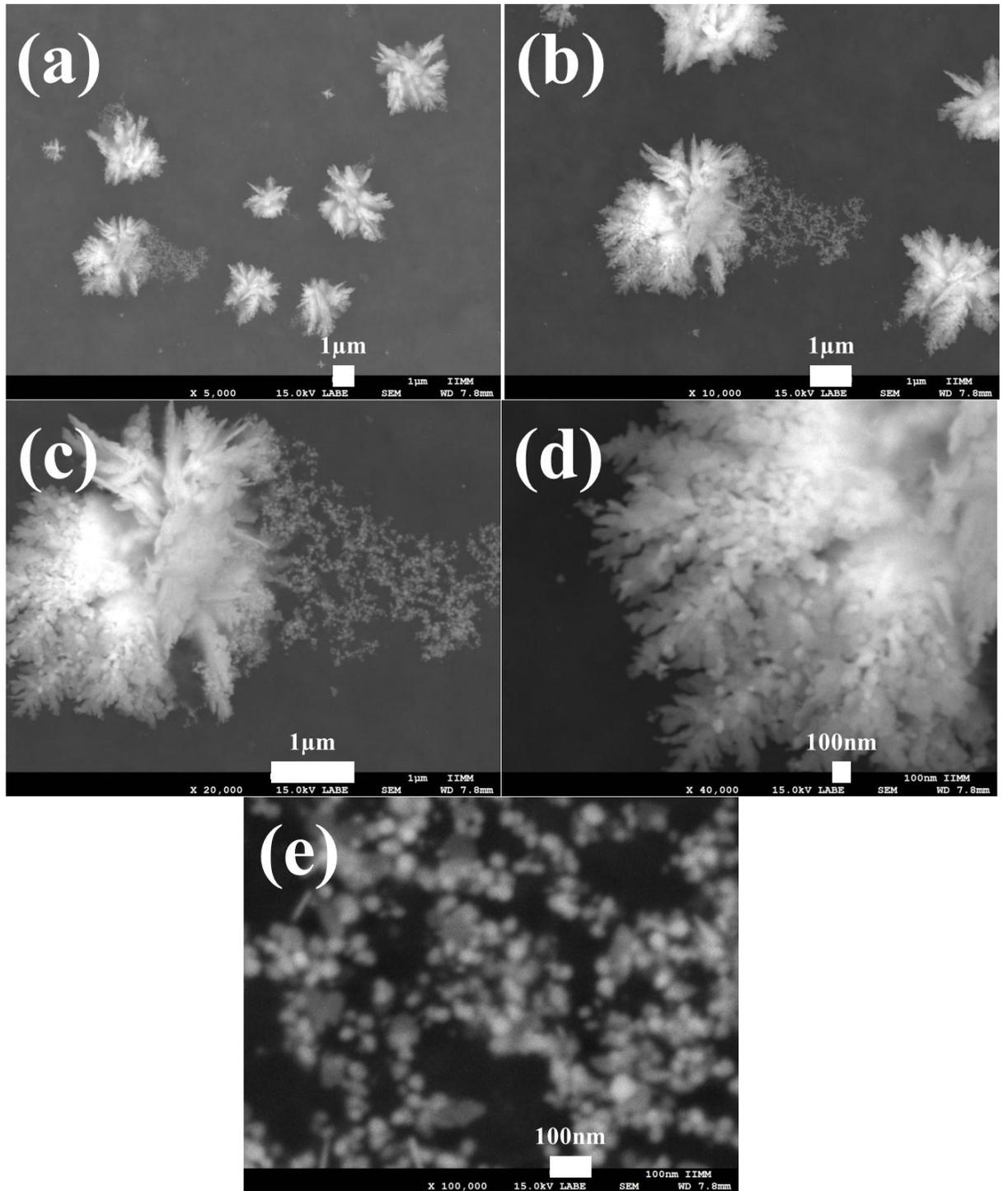


**Figura 4.41** Imágenes de MEB de partículas sintetizadas con un tiempo de reacción de 48 horas. (a) X2500, (b) X10,000 y (c)-(d) X40,000.



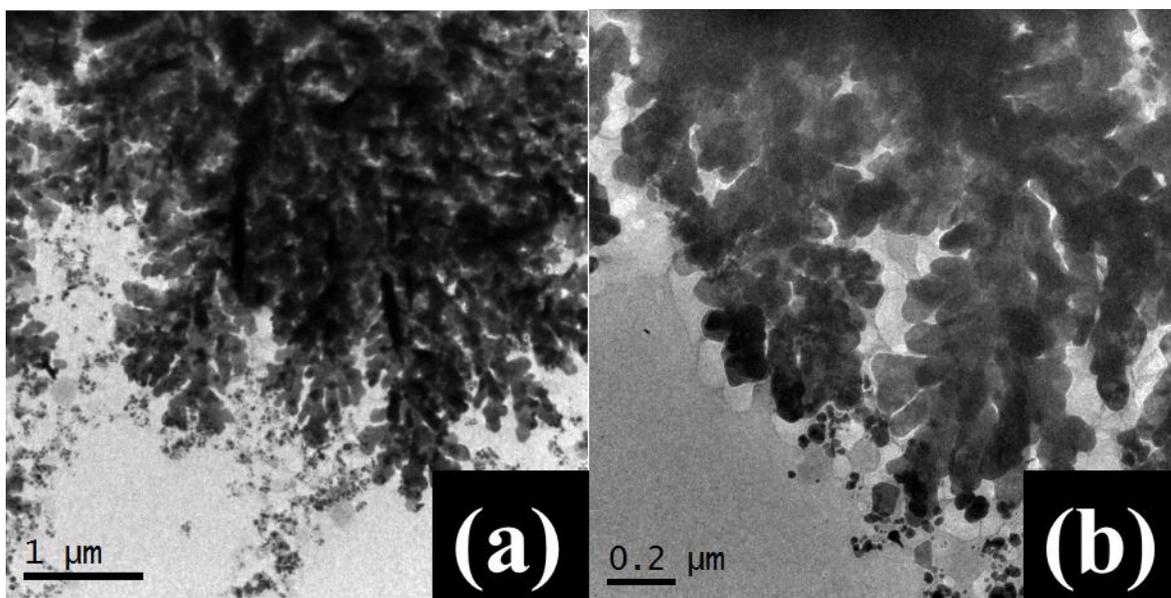
**Figura 4.42** Micrografías de MEB de partículas sintetizadas con un tiempo de reacción de 48 horas.(a) X20,000 y (b) X20,000.

La Figura 4.43 muestra imágenes de partículas sintetizadas con concentraciones comentadas de la Figura 4.40, donde se obtuvo otro tipo de partícula cuya forma es de tipo árbol, donde su tamaño es de 2 a 4 micras, presentando un crecimiento dendrítico, hay que mencionar que también se ilustran fractales cuyas cadenas son formadas por Nps de 20 a 40 nm, concluyendo que las Nps son la primera etapa del crecimiento, para después formar partículas tipo flor cuyas estructuras son micrométricas con crecimiento dendrítico inducido, atribuido a la poca cantidad de tensoactivos contenidos en la planta.



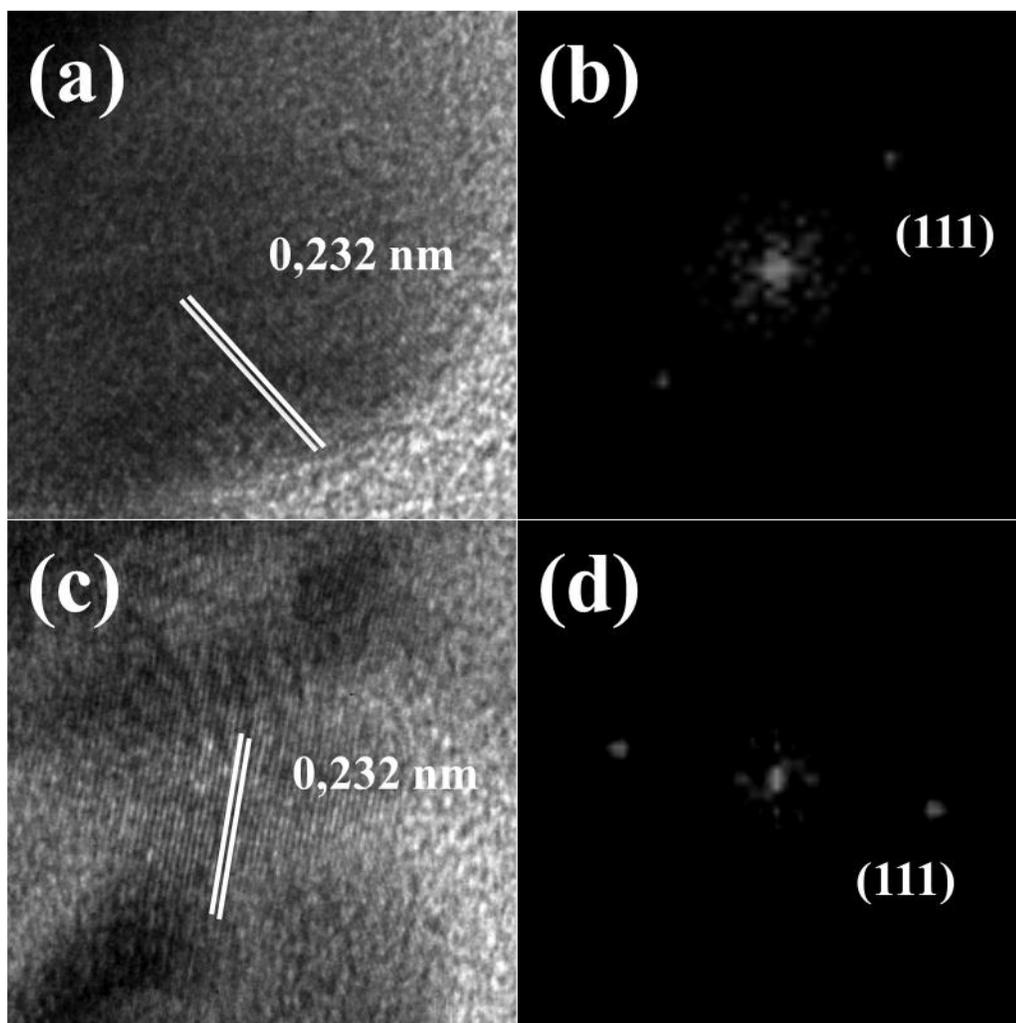
**Figura 4.43** Imágenes de MEB de partículas sintetizadas. (a) X5,000, (b) X10,000, (c) X20,000, (d) X40,000 y (e) X100,000.

La Figura 4.44 despliega micrografías de MET (campo claro), donde se ilustra una partícula tipo árbol registrando crecimiento dendrítico, la cual encuentra confirmando los resultados mediante MEB en esta muestra (ver Figura 4.43), como se puede constatar la morfología y el tamaño son semejantes en el producto de reacción, estos resultados confirman la efectividad de las sustancias propias de la planta *Arctostaphylos Pungens Kunth* para reducir la plata, sin embargo, como ya se ha mencionado los agentes estabilizantes son escasos y con ello nos permite obtener este tipo de crecimiento.



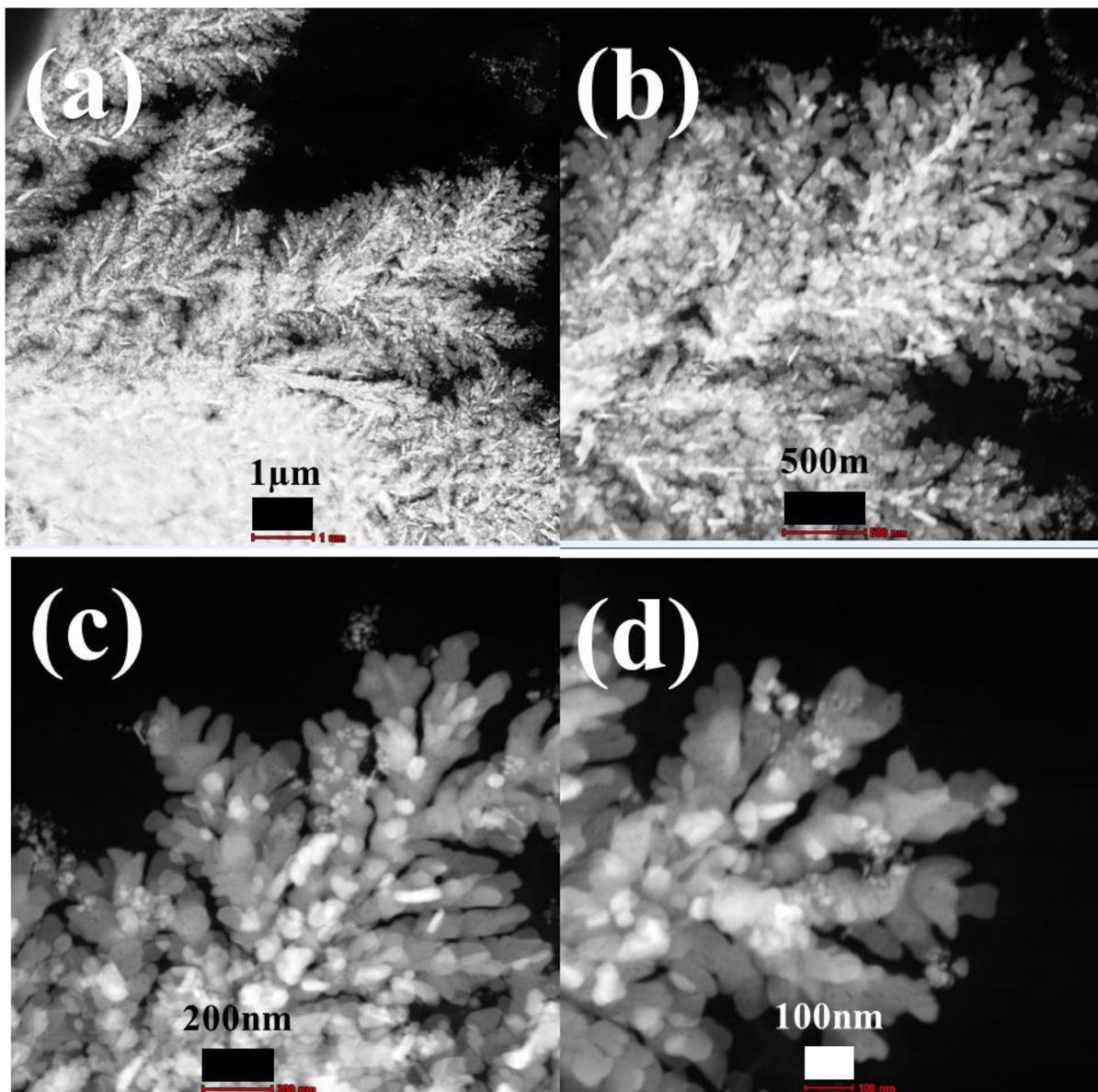
**Figura 4.44** Micrografías de MET a diferentes ampliaciones (campo claro).

Las imágenes de alta resolución mostradas en la Figura 4.45, tomadas en las puntas de la partícula de plata, presenta una distancia interplanar alrededor de 0,232 nm, lo que coincide con los planos (111) de la plata metálica cúbica centrada en las caras (fcc).



**Figura 4.45** (a)-(c) Imágenes de alta resolución tomadas en las puntas de la partícula de plata y (b)-(d) FFT.

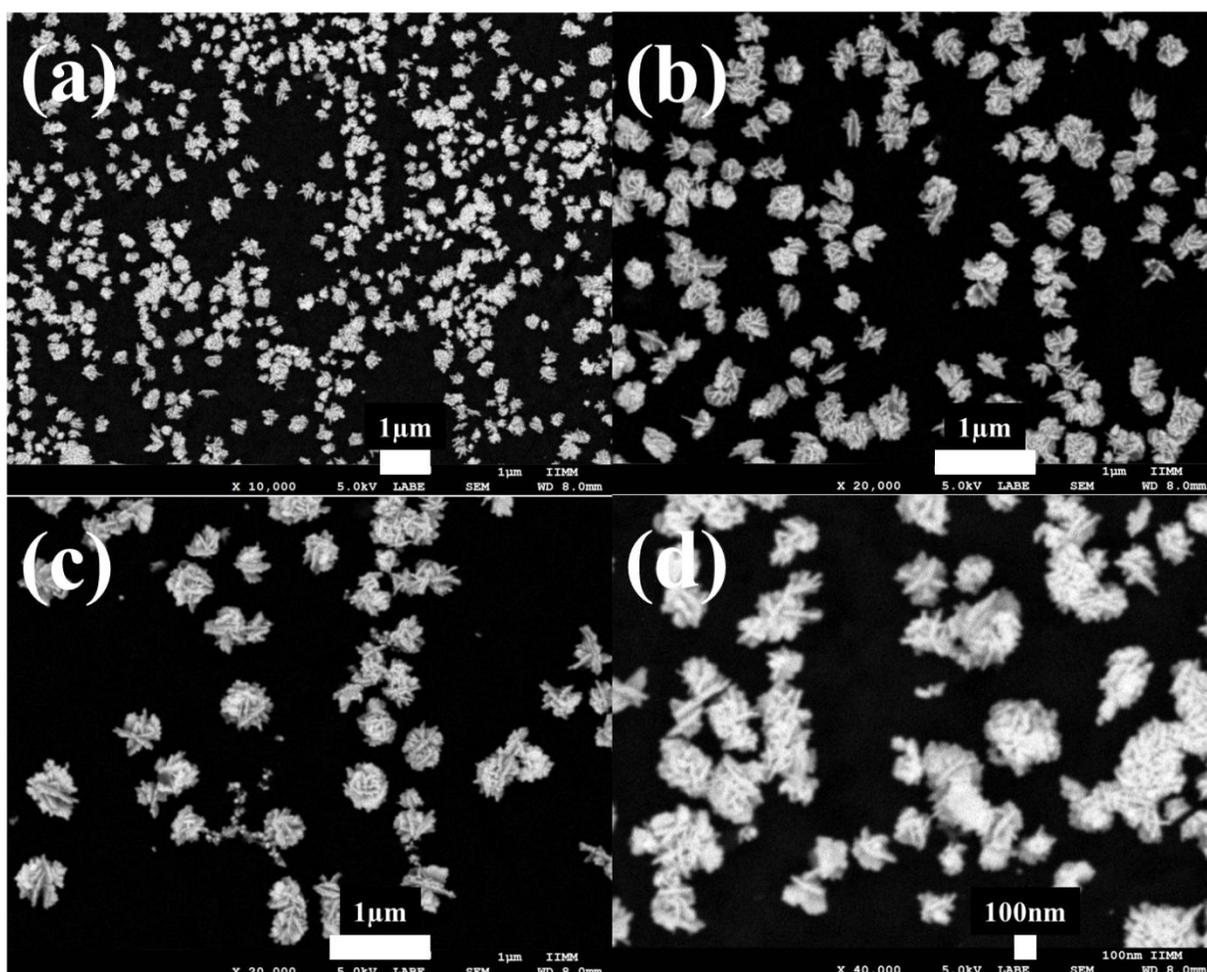
La Figura 4.46 muestra imágenes de contraste Z a diferentes resoluciones, donde se ilustran partículas tipo árbol cuyo crecimiento es claramente anisotrópico mostrando dendritas primarias y secundarias cuya morfología y tamaño ya se ha presentado en la Figura 4.44 y 4.45. Este tipo de ensambles, no se han reportado o muy escasamente se han reportado a través de métodos de síntesis verde, el cual constituye un método simple y ecológico. En el pasado algunos autores han reportado exitosas propiedades catalíticas en estas nanoestructuras.



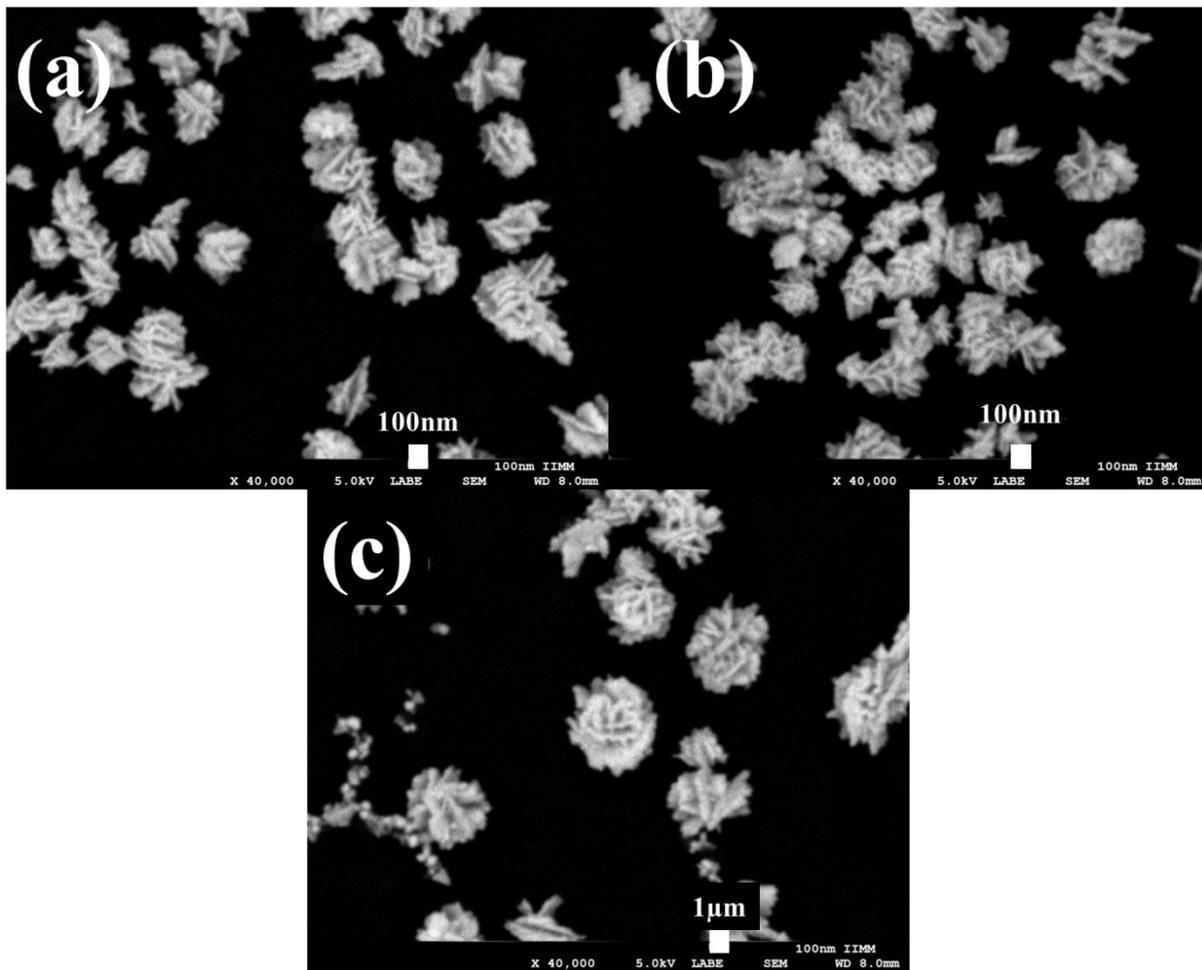
**Figura 4.46** Imágenes de contraste Z de las partículas con crecimiento dendrítico.

En las Figuras 4.47, 4.48 y 4.49 se muestran micrografías de MEB ilustrando los productos obtenidos de la biosíntesis después de 3 meses de reacción con una concentración 0.04 g/mL de *Arctostaphylos Pungens Kunth* y 9 mM de  $\text{AgNO}_3$ , donde podemos observar una numerosa cantidad de partículas tipo flor cuyo tamaño oscila entre los 200 y 500 nm, las cuales están formadas por láminas con una dimensión nanométrica de 20 nm clasificada como nanomaterial 2D. Se concluye que estas partículas están estables ya que comparándolas con las partículas de

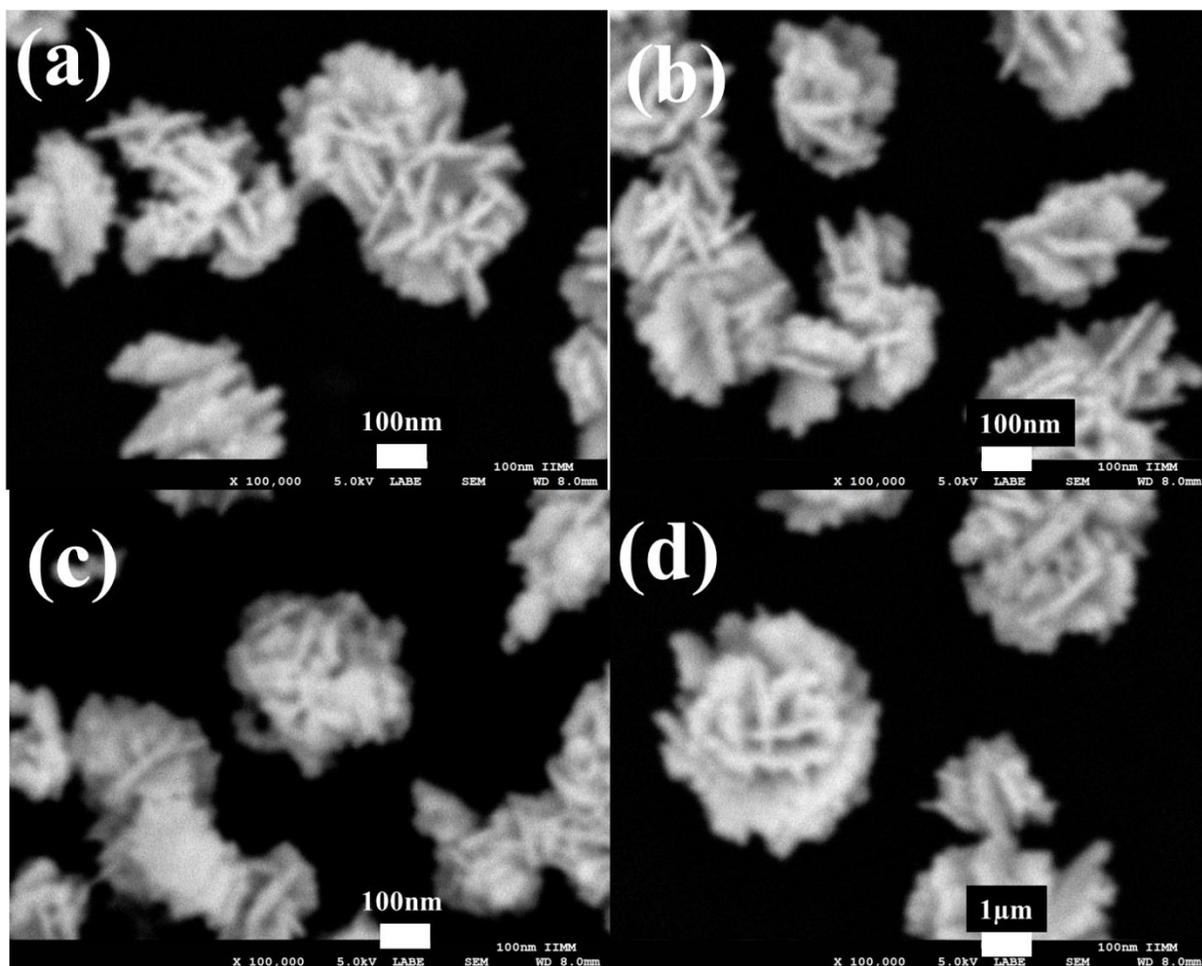
tiempo de reacción de 48h, son muy similares, mientras no se encontró ninguna de las partículas con morfología tipo árbol, manteniéndose únicamente la morfología tipo flor. La concentración 9 mM resultó la más eficaz por mantener un tamaño y una morfología homogénea, como también una cantidad mayor de partículas, en referencia a los resultados obtenidos en las concentraciones 3, 5 y 7 mM. La sal precursora  $\text{AgNO}_3$  juega un papel muy importante ya que al aumentarla se obtenían formas mejor definidas mientras a concentraciones bajas el tipo de morfología fue variable, dado que los agentes surfactantes son escasos en nuestra planta, lo que permite obtener los ensambles de Ag.



**Figura 4.47** Micrografías de MEB ilustrando los productos obtenidos después de 3 meses. (a) X10,000, (b)-(c) X20,000 y (d) X40,000.

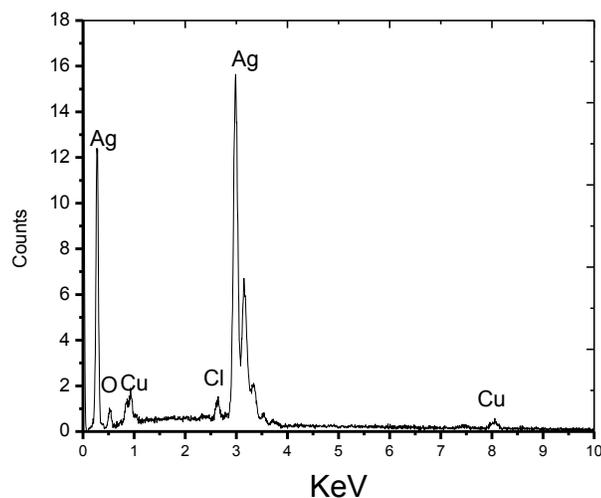


**Figura 4.48** Micrografías de MEB de diferentes zonas de la rejilla, ilustrando los productos obtenidos de la biosíntesis después de 3 meses de reacción con una concentración 0.04 g/mL de *Arctostaphylos Pungens Kunth* y 9 mM de  $\text{AgNO}_3$ .



**Figura 4.49** (a-d) Imágenes de MEB ilustrando los productos obtenidos a X100,000.

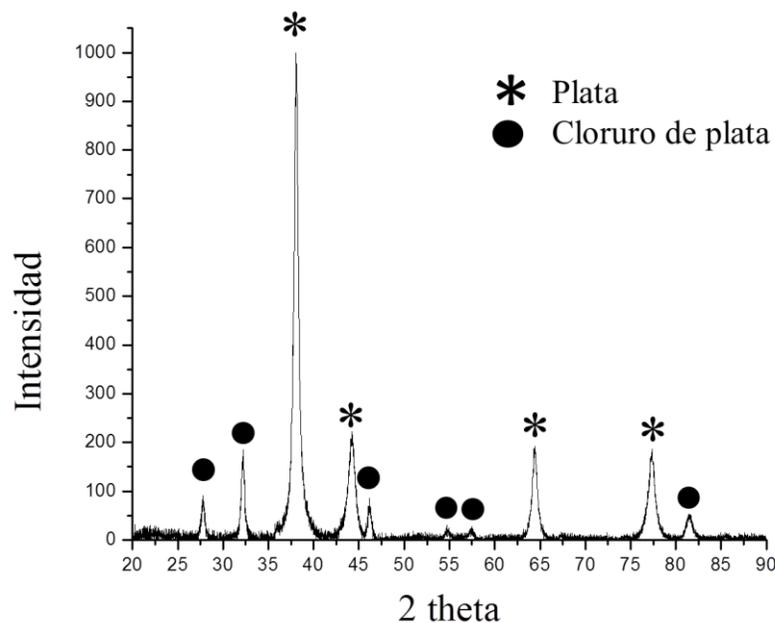
Se presenta un EDS en la Figura 4.50 del producto obtenido de la biosíntesis usando la concentración de extracto de *Arctosthylos Pungens Kunth* en 0.04 g/mL y 9 mM de  $\text{AgNO}_3$ , donde se observa un pico de Ag correspondiente a las Nps, otro pico que corresponde al O por los compuestos propios de la planta, también se presenta otro pico perteneciente al Cl, atribuido a los halogenuros presentes en la planta de *Arctosthylos Pungens Kunth*, cuyo producto no es deseado y dos picos del cobre que pertenece a la rejilla donde se montó la muestra.



**Figura 4.50** EDS del producto obtenido de la biosíntesis usando la concentración de extracto de *Arctostaphylos Pungens Kunth* en 0.04 g/mL y 9 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

En la Figura 4.51, se ilustra el difractograma de rayos X correspondiente a los productos de la biosíntesis empleando 0.04 g/mL de la planta pingüica y 9 mM de  $\text{AgNO}_3$ , analizados mediante la ayuda del programa Match (V.Demo). Realizando la indexación de los picos, se encontraron los planos (111), (200), (220) y (311), correspondientes a la estructura cúbica centrada en las caras de la plata, concluyendo la presencia de este elemento como un sólido lo cual indica la capacidad reductora de la planta pingüica.

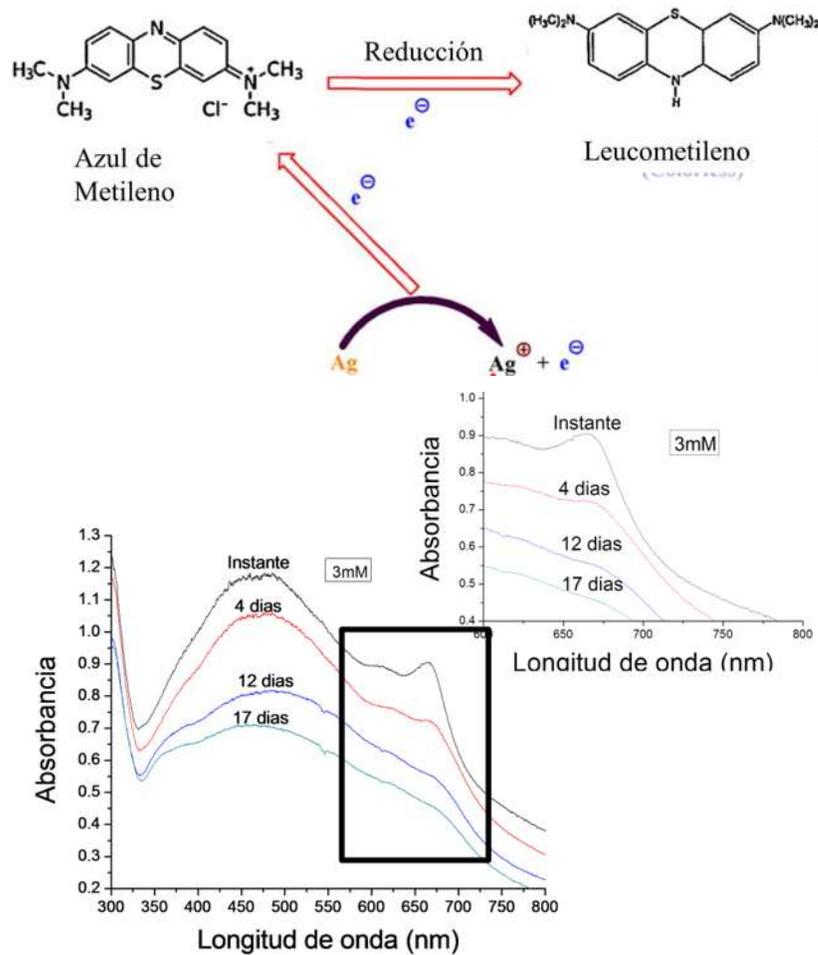
Además, en el mismo difractograma se localizaron otros picos que correspondientes al cloruro de plata, cuyos planos fueron indexados de acuerdo a la secuencia: (111), (200), (220), (311) y (222) que coinciden con la estructura fcc de este compuesto. Su presencia se atribuye a la gran cantidad de cloro en las sustancias contenidas en la planta, de las cuales se derivan los halogenuros, cuyo enlace es C-Cl. El cloruro de plata es insoluble en el extracto, y por tal, se deduce que la presencia de este compuesto es perjudicial en el sentido que consume plata de la reacción.



**Figura 4.51** Difractograma de difracción de rayos X de los productos de la síntesis con el extracto de pingüica.

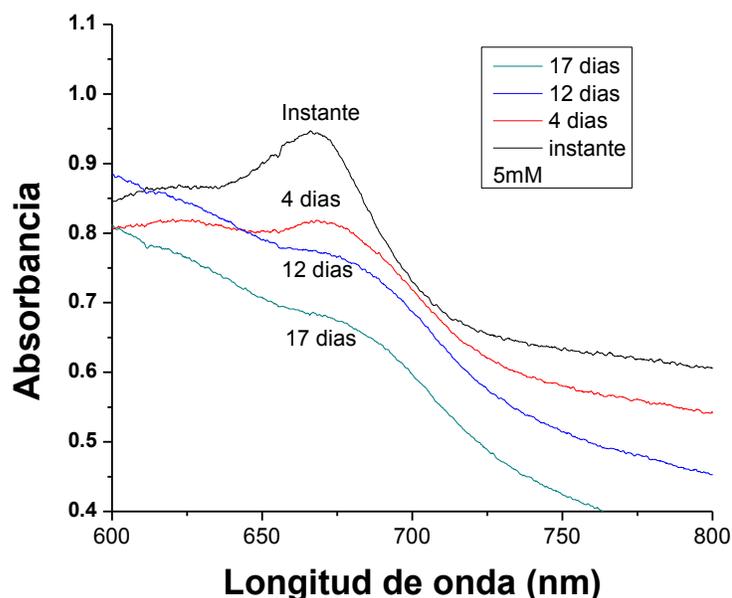
La Figura 4.52, muestra los espectros de UV-Vis de la prueba catalítica de la degradación del azul de metileno utilizando las partículas sintetizadas, 0.04 g/mL del extracto de *Arctostaphylos Pungens Kunth* y 3 mM de  $\text{AgNO}_3$ . En la literatura se encuentra que la banda correspondiente al azul de metileno, aparece a 664 nm [2]. Durante el monitoreo durante 4 días, la intensidad de la banda disminuye, y este comportamiento fue el mismo para 12 y 17 días. Al final de la reacción, la banda del colorante orgánico mostró una disminución significativa en la intensidad, lo que demuestra la capacidad de las partículas biosintetizadas para degradar los colorantes orgánicos como es el caso del azul de metileno.

Según Tahir, el mecanismo de la descomposición del azul de metileno usando nanopartículas de plata se debe a los radicales generados por electrones de alta energía. Este nivel de energía se obtiene porque los electrones de valencia de las AgNps son golpeados por la luz. Después de eso, estos electrones se emiten desde el orbital de valencia de AgNps, y luego se lleva a cabo la reducción de azul de metileno a azul de leucometileno [39]. Esto revela que AgNps actúan como un mediador de transferencia de electrones entre el extracto y azul de metileno actuando como un catalizador redox, que a menudo se denomina como efecto de relé de electrones [40].



**Figura 4.52.** Mecanismo de la de la descomposición del azul de metileno y los espectros de UV-Vis de la prueba catalítica de la degradación del azul de metileno con las partículas sintetizadas con 0.04 g/mL del extracto de *Arctosthylos Pungens Kunth* y 3 mM de  $AgNO_3$ .

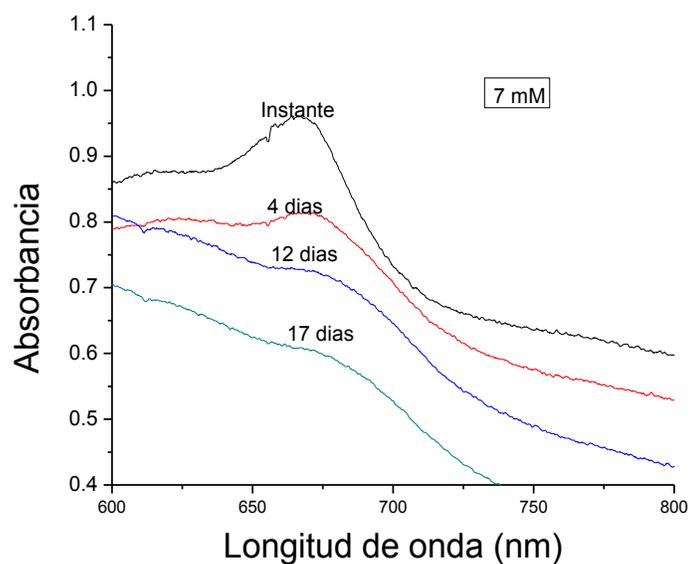
Las pruebas catalíticas de la degradación del azul de metileno para las condiciones de partículas sintetizadas usando 0.04 g/mL del extracto de *Arctosthylos Pungens Kunth* y 5 mM de  $AgNO_3$  se muestran en los espectros de UV-Vis de la Figura 4.53, que corresponden a 4, 12 y 17 días, en donde se observa la disminución de la intensidad de la banda como función del tiempo. Se concluye que las partículas biosintetizadas tienen la capacidad para degradar el azul de metileno.



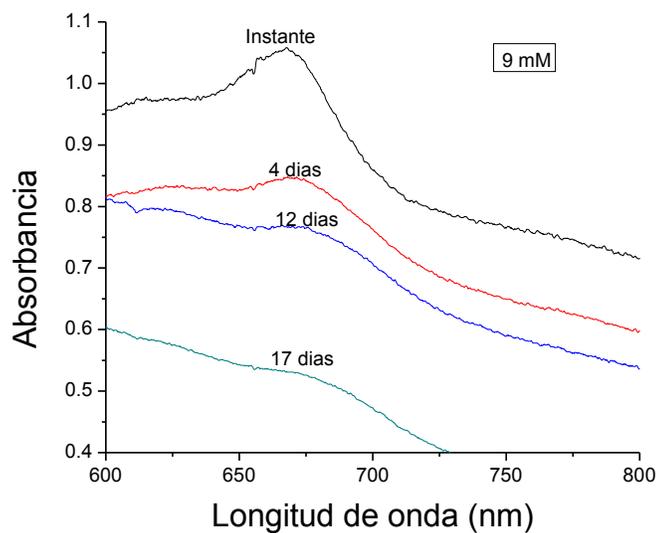
**Figura 4.53** Espectros de UV-Vis de la prueba catalítica de la degradación del azul de metileno para condiciones de partículas sintetizadas de 0.04 g/mL del extracto de *Arctosthylos Pungens Kunth* y 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

Del mismo modo, las Figuras 4.54 y 4.55, presentan la degradación del azul de metileno, para las condiciones de 0.04 g/mL de extracto de *Arctosthylos Pungens Kunth*, 7 mM de  $\text{AgNO}_3$  y 9 mM de  $\text{AgNO}_3$  respectivamente, en donde se observan los espectros de UV-Vis correspondientes a 4, 12 y 17 días respectivamente, ilustrando una disminución de intensidad de la banda conforme transcurre el tiempo.

Como se puede notar en la medida que se emplea menos molaridad para la preparación de las Nps, es decir, existe una proporción menor de las mismas, la velocidad de degradación del azul obviamente disminuye.



**Figura 4.54** Espectros de UV-Vis de la degradación del azul de metileno, para condiciones de 0.04 g/mL del extracto de *Arctostphylos Pungens Kunth* y 7 mM de  $\text{AgNO}_3$ .



**Figura 4.55** Espectros de UV-Vis de la degradación del azul de metileno, para las condiciones de 0.04 g/mL de extracto de *Arctostphylos Pungens Kunth* 9 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

### 4.3 Discusión de resultados

#### 4.3.1 Mecanismo de reacción

A partir de los resultados obtenidos se proponen los siguientes mecanismos de reacción de la reducción de los iones de plata a plata metálica. Se debe considerar la existencia de la gran cantidad de compuestos orgánicos como lignanos, flavonoides, etc, contenidos en las plantas de gobernadora y de pingüica, cuya función es reducir y estabilizar a la sal de plata. Sin embargo, contemplando las sustancias contenidas en mayor proporción se expresa el mecanismo de reducción más probable para lograr las nanoestructuras de plata obtenidas en el presente trabajo. La Figura 4.56 muestra el mecanismo de reducción, empleando el ácido nordihidroguaiarético y pirocatequina, compuestos con mayor poder reductor [23] que se encuentran en mayor proporción en las plantas gobernadora y pingüica respectivamente, donde los radicales hidroxilos se ven excitados por el ion plata, debido a su diferencias de electronegatividades, logrando la oxidación de la moléculas del ácido nordihidroguaiarético y pirocatequina, aceptando el electrón la  $Ag^+$ . Todo ello evidenciado por el estudio de infrarrojo donde el pico correspondiente a los grupos de anillo bencénico unidos a grupos hidroxilos se ve afectado después de la síntesis.

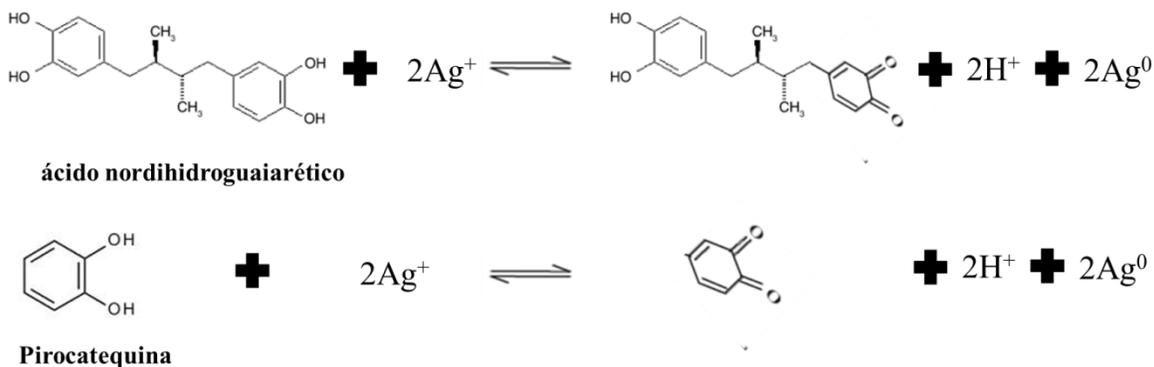


Figura 4.56 Mecanismos de reducción propuestos para las plantas gobernadora y pingüica.

#### 4.3.2 Capacidad de las plantas de reducir, estabilizar y modificadores de forma.

Es importante recalcar que cada una de las plantas contiene compuestos diferentes entre sí, es por ello que las formas y tamaños de las partículas han sido diferentes. Por otro lado, las capacidades

reductoras, estabilizadoras y modificadores de forma para cada planta, son muy predominantes para cada uno de los resultados, donde a la planta gobernadora se le atribuye la mayor capacidad reductora, en base a los resultados directos observados del cambio de coloración, además, una mayor capacidad estabilizadora por causa del control en el crecimiento de los sólidos obtenidos, pero a la vez una escasa cantidad de modificadores de forma, es por ello que los resultados arrojan principalmente formas cuasiesféricas y tamaños de Nps mas uniformes que no rebasan el tamaño nanométrico.

Sin embargo, para la planta pingüica se observa menor poder reductor ya que el cambio de coloración se presentó más lentamente respecto a gobernadora, menor poder estabilizador debido a que concentraciones similares a gobernadora las formas obtenidas presentan una diversidad de crecimientos anisotrópicos lo que sugiere mayor cantidad de modificadores de forma, constatando así la diversidad de tamaños y morfologías de los arreglos de plata obtenidos, entre los que se encuentran tipo mariposa, árboles, dendritas y cadenas de Nps, cuyos tamaños superaron en su totalidad el rango nanométrico, pero constituidos de unidades tipo nanolaminas, nanorodillos y Nps para así obtener los ensamblados deseados de este material.

### **4.3.3 Propiedades antibacteriales y fotocatalíticas.**

#### ***4.3.3.1 Larrea tridentata***

Fue confirmada la actividad antibacterial de las AgNps sintetizadas mediante la planta *Larrea tridentata*, cuya morfología fue cuasiesférica, mostraron su efecto antibacterial sobre las bacterias de *E.coli* observando halos de inhibición contundentes, cuyo mecanismo de inhibición se describió anteriormente [25]. Estos resultados dan amplio campo de estudio para realizar experimentos cuyos objetivos pongan a las AgNps sintetizadas con *Larrea tridentata* en comparación con antibióticos comerciales.

#### ***4.3.3.2 Arctosthylos Pungens Kunth***

La Tabla 4.1, presenta, a partir de los resultados en las pruebas catalíticas de la degradación del azul de metileno, cada uno de los experimentos realizados para la planta pingüica a diferentes molaridades, las formas de las partículas sintetizadas y el efecto de degradación del azul. Donde,

para 3 y 9 mM de la sal de plata se tuvo degradación del azul de metileno, atribuido a la forma predominante de estas molaridades. En el caso de la concentración de sal precursora igual a 3 mM, la forma fue tipo mariposa presentando un tamaño promedio de 300 nm. En relación a la concentración de 9 mM, la morfología común fue tipo flor con un tamaño promedio de 300 nm. Para el estudio de la concentración de 7 mM, se encontró mayor degradación que las anteriores molaridades, donde se presentaron en mayor proporción, morfologías tipo flor, las cuales alcanzan un tamaño promedio de 300 nm y un significativo 12% de fractales cuya composición son nanopartículas que influyen en la degradación por el tamaño, siendo estas más reactivas. Se observa que el valor más alto de degradación de azul de metileno correspondió a 7 mM comparadas con las anteriores, obteniendo en su mayoría morfologías tipo flores con un tamaño promedio de 300 nm, aunque también un porcentaje de fractales formados por nanopartículas, cuya influencia en la degradación es muy importante por su tamaño y con ello obteniendo mejores resultados.

**Tabla 4.1** Resultados de la prueba catalítica.

| Molaridad | Formas obtenidas  | Degradación de azul de metileno |
|-----------|---|---------------------------------|
| 3 mM      | Mariposas 80%<br>Arboles dendríticos 10%<br>Fractales 10% | Positivo                        |
| 5 mM      | Flores 80%<br>Arboles dendríticos 5%<br>Fractales 15%     | Positivo                        |
| 7 mM      | Flores 80%<br>Arboles dendríticos 8%<br>Fractales 12%     | Positivo                        |
| 9 mM      | Flores 80%<br>Arboles dendríticos 10%<br>Fractales 10%    | Positivo                        |

## CAPÍTULO V CONCLUSIONES

Se concluye que la planta *Larrea tridentata* es efectiva en su uso como agente reductor y estabilizante de los iones de  $\text{Ag}^+$  a partir de la sal precursora ( $\text{AgNO}_3$ ) para obtener AgNps, siendo éste, un método amigable para el medio ambiente, en comparación con los métodos químicos.

La síntesis y la morfología de las AgNps fueron demostradas por medio de las diferentes técnicas de caracterización (UV-Vis, Rayos X, Espectroscopía de Infrarrojo, MEB, MET). Estas pruebas demostraron la existencia de las nanopartículas obtenidas con picos apreciables en un rango de 350 a 550 nm, estimados por los resultados obtenidos. La difracción de rayos X permitió identificar el elemento plata y la estructura fcc de la plata. La espectroscopía por infrarrojo mostró la diferencia entre los grupos funcionales contenidos en la planta antes y después de la reacción de síntesis, corroborando su acción reductora y estabilizadora AgNps. En las demás microscopías como MEB y MET se observaron la forma y tamaño de las AgNps, donde se obtuvieron en su mayoría formas cuasiesféricas con un tamaño entre 5 y 30 nm cayendo en el rango nanométrico.

Además su efecto antibacterial se evidenció con los halos de inhibición que presentó la bacteria *E. coli* y se probó que las sustancias involucradas en la biosíntesis de AgNps no tuvieron influencia en el efecto causado por la plata al momento de eliminar las bacterias.

También se demostró el efecto de la planta *Arctostphylos Pungens Kunth* como agente reductor y estabilizador, que a partir de la sal precursora ( $\text{AgNO}_3$ ) biosintetiza ensambles de plata.

La síntesis y la morfología de los ensambles fueron demostradas por medio de las diferentes técnicas de caracterización (UV-Vis, DRX, MEB, MET). Se observaron la forma y tamaño de los ensambles de plata, donde se obtuvieron diferentes tipos como fractales, árboles y flores con un tamaño entre 200 nm a 3 micras.

Asimismo se obtuvo la degradación del azul de metileno por las partículas de plata de la planta *Arctostphylos Pungens Kunth* siendo positivo los resultados, donde a mayor concentración de partículas mayor la velocidad de degradación.

Estos resultados arrojan que la planta *Larrea tridentata* presenta una cantidad de agentes reductores y estabilizantes más equilibradas con respecto *Arctostaphylos Pungens Kunth*, esta es una razón por la que, en la primera de estas, únicamente se logra obtener nanopartículas y en la segunda auto ensamblables.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] LÓPEZ-MIRANDA J L, VÁZQUEZ M, FLETES N, ESPARZA R, ROSAS G. Biosynthesis of silver nanoparticles using a *Tamarix gallica* leaf extract and their antibacterial activity. *Materials Letters*. 176. 285-289, 2016.
- [2] LÓPEZ-MIRANDA J L, BORJAS-GARCIA S, ESPARZA R, ROSAS G. Synthesis and Catalytic Evaluation of Silver Nanoparticles Synthesized with *Aloysia triphylla* Leaf Extract. *Journal of Cluster Science*. 27(6). 1989-1999, 2016.
- [3] MITTAL A K, CHISTI Y, BANERJEE U C. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology advances*. 31(2). 346-356, 2013.
- [4] ÁVALOS A, HAZA A, MORALES P. Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 7(2). 1-23, 2013.
- [5] DOBLE M, KRUTHIVENTI A K. *Green chemistry and processes*. ed. Elsevier; Academic Press, 2007.
- [6] OROZ M M. Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*. ed. 33-41, 2009.
- [7] TAKEUCHI N. *Nanociencia y nanotecnología: la construcción de un mundo mejor átomo por átomo*. ed. Secretaría de Educación Pública, 2009.
- [8] BHUSHAN B. *Springer handbook of nanotechnology*. ed. Springer Science & Business Media, 2010.
- [9] BINDHU M, UMADEVI M. Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 135. 373-378, 2015.
- [10] POOLE C P, OWENS F J. *Introducción a la nanotecnología*. ed. Reverté, 2007.
- [11] TERRONES H. *Nanociencia y nanotecnología en México*. Tip. Revista especializada en ciencias químico-biológicas. 50-51, 2005.
- [12] BANDYOPADHYAY A K. *Nano materials*. ed. New Age International, 2008.
- [13] CEBADA T T. *Nanoquímica y nanotecnología: nuevos materiales, polímeros y máquinas moleculares*. *Encuentros multidisciplinares*. 4(12). 20-25, 2002.

- [14] GARCÍA MARTÍNEZ J, ABELLÁN SÁEZ G, CARRILLO GÓMEZ A I, LINARES PÉREZ N. Nanomateriales para aplicaciones avanzadas. 2006.
- [15] ZANELLA R. Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología. 5(1). 2012.
- [16] SERGEEV G B. Nanochemistry. ed. Elsevier, 2006.
- [17] SCHMID G. Nanoparticles: from theory to application. ed. John Wiley & Sons, 2011.
- [18]
- [19] KOCH C C. Nanostructured materials: processing, properties and applications. ed. William Andrew, 2006.
- [20] SALINAS-ESTEVANÉA P, CERVANTES B E M S. La química verde en la síntesis de nanoestructuras. Ingenierías. 15(54). 7, 2012.
- [21] MATLACK A. Introduction to Green Chemistry Marcel Dekker. Inc., New York. 2001.
- [22] SALDÍVAR R H L. Estado actual del conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora [Larrea tridentata (DC) Coville]. Revista Mexicana de Fitopatología. 21(2). 214-222, 2003.
- [23] ARGUETA V. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, (3 vols.) Instituto Nacional Indigenista. Mexico, DF. 1994.
- [24] TENOVER F C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. The American journal of medicine. 119(6). S3-S10, 2006.
- [25] FENG Q, WU J, CHEN G, CUI F, KIM T, KIM J. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Journal of biomedical materials research. 52(4). 662-668, 2000.
- [26] TAMBOLI D P, LEE D S. Mechanistic antimicrobial approach of extracellularly synthesized silver nanoparticles against gram positive and gram negative bacteria. Journal of hazardous materials. 260. 878-884, 2013.
- [27] SARAVANAKUMAR A, GANESH M, JAYAPRAKASH J, JANG H T. Biosynthesis of silver nanoparticles using Cassia tora leaf extract and its antioxidant and antibacterial activities. Journal of Industrial and Engineering Chemistry. 2015.
- [28] BANALA R R, NAGATI V B, KARNATI P R. Green synthesis and characterization of Carica papaya leaf extract coated silver nanoparticles through X-ray diffraction, electron

- microscopy and evaluation of bactericidal properties. Saudi journal of biological sciences. 22(5). 637-644, 2015.
- [29] MITTAL A K, TRIPATHY D, CHOUDHARY A, AILI P K, CHATTERJEE A, SINGH I P, BANERJEE U C. Bio-synthesis of silver nanoparticles using *Potentilla fulgens* Wall. ex Hook. and its therapeutic evaluation as anticancer and antimicrobial agent. Materials Science and Engineering: C. 53. 120-127, 2015.
- [30] PADALIA H, MOTERIYA P, CHANDA S. Green synthesis of silver nanoparticles from marigold flower and its synergistic antimicrobial potential. Arabian Journal of Chemistry. 2014.
- [31] AHMED M J, MURTAZA G, MEHMOOD A, BHATTI T M. Green synthesis of silver nanoparticles using leaves extract of *Skimmia laureola*: Characterization and antibacterial activity. Materials Letters. 153. 10-13, 2015.
- [32] LU Y, ZHANG C-Y, ZHANG D-J, HAO R, HAO Y-W, LIU Y-Q. Fabrication of flower-like silver nanoparticles for surface-enhanced Raman scattering. Chinese Chemical Letters. 27(5). 689-692, 2016.
- [33] CHUNYONG Z, MINGYUN G, CHUNZHI Z, LI S, GUOHUA Z, TONG W. High-concentration Facile Synthesis of Self-assembled Micronized Flower Silver Particles by Stainless Steel-Assisted Vitamin C Reduction Method. Rare Metal Materials and Engineering. 43(12). 2943-2947, 2014.
- [34] MDLULI P, REVAPRASADU N. Time dependant evolution of silver nanodendrites. Materials Letters. 63(3). 447-450, 2009.
- [35] YANG T, HAN Y, LI J. Manipulating silver dendritic structures via diffusion and reaction. Chemical Engineering Science. 138. 457-464, 2015.
- [36] GOODHEW P J, HUMPHREYS J, BEANLAND R. Electron microscopy and analysis. ed. CRC Press, 2000.
- [37] PADALIA H, MOTERIYA P, CHANDA S. Green synthesis of silver nanoparticles from marigold flower and its synergistic antimicrobial potential. Arabian Journal of Chemistry. 8(5). 732-741, 2015.
- [38] SARKAR J, PAL P, TALAPATRA G. Self-assembly of silver nano-particles on stearic acid Langmuir-Blodgett film: evidence of fractal growth. Chemical physics letters. 401(4). 400-404, 2005.

- [39] TAHIR K, NAZIR S, LI B, KHAN A U, KHAN Z U H, AHMAD A, KHAN F U. An efficient photo catalytic activity of green synthesized silver nanoparticles using *Salvadora persica* stem extract. *Separation and Purification Technology*. 150. 316-324, 2015.
- [40] GUPTA N, SINGH H P, SHARMA R K. Metal nanoparticles with high catalytic activity in degradation of methyl orange: an electron relay effect. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 335(1). 248-252, 2011.