

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO



**LICENCIATURA EN INGENIERIA EN INNOVACION TECNOLOGICA DE
MATERIALES**

TESIS

**“SINTESIS Y CARACTERIZACION DE NANOESTRUCTURAS DE Ag
EMPLEANDO LA PLANTA *SEDUM PREALTUM*”**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**INGENIERO EN MATERIALES EN INNOVACION TECNOLOGICA DE
MATERIALES**

PRESENTA:

VICTOR HUGO MORENO SICAIROS

ASESOR:

DR. GERARDO ANTONIO ROSAS TREJO

MORELIA MICHOACAN, FEBRERO DE 2022

INDICE DE FIGURAS	I
INDICE DE TABLAS	III
RESUMEN	IV
ABSTRACT	V
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
1.1. Justificación	2
1.2. Objetivos	2
1.2.1. Objetivo general.....	2
1.2.2. Objetivos particulares	2
1.3. Hipótesis	3
CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
2.1. Nanociencia y nanotecnología	4
2.1.1. Clasificación de los Nanomateriales.....	5
2.1.1.1 Clasificación de acuerdo con el número de dimensiones que se encuentren en el régimen manométrico.....	7
2.1.2. Nanopartículas de Ag.....	8
2.1.3. Nanomateriales autoensamblados.....	9
2.2 Métodos de síntesis	10
2.2.1. Síntesis por reducción química	12
2.2.1. (a) Química convencional	12
2.2.1. (b) Química verde	13
2.3. Síntesis verde mediante el uso de plantas	15
2.4. Estado actual.....	15
2.4.1 Síntesis verde de nanoestructuras de Ag mediante el uso de plantas.....	15
2.4.2 Mecanismo de síntesis de nanopartículas de Ag.....	16
2.4.3 Nanomateriales autoensamblados mediante el uso de plantas.....	17
2.5. Aplicaciones de las nanoestructuras	17
2.5 Características de <i>Sedum Prealtum</i>	19
2.6 Nanopartículas de plata	20
CAPÍTULO III: DESARROLLO EXPERIMENTAL	
3.1 Materiales utilizados	25
3.2 Preparación del extracto de la planta.	25
3.3. Síntesis de nanoestructuras de Ag	26

3.4. Caracterización de los nanomateriales	26
3.4.1. Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis)	26
3.4.2. Microscopía electrónica de barrido (MEB)	27
3.4.3. Difracción de rayos X (DRX)	27
3.4.4. Espectroscopía infrarroja con transformadas de Fourier (FTIR)	28

CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. 1 Microscopia electrónica de barrido en función del pH.....	31
4.1.1 morfologías tipo flor obtenidas a pH 2	31
4.1.2 Morfologías obtenidas a pH 3	32
4.1.3 Morfologías que aparecen a pH 4	34
4.1.4 Morfologías que aparecen a pH 5	35
4.1.5 Morfologías obtenidas a pH 7	36
4.1.6 Morfologías obtenidas a pH 8	36
4.2 Determinación de la naturaleza nanométrica de las nanoestructuras de plata Mediante espectroscopía UV-Vis.....	40
4. 3 Análisis estructural mediante difracción de rayos X.....	41
4. 4 Análisis de los grupos funcionales que participan en la reacción (FTIR).....	47
V. Conclusiones	49
Referencias	50

INDICE DE FIGURAS

Fig. 2.1. Diferentes objetos en la escala nanométrica-micrométrica.....	4
Figura 2.2 Alótropos de carbono en diferentes nanoestructuras.....	6
Fig. 2.3 Ejemplos de nanoestructuras de carbono 0D, 1D, 2D y 3D.....	7
Fig. 2.4 Imágenes SEM de esferas de Ag a diferentes aumentos.....	9
Fig. 2.5. Aspectos generales de la química verde.....	14
Fig. 2.6 Proceso de síntesis verde de nanopartículas de plata.....	15
Fig. 2.7. Investigación con microscopia electrónica de los mesocristales de $\text{Nb}_3\text{O}_7(\text{OH})$. (a) Una imagen SEM general de la muestra. (b) Imagen SEM de un cubo con la parte superior rota, se puede ver una mayor ampliación de la pared del cubo en (c). (d) Imagen TEM superpuesta de un cubo sin cabeza sobre una rejilla de carbono. (e) Imagen TEM de un fragmento de una pared de cubo y el patrón de difracción de electrones correspondiente (f), que se indexa como patrón combinado de dos nanocables.....	18
Fig. 2.8. Imagen de la planta <i>Sedum Prealtum</i> (siempreviva).....	20
Fig. 2.9. Análisis de espectros de UV- visibles.....	21
Fig. 2.10. Los patrones de XRD de las nanopartículas de plata biosintetizadas.....	21
Fig.2.11. Espectros FTIR de AgNP.....	22
Fig. 2.12 Espectros EDS tanto para los extractos de plantas Khat como para los NP de Ag.....	23
Fig. 2.13 Imagen de SEM NP Ag-ETR (A), EDS Análisis elemental de NP Ag-ETR (B).....	24
Fig. 3.1. Espectrofotómetro de Luz Visible y UV, VELAB (VE-5100UV).....	26
Figura 3.2. Microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-7600F.....	27
Fig. 3.3 Difractómetro Bruker D8 Advance DAVINCI.....	29

Figura 3.4. Equipo de FTIR Bruker Tensor 27.....	30
Figura 4.1 Imágenes de MEB y análisis de EDS de los productos obtenidos a pH 2; a) baja magnificación 1000X, b) análisis químico por EDS, c) registro a 20000X y d) alta magnificación 100,000X.....	31
Figura 4.2 Imágenes de MEB y análisis químico (EDS) de los productos obtenidos a pH 3; a) baja magnificación 1000X, b) análisis químico, c) un solo espécimen a 40000X y d) alta magnificación a 100,000X.....	33
Figura 4.3 Micrografías registradas por MEB y análisis químico (EDS) de los productos a pH 4; a) baja magnificación 1000 X, b) análisis químico, c) 40000 X y d) 100,000 X.....	34
Figura 4.4 Micrografías registradas por MEB y análisis químico (EDS) de los productos a pH 4; a) baja magnificación 1000 X, b) Análisis químico, c) 40000 X y d) 100,000 X.....	35
Figura 4.5 Micrografías registradas por MEB y análisis químico (EDS) de los productos a pH 7; a) baja magnificación 1000 X, b) Análisis químico, c) 40000 X y d) 100,000 X.....	37
Figura 4.6 Micrografías registradas por MEB y análisis químico (EDS) de los productos a pH 8; a) baja magnificación 1000 X, b) Análisis químico, c) 40000 X y d) 100,000 X.....	38
Figura 4.7 Micrografías registradas por MEB y análisis químico (EDS) de los productos a pH 10; a) baja magnificación 1000 X, b) Análisis químico, c) 40000 X y d) 100,000 X.....	39
Figura 4.8 Micrografías registradas por MEB y análisis químico (EDS) de los productos a pH 4; a) baja magnificación 1000 X, b) Análisis químico, c) 40000 X y d) 100,000 X.....	39
Figura 4.9 Espectroscopía de UV-vis de las muestras a diferentes pH de reacción. a) 2-5, y b) 7-10.....	41
Figura 4.10. Patrones de difracción de RX de las muestras registrados a pH ácidos a)-b) y básicos c)-d).....	43

Figura 4.11. Patrón de difracción de RX, mostrando la superposición de la tarjeta de DRX para la comprobación de plata bio-reducida con el extracto de la planta Sedum Preatum.....	44
Figura 4.12. Extracto de los picos de difracción del patrón anterior, en donde el primero muestra ensanchamiento y el segundo corrimiento del pico.....	44
Figura 4.13. Análisis Rietveld de la muestra en donde se observa orientación cristalográfica y fase amorfa.....	45
Figura 4.14. Espectros de FTIR registrados de las muestras a diferentes condiciones; a) extracto, b) pH 2, c) pH 8 y d) pH 10.....	48

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tamaños de cristal usando la aproximación de Debye-Sherrer.....	46
Tabla 2. Cambio en los valores del parámetro de red con la variación del pH.....	46

RESUMEN

Los nanomateriales varían en apariencia porque son individuos y sus propiedades varían de sus contrapartes submicrónicas o micrométricas. Esta tendencia es una buena razón para que la nanociencia y la nanotecnología sean un área de inversión de emergencia. El presente estudio sintetizó nanoestructuras de plata utilizando el extracto acuoso de *Sedum Prealtum*. Los antioxidantes polifenólicos reconocidos en la planta *Sedum Prealtum*, incluidos el kaempferol y la quercetina, pueden atribuirse a la reducción de los iones de plata a plata metálica. El pH de las partículas preparadas varió entre 2 y 10. La caracterización de nanoestructuras es la realización de espectroscopía ultravioleta-visible media (UV-Vis), difracción de rayos X (XRD), espectroscopía infrarroja y microscopía electrónica de barrido (SEM). Los estudios de microscopía muestran nanoestructuras con morfologías florales y esféricas con diferentes propiedades texturales. A medida que aumenta el pH, el tamaño de las nanoestructuras disminuye de 5 micrones a submicrones. La difracción de rayos X muestra la estructura cristalina e indica una ligera disminución en el tamaño del cristal al aumentar el pH. Los estudios UV-vis indicaron nanoestructuras con bandas de absorción ensanchadas debido a la diversidad de sus dimensiones. Finalmente, los espectros FTIR mostraron que los grupos OH son los responsables de la biorreducción de las estructuras, lo que coincide con los flavonoides previamente determinados en la planta.

Palabras clave: Nanociencia, nanomateriales, nanotecnología, pH, *Sedum prealtum*.

ABSTRACT

Nanomaterials vary in appearance because they are individuals, and their properties vary from their submicron or micron counterparts. This trend is a good reason for nanoscience and nanotechnology as an emergency investment area. The present study synthesized silver nanostructures using the *Sedum Prealtum* aqueous extract. The polyphenolic antioxidants recognized in the *Sedum Prealtum* plant, including kaempferol and quercetin, can be attributed to reducing silver ions to metallic silver. The pH of the prepared particles varied between 2 and 10. The characterization of nanostructures is the performance of medium ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis), X-ray diffractometry (XRD), infrared spectroscopy, and scanning electron microscopy (SEM). Microscopy studies show nanostructures with floral and spherical morphologies with different textural properties. As the pH increases, the size of the nanostructures decreases from 5 microns to submicron. X-ray diffraction shows the crystal structure and indicates a slight decrease in crystal size with increasing pH. The UV-vis studies indicated nanostructures with widened absorption bands due to the diversity in their dimensions. Finally, FTIR spectra showed that the OH groups are responsible for the bioreduction of the structures, which coincides with the previously determined flavonoids in the plant.

1. INTRODUCCIÓN

Los materiales nanométricos varían en su aspecto debido a que son individuos y por tanto sus propiedades varían con respecto a sus contrapartes submicrónicas o micrométricas. Esta es una buena razón de porqué, la nanociencia y nanotecnología ha surgido como un área de investigación emergente. En este campo, y por tal necesidad se han desarrollado muchos métodos de preparación de materiales, ampliando los ya existentes que desde hace décadas han venido explotándose. Sin embargo, nuevas formas de preparación muy atractivas han surgido en el desarrollo de los llamados nanomateriales. Cada vez más la contaminación ambiental también sugiere explorar métodos que sean amigables con el medio ambiente, así encontramos al gran desarrollo que ha tenido la síntesis con extractos de plantas dentro de los llamados métodos de síntesis verde. Al utilizar sustancias biodegradables, este procedimiento es ahora bien reconocido por ser fácil, económico y ser amigable con el medio ambiente.

Algunas consideraciones que se deben cumplir para utilizar los extractos de plantas como biorreductores de metales son: que presente una concentración aceptable de sustancias antioxidantes, no sea tóxica o sea medicinal, que contengan sustancias que permitan la estabilización de las nanopartículas, que los tiempos de biorreducción sean rápidos, entre otras. Por otro lado, obviamente que no haya sido utilizada previamente.

De este modo, el presente estudio se dedica a evaluar la capacidad del extracto de la planta *Sedum Praelatum* en la formación de nanoestructuras de plata. Este extracto es reconocido por tener antioxidantes polifenólicos, entre ellos el kaempferol y quercetina a los cuales se les puede atribuir la reducción de los iones de plata a plata metálica. Esta planta, también es utilizada comúnmente en la medicina tradicional mexicana. La caracterización de las nanoestructuras es realizada mediante espectroscopia de ultravioleta-visible (UV-Vis), difracción de rayos X (DRX), espectroscopia de infrarrojo (FTIR) y microscopia electrónica de barrido (MEB).

2. JUSTIFICACIÓN

La síntesis convencional de nanomateriales de nanopartículas, por métodos químicos o físicos requiere del uso de químicos como agentes estabilizantes para evitar la aglomeración de las nanopartículas, suele ser costosa y dispone de mucha energía, además, los reactivos generalmente se caracterizan por generar subproductos contaminantes y peligrosos. Los nanomateriales, particularmente las partículas metálicas pueden ser preparadas usando fuentes naturales como microorganismos, extractos vegetales, polipéptidos, ácidos nucleicos, proteínas, así como tejidos animales que funcionan como agentes reductores y estabilizantes. Esta forma de preparación es amigable con el ambiente y presenta una potencial aplicación para áreas biomédicas lo que genera gran interés en el campo de la nanotecnología. Las nanoestructuras de plata se encuentran entre las más utilizadas, dado su amplio espectro de actividad antibacterial, así como su aplicación para tratar lesiones en la piel (Bagherzade, Tavakoli, & Namaei, 2017). Por lo que es de mucho interés desarrollar este tipo de métodos para explorar la formación de fácil costo, eco-amigable con el medio ambiente y fácil en elaboración de las nanoestructuras de plata, las cuales han sido aplicadas en muchos estudios biomédicos.

3. Objetivo general

Realizar la síntesis de nanoestructuras de Ag empleando el extracto de la planta *Sedum Prealtum* y realizar su caracterización morfológica, estructural y química.

Objetivos específicos

1. Evaluar la formación de las nanoestructuras de plata, mediante UV-Vis, empleando el extracto de la planta *Sedum Prealtum*
2. Evaluar las características estructurales de las nanopartículas mediante difracción de rayos X, microscopía electrónica de barrido, microscopía electrónica de transmisión y espectroscopía de infrarrojo
3. Determinar los grupos funcionales involucrados en la biosíntesis.

4. Hipótesis

Tomando en consideración, previos estudios realizados en la planta *Sedum Prealtum*, la presencia de flavonoides como kaempferol y quercetina en el extracto, permitirá su empleo como agente reductor en la preparación de nanoestructuras de plata.

CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Nanociencia y nanotecnología

La nanociencia se constituye como un área emergente que se ocupa del estudio de los materiales cuyas dimensiones son extremadamente pequeñas (<100). No puede denominarse química, física o biología dado que los científicos de este campo estudian esas dimensiones muy pequeñas, para una mejor comprensión del mundo que nos rodea (1). A Richard Feynman, se le considera el padre de la nanociencia, quien ganó el premio Nóbel de Física en 1959. Feynman propuso fabricar productos en base a la manipulación de átomos y moléculas (2). La figura 1 representa los diferentes objetos que se presentan desde la escala micrométrica hasta la escala nanométrica.

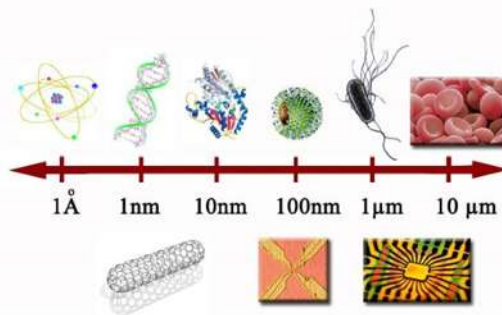


Fig. 2.1. Diferentes objetos en la escala nanométrica-micrométrica (3).

En cambio, la nanotecnología se define como el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nivel nanoescala (4). Cuando se manipula la materia a escala tan minúscula de átomos y moléculas, se encuentran fenómenos y propiedades totalmente nuevas, por lo tanto, los científicos utilizan la nanotecnología para crear materiales, aparatos y sistemas novedosos, poco costosos con propiedades únicas (5).

El prefijo nano proviene del griego que significa el “enano” un nanómetro es la mil millonésima parte de un metro, o millonésima parte de un milímetro (6). Esto es, 1 nanómetro es igual a 0,000000001 metros, también 1 milímetro igual a 1.000.000 de nanómetros.

Referente a la figura 1 se aprecia que un virus mide 100 nanómetros de diámetro, y el átomo más pequeño (hidrógeno) mide 0.1 nanómetros. Los nanotecnólogos prevén una segunda revolución industrial que arrollará el mundo durante nuestras vidas, cuando los

átomos individuales sean ensamblados para fabricar miles de productos nuevos y útiles. La fuerza de los enlaces entre los carbonos es enorme, de modo que los nanotubos de carbono son los “hilos” más resistentes que conocemos. El acero es capaz de soportar una tensión de unos 2 GPa antes de romperse. Bien, los experimentos con Buckytubos han alcanzado valores de hasta 65 GPa: unas treinta veces más tensiones que en el caso del acero. Son más ligeros que el acero (unas seis veces menos denso). Si lo que se compara es la tensión respecto a la densidad de cada uno de ellos (es decir, lo que pueden soportar “kilo por kilo”), entonces el acero soporta 254.000 Nm/kg y un nanotubo de carbono 46.268.000, ¡ciento ochenta veces más! Las propiedades eléctricas y térmicas de los buckytubos son excepcionales. Respecto a la conductividad térmica, los metales son excelentes conductores: el cobre, por ejemplo, tiene una conductividad de 385 watos/m·K. Los modelos teóricos de los nanotubos de carbono predicen conductividades de hasta 6.000 watos/m·K. Por otro lado, en el aire pierden su estructura por encima de 750 grados, de modo que no servirían para todos los sistemas de refrigeración (7).

2.1.1. Clasificación de los Nanomateriales

Los nanomateriales son una nueva clase de materiales (sean cerámicos, metales, semiconductores, polímeros o bien, una combinación de estos) en donde por lo menos una de sus dimensiones se encuentra entre 1 y 100nm. En los nanomateriales debido a su tamaño reducido a unos cuantos nanómetros, se modifican sus propiedades que finalmente difieren del mismo material con dimensiones de sólido volumétrico, de las moléculas y los átomos. Las características de los nanomateriales incluyendo las peligrosas, deben ser investigadas de nuevo mediante el experimento directo. La nanotecnología trata del campo en el que un típico grano de arena es enorme (un millón de nanómetros de diámetro). Un cabello humano tiene 200,000 nanómetros de espesor. Un eritrocito tiene 10,000 nanómetros (7).

Los nanomateriales son de gran interés científico porque sus propiedades son un puente entre sus especies moleculares y masivas. Sus notables cambios en la nanoescala se pueden dividir en diversos efectos físicos principales.

1.- Efecto de superficie. En comparación con los materiales a granel, las nanopartículas (NP) tienen un tamaño pequeño que garantiza un alto porcentaje de átomos superficiales en o cerca de las interfaces y una alta energía superficial. El área superficial específica se

define como la relación entre el área superficial y el volumen. Con la disminución del tamaño de las partículas, los átomos de la superficie aumentan considerablemente y los números de coordinación atómica disminuyen. En consecuencia, la energía superficial es alta, lo que conduce a una alta reactividad de estos átomos superficiales y facilidad para combinarse con los otros átomos. En catálisis, la energía superficial es directamente proporcional al efecto del tamaño. Para aumentar la catálisis y la reactividad, se debe disminuir el tamaño de las NP.

II Efecto de pequeña escala

Con la disminución del tamaño de las partículas a nanoescala o incluso más pequeño, la condición límite regular de los cristales se vuelve destructiva y la densidad molecular superficial de las NP amorfas disminuye. Este fenómeno modifica sus propiedades físicas, como las ópticas, térmicas, magnéticas y mecánicas. El efecto de pequeña escala se define como cambios macroscópicos en sus propiedades físicas con disminución del tamaño de partícula (6).

Por ejemplo, el carbono es el elemento más versátil de la tabla periódica [11], debido a la gran cantidad de enlaces de distinto tipo y fuerza que se pueden formar con él o con muchos otros elementos (6). Además, la capacidad de los orbitales de carbono para hibridarse en configuraciones sp , sp^2 y sp^3 abre el camino a la existencia de una serie de alótropos. Hasta la fecha, a los tres alótropos naturales del carbono (diamante, carbono amorfo y grafito), se han sumado otros derivados de procesos sintéticos (como grafeno, nanotubos de carbono, fullerenos, nanocuernos de carbono, nanodiamantes, ver figura 2.2)

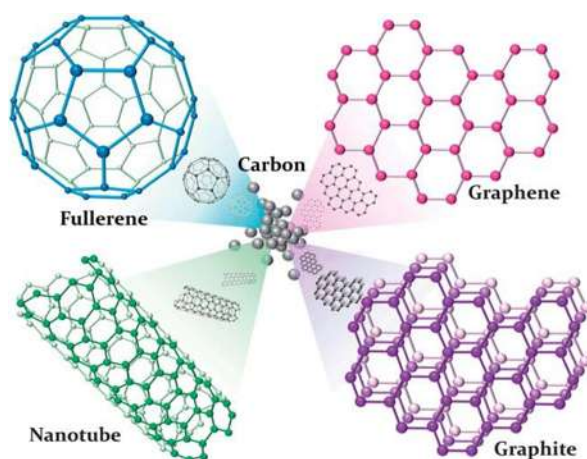


Figura 2.2 Alótropos de carbono en diferentes nanoestructuras (6).

Eléctricamente tienen, la peculiaridad de que su comportamiento depende de la estructura de los “panales” de carbono. Pueden comportarse como conductores o semiconductores, dependiendo de la geometría, y conducen la corriente sólo a lo largo del eje del tubo, pero con densidades de corriente que pueden llegar a ser mucho mayores que en los metales.

2.1.1.1 Clasificación de acuerdo con el número de dimensiones que se encuentren en el régimen nanométrico.

Los nanomateriales se clasifican de acuerdo con el número de dimensiones que caen en el rango nanométrico, por ejemplo (9):

- Nanomateriales de dimensión cero, las tres dimensiones se encuentran en régimen nanométrico, entre ellas están las nanopartículas.
 - De una dimensión, teniendo una longitud variable, conservan una dimensión en el rango nanométrico, como es el caso de nanoalambres y nanotubos.
 - De dos dimensiones con áreas de tamaño indefinido, mantienen su espesor de 1 a 100 nm como en el caso de películas delgadas.
 - De tres dimensiones donde los sólidos tridimensionales están formados por unidades manométricas.
- a) 0-d nanopartículas de oro.
 - b) 1-d fibras³ poliméricas.
 - c) 2-d películas poliméricas.
 - d) 3-d Superred obtenida por auto ensamblaje.

La figura 2.3 muestra los ejemplos de la clasificación de las estructuras, solo de carbono, que se expresa de acuerdo con las dimensiones nanométricas que ocurren en cada una de ellas.

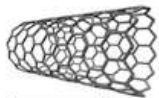
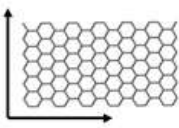
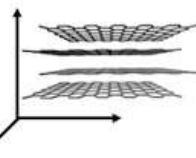
0D	1D	2D	3D
			
Fullerene	Carbon Nanotube	Graphene	Graphite

Fig. 2.3 Ejemplos de nanoestructuras de carbono 0D, 1D, 2D y 3D (9).

2.1.2. Nanopartículas de Ag.

Las NPs de metales, de óxidos metálicos o de compuestos basados en metales (como pueden ser las AgNPs) muestran interesantes propiedades biológicas, ópticas, magnéticas, electrónicas y catalíticas que, en general, se relacionan con su tamaño, forma, composición, cristalinidad y estructura de la partícula, logrando ser interesantes desde el punto de vista de su aplicación práctica (11). Dentro de las variables que influyen en la morfología de las nanopartículas se encuentran la elección del agente reductor, las cantidades relativas, las concentraciones de reactivos, la temperatura y la duración de la reacción (12).

La plata tiene una larga historia en exitosas aplicaciones médicas. Estudios recientes han mostrado que en su forma de nanopartículas son altamente efectivas como agentes antimicrobiales contra bacterias y virus (13). Diferentes rutas de producción de nanopartículas de plata han sido investigadas. Algunas están basadas en la reducción de nitrato de plata por borohidruro de sodio o citrato de sodio. Otros métodos incluyen el uso de microondas, electrólisis, condensación, microemulsión y foto-reducción de iones de Ag (14).

Los nanomateriales son producidos en diferentes morfologías, entre las que se encuentran esferas, tubos, alambres, flores, rodillos, dendritas, entre otras. A su vez, son clasificados en base al tipo de material en: metálicos, semiconductores y poliméricos (15). Los metales a nivel nanométrico poseen propiedades fisicoquímicas que difieren significativamente de aquellas presentes a mayor escala (16). Dichas propiedades están fuertemente relacionadas con el tamaño, forma, composición, cristalinidad y estructura de la partícula dentro de la escala nanométrica (16).

Hoy en día, la tecnología de las nanopartículas de plata (NPsAg), ha aparecido en una variedad de procesos de fabricación y productos terminados. Las NPsAg pueden ser utilizadas en forma líquida, tal como un coloide (recubrimiento y aerosol), contenido en un champú, incrustado en un sólido como un polímero o, en suspensión en una barra de jabón. También pueden ser usadas en la industria textil o en membranas de filtración de sistemas de purificación de agua. Hay muchos productos de consumo y aplicaciones en las que se utilizan las NPsAg, que actualmente tienen el grado de comercialización más alto. Una amplia gama de aplicaciones de las NPsAg ha surgido en los productos de

consumo que van desde la desinfección de dispositivos médicos y electrodomésticos al tratamiento de agua (13).

2.1.3. Nanomateriales autoensamblados

Los nanomateriales han sido ampliamente utilizados debido a sus aplicaciones por sus excelentes propiedades mecánicas, magnéticas, ópticas, electrónicas, térmicas y químicas. Dichas propiedades mejoran con la utilización de materiales nanoestructurados, con geometría esférica y estrecha distribución de tamaño de partícula. Los materiales nanoestructurados son materiales con átomos agrupados ordenadamente en tamaños nanométricos, los cuales son la base para construir estructuras mayores de este tipo de materiales (18).

Una de las metodologías más utilizadas para controlar la organización de las nanopartículas, y por tanto sus propiedades, es el autoensamblaje. El autoensamblaje se ha convertido en una metodología puntera en la fabricación de materiales funcionales con propiedades ópticas, electrónicas, químicas y biológicas únicas (19).

En las estructuras formadas por nanopartículas autoensambladas, cada partícula individual es el bloque de construcción fundamental que sirve para confeccionar la estructura ordenada (20). La figura 2.4 muestra una estructura de autoensamblaje en forma de esfera formada en su superficie por rodillos y otra esfera conteniendo poros nanométricos y protuberancias en la superficie (20).

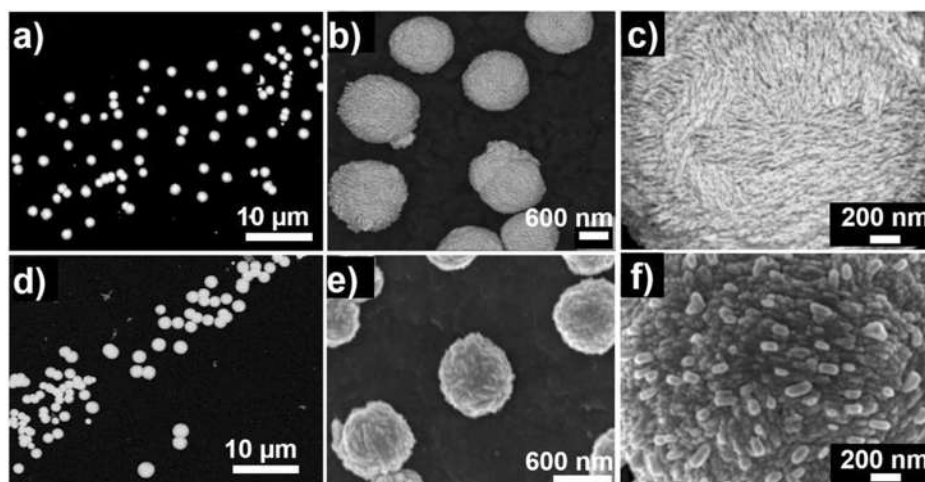


Fig. 2.4 Imágenes SEM de esferas de Ag a diferentes aumentos.

La comprensión de las propiedades dependientes del tamaño y forma de las nanopartículas individuales, y de las propiedades colectivas de los ensamblados es de gran interés y necesaria para sus potenciales aplicaciones (21).

2.2 Métodos de síntesis

En el contexto del gran desarrollo que ha experimentado la nanociencia y la nanotecnología en los últimos años, se han desarrollado diferentes métodos físicos y químicos para la obtención de nanopartículas de plata. La mayoría de los métodos de síntesis química de nanopartículas de plata se basan en reacciones de reducción de sales metálicas de plata (22).

En el caso de las nanopartículas de plata los primeros métodos descritos son el método Lee-Meisel (23) y el método Creighton (24). El primero de ellos consiste en una variación del método Turkevich (25) para la obtención de nanopartículas de oro, en el que se emplea nitrato de plata (AgNO_3) en lugar de ácido tetracloroaurico (HAuCl_4) como precursor metálico y citrato de sodio como agente reductor. En el método Lee-Meisel se obtienen NPsAg con una distribución amplia de tamaño de partícula (polidispersas). El método Creighton consiste en la reducción de AgNO_3 con el agente reductor borohidruro de sodio (NaBH_4). Este método es el más popular en la actualidad y da lugar a la obtención de NPsAg de aproximadamente 10 nm y con una distribución estrecha de tamaños (monodispersas).

Desde un punto de vista químico, la síntesis de nanopartículas en disolución (disolución coloidal) requiere del empleo de métodos que permitan obtener un control preciso sobre el tamaño y la forma de las nanopartículas para así obtener un conjunto de partículas monodispersas que presenten una propiedad determinada. En general, la síntesis de nanopartículas metálicas en disolución se lleva a cabo mediante el empleo de los siguientes componentes: de un precursor metálico, agente reductor y agente estabilizante (26).

Los métodos de síntesis de nanopartículas suelen agruparse en dos categorías, las aproximaciones (de arriba hacia abajo) y las (de abajo hacia arriba). La primera consiste en la división de sólidos másicos en porciones más pequeñas. Este enfoque puede involucrar la molienda o el desgaste, métodos químicos, y la volatilización de un sólido seguido por la condensación de los componentes volatilizados. La segunda aproximación,

(de abajo hacia arriba), consiste en la fabricación de nanopartículas a través de la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en solución. Este último enfoque es mucho más popular en la síntesis de nanopartículas. Las nanopartículas pueden ser soportadas o no. El soporte da estabilidad a las nanopartículas, además de que les puede conferir propiedades específicas (27).

Existen varios métodos que utilizan la aproximación (de arriba hacia abajo), los más representativos son (28): a) La evaporación térmica, que consiste en el calentamiento hasta la evaporación del material que se pretende depositar. Se lleva a cabo en una cámara de vacío en la que se condensa el vapor sobre una lámina fría requiriendo en todo momento un control preciso de las condiciones de crecimiento para no producir una modificación de la morfología de la capa depositada. b) El depósito químico en fase vapor (CVD, por sus siglas en inglés) que consiste en la descomposición de uno o varios compuestos volátiles, en el interior de una cámara de vacío (reactor), en o cerca de la superficie de un sólido para dar lugar a la formación de un material en forma de capa delgada o de nanopartículas. c) La preparación de clusters gaseosos, que utiliza un láser pulsado de alta potencia para producir vapores atómicos metálicos que son acarreados en un gas inerte y posteriormente son depositados en un óxido monocristalino u otro sustrato, bajo condiciones de ultra-alto vacío. d) La implantación de iones, que consiste en que los iones de un material pueden ser implantados en un sólido, cambiando por tanto las propiedades físicas y químicas de este último, ya que el ion implantado puede ser de un elemento distinto al que lo compone, también se pueden causar cambios estructurales en el sólido implantado, puesto que la estructura cristalina del objetivo puede ser dañada. El equipamiento necesario para la implantación de iones suele consistir en una fuente de iones que produce los iones del elemento deseado, un acelerador donde dichos iones son electrostáticamente acelerados hasta alcanzar una alta energía, y una cámara donde los iones impactan contra el objetivo. e) La molienda de partículas de tamaño macro o micrométrico, por medio de molinos de alta eficiencia; las partículas resultantes son clasificadas por medios físicos, recuperándose las de tamaño nanométrico. La figura 2.5 muestra nanopartículas de Fe molidas y recolectadas mediante un magneto (29). Se puede observar que las partículas tienen un tamaño inferior a 5nm por lo que se denominan puntos cuánticos.

2.2.1. Síntesis por reducción química

Las nanopartículas se caracterizan por tener un tamaño de partícula muy pequeño, actualmente considerado, en el orden de 1 a 300 nm. Existen diversos tipos de materiales nanoestructurados como nanopartículas, nanocristales, nanotubos, nanoalambres, etc. de composiciones diversas, obteniendo nanomateriales orgánicos e inorgánicos en distintas dimensiones con aplicabilidad multifuncional, que van desde la medicina hasta la electrónica moderna (30).

En la síntesis de NPs metálicas en solución acuosa se usan varios tipos de precursores metálicos, generalmente complejos de iones metálicos, entre los que destacan $\text{H}[\text{AuCl}_4]$, $\text{H}_2[\text{PtCl}_6]$, sales inorgánicas como las de Ni, Co, RhCl_3 , PdCl_2 , entre otras. Agentes reductores como ácido cítrico y sus respectivas sales, tartrato de sodio y potasio, formaldehído, solución acuosa de metanol, clorhidrato de hidroxilamina, peróxido de hidrógeno, glucosa, fósforo, monóxido de carbono, hidrógeno, entre otros, participan en el proceso de óxido-reducción; y agentes polimerizantes que actúan como estabilizantes, entre los que destacan el alcohol polivinílico (PVA), poliacrilato de sodio, polivinilpirrolidona (PVP), etc. (31).

El método de reducción de complejos metálicos, como el $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ en soluciones diluidas es, en general, el método de síntesis de dispersiones metálicas coloidales más empleado. La formación de NPs metálicas de tamaño uniforme es lograda, en muchos casos, por la combinación de una muy baja concentración de un soluto de un complejo o sal metálica como precursor, un agente reductor y una monocapa de algún agente protector como un complejante monomérico o un polímero adherido durante el crecimiento de la nanopartícula (32).

2.2.1. (a) Química convencional

Existen diversos métodos para la síntesis por reducción química, que utilizan la aproximación de “abajo hacia arriba” para la síntesis de nanopartículas. Por lo general este método inicia con la reducción de los iones metálicos a átomos metálicos, seguido por la agregación controlada de estos átomos. El método químico es el más conveniente

para la obtención de nanopartículas uniformes y pequeñas (33). Los métodos más representativos de esta aproximación son:

- A) El método coloidal
- B) Reducción fotoquímica y radioquímica
- C) Irradiación con microondas.
- D) Utilización de dendrímeros
- E) Síntesis solvothermal
- F) Método sol gel

Como el método de síntesis coloidal concierne a este trabajo abordaremos más detalles sobre la nucleación y crecimiento de los sólidos.

Los coloides son partículas individuales dispersas en una fase continua, que son más grandes que las dimensiones atómicas, pero lo suficientemente pequeñas como para exhibir movimiento browniano. Si las partículas son lo suficientemente grandes, entonces su comportamiento dinámico en suspensión, en función del tiempo, se regirá por las fuerzas de la gravedad y se dará el fenómeno de sedimentación, si son lo suficientemente pequeñas para ser coloides, entonces su movimiento irregular en suspensión puede ser atribuido a bombardeos colectivos de una multitud de moléculas térmicamente agitadas en una suspensión líquida. Este rango de tamaño de partículas en una solución coloidal suele oscilar en el rango de nanómetros, por ello el método coloidal es un método eficiente de producción de nanopartículas (35).

Este 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 forma o morfología de las nanopartículas pueden ser controlados variando la concentración de los reactantes, del reductor y del estabilizante, así como la naturaleza del medio dispersante (36).

2.2.1. (b) Química verde

La llamada “química verde”, es una alternativa de la química coloidal la cual es realizada en un solo paso, en este sentido es idéntica al método de síntesis coloidal llamado del

poliol el cual utiliza alcoholes. La química verde procura convertir los salones de clase y laboratorios en espacios desde donde se pueda crear conciencia ambiental motivando a los estudiantes a generar opciones de solución a problemas de contaminación ambiental, originados por procesos químicos (36). Además, cumple con las siguientes características:

- Reemplazar solventes orgánicos con agua.
- Usar reactivos químicos alternativos
- Usar recursos renovables como materias primas.
- Diseño de compuestos menos tóxicos y/o biodegradables.

Las tecnologías de química verde pueden ser clasificadas en una o más de las tres áreas de enfoque siguientes (37):

- La utilización de rutas sintéticas alternativas basadas en química verde.
- La utilización de condiciones de reacción alternativas basadas en química verde.
- El diseño de sustancias químicas que sean, por ejemplo, menos tóxicas que las disponibles actual o inherentemente más seguras con respecto a su potencial de accidentes. La figura 2.6 presentan algunos aspectos generales de este método de síntesis.

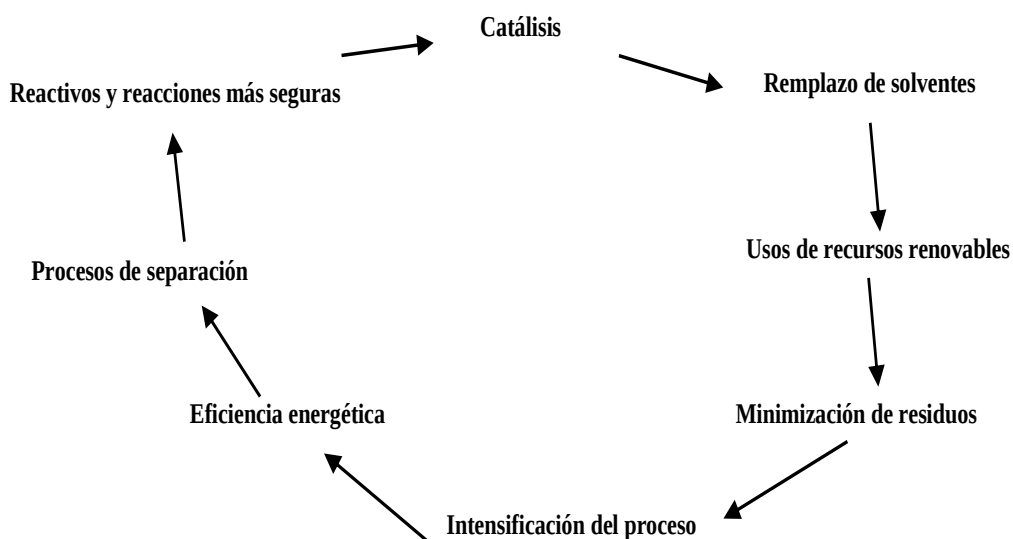


Fig. 2.5. Aspectos generales de la química verde.

2.3. Síntesis verde mediante el uso de plantas

La producción tradicional de nanopartículas utiliza materiales tóxicos como son los solventes y surfactantes que pueden afectar el medio ambiente. La síntesis verde es una técnica alternativa de bioproducción de material nanoparticulado junto con material metálico (oro, plata, hierro y óxidos metálicos), que busca ser amigable con el medioambiente (38).

La síntesis verde se basa en la reducción de metales mediante especies naturales con poder antioxidante. Durante la última década se ha demostrado que muchos sistemas biológicos pueden reemplazar los agentes químicos reductores incluyendo, plantas y algas, diatomeas, bacterias, levaduras, hongos, virus y células humanas. Los microorganismos son capaces de transformar los iones inorgánicos metálicos en nanopartículas de metal por medio de las capacidades reductoras de los metabolitos y de las proteínas de estos mismos (figura 2.7). La síntesis de las nanopartículas puede llevarse a cabo a nivel intra o extracelular, es así como las plantas son capaces de reducir los mismos iones inorgánicos en nanopartículas metálicas tanto en su superficie vegetal, como en ciertos tejidos (39).

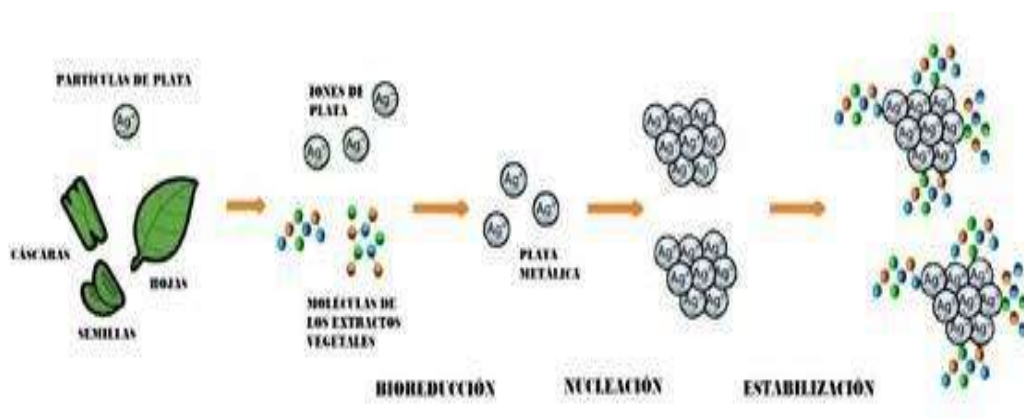


Fig. 2.6 Proceso de síntesis verde de nanopartículas de plata (39).

2.4 Estado actual.

2.4.1 Síntesis verde de nanoestructuras de Ag mediante el uso de plantas

Debido al impacto que tiene la síntesis de estos materiales en el medio ambiente, en la actualidad se están buscando nuevas alternativas para la producción de las nanopartículas

que sean más amigables con la naturaleza y que produzcan una menor cantidad de desechos tóxicos. Elementos como pétalos de flores y extractos de plantas han sido exitosamente utilizados (40).

Una de estas técnicas de síntesis incluye el uso de ajo (*Allium sativum*) como agente reductor. El grupo de investigación de Maqsood Ahamed y colaboradores, pertenecientes al instituto de nanotecnología Abdullah, desarrolló un método mediante el cual se preparaba un extracto de ajo hervido para adicionarlo posteriormente a una solución acuosa de AgNO_3 que se encontraba a una temperatura de 50-60 °C. Mediante este método se observa la reducción de los iones de plata en solo 30 min mediante el cambio de color de la solución a un dorado/amarillo. La suspensión de AgNPs obtenida fue estable por más de un mes al no mostrar precipitación ni cambio de color (41).

2.4.2 Mecanismo de síntesis de nanopartículas de Ag

Existe un incremento en la variedad de métodos para la producción y aplicación de las Ag-NP. La variedad en los procesos de manufactura también puede resultar en la variación de composición y calidad de las formas de Ag usadas en los productos. Las diferentes rutas de síntesis de NP conducen a tamaños variables, morfología, e incluso estabilidad. En general, estos métodos se pueden clasificar en tres grandes categorías: de síntesis física, química y biológica (o verde) (42).

La síntesis verde de nanoplatea es observada en forma continua, y merece mucha atención debido a una creciente necesidad de métodos de síntesis amigables para el medio ambiente, que utilizan agentes reductores y de terminación ecológica, como son las proteínas, péptidos, carbohidratos, varias especies de bacterias, hongos y levaduras, algas y plantas (43). La principal ventaja de la síntesis verde sobre otros métodos es que evita los solventes orgánicos y reactivos tóxicos. Además, las Ag-NP biosintetizadas son más estables que aquéllas producidas químicamente, y pueden permanecer estables durante un largo período de tiempo (44).

2.4.3 Nanomateriales autoensamblados mediante el uso de plantas

Varias plantas se han utilizado activamente en diferentes formas debido a sus propiedades intrínsecas de su contenido como antimicrobiano, anticancerígeno y agentes antioxidantes. Todavía hay una gran demanda de productos relacionados con plantas y estudios para explorar sus nuevas funciones o para mejorar las propiedades de las plantas (45).

Los nanomateriales autoensamblados se han dotado de biofunciones designables basadas en interacciones no covalentes que forman nanoestructuras bien ordenadas. Con varios componentes básicos, las nanoestructuras con arquitecturas multidimensionales proporcionan abundantes funciones para aplicaciones biomédicas, especialmente como agentes antimicrobianos o de detección (46).

2.5 Aplicaciones de las nanoestructuras

Los materiales nanoestructurados se aplican en diversos campos, como partículas funcionalizadas en medicina, o electrodos porosos en fotovoltáica. Junto a la síntesis de nanopartículas y nanoestructuras unidimensionales de diferentes materiales, se trabaja mucho en la generación de materiales tridimensionales más complejos, pero altamente ordenados. superestructuras. Las estrategias de síntesis desarrolladas generalmente se pueden dividir en métodos basados en plantillas y no basados en plantillas. En relación con esto, Colfen et al. introdujeron el término mesocristal (Fig. 2.8), que describe el autoensamblaje de bloques de construcción no esféricos para superestructuras ordenadas en la escala de varios cientos de nanómetros a micrómetros. Hasta la fecha, la formación autoorganizada de estos mesocristales no se entiende completamente. Sin embargo, en la literatura se propusieron varios modelos, basados en diferentes fuerzas motrices como campos externos e internos, matrices orgánicas o fuerzas entre partículas (47).

Dentro de la nanomedicina se encuentra una gran cantidad de compuestos diferentes, incluyendo las nanopartículas transportadoras de fármacos, donde se diferencian las nanopartículas poliméricas, los liposomas o las micelas poliméricas.

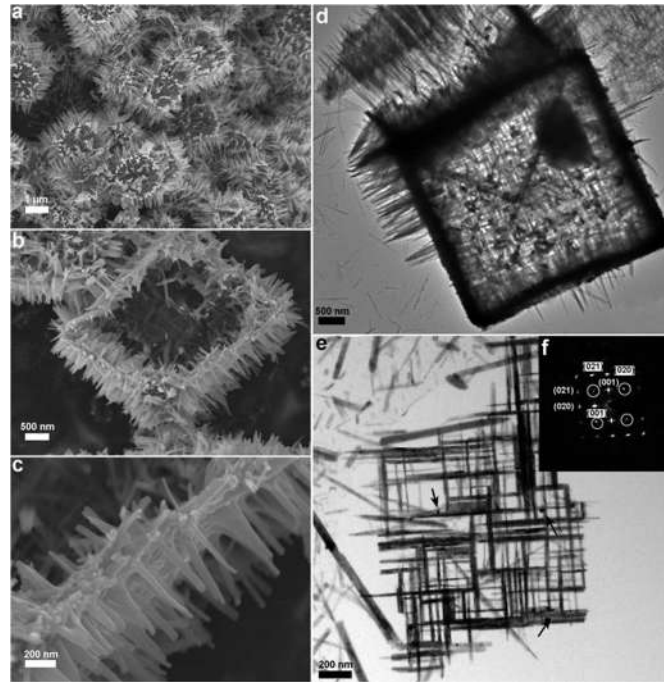


Fig. 2.7. Investigación con microscopía electrónica de los mesocristales de $\text{Nb}_3\text{O}_7(\text{OH})$. (a) Una imagen SEM general de la muestra. (b) Imagen SEM de un cubo con la parte superior rota, se puede ver una mayor ampliación de la pared del cubo en (c). (d) Imagen TEM superpuesta de un cubo sin cabeza sobre una rejilla de carbono. (e) Imagen TEM de un fragmento de una pared de cubo y el patrón de difracción de electrones correspondiente (f), que se indexa como patrón combinado de dos nanocables (47).

Debido a sus propiedades ópticas, capacidad de emisión sintonizable y resistencia a procesos de aniquilación de la fluorescencia (foto blanqueo), las nanopartículas semiconductoras se utilizan en la actualidad para el estudio de procesos intracelulares a nivel de emisor individual, en adquisición de imágenes en la superficie o interior de las células, para la diagnosis médica y especialmente para el seguimiento de la trayectoria de moléculas o fármacos (48).

Las nanopartículas metálicas y magnéticas en el ámbito científico de la biotecnología se utilizan para el desarrollo de terapias anticancerígenas. El interés se centra en la posibilidad de poder transportar y unir selectivamente las nanopartículas a las células enfermas para su posterior exterminación por calentamiento, lo que se conoce como hipertermia. En el caso de las nanopartículas metálicas (fundamentalmente se han utilizado nanopartículas de Au), la absorción de luz (VIS o IR cercano) provoca la excitación de sus electrones libres. Esta excitación a una frecuencia máxima (llamada

frecuencia de plasmón) implica una oscilación colectiva cuya relajación produce el aumento local de temperatura. La tremenda sensibilidad de las células al aumento de la temperatura hace que pueda controlarse su muerte celular. La absorción de luz de los tejidos de las frecuencias utilizadas para excitar las nanopartículas metálicas hace que su aplicación se centre en tejidos superficiales. Para terapias centradas en tejidos más profundos se utilizan nanopartículas magnéticas, que pueden ser excitadas por campos de menor frecuencia (radiofrecuencia) para los tejidos que son transparentes (48).

2.5 Características de *Sedum Praealtum*

La siempreviva (*Sedum praealtum*) pertenece a la familia *Crassulaceae*, desde hace mucho tiempo ha sido utilizada en la etnobotánica mexicana como un agente antiinflamatorio y analgésico, en el tratamiento de dolor de dientes, amigdalitis, para enfermedades de los ojos, erupciones cutáneas y de regeneración de tejidos, recientemente se le descubrieron compuestos con actividad antioxidante que presentan efectos hepatoprotector y anticancerígeno (49).

La siempreviva (*Sedum praealtum*) (ver Fig. 2.9) es un arbusto con frecuencia colgante de 60 cm a 5 m de longitud. Sus hojas sésiles, aplanadas y espatuladas tienen una base angosta y se alternan en espiral, presentan un color verde lustroso con borde rojizo. La época de floración ocurre entre el período de invierno a primavera brotando flores muy pequeñas pentámeras de color amarillo. Esta planta silvestre crece en suelo pedregoso de lugares de clima templado-húmedo principalmente entre los 2400 y los 2700 msnm como Hidalgo, Puebla, Tlaxcala y hasta Guatemala; sin embargo, se adapta y crece en cultivo en climas y suelos diferentes. La siempreviva se ha utilizada con fines de ornato y en la medicina tradicional por sus propiedades antiinflamatorias y analgésicas, para enfermedades de los ojos, erupciones cutáneas y de regeneración de tejidos, así como anticonceptivo (50).

Liang and Co. describen una nueva ruta, en la que se usa polietilenglicol (PEG) como disolvente y reactivo reductor y el polímero polivinilpirrolidona (PVP) como agente de protección, para la síntesis de nanopartículas de plata monodispersas. Las nanoesferas uniformes con un diámetro promedio de 54 nm se pueden sintetizar de forma rutinaria con un alto rendimiento a través de este enfoque utilizando una relación molar de

PVP/AgNO₃ de 8 a 260 °C. Tanto la temperatura de reacción como la relación molar PVP/AgNO₃ son cruciales para las distribuciones de diámetros y tamaños de las nanoesferas(51).



Fig. 2.8. Imagen de la planta *Sedum Prealtum* (siempreviva).

2.6 Nanopartículas de plata

Samson O. Aisida y colaboradores comprueban la síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNP) a través de las hojas frescas de *Vernonia amygdalina* (FLVA) que contienen según los análisis fitoquímicos; flavonoides, taninos y fenoles que actúan como agentes reductores y estabilizantes según se demuestra en ese trabajo. Se estudiaron las actividades antibacterianas de las AgNP sintetizadas. Las AgNP se caracterizaron mediante microscopia electrónica de barrido (SEM), microscopia electrónica de transmisión (TEM), espectroscopia dispersiva de rayos X (XRD), espectroscopia UV-visible e infrarrojos por transformada de Fourier análisis de espectroscopía (FT-IR).

El análisis de los espectros obtenidos por espectroscopia de UV-Visible se muestran en la figura 2.10 en las muestras i, ii y iii. El cambio de color es el resultado de la excitación de los metabolitos en los compuestos del extracto de FLVA. Los picos de resonancia del plasmón de superficie (SPR) ubicados en: 430, 440 y 465 nm corresponden a cada una de las muestras i, ii y iii. Esta es una evidencia de la formación exitosa de las AgNPs a partir de que se ha reportado que la absorbancia de AgNPs se encuentra entre 390 y 470 nm. Por tal, este resultado está de acuerdo con los trabajos anteriores. Se observó que la intensidad del SPR aumenta con la concentración del nitrato de plata (48).

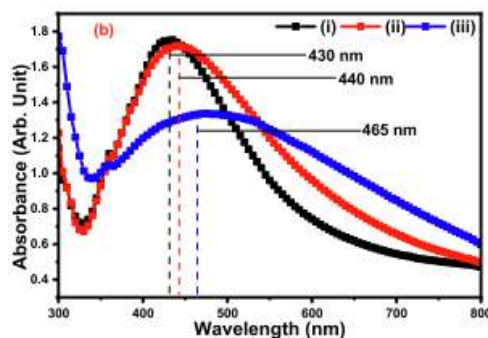


Fig. 2.9. Análisis de espectros de UV- visibles.

Manasa Kumar Panda y sus colaboradores mencionan que la nanotecnología utilizando varias partes de las plantas, proporciona una técnica ecológica respetuosa con el medio ambiente para sintetizar nanopartículas de plata. Aquí utilizaron extracto de la hoja acuosa de *Symplocos racemosa* mediante la adición de AgNO_3 1 mM como agente reductor. La caracterización de las AgNPs se realizó mediante espectroscopia UV-visible, XRD (Difracción de rayos X), FTIR (espectroscopía infrarroja de transformada Fourier), microscopía electrónica de transmisión (TEM), FE-SEM (microscopía electrónica de barrido de emisión de campo) y EDX (espectroscopia de rayos X de dispersión de energía). Se efectuó difracción de rayos X, para autenticar el ángulo de fase y naturaleza cristalina de las AgNP sintetizadas por el extracto acuoso de *Symplocos racemosa*. La Fig. 2.11 muestra los patrones XRD de las AgNPs sintetizadas utilizando agua como disolvente. Los resultados mostraron reflexiones de Bragg, a las 2 h de reacción ubicados en 38,12, 44,31 y 64,45° que corresponden a los planos (111), (200) y (220) que se indexaron con la estructura FCC de la plata. Así, los patrones XRD mostraron claramente que las AgNPs sintetizadas fueron de naturaleza cristalina (49).

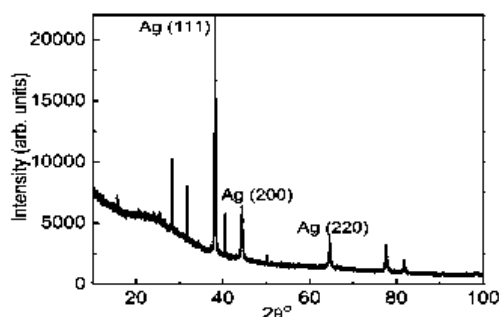


Fig. 2.10. Los patrones de XRD de las nanopartículas de plata biosintetizadas.

Vo Thi Lan Huong y sus colaboradores realizaron un estudio presentando un método ecológico para sintetizar AgNPs a partir de una solución acuosa de nitrato de plata y

utilizando el extracto de pericarpio de fruta de *Sapindus mukorossi* como agente reductor y estabilizante. Las AgNPs preparadas se caracterizaron mediante espectroscopía UV-Vis, XRD, FTIR, microscopia electrónica de transmisión de alta resolución (HR-TEM), y análisis termo gravimétrico (TGA).

Dilucidaron los grupos funcionales de los compuestos bioactivos en la PYME responsable de la reducción de iones Ag^+ en Ag, también como los agentes de estabilización de las AgNPs. Como se observa en la Fig.2.12, el espectro FTIR de la PYME muestra una fuerte banda a $3416,1\text{cm}^{-1}$ asignada a la vibración de estiramiento O – H. Los picos a 2941 y $1384,18\text{cm}^{-1}$ se asignan al estiramiento C – H y vibraciones de meneo, respectivamente. El estiramiento C = O y C-O se observan a $1721,81$ y $1253,74\text{cm}^{-1}$ correspondientes a las vibraciones de flexión, respectivamente. El pico en $1635,36\text{cm}^{-1}$ se puede atribuir al alqueno C = C del anillo aromático o el C = O del estiramiento por vibración del grupo amida. El pico en $1044,73\text{cm}^{-1}$ se debe a la flexión C-O-C. Estos picos característicos en el espectro de las PYME confirman la presencia de saponinas, flavonoides y oligosacáridos en el extracto de fruta que puede actuar tanto como reductores y estabilizadores (50).

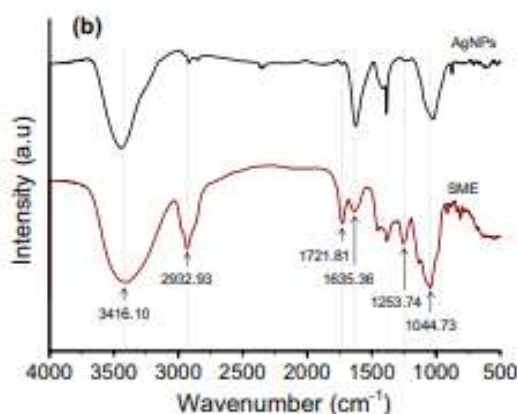


Fig.2.11. Espectros FTIR de AgNP.

M.G Tsegay y sus colaboradores dicen Una novedosa nanopartícula de Ag biosintetizadas (AgNP) que utiliza extractos de la planta de khat (*Catha edulis*) que es eficiente para la detección de iones de mercurio. Los NP de Ag se caracterizaron por HRTEM, EDS, FTIR / ATR, XRD, absorbancia UV-Vis para investigar el tamaño, la morfología, los enlaces químicos y las propiedades ópticas, respectivamente.

La Fig.2.13 muestra los espectros de EDS tanto de extractos de plantas Khat como de NPAg. Los elementos químicos identificados en los extractos de plantas Khat son Si, Cl, K, Ca y Fe. El espectro EDS de AgNPs revela la presencia de una pequeña fracción de elementos químicos K, Ca, Fe y Cl obtenidos del extracto de la planta. Además, la presencia de elementos Ag dominantes en el espectro confirma que la muestra sintetizada son NPAg. La presencia de Cu se origina en rejillas de cobre en las que las muestras fueron montadas. La ausencia de N en los espectros indica que es poco probable que la muestra sintetizada sea AgNO₃. La alta intensidad de Cl da crédito a la formación de AgCl (51).

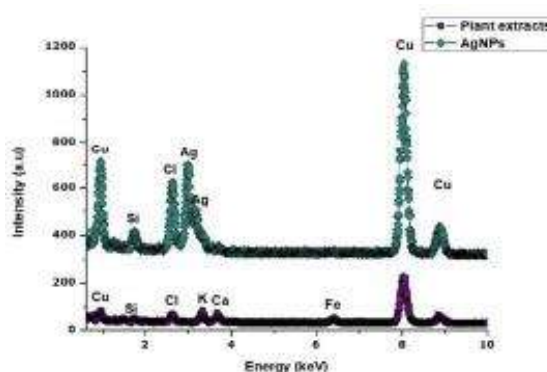


Fig. 2.12 Espectros EDS tanto para los extractos de plantas Khat como para los NP de Ag.

Muhammad Shoaib y sus colaboradores mencionan que, en este trabajo, se sintetizaron con éxito nanopartículas de plata-entecavir (Ag-ETR) mediante el procedimiento de síntesis verde y se recubrieron con entecavir que funcionó como agente reductor, ya que tiene grupos funcionales amino e hidroxilo. La síntesis de NP se confirmó mediante espectrofotometría UVS y cromatografía de capa fina, mientras que la funcionalización de la superficie se estudió utilizando espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier y espectroscopía de rayos X de dispersión de energía de microscopía electrónica de barrido (SEM-EDS). Los estudios morfológicos de las NP sintetizadas se realizaron utilizando microscopía electrónica de barrido, microscopía de fuerza atómica y zetasizer. La estructura de los nano-clústeres Ag-ETR de autoensamblaje se propuso mediante espectroscopía UV-vis, FT-IR, H-NMR, difracción de rayos X y SEM-EDS.

La morfología de las NP de Ag-ETR sintetizadas se determinó utilizando SEM-EDS. Las NP cargadas con fármaco de varios tamaños que van desde los diez a cientos de nanómetros se mencionan en la Imagen SEM como muestra la Fig. 2.14. El SEM-EDX

mostró un pico agudo de metalato de plata de 3 kV, lo que indica la existencia de plata en el complejo. También se observaron picos de carbono y oxígeno en el espectro SEM-EDX en la Fig. 2.14 (52).

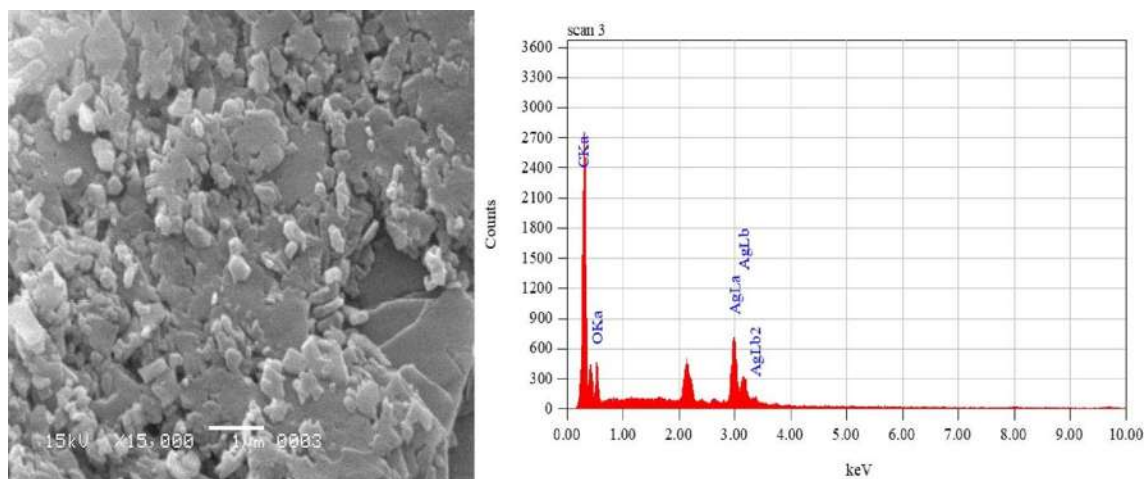


Fig. 2.13 Imagen de SEM NP Ag-ETR (A), EDS Análisis elemental de NP Ag-ETR (B).

CAPÍTULO III: DESARROLLO EXPERIMENTAL

El presente capítulo presenta la metodología experimental empleada para la síntesis de las nanoestructuras de plata y la caracterización química, morfológica y estructural realizada en los laboratorios instalados en el IIMM-UMSNH.

3.1 Materiales utilizados

Se emplearon las siguientes sustancias en la preparación de las nanoestructuras de Ag:

- ☐ Hojas y Tallo de Sedum Prealtum
- ☐ Nitrato de plata (AgNO_3) 99.5% de pureza
- ☐ Agua desionizada

3.2 Preparación del extracto de la planta.

La planta de Sedum Prealtum se consiguió seca y limpia en el mercado independencia en la ciudad de Morelia, Michoacán. Se separó en hojas, tallos y fruto, utilizando para la reacción solamente las hojas y tallo, se lavaron previamente con agua destilada durante 15 min mediante agitación a 12,000 rpm, posteriormente se realizó una infusión utilizando la concentración de 0.02 g de planta/ml de agua destilada en un volumen de 50 mL y a 50 °C, posteriormente, se agregó 1 gr de planta molida al volumen. Se agitó durante 20 min a 8,000 rpm, se filtró con papel Whatman de 150 mm y el filtrado se almacenó en un recipiente hermético de plástico para finalmente almacenarlo bajo refrigeración a 4 °C.

3.3. Síntesis de nanoestructuras de Ag

Se realizó la reacción de síntesis de nanoestructuras mezclando el extracto con una solución de nitrato de plata en 5mM en proporción 1:1 con una concentración de extracto de 0.02 g/mL, sin agitación magnética y a temperatura ambiente. El pH de la solución fue variado agregando ácido acético para los experimentos ácidos (2,5) y amonía para los experimentos básicos (8, 10). Los experimentos fueron monitoreados durante la reacción hasta que se presenta el cambio de coloración, característico de la reducción de los iones de plata.

3.4. Caracterización de los nanomateriales

3.4.1. Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis)

Posteriormente, las muestras fueron analizadas mediante la técnica de espectrofotometría de Ultravioleta-Visible (UV-Vis) a través del equipo VELAB (VE-5100UV), (véase Fig. 4.1) en un rango de longitud de onda de 190 a 1000 nm. Con este fin, las muestras fueron diluidas con agua destilada en relación 1:6, utilizando celdas de poliacrilato y se leyeron cada 15 min por 2 h. La técnica de análisis de espectroscopía de absorción UV-Vis permitió confirmar la formación de NPs. Esta técnica correlaciona las bandas de absorción debidas a la resonancia del plasmón de superficie con el tamaño, la distribución de tamaño y las formas de las NPs. Los espectros resultantes son representados como la absorción frente a la longitud de onda en la región UV-Vis.

La técnica de espectrofotometría emplea radiación electromagnética de las regiones visible, ultravioleta cercana e infrarroja cercana, abarcando de 100 a 800 nm. La radiación absorbida por las moléculas en esta región del espectro provoca transiciones electrónicas entre los diferentes niveles de energía y pueden ser cuantificadas.



Fig. 3.1. Espectrofotómetro de Luz Visible y UV, VELAB (VE-5100UV)

3.4.2. Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Mediante la microscopía electrónica de barrido (MEB), se realizó la determinación del tamaño y forma de las nanoestructuras. Este microscopio cuenta con la técnica de espectroscopía de dispersión de energía (EDS) que sirvió para realizar un análisis elemental para la confirmación de las nanoestructuras de Ag. Con esta técnica se pueden detectar elementos químicos con número atómico >4 de manera cualitativa y semicuantitativa que se encuentren en la muestra analizada. Días después realizada la reacción de biosíntesis se observaron las muestras en este microscopio, examinando su dispersión, y presencia de elementos orgánicos. La técnica para depositar la muestra en el microscopio electrónico de barrido equipo Jeol JSM-7600F (véase Fig. 4.2) consistió en depositar una gota de la muestra en una placa de carbono que atrapa las partículas dentro del microscopio, generando la conductividad entre las mismas.



Figura 3.2. Microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-7600F

3.4.3. Difracción de rayos X (DRX)

La difracción de rayos X se utilizó para dos aspectos diferentes pero complementarios: por una parte, la geometría de las direcciones de las difracciones brinda información sobre el sistema cristalino. Otro aspecto para considerar de la técnica de difracción de rayos X, es que por medio de ésta se determinó el tamaño promedio de las partículas a través del uso de la ecuación de Debye-Scherrer, condicionada de que la red cristalina esté libre de deformaciones y que los cristales predominen en la muestra.

La difracción de rayos X consiste en radiaciones electromagnéticas o fotones parecidos a los que se encuentran en la zona de frecuencia elevada a los rayos γ y entre la zona de frecuencia más baja como rayos ultravioletas que son dirigidos hacia el espécimen. Los rayos X se producen al bombardear o chocar un haz de electrones acelerados contra electrones atómicos, los cuales generan por interacción con la materia. La radiación emitida por el tubo de rayos X en función de la longitud de onda es un espectro característico del anticátodo (electrodo en donde incide el haz de electrones emitido por el cátodo que produce rayos X).

Básicamente consiste en la interacción de la estructura cristalina de un sólido con la fuente de rayos X. El sólido se encuentra presente en otros materiales, tanto naturales como artificiales y consiste en la repetición periódica de átomos o moléculas que forman al material en las tres direcciones espaciales. Cuando el haz se incide sobre un plano del material éste se difracta en “x” ángulo, las ondas reflejadas sobre otro plano también se difractarán en “x” ángulo, pero si otro plano se encuentra en un orden atómico diferente éste difractará rayos en “y” ángulo y por lo tanto se anulan, así que si el material tiene un orden atómico específico uniforme la difracción es constructiva y el haz es detectable.

Para ello la diferencia de difracción entre dos planos es un múltiplo de la longitud de onda (λ) y matemáticamente se describe como $2d \sin \theta = n\lambda$ o ley de Bragg. El modelo empleado para este análisis es el difractómetro Bruker D8 Advance DAVINCI (obsérvese figura 4.3).

3.4.4. Espectroscopía infrarroja con transformadas de Fourier (FTIR)

Un análisis químico y de determinación estructural de las moléculas, se realizó por espectroscopio por infrarrojo (FTIR). Los grupos funcionales tienen frecuencias características en las cuales absorben esas longitudes de onda que van desde 2.5 a 16 μm . Esta se utilizó con el fin de identificar las sustancias presentes en el extracto natural, en



Fig. 3.3 Difractómetro Bruker D8 Advance DAVINCI

donde se pretende obtener información de los grupos funcionales del extracto, que ambas fueron correlacionadas. De igual forma, se aplicó para conocer la estabilidad del extracto antes y después de la reacción de síntesis de NPs.

La espectroscopía de infrarrojo es un método que estudia la absorción o emisión de energía radiante que se origina por la interacción electromagnética y el material de estudio. Su principio de funcionamiento se basa en que las moléculas tienen la propiedad de rotar y vibrar a diferentes frecuencias, de esta manera una molécula puede absorber la

energía de fotones en el rango energético de espectro infrarrojo, esto si existe, una diferencia en el momento bipolar de la molécula mientras ocurre un movimiento vibracional rotacional y cuando la frecuencia asociada con la radiación resuena con el movimiento vibracional, de esta manera se entiende que existen modos vibracionales que inducen oscilaciones que pueden entrar en resonancia con un haz de infrarrojo. Existen comportamientos característicos para cada enlace con un tipo de molécula específico, en un determinado entorno químico y con una concentración de enlaces específicos, así, el espectro infrarrojo manifiesta bandas asociadas a prácticamente todos los compuestos moleculares.

El equipo empleado para este tipo de caracterización fue un Bruker Tensor 27 (obsérvese figura 4.4). La muestra se preparó de la misma manera que se hizo para difracción de rayos X, pero una vez obtenido el polvo se mezcló con bromuro de potasio, se compactó con la ayuda de un pastillador de acero inoxidable y se procedió con el análisis de la muestra.



Figura 3.4. Equipo de FTIR Bruker Tensor 27.

CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. 1 Microscopia electrónica de barrido en función del pH

4.1.1 morfologías tipo flor obtenidas a pH 2

La figura 4.1a-d presenta las imágenes registradas por medio de MEB, de las estructuras sintetizadas a través del extracto de la planta *Sedum praealtum* (siempre viva) a una concentración de 2.5 g/ml, empleando una concentración de la sal de plata 10mM (AgNO_3) y un pH de 2 regulado mediante ácido acético.

De estas imágenes, en el inciso (a) se presenta una micrografía a una magnificación de 1000X, que presenta los productos obtenidos cuya morfología, a la distancia, se asemeja a una flor, con láminas crecientes orientadas al azar de una longitud que entre las 2 y 3 μm y espesor de aproximadamente 100 nm. Se puede apreciar que hay una vasta cantidad de estructuras dispersas en la muestra y que el tamaño de los especímenes se encuentra alrededor de 3 a 4 μm .

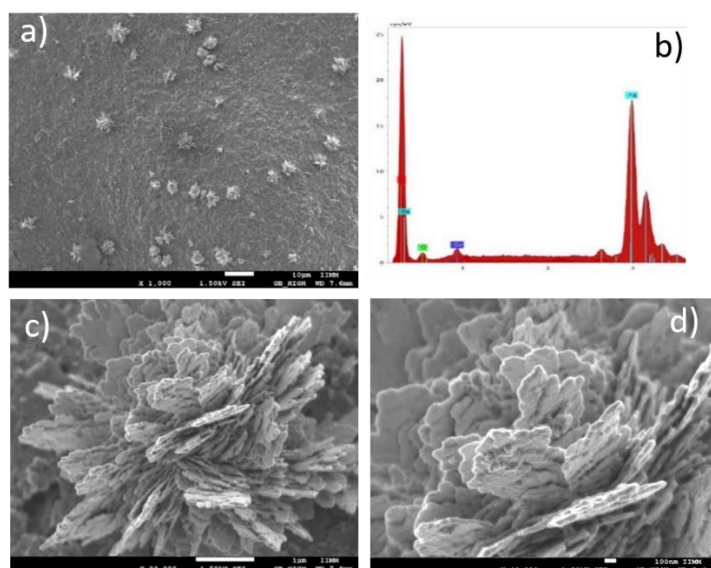


Figura 4.1 Imágenes de MEB y análisis de EDS de los productos obtenidos a pH 2; a) baja magnificación 1000X, b) análisis químico por EDS, c) registro a 20000X y d) alta magnificación 100,000X.

El inciso (b) despliega el análisis químico efectuado por EDS en la región, de donde se aprecian varios picos de Ag, lo cual da entender que hay productos de plata en la muestra, un pico de O derivado de los subproductos de reacción del extracto de la planta *S. praealtum* y el Cu atribuido al porta muestras del MEB.

Este resultado indica que el extracto de *S. praealtum*, contiene las sustancias reductoras necesarias para efectuar la bio-reducción de los iones de plata disueltos como nitrato de plata a átomos de plata que se agregan en forma de flor.

En los incisos (c-d) se registran un par de imágenes obtenidas por la técnica de SEI (Secondary electrons) a una magnificación de 20000 X y 100000 X, respectivamente, donde se muestran con mayor detalle los productos sintetizados. Las estructuras tipo flor están compuestas por hojas que tienen forma de hojuelas que se fueron apilando una sobre otra, en las cuales se observa un relieve o rugosidad y presentan un espesor de aproximadamente mayor a 100 nm. Como se puede ver las hojas crecen en forma aleatoria e integran un cuerpo cuya característica es su gran área superficial. Puede suponerse que el crecimiento en forma de lámina se atribuye a la existencia de biomoléculas las cuales se depositan en la zona plana impidiendo el crecimiento de la estructura por esta región y permitiendo el crecimiento longitudinal de la misma. Estos resultados indican que el material obtenido mediante el extracto de *S. praealtum* fueron nanoestructuras de plata tipo flor. Este tipo de morfología es similar a la obtenida por otros investigadores, sintetizadas ya sea por, métodos verdes o convencionales (1-2).

4.1.2 Morfologías obtenidas a pH 3

La figura 4.2a-d despliega las imágenes registradas de los productos preparados por medio del extracto de la planta *Sedum praealtum*, a una concentración de 2.5 g/ml, una concentración de sal de plata 10 mM (AgNO_3) y un pH 3. En la imagen del inciso (a) obtenida a una magnificación de 1000X y por la técnica de SEI, se presentan productos de forma esférica en gran cantidad dispersos en la muestra y con un rango de tamaño entre 2 y 3 μm . La morfología de estas partículas fue diferente a la obtenida al pH anterior.

En el inciso (b) se presenta el análisis químico (EDS) de las estructuras, donde se aprecian los picos del elemento Ag, lo cual confirma su composición química de plata. Similarmente se presenta un pico de O derivado del extracto y el Cu que es atribuido al porta muestras.

La imagen en el inciso (c) se registró por la técnica de LABE (Low-angle backscattered electrons) a la magnificación de 40000X. Esta micrografía muestra en detalle las características de las partículas esféricas y su porosidad. Se deduce que estas partículas se forman de muchos poros entrelazados las cuales presentan un rango de tamaño entre 50 a 90 nm, por lo tanto, se consideran nanoestructuras de plata. Se encuentra que los poros en la superficie al presentar un tamaño superior a los 50nm se considera una nanoestructura macroporosa según la IUPAC. De la imagen registrada a una magnificación de 100000X y por la técnica de SEI podemos ver que las nanoestructuras tienen muy alta porosidad en toda su superficie constituyéndose como una estructura con gran área superficial la cual puede estar disponible para la reducción de los colorantes orgánicos.

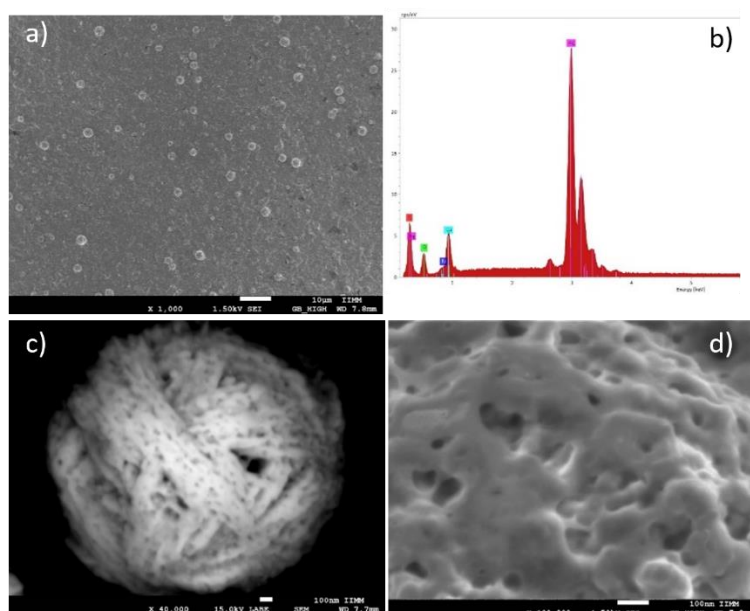


Figura 4.2 Imágenes de MEB y análisis químico (EDS) de los productos obtenidos a pH 3; a) baja magnificación 1000X, b) análisis químico, c) un solo espécimen a 40000X y d) alta magnificación a 100,000X.

Con estos resultados, podemos aseverar que con el cambio en el pH de esta reacción se modificó la morfología de las partículas de plata, y se obtuvo una superficie muy porosa, la cual hace que sus propiedades sean específicas para ser utilizada en varios procesos de adsorción de especies. Después de una búsqueda en la red no encontramos estructuras similares que sean de plata. No obstante, se encontraron estructuras similares en carbón y es común en silicio poroso (53-54). Este resultado indica nuevamente que la planta *S.*

praealtum, efectúa la bio-reducción de los iones de plata a átomos de plata causando la formación de morfologías esféricas y porosas.

4. 1.3 morfologías que aparecen a pH 4

La figura 4.3a-d presenta las micrografías registradas por MEB, de las estructuras sintetizadas usando el extracto de la planta y sal precursora bajo las mismas condiciones de los experimentos anteriores y únicamente cambiando el pH a 4.

En el inciso (a) se observan los productos obtenidos registrados por la técnica de LBE a una magnificación de 1000X. Se presentan una buena cantidad de productos dispersos de morfología esférica y con un rango de tamaño entre 1 y 2 μm . La morfología de estas partículas difiere específicamente en el grado de porosidad con respecto a la del pH anterior y que las partículas son más pequeñas y compactas.

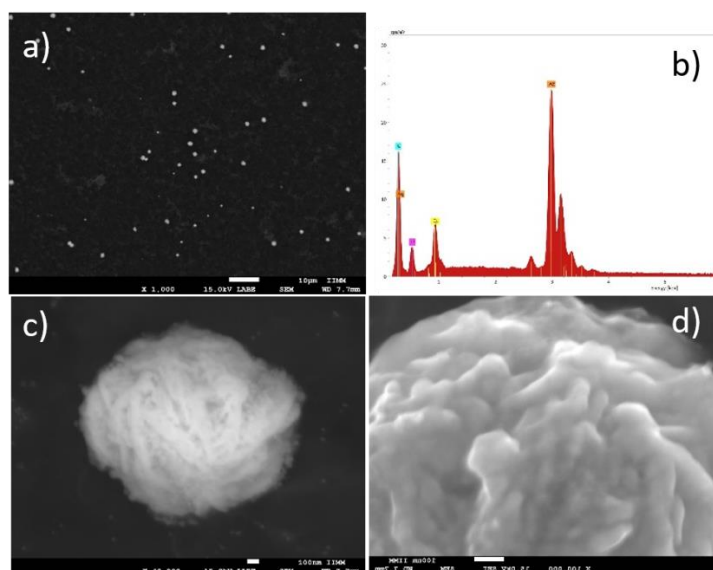


Figura 4.3 Micrografías registradas por MEB y análisis químico (EDS) de los productos a pH 4; a) baja magnificación 1000 X, b) análisis químico, c) 40000 X y d) 100,000 X.

El inciso (b) presenta el correspondiente análisis químico (EDS), donde nuevamente se aprecian los picos del elemento Ag, lo cual confirma su composición química. Similarmente se presenta un pico de O derivado del extracto y el Cu atribuido al porta muestras. La imagen en el inciso (c) se registró a la magnificación de 40000X y por la técnica de LBE, ésta presenta en detalle las características de las partículas esféricas y

su aparente porosidad, la cual es menor que las partículas de pH 3. Se deduce que estos especímenes se forman de muchas partículas irregulares entrelazadas las cuales presentan un rango de tamaño entre 50 a 90 nm, por lo tanto, se consideran nanoestructuras de plata. En el inciso (d) se registra una imagen a una magnificación de 100000X y por la técnica de SEI donde podemos claramente ver el tamaño nanométrico de las entidades que conforman a toda la partícula y, además, que las nanoestructuras presentan una superficie topográfica que induce una cierta porosidad.

4.1.4 Morfologías que aparecen a pH 5

La figura 4.4a-d presenta las imágenes registradas de las estructuras sintetizadas a un pH 5 el cual es la muestra control de todas las muestras.

En el inciso (a) se puede observar una imagen obtenida a una magnificación de 1000X y por técnica de LBE, se presentan productos de forma esférica en gran cantidad dispersos en la muestra y con un rango de tamaño entre 1 y 1.5 μm . En el inciso (b) se ilustra el análisis químico (EDS) de las estructuras, donde se aprecian varios picos del elemento Ag que confirma la composición, un pico de O derivado del extracto y el Cu atribuido al porta muestras.

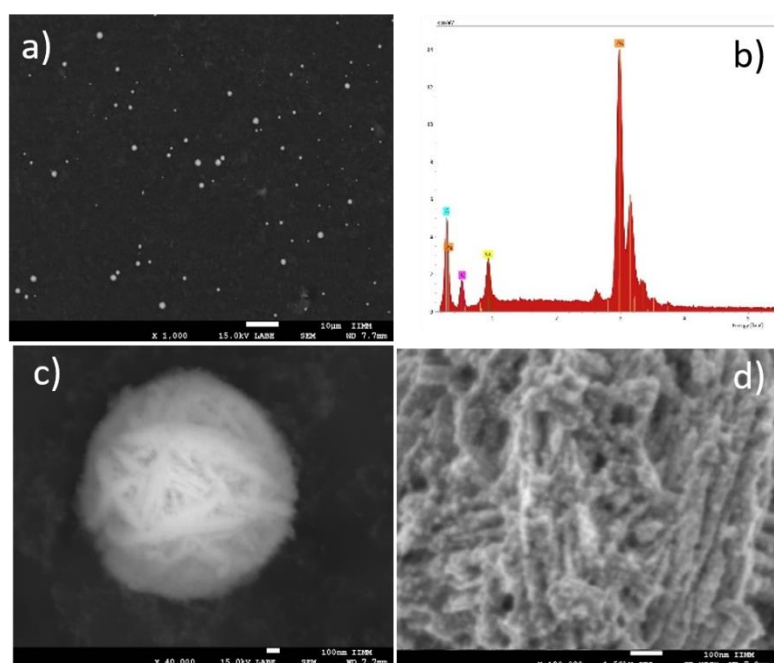


Figura 4.4 Micrografías registradas por MEB y análisis químico (EDS) de los productos a pH 4; a) baja magnificación 1000 X, b) Análisis químico, c) 40000 X y d) 100,000 X.

La imagen LABE en el inciso (c) se registró a la magnificación de 40000X en donde se muestra en detalle las características de las partículas esférica. Se deduce que estas partículas se forman de muchas barritas entrelazadas cuyo espesor es inferior a 50nm, por lo tanto, se consideran nanoestructuras de plata. De la imagen registrada a una magnificación de 100000X y por la técnica de SEI podemos ver que las nanoestructuras tienen alta porosidad en toda su superficie, la cual se encuentra muy texturizada, constituyéndose, así como una estructura con gran área superficial la cual puede estar disponible para la reducción de los colorantes orgánicos.

4.1.5 Morfologías obtenidas a pH 7

La figura 4.5a-d presenta las estructuras sintetizadas a pH 7. Nuevamente, en el primer inciso (a), se aprecia en la micrografía de LABE (1000 X), productos de forma esférica en relativa poca cantidad y dispersos en la muestra con tamaños aproximados entre 1 y 2 μm . La morfología de estas partículas es parecida a las del pH anterior. El correspondiente análisis químico de EDS (inciso b) de las estructuras, presenta los picos del elemento Ag, lo cual confirma su composición y los elementos O y Cu pertenecen respectivamente, a los residuos orgánicos del extracto y el porta muestras de composición basada en Cu. Los incisos (c-d) presentan imágenes de las técnicas de LABE y SEI a las magnificaciones de 20000 X y 100000 X, respectivamente, donde se aprecian con mayor detalle los productos. Las estructuras presentan una forma esférica y están compuestas por hilos que se van entrelazando entre sí, en las cuales se observa una pequeña porosidad un rango de tamaño entre 50 a 90 nm. Como se puede ver las estructuras en forma de hilos crecen aleatoriamente integrando el cuerpo y la superficie se ve bastante rugosa lo cual podría ser favorable en área superficial. Este tipo de estructura específica de plata con partes como rodillos que la forman, se ha reportado poco o nada en la literatura.

4.1.6 Morfologías obtenidas a pH 8

La figura 4.6a-d presenta las imágenes de las estructuras sintetizadas a un pH de 8. En donde se observa en el inciso (a) una imagen de LABE a 1000 X que presenta partículas en forma esférica en una alta cantidad y dispersas en la muestra, todas las partículas presentan un tamaño inferior a la micra, el cual es el menor tamaño obtenido hasta ahora.

En el inciso (b) se aprecia el análisis químico, donde aparecen picos de Ag, confirmando la composición del material el pico de O derivado del extracto y el de Cu atribuido al porta muestras.

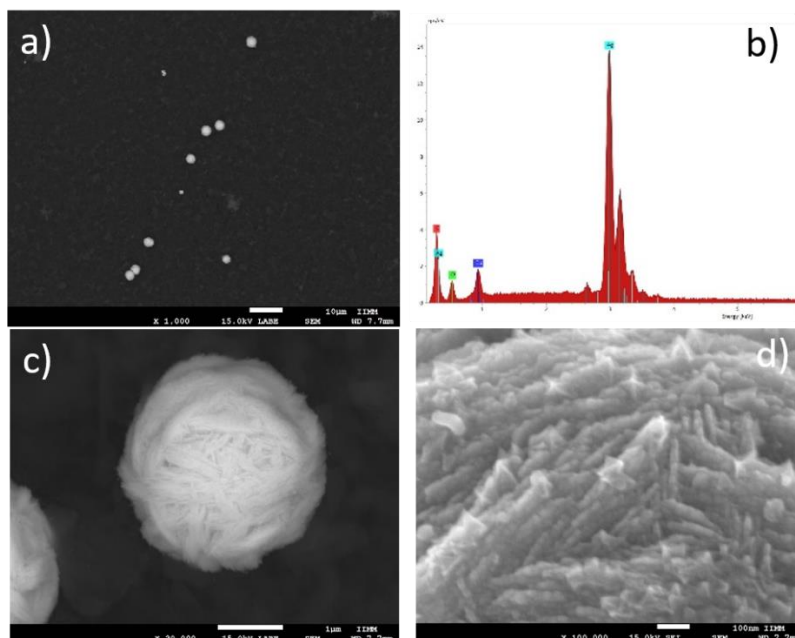


Figura 4.5 Micrografías registradas por MEB y análisis químico (EDS) de los productos a pH 7; a) baja magnificación 1000 X, b) Análisis químico, c) 40000 X y d) 100,000 X.

Las micrografías de LBE registradas a 40000 X y 100000 X, muestran más detalles de las partículas esféricas de la muestra, en donde su porosidad no es muy alta y se encuentran formadas aparentemente, de muchas otras pequeñas partículas esféricas casi individuales inferiores a los 100 nm entrelazadas, de un tamaño aproximado de 60 nm, por lo tanto, se consideran nanoestructuras de plata. Las nanoestructuras tienen una porosidad no muy alta en su superficie, pero esta misma es muy rugosa. Este tipo de partícula se ha reportado mucho en otras composiciones químicas, pero en plata muy poco.

Las imágenes registradas de las estructuras sintetizadas a pH 10 se muestran en la figura 4.7a-d. En el inciso (a) la imagen de LBE a una magnificación de 1000X presenta productos de forma esférica dispersos y con un tamaño alrededor de 1 μ m. En el inciso (b) se confirma su composición basada en plata. Los incisos c y d, registran un par de imágenes de LBE y SEI a las magnificaciones de 40000X y 100000X, respectivamente.

Donde se muestran con mayor detalle los productos. Las estructuras muestran una forma esférica y están compuestas por hileras de partículas que se entrelazan entre sí, en las cuales se observa una pequeña porosidad y un tamaño aproximado de 50 nm, además los polos de la esfera se alargan. Como se puede ver, las partículas crecen en forma aleatoria e integran el cuerpo mostrando una alta rugosidad en la superficie, que puede generar sitios activos de carga cuya característica puede emplearse para la catálisis.

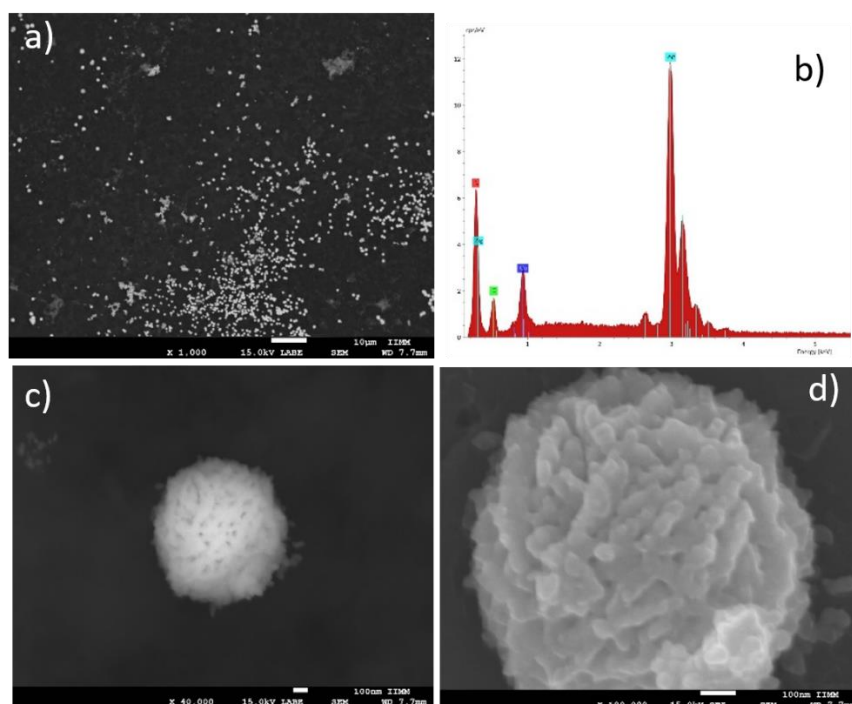


Figura 4.6 Micrografías registradas por MEB y análisis químico (EDS) de los productos a pH 8; a) baja magnificación 1000 X, b) Análisis químico, c) 40000 X y d) 100,000 X.

La figura 4.8 muestra imágenes a alta amplificación de la mezcla de señales de electrones y rayos X denominadas mapeos químicos, en donde se resume la morfología y tamaños de las nanoestructuras obtenidas en función del pH. De estas imágenes y todas aquellas presentadas junto a los análisis químicos anteriores, se puede concluir que el tamaño y la morfología de las partículas de Ag varían en función del pH.

Aunque en general las partículas muestran una constitución esférica, los componentes en su superficie varían en forma siendo cada vez más esféricos e individuales al incrementar el pH, lo cual genera una rugosidad progresiva en la partícula. Otro rasgo es que la

porosidad que se tiene claramente a valores de pH menores o más ácidos va desapareciendo y el tamaño global de la partícula va disminuyendo.

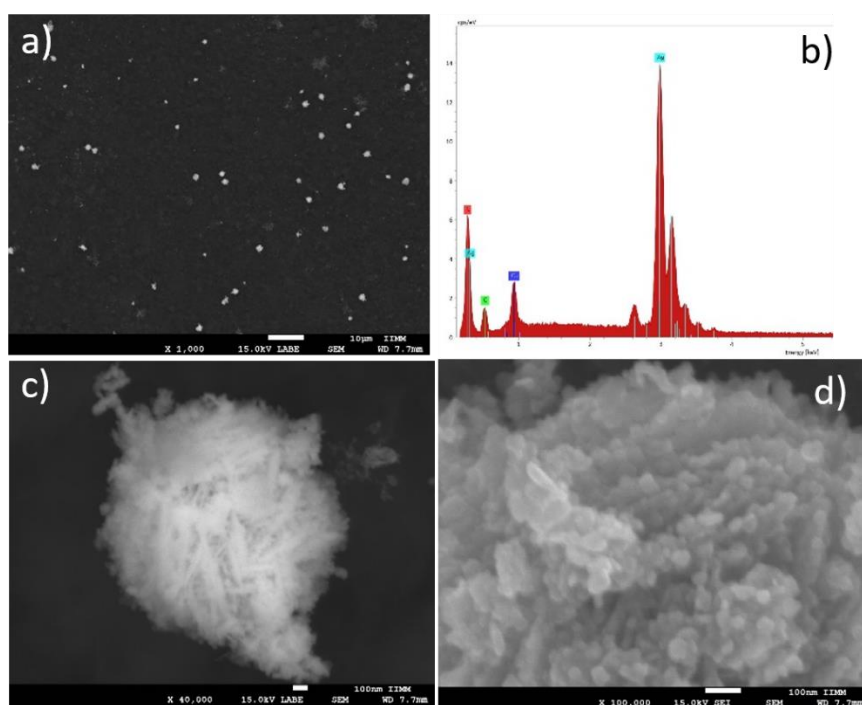


Figura 4.7 Micrografías registradas por MEB y análisis químico (EDS) de los productos a pH 10; a) baja magnificación 1000 X, b) Análisis químico, c) 40000 X y d) 100,000 X.

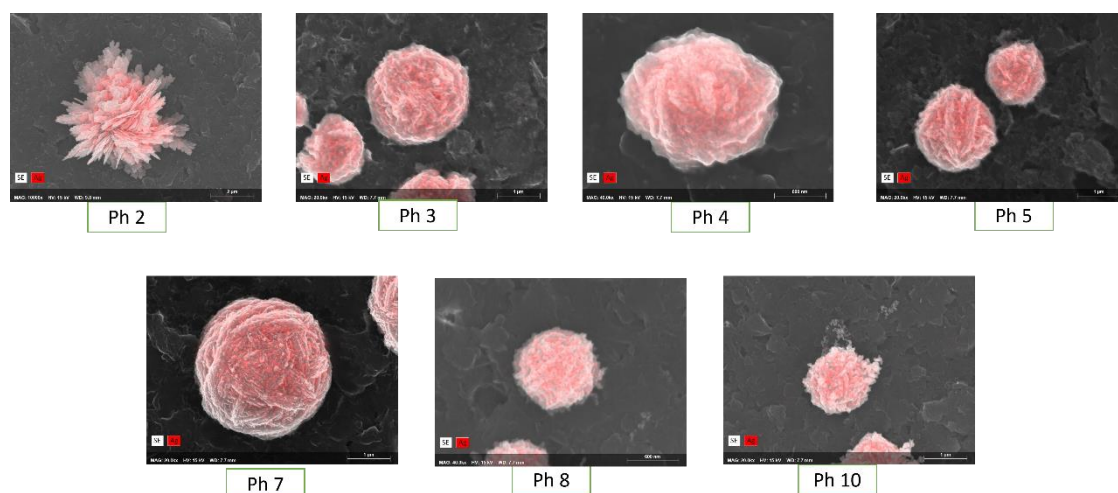


Figura 4.8 Micrografías registradas por MEB y análisis químico (EDS) de los productos a pH 4; a) baja magnificación 1000 X, b) Análisis químico, c) 40000 X y d) 100,000 X.

En todo caso las estructuras en la superficie se van apilando al azar en las partículas de Ag, formando un relieve y rugosidad que pueden proporcionarles sitios activos para ciertas propiedades que pueden ser utilizadas en la catálisis.

4. 2 Determinación de la naturaleza nanométrica de las nanoestructuras de plata mediante espectroscopía UV-vis.

Estudiadas las estructuras de Ag mediante MEB y EDS en la sección anterior, y después de conocer la capacidad reductora de la planta *Sedum prealtum*, las muestras caracterizadas fueron también evaluadas indirectamente en su naturaleza nanométrica mediante la técnica de espectroscopía de UV-vis. La resonancia de plasmón de superficie (SP) determinado por la técnica de UV-vis, es la técnica más destacada y versátil para evaluar las propiedades ópticas de las nanoestructuras metálicas. Consiste en una oscilación colectiva de los electrones de conducción excitados por el campo electromagnético de luz. El SPR es uno de los mejores ejemplos de que las cosas que son diferentes a nanoescala (55). En el caso de las nanopartículas metálicas (NPs), donde los electrones están confinados en las tres dimensiones, las oscilaciones de electrones inducen un campo eléctrico alrededor de la NP que puede ser mucho mayor que el de la luz incidente. Cuando se reduce el tamaño de una partícula metálica a unos pocos nanómetros, las propiedades ópticas se modifican drásticamente por la aparición del SPR y, su comportamiento resultante es completamente diferente del metal a granel.

Primeramente, se determinó que después de efectuar la mezcla de reacción, el color de la solución cambió de amarillo a marrón oscuro en 25 minutos, indicando la presencia de los nanomateriales de plata, según los reportes informados previamente (56). Los espectros UV-vis de las nanoestructuras de plata preparadas a diferentes valores de pH en presencia del extracto acuoso de *Sedum Prealtum* se muestran en la figura 4.3. El primer conjunto de estos espectros (a) corresponden a los valores ácidos (2-5) mientras que el inciso (b) a los valores básicos (7-10). Se encuentra que la banda de absorción característica (SPR) de las nanoestructuras de plata, aparece en su máximo del pico entre 400 y 500 nm para pH ácidos mientras que se desplaza hacia el azul ubicándose cerca de los 400 nm para los valores básicos. A medida que el pH aumenta desde 2 hasta 5 (inciso a) la absorción característica aumenta y el pico se ensancha. El aumento en la intensidad de la banda indica una mayor cantidad de sólidos formados en el estado nanométrico,

mientras que, el ensanchamiento de esta sugiere un progresivo incremento en la distribución de tamaños nanométricos. Similarmente, cuando el pH alcanza los valores básicos se aprecia que la intensidad del pico disminuye progresivamente, por lo que la presencia de tamaños nanométricos disminuye.

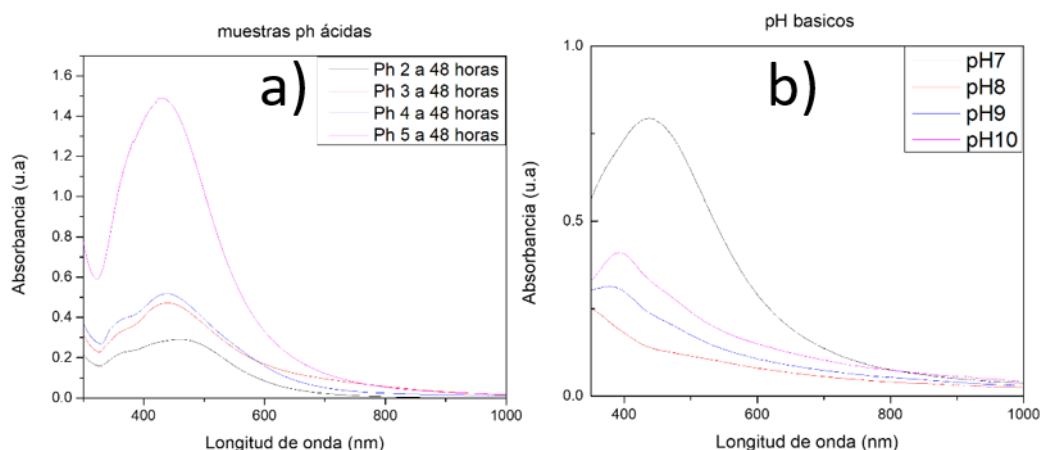


Figura 4.9 Espectroscopía de UV-vis de las muestras a diferentes pH de reacción. a) 2-5, y b) 7-10.

4. 3 Análisis estructural mediante difracción de rayos X.

Otra técnica de caracterización, que permite conocer claramente los resultados de bio reducción efectuados en cuanto a las nanopartículas de plata, empleando el extracto acuoso de *Sedum Prealtum*, son los estudios mediante la difracción de rayos X. La figura 4.10 muestra los patrones de difracción, registrados para las muestras sintetizadas tanto a pH ácido (a) pH 2 (b) pH 4, como básico (c) pH 8, (d) pH 10. Como se puede apreciar la estructura es un sólido cristalino después del proceso de bioreducción. En forma general, las reflexiones son intensas y ensanchadas lo que revela una baja naturaleza cristalina, ya confirmada en las anteriores técnicas (MEB y EDS), de las AgNPs biosintetizadas las cuales presentan una alta energía superficial.

Los patrones de DRX, indistintamente, presentan picos ubicados aproximadamente en los ángulos: 39.6, 46.1, 67.3 y 81.3°, los cuales coinciden con los planos cristalinos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0), y (3 1 1) respectivamente, de la plata cúbica *fcc* determinada mediante la tarjeta # 89-3722, del comité conjunto de estándares de difracción de polvo (JCPDS). Lo cual prueba nuevamente la efectividad de este extracto vegetal en la reducción de los iones de plata a plata sólida formando las AgNPs. La figura 4.11 muestra la superposición

de la tarjeta de plata en uno de los difractogramas registrado con el programa Xpert Highscore. Puede verse claramente que las líneas azules de la tarjeta JCPDS, se superinponen en cada pico de difracción indicando que el patrón corresponde a la plata cúbica *fcc*. En el mismo patrón se observan pequeñas reflexiones hacia ángulos menores a 35°, los cuales es imposible de indexar porque corresponden a las sustancias residuos de la planta *Sedum Prealtum*, los cuales van descomponiéndose progresivamente con el tiempo por el carácter biodegradable de la misma, y que corresponden a los millones de sustancias orgánicas que existen en la flora, para la identificación de los cuales se tendría que realizar un trabajo extenso y con la ayuda de otras técnicas.

Un par de características más que se derivan de las observaciones de MEB, son el corrimiento y ensanchamiento de los picos de difracción. La figura 4.12 muestra una amplificación de los picos del patrón de difracción anterior (Fig. 4.11), en donde la línea roja corresponde al patrón experimental y la línea azul al teórico, como se logra ver en el primero de estos, el pico debería ser menos ancho y estar bien ubicado en su posición (ver el segundo), esto solo puede ser debido a la reducción del tamaño de cristal que ensancha los picos y al corrimiento del parámetro de red con respecto al original. Para comprobar el primero de los efectos, debido al ensanchamiento de los picos, es posible aplicar la ecuación de Debye-Sherrer (Ec. 1) para conocer el tamaño promedio del cristal:

$$D = K \lambda / \beta \cos \theta \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde D, es el tamaño promedio del cristal en nm o Å, λ , corresponde a la longitud de onda del ánodo del tubo de rayos X = 1.5406 Å, K es llamada la constante de Sherrer, la cual depende de la forma de los cristallitos, que para los sistemas cúbicos es K = 0.9, θ es el ángulo del pico de difracción o los picos de difracción de donde se obtiene β , que es el ancho a la altura media del pico (FWHM) en radianes y que representa el desorden reticular causado por el microestres de un cristal pequeño el mismo que se ensancha por efectos de interferencia constructiva.

Otra forma de realizar la medición del ensanchamiento del pico es mediante el refinamiento de Rietveld. La figura 4.13 muestra el patrón de difracción correspondiente al pH 2, que fue realizado sin tomar en cuenta la región sombreada que representa la zona en donde se presenta la difracción de las sustancias orgánicas subproductos de la

reacción de biosíntesis. No obstante, al realizar las primeras aproximaciones se encuentra que el patrón, presenta una fuerte orientación cristalográfica en el pico (111), situación que se determina por la intensidad desproporcionada (obviamente mayor intensidad en el experimental) entre el patrón experimental (línea roja) y el teórico (línea azul). Este comportamiento, impedirá determinar de manera precisa el ensanchamiento, por lo que deberán utilizarse otros picos, los cuales se encuentren sin ese efecto.

La causa de esta orientación preferente se explica por la morfología del espécimen observando la figura de MEB 4.1, en donde se presenta una estructura tipo flor con pequeñas hojas, cuyo espesor se encuentra alrededor de los 100nm. Este crecimiento anisotrópico de las hojas de la flor se extiende exponiendo los planos preferenciales (111) de la plata.

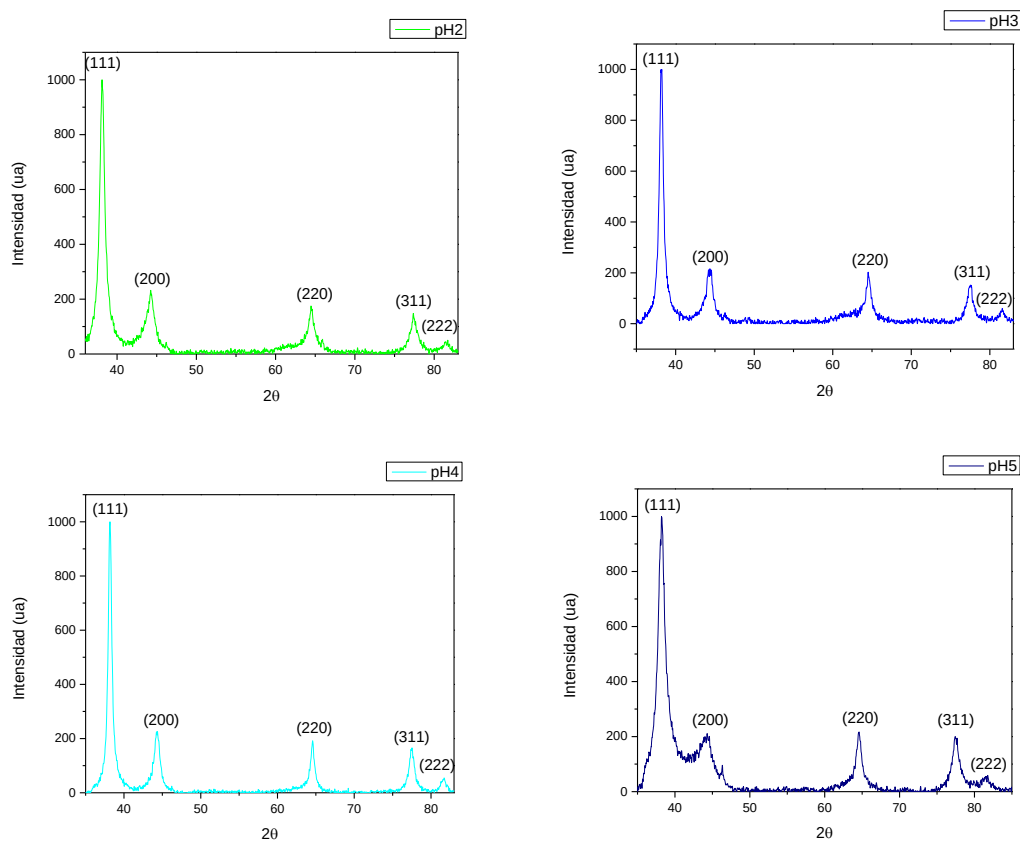


Figura 4.10. Patrones de difracción de RX de las muestras registrados a pH ácidos a)-b) y básicos c)-d).

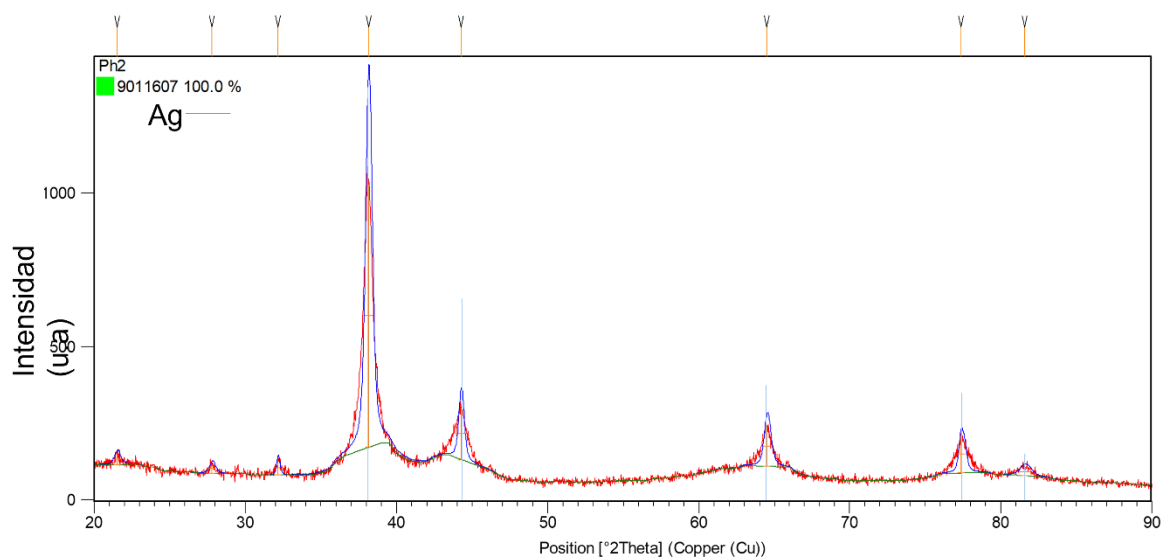


Figura 4.11. Patrón de difracción de RX, mostrando la superposición de la tarjeta de DRX para la comprobación de plata bioreducida con el extracto de la planta *Sedum Prealtum*.

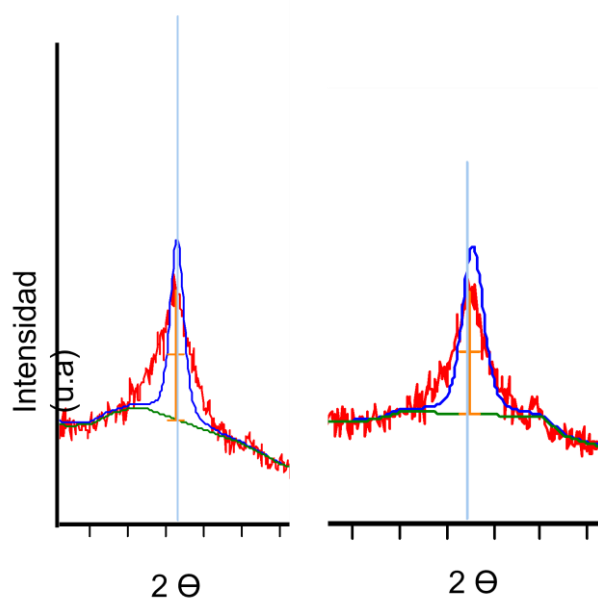


Figura 4.12. Extracto de los picos de difracción del patrón anterior, en donde el primero muestra ensanchamiento y el segundo corrimiento del pico.

Estos resultados derivados del crecimiento de las nanoesferas se han manifestado en otros estudios similares (45). Además, típicamente la dirección de crecimiento de las hojas exponiendo estos planos se encuentra a lo largo de la dirección [011].

Otro detalle determinado con el software Xpert Highscore en la muestra, es la presencia de un material amorfo, dada la existencia de una curva bien ancha, cercana a la reflexión (220) que obviamente proviene de los residuos del extracto. La distancia interplanar de esta reflexión es de $1.4406 \text{ \AA}$, lo cual sugiere una relación de crecimiento en los materiales por ambas distancias interplanares.

Debido al material amorfo, que causa la asimetría del pico (220) impedirá igualmente medir el ensanchamiento de este pico, entonces la atención se desvía hacia las reflexiones más adecuadas para realizar esta tarea sería dirigida a los picos (200) y el (311).

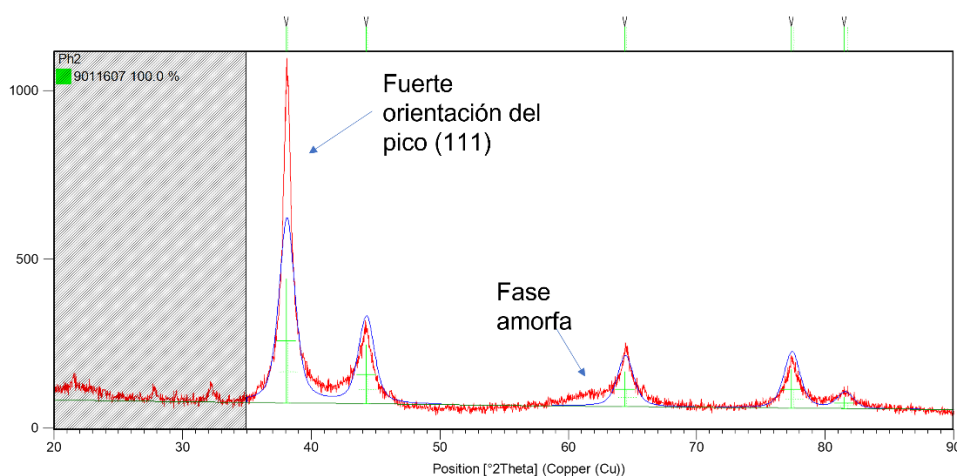


Figura 4.13. Análisis Rietveld de la muestra en donde se observa orientación cristalográfica y fase amorfa.

El tamaño de cristal promedio calculado se muestra en la tabla 1. Estos resultados muestran una leve tendencia hacia la disminución del tamaño de cristal con el incremento del pH. Independientemente, el tamaño de cristal nanométrico presente significa que las esferas son nanoestructuras que contienen electrones confinados a regiones en donde los mismos experimentan una oscilación colectiva a la longitud de onda de 425 nm (57), tal y como se determinó mediante la espectroscopía de ultravioleta- visible.

Al comparar estos resultados de tamaño calculados, con aquellos medidos directamente por microscopía electrónica de barrido se aprecia que existe una discrepancia porque las muestras son policristalinas entre ambos resultados. De cualquier forma, los nanocristales son menores de 100 nm , lo cual es uno de los objetivos del presente trabajo.

Tabla 1. Tamaños de cristal usando la aproximación de Debye-Sherrer.

Tamaño de Cristal / Método empleado	pH 2 (Å)	pH 3 (Å)	pH 8 (Å)	pH 10 (Å)
Debye-Sherrer (200) Xpert Highscore	218	74	86	38
Debye-Sherrer (311) Xpert Highscore	259	90	104	41

La tabla 2, muestra los resultados experimentales de la medición del refinamiento del parámetro de red mediante el programa Xpert-highScore (VD). Como se aprecia no existe una correlación entre los resultados experimentales y el cambio en el pH, no obstante, la variación en la morfología de las esferas.

Tabla 2. Cambio en los valores del parámetro de red con la variación del pH.

Parámetro de red / Método empleado	pH 2 (Å)	pH 3 (Å)	pH 4 (Å)	pH 5 (Å)
Original/ 4.079				
Xpert Highscore	4.0905	4.0894	4.0874	4.0994
Incertidumbre	0.0013	0.0012	0.0008	0.0021
Maud	4.0933	4.0978	4.0898	4.0943
	0.0017	0.0012	0.0001	0.0040

Sin embargo, lo que si se logra observar es un aumento general en estos valores en comparación con el valor original de la tarjeta. Esta variación en el tamaño podría deberse

a pequeñas solubilidades del elemento carbón que entran en la estructura cúbica de la plata causando deformación interna en la red, lo que causa que el parámetro de red crezca. No obstante, no hay esa variación esperada con el cambio en el valor del pH.

4. 4 Análisis de los grupos funcionales que participan en la reacción (FTIR).

Mediante esta técnica también, se puede conocer el papel de la planta como agente de reducción y otros posibles grupos, que pueden estar relacionados a la función de dirigidos del crecimiento de las nanoestructuras de plata.

En el primer espectro (Figura 6a), se muestra una banda de absorción a 3415 cm^{-1} que pertenece a la frecuencia de vibración N-H o al estiramiento de hidroxilo del ácido carboxílico y los fenoles [58]. Las bandas a 2937 cm^{-1} y 2845 cm^{-1} corresponden al estiramiento o flexión de los alquenos C-H [59]. La banda en 1599 cm^{-1} está asociada a los modos de vibración de estiramiento OH [60], mientras que la ubicada a 1422 cm^{-1} está asociada a la flexión del metileno C-H [61]. La banda ubicada en 1081 cm^{-1} corresponde al tramo C-O en estiramiento [62] y las bandas situadas en 823, 786 y 536 cm^{-1} en su conjunto corresponden al tramo CH₃ modos de deformación (torsión). Las bandas en 3415 cm^{-1} , y 1599 cm^{-1} , en general, indican la presencia de flavonoides y otros fenoles presentes en el fruto del extracto de *Sedum Prealtum*. La Figura 6b, muestra el espectro FTIR registrado después de la reacción de reducción a pH 2, donde prevalecen todas las bandas, excepto que la banda de absorción a 1599 cm^{-1} correspondiente al grupo de los fenoles está suprimida, en donde a este grupo se le atribuye la reducción de los iones Ag.

Por otro lado, se puede observar la aparición de otros picos ubicados en 1377 cm^{-1} y 1213 cm^{-1} , correspondientes al grupo amina II, que probablemente surge del carbonilo (C = O) por estiramiento en proteínas [63]; a las vibraciones de C-O-C y C-OH [63], y finalmente al estiramiento del grupo aromático C-H [64]. Estos compuestos son productos que probablemente se forman después de la reacción de reducción Ag e impulsan la formación de las estructuras nanométricas. Este tipo de fitoquímico, especialmente fenoles adsorbidos en la superficie de nanoestructuras de Ag [65], podrían actuar como modificadores de forma en la constitución de nanoesferas.

En la Figura 6c se muestra el espectro correspondiente a pH 8 donde se presentan las bandas que indican la naturaleza química del material biológico. Las bandas que correspondientemente son asignadas a los grupos funcionales aparecen en 3410 (tensión H₂O), 3396 (O-H de alcohol o N-H de aminas en vibración de estiramiento), 2924 - 2845 (C-H de alcanos), 1599 (alquenos C=C extensión), 1402 C-O de ácido carboxílico flexión, éster o éter, 1324, 1081 865 y 609 cm⁻¹ N-H de la deformación de aminas.

Después de la reacción con AgNO₃ hubo cambios en los siguientes picos: 3396 cm⁻¹ (aumentó), 1599 cm⁻¹ (disminuyó), 1402 cm⁻¹ (aumentó), indicando que los compuestos fenólicos siguen siendo los responsables de la reducción de los iones de plata, mientras que el hidroxilo y las amidas están en la superficie de las nanopartículas de plata, posiblemente modificando la forma de crecimiento de estas.

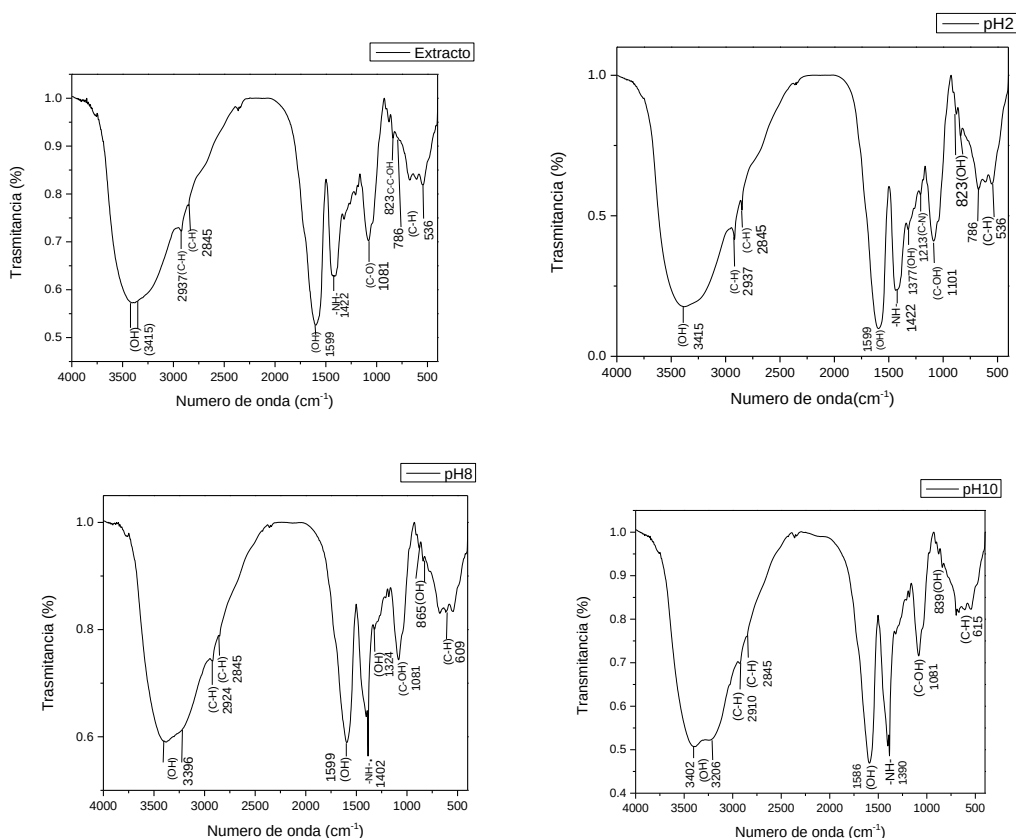


Figura 4.14. Espectros de FTIR registrados de las muestras a diferentes condiciones; a) extracto, b) pH 2, c) pH 8 y d) pH 10.

En la misma forma la figura 6 d presenta el espectro FTIR correspondiente a pH 8 donde se presentan las bandas que indican la naturaleza química del material biológico después de la reacción. Se encuentra que las mismas bandas que se encuentran en el espectro a pH8 aparecen con pequeños corrimientos: 3402 cm^{-1} (tensión H_2O), 3206 (O-H de alcohol o N-H de aminas en vibración de estiramiento), $2910 - 2845$ (C-H de alcanos), 1588 (alquenos C=C extensión), 1390 (C-O de ácido carboxílico flexión), éster o éter, $1081\ 833$ y 615 cm^{-1} N-H de la deformación de aminas.

Después de la reacción con AgNO_3 hubo cambios en los siguientes picos: 3206 cm^{-1} (aumentó), 1588 cm^{-1} (disminuyó), 1390 cm^{-1} (aumentó), indicando de la misma forma, que los compuestos fenólicos siguen siendo los responsables de la reducción de los iones de plata, mientras que el hidroxilo y las amidas están en la superficie de las nanopartículas de plata, posiblemente modificando la forma de crecimiento.

V. Conclusiones.

El presente estudio sintetizó nanoestructuras de Ag en forma de flores y esferas, utilizando el extracto acuoso de *Sedum Prealtum*.

La caracterización de nanoestructuras fue realizada mediante espectroscopía ultravioleta-visible media (UV-Vis), difracción de rayos X (XRD), espectroscopía infrarroja y microscopía electrónica de barrido (SEM).

Los estudios de microscopía electrónica muestran nanoestructuras con morfologías florales y esféricas con diferentes propiedades texturales.

MEB muestra que a medida que aumenta el pH, el tamaño de las nanoestructuras disminuye de 5 micrones hasta submicrónico

La difracción de rayos X muestra la estructura cristalina fcc de la plata e indica una ligera disminución en el tamaño del cristal al aumentar el pH.

Los espectros FTIR mostraron que los antioxidantes polifenólicos reconocidos en la planta *Sedum Prealtum*, son los responsables de la reducción de los iones de plata a plata metálica.

Los estudios UV-vis indicaron nanoestructuras con bandas de absorción ensanchadas debido a la diversidad de sus dimensiones.

Referencias

1. Roco, M. C. (1999). Nanoparticles and nanotechnology research. *Journal of Nanoparticle Research*, 1(1), 1.
2. Hulla, J. E., Sahu, S. C., & Hayes, A. W. (2015). Nanotechnology: History and future. *Human & experimental toxicology*, 34(12), 1318-1321.
3. WEB <https://munlait.files.wordpress.com/2008/08/metrico.jpg>
4. Rather, M. A., Sharma, R., Aklakur, M., Ahmad, S., Kumar, N., Khan, M., & Ramya, V. L. (2011). Nanotechnology: a novel tool for aquaculture and fisheries development. A prospective mini-review. *Fisheries and Aquaculture Journal*, 16(1-5), 3.
5. Tegart, G. (2004). Nanotechnology: the technology for the twenty-first century. *Foresight*.
6. Peikos, G., Spyrtou, A., Pnevmatikos, D., & Papadopoulou, P. Primary School Students' Preconceptions about the Term Nanotechnology and the Water Nano-filters.
7. Ersöz, M., Işıtan, A., & Balaban, M. (2018). Nanotechnology 1: fundamentals of nanotechnology.
8. Cheng, L. C., Jiang, X., Wang, J., Chen, C., & Liu, R. S. (2013). Nano-bio effects: interaction of nanomaterials with cells. *Nanoscale*, 5(9), 3547-3569.
9. Madkour, L. H. (2019). Classification of nanostructured materials. In *Nanoelectronic Materials* (pp. 269-307). Springer, Cham.
10. Machado, F. M., Fagan, S. B., da Silva, I. Z., & de Andrade, M. J. (2015). Carbon nanoadsorbents. In *Carbon nanomaterials as adsorbents for environmental and biological applications* (pp. 11-32). Springer, Cham.
11. Khodashenas, B., & Ghorbani, H. R. (2019). Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 1823-1838.
12. Wypij, M., Czarnecka, J., Świecimska, M., Dahm, H., Rai, M., & Golinska, P. (2018). Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of biogenic silver nanoparticles synthesized from *Streptomyces xinghaiensis* OF1 strain. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(2), 1-13.

13. Netala, V. R., Kotakadi, V. S., Domdi, L., Gaddam, S. A., Bobbu, P., Venkata, S. K., ... & Tartte, V. (2016). Biogenic silver nanoparticles: efficient and effective antifungal agents. *Applied Nanoscience*, 6(4), 475-484.
14. Bachhav, P. A., Shroff, R. M., & Shirkhedkar, A. A. (2020). Silver nanoparticles: A comprehensive review on mechanism, synthesis and biomedical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, 10(3), 202-212.
15. Asha, A. B., & Narain, R. (2020). Nanomaterials properties. *Polymer Science and Nanotechnology; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands*, 343-359.
16. Roduner, E. (2006). Size matters: why nanomaterials are different. *Chemical Society Reviews*, 35(7), 583-592.
17. Tolaymat, T. M., El Badawy, A. M., Genaidy, A., Scheckel, K. G., Luxton, T. P., & Suidan, M. (2010). An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: a systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Science of the total environment*, 408(5), 999-1006.
18. Billinge, S. J., & Levin, I. (2007). The problem with determining atomic structure at the nanoscale. *science*, 316(5824), 561-565.
19. Boles, M. A., Engel, M., & Talapin, D. V. (2016). Self-assembly of colloidal nanocrystals: From intricate structures to functional materials. *Chemical reviews*, 116(18), 11220-11289.
20. Glotzer, S. C., & Solomon, M. J. (2007). Anisotropy of building blocks and their assembly into complex structures. *Nature materials*, 6(8), 557-562.
21. Lu, Z., & Yin, Y. (2012). Colloidal nanoparticle clusters: functional materials by design. *Chemical Society Reviews*, 41(21), 6874-6887.
22. García-Barrasa, J., López-de-Luzuriaga, J. M., & Monge, M. (2011). Silver nanoparticles: synthesis through chemical methods in solution and biomedical applications. *Central European journal of chemistry*, 9(1), 7-19.
23. Wan, Y., Guo, Z., Jiang, X., Fang, K., Lu, X., Zhang, Y., & Gu, N. (2013). Quasi-spherical silver nanoparticles: Aqueous synthesis and size control by the seed-mediated Lee–Meisel method. *Journal of colloid and interface science*, 394, 263-268.
24. Ling, J., Sang, Y., & Huang, C. Z. (2008). Visual colorimetric detection of berberine hydrochloride with silver nanoparticles. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 47(4-5), 860-864.

25. Mazzonello, A., Valdramidis, V. V., Farrugia, C., Grima, J. N., & Gatt, R. (2017). Synthesis and characterization of silver nanoparticles. *Int. J. Modern Eng. Res*, 7, 41-47.
26. Gamboa, S. M., Rojas, E. R., Martínez, V. V., & Vega-Baudrit, J. (2019). Synthesis and characterization of silver nanoparticles and their application as an antibacterial agent. *Int. J. Biosen. Bioelectron*, 5, 166-173.
27. Zhou, J., Ralston, J., Sedev, R., & Beattie, D. A. (2009). Functionalized gold nanoparticles: synthesis, structure and colloid stability. *Journal of colloid and interface science*, 331(2), 251-262.
28. Ward Jones, S. E., Campbell, F. W., Baron, R., Xiao, L., & Compton, R. G. (2008). Particle size and surface coverage effects in the stripping voltammetry of silver nanoparticles: theory and experiment. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(46), 17820-17827.
29. Muñoz, J. E., Cervantes, J., Esparza, R., & Rosas, G. (2007). Iron nanoparticles produced by high-energy ball milling. *Journal of nanoparticle research*, 9(5), 945-950.
30. Raliya, R., Singh Chadha, T., Haddad, K., & Biswas, P. (2016). Perspective on nanoparticle technology for biomedical use. *Current pharmaceutical design*, 22(17), 2481-2490.
31. Vaičkutė, R. (2020). *The formation and analysis of electrospun PVP materials with silver nanoparticles* (Doctoral dissertation, Kauno technologijos universitetas).
32. Hande, P. E., Samui, A. B., & Kulkarni, P. S. (2015). Highly selective monitoring of metals by using ion-imprinted polymers. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(10), 7375-7404.
33. Naganthran, A., Verasoundarapandian, G., Khalid, F. E., Masarudin, M. J., Zulkharnain, A., Nawawi, N. M., ... & Ahmad, S. A. (2022). Synthesis, Characterization and Biomedical Application of Silver Nanoparticles. *Materials*, 15(2), 427.
34. Stevenson, A. P., Bea, D. B., Civit, S., Contera, S. A., Cerveto, A. I., & Trigueros, S. (2012). Three strategies to stabilise nearly monodispersed silver nanoparticles in aqueous solution. *Nanoscale research letters*, 7(1), 1-8.

35. Michel, R., & Gradzielski, M. (2012). Experimental aspects of colloidal interactions in mixed systems of liposome and inorganic nanoparticle and their applications. *International journal of molecular sciences*, 13(9), 11610-11642.
36. Rizal, H. P., Siahaan, P., & Yuliani, G. (2017, February). Implementation of socioscientific issues instruction to fostering students' decision making based gender on environmental pollution. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 812, No. 1, p. 012012). IOP Publishing.
37. Matus, K., Anastas, P. T., Clark, W., & Itameri-Kinter, K. (2007). Overcoming the challenges to the implementation of green chemistry. *CID Working Paper Series*.
38. Jiang, Q., Lin, Z., Gu, B., Pang, C., & Wang, X. (2020). Green synthesis and immobilization of AgNPs by lumpy corn stalk as interlayer filling material for durable antibacterial. *Industrial Crops and Products*, 158, 112987.
39. Vinković, T., Novák, O., Strnad, M., Goessler, W., Jurašin, D. D., Parađiković, N., & Vrček, I. V. (2017). Cytokinin response in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) exposed to silver nanoparticles. *Environmental research*, 156, 10-18.
40. Vanlalveni, C., Lallianrawna, S., Biswas, A., Selvaraj, M., Changmai, B., & Rokhum, S. L. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: A review of recent literature. *RSC Advances*, 11(5), 2804-2837.
41. Ahamed, M., AlSalhi, M. S., & Siddiqui, M. K. J. (2010). Silver nanoparticle applications and human health. *Clinica chimica acta*, 411(23-24), 1841-1848.
42. Chugh, H., Sood, D., Chandra, I., Tomar, V., Dhawan, G., & Chandra, R. (2018). Role of gold and silver nanoparticles in cancer nano-medicine. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(sup1), 1210-1220.
43. Becker, E. W. (2007). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology advances*, 25(2), 207-210.
44. Amin, Z. R., Khashyarmansh, Z., & Bazzaz, B. S. F. (2016). Different behavior of staphylococcus epidermidis in intracellular biosynthesis of silver and cadmium sulfide nanoparticles: more stability and lower toxicity of extracted nanoparticles. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(9), 1-11.
45. Chávez, K., Figueroa-Ramírez, S. J., Patiño-Carachure, C., & Rosas, G. (2021). One-step growth of silver nanodendrites and their electrochemical activity. *Applied Physics A*, 127(1), 1-8.

46. Selvam, S. P., & Yun, K. (2020). A self-assembled silver chalcogenide electrochemical sensor based on rGO-Ag₂Se for highly selective detection of serotonin. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 302, 127161.
47. Li, L. L., An, H. W., Peng, B., Zheng, R., & Wang, H. (2019). Self-assembled nanomaterials: design principles, the nanostructural effect, and their functional mechanisms as antimicrobial or detection agents. *Materials Horizons*, 6(9), 1794-1811.
48. Yu, K., Lu, F., Li, Q., Chen, H., Lu, B., Liu, J., ... & Lan, G. (2017). In situ assembly of Ag nanoparticles (AgNPs) on porous silkworm cocoon-based wound film: enhanced antimicrobial and wound healing activity. *Scientific reports*, 7(1), 1-13.
49. Bravo-Ávila, F. M., Rodríguez-Sahagún, A., Castellanos-Hernández, O., & Ruvalcaba-Ruiz, D. (2016). Regeneración de *Sedum praealtum* A. DC (siempreviva) vía organogénesis. *Nova scientia*, 8(17), 126-139.
50. Costa, C. D. S. R., da Silva Costa, A. E., dos Santos, A. M. M., de Lima Pereira, J. W., e Carvalho, R. R. D. C., & de Carvalho Filho, J. L. S. (2019). Current Status of the Occurrence and Reaction Root-knot Nematodes in the Main Botanical Families of Medicinal Plants. *Journal of Experimental Agriculture International*, 1-21.
51. Liang, H., Wang, W., Huang, Y., Zhang, S., Wei, H., & Xu, H. (2010). Controlled synthesis of uniform silver nanospheres. *The Journal of Physical Chemistry C*, 114(16), 7427-7431.
52. Nzekekwa, A. K., & Abosede, O. O. (2019). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using leaves extracts of neem (*Azadirachta indica*) and bitter leaf (*Vernonia amygdalina*). *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 23(4), 695-699.
53. Huang, X., Wang, N., Li, F., Zhu, X., Liao, K., Chan, V., & Zhang, L. (2019). Molecular engineering of supercapacitor electrodes with monodispersed N-doped carbon nanoporous spheres. *New Journal of Chemistry*, 43(40), 15892-15898.
54. Yano, K., Setoyama, N., & Fukumori, K. (2020). Investigation of Non-Thermodynamical CO₂ Adsorption Behavior for Amine-Modified Nanoporous Silica. *Advances in Materials Physics and Chemistry*, 10(3), 53-62.

55. Kumar, S., & Sardana, S. K. (2020, May). Optical properties of silver nanoparticles deposited on glass and silicon substrates. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2220, No. 1, p. 050013). AIP Publishing LLC.
56. Aherne, D., Ledwith, D. M., Gara, M., & Kelly, J. M. (2008). Optical properties and growth aspects of silver nanoprisms produced by a highly reproducible and rapid synthesis at room temperature. *Advanced Functional Materials*, 18(14), 2005-2016.
57. Banerjee, V., & Das, K. P. (2013). Interaction of silver nanoparticles with proteins: a characteristic protein concentration dependent profile of SPR signal. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 111, 71-79.
58. Yousaf, H., Mehmood, A., Ahmad, K. S., & Raffi, M. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles and their applications as an alternative antibacterial and antioxidant agents. *Materials Science and Engineering: C*, 112, 110901.
59. Roni, M., Murugan, K., Panneerselvam, C., Subramaniam, J., & Hwang, J. S. (2013). Evaluation of leaf aqueous extract and synthesized silver nanoparticles using *Nerium oleander* against *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 112(3), 981-990.
60. Murugesan, S., Bhuvaneswari, S. U. N. D. A. R. E. S. A. N., & Sivamurugan, V. A. J. I. R. A. V. E. L. U. (2017). Green synthesis, characterization of silver nanoparticles of a marine red alga *Spyridia fusiformis* and their antibacterial activity. *Int J Pharm Pharm Sci*, 9(5), 192-7.
61. Varadavenkatesan, T., Selvaraj, R., & Vinayagam, R. (2016). Phyto-synthesis of silver nanoparticles from *Mussaenda erythrophylla* leaf extract and their application in catalytic degradation of methyl orange dye. *Journal of Molecular Liquids*, 221, 1063-1070.
62. Barbinta-Patrascu, M. E., Bunghez, I. R., Iordache, S. M., Badea, N., Fierascu, R. C., & Ion, R. M. (2013). Antioxidant properties of biohybrids based on liposomes and sage silver nanoparticles. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 13(3), 2051-2060.
63. Ahmad, N., Sharma, S., Singh, V. N., Shamsi, S. F., Fatma, A., & Mehta, B. R. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles from *Desmodium triflorum*: a novel approach towards weed utilization. *Biotechnology research international*, 2011.
64. Vanaja, M., Rajeshkumar, S., Paulkumar, K., Gnanajobitha, G., Malarkodi, C., & Annadurai, G. (2013). Phytosynthesis and characterization of silver nanoparticles

using stem extract of *Coleus aromaticus*. *International Journal of Materials and Biomaterials Applications*, 3(1), 1-4.

65. Barakat, M. A., Al-Hutailah, R. I., Hashim, M. H., Qayyum, E., & Kuhn, J. N. (2013). Titania-supported silver-based bimetallic nanoparticles as photocatalysts. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(6), 3751-3759.