



**UNIVERSIDAD MICHOACANA  
DE SÁN NICOLÁS DE HIDALGO**



**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN  
METALURGIA Y MATERIALES**

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS EN METALURGIA Y CIENCIAS DE  
LOS MATERIALES**

---

**SÍNTESIS VERDE Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS MONO  
Y BIMETÁLICAS DE PLATA Y ORO PARA APLICACIONES CATALÍTICAS  
Y ANTIBACTERIALES**

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

M. en C. JOSÉ LUIS LÓPEZ MIRANDA.

ASESOR: DR. GERARDO ANTONIO ROSAS TREJO.

CO-ASESOR: DR. RODRIGO ALONSO ESPARZA MUÑOZ.

Morelia, Michoacán, Agosto de 2017.

## DEDICATORIA

*A mi hijo:*

*José Luis López Huante*

*A mi esposa:*

*Elizabeth Huante Juanillo*

*A mis padres:*

*J. Luis López López*

*Silvia Miranda Martínez*

## AGRADECIMIENTOS

- A mi esposa Elizabeth por apoyarme durante toda esta etapa y compartir las alegrías y los momentos difíciles y ayudarme a superarlos, alentándome a superarlos estando siempre a mi lado. Gracias por todo el amor, comprensión, motivación, pero sobre todo la paciencia brindada todo este tiempo.
- A mi hijo por ser ese motor que me alienta a seguir adelante, a superar los momentos difíciles y a ser mejor cada día. Gracias por esos juegos y momentos alegres que me hacen olvidar todos los problemas y dificultades.
- A mis padres por darme toda su confianza, amor y apoyo. Gracias por siempre motivarme a seguir adelante, a superar los fracasos y estar a mi lado en todas y cada una de las etapas de mi vida.
- A mis hermanos Karina y Armando por todos los consejos brindados y apoyarme en todo momento, tanto en lo personal como en lo profesional. Gracias por ser parte de cada momento importante en mi vida
- Al doctor Gerardo Rosas por la confianza depositada en mí, por todo el apoyo brindado durante este proyecto. Gracias por ser un verdadero asesor.
- Al doctor Rodrigo Esparza por aceptar ser mi co-asesor y por todo el apoyo y conocimientos transmitidos durante esta etapa.
- A CONACYT por el apoyo otorgado para que este proyecto llegue a su término de manera exitosa.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS .....	IX
ÍNDICE DE TABLAS .....	XVIII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XIX
RESUMEN .....	XX
ABSTRACT .....	XXI
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN .....	XXII
OBJETIVO GENERAL.....	XXIV
OBJETIVOS PARTICULARES.....	XXIV
HIPÓTESIS.....	XXV
JUSTIFICACIÓN.....	XXV
CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	26
1.1 Clasificación de los materiales nanoestructurados .....	26
1.2 Propiedades de las nanopartículas .....	27
1.2.1 <i>Propiedades estructurales</i> .....	28
1.2.2 <i>Propiedades térmicas</i> .....	28
1.2.3 <i>Propiedades electromagnéticas</i> .....	29
1.2.4 <i>Propiedades ópticas</i> .....	29
1.2.5 <i>Propiedades mecánicas</i> .....	29
1.3 Métodos de síntesis de nanopartículas.....	29
1.4 Síntesis verde de nanopartículas.....	33
1.5 Organismos empleados para la síntesis verde de nanopartículas.....	33
1.5.1 <i>Bacterias</i> .....	34
1.5.2 <i>Hongos</i> .....	34



1.5.3 Algas .....	35
1.5.4 Extractos de plantas .....	36
1.6 Síntesis verde de nanopartículas de plata empleando extractos de plantas.....	36
1.7 Síntesis verde de nanopartículas de oro empleando extractos de plantas.....	40
1.8 Síntesis verde de nanopartículas bimetálicas plata-oro empleando extractos de plantas .....	44
1.9 Mecanismo de reacción en la síntesis de nanopartículas empleando extractos de plantas .....	45
1.10 Posibles compuestos responsables de la síntesis de nanopartículas empleando plantas .....	50
1.10.1 Flavonoides.....	50
1.10.2 Terpenoides.....	52
1.10.3 Azúcares reductores .....	52
1.10.4 Proteínas .....	53
1.10.5 Ácidos orgánicos y metabólicos secundarios .....	53
1.11 Influencia de factores en la formación de nanopartículas por medio de plantas.....	54
1.11.1 Efecto del pH .....	54
1.11.2 Efecto de la temperatura .....	56
1.11.3 Relación de extracto de planta a concentración metálica .....	57
1.12 Aplicaciones de las nanopartículas de plata y oro .....	60
1.12.1 Biomedicina.....	61
1.12.2 Catálisis y tratamiento de agua.....	63
1.12.3 Biosensores .....	64
<b>CAPÍTULO II. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....</b>	<b>67</b>
2.1 Selección de plantas .....	68

<b>2.2 Preparación de extractos</b> .....	69
<b>2.3 Preparación de las soluciones precursoras</b> .....	71
<b>2.4 Síntesis de nanopartículas</b> .....	72
<b>2.5 Obtención de las nanopartículas</b> .....	73
<b>2.6 Propiedades antibacteriales</b> .....	74
<b>2.7 Propiedades catalíticas</b> .....	74
<b>2.8 Técnicas de caracterización</b> .....	74
<b>2.8.1 Espectroscopía Infrarroja (FT-IR)</b> .....	75
<b>2.8.2 Espectroscopía de absorción Ultra-violeta-visible (UV-Vis)</b> .....	75
<b>2.8.3 Microscopía electrónica de barrido (MEB)</b> .....	76
<b>2.8.4 Microscopía electrónica de transmisión (MET)</b> .....	76
<b>2.8.5 Difracción de rayos-X</b> .....	77
<b>CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>78</b>
<b>3.1 Síntesis verde de nanopartículas monometálicas</b> .....	78
<b>3.1.1 Nanopartículas de plata</b> .....	78
<b>3.1.1.1 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de <i>Agastache mexicana</i></b> .....	80
<b>3.1.1.2 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de <i>Tecoma stans</i></b> .....	84
<b>3.1.1.3 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de hojas de <i>Ficus carica</i></b> .....	89
<b>3.1.1.4 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de hojas de <i>Salvia microphylla kunth</i></b> .....	94
<b>3.1.1.5 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de hojas de <i>Tamarix gallica</i></b> .....	99
<b>3.1.1.6 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de hojas de <i>Eriobotrya japonica</i></b> .....	105
<b>3.1.1.7 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de <i>Aloysia triphylla</i></b> .....	121
<b>3.1.2 Nanopartículas de oro</b> .....	131
<b>3.1.2.1 Síntesis de nanopartículas de oro empleando el extracto de <i>Tamarix gallica</i></b> ..	132

3.1.2.2 <i>Síntesis de nanopartículas de oro empleando el extracto de Salvia microphylla Kunth</i> .....	139
3.1.2.3- <i>Síntesis de nanopartículas de oro empleando el extracto de Aloysia Triphylla</i> .....	146
<b>3.2 Síntesis verde de nanopartículas bimetálicas plata-oro</b> .....	<b>153</b>
3.2.1 <i>Síntesis de nanopartículas bimetálicas plata-oro empleando el extracto de Aloysia triphylla</i> .....	155
3.2.2 <i>Síntesis de materiales nanoestructurados obtenidos con el extracto de Aloysia triphylla</i> .....	161
3.2.3 <i>Control del tamaño de las nanopartículas bimetálicas plata-oro</i> .....	165
<b>3.3 Propiedades antibacteriales de las nanopartículas de plata sintetizadas con extractos de plantas</b> .....	<b>167</b>
<b>3.4 Propiedades catalíticas de las nanopartículas sintetizadas con extractos de plantas</b> .....	<b>169</b>
<b>3.5 Discusión general</b> .....	<b>173</b>
<b>CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES</b> .....	<b>179</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>184</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1</b> Principio de síntesis de los métodos arriba-abajo y abajo-arriba para la fabricación de nanopartículas. ....	30
<b>Figura 1.2</b> Clasificación de las técnicas de síntesis de nanopartículas. ....	31
<b>Figura 1.3</b> Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata preparadas a diferentes tiempos de reacción [43]. ....	38
<b>Figura 1.4</b> Micrografía Electrónica de Transmisión en la cual se observa tanto el tamaño como la forma de las nanopartículas de plata [43]. ....	38
<b>Figura 1.5</b> Espectro de UV-Vis para las nanopartículas de oro en función del tiempo de reacción mostrando el pico a 536 nm [62]. ....	41
<b>Figura 1.6</b> Morfología de las nanopartículas de oro a) MET y b) HRTEM [63]. ....	42
<b>Figura 1.7</b> Simulación del espectro de UV-Vis mostrando la influencia del espesor de la coraza en la posición de la banda de absorción [82]. ....	45
<b>Figura 1.8</b> Representación esquemática de la reacción de reducción para la obtención de nanopartículas de plata al emplear un extracto acuoso de <i>Physalis angulata</i> [49]. ....	46
<b>Figura 1.9</b> Imágenes de MET de nanopartículas de Au mostrando su interacción con los componentes del extracto de hojas de <i>C. Platycladi</i> [90]. ....	47
<b>Figura 1.10</b> Mecanismo de crecimiento mostrando el efecto de polifenoles estabilizantes en la forma y tamaño de las nanopartículas [93]. ....	48
<b>Figura 1.11</b> Mecanismo de crecimiento propuesto para la formación de nanoestructuras con diferentes formas [37]. ....	49
<b>Figura 1.12</b> Espectro FT-IR del extracto acuoso de hojas de <i>Aegle marmelos</i> a) antes y b) después de la reducción de AgNO <sub>3</sub> [55]. ....	51
<b>Figura 1.13</b> Imágenes de MET que corresponden a las AuNPs sintetizadas a diferente temperatura de reacción de a) 30, b) 45, c) 60, d) 75 y e) 90 °C [90]. ....	57
<b>Figura 1.14</b> Espectro de absorción de UV-Vis de las AgNPs en función de la cantidad de <i>Malva parviflora</i> con una concentración fija de AgNO <sub>3</sub> [57]. ....	58
<b>Figura 1.15</b> Espectro de UV-Vis de las AgNPs a diferentes concentraciones del extracto de hojas de <i>H. cannabinus</i> (a, b, c, d vs 1, 2, 4 y 5 ml, respectivamente) [43]. ....	60
<b>Figura 2.1</b> Diagrama de flujo de la experimentación llevada a cabo. ....	67

<b>Figura 2.2</b> Secuencia para la obtención de los extractos de las diferentes plantas.....	70
<b>Figura 3.1</b> Espectro de UV-Vis a) antes y b) después de la reacción de síntesis con extractos de hojas de diferentes plantas empleando 10 ml de solución 3 mM de AgNO <sub>3</sub> y 5 ml de extracto. ....	79
<b>Figura 3.2</b> Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas variando: a) la concentración de <i>Agastache mexicana</i> , empleando 5 ml de extracto y 10 ml de solución 3 mM de AgNO <sub>3</sub> y b) la concentración de AgNO <sub>3</sub> , empleando 5 ml del extracto obtenido con 1.5 g de planta. ....	81
<b>Figura 3.3</b> Análisis de MEB de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Agastache mexicana</i> a partir de 1.5 g de planta y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....	81
<b>Figura 3.4</b> Análisis de MET de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Agastache mexicana</i> a partir de 1.5 g de planta y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> , mostrando: a) concentración, tamaño y forma, b) la distancia interplanar.....	82
<b>Figura 3.5</b> Difractograma de rayos-X de las nanopartículas de plata obtenidas con 5 ml del extracto de <i>Agastache mexicana</i> a partir de 1.5 g de planta y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> .....	83
<b>Figura 3.6</b> Análisis de FT-IR del extracto de <i>Agastache mexicana</i> (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada). ....	84
<b>Figura 3.7</b> Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas variando: a) la concentración de <i>Tecoma stans</i> y utilizando 10 ml de solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> y b) la concentración de AgNO <sub>3</sub> , empleando 5 ml del extracto obtenido con 1.5 g de planta.....	85
<b>Figura 3.8</b> Análisis de MEB de las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de <i>Tecoma stans</i> obtenido a partir de 1.5 g de planta y empleando 10 ml de solución de AgNO <sub>3</sub> 5 mM. ....	86
<b>Figura 3.9</b> Análisis de MET de las nanopartículas de plata empleando 5 ml del extracto de <i>Tecoma stans</i> obtenido a partir de 1.5 g de planta mostrando a) La concentración, tamaño y forma, b) La distancia interplanar. ....	87

<b>Figura 3.10</b> Difractograma de rayos-X de las nanopartículas obtenidas con 5 ml del extracto de <i>Tecoma stans</i> a partir de 1.5 g de planta y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> .	88
<b>Figura 3.11</b> Análisis de FT-IR del extracto de <i>Tecoma stans</i> (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada).	89
<b>Figura 3.12</b> Análisis por UV-Vis de las nanopartículas de plata empleando un extracto de <i>Ficus carica</i> y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> .	91
<b>Figura 3.13</b> Análisis de MEB de las nanopartículas de plata sintetizadas con 4 ml del extracto de <i>Ficus carica</i> y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> .	91
<b>Figura 3.14</b> Análisis por MET de las nanopartículas de plata empleando 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> y variando el volumen del extracto de <i>Ficus carica</i> a) 4 ml y b) 5 ml.	93
<b>Figura 3.15</b> Difractograma de rayos-X de las nanopartículas obtenidas con 4 ml del extracto de <i>Ficus carica</i> y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> .	93
<b>Figura 3.16</b> Análisis de FT-IR del extracto de <i>Ficus carica</i> (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada).	94
<b>Figura 3.17</b> Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas con 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> y variando el volumen del extracto de <i>Salvia microphylla Kunth</i> después de a) 0.5 h y b) 72 h de tiempo de reacción.	95
<b>Figura 3.18</b> Análisis de MEB de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Salvia microphylla Kunth</i> y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> .	96
<b>Figura 3.19</b> Análisis por MET empleando 5 ml del extracto de <i>Salvia microphylla kunth</i> y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> para sintetizar nanopartículas de plata.	97
<b>Figura 3.20</b> Difractograma de rayos-X de las nanopartículas de plata obtenidas con 5 ml del extracto de <i>Salvia microphylla kunth</i> y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> .	98
<b>Figura 3.21</b> Análisis de FT-IR del extracto de <i>Salvia microphylla kunth</i> (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada).	99
<b>Figura 3.22</b> Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas variando: a) la concentración de <i>Tamarix gallica</i> y b) la concentración de AgNO <sub>3</sub> .	100

<b>Figura 3.23</b> Espectro de UV-Vis mostrando la cinética de la reacción de síntesis de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Tamarix gallica</i> y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> . .....	101
<b>Figura 3.24</b> Análisis por MEB de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Tamarix gallica</i> y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> . .....	102
<b>Figura 3.25</b> Análisis por MET de las nanopartículas de plata: a-b) micrografías a diferentes magnificaciones, c) imagen de alta resolución y d) histograma mostrando la distribución de tamaño de partícula. ....	103
<b>Figura 3.26</b> Patrón de difracción de rayos-X de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Tamarix gallica</i> y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> . ...	104
<b>Figura 3.27</b> Análisis de FT-IR del extracto de <i>Tamarix gallica</i> (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada). ....	105
<b>Figura 3.28</b> Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Eriobotrya japonica</i> variando la concentración de AgNO <sub>3</sub> . ....	106
<b>Figura 3.29</b> Análisis de MEB de las muestras con 5 ml de extracto de <i>Eriobotrya japonica</i> para las diferentes concentraciones de AgNO <sub>3</sub> : a) 1mM, b) 3Mm, c) 5mM y d) análisis EDS. ....	108
<b>Figura 3.30</b> Análisis de MET de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Eriobotrya japonica</i> y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> : a) Micrografía mostrando tamaño y forma, b) Micrografía de alta resolución y c) Análisis químico. ....	109
<b>Figura 3.31</b> Espectros de UV-Vis de las nanopartículas de plata variando la cantidad de extracto, empleando 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....	110
<b>Figura 3.32</b> Análisis de MET para diferentes cantidades de extracto de <i>Eriobotrya japonica</i> : a) 1, b) 2, c) 3, d) 4 y e) 5 ml. ....	112
<b>Figura 3.33</b> Espectro de UV-Vis mostrando la evolución de las nanopartículas a través del tiempo, empleando 4 ml de extracto de <i>Eriobotrya japonica</i> y 10 ml de solución de AgNO <sub>3</sub> 5 mM. ....	113
<b>Figura 3.34</b> Patrón de difracción de rayos-X de las nanopartículas de plata sintetizadas a temperatura ambiente con 4 ml del extracto de <i>Eriobotrya japonica</i> y 10 ml de solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....	114

<b>Figura 3.35</b> Micrografías electrónicas de transmisión de la muestra seca conteniendo nanopartículas de plata empleando 4 ml del extracto de <i>Eriobotrya japónica</i> y 10 ml de solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> . .....	115
<b>Figura 3.36</b> Análisis de UV-Vis de la síntesis de nanopartículas de plata empleando una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> y llevada a cabo a diferentes temperaturas: a) 50, b) 75 y c) 95 °C. ....	116
<b>Figura 3.37</b> Análisis de MET de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml de extracto de <i>Eriobotrya japónica</i> y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> , a diferentes temperaturas: a) 50, b) 75 y c) 95 °C y sus respectivas HRTEM (d-f). ...	118
<b>Figura 3.38</b> Análisis de UV-Vis de las nanopartículas de plata variando la cantidad de extracto a base de alcohol de <i>Eriobotrya japónica</i> y empleando 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....	119
<b>Figura 3.39</b> Micrografías electrónicas de transmisión de las nanopartículas de plata sintetizadas con 10 ml de una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> y empleando 5 ml del extracto de <i>Eriobotrya japónica</i> a base de alcohol etílico.....	120
<b>Figura 3.40</b> Análisis de FT-IR del extracto de <i>Eriobotrya japónica</i> (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada), empleando 4 ml del extracto y 10 ml de la solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....	121
<b>Figura 3.41</b> Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> variando la concentración de AgNO <sub>3</sub> .....	122
<b>Figura 3.42</b> Análisis de MEB de las muestras con 5 ml de extracto de <i>Aloysia triphylla</i> para las diferentes concentraciones de AgNO <sub>3</sub> : a) 1mM, b) 3Mm, c) 5mM y d) análisis EDS.....	123
<b>Figura 3.43</b> Análisis de MET de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml de extracto de <i>Aloysia triphylla</i> y 10 ml de una solución 3 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....	124
<b>Figura 3.44</b> Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas con varias cantidades de extracto de <i>Aloysia triphylla</i> y 10 ml de una solución 3 mM de AgNO <sub>3</sub> . ....	125
<b>Figura 3.45</b> Patrón de difracción de rayos-X de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> y 10 ml de una solución 3 mM de AgNO <sub>3</sub> . .....	126



<b>Figura 3.46</b> Análisis de UV-Vis de la síntesis de nanopartículas de plata a diferentes temperaturas: a) 50, b) 75 y c) 95 °C, empleando 10 ml de una solución 3 mM de AgNO <sub>3</sub> . .....	128
<b>Figura 3.47</b> Micrografías electrónicas de transmisión de las nanopartículas de plata sintetizadas a diferentes temperaturas: a-c) 50, d-f) 75 y g-i) 95 °C, al emplear 5 ml del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> y 10 ml de una solución 3 mM de AgNO <sub>3</sub> . .....	130
<b>Figura 3.48</b> Análisis de FT-IR del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada), empleando 5 ml del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> y 10 ml de una solución 3 mM de AgNO <sub>3</sub> . .....	131
<b>Figura 3.49</b> Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Tamarix gallica</i> con diferentes concentraciones de HAuCl <sub>4</sub> . .....	133
<b>Figura 3.50</b> Espectro de UV-Vis variando la concentración del extracto de <i>Tamarix gallica</i> en la síntesis de las nanopartículas de oro, utilizando 5 ml del extracto y 10 ml de una solución 3 mM de HAuCl <sub>4</sub> . .....	134
<b>Figura 3.51</b> Espectro de UV-Vis variando el volumen del extracto de <i>Tamarix gallica</i> en la síntesis de las nanopartículas de oro, empleando 10 ml de solución 3 mM de HAuCl <sub>4</sub> . .....	134
<b>Figura 3.53</b> Análisis por MEB de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Tamarix gallica</i> y 10 ml de solución 3 mM de HAuCl <sub>4</sub> . .....	136
<b>Figura 3.54</b> Análisis por MET de las nanopartículas de oro, empleando 5 ml del extracto y 10 ml de solución 3 mM de HAuCl <sub>4</sub> : a-c) micrografías a diferentes magnificaciones, d) histograma mostrando la distribución de tamaño de partícula y e-f) imágenes de alta resolución. ....	137
<b>Figura 3.55</b> Análisis de FT-IR del extracto de <i>Tamarix gallica</i> (línea continua) y nanopartículas de oro (línea punteada), empleando 5 ml del extracto y 10 ml de solución 3 mM de HAuCl <sub>4</sub> . .....	138
<b>Figura 3.56</b> Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Salvia microphylla Kunth</i> a diferentes concentraciones de HAuCl <sub>4</sub> . .....	139
<b>Figura 3.57</b> Espectro de UV-Vis variando la concentración del extracto de <i>Salvia microphylla Kunth</i> en la síntesis de las nanopartículas de oro, utilizando 5 ml del extracto y 10 ml de solución 10 mM de HAuCl <sub>4</sub> . .....	140

<b>Figura 3.58</b> Espectro de UV-Vis variando el volumen del extracto de <i>Salvia microphylla Kunth</i> en la síntesis de las nanopartículas de oro, empleando 10 ml de solución 10 mM de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> .....	141
<b>Figura 3.59</b> Patrón de difracción de rayos-X de las nanopartículas de oro sintetizadas con 4 ml del extracto de <i>Salvia microphylla Kunth</i> y 10 ml de una solución 10 mM de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> .....	142
<b>Figura 3.60</b> Análisis por MEB de las nanopartículas de oro sintetizadas con 4 ml del extracto de <i>Salvia microphylla Kunth</i> y 10 ml de una solución 10 mM de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> .....	143
<b>Figura 3.61</b> Análisis por MET de las nanopartículas de oro sintetizadas con 4 ml del extracto de <i>Salvia microphylla Kunth</i> y una solución 10 mM de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> .....	144
<b>Figura 3.62</b> Análisis de FT-IR del extracto de <i>Salvia microphylla Kunth</i> (línea continua) y de las nanopartículas de oro sintetizadas (línea punteada), empleando 4 ml del extracto y una solución 10 mM de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> .....	145
<b>Figura 3.63</b> Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Aloysia Triphylla</i> con diferentes concentraciones de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> .....	146
<b>Figura 3.64</b> Espectro de UV-Vis variando la concentración del extracto de <i>Aloysia Triphylla</i> en la síntesis de las nanopartículas de oro empleando 5 ml del extracto y una solución 10 mM de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> .....	147
<b>Figura 3.65</b> Espectro de UV-Vis variando el volumen del extracto de <i>Aloysia Triphylla</i> en la síntesis de las nanopartículas de oro, empleando una solución 10 mM de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> .....	148
<b>Figura 3.66</b> Patrón de difracción de rayos-X de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Aloysia Triphylla</i> y una solución 10 mM de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> .....	149
<b>Figura 3.67</b> Análisis por MEB de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Aloysia Triphylla</i> y una solución 10 mM de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> .....	150
<b>Figura 3.68</b> Análisis por MET de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Aloysia Triphylla</i> y una solución 10 mM de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> .....	151
<b>Figura 3.69</b> Análisis de FT-IR del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> (línea continua) y de las nanopartículas de oro sintetizadas (línea punteada), empleando 5 ml del extracto y una solución 10 mM de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> .....	152

<b>Figura 3.70</b> Espectro de UV-Vis de las nanopartículas bimetálicas plata-oro sintetizadas con 5 ml de cada extracto, 5 ml de solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> , y 5 ml de la solución 5 mM de HAuCl <sub>4</sub> . .....	154
<b>Figura 3.71</b> Análisis de MEB de las nanopartículas bimetálicas, sintetizadas con el extracto de a) <i>Tamarix gallica</i> , b) <i>Salvia microphylla kunt</i> , c) <i>Aloysia triphylla</i> y d) Análisis EDS.....	155
<b>Figura 3.72</b> Espectro de UV-Vis variando la relación de sales precursoras HAuCl <sub>4</sub> :AgNO <sub>3</sub> en la síntesis de nanopartículas bimetálicas, empleando 5 ml del extracto, una solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> y una solución 5 mM de HAuCl <sub>4</sub> . .....	156
<b>Figura 3.73</b> Espectro de UV-Vis variando el tiempo de adición de la solución de HAuCl <sub>4</sub> en la síntesis de nanopartículas bimetálicas plata-oro, empleando 5 ml del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> y una relación en volumen 3:1 de las sales HAuCl <sub>4</sub> :AgNO <sub>3</sub> . .....	157
<b>Figura 3.74</b> Análisis por MEB de las nanopartículas bimetálicas sintetizadas con extracto de <i>Aloysia triphylla</i> al variar el tiempo de adición de HAuCl <sub>4</sub> : a) 15 min, b) 30 min, c) 45 min y d) 60 min. ....	158
<b>Figura 3.75</b> Análisis por MET de las nanopartículas bimetálicas plata-oro sintetizadas con extracto de <i>Aloysia triphylla</i> al variar el tiempo de adición de HAuCl <sub>4</sub> : a) 15 min, b) 30 min, c) 45 min y d) 60 min.....	159
<b>Figura 3.76</b> Análisis de MET mostrando: a) y b) la estabilización y ordenamiento de las nanopartículas, c) y d) los planos atómicos de las nanopartículas bimetálicas plata-oro, empleando 5 ml del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> , 5 ml de solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> y 15 ml de solución 5 mM de HAuCl <sub>4</sub> . .....	160
<b>Figura 3.77</b> Análisis FT-IR de las nanopartículas bimetálicas plata-oro, obtenidas al variar el tiempo de adición de la solución de HAuCl <sub>4</sub> , empleando 5 ml del extracto y una relación 3:1 de las sales precursoras. ....	161
<b>Figura 3.78</b> Análisis de microscopía de las nanoestructuras alargadas sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> y una relación 3:1 en volumen de las soluciones precursoras a una concentración 5 mM. ....	162
<b>Figura 3.79</b> Patrón de rayos-X de la muestra conteniendo nanopartículas bimetálicas y nanoestructuras alargadas, empleando 5 ml del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> y	

una relación 3:1 en volumen de las soluciones precursoras a una concentración 5 mM.....	163
<b>Figura 3.80</b> Mapeo de las nanoestructuras alargadas sintetizadas con el extracto de <i>Aloysia triphylla</i> .....	164
<b>Figura 3.81</b> Espectro de UV-Vis de las nanopartículas bimetálicas plata-oro sintetizadas con 5 ml del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> , 5 ml de solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> y 15 ml de solución 5 mM de HAuCl <sub>4</sub> , mostrando el efecto de la velocidad de centrifugación para controlar el tamaño.....	165
<b>Figura 3.82</b> Análisis de MET mostrando el tamaño de las nanopartículas después de centrifugar las muestras a las diferentes velocidades: a) 4000 rpm, b) 6000 rpm, c) 8000 rpm y d) 10000 rpm.....	166
<b>Figura 3.83</b> Análisis de difusión de disco para evaluar la capacidad antibacterial de las nanopartículas de plata en contra de <i>E. coli</i> , empleando cuatro discos que contienen: a) extracto de la planta, b), c), d) nanopartículas de plata.....	167
<b>Figura 3.84</b> Análisis de UV-Vis mostrando la actividad catalítica de las nanopartículas de plata en la degradación de azul de metileno empleando 5 ml extracto de <i>Eriobotrya japónica</i> y 10 ml de solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> .....	169
<b>Figura 3.85</b> Análisis de UV-Vis mostrando la actividad catalítica de las nanopartículas de plata en la degradación de: a) azul de metileno y b) naranja de metilo, empleando 5 ml del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> y 10 ml de solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> .....	170
<b>Figura 3.86</b> Análisis de UV-Vis mostrando la actividad catalítica de las nanopartículas de oro en la degradación de: a) azul de metileno y b) naranja de metilo, empleando 5 ml del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> y una solución 10 mM de HAuCl <sub>4</sub> .....	171
<b>Figura 3.87</b> Análisis de UV-Vis mostrando la actividad catalítica de las nanopartículas bimetálicas plata-oro en la degradación de: a) azul de metileno y b) naranja de metilo, empleando 5 ml del extracto de <i>Aloysia triphylla</i> , 5 ml de solución 5 mM de AgNO <sub>3</sub> y 15 ml de solución 5 mM de HAuCl <sub>4</sub> .....	172

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.1</b> Características de las nanopartículas de plata sintetizadas con extractos de plantas.....	39
<b>Tabla 1.1</b> Características de las nanopartículas de plata sintetizadas con extractos de plantas ( <i>Continuación</i> ). .....	40
<b>Tabla 1.2</b> Características de las nanopartículas de plata sintetizadas con extractos de plantas.....	43
<b>Tabla 2.1</b> Experimentos a realizar para la obtención de diferentes extractos.....	71
<b>Tabla 2.2</b> Condiciones empleadas para preparar las soluciones de sales precursoras.....	72
<b>Tabla 2.3</b> Condiciones empleadas para la síntesis de nanopartículas bimetálicas. ....	73
<b>Tabla 3.1</b> Zona de inhibición mostrada por las nanopartículas de plata, sintetizadas con diferentes extractos, en contra de la bacteria <i>E. coli</i> .....	168
<b>Tabla 3.2</b> Características de las nanopartículas de plata sintetizadas con extractos de diferentes plantas .....	174
<b>Tabla 3.3</b> Distribución de tamaño de las nanopartículas de plata en función de la temperatura de la reacción.....	174
<b>Tabla 3.4</b> Tiempo de reducción del azul de metileno y naranja de metilo empleando nanopartículas de plata, oro y bimetálicas plata-oro. ....	177
<b>Tabla 3.5</b> Compuestos orgánicos involucrados en la síntesis de nanopartículas.....	178

## LISTA DE ABREVIATURAS

AgNPs	Nanopartículas de plata
AuNPs	Nanopartículas de oro
MEB	Microscopía Electrónica de Barrido
MET	Microscopía Electrónica de Transmisión
NPs	Nanopartículas
SPR	Resonancia de Plasmón Superficial

## RESUMEN

Las nanopartículas metálicas han despertado un gran interés en los últimos años, debido a sus potenciales aplicaciones, principalmente en el área de la medicina. Sin embargo, hasta ahora los procesos de síntesis más empleados requieren el uso de reactivos tóxicos, los cuales son difíciles de eliminar. La síntesis verde de nanopartículas es un método muy atractivo ya que es muy simple, económico y reproducible, el cual consiste en el uso de algún organismo, como plantas, frutos, hongos, que contenga compuestos orgánicos con la capacidad de reducir las sales metálicas y estabilizar las nanopartículas formadas. En el presente trabajo, se presentan los resultados de la síntesis verde de nanopartículas de plata, oro y bimetalicas plata-oro empleando extractos de plantas, las cuales tienen propiedades medicinales. Las nanopartículas sintetizadas fueron caracterizadas por las técnicas de espectroscopía UV-Vis, Microscopía electrónica de barrido, Microscopía electrónica de transmisión, Difracción de rayos-X y espectroscopía FT-IR.

Se determinó la capacidad antibacterial de las nanopartículas de plata sintetizadas con cada uno de los extractos seleccionados. Para esto, se analizó la inhibición del crecimiento de la bacteria *E. coli* por medio del método de difusión de disco. Los resultados fueron muy similares, sin embargo, las nanopartículas de plata sintetizadas con el extracto de *Aloysia triphylla* fueron las que mostraron los mejores resultados con un círculo de inhibición de 10.3 mm. Cabe señalar que la capacidad antibacterial depende de la concentración tamaño y forma de las nanopartículas. Por otro lado, las nanopartículas de plata, oro y bimetalicas plata-oro se analizaron como agentes catalíticos en la reducción y degradación de los solventes orgánicos: azul de metileno y naranja de metilo. En todos los casos se obtuvo la degradación del 100% de dichos compuestos en tiempos que van de 4 a 10 min.

Palabras clave: Nanopartículas de plata, nanopartículas de oro, síntesis verde, actividad catalítica, capacidad antibacterial.

## ABSTRACT

In recent years metal nanoparticles have attracted considerable interest due to their potential applications, mainly in the field of medicine. However, up to now, the most commonly employed synthesis processes require the use of toxic reagents, which are difficult to eliminate. The green synthesis of nanoparticles is a desirable method since it is easy, economical and reproducible. The process consists in the use of some organisms, like plants, fruits, or fungi, which contains organic compounds with the capacity to reduce the metallic salts and stabilize the nanoparticles. In the present work, we show the results of the green synthesis of silver, gold and silver-gold bimetallic nanoparticles using plant extracts having medicinal properties. The synthesized nanoparticles were characterized by UV-Vis spectroscopy, scanning electron microscopy, transmission electron microscopy, X-ray diffraction and FT-IR spectroscopy.

The antibacterial capacity of the silver nanoparticles synthesized with each of the selected extracts was determined. For this, the inhibition of the growth of *E. coli* bacteria was analyzed using the disc diffusion method. The results showed similar behaviors. However, the silver nanoparticles synthesized with the extract of *Aloysia triphylla* displayed the best results with a circle of inhibition of 10.3 mm. It should be noted that the antibacterial capacity depends on the concentration size and shape of the nanoparticles. On the other hand, the silver, gold, and bimetallic silver-gold nanoparticles were analyzed as catalytic agents in the reduction and degradation of the organic solvents: methylene blue (MB) and methyl orange (MO). In all cases, the degradation of 100% of dyes was obtained in times ranging from 4 to 10 min.



## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología puede ser definida como la ciencia y la ingeniería que involucra el diseño, síntesis, caracterización y aplicación de materiales y dispositivos cuya organización está en la escala nanométrica en al menos una dimensión. Las bases conceptuales de la nanotecnología fueron establecidas por primera vez en 1959 por el físico Richard Feynman, quien exploró la posibilidad de manipular un material desde la escala atómica y molecular. Sin embargo, el término nanotecnología no fue usado hasta 1974, cuando Norio Taniguchi lo usó para referirse a la capacidad de diseñar materiales precisamente en la escala nanométrica [1].

En los últimos años la nanotecnología ha crecido a pasos agigantados y este campo científico multidisciplinario está experimentando un gran desarrollo. Puede llegar a ser una gran ayuda para el cuidado de la salud humana, debido a que las nanociencias y las nanotecnologías tienen un gran potencial para aportar beneficios en áreas tan diversas como el desarrollo de medicamentos, la descontaminación del agua, tecnologías de información y comunicación y la producción de materiales más fuertes y ligeros.

Un aspecto importante de la nanotecnología es el desarrollo de nuevos procesos de síntesis de nanopartículas de metal, lo que sigue siendo un reto para los investigadores. Aunque existen una gran variedad de métodos físicos y químicos para sintetizar nanopartículas metálicas bien definidas, estos procesos tienen algunas desventajas. Por ejemplo, los métodos químicos emplean sustancias tóxicas y se pueden generar subproductos peligrosos, los cuales pueden ser adsorbidos en la superficie de las nanopartículas, conllevando a efectos adversos en sus aplicaciones. Por lo tanto, existe un gran interés por desarrollar procedimientos para sintetizar nanopartículas metálicas que sean de bajo costo, no tóxicos y ambientalmente benignos. Para lograr este objetivo se ha empleado la síntesis verde de nanopartículas, la cual consiste en el uso de fuentes biológicas entre las que se encuentran las plantas, productos de plantas, algas, hongos, bacterias, entre otros.

De las fuentes para la síntesis verde de nanopartículas metálicas, los extractos de plantas o de partes de plantas son los más empleados debido a su simplicidad, bajo costo y alta efectividad. Las características de las nanopartículas, sintetizadas empleando extractos de plantas tales como

tamaño y forma, son comparables con las obtenidas al emplear métodos de síntesis físicos y químicos. Por otra parte, entre las nanopartículas metálicas sintetizadas por medio de extractos, las nanopartículas de plata y oro han adquirido especial interés debido a sus diversas aplicaciones que incluyen el suministro en fármacos, terapias, diagnósticos, sensores, purificación de agua, etc. Algunos ejemplos bien conocidos de las plantas usadas para la síntesis de nanopartículas de plata son: *Acalypha indica*, *Allium sativum*, *Calotropis procera*, *Curcuma longa*, *Eucalyptus*, etc.; mientras que algunas plantas empleadas para la síntesis de nanopartículas de oro son: *Dioscorea bulbifera*, *Geranium*, *Parthenium*, *Psidium guajava*, etc. Cabe señalar que algunas plantas han sintetizado tanto nanopartículas de plata como de oro, entre las cuales se encuentran el *Aloe vera* y la *Camelia sinesis*. Así como éstas, varios tipos de plantas originarias de la región de Michoacán, contienen los compuestos necesarios para la reducción y la estabilización de las nanopartículas, entre los que se encuentran los flavonoides, terpenoides, proteínas y algunos ácidos, los cuales reducen los iones metálicos provenientes de las sales precursoras y evitan la aglomeración de las partículas.

Por lo tanto, la idea central de esta investigación es sintetizar nanopartículas de oro y plata y bimetalicas plata-oro por medio de extractos de plantas originarias y típicas de la región, las cuales tengan la capacidad de reducir y estabilizar dichas partículas.

## **OBJETIVO GENERAL**

Sintetizar nanopartículas de Ag, Au y bimetálicas Ag-Au empleando extractos de plantas, que actúen como agente reductor-estabilizador y la evaluación de sus propiedades antibacteriales y catalíticas.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- 1) Sintetizar las nanopartículas monometálicas de plata y oro y bimetálicas plata-oro por medio de soluciones acuosas de las sales metálicas y los extractos de las plantas.
- 2) Determinar la obtención de las nanopartículas metálicas en solución por medio de espectroscopía UV-Vis.
- 3) Evaluar la concentración de nanopartículas sintetizadas y determinar la composición química por medio de microscopía electrónica de barrido.
- 4) Evaluar las características morfológicas de las nanopartículas, tales como tamaño y forma, por medio de microscopía electrónica de transmisión.
- 5) Evaluar y determinar la influencia de diferentes factores durante la reacción de síntesis, tales como: temperatura de reacción, concentración de sal precursora y concentración del extracto.
- 6) Evaluar y determinar los grupos funcionales presentes en los extractos de las plantas por medio de FT-IR.
- 7) Determinar los compuestos provenientes de la planta que actúan como agente reductor y estabilizador.
- 8) Evaluar las propiedades antibacteriales de las nanopartículas de plata por medio del método de difusión de disco.
- 9) Analizar las propiedades catalíticas de las nanopartículas de oro, plata y bimetálicas plata-oro en la reducción de solventes orgánicos como azul de metileno y naranja de metilo.

## **HIPÓTESIS**

Los potenciales de reducción sinérgicos de los extractos incluyendo diferentes flavonoides, catequinas y fotoquímicos presentes en el té, permitirá reducir las sales de plata y oro para producir nanopartículas para sus potenciales aplicaciones en la medicina y la tecnología. La validación de esta hipótesis tendrá largas repercusiones duraderas positivas en la química, materiales electrónicos, industrias de la salud y la higiene, porque tal enfoque proporcionará una plataforma ideal para la producción de nanopartículas de oro y plata empleando 100% química verde sin la intervención de cualquier producto químico, que actúe como reductor y/o estabilizador, hecho por el hombre y siguiendo todos sus principios.

## **JUSTIFICACIÓN**

Las nanopartículas de oro y plata tienen una gran variedad de aplicaciones, sin embargo, los métodos de síntesis, hasta ahora empleados, requieren materiales costosos y tóxicos, los cuales limitan en gran medida la aplicación de las nanopartículas en algunas áreas. Debido a lo anterior, existe un gran interés en métodos de síntesis de nanopartículas empleando materiales orgánicos, los cuales sean económicos, no tóxicos y cuyos subproductos sean amigables con el medio ambiente. El presente trabajo, pretende la síntesis de nanopartículas de oro y plata las cuales puedan ser aplicadas en el campo de la medicina, tratamiento de agua y catálisis, para lo cual se emplearán sustancias orgánicas, como agentes reductores y estabilizadores, provenientes de extractos de determinadas plantas típicas del estado de Michoacán, las cuales pueden contener compuestos que pueden funcionar para la síntesis de nanopartículas.

## CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Este capítulo incluye información necesaria para el entendimiento del presente trabajo. Entre otras cosas, contiene los conceptos básicos de la nanotecnología, diversos métodos de síntesis y una amplia revisión de la síntesis verde de nanopartículas de plata, oro y bimetalicas plata-oro.

### 1.1 Clasificación de los materiales nanoestructurados

Una nanoestructura es una estructura microscópica con al menos una dimensión menor a 100 nm. Existe una gran variedad de nanoestructuras las cuales pueden ser clasificadas en base a sus dimensiones, es decir, de acuerdo al número de dimensiones espaciales que no se encuentran en el rango nanométrico ( $<100$  nm) [2]. De esta manera las nanoestructuras se pueden clasificar de la siguiente manera:

- 1) Cero-dimensional (0-D). Son materiales en los que todas sus dimensiones están dentro de la escala nanométrica. El ejemplo más común son las nanopartículas, las cuales pueden tener diversas formas.
- 2) Uno-dimensional (1-D). A diferencia de las nanoestructuras 0-D, estas tienen una de sus dimensiones fuera de la escala nanométrica. Los nanotubos, nanorodillos y nanoalambres son ejemplos de nanoestructuras 1-D.
- 3) Dos-dimensional (2-D). Son materiales en los cuales dos de sus dimensiones no se encuentran en el rango nanométrico. Ejemplos de estas nanoestructuras son nanocapas, nanopelículas y nanorevestimientos.
- 4) Tres-dimensional (3-D). A esta escala son conocidos como nanomateriales a granel, no tienen ninguna de sus dimensiones en el rango nanométrico, sin embargo, estos materiales tienen una estructura nanocristalina, es decir, están compuestos de un arreglo múltiple de cristales de tamaño nanométrico, que en su mayoría están en la misma o diferente orientación.

## 1.2 Propiedades de las nanopartículas

Las nanopartículas son de gran interés científico, ya que cierran la brecha entre los materiales a granel y las estructuras atómicas o moleculares [3]. Además, son un grupo especial de materiales con características únicas y amplias aplicaciones en diversos campos. De hecho, las nanopartículas muestran propiedades completamente únicas en comparación con sus homólogos de gran tamaño [4], los cuales tienen propiedades físicas constantes, independientemente de su tamaño, pero en la nanoescala esto a menudo no es el caso. Estas propiedades se deben, en gran medida al aumento de la superficie específica y la alta reactividad de los materiales de tamaño nanométrico [5]. A medida que tiene lugar la micronización de partículas sólidas, el área de superficie específica aumenta generalmente en proporción inversa al tamaño de partícula. Cuando una partícula cúbica de 1 cm de lado se microniza a 1  $\mu\text{m}$  y 10 nm, el área superficial específica se incrementa y es igual a diez mil y un millón de veces más, respectivamente. Dado que el incremento en el área superficial específica influye directamente en propiedades como la solubilidad y las velocidades de reacción de las partículas, esta es una de las principales razones de las propiedades únicas de las nanopartículas[6].

Por otra parte, sabemos que todas las partículas sólidas consisten de átomos o moléculas. A medida que son micronizados, tienden a ser afectadas por el comportamiento de sus propios átomos o moléculas y muestran diferentes propiedades que aquellas del sólido a granel del mismo material. Esto es atribuible a la variación del estado de unión de los átomos o las moléculas que constituyen las partículas. Por ejemplo, si un cubo con una longitud lateral de 1 cm se divide en cubos de 1  $\mu\text{m}$ , el número de partículas aumenta a  $10^{12}$  donde la fracción de los átomos o las moléculas situadas en la superficie de las partículas juega un gran papel, ya que son más activas que dentro de las partículas sólidas, lo que conduce a la fácil unión con materiales en contacto y provoca diversos cambios en las propiedades de las partículas [6]. Se ha mostrado la relación entre el tamaño de partícula y la fracción de número de átomos situados en la superficie de la partícula. Por ejemplo, para una partícula de 20  $\mu\text{m}$ , el porcentaje de átomos en la superficie es de sólo 0.006%, pero aumenta a 0.6% para una partícula de 200 nm y para una partícula de 2 nm casi la mitad de los átomos están situados en la superficie [6].

Con el incremento del área superficial y del porcentaje de átomos activos en la superficie, se incrementa la energía superficial total de las nanopartículas. Se ha demostrado que una partícula de cloruro de sodio de 1  $\mu\text{m}$  tiene una energía superficial de 0.56 J/g, mientras que para una partícula de 1 nm es de 560 J/g [7]. De esta manera, todos los nanomateriales poseen una gran energía superficial, lo cual puede explicarse de acuerdo a como se describe a continuación. Los átomos que se encuentran en la superficie de una partícula tienen números de coordinación más pequeños y por lo tanto tienen enlaces libres o insatisfechos. Debido a estos enlaces libres, los átomos superficiales se encuentran bajo fuerzas internas y la distancia de enlace entre los átomos de la superficie y los internos es más pequeña que la existente entre los átomos que se encuentran al interior de la partícula. A medida que las partículas son más pequeñas la reducción de la longitud de enlace es más significativa y por lo tanto la energía superficial, también llamada tensión superficial, se incrementa en los átomos externos [7]. Lo anterior conlleva a que las nanopartículas presenten propiedades morfológicas, ópticas, mecánicas, térmicas y electromagnéticas únicas.

### **1.2.1 Propiedades estructurales**

La estructura cristalina de las partículas puede cambiar en función del tamaño de partícula dentro del rango nanométrico. Se ha reportado que para nanopartículas de  $\text{PbTiO}_3$  los cristales tetragonales disminuyen y los cristales cúbicos aumentan cuando se alcanza un tamaño de 18 nm [6]. El tamaño de partícula para el cual se presentan este tipo de cambios es diferente para cada material.

### **1.2.2 Propiedades térmicas**

A medida que la influencia de los átomos localizados en la superficie de las nanopartículas incrementa, el punto de fusión de los materiales disminuye significativamente. Se ha reportado que el punto de fusión del oro disminuye 500° respecto al punto de fusión a nivel micrométrico, cuando el tamaño de las partículas fue de 10 nm. Este comportamiento se atribuye a la agregación y tamaño de cristal de las nanopartículas [8].

### **1.2.3 Propiedades electromagnéticas**

Las propiedades electromagnéticas son afectadas por la disminución del tamaño de las partículas. Se ha reportado que la constante dieléctrica  $\text{PbTiO}_3$  incrementa considerablemente cuando el tamaño de partícula es menor de 20 nm. Por otra parte, el punto de Curie se ve disminuido con la reducción del tamaño en la escala nanométrica [9].

### **1.2.4 Propiedades ópticas**

Cuando el tamaño de las partículas disminuye hasta el rango nanométrico, estas absorben la luz a longitudes de onda específicas. Lo anterior se debe a la oscilación de los electrones y a la luz transmitida con diferente color dependiendo del tipo de material y del tamaño de las partículas [10].

### **1.2.5 Propiedades mecánicas**

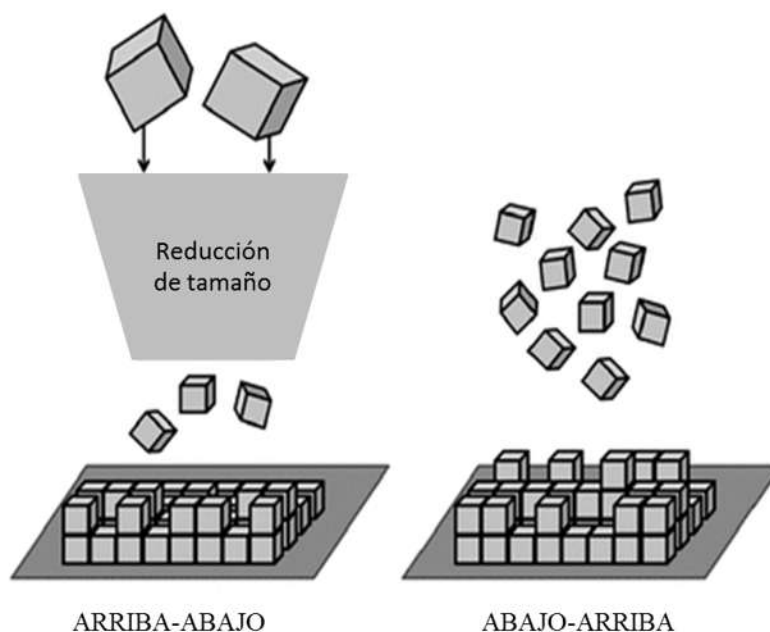
La dureza de los materiales cristalinos generalmente incrementa con la disminución del tamaño de cristal y la resistencia mecánica aumenta de forma significativa debido a la micronización del material en el rango nanométrico [11].

## **1.3 Métodos de síntesis de nanopartículas.**

Los métodos para fabricar nanopartículas generalmente se clasifican en dos categorías: “arriba-abajo” y “abajo-arriba” (ver figura 1.1). Los métodos arriba-abajo consisten en técnicas de miniaturización que parten de una partícula macro o microscópica reduciéndola hasta un tamaño deseado. Estos métodos tienen una gran desventaja, ya que introducen imperfecciones o defectos en la estructura de la superficie de las partículas, lo cual pudiera tener un impacto significativo en las propiedades físicas de las nanopartículas [3]. A pesar de las imperfecciones de la superficie y otros defectos que los métodos arriba-abajo pueden introducir, estas técnicas seguirán desempeñando un papel importante en la síntesis y fabricación de nanoestructuras y nanomateriales.

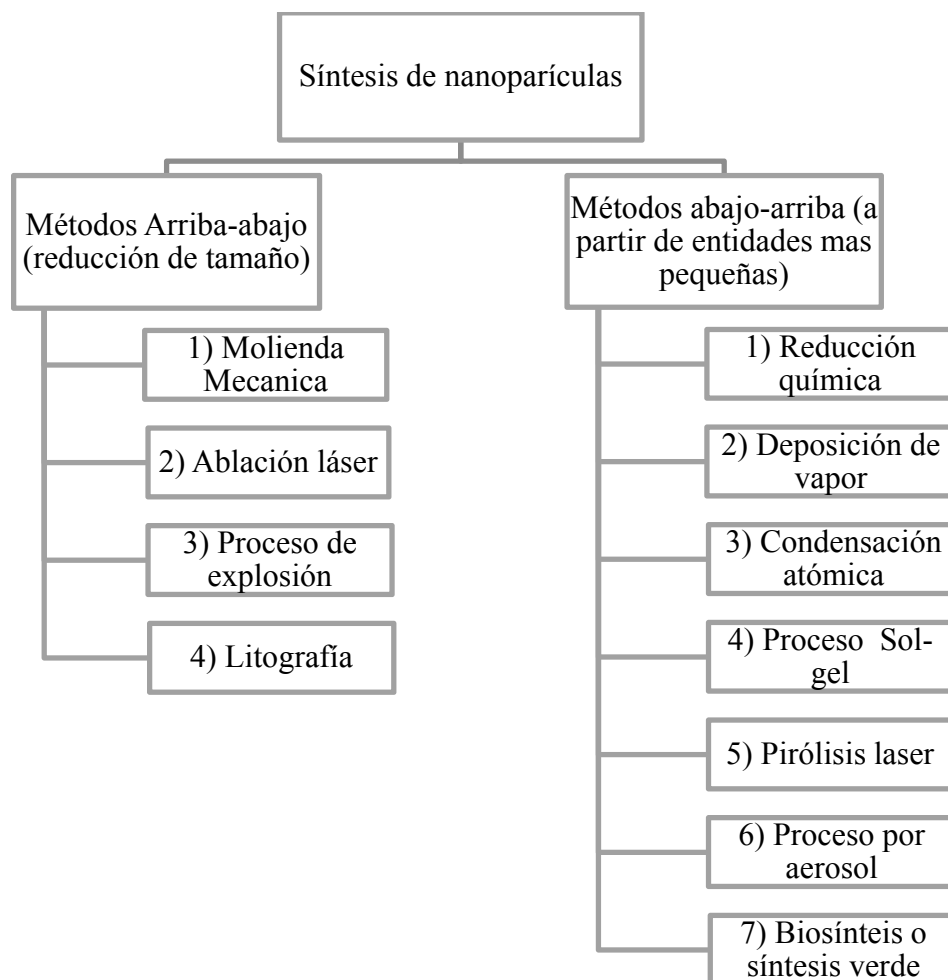


Por otra parte, los métodos abajo-arriba se basan en la construcción de nanoestructuras átomo por átomo, molécula por molécula, haciendo uso de las fuerzas físicas o químicas presentes a nivel atómico o molecular. En general, los métodos químicos son de bajo costo para grandes volúmenes, sin embargo, sus desventajas incluyen la contaminación de los precursores químicos, el uso de disolventes tóxicos y generación de subproductos peligrosos [3].



**Figura 1.1** Principio de síntesis de los métodos arriba-abajo y abajo-arriba para la fabricación de nanopartículas.

Algunos ejemplos de las principales técnicas de cada uno de los enfoques se muestran en la figura 1.2, destacando la molienda mecánica, ablación láser, procesos de explosión y litográficos como técnicas arriba-abajo. Por otro lado, las técnicas abajo-arriba más empleadas comprenden la reducción química, deposición de vapor, condensación, pirolisis, procesos sol-gel, biosíntesis, entre otras.



**Figura 1.2** Clasificación de las técnicas de síntesis de nanopartículas.

Una de las principales técnicas del tipo abajo-arriba es la reducción química, la cual generalmente se lleva a cabo en una solución acuosa o no acuosa que contiene la sal metálica disuelta. La síntesis por medio de esta técnica involucra fenómenos tales como reducción, nucleación, crecimiento, estabilización o aglomeración [12]. La concentración de los agentes así como la temperatura juegan un papel importante en la producción de nanopartículas monodispersas, mientras que el tamaño de partícula y la distribución de tamaño de partícula pueden ser controlados variando tanto la temperatura como el valor del PH [13]. Para llevar a cabo la síntesis de nanopartículas por medio de la reducción química se requiere de tres sustancias que son: un agente precursor, agente reductor y agente estabilizador.

- a) Agente precursor: generalmente se tratan de sales que contienen el ión metálico del cual se pretende obtener las nanopartículas. Por ejemplo, para la síntesis de nanopartículas de plata, el agente precursor más empleado es el nitrato de plata debido a su estabilidad química, su costo y su fácil manejo [14].
- b) Agente reductor: se refieren a cualquier agente químico o biológico que provea electrones libres para llevar a cabo la reducción de los iones metálicos [15]. La elección del agente reductor es un paso crítico en la síntesis de nanopartículas y está íntimamente relacionado con la naturaleza del precursor metálico. A lo largo de las últimas décadas diversos agentes reductores han sido utilizados, por ejemplo el borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ), el citrato de sodio ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_3\text{Na}_3$ ), la hidracina ( $\text{N}_2\text{H}_4$ ), azúcares como la glucosa, fructuosa y lactosa, el etilen glicol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$ ), hidrógeno, entre otros [16-22]. Entre todos los agentes reductores tanto el borohidruro de sodio como el citrato de sodio han sido los más usados.
- c) Agente estabilizador: (también llamado agente protector) es utilizado en la síntesis de nanopartículas con la finalidad de prevenir la aglomeración de las mismas así como para controlar su tamaño. Las nanopartículas poseen una gran cantidad de energía superficial y por lo tanto son termodinámicamente inestables por lo que tienden de forma natural a aglomerarse. Conforme se reducen las dimensiones de los materiales nanoestructurados, las fuerzas de atracción de Van der Waals se vuelven más significativas, por lo que sin la aplicación de un mecanismo de estabilización adecuado, las partículas nanométricas tienden a agregarse formando partículas macroscópicas, las cuales precipitan del medio en el cual están dispersas [23]. Idealmente, los mejores agentes estabilizadores, en el caso de las nanopartículas, serían aquellos de naturaleza iónica, que se adsorban fuertemente sobre la superficie de la partícula y que estabilicen a las partículas mediante mecanismos electrostáticos y estéricos. Entre los estabilizadores más utilizados se encuentran los surfactantes como el SDS y el CTAB, compuestos que contienen los grupos funcionales carboxílicos ( $-\text{COOH}$ ) o aminos ( $\text{NH}_2$ ). Además de algunos polímeros como el PVP y el PVA entre otros [14, 24].

Otro método de síntesis de nanopartículas, el cual ha adquirido gran importancia en los últimos años, es la síntesis verde, también conocida como biosíntesis, la cual puede ser considerada como una modalidad del método de reducción química, ya que también consiste en la reducción de iones provenientes de sales precursoras en solución. La única variante es que tanto el agente reductor como el agente estabilizador son proporcionados por los compuestos provenientes de microorganismos tales como algas, frutos, plantas, extracto de plantas, entre otros. Dicho método de síntesis se discute más a detalle en la siguiente sección.

#### **1.4 Síntesis verde de nanopartículas**

En la actualidad existen varios métodos para la síntesis de nanopartículas, entre los que destacan los métodos químicos, sin embargo, estos procesos involucran sustancias tóxicas, contaminación debido a los precursores empleados y generación de subproductos peligrosos [25]. Debido a lo anterior los métodos de síntesis biológicos no tóxicos y benignos para el ambiente son muy atractivos, especialmente si están destinados para aplicarse en el campo de la medicina. La síntesis verde es útil no solo por su bajo impacto ambiental comparado con otros métodos de producción, sino también porque puede ser utilizada para producir grandes cantidades de nanopartículas que están libres de contaminación y que tienen un tamaño y morfología bien definidos [26]. El organismo empleado reduce los iones de plata en plata metálica para posteriormente recubrirlas evitando la agregación y controlando el tamaño y forma para obtener partículas de tamaño nanométrico [27]. Otra de las ventajas que posee la síntesis verde sobre otros métodos químicos, es que las nanopartículas resultantes pueden ser estables en solución hasta por 6 meses [28].

#### **1.5 Organismos empleados para la síntesis verde de nanopartículas.**

Varias rutas han sido desarrolladas para la síntesis verde de nanopartículas a partir de sales de los metales correspondientes; para esto se han empleado bacterias, hongos, frutos, extractos de plantas y algas marinas, los cuales actúan como agentes reductores y estabilizadores [3, 29].

### **1.5.1 Bacterias**

Entre las fuentes naturales del medio ambiente, la bacteria procariotica ha sido ampliamente investigada para la síntesis de nanopartículas metálicas. Una de las razones de la preferencia por las bacterias para la síntesis de nanopartículas es su relativamente fácil manipulación [3]. Shivaji y col [30], estudiaron la síntesis de nanopartículas de plata empleando cinco bacterias psicrófilicas y dos mesófilicas que fueron *Pseudomonas* antártica, *Pseudomonas* proteolítica, *Pseudomonas* meridiana, *Arthrobacter* kerguelensis, *Arthrobacter* gangotriensis, *Bacillus indicus* y *Bacillus cecembensis*, respectivamente. En todos los casos se observó la formación de nanopartículas de morfología esférica, cuyo tamaño más grande fue de 13.3 nm para cuando se empleó *Pseudomonas* antártica y el tamaño más pequeño fue de 6.1 nm cuando se usó *Bacillus indicus*. Además, determinaron que los factores de los que dependen la forma y tamaño de las nanopartículas es la temperatura, el PH, la temperatura de incubación y del tipo de bacteria empleada. El mecanismo para la síntesis de nanopartículas por medio de bacterias no está muy claro. Se han encontrado algunos componentes presentes en las culturas de las bacterias que pudieran ser los causantes de la reducción y estabilización; sin embargo, al evaluar dichos componentes por separado, los resultados no son mejores que aquellos en los que la síntesis se realiza con las bacterias, por lo que se ha establecido que existe un factor o una sustancia presente en las bacterias que ayuda a la síntesis de nanopartículas [30].

### **1.5.2 Hongos**

El uso de hongos para la síntesis de nanopartículas tiene una ventaja que es su facilidad de reproducción. Debido a que los hongos son extremadamente excelentes segregadores de enzimas, es posible obtener fácilmente una producción de enzimas a gran escala. Otras ventajas del uso de hongos para la síntesis de nanopartículas metálicas incluyen su viabilidad económica y su fácil manejo [3]. Mukherjee y col [31], estudiaron la síntesis de nanopartículas de plata usando un hongo *Verticillium*, observando que la exposición del hongo con los iones acuosos de  $Ag^+$ , resulta en una reducción de los iones metálicos y en la formación de nanopartículas de plata con un rango de tamaño de  $25 \pm 12$  nm. En otra investigación, Syed y col [32] realizaron la síntesis de nanopartículas de plata empleando  $AgNO_3$  y el hongo *Humicola*. La reducción se llevó a cabo en

pocos minutos, lo cual fue determinado por el cambio de color de las mezclas de amarillo a café. El tamaño de las nanopartículas fue de 5-25 nm con una morfología predominantemente esférica. El mecanismo de reducción y estabilización por medio de hongos no está claro, sin embargo, en este estudio se determinó que los hongos segregan proteínas durante la reacción, las cuales reducen, estabilizan y previenen la aglomeración de las nanopartículas.

### **1.5.3 Algas**

Existen pocas investigaciones en las que hayan utilizado algas marinas para la síntesis de nanopartículas metálicas. Se ha determinado que los pigmentos de las algas, tales como fucoxanthins, un tipo de carotenoides rico en grupos hidroxilo, puede participar en la reducción de iones de oro ya que estos pigmentos tienen propiedades reductoras. Además, estos pigmentos solubles pueden actuar como agentes protectores, previniendo la agregación de las nanopartículas, por lo cual juegan un papel importante tanto en la reducción como en la forma de las nanopartículas [33]. El primer reporte fue el realizado por Singaravelu y col [34] quienes emplearon el alga *Sargassum wightii* para sintetizar nanopartículas de oro. La reacción de síntesis tuvo lugar en un periodo corto de tiempo comparado con otros sistemas de síntesis verde, de manera que el 95% de los iones de  $\text{AuCl}_4^-$  ocurrió dentro de las primeras 12 horas en condiciones de agitación. Otra alga marina utilizada en la síntesis de nanopartículas de oro fue *Padina gymnospora* [35]. En este caso, las nanopartículas obtenidas fueron polidispersas con una morfología esférica y con un rango de tamaño de 53 a 67 nm, las cuales están rodeadas por algunas proteínas y metabólicos secundarios que son los causantes de la reducción y estabilización de las nanopartículas.

La síntesis de nanopartículas de plata por medio de algas marinas también ha sido estudiada. Un ejemplo de ello es la investigación realizada por Kannan y col [36], quienes emplearon el alga *Chaetomorpha linum* para sintetizar nanopartículas de plata con un rango de tamaño de 3 a 44 nm. Al igual que en las anteriores investigaciones, las aminas, péptidos, flavonoides y terpenoides, presentes en el extracto del alga, estuvieron involucrados en la reducción y estabilización de las nanopartículas de plata.

#### **1.5.4 Extractos de plantas**

La habilidad de los extractos de plantas para reducir iones metálicos se sabe desde inicios de 1900, aunque la naturaleza de los agentes reductores involucrados no está bien entendida. En vista de su simplicidad, el uso de plantas vivas o de extractos de plantas completas y tejidos de plantas para reducir sales metálicas a nanopartículas ha atraído considerable atención en los últimos 30 años [37]. Comparado con el uso de extractos de plantas completas, tejidos de plantas y otros organismos, el uso de extractos de plantas para fabricar nanopartículas es más simple. Los procesos para fabricar nanopartículas usando extractos de plantas son escalables y pueden ser menos caros comparados con los métodos relativamente caros que se basan en procesos microbianos y plantas completas [38]. Los extractos de plantas pueden actuar tanto como agente reductor como también agente estabilizador en la síntesis de nanopartículas. La fuente del extracto de planta influye las características de las nanopartículas; esto se debe a que diferentes extractos contienen diferentes concentraciones y combinaciones de agentes reductores orgánicos. Debido al número de diferentes químicos involucrados, el proceso de bioreducción es relativamente complejo [38].

#### **1.6 Síntesis verde de nanopartículas de plata empleando extractos de plantas.**

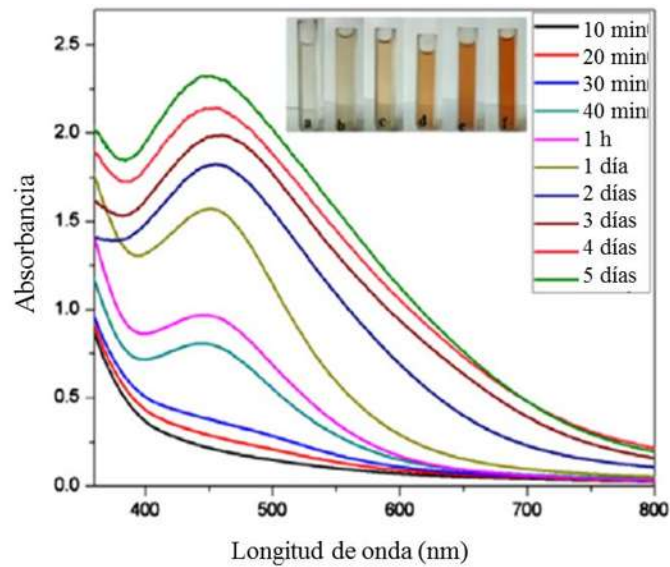
El primer indicativo de la síntesis de nanopartículas de plata es un cambio en el color de la solución, de amarillo claro a café oscuro [39, 40]. Este cambio de color se debe a la excitación de las vibraciones de resonancia de plasmón superficial (SPR) de las nanopartículas de plata. El color final de la solución es dependiente de varios factores que van desde el color inicial del extracto hasta características de las nanopartículas tales como tamaño y forma. Debido a la presencia de diversos compuestos orgánicos, las nanopartículas obtenidas pueden presentar diferentes tamaños y morfologías. Vijayakumar et. Al, sintetizaron nanopartículas de plata empleando un extracto de *A. nilagirica*, las cuales eran predominantemente cuadradas y de tamaño uniforme de aproximadamente 70-90 nm. Además, un pequeño porcentaje de las nanopartículas eran esféricas y se encontraban en el rango de tamaño de 10-45 nm. También fueron observadas nanopartículas de forma triangular y hexagonal. El tamaño de las nanopartículas se relacionó con la cantidad de extracto empleado ya que las nanopartículas

cuadradas aumentaron a cerca de 70 nm cuando la dosis de extracto de *A. nilagirica* aumentó a 20 ml [40].

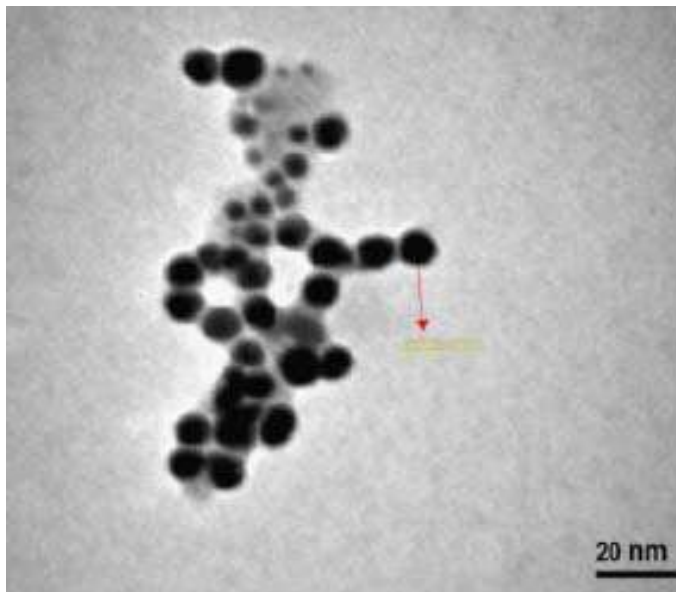
Por otra parte, la síntesis de nanopartículas por medio de extractos de plantas es relativamente rápida. Rao y col [41] sintetizaron nanopartículas de plata empleando un extracto de hojas de *Ocimum sanctum*. Las nanopartículas fueron rápidamente obtenidas en alrededor de 15 minutos, con una forma triangular y un rango de tamaño de 6-110 nm. Otra de las plantas empleadas es la *Sesbania grandiflora* [42]. En este caso, la síntesis se llevó a cabo en un tiempo de incubación de 1 h después de que el extracto se adicionó a la sal precursora de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ). El color de la mezcla de la reacción cambio de transparente a café, lo cual indicó la formación de las nanopartículas de plata.

Una de las herramientas más empleadas para analizar la formación y evolución de las nanopartículas es la espectroscopía de UV-Vis. Bindhu y col, emplearon  $\text{AgNO}_3$  como agente precursor y un extracto de hojas de *Hibiscus cannabinus* como agente reductor y analizaron la evolución de las nanopartículas de plata a diferentes tiempos de reacción (10, 20, 30, 40 y 60 min, 1, 2, 3, 4 y 5 días), cuyos resultados se muestran en la figura 1.3 [43]. Primeramente, se observan los cambios en el color en la mezcla que contiene las nanopartículas de plata (AgNPs) a los diferentes tiempos de reacción. Posteriormente, en el espectro UV-Vis se observa la banda centrada a 446 nm, característica de las AgNPs. La formación comienza a los 30 min e incrementa hasta los 5 días, después de lo cual solo se observa una ligera variación. El incremento en la intensidad del pico a medida que incrementa el tiempo de reacción indica un aumento en la concentración de las AgNPs. Este comportamiento implica que las nanopartículas (NPs) son muy estables y no muestran agregación o aglomeración de las mismas. Las características de las NPs lograron confirmarse por medio de la técnica de microscopía, como se observa en la figura 1.4, la cual es una micrografía en donde se puede apreciar la forma esférica y el tamaño nanométrico de las partículas. Dicho tamaño nanométrico fue determinado por medio de la técnica de microscopía de fuerza atómica, cuyos resultados arrojaron que la mayoría de las nanopartículas se encuentran en un rango de tamaño de 10-20 nm. Otro aspecto importante que se puede notar es la existencia de una capa orgánica la cual se encuentra estabilizando, encapsulando y ordenando a las nanopartículas sintetizadas.





**Figura 1.3** Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata preparadas a diferentes tiempos de reacción [43].



**Figura 1.4** Micrografía Electrónica de Transmisión en la cual se observa tanto el tamaño como la forma de las nanopartículas de plata [43].

Como se mencionó anteriormente, el uso de extractos de plantas es mayor en comparación con el uso de otros organismos debido a las diferentes ventajas mostradas por dichos extractos. La tabla

1.1 muestra algunas de las plantas empleadas en la síntesis de nanopartículas de plata y las características obtenidas. Como se puede observar, las nanopartículas tienen morfología esférica en su mayoría, ya que en algunos trabajos también se sintetizaron morfologías triangulares, hexagonales e irregulares. Respecto al tamaño, es importante notar el amplio rango obtenido en la mayoría de los trabajos. Lo anterior se debe a la gran cantidad de compuestos orgánicos involucrados tanto en la reducción como en la estabilización de las nanopartículas.

**Tabla 1.1** Características de las nanopartículas de plata sintetizadas con extractos de plantas.

<b>PLANTA</b>	<b>TAMAÑO (nm)</b>	<b>MORFOLOGÍA</b>	<b>REFERENCIA</b>
<i>Calliandra haematocephala</i>	13-91	Esférica	[44]
<i>Sargassum polycystum</i>	28	Esférica	[45]
<i>Ginkgo Biloba</i>	10-16	Esférica	[46]
<i>Alstonia scholaris</i>	15-25	Esférica	[47]
<i>Terminalia cuneata</i>	25-50	Irregular	[48]
<i>Physalis angulata</i>	11-96	Irregular	[49]
<i>Atrocarpus altilis</i>	20-50	Esférica	[50]
<i>Skimmia laureola</i>	46	Esférica, hexagonal	[39]
<i>Peumus boldus</i>	2-67	Esférica, irregular	[51]
<i>Salvadora persica</i>	10-90	Esférica, hexagonal, triangular	[52]
<i>Morinda citrifolia</i>		Esférica	[53]
<i>Artemisia nilagirica</i>		Esférica	[40]
<i>Ocimum sanctum</i>	6-110	Esférica, triangular	[41]
<i>Vitex negundo</i>	5-47	Esférica, cúbica	[54]
<i>Aegle marmelos</i>	40-164	Esférica	[55]
<i>Ficus religiosa</i>		Esférica, irregular	[56]
<i>Sesbania grandiflora</i>	10-25	Esférica	[42]
<i>Hibiscus cannabinus</i>	7-25	Esférica	[43]

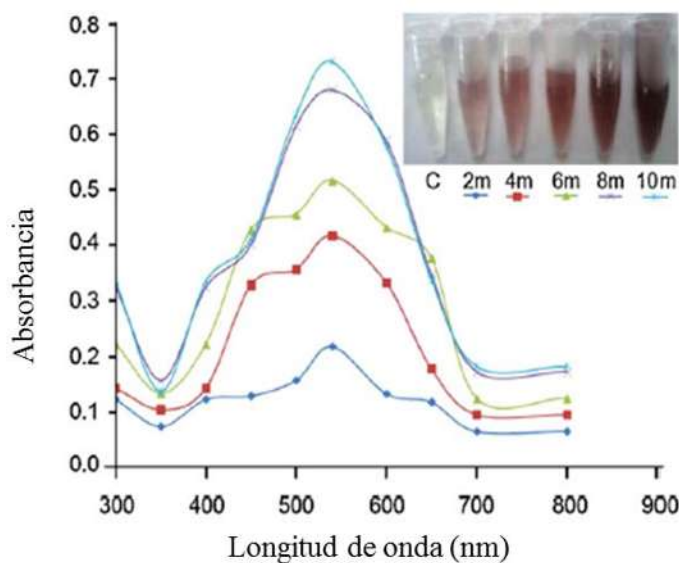
**Tabla 1.1** Características de las nanopartículas de plata sintetizadas con extractos de plantas  
(Continuación).

PLANTA	TAMAÑO (nm)	MORFOLOGÍA	REFERENCIA
<i>Malva parviflora</i>	10-40	Esférica, irregular	[57]
<i>Euphorbia helioscopia</i>	2-15	Esférica	[58]
<i>Mussaenda erythrophylla</i>	22-130	Esférica	[59]
<i>Limonia Acidissima</i>	20-40	Esférica	[60]

### 1.7 Síntesis verde de nanopartículas de oro empleando extractos de plantas.

El interés por las nanopartículas de oro (AuNPs) ha ido incrementando debido a sus propiedades citotóxicas para aplicaciones en farmacología, medicina, industria alimentaria, purificación de agua, etc. Además, son materiales biocompatibles con varias aplicaciones biológicas que incluyen la administración en fármacos, sensores e imágenes para detectar tumores [61]. Sin embargo, las técnicas para la síntesis de AuNPs, incluyendo reducción química, ablación laser y aerosol son técnicas costosas, por lo cual el desarrollo de una técnica económica y amigable con el medio ambiente, tal como la síntesis por medio de plantas, es de gran interés. La síntesis verde de nanopartículas de oro ha sido reportada recientemente para lo cual se han empleado plantas o extractos de plantas. Jayaseelan y col, sintetizaron AuNPs empleando un extracto acuoso de *Abelmoschus esculentus* [62]. En este caso la reacción se completó en un tiempo de 10 min ya que a partir de este tiempo no hubo cambio de coloración en la solución y posteriormente esto fue reafirmado por medio de espectroscopía UV-Vis, cuyos resultados se muestran en la figura 1.5. Como se puede observar la resonancia del plasmón superficial de las AuNPs corresponde a 536 nm, cuya intensidad va incrementando a medida que se incrementa el tiempo de reacción hasta llegar a 10 min y después de este tiempo, únicamente se observan ligeras variaciones en la intensidad del plasmón. Las NPs obtenidas tuvieron una morfología predominantemente esférica y algunas de formas irregulares, obteniendo un rango de tamaño de 45-75 nm. La existencia tanto de NPs pequeñas como grandes se debió a la formación de nanopartículas en las primeras y en las

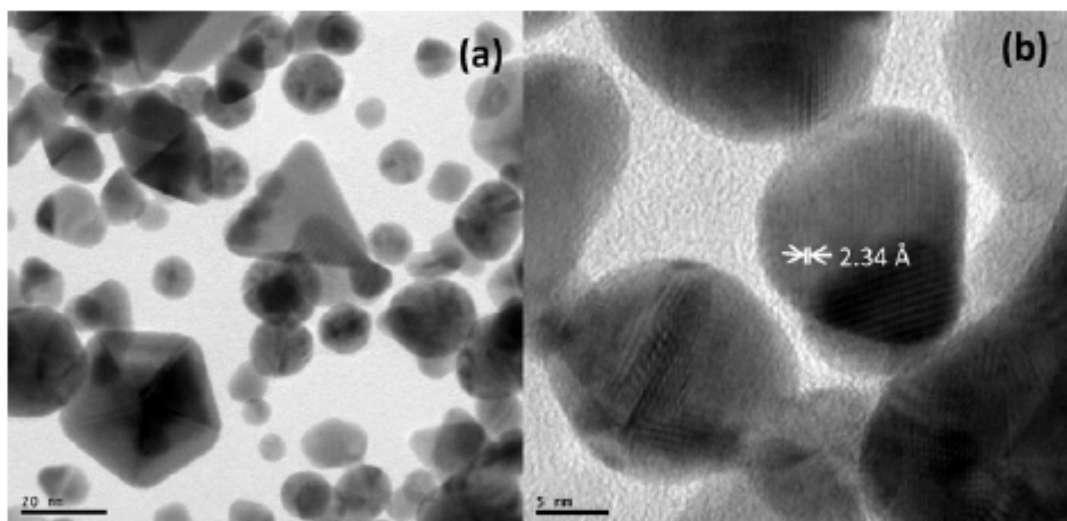
últimas etapas de la reacción, lo cual muestra que la nucleación para formar nuevas Nps y la agregación para formar partículas más grandes ocurrió consecutivamente.



**Figura 1.5** Espectro de UV-Vis para las nanopartículas de oro en función del tiempo de reacción mostrando el pico a 536 nm [62].

Otro de los extractos empleados en la síntesis de AuNPs es el de *Terminalia chebula*, que fue utilizado por Kumar y col, obteniendo NPs en un rango de 6-60 nm, que en este caso, fueron sintetizadas instantáneamente ya que el proceso fue monitoreado con un potenciómetro y se observó un fuerte decrecimiento en el potencial en los primeros 5 segundos de interacción entre ácido cloroáurico y el extracto, indicando la formación de las NPs. [63] Además, diversas morfologías fueron obtenidas las cuales se muestran en las micrografías de la figura 1.6. Como se puede observar, las nanopartículas obtenidas consisten de triángulos, pentágonos y esferas. La estabilidad de las NPs esféricas producidas al inicio de la reacción se debió a la suficiente disponibilidad de biomoléculas protectoras. Por otra parte, las partículas formadas después fueron menos estables debido a la menor disponibilidad de moléculas protectoras. Debido al proceso de reducción rápida, estas AuNPs menos protegidas conllevan al desarrollo de nanopartículas triangulares y pentagonales [64]. Esas NPs triangulares y pentagonales tienen una energía superficial muy alta, por lo que sufren de un proceso de contracción para minimizar su energía superficial, lo que resulta en pentágonos y triángulos de ángulos suaves. Morfologías similares

fueron obtenidas por Gaware y col, quienes emplearon ácido cloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) como agente precursor y extracto de hojas de *Piper betle* como agente reductor y estabilizador [65]. Sin embargo, la presencia de las nanopartículas en forma de hexágonos y triángulos truncados fue determinada a 12 horas de reacción.



**Figura 1.6** Morfología de las nanopartículas de oro a) MET y b) HRTEM [63].

Como se ha mencionado el tiempo de reacción para la síntesis es variable, aunque en la mayoría de los casos se requiere de tiempos cortos. Se ha reportado que la síntesis de AuNPs es una de las reacciones más rápidas a temperatura ambiente [66]. En la investigación realizada por Noruzi y col, se determinó, que la reacción comenzó tan rápido como los agentes fueron mezclados y el color de la mezcla inmediatamente cambio de amarillo, que era el color del extracto, a violeta. Posteriormente, esto fue confirmado por medio de los espectros de UV-Vis los cuales fueron realizados cada 5 minutos hasta llegar a 25, en los que no se observan una diferencia significativa con lo que se corrobora que la reacción se completó en los primeros minutos de la reacción [67]. Por otra parte, Kaur y col, sintetizaron nanopartículas de oro empleando un extracto de *Syzygium aromaticum*. En este caso la reacción de síntesis comenzó a los 5 min a partir de que el extracto se puso en contacto con la solución conteniendo la sal precursora. La síntesis de NPs incrementa a medida que el tiempo de reacción aumenta concluyendo en aproximadamente 1 h y a partir de este tiempo y hasta las 24 h no se observaron cambios apreciables en la coloración de las

muestras ni en los espectros de absorción UV-Vis [68]. Con lo anterior se puede concluir que, al igual que en el caso de las AgNPs, el tiempo en el que se completa la síntesis de las AuNPs depende de los compuestos orgánicos presentes en los extractos de las plantas que son usados como agentes reductores y estabilizadores. Otras de las plantas empleadas para la síntesis de nanopartículas de oro se muestran en la tabla 1.2, así como el tamaño y morfología obtenidos.

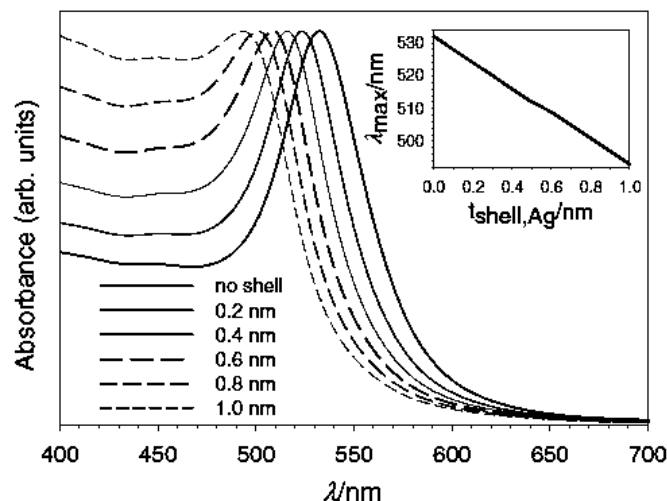
**Tabla 1.2** Características de las nanopartículas de plata sintetizadas con extractos de plantas.

PLANTA	TAMAÑO	MORFOLOGÍA	REFERENCIA
<i>Coleus aromaticus</i>	10-90	Esférica, triangular	[69]
<i>Punica granatum</i>	71±8	Esférica, triangular	[70]
<i>Cypress</i>	5-94	Esférica, irregular	[61]
<i>Terminalia chebula</i>	6-60	Esférica, triangular, pentagonal	[63]
<i>Syzygium aromaticum</i>	4-150	Poligonal, triangular	[68]
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	15-25	Esférica, hexagonal	[71]
<i>Momordica</i> <i>co-</i> <i>chinchinensis(Lour.) Spreng</i>	10-80	Esférica, triangular	[72]
<i>Opuntia ficus-indica</i>	10-20	Esférica, triangular, hexagonal	[73]
<i>Nepenthes khasiana</i>	125-180	Esférica, triangular	[74]
<i>Stachys lavandulifolia</i>	34-80	Esférica, triangular, hexagonal	[75]
<i>Elaise Guineensis</i>	55±42	Esférica, triangular	[76]
<i>Pogestemon benghalensis</i>	10-50	Esférica-triangular	[77]
<i>Antigonon leptopus</i>	13-28	Esférica, triangular	[78]
<i>Cymbopogon citratus</i>	20-50	Esférica, triangular, hexagonal	[79]
<i>Chloroxylon swietenia</i>	18-37	Esférica, irregular	[80]
<i>Stevia rebaudiana</i>	5-20	Esférica, irregular	[81]

## **1.8 Síntesis verde de nanopartículas bimetálicas plata-oro empleando extractos de plantas**

Las nanopartículas bimetálicas han mostrado gran interés debido a sus propiedades, las cuales son mejores que las nanopartículas monometálicas de los elementos que las conforman. En el caso de las NPs bimetálicas núcleo-coraza, el espesor de la coraza juega un papel muy importante en las propiedades finales de las nanopartículas; a medida que incrementa este espesor, los efectos en las propiedades ópticas aumentan. Por otra parte, la síntesis de nanopartículas bimetálicas se lleva a cabo sintetizando semillas del elemento núcleo para posteriormente reducir fácilmente el metal de la coraza sobre la superficie del núcleo; a este proceso se le conoce como método de dos pasos. La obtención de nanopartículas plata/oro se puede monitorear fácilmente por UV-Vis, ya que el SPR de estos elementos aparece en longitudes de onda diferentes (420-450 nm para la plata y 520-560 nm para el oro); cuando la coraza es muy delgada, la banda de absorción se encuentra más próxima a la banda perteneciente al núcleo. A medida que el espesor de la coraza incrementa, la banda de absorción se mueve hasta llegar a la posición de la banda del elemento de la coraza. Shore y col, realizaron simulaciones demostrando la variación de las propiedades ópticas de las nanopartículas bimetálicas oro/plata al incrementar el espesor de la capa de plata [82]. Tal como se puede observar en la figura 1.7, la banda de las nanopartículas de oro se encuentra centrada en 540 nm, aproximadamente. A medida que el espesor de la capa de plata aumenta, la banda de absorción se mueve hacia longitudes de onda menores hasta llegar a centrarse en 500 nm cuando la capa de plata tiene un espesor de 1 nm.

Por otro lado, también es posible sintetizar nanopartículas bimetálicas, conocidas como nanoaleaciones. Este tipo de materiales presenta una sola banda de absorción, cuya ubicación depende directamente de las concentraciones de sales precursoras empleadas, tal como lo reportó Mondal y col, quienes observaron que al incrementar la fracción molar de oro, la banda de absorción de la nanoaleación se movía, aproximándose a la posición de la SPR del oro [83]. Dicho comportamiento se debe, precisamente, al incremento de los efectos y propiedades ópticas del elemento que se encuentra en mayor proporción. Otro método para obtener una nanoaleación es por medio de un tratamiento térmico. Shore y col, sintetizaron nanopartículas bimetálicas Au/Ag (núcleo/coraza), las cuales sometieron a un tratamiento térmico a 250 °C, provocando la difusión de los átomos de plata y consecuentemente, la formación de una nanoaleación [82].



**Figura 1.7** Simulación del espectro de UV-Vis mostrando la influencia del espesor de la coraza en la posición de la banda de absorción [82].

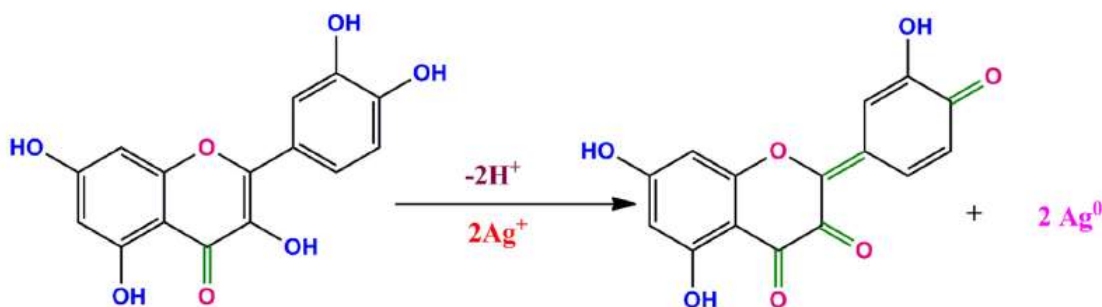
### 1.9 Mecanismo de reacción en la síntesis de nanopartículas empleando extractos de plantas

Durante la formación de NPs metálicas, hay tres componentes obligatorios que deben estar presentes, que son el agente reductor, el agente estabilizador y un medio disolvente que puede solubilizar el metal de interés [84]. La biosíntesis de NPs es considerada como un proceso verde debido a que el propio extracto de la planta puede actuar tanto como agente reductor y estabilizador. Además, la mayoría de las síntesis de NPs metálicas por medio de plantas se logró realizar en un medio acuoso en lugar de disolventes orgánicos, lo que es aparentemente más favorable al medio ambiente y más rentable. Lukman propuso que hay tres etapas distinguibles las cuales ocurren durante el proceso de síntesis: un periodo de activación, un crecimiento de fase y un periodo de terminación [85].

La etapa de activación es aquella en la que los agentes reductores entran en contacto con los iones metálicos, los cuales son transformados a sus estados cero-valentes y posteriormente tiene lugar la nucleación de los átomos formados. En ausencia de otros ligantes fuertes, los iones metálicos pueden interactuar con el extracto de la planta a través de enlaces iónicos con los agentes reductores bio-orgánicos.[25]. Independientemente del tipo de compuesto responsable en la



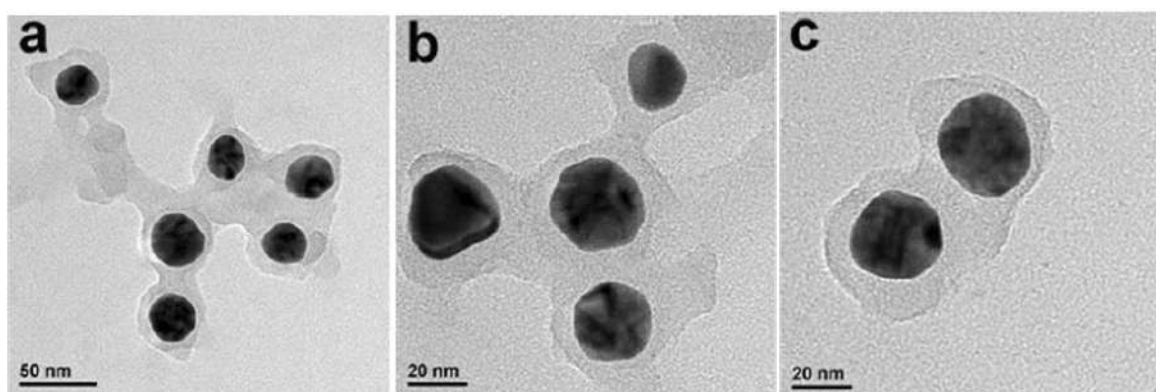
reducción de los iones de plata, en la mayoría de los estudios, la reducción se lleva a cabo por la donación de electrones de los átomos de hidrógeno provenientes de la ruptura de grupos OH. Kumar y col, sintetizaron AgNPs empleando un extracto de hojas de *Physalis angulata*. Esta planta es rica en flavonoides, fenoles, saponinas y taninos; sin embargo, debido a la alta concentración de flavonoides y a su capacidad reductora ya conocida se sugiere que este es el tipo de compuesto responsable de la formación de NPs, cuya reacción se muestra en la figura 1.8 [49].



**Figura 1.8** Representación esquemática de la reacción de reducción para la obtención de nanopartículas de plata al emplear un extracto acuoso de *Physalis angulata* [49].

En la etapa de crecimiento los átomos metálicos se combinan para formar NPs que pueden tener diferentes morfologías, mientras que la reducción de iones continúa procediendo. El crecimiento de las nanopartículas resulta en una estabilidad termodinámica mientras que una nucleación prolongada puede provocar la agregación de las NPs distorsionando sus morfologías. La velocidad de crecimiento de partículas es usualmente más lento que la rápida reducción y nucleación lo que conlleva a una mayor concentración de partículas pequeñas. [25]. Gan y col, proponen que durante el proceso biosintético, los reductores relacionados con el extracto de la planta ayudan al crecimiento del cristal. Junto con el crecimiento del cristal, puede tener lugar la “maduración de Ostwald” y resultar en una ampliación de la distribución del tamaño [37]. Varios estudios sugieren que el mecanismo de “maduración de Ostwald” puede estar involucrado durante el proceso de síntesis, en el que las partículas más pequeñas o nacientes pueden migrar y alimentar a sus partículas vecinas más cercanas de mayor tamaño, causando el crecimiento de partículas más grandes y el agotamiento de las partículas más pequeñas [85-87]. El exceso de

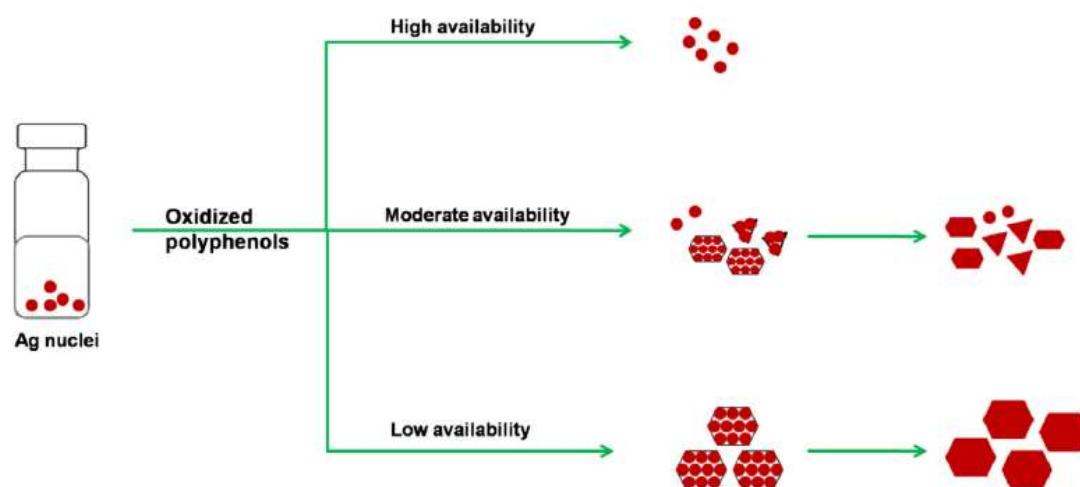
energía libre de Gibbs asociada con las NPs puede ser minimizada por una transformación en formas energéticamente más favorables, lo cual es realizado por las moléculas bio-orgánicas que envuelven o cubren a las nanopartículas [88]. Finalmente, la etapa de terminación es aquella donde ocurre la estabilización de las NPs, lo cual es un fenómeno que no está claro aún. Para estabilizar las nanopartículas en un medio dispersante, debe haber suficientes fuerzas repulsivas para vencer las fuerzas de Van der Waals que causan coagulación o aglomeración [89]. Las fuerzas repulsivas pueden ser ejercidas ya sea a través de estabilización estérica o electrostática. Los surfactantes fisisorbidos de los agentes bioreductores pueden ejercer barreras estéricas alrededor de la partícula [84]. Por ejemplo, la figura 1.9 muestra las micrografías obtenidas por Zhan y col, quienes sintetizaron AuNPs empleando un extracto de hojas de *Cacumen Platycladi* [90]. Como se puede observar las NPs tienen residuos en la superficie, los cuales tienen la función de un estabilizador. Por medio de otras técnicas de caracterización se determinó que estos residuos provienen del extracto de la planta ya que contienen los grupos funcionales C=C-H y C-O-H, los cuales son los responsables tanto de la reducción como de la estabilización de las NPs.



**Figura 1.9** Imágenes de MET de nanopartículas de Au mostrando su interacción con los componentes del extracto de hojas de *C. Platycladi* [90].

En varios casos, un solo compuesto orgánico puede cumplir con la función tanto de agente reductor como de agente estabilizador; algunos ejemplos son el ácido gálico y ácido cítrico. Debido a lo anterior se ha despertado el interés por aislar este tipo de compuestos. Park y col, sintetizaron nanopartículas de plata y oro empleando únicamente ácido gálico [91]. Otro compuesto que ha sido aislado para sintetizar AuNPs es el Dihydromyricetin, el cual es un

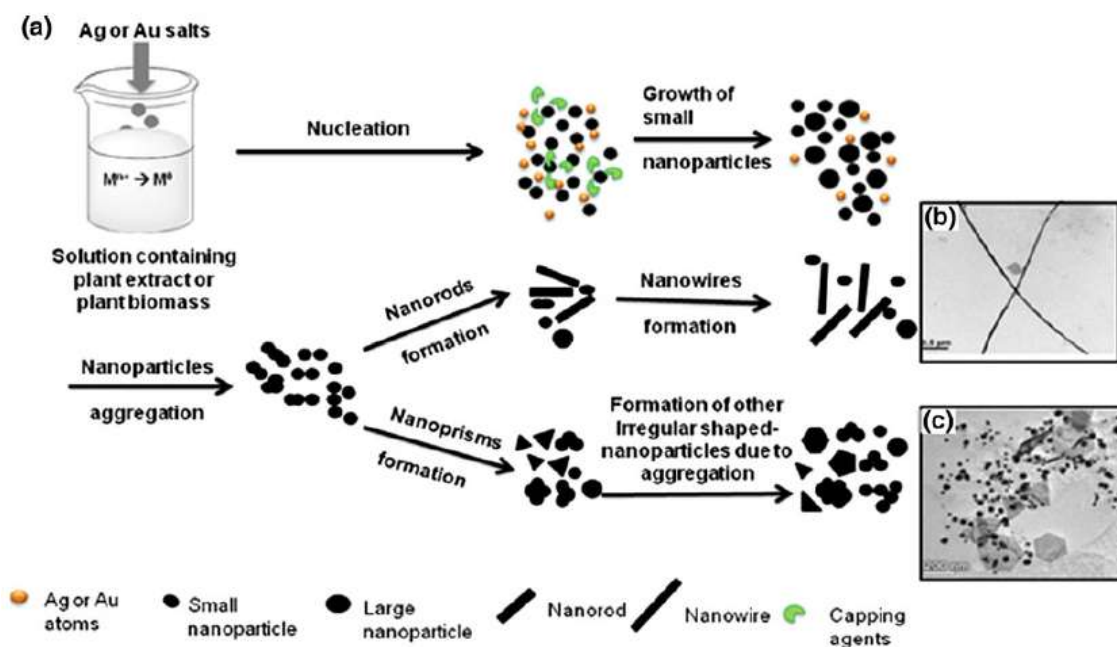
flavonoide con propiedades reductoras presente en el *Ampelopsis grossedentata* [92]. El aislamiento de selectivos compuestos tiene la gran ventaja de controlar la morfología, tener una distribución de tamaño uniforme y obtener NPs más limpias. Sin embargo, no todos los compuestos tienen la capacidad de reducir y estabilizar nanopartículas. Se ha demostrado en varios trabajos que una clase de compuestos son los responsables de la reducción de iones mientras que otro tipo de compuestos son los que funcionan como estabilizantes [53, 56]. Madiniedi y col, proponen que la forma y tamaño final de las NPs depende en gran medida de la concentración de polifenoles estabilizadores presentes en el extracto, cuyo mecanismo se muestra en la figura 1.10. De esta manera, a medida que hay una mayor concentración de estos compuestos, las NPs serán de un menor tamaño y con una forma esférica, debido a un crecimiento por difusión controlado. Por el contrario, cuando hay una baja concentración de estabilizadores o estos se han ido agotando, las nanopartículas se agregan, debido a la maduración de Ostwald, aumentando su tamaño y adquiriendo formas diversas tales como triángulos y hexágonos [93].



**Figura 1.10** Mecanismo de crecimiento mostrando el efecto de polifenoles estabilizantes en la forma y tamaño de las nanopartículas [93].

Resultados similares fueron obtenidos por Narayanan y col, quienes demostraron que las NPs nacientes desprovistas de moléculas estabilizadoras eran termodinámicamente inestables. Al comienzo de la reacción, se produjeron NPs esféricas debido a la protección de suficientes

moléculas estabilizadoras. Sin embargo, las partículas que se formaron en una etapa posterior fueron menos estables debido a la menor disponibilidad de moléculas estabilizadoras. La inestabilidad de las NPs conllevó a la formación de nanoestructuras anisotrópicas como nanoprismas triangulares. Estos nanoprismas poseen alta energía superficial y se someten a un proceso de contracción con el fin de reducir la energía superficial, lo que resulta en la formación de nanotriángulos truncados [94]. Además, Lin y col, sintetizaron estructuras de plata alargadas empleando un extracto de *Cassia fistula*. Ellos determinaron que al prolongar el tiempo de reacción, los átomos de Ag recién formados se depositan sobre las regiones cóncavas de las NPs conectados a través de un fenómeno capilar, que conduce a la formación de nanorodillos largos [87]. Un posible mecanismo de crecimiento para la formación de diferentes formas de nanoestructuras tales como nanobastones, nanocables, nanoprismas, nanopartículas hexagonales se ilustra en la figura 1.11a. La figura 1.11b muestra la formación de nanocables de Ag sintetizados con extracto acuoso de *Cassia fistula* mientras que la figura 1.11c muestra la formación de AuNPs esféricas, triangulares y hexagonales sintetizadas con el extracto acuoso de hojas de *Ocimum sanctum* [87, 95].



**Figura 1.11** Mecanismo de crecimiento propuesto para la formación de nanoestructuras con diferentes formas [37].

Por lo tanto, dependiendo de la potencia de reducción y de la disponibilidad de agentes bioreductores y estabilizadores, las NPs biosintetizadas obtenidas pueden tener una mayor proporción de una forma particular. Todas estas observaciones sugieren que la formación de NPs con diferente morfología es más probablemente debido a la coalescencia de partículas más pequeñas, las cuales tienden a reorganizarse para lograr una morfología que sea más estable. Sin embargo, la diferente composición de biomoléculas entre plantas individuales y las condiciones de reacción utilizadas durante la biosíntesis podría resultar en la formación favorable de NPs con formas particulares [37].

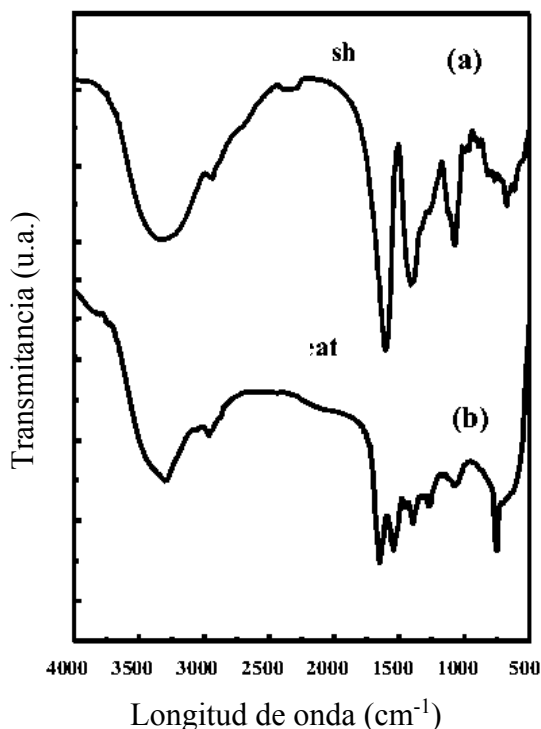
### **1.10 Posibles compuestos responsables de la síntesis de nanopartículas empleando plantas**

Debido a la naturaleza compleja y vasta diversidad de los sistemas de las plantas, es una tarea difícil identificar un compuesto particular que podría ser responsable de la formación de NPs. Un extracto contiene una gran cantidad de diversos compuestos orgánicos cuya concentración depende en gran medida de las condiciones de extracción tales como temperatura, cantidad de planta, tiempo de permanencia y tipo de solvente. Se ha determinado que varios tipos de compuestos pueden actuar como agentes reductores y estabilizadores entre los que se encuentran terpenoides, polifenoles, alcaloides, ácidos carboxílicos, alcoholes, carbohidratos, polioles, ácidos, flavonoides, aminoácidos, vitaminas, entre otros [25]. Es muy probable que el proceso de bio-reducción de iones metálicos sea en realidad una interacción de varios componentes activos presentes en el extracto de la planta [37]. Los detalles de cómo cada uno de los compuestos de la planta intervienen en el proceso de síntesis son discutidos con más detalle en las siguientes secciones.

#### **1.10.1 Flavonoides**

Los flavonoides son moléculas polifenólicas solubles en agua que contienen 15 átomos de carbono, que pertenecen a la familia de los polifenoles. Los flavonoides se componen de 6 subgrupos: chalcona, flavona, flavonoles, flavanona, antocianinas e isoflavonoides. Junto con los carotenos, los flavonoides son responsables de la coloración de las frutas, verduras y hierbas. Los flavonoides son por lo general solubles en agua y posiblemente son los principales componentes

presentes en los extractos de las plantas, los cuales han participado en el proceso de bioreducción [96]. Jagajjanani y col, realizaron la caracterización mediante FT-IR del extracto de hojas de *Aegle marmelos* antes y después de la síntesis de nanopartículas de plata empleando  $\text{AgNO}_3$  como agente precursor. El espectro resultante se muestra en la figura 1.12 en el cual se observan los picos de los grupos funcionales presentes en ambas muestras [55]. Al comparar ambos espectros se puede apreciar la supresión predominante en la región derecha ( $500\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ ). Los cambios de intensidad observados en las regiones de  $1456\text{-}1600$ ,  $1315\text{-}1037$  y  $900\text{-}670\text{ cm}^{-1}$  indican la participación de los grupos fenólicos en las reacciones de intercambio iónico. Además, algunos nuevos picos pequeños fueron encontrados en el espectro del extracto después de la reacción de reducción, mientras que el pico de la banda de  $3200\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ , perteneciente a los grupos hidroxilos libres, no muestra mucha variación comparado con el espectro del extracto puro debido a que estos grupos hidroxilo no participan en la reacción de reducción.



**Figura 1.12** Espectro FT-IR del extracto acuoso de hojas de *Aegle marmelos* a) antes y b) después de la reducción de  $\text{AgNO}_3$  [55].

Los flavonoides tienen la capacidad de donar electrones o átomos de hidrógeno. La biosíntesis de AgNPs por medio de la planta de albahaca se propuso ser iniciada por la luteolina, la cual es un flavona común que se encuentra en las partes aéreas de la planta que liberan hidrógeno reactivo que es responsable de la conversión de  $\text{Ag}^+$  a  $\text{Ag}^0$  [37]. Por lo tanto el contenido de flavonoides en las plantas pudiera ser un índice para evaluar y seleccionar una planta para la síntesis de NPs.

### **1.10.2 Terpenoides**

Los terpenoides pertenecen a la subclase de los prenolipidos, los cuales representan el grupo más grande de productos moleculares pequeños sintetizados por las plantas. Los terpenoides contribuyen al olor, sabor y color de algunas plantas, tales como la canela y el clavo [97]. Entre los terpenoides más comunes, presentes en las plantas, se encuentran el linalol y el eugenol. Este último es capaz de liberar un protón por medio del grupo  $^-\text{OH}$  y transformarse a su forma aniónica. Además, se liberan dos electrones simultáneamente los cuales son los responsables de la reducción de los iones de oro y plata [37].

### **1.10.3 Azúcares reductores**

Los azúcares reductores tales como monosacáridos y oligosacáridos son polioles con grupos aldehídos disociados [96]. La habilidad de diferentes azúcares como agentes reductores para la síntesis de NPs metálicas fue demostrado por Panigrahi y col [98]. Su estudio mostró que se podían producir nanopartículas de tamaño uniforme si se usaba fructuosa mientras que cuando se usó glucosa y sucrosa se generaron partículas de tamaño variable. La función de los azúcares reductores se demostró cuando se usó sucrosa como agente reductor, observándose que no hubo producción de AgNPs cuando se empleó  $\text{AgNO}_3$  como agente precursor, mientras que las AuNPs si se sintetizaron empleando, en este caso,  $\text{HAuCl}_4$  como agente precursor. Este fenómeno sugiere que en lugar de la sucrosa no reductora, los compuestos realmente responsables de la bio-reducción de nanopartículas fueron la glucosa y fructuosa producidas por la sucrosa después de ser hidrolizada por el ácido cloroaúrico.

#### 1.10.4 Proteínas

Debido a la estructura diversa de proteínas en comparación con polioles, el caso de bioreducción por las proteínas es generalmente más complicado. De acuerdo con el análisis FT-IR de las nanopartículas biosintetizadas, la presencia de amida I y amida II, así como las bandas de estiramiento C-O se observan con frecuencia, lo que indica la presencia de grupos funcionales de proteínas [85]. Esto sugiere que las AuNPs se pueden unir a las proteínas a través de sus grupos amino libres o iones carboxilato de los residuos de aminoácidos. De hecho, los residuos de aminoácidos tales como arginina, cisteína, lisina y metionina se sabe que interactúan con los iones de Ag. Das y col, realizaron estudios de espectroscopia FT-IR para determinar que compuesto fue el responsable de la reducción de iones de plata ( $\text{Ag}^+$ ) en nanopartículas de plata ( $\text{Ag}^0$ ), empleando un extracto de hojas de *S. grandiflora* [42]. Para ello obtuvo el espectro FT-IR del extracto solo, en el cual se observaban distintos picos entre los cuales se localizó un pico que puede ser asignado al  $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$  o al  $-\text{C}-\text{O}-$ . Los picos más intensos fueron atribuidos a las vibraciones C-N así como a las bandas de las amidas I de las proteínas presentes en las hojas. Además, se observó un pico ancho a  $3419\text{ cm}^{-1}$ , el cual fue asignado a las vibraciones O-H, indicando la presencia de los grupos hidroxilo [87]. Posteriormente, se comparó el espectro del extracto con el obtenido de las AgNPs, mostrando solo cambios en la posición, así como en las bandas de absorción. Lo anterior indica que las AgNPs sintetizadas empleando el extracto de hojas de *S. grandiflora* son cubiertas por las proteínas que tienen los grupos funcionales de aminas, alcoholes, cetonas y ácido carboxílico.

#### 1.10.5 Ácidos orgánicos y metabólicos secundarios

Las plantas son capaces de sintetizar una variedad de metabólicos al ser expuestas con metales. Estos metabólicos, particularmente amino ácidos tales como prolina e histidina, péptidos como glutadiona y ácidos mugineicos se acumulan a concentraciones en el rango milimolar, por lo que el contenido de estos metabólicos pueden funcionar como agentes reductores para la síntesis de NPs. Bindhu y col, determinaron que el ácido ascórbico presente en el extracto de hojas de *H. cannabinus* fue el responsable de la reducción de AgNPs. Además, a medida que se incrementa el contenido de ácido ascórbico mayor número de NPs de tamaños pequeños fueron sintetizadas



[43]. Otro tipo de ácido con la capacidad de reducir iones metálicos para formar nanopartículas es el ácido oxálico, el cual fue observado en el estudio realizado por Dwivedi y col, quienes emplearon un extracto de hojas de *Chenopodium álbum*, que es una planta con un alto nivel de ácido oxálico, el cual actúa como agente reductor para la conversión de nitrato de plata y ácido áurico en sus correspondientes NPs [99].

## **1.11 Influencia de factores en la formación de nanopartículas por medio de plantas**

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

### ***1.11.1 Efecto del pH***

Se ha demostrado que el tamaño y la forma de las NPs biosintetizadas podrían ser manipulados mediante la variación del pH de las mezclas de reacción ya que es posible cambiar las cargas eléctricas de las biomoléculas que pueden afectar a su capacidad de encapsulamiento y estabilización y, subsecuentemente, el crecimiento de las NPs. Esto podría resultar en la formación favorable de nanopartículas de ciertas formas en un intervalo de pH particular, por lo que se podría lograr una mayor estabilidad. En un estudio de síntesis de nanoplatos de Au empleando extracto de pera a temperatura ambiente, se mostró que la condición alcalina parece ser más eficiente para la generación de nanoplatos de Au de forma triangular y hexagonal, mientras que a pH ácido estas estructuras fueron difícilmente observadas [100]. El efecto del pH en el tamaño de AuNPs sintetizadas con biomasa de avena fue estudiado. Los resultados mostraron que a valores de pH de 3 y 4 las AuNPs son más pequeñas, mientras que las nanopartículas más grandes se observaron a un pH de 2. Lo anterior se debe a que a un pH de 2, el proceso de agregación de AuNPs para formar partículas más grandes se favorece por la nucleación para formar nuevas nanopartículas. A pH de 3 y 4 pueden estar disponibles más grupos funcionales para que el Au(III) se enlace con la biomasa al mismo tiempo, lo cual permite la subsecuente formación de grandes cantidades de NPs con diámetros más pequeños. Sin embargo, a pH de 5 la biomasa lleva una completa carga negativa debido a los grupos funcionales

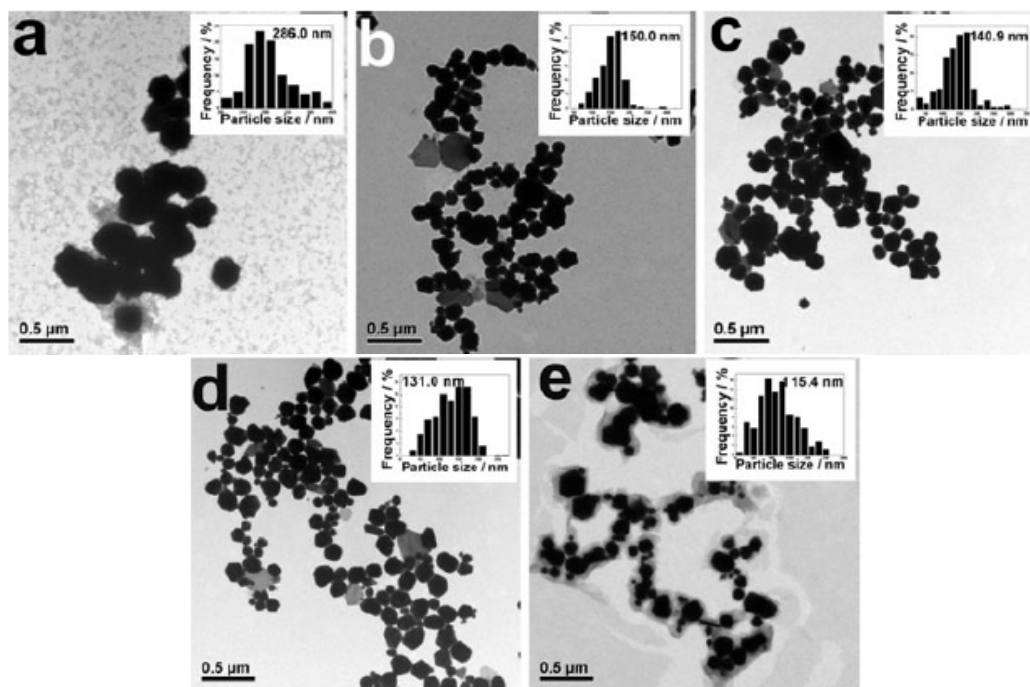
presentes en la biomasa tales como carboxilo. Por lo tanto, el  $[\text{AuCl}]^-$  cargado negativamente no se aproxima fácilmente a los sitios de enlace lo cual previene la unión de Au(III) y su reducción a Au(0) conllevando a la formación de menos nanopartículas. La repulsión electrostática también pudiera prevenir el crecimiento y la agregación, resultando en la formación de NPs pequeñas de forma irregular [101].

Sin embargo, para la síntesis de AgNPs se ha observado otro comportamiento, tal y como lo reportó Sathishkumar y col, quienes emplearon un extracto de *Curcuma longa* [102]. Los resultados mostraron que se formaron AgNPs grandes para valores de pH pequeños, mientras que las NPs pequeñas y altamente dispersadas se formaron a mayores valores de pH. Lo anterior se debe a que para pH alcalinos, un gran número de grupos funcionales cargados negativamente están disponibles para la unión de Ag, facilitando una mayor cantidad de Ag catiónica para unirse y formar un gran número de nanopartículas con diámetros más pequeños debido a la mayor tendencia de nucleación en lugar de agregación. Sin embargo, a pH ácidos, las AgNPs se agregan para formar nanopartículas más grandes.

El efecto diferente del pH en el tamaño de las NPs de Au y Ag puede ser atribuido a la diferente forma de las especies metálicas en solución, en el que el  $[\text{AuCl}_4]^-$ , cargado negativamente y el  $\text{Ag}^+$ , cargado positivamente, podrían interactuar en una forma diferente con las biomoléculas a un pH particular [37]. Sin embargo, existen investigaciones de AuNPs en las cuales se observa un comportamiento diferente. Aromal y col, emplearon un extracto de *T. foenum-graecum* y evaluaron 4 diferentes valores de pH; los resultados de UV-Vis mostraron que para un pH=4 la banda de absorción fue ancha lo cual indica la polidispersividad de las NPs. A medida que se incrementa el pH la banda de absorción se vuelve más aguda, de tal forma que para un pH=7 se observó una banda de absorción estrecha centrada a 530 nm, la cual es característica de las NPs esféricas monodispersas. Lo anterior fue corroborado por MET en donde se observó la morfología esférica de las NPs y el incremento en el pH de la solución conlleva a la disminución del tamaño de partícula. Además, el tiempo de la reacción también se ve favorecido ya que en el caso de un pH= 4 se requirió de 294 min para la reducción de las NPs, mientras que para un pH=7 el tiempo para la reducción fue de 7 min. [71]

### ***1.11.2 Efecto de la temperatura***

Varios estudios han encontrado que el control de la temperatura, durante el proceso de síntesis por medio de plantas es crítico en el tamaño y forma de las NPs obtenidas. Lukman reportó que exudados de semillas de *Medicago sativa* puede producir nanotriángulos de plata a temperaturas mayores de 30 °C debido a la supresión de agentes controladores de la forma a temperaturas más bajas [85]. Otro ejemplo que muestra el rol crucial de la temperatura de reacción en el proceso de control de forma fue demostrado en la formación de nanoalambres por medio del extracto de hojas de *Cassia fistula*, en donde se observó que los nanoalambres de plata se formaron a temperatura ambiente mientras que las NPs esféricas y nanorodillos cortos se obtuvieron a una temperatura de 60 °C. En este caso, los autores sugirieron que la interacción entre las biomoléculas y la plata pueden cambiar a elevadas temperaturas y por lo tanto, dificultar la coalescencia de NPs en solución lo cual no es favorable en la formación de los nanoalambres de plata [87]. Con el objetivo de evaluar a detalle la influencia de la temperatura sobre las características de las AuNPs, Zhan y col, evaluaron 5 diferentes temperaturas de reacción (30, 45, 60, 75 y 90 °C), para lo cual se mantuvo constante tanto el pH como la concentración del precursor ácido cloroaurico. Los resultados se muestran en la figura 1.13, los cuales revelan que la variación del tamaño tuvo una relación inversa con la temperatura de reacción ya que cuando se empleó una temperatura de 30 °C se obtuvieron nanopartículas mayores a 200 nm debido a la aglomeración. Por otro lado, cuando la temperatura de reacción fue de 90 °C, el tamaño promedio de las AuNPs fue de 115 nm. Lo anterior se debe a que el incremento de la temperatura de reacción conlleva a la rápida reducción de los iones cloroauratos y la subsecuente nucleación homogénea, permitiendo la formación de AuNPs de tamaño pequeño y una distribución de tamaño estrecha. [90]

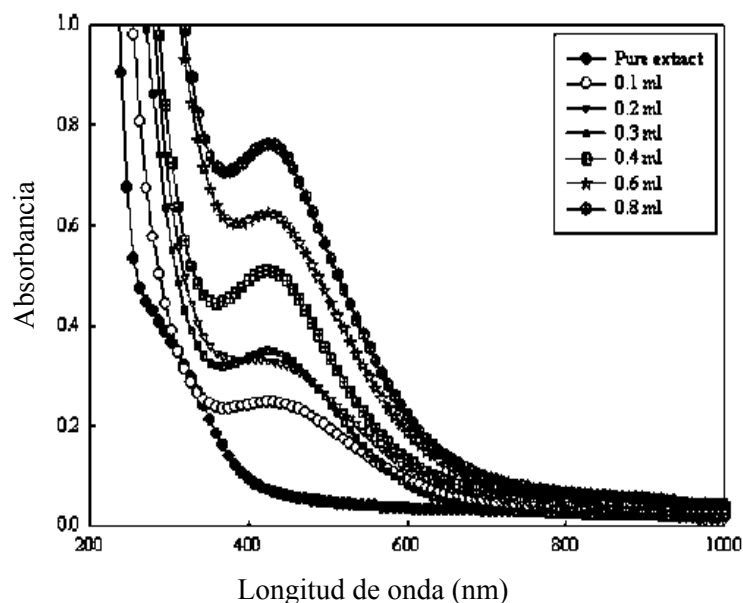


**Figura 1.13** Imágenes de MET que corresponden a las AuNPs sintetizadas a diferente temperatura de reacción de a) 30, b) 45, c) 60, d) 75 y e) 90 °C [90].

### 1.11.3 Relación de extracto de planta a concentración metálica

Como lo predice el modelo LaMer, la formación de NPs pudiera pasar solo cuando la concentración del precursor está dentro de un rango apropiado para la nucleación. Sin embargo, es la disponibilidad de los agentes reductores y estabilizadores los que determinan si esos precursores metálicos pueden ser reducidos y finalmente conducir a la formación de NPs [37]. Por lo tanto, la concentración del extracto de la planta usado durante la síntesis, no debe pasarse por alto ya que determina la extensión de la reducción y estabilización ejercida por las moléculas que pueden afectar las formas y tamaños finales de las nanopartículas. Esto fue demostrado por Prathna y col, quienes sintetizaron AgNPs empleando extracto de *Citrus limón*. Los resultados mostraron que se formaban NPs más pequeñas al incrementar la relación entre el extracto y la solución metálica, lo cual puede deberse al incremento de la cantidad de agentes bio-reductores cuando se incrementa la dosis del extracto en el medio de reacción[103]. Similares observaciones fueron realizadas por Zayed y col, cuyos resultados se muestran en la figura 1.14, que es un

espectro de UV-Vis de AgNPs sintetizadas empleando diferentes cantidades de extracto de *Malva parviflora* que van de 0 a 0.8 ml. En primer lugar, no se observa ninguna banda de absorción para la muestra de extracto de *Malva parviflora*. Sin embargo, una pequeña banda de absorción a 438 nm comienza a aparecer en el espectro de la muestra con 0.1 ml del extracto. Esta banda de absorción crece y se mueve ligeramente de 438 a 425 nm a medida que se incrementa la cantidad del extracto. El incremento de la intensidad de los picos indica que la concentración de AgNPs aumenta, mientras que la simetría y absorción estrecha del pico implica que la distribución de tamaño de las NPs es estrecha para cuando se incrementa la cantidad de extracto de *Malva parviflora*. Además, el movimiento de la banda de absorción indica que el tamaño de las AgNPs disminuye a medida que se incrementa la cantidad del extracto. Lo anterior se debe a que a medida que el contenido del extracto se incrementa, la velocidad de nucleación homogénea espontánea incrementa y un mayor número de núcleos son formados [57]. Por lo tanto, el número final de partículas incrementa también y el tamaño de ellas disminuye.



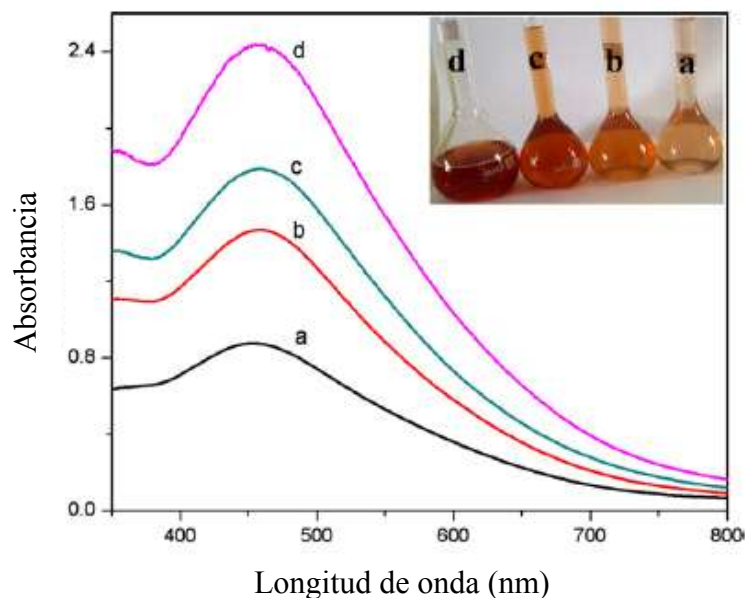
**Figura 1.14** Espectro de absorción de UV-Vis de las AgNPs en función de la cantidad de *Malva parviflora* con una concentración fija de  $\text{AgNO}_3$  [57].

Por otra parte, la forma de las NPs también depende de la cantidad de extracto empleado, tal y como lo demostró Song y col [97]. En este estudio se observó que la mayoría de las NPs

formadas al emplear una concentración de extracto >10% fueron esféricas mientras que cuando se usó 5% del extracto se observaron estructuras en forma de placas. Shukla y col, reportaron que la relación de partículas esféricas a partículas triangulares o hexagonales incrementó con la cantidad del extracto [104]. De estos hechos, se puede deducir que los iones metálicos prefieren formar NPs esféricas cuando hay suficientes agentes estabilizadores disponibles en dosis altas de extractos. Cuando se emplearon altas dosis de extracto, la disponibilidad de biomoléculas en exceso resultó en una fuerte interacción entre los agentes protectores estabilizadores y las superficies de las NPs, conllevando a la formación de partículas esféricas más estables. Además, si esta interacción se intensifica incrementando la concentración del extracto, el tamaño de las NPs esféricas puede reducirse. Por otra parte, otras formas de NPs tales como estructuras hexagonales y triangulares pueden formarse empleando concentraciones de extracto pequeñas. Se estima que las NPs pueden alcanzar un estado mayor de estabilidad transformándose a otras formas o a través del alargamiento de las partículas si no hay suficientes biomoléculas para la reducción y estabilización [37].

Bindhu y col, realizaron un estudio a detalle del efecto de la concentración del extracto en las características de las AgNPs, para lo cual se empleó un extracto de hojas de *Hibiscus cannabinus* como agente reductor y estabilizador y se evaluaron diferentes concentraciones del extracto. La figura 1.15 muestra el espectro de UV-Vis de las NPs empleando 4 diferentes concentraciones del extracto. Como se puede observar, el pico de absorbancia depende de la concentración del extracto ya que se vuelve más definido a medida que la concentración incrementa. Además, a medida que la concentración del extracto aumenta, el ancho de la banda disminuye y se aprecia un desplazamiento indicando que el diámetro medio de las AgNPs disminuye. Dicho desplazamiento y forma estrecha de la banda de resonancia indica la formación de NPs esféricas, además de una distribución homogénea [43]. Por lo tanto, la influencia de la concentración del extracto sobre la síntesis de las NPs se debe a que a medida que la concentración aumenta, mayor cantidad de ácido ascórbico está disponible para reducir iones de plata y formar un gran número de nanopartículas muy pequeñas, dando como resultado una fuerte e intensa banda de absorción. Por otra parte, en la figura 1.15 se puede observar el cambio de color de las nanopartículas preparadas para las diferentes concentraciones del extracto de *H. cannabinus*. Dicho cambio se debe a que a medida que la concentración incrementa, mayor número de biomoléculas están

disponibles en el extracto, las cuales serán útiles en el proceso de reducción, resultando en un color más intenso.



**Figura 1.15** Espectro de UV-Vis de las AgNPs a diferentes concentraciones del extracto de hojas de *H. cannabinus* (a, b, c, d vs 1, 2, 4 y 5 ml, respectivamente) [43].

## 1.12 Aplicaciones de las nanopartículas de plata y oro

Las NPs metálicas sintetizadas por métodos verdes tienen más aplicaciones que las obtenidas por métodos químicos. Esto se debe a que la síntesis verde no utiliza sustancias tóxicas o peligrosas, por lo que las NPs pueden ser aplicadas en el área de la medicina. Las NPs de plata y oro pueden utilizarse en diagnósticos, dispositivos quirúrgicos, fármacos, agentes antimicrobianos, catálisis, tratamiento de agua, entre otros [105]. Es bien sabido que los iones  $\text{Ag}^+$  y compuestos basados en Ag tienen fuertes efectos antimicrobianos, y muchos investigadores están interesados en el uso de otras NPs inorgánicas como agentes antibacterianos. Estas nanopartículas inorgánicas tienen una clara ventaja sobre agentes antimicrobianos químicos convencionales ya que el área de superficie más grande, como en el caso de las nanopartículas, garantiza un aumento en las interacciones probables con la superficie de las células en cuestión [106]. Debido a estas excelentes y únicas propiedades de las AgNPs, sus aplicaciones han incrementado considerablemente, así como su

estudio en nuevos campos. Entre las aplicaciones de las AgNPs se encuentran la biomedicina, catálisis, tratamiento de agua, entre otros. Por otro lado, desde hace 400 años las AuNPs han sido usadas para el tratamiento de ciertas enfermedades. En la actualidad las AuNPs pueden ser útiles en muchas aplicaciones, tales como biomedicina, catálisis, biosensores, dispositivos electrónicos y magnéticos.

### ***1.12.1 Biomedicina***

Una de las aplicaciones más conocidas de las AgNPs es como agentes antimicrobianos. En general, el mecanismo antimicrobiano de los agentes químicos depende de la unión específica con la superficie y el metabolismo de los agentes en el microorganismo. Varios microorganismos han desarrollado resistencia a los medicamentos durante muchas generaciones, por lo tanto, se necesita una forma alternativa para superar la resistencia a los fármacos de diversos microorganismos, especialmente en dispositivos médicos. Los iones  $\text{Ag}^+$  y sales de Ag se han utilizado durante décadas como agentes antimicrobianos en varios campos debido a su capacidad inhibidora del crecimiento contra los microorganismos [40].

El mecanismo de inhibición de microorganismos mostrado por las AgNPs no está del todo claro. Algunos trabajos sugieren que las AgNPs pueden atacar la superficie de la membrana celular alterando las funciones de permeabilidad y respiración de los microorganismos [107]. Sondi y Sondi, informaron de que la actividad antimicrobiana de las AgNPs sobre las bacterias Gram-negativas era dependiente de la concentración y estaba estrechamente asociado con la formación de picaduras en la pared celular de las bacterias. Después de esto, las AgNPs se acumulan en la membrana bacteriana y causa la permeabilidad, lo que resulta en la muerte celular [108]. Además, la forma de la nanopartícula también juega un papel importante en sus propiedades antibacteriales, tal y como lo demostró Pal, a través de las interacciones de *Escherichia coli* con las AgNPs. Este estudio reveló que los nanotriángulos truncados tienen una actividad más fuerte comparados con las nanopartículas esféricas y nanorodillos [109].

Otra de las aplicaciones de las AgNPs dentro del campo de la biomedicina es su aplicación en el tratamiento de cáncer. Prabhu y col, emplearon un extracto de hojas de *Vitex negundo* como



agente reductor y estabilizador para sintetizar AgNPs, las cuales fueron usadas como un agente antitumor en células cancerígenas de colon humano [54]. Dicha planta tiene usos en el tratamiento del cáncer, sin embargo la eficiencia de la inhibición del crecimiento de las células cancerígenas se observó notablemente favorecida cuando se emplearon las nanopartículas, ya que un 50% de inhibición de las células se alcanzó cuando se empleó una concentración de 20  $\mu\text{g/ml}$ , mientras que se requirió una concentración de 150  $\mu\text{g/ml}$  de extracto de hojas únicamente para alcanzar el mismo porcentaje de inhibición [54]. Con lo anterior se puede sugerir que las AgNPs sintetizadas por un método verde pueden ser empleadas en el tratamiento de cáncer de colon.

Los fármacos con NPs tienen ventajas comparados con los fármacos convencionales [110]. Los fármacos con NPs tienen una extensa vida media, tiempos de circulación mayores y pueden transportar una alta concentración de un potente fármaco al lugar donde se necesita [1]. El tamaño de la nanopartícula del fármaco y sus características superficiales pueden ser modificados para alcanzar las características deseadas. Como el fármaco con NPs no es capaz de circular ampliamente, sus efectos secundarios se reducen y una alta concentración localizada se puede alcanzar en el lugar que se requiere. En vista de la gran área superficial por unidad de masa de las NPs, la carga o cantidad del fármaco puede ser relativamente alta. Los fármacos con NPs se suspenden fácilmente en líquidos y son capaces de penetrar profundamente en organismos y tejidos [1]. Las AuNPs han emergido como una nueva forma para transportar fármacos a través de sistemas de liberación de medicamentos, debido a su baja toxicidad, gran área superficial y estabilidad. Su aplicación en sistemas de administración de fármacos para tumores ha sido exitosamente demostrada en algunos estudios. Paciotti y col, encontraron que la eficiencia de una proteína anticancer en contra de la necrosis del tumor incrementó cuando contenía nanopartículas de oro [111]. Ganeshkumar y col, sintetizaron nanopartículas de oro empleando un extracto de *Punica granatum* como agente reductor y estabilizador; posteriormente evaluaron los efectos de las nanopartículas al adicionarles un agente para el tratamiento de cáncer de mama. Los resultados mostraron una mayor eficiencia del fármaco que contiene AuNPs, en comparación con el mismo fármaco solo [70]. Las AuNPs también se han utilizado en la terapia en contra del cáncer debido al efecto fototérmico que muestran. Lo anterior fue demostrado por Huang y col, quienes usaron nanopartículas de oro cubiertas con un anti receptor de crecimiento epidérmico, empleado en la terapia en contra de células cancerígenas HSC3 (Carcinoma de células

escamosas). La eficiencia de terapia fototérmica se vio favorecida 20 veces, debido al efecto de calentamiento local inducido por las nanopartículas de oro cuando son irradiadas con luz [112]. Por lo tanto, las AuNPs sintetizadas empleando un agente reductor y estabilizador natural son una excelente alternativa para estas aplicaciones, debido a su baja toxicidad y biocompatibilidad.

### ***1.12.2 Catálisis y tratamiento de agua***

Se ha comprobado que las AgNPs tienen excelentes actividades catalíticas para algunas reacciones tales como la oxidación de metanol a formaldehído y etileno a óxido de etileno. Además, el recubrimiento de fibras de carbón activado con AgNPs puede proveer funciones antimicrobianas en filtros de aire y agua y además lograr la remoción de gases contaminantes [37]. El uso de AgNPs, sintetizadas por métodos verdes, parece tener más ventajas para reducir la carga microbiana en el agua debido a su bajo costo de producción y bajo riesgo de causar contaminación secundaria como resultado del uso de químicos peligrosos en el proceso de síntesis. Krishnaraj y col, sintetizaron AgNPs, con un tamaño de 20-30 nm, empleando un extracto de hojas de *A. indica*; las nanopartículas obtenidas fueron empleadas en el tratamiento de agua, mostrando excelente actividad antimicrobiana en contra de patógenos presentes en el agua, como *E.coli* y *Vibrio cholera*, a través de la alteración de la permeabilidad y respiración de las células bacterianas [113].

Por otro lado, tanto las NPs de plata como las de oro han sido empleadas exitosamente en la degradación de solventes orgánicos tales como azul de metileno y naranja de metilo [52, 69]. Este tipo de compuestos son utilizados en las industrias textiles, alimenticia y papelera [114, 115]. Una de sus principales aplicaciones es proporcionar color, sin embargo, estas sustancias son tóxicas y al ser desechadas provocan severos daños ambientales por lo que es necesaria su degradación. Los métodos de degradación, incluyendo filtración, absorción y biodegradación, son costosos y poco eficientes [116]. Las propiedades únicas de las AuNPs y su habilidad para catalizar reacciones a baja temperatura, tales como la oxidación de CO y de hidrogenación han atraído el interés para su investigación. Además, la actividad catalítica de las AuNPs es dependiente de su tamaño y forma. Por ejemplo, se ha observado que las nanoesferas de oro

catalizan la reducción de compuestos aromáticos con una mayor velocidad que cuando se emplean nanoprismas y nanorodillos [117].

Por otro lado, Aromal y col, sintetizaron AuNPs empleando el extracto de semillas de *Trigonella foenum-graecum* como agente reductor y estabilizador. Las nanopartículas obtenidas fueron utilizadas para estudiar su actividad catalítica en la reacción de reducción de 4-nitrofenol a 4-amonofenol por medio de  $\text{NaBH}_4$ . Se observó que para el caso en el que no se agregaron NPs, la reacción no sucedió completamente, mientras que cuando se emplearon AuNPs, la reacción se completó en aproximadamente 7 minutos. Después de la adición de las AuNPs, el electrón donador ( $\text{BH}_4^-$ ) y el electrón receptor son absorbidos en la superficie de las NPs y la reducción catalítica comienza por la transferencia de electrones de  $\text{BH}_4^-$  a ion 4-nitrofenolato. [71] Por lo tanto las AuNPs facilitan la reacción de reducción disminuyendo la energía de activación de la reacción y funcionando como catalizador. Además, también se observó que la reducción incrementa a medida que el tamaño de las nanopartículas de oro disminuye, mostrando una mayor actividad. Lo anterior se debe a que cuando el tamaño de las nanopartículas disminuye, hay un incremento en el número de átomos de oro de baja coordinación, lo que promueve la absorción de los reactivos en la superficie catalítica y facilita la reducción. Por lo tanto el tamaño de las NPs es un factor importante en la determinación de la actividad catalítica. Las AuNPs también han sido útiles en la purificación de agua. Las nanopartículas de metales nobles tienen la capacidad de mineralizar los pesticidas a haluros y carbón amorfo. Las AuNPs son también útiles para la remoción de metales pesados a través de la formación de aleaciones con diferentes composiciones tales como  $\text{Au}_3\text{Hg}$ ,  $\text{AuHg}$  y  $\text{AuHg}_3$  y por lo tanto pueden ser usados para la remoción de iones Hg en agua [118]. La aplicación de las AuNPs por medio de plantas en la purificación de agua vale la pena explorarse ya que también ayuda a reducir las descargas de residuos agrícolas.

### **1.12.3 Biosensores**

Las NPs también han sido utilizadas para la detección basada en espectroscopía Raman. Tan y col, reportaron la detección de aniones perclorato y cianuro usando AgNPs funcionalizadas con grupos amino y amida, alcanzando límites de detección de 8 y 7 ppb, respectivamente [119]. Por

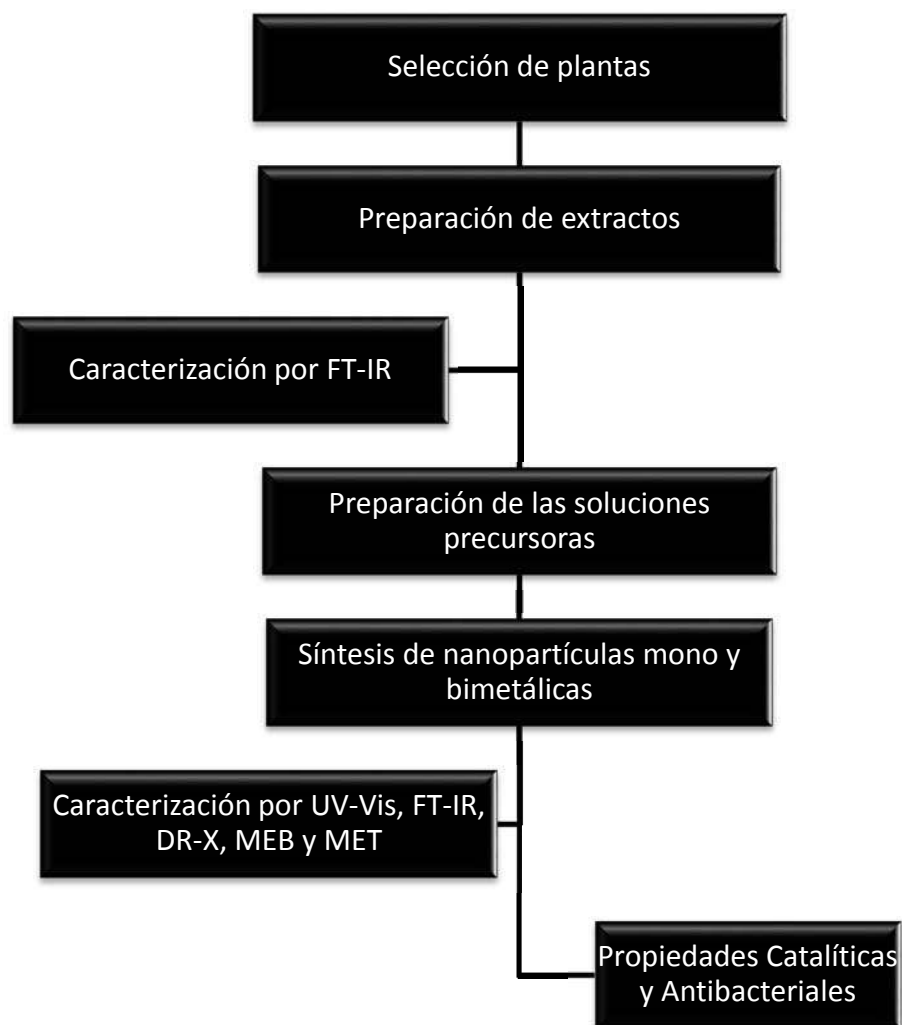
otra parte, Yao y col, encontraron una nueva estrategia para la identificación y determinación de  $\text{Co}^{2+}$  en solución acuosa, usando AgNPs biofuncionalizadas. Lo anterior se debe a que las AgNPs se agregan en solución cuando el ion  $\text{Co}^{2+}$  está presente, resultando en un apreciable cambio de color, de amarillo a rojo y en sus propiedades de absorción. La misma respuesta selectiva fue obtenida para el caso en que se involucraron otros iones tales como  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Pb}^{2+}$  [120]. El ion  $\text{Ba}^{2+}$  en solución también ha sido identificado empleando compuestos éter modificados con AgNPs [121]. Los anillos éter se ubican en la superficie de las nanopartículas y proporcionan un buen sitio de coordinación para los iones  $\text{Ba}^{2+}$ . Por lo tanto, después de la adición de los iones, se produce un cambio, de color de amarillo a rojo, debido a la agregación de las AgNPs. Otros iones, tales como  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Sr}^{2+}$ , fueron probados para su identificación, sin embargo solo con el  $\text{Ba}^{2+}$  se observó un cambio rápido de coloración. Las propiedades físicas y ópticas de las AuNPs han llevado al crecimiento del campo de investigación de biosensores. El fenómeno de agregación de las AuNPs funcionalizadas con diferentes grupos químicos es una técnica útil para sistemas de detección ya que dicho fenómeno ocasiona un movimiento en el espectro acompañado por un cambio de coloración. La detección de proteínas por medio de pruebas colorimétricas, basadas en AuNPs, han sido estudiadas tal y como lo hicieron Vilela y col, empleando moléculas funcionalizadas con AuNPs para detectar trombina, que son enzimas que juegan un papel muy importante en la coagulación de la sangre, trombosis y haemostasis. Cuando las moléculas funcionalizadas con AuNPs reaccionan con la trombina, el resultado es la agregación de las nanopartículas inducida por los dos sitios de enlace que tiene la trombina y por lo tanto un cambio de color en las muestras, de rojo a azul, se puede observar [121].

También se han desarrollado sensores químicos de cationes metálicos tales como potasio, litio y metales pesados tóxicos como mercurio, plomo y cadmio. Orendorff y col, reportaron que la sensibilidad de detección derivada de las NPs esféricas no fue suficientemente fuerte, mientras que nanopartículas de formas irregulares mostraron propiedades novedosas y puede proporcionar mayor sensibilidad de detección biológica. Se encontró que la síntesis de nanopartículas por medio de plantas puede producir nanoestructuras de forma irregular debido a la complejidad de los agentes reductores y estabilizadores [122].

Por lo tanto, en el presente trabajo se seleccionaron extractos de nueve diferentes plantas, las cuales tienen en su composición química compuestos que pueden reducir las sales metálicas de plata y oro y a su vez estabilizar los productos para formar nanopartículas. Algunos de los parámetros descritos anteriormente fueron evaluados con el objetivo de optimizar las características de las nanopartículas tales como tamaño, forma y distribución. Las nanopartículas metálicas tienen un gran número de aplicaciones debido a sus propiedades únicas; Las nanopartículas de plata obtenidas en este trabajo se evaluaron como agentes antibacteriales. Además, se evaluaron las propiedades catalíticas de las nanopartículas de plata, oro y bimetálicas plata-oro.

## CAPÍTULO II. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

En este capítulo se describen las etapas llevadas a cabo durante la experimentación, las cuales se representan en el diagrama de flujo de la figura 2.1. Como primera etapa se seleccionaron las plantas originarias de la región y de gran abundancia para posteriormente, obtener los extractos de las hojas, siguiendo con la correspondiente caracterización. Posteriormente, se prepararon las soluciones con las sales metálicas precursoras. Una vez preparados tanto los extractos como las soluciones precursoras, se llevó a cabo la síntesis de las nanopartículas, las cuales serán caracterizadas por UV-Vis, FTIR, MEB, DR-X y MET.



**Figura 2.1** Diagrama de flujo de la experimentación llevada a cabo.

## 2.1 Selección de plantas

Las plantas que se emplearon son típicas del estado de Michoacán, por lo que adquisición es fácil. Las plantas seleccionadas tienen en su composición química, compuestos orgánicos que sugieren su potencial uso para la síntesis de nanopartículas metálicas. Las plantas empleadas son: taray, estafiate, cedrón, mirto, níspero, diente de león, higo, tronadora y toronjil las cuales se describen a continuación.

- a) *Tamarix gallica*. Su nombre común es taray y ha sido empleada como anti-inflamatorio y para el tratamiento de reumatismo. Sus hojas poseen flavonoides, alcaloides, azúcares reductores, quinones y taninos, los cuales han mostrado propiedades antioxidantes o reductoras [123].
- b) *Artemisia ludoviciana*. Su nombre común es estafiate; esta planta es comúnmente usada en la medicina tradicional para tratar dolores y problemas estomacales. Sus hojas contienen varios flavonoides y compuestos fenólicos con capacidad antioxidante [124].
- c) *Aloysia triphylla*. Su nombre común es cedrón; es un arbusto ramificado y aromático hasta de 3m de altura, con el tallo rojizo y aspeo, recorrido por rayas. Tiene las hojas verdes, aromáticas, alargadas y angostas, pegadas al tallo. Las flores blancas, se agrupan en espigas muy floreadas. Los frutos son dos nueces pequeñas. Existe un reporte sobre *A. triphylla* en el que se indica la presencia de un aceite esencial, de alcaloides y taninos en las hojas, los cuales pueden reducir iones metálicos para formar nanopartículas [125, 126].
- d) *Salvia microphylla Kunth*. Comúnmente conocido como mirto. Esta planta ha sido poco investigada. Lo poco que se sabe es que es usado en la medicina tradicional mexicana debido a sus propiedades curativas principalmente para trastornos digestivos.
- e) *Eriobotrya japonica*. Su nombre común es níspero.. Las hojas pueden tener forma ovada o ser un poco alargadas, miden entre los 8 y los 25 cm, son lustrosas por el anverso y peludas por el reverso. En las hojas de *Eriobotrya japonica* se han detectado los

sesquiterpenos loquatifolín A, y cuatro derivados glicosilados de herolidol, los triterpenos ácido maslínico, su éster metílico, el ácido tri-hidroxi-urs-12-en-28-oico, ácido ursólico y su derivado hidroxilado y los flavonoides hiperósido y rutín, mostrando una alta capacidad antioxidante [127].

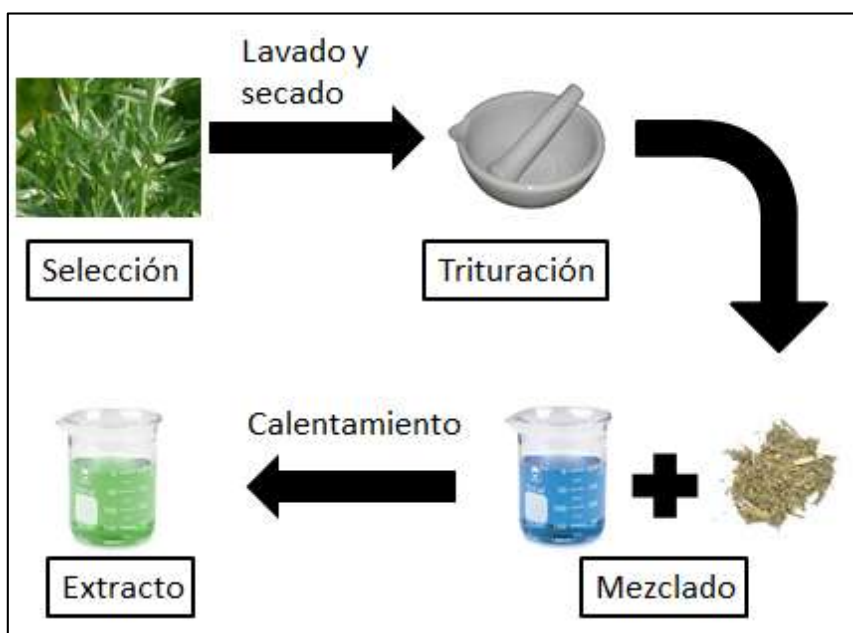
- f) *Taraxacum officinale*. Su nombre es diente de león. Es una hierba que mide 30cm de altura, con las hojas en la base del tallo y colocadas en roseta. Las flores se encuentran en la parte terminal de la planta en una cabezuela amarilla rodeada de hojitas modificadas. Esta planta se caracteriza por la presencia de terpenos, en las hojas se han detectado el sesquiterpeno glucósido del ácido taraxinóico; los carotenoides crisantemaxantín, flavoxantín, cis y trans luteín-5-6-epóxido; la cumarina cumestrol y el bencenoide ácido para-hidroxi-fenil-acético [128].
- g) *Ficus carica*. Se conoce comúnmente como higo. Sus hojas y frutos han sido utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la garganta, diabetes, entre otras. La actividad antioxidante o reductora del extracto de hojas de higo ha sido atribuida al contenido de flavonoides y compuestos fenólicos presentes en las hojas [129].
- h) *Agastache Mexicana*. Su nombre común es tronadora y es usada en el tratamiento de desórdenes gástricos, digestivos, cardiovasculares, insomnio y diabetes. Sus hojas tienen un alto contenido de compuestos fenólicos y flavonoides tales como quercetin y hesperitin los cuales han mostrado potencial antioxidante [130].
- i) *Tecoma stans*. Su nombre común es toronjil. Es usada para tratar desordenes digestivos, diabetes e hipotensión arterial. Algunos estudios acerca de su composición química revelan la presencia de compuestos orgánicos tales como los alcaloides tecomina y tecostatina [131].

## 2.2 Preparación de extractos

La figura 2.2 muestra el diagrama de los pasos a seguir para la elaboración de los extractos. Una vez seleccionadas las plantas, se recolectaron las hojas y lavaron varias veces con agua destilada



para remover polvo y otras sustancias indeseadas, que puedan afectar el proceso de síntesis. Posteriormente, se dejarán secar a la sombra durante 10 días para eliminar la humedad presente en las hojas. Las hojas se trituraron en un mortero de porcelana hasta obtener partículas finas, de las cuales se pesaran 2 gr para preparar los extractos, colocándolos en un vaso de precipitados de 250 ml junto con 100 ml de agua destilada. La cantidad remanente de hojas trituradas se coloca en un recipiente hermético y se almacena para posibles usos posteriores. La mezcla de las hojas trituradas con el agua destilada fue calentada para obtener el extracto.



**Figura 2.2** Secuencia para la obtención de los extractos de las diferentes plantas.

Los diferentes experimentos a realizar se muestran en la tabla 2.1, en los cuales se variaron tanto la temperatura como el tiempo de permanencia del extracto a la temperatura seleccionada. Todos los experimentos se llevaron a cabo con cada una de las plantas seleccionadas. Posteriormente, la mezcla será filtrada con papel filtro No. 1 para separar las partículas sólidas del extracto. Finalmente, el extracto acuoso será almacenado a una temperatura de 4°C para sus posteriores aplicaciones.

**Tabla 2.1** Experimentos a realizar para la obtención de diferentes extractos

Experimento	Peso de Hojas (gr)	Volumen de agua (ml)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
1	1, 2, 3	100	Temperatura ambiente	15
2				30
3				60
4			40	15
5				30
6				60
7			60	15
8				30
9				60
10			80	15
11				30
12				60

### 2.3 Preparación de las soluciones precursoras

Las sales precursoras para sintetizar nanopartículas de plata y oro fueron nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) y ácido cloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ ), respectivamente; ambos de la marca sigma-aldrich. Estas sales se colocaron en solución acuosa en un vaso de precipitado de 250 ml conteniendo 100 ml de agua destilada. Las concentraciones empleadas fueron 1, 3, 5, 7 mM de cada una de ellas. Para determinar la masa que se empleó para cada una de las concentraciones anteriores se utilizó la siguiente fórmula 2.1.

$$M = \frac{m}{v \cdot PM} \quad (2.1)$$

Donde:

M es la concentración molar de la solución en mol/l

m es la masa del soluto, en este caso de sal precursora

v es el volumen de solución en ml

PM es el peso molecular de las sales empleadas en gr/mol.

La tabla 2.2 muestra la cantidad de sal requerida para obtener las concentraciones mencionadas anteriormente. El peso molecular del nitrato de plata fue de 169.87 g/mol, mientras que el del ácido cloroáurico fue de 339.785 g/mol.

**Tabla 2.2** Condiciones empleadas para preparar las soluciones de sales precursoras

Sal precursora	Molaridad (mM)	Masa de sal (gr)	Volumen de agua (ml)	Concentración (mg/ml)
AgNO <sub>3</sub>	1	0.01698	100	0.1698
	3	0.05096		0.5096
	5	0.08493		0.8493
	7	0.11890		1.1890
AuHCl <sub>4</sub>	1	0.03397		0.3397
	3	0.10193		1.0193
	5	0.16989		1.6989
	7	0.23784		2.37884

## 2.4 Síntesis de nanopartículas

La reacción de síntesis de las nanopartículas se llevó a cabo mezclando la solución de sal precursora con el extracto de la planta seleccionada. Primeramente, se evaluó el efecto de la concentración de sal precursora manteniendo fijo el volumen de extracto. Posteriormente, se seleccionó la concentración que mostró los mejores resultados y el volumen de extracto se varió de 1 a 5 ml. Además, para algunas plantas, se varió la temperatura, llevando a cabo la síntesis de nanopartículas a temperatura ambiente, 50 y 75 °C. Todos estos parámetros fueron evaluados con el fin de determinar su relevancia en la reacción de la síntesis de nanopartículas.

Para el caso de las nanopartículas bimetálicas, únicamente se utilizaron las plantas que mejores resultados mostraron en la síntesis de nanopartículas monometálicas, es decir, *Aloysia Triphylla*, *Tamarix gallica* y *Salvia microphylla kunt*. Posteriormente, el extracto que mostró el mejor comportamiento fue seleccionado para evaluar algunas variables importantes; en este caso, se varió la relación de sales precursoras,  $\text{AgNO}_3:\text{HAuCl}_4$  y posteriormente se evaluó el tiempo de adición de la sal de oro, en la mezcla conteniendo la solución de plata y el extracto de la planta, llamado tiempo de espera. Las condiciones empleadas en este caso se muestran en la tabla 2.3.

**Tabla 2.3** Condiciones empleadas para la síntesis de nanopartículas bimetálicas.

Volumen extracto (ml)	Volumen solución precursora $\text{AgNO}_3$ (ml)	Volumen solución precursora $\text{HAuCl}_4$ (ml)	Relación $\text{AgNO}_3:\text{HAuCl}_4$	Tiempo de espera (min)
5	6	2	3:1	15
		3	2:1	
		6	1:1	
		12	1:2	
		18	1:3	
	18	18	1:3	15
				30
				45
				60

## 2.5 Obtención de las nanopartículas

Una vez concluida la reacción de síntesis de las NPs, se llevó a cabo un proceso de lavado para lo cual se realizó una dispersión por ultrasonido de las muestras con el objetivo de eliminar el exceso de sal precursora y de material orgánico proveniente del extracto. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a una velocidad de 10 000 rpm para precipitar las nanopartículas obtenidas; el sobrenadante fue extraído y eliminado. Finalmente, se adicionó agua destilada para

repetir el proceso de dispersión y centrifugación en tres ocasiones para cada muestra obtenida. Las muestras obtenidas fueron almacenadas a una temperatura de 4 °C, aproximadamente, para su posterior caracterización.

## **2.6 Propiedades antibacteriales**

La evaluación de las propiedades antibacteriales se llevó a cabo empleando el método de difusión de disco, que es el más empleado y el cual consiste en la inoculación de una cantidad estandarizada de bacterias sobre la superficie de una placa. A continuación se colocan discos de papel filtro, impregnados con concentraciones conocidas de los diferentes inhibidores. Se incubó la placa durante 24 horas a 37 °C y luego se miden los diámetros de las circunferencias formadas, las cuales determinan las zonas de inhibición de crecimiento de las bacterias. Los resultados se expresan como: Sensible (S), Intermedio o Moderadamente sensible (I) y Resistente (R). La bacteria empleada fue salmonella entérica, la cual ha mostrado resistencia a diversos fármacos. Se evaluaron distintas concentraciones de nanopartículas para observar su comportamiento y determinar la concentración mínima de nanopartículas.

## **2.7 Propiedades catalíticas**

La actividad catalítica de las nanopartículas de plata, oro y bimetalicas plata/oro fue analizada por medio del estudio de la degradación de solventes orgánicos, azul de metileno y naranja de metilo. Los solventes se emplearon en solución acuosa a una concentración de 1 mM. Para llevar a cabo este análisis se mezclaron 2 ml de solvente, 1 ml de solución conteniendo las nanopartículas y 0.1 ml de NaBH<sub>4</sub> (0.1 mM). Dicha mezcla fue monitoreada por medio de UV-Vis, obteniendo los espectros en intervalos de 30 s hasta que la banda del solvente desaparece por completo.

## **2.8 Técnicas de caracterización**

Debido al tamaño y propiedades mostradas por las nanopartículas, se requieren de técnicas específicas que ayude a determinar la formación y características de las mismas. Por lo tanto se llevaron a cabo distintas técnicas de caracterización durante la experimentación realizada, entre

las que se encuentran la espectroscopía infrarroja, espectroscopía de absorción Ultra-violeta-visible y Microscopía electrónica de barrido y transmisión, las cuales se describen a continuación.

### ***2.8.1 Espectroscopía Infrarroja (FT-IR)***

La espectroscopía infrarroja se basa en el hecho de que las moléculas tienen frecuencias a las cuales rotan y vibran, es decir, los movimientos de rotación y vibración moleculares tienen niveles de energía discretos (modos normales vibracionales). Las frecuencias resonantes o frecuencias vibracionales son determinadas por la forma de las superficies de energía potencial molecular, las masas de los átomos y, eventualmente por el acoplamiento vibrónico asociado. Para que un modo vibracional en una molécula sea activa al IR, debe estar asociada con cambios en el dipolo permanente.

Los extractos acuosos de las plantas serán evaluados por medio de esta técnica, ya que nos permitirá conocer los grupos funcionales presentes en los extractos. Una vez realizada la reacción de reducción, los productos se someterán a esta técnica para analizar nuevamente los grupos funcionales presentes y por medio de una comparación, entre los espectros antes y después de la síntesis de nanopartículas, relacionar y deducir que compuestos funcionaron como agentes reductores.

### ***2.8.2 Espectroscopía de absorción Ultra-violeta-visible (UV-Vis)***

Esta técnica es de gran relevancia en el estudio de las nanopartículas suspendidas en solución (coloides), debido a que se puede realizar el análisis de muestras líquidas y las corridas son relativamente rápidas. Esta espectrofotometría utiliza radiaciones en el campo de UV entre 80 a 400 nm, principalmente de 200 a 400 nm (UV cercano) y de luz visible de 400 a 800 nm, por lo que es de gran utilidad para caracterizar las soluciones en la región ultravioleta-visible del espectro. En la espectroscopía UV-Vis en su forma más simple, una muestra es colocada entre una fuente de luz y un fotodetector, midiéndose la intensidad del haz de luz antes y después del paso del haz a través de la muestra. Cada espectro es corregido utilizando un “blanco”, es decir el espectro únicamente del medio de dispersión, para garantizar que las características espectrales

de la muestra de estudio no estén alteradas por las del medio de dispersión. Las nanopartículas metálicas, como las de oro y plata, tienen la característica de que interactúan de manera muy importante con ciertas longitudes de onda de la luz, exhibiendo una banda de absorción característica en el UV-Vis, la cual no está presente en el espectro del metal a granel. Esta banda de absorción se encuentra en un rango de 380-450 nm para las nanopartículas de plata, mientras que para las nanopartículas de oro se encuentra en 520-560 nm. Por lo tanto, esta técnica será de gran importancia para determinar la formación de nanopartículas, además de que por medio de los cambios observados en los espectros se puede determinar cambios en la concentración, forma y tamaño de las nanopartículas metálicas.

### ***2.8.3 Microscopía electrónica de barrido (MEB)***

Esta técnica es una de las más empleadas para el análisis de los nanomateriales. Debido a su capacidad de resolución es posible determinar características de las nanopartículas tales como concentración, tamaño, forma y dispersión. Además, es posible realizar un análisis químico para determinar la composición de las muestras. En el presente trabajo, este análisis se llevó a cabo colocando un par de gotas de la solución conteniendo las nanopartículas en un portamuestras de carbono.

### ***2.8.4 Microscopía electrónica de transmisión (MET)***

Esta técnica ha sido ampliamente utilizada en el estudio de los nanomateriales debido a su gran capacidad de resolución (0.21 nm), y a las ampliaciones con las cuales se puede trabajar ( $1 \times 10^3 - 2 \times 10^6 \times$ ). Debido al tamaño tan pequeño del orden nanométrico de las nanopartículas, una imagen que refleje claramente la morfología y el tamaño de esta clase de partículas solo puede obtenerse haciendo uso del microscopio electrónico de transmisión. Actualmente el microscopio electrónico de transmisión es una herramienta muy versátil que permite no solamente obtener las características morfológicas de las partículas sino también el arreglo atómico de la red cristalina además de obtener información química de las nanoestructuras permitiendo así una caracterización más completa. Una parte primordial para el estudio de los materiales por MET es la preparación de la muestra. En este caso, unas gotas de la suspensión

después de la reacción serán depositadas directamente en las rejillas de cobre con recubrimiento de carbón amorfo. Mediante esta técnica se pueden corroborar los resultados obtenidos por UV-Vis en lo referente al tamaño, forma y composición química des nanopartículas.

### ***2.8.5 Difracción de rayos-X***

Todas las muestras se dejaron secar a temperatura ambiente hasta obtener polvos llevar a cabo un análisis por difracción de rayos-X, en donde se empleó un difractómetro de la marca SIEMENS D5000, que trabaja con una radiación  $K\alpha$  de Cu y una longitud de onda de 1.5406 Å para lo cual las muestras fueron colocadas en un portamuestra de vidrio y corridas en un rango angular de 20 hasta 80° empleando un tiempo de 15 segundos por paso para obtener una mejor colección de datos durante el análisis.



## CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

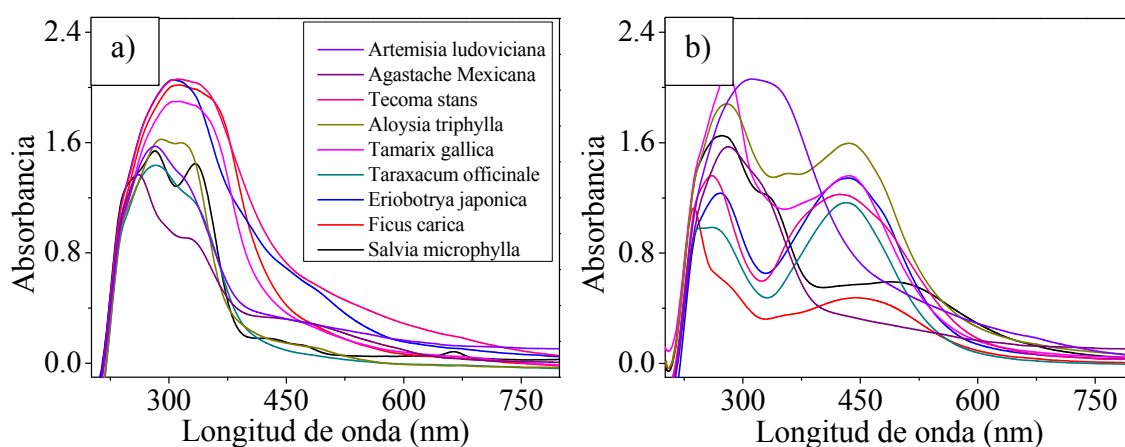
Este capítulo contiene los resultados obtenidos en la síntesis verde de nanopartículas monometálicas de plata y oro y bimetálicas plata-oro, empleando los extractos de las diferentes plantas seleccionadas. Además, se presenta una discusión acerca de los resultados en comparación con los reportados en los últimos años. Finalmente se muestra y discute la capacidad antibacterial y catalítica de las nanopartículas sintetizadas.

### 3.1 Síntesis verde de nanopartículas monometálicas

#### 3.1.1 Nanopartículas de plata

Una de las formas más simples de determinar la síntesis de nanopartículas es por medio de la espectroscopía UV-Vis. Esto se debe al efecto que causan las radiaciones luz y ultravioleta que se presenta sobre toda estructura con confinamiento cuántico, el cual es llamado la resonancia del plasmón superficial (SPR). La figura 3.1 muestra los espectros de UV-Vis antes y después de la reacción de síntesis al emplear los extractos de las diferentes plantas seleccionadas y empleadas en este trabajo. La figura 3.1a muestra los espectros de los extractos de las diferentes plantas, como se puede observar, todos muestran bandas de absorción en un rango de 200 a 400 nm. El ancho de dicha banda está directamente relacionado a la concentración de los extractos e incluso existe la posibilidad de que estas sean el resultado del traslape de varias bandas. En algunos casos, como el de *Agastache mexicana* y *Salvia microphylla*, se alcanzan a definir dos bandas diferentes, la primera entre 200 y 300 nm y la segunda entre 300 y 350 nm. En todos los espectros puede observarse que no hay ninguna banda situada entre 400 y 500 nm, que es el rango en el cual puede aparecer la banda de absorción típica de las AgNPs. La figura 3.1b muestra los espectros obtenidos después de realizar la síntesis de nanopartículas. La relación en todos los casos fue de 5 ml de extracto con 10 ml de solución de  $\text{AgNO}_3$  (3mM). Como se puede apreciar, no todos los extractos mostraron capacidad reductora como en el caso de *Artemisia ludoviciana* (estafiate) y *Taraxacum officinale* (diente de león), en los cuales el espectro no muestra ninguna alteración con respecto al que fue determinado empleando únicamente el extracto. En los siete extractos restantes se observa la aparición de una banda ubicada entre 400

nm y 500 nm, confirmando la síntesis de AgNPs. Además, se puede observar que dicha banda está centrada a diferente longitud de onda, lo que pudiera sugerir distintas características físicas entre las nanopartículas formadas. Sin embargo, se debe recordar que cada planta posee compuestos orgánicos diferentes, los cuales influyen en las características del SPR de las nanopartículas tales como forma, intensidad y posición. Con lo anterior, se determina que no es adecuado comparar espectros de nanopartículas sintetizadas con extractos de diferentes plantas, por lo cual de aquí en adelante se analizará la síntesis de AgNPs por separado, en función de cada extracto empleado.



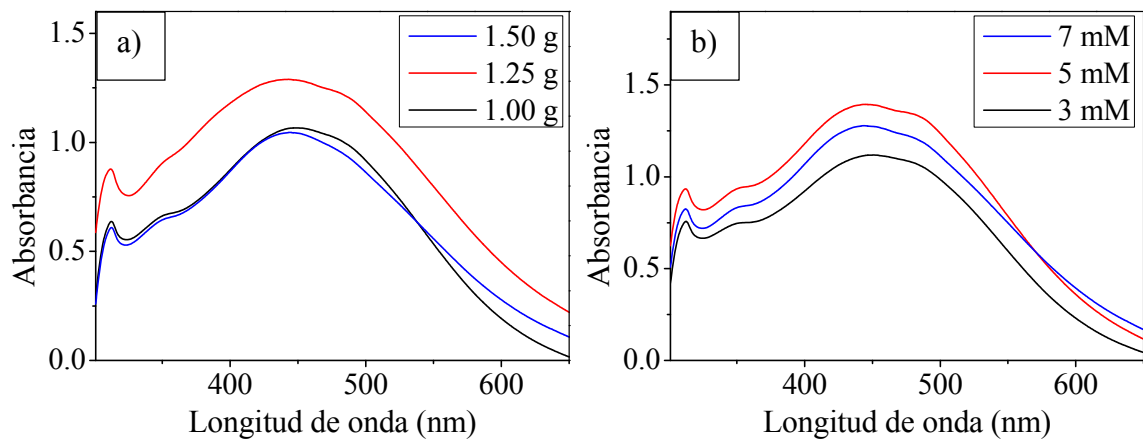
**Figura 3.1** Espectro de UV-Vis a) antes y b) después de la reacción de síntesis con extractos de hojas de diferentes plantas empleando 10 ml de solución 3 mM de  $\text{AgNO}_3$  y 5 ml de extracto.

Aun cuando todas las plantas usadas tienen en su composición química, compuestos con la capacidad de reducir iones a átomos neutros, se observó que en dos de ellas no se llevó a cabo la reacción de síntesis. Lo anterior se debe a que la proporción en la que se encuentran ciertos compuestos antioxidantes no es un indicativo de la capacidad reductora de la planta o del extracto, ya que la presencia de otros compuestos juega un papel importante, tal y como lo demostró Ferreres y col, quienes evaluaron la capacidad antioxidante de las diferentes partes de la planta de níspero, encontrando que las hojas son las que tienen mayor potencial reductor, sin embargo, tienen un menor contenido de compuestos [127]. Lo anterior se debe a que un compuesto muestra diferente comportamiento cuando está aislado que cuando está interactuando con otros compuestos orgánicos.

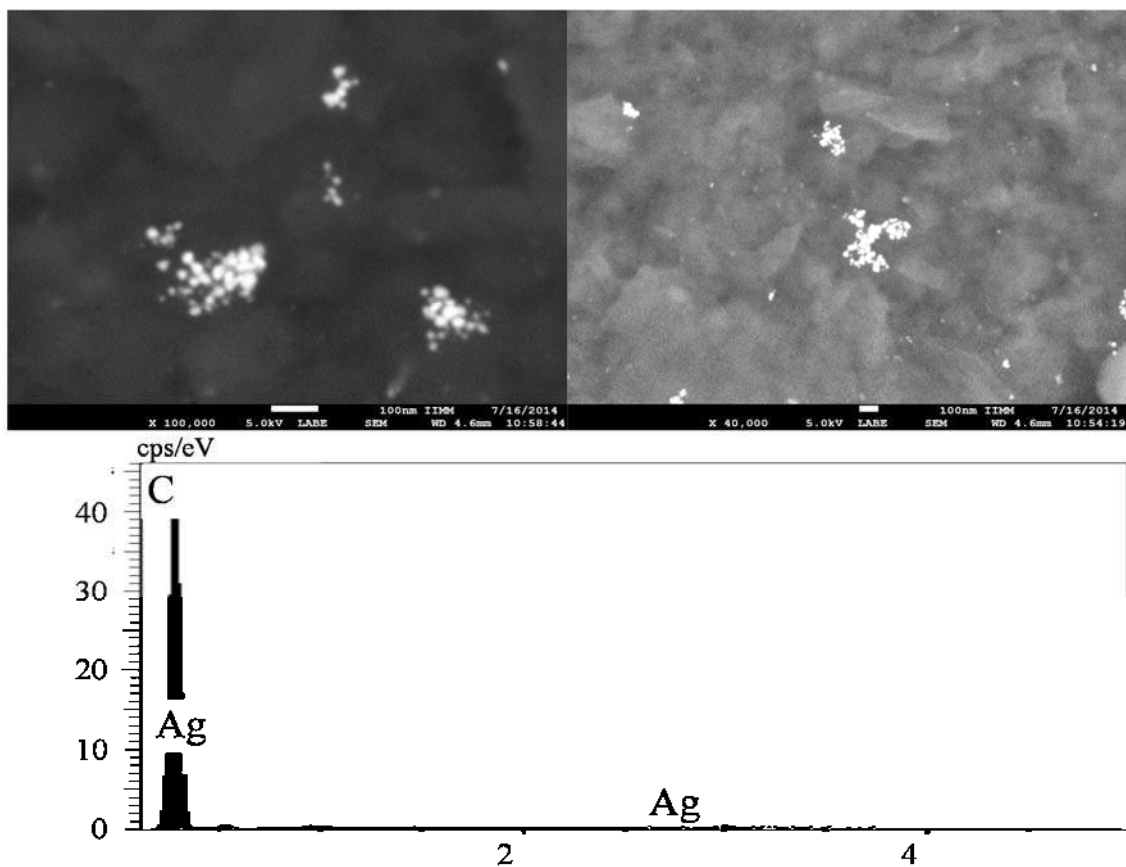
### ***3.1.1.1 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de *Agastache mexicana*.***

Como se ha mencionado, en la síntesis verde de nanopartículas empleando extractos de plantas, los agentes reductores y estabilizadores son ciertos compuestos orgánicos presentes en dichos extractos. Por otra parte, a medida que se incremente la concentración de agentes reductores y estabilizadores se obtendrá una reacción de síntesis más eficiente. Una forma de evaluar dicho comportamiento es variando la cantidad de planta empleada para realizar el extracto. La figura 3.2a muestra el espectro de UV-Vis de las AgNPs sintetizadas con el extracto de *Agastache mexicana* a 3 diferentes concentraciones, que son 1, 1.25 y 1.5 g de planta mezclados en 100 ml de agua. Como se observa, la banda de absorción típica de las AgNPs se encuentra centrada en 435 nm, aproximadamente. La mayor intensidad de dicha banda se presenta cuando se emplearon 1.25 g de *Agastache mexicana*. Sin embargo, la banda es más ancha que las demás, lo cual sugiere una mayor distribución de tamaño de las nanopartículas. Cuando la cantidad de planta es mayor (1.5 g), la banda obtenida es de una intensidad similar a la banda obtenida con 1 g de planta. El ancho de la banda para 1.5 g es menor que para 1 g de *Agastache mexicana* por lo cual la mejor condición para la síntesis de AgNPs es empleando un extracto a base de 1.5 g de *Agastache mexicana*. Otra de las variables evaluadas fue la concentración de la solución precursora de  $\text{AgNO}_3$ , cuyos resultados se muestran en la figuras 3.2b. Se observa que los mejores resultados se obtuvieron para la concentración 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ , ya que la banda muestra las mejores características de intensidad y forma. Para las tres condiciones empleadas, la banda de las AgNPs se encuentra centrada a 450 nm. Sin embargo, cuando se incrementa la concentración de  $\text{AgNO}_3$  dicha banda disminuye en intensidad, lo cual sugiere una menor concentración de nanopartículas formadas, tal como ha sido reportado anteriormente [127].

Por otro lado, la figura 3.3 muestra los resultados de MEB de las AgNPs sintetizadas con el extracto de *Agastache mexicana*. Como se puede observar en las micrografías, existe una baja densidad de nanopartículas, las cuales se encuentran en pequeños aglomerados debido a los compuestos orgánicos que encapsulan a dichas NPs. En el análisis químico únicamente se observan señales de plata y de carbono, las cuales provienen de las nanopartículas y del extracto, respectivamente.

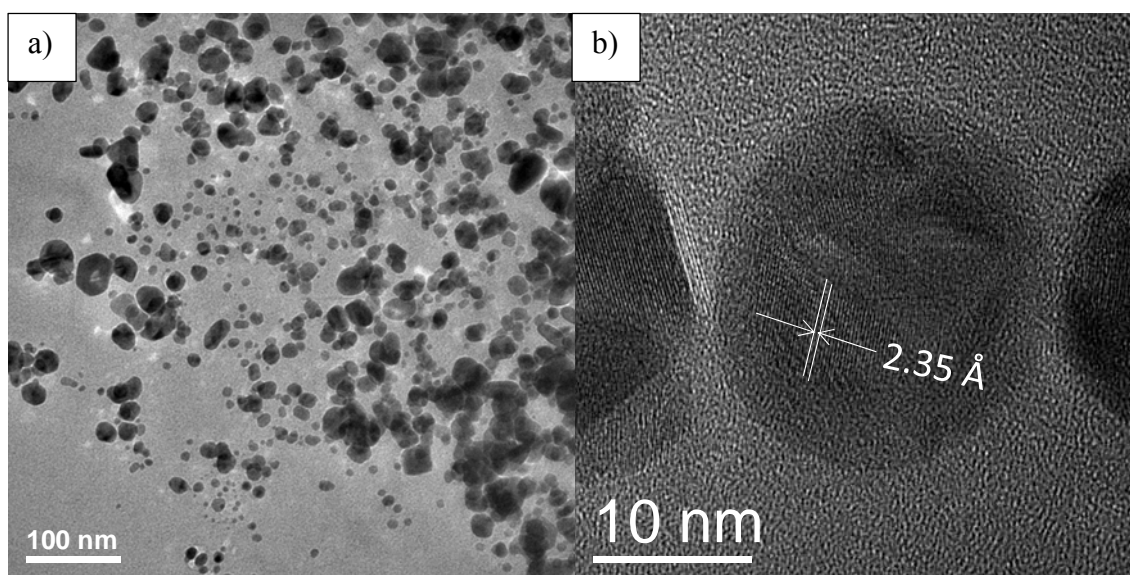


**Figura 3.2** Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas variando: a) la concentración de *Agastache mexicana*, empleando 5 ml de extracto y 10 ml de solución 3 mM de  $\text{AgNO}_3$  y b) la concentración de  $\text{AgNO}_3$ , empleando 5 ml del extracto obtenido con 1.5 g de planta.



**Figura 3.3** Análisis de MEB de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de *Agastache mexicana* a partir de 1.5 g de planta y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

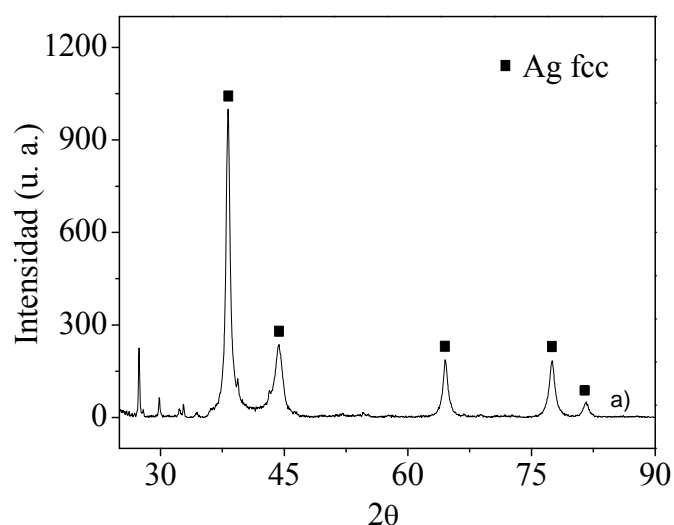
Debido a la baja resolución del análisis por medio de microscopía electrónica de barrido, es necesario llevar a cabo un estudio por microscopía electrónica de transmisión cuyos resultados se muestran en la figura 3.4. Como se aprecia en la figura 3.4a, las AgNPs obtenidas muestran diversas morfologías, principalmente esféricas; sin embargo, se observan partículas hexagonales e irregulares. En lo que se refiere al tamaño, se obtuvieron NPs con un rango de tamaño de 20 a 80 nm, y un tamaño promedio de 32 nm. Es importante notar que varias de las nanopartículas se encuentran agregadas, lo cual se puede deber a la estabilización realizada por los compuestos orgánicos. La variación tanto en tamaño como en forma se debe principalmente al número de agentes orgánicos en el proceso, llevándose a cabo una reducción a diferentes ritmos y un crecimiento en ciertos planos preferenciales. Por otro lado, la figura 3.4b es una micrografía de alta resolución en la cual se aprecia los planos atómicos cuya distancia interplanar es 2.35 Å que corresponde al plano (111) de la plata fcc, de acuerdo a la tarjeta No. 01-087-0720, con lo cual se corrobora la síntesis de AgNPs.



**Figura 3.4** Análisis de MET de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de *Agastache mexicana* a partir de 1.5 g de planta y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ , mostrando: a) concentración, tamaño y forma, b) la distancia interplanar.

Para corroborar, la reducción de iones de plata en plata metálica, se llevó a cabo un análisis por difracción de rayos-X, cuyos resultados se muestran en la figura 3.5. El difractograma obtenido

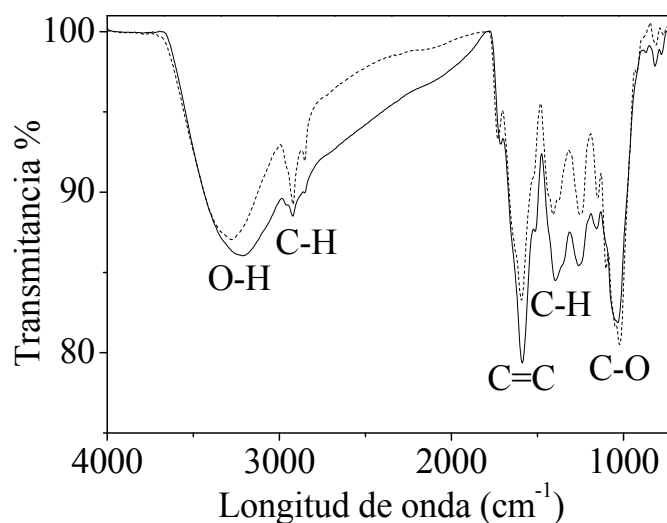
muestra las 5 principales reflexiones pertenecientes a la fase de plata cúbica centrada en las caras. Dicha estructura fue indexada con la tarjeta No. 01-087-0720 de la base de datos empleada. Los picos están ubicados en los ángulos: 38°, 44°, 64°, 77° y 82°, los cuales corresponden a los planos (111), (200), (220), (311) y (222), respectivamente. Además, fue calculado el tamaño de cristal promedio por medio de la fórmula de Scherrer para lo cual se empleó el ancho medio del pico perteneciente a la reflexión del plano (111). El resultado de dicho cálculo mostró que el tamaño de cristal fue de 28 nm, confirmando la formación de nanocrisales. Finalmente, se aprecian algunos picos que no se lograron indexar, los cuales pertenecen a los compuestos orgánicos provenientes de las plantas y que se encuentran estabilizando a las NPs, tal y como ha sido reportado en otras investigaciones [36, 37].



**Figura 3.5** Difractograma de rayos-X de las nanopartículas de plata obtenidas con 5 ml del extracto de *Agastache mexicana* a partir de 1.5 g de planta y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$

Finalmente, para determinar los compuestos orgánicos, provenientes del extracto de *Agastache mexicana*, que participaron en la síntesis de las NPs, se realizó un análisis de FT-IR, para lo cual se realizó un espectro del extracto y posteriormente uno de la muestra conteniendo las nanopartículas obtenidas; los resultados se presentan en la figura 3.6. En el espectro del extracto se pueden observar varias bandas; la primera, centrada en  $3288\text{ cm}^{-1}$  corresponde al grupo funcional O-H de los fenoles. Las bandas ubicadas en  $2922$  y  $2852\text{ cm}^{-1}$  pertenecen al enlace C-H, al igual que las bandas que se encuentran en  $1411\text{ cm}^{-1}$ . Las señales a  $1730$  y  $1595\text{ cm}^{-1}$

pertenecen al enlace C=C proveniente de los anillos aromáticos. Finalmente, las bandas situadas en 1255 y 1024  $\text{cm}^{-1}$  corresponden al grupo funcional C-O. Por otro lado, el espectro de las AgNPs presenta las mismas bandas; sin embargo, las intensidades se ven disminuidas, principalmente las correspondientes a los compuestos fenólicos tales como O-H, C-H y C=C.



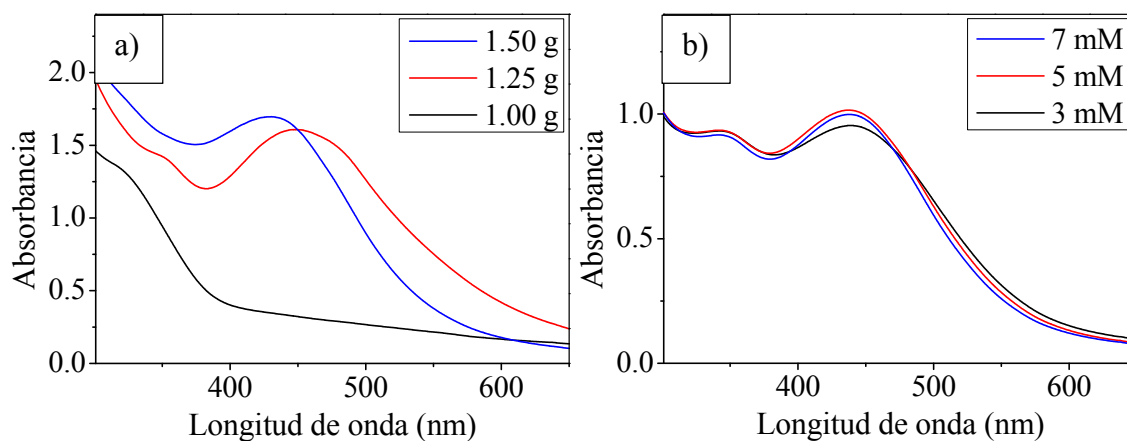
**Figura 3.6** Análisis de FT-IR del extracto de *Agastache mexicana* (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada).

Con los resultados anteriores, se puede concluir que los compuestos fenólicos son los responsables de la reducción y estabilización de las AgNPs obtenidas. Por lo tanto, se puede atribuir la reducción de iones de plata al quercetin y hesperitin que son compuestos fenólicos que, de acuerdo a Munuswamy y col, se encuentran presentes en gran proporción y han mostrado capacidad reductora [130].

### 3.1.1.2 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de *Tecoma stans*

Para el caso de *Tecoma stans* también fue evaluada la concentración de extracto y de solución precursora, cuyos resultados se muestran en la figura 3.7. Tal como se puede observar en la figura 3.7a, el incremento en la cantidad de planta usada mostró un efecto favorable. Para 1 g de planta no se aprecia la banda de absorción que sugiere la presencia de AgNPs, mientras que cuando empleó 1.25 g, la banda de absorción de las AgNPs se encuentra centrada en 450 nm. Finalmente,

cuando se utilizaron 1.5 g de *Tecoma stans*, la banda de absorción mostró la mayor intensidad; además, dicha banda se encuentra centrada a una longitud de onda menor (428 nm), lo que significa que las NPs son de menor tamaño. Lo anterior se debe a que a medida que se incrementa la cantidad de planta, la concentración de compuestos reductores y estabilizadores incrementa también, por lo que la reducción es más eficiente [33]. De acuerdo a estos resultados, el extracto con 1.5 g de *Tecoma stans* es el que presenta las mejores propiedades para la síntesis de AgNPs. Por otra parte, la figura 3.7b muestra el efecto de la concentración de  $\text{AgNO}_3$  en la síntesis de las AgNPs. Como se puede apreciar, no existen cambios significativos para las tres concentraciones empleadas. Sin embargo, cuando se empleó una concentración 5 mM, la banda de absorción muestra la mayor intensidad, lo cual sugiere una mayor densidad de nanopartículas presentes. Estos resultados se deben a que la cantidad de agentes reductores y estabilizadores, presentes en los extractos, no es suficiente para reducir una mayor concentración de iones, lo cual ocurre al incrementar la concentración de  $\text{AgNO}_3$ . Lo anterior conlleva a la síntesis de una menor cantidad de NPs, tal y como ha sido reportado previamente [34].

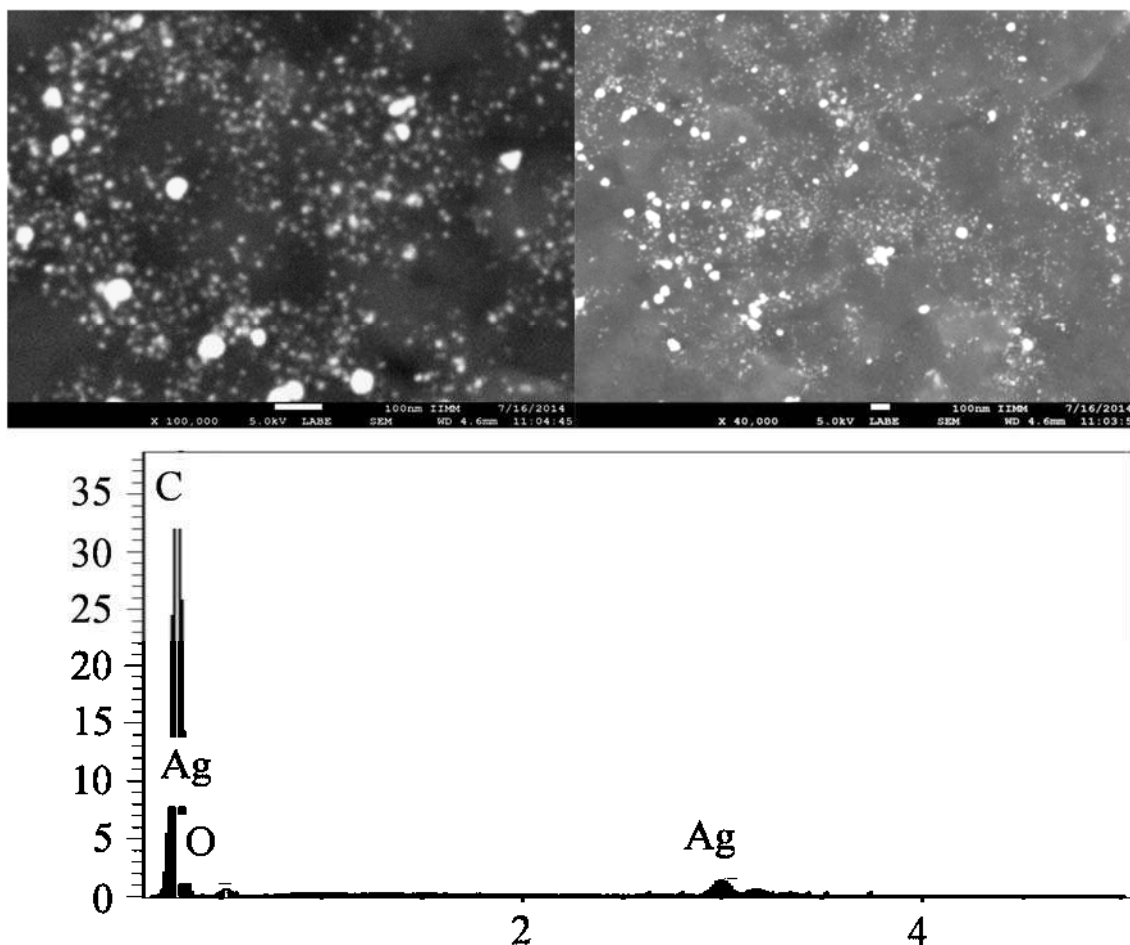


**Figura 3.7** Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas variando: a) la concentración de *Tecoma stans* y utilizando 10 ml de solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  y b) la concentración de  $\text{AgNO}_3$ , empleando 5 ml del extracto obtenido con 1.5 g de planta.

Para corroborar la síntesis de AgNPs, se llevó a cabo un análisis de MEB cuyos resultados se muestran en la figura 3.8. Como se observa en las micrografías, hay una gran concentración de NPs. Debido a la resolución de la técnica, no es posible apreciar exactamente las características



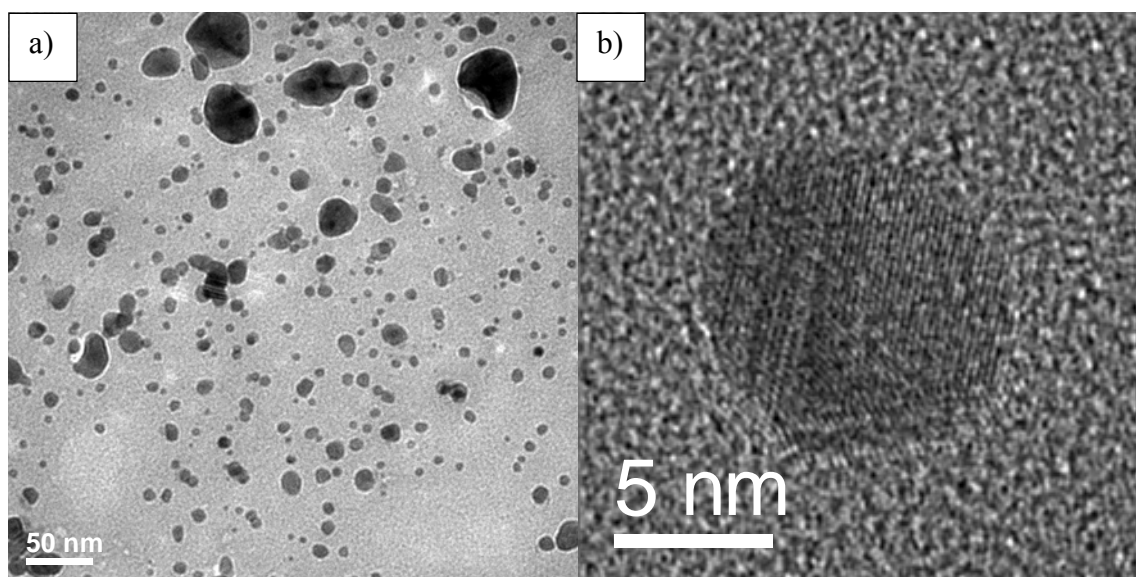
de las nanopartículas tales como su forma y tamaño. Además, se observan algunas partículas de gran tamaño, sin embargo cabe la posibilidad que se traten de pequeños aglomerados de partículas pequeñas. Finalmente, en el análisis químico muestra señales de plata proveniente de las NPs y de carbono correspondiente a los compuestos orgánicos y al portamuestra empleado.



**Figura 3.8** Análisis de MEB de las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de *Tecoma stans* obtenido a partir de 1.5 g de planta y empleando 10 ml de solución de  $\text{AgNO}_3$  5 mM.

Para determinar más aspectos estructurales como morfología, tamaño, estructura y distribución de las NPs es importante realizar la técnica de microscopía electrónica de transmisión (MET). La figura 3.9 muestra los resultados de MET de las AgNPs obtenidas con el extracto de *Tecoma stans*. En la figura 3.9a se observa que la mayoría de las nanopartículas tienen un rango de tamaño de 10-20 nm con una morfología esférica. Sin embargo, se aprecian algunas

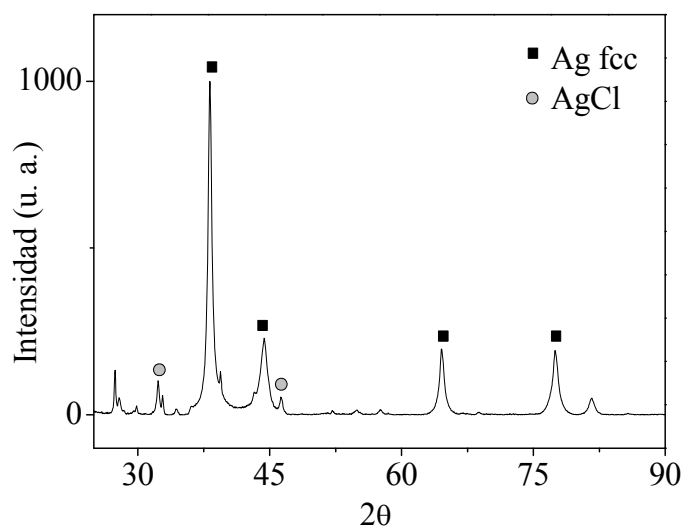
nanopartículas mayores a 50 nm, las cuales tienen una morfología irregular. Esta distribución bimodal se debe a que hacia el final del proceso de preparación, los agentes reductores y estabilizadores se agotan por lo que ocurre un crecimiento excesivo de algunas partículas, este fenómeno es llamado maduración de Ostwald. Por otra parte, la figura 3.9b corresponde a una micrografía de alta resolución en la cual se aprecian los planos atómicos cuya distancia es de 2.35 Å que corresponde a los planos (111) de la fase cúbica centrada en las caras de la plata. Con lo anterior, se corrobora la síntesis de AgNPs empleando el extracto acuoso de *Tecoma stans*.



**Figura 3.9** Análisis de MET de las nanopartículas de plata empleando 5 ml del extracto de *Tecoma stans* obtenido a partir de 1.5 g de planta mostrando a) La concentración, tamaño y forma, b) La distancia interplanar.

Para determinar las fases presentes después de la reacción, se llevó a cabo un análisis por difracción de rayos-X, cuyos resultados se muestran en la figura 3.10. En el difractograma se observan las principales reflexiones de la fase de plata cúbica centrada en las caras. Dicha estructura fue indexada con la tarjeta No. 01-087-0720 de la base de datos empleada. Los picos en el difractograma se encuentran ubicados en 38°, 44°, 64° y 77°, los cuales corresponden a los planos (111), (200), (220) y (311), respectivamente, comprobando la presencia de plata sólida. El tamaño de cristal promedio fue determinado por medio de la fórmula de Scherrer, para lo cual se empleó el ancho medio del pico perteneciente a la reflexión del plano (111), dando como

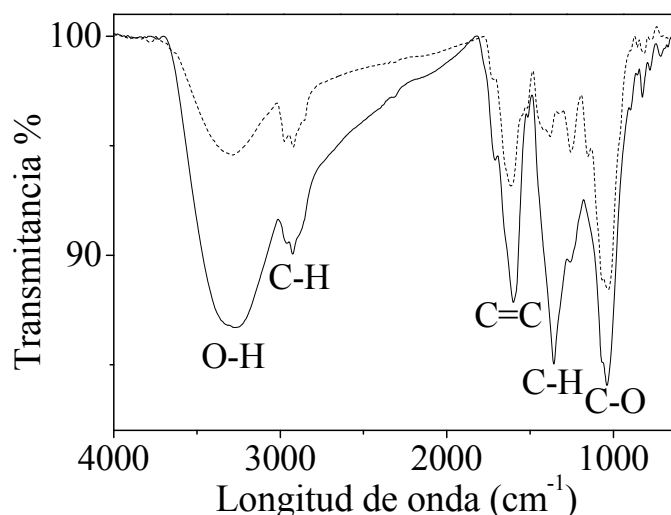
resultado un tamaño de 32 nm. Con este resultado se confirma la formación de AgNPs. Además de los picos de plata, se aprecian algunas reflexiones correspondientes a la fase AgCl, la cual ha sido formada en aquellos casos donde la planta empleada tiene un contenido significativo de cloro, el cloruro precipita dada su pobre solubilidad en solución acuosa [32, 35]. Obviamente la presencia de este compuesto es indeseable debido a que disminuye la eficiencia de nuestra reacción, sin embargo, nos ayuda a establecer un criterio importante para elegir una planta cuando se busca su aplicación tecnológica, o bien buscar la alternativa de eliminar pequeñas cantidades presentes, realizando un proceso de lavado, aunque esto constituye más pasos de proceso lo que eleva los costos. El elemento cloro puede también provenir de pequeños cristales de NaCl, presentes en la planta por influencia medio ambiental, por lo que un lavado cuidadoso debe realizarse con agua grado reactivo para que se pueda efectivamente eliminar esta sal. El cloro al entrar en contacto con la solución de nitrato de plata forma cloruro y precipita cuyo color del precipitado es blanco. Finalmente, los picos sin indexar pertenecen a los compuestos orgánicos provenientes de la planta *Tecoma stans* y que algunos de ellos se encuentran estabilizando a las nanopartículas [36, 37].



**Figura 3.10** Difractograma de rayos-X de las nanopartículas obtenidas con 5 ml del extracto de *Tecoma stansn* a partir de 1.5 g de planta y 10 ml de una solución 5 mM de AgNO<sub>3</sub>.

Para determinar los compuestos orgánicos involucrados en el proceso de síntesis de las AgNPs se llevó a cabo un análisis de espectroscopía FT-IR, el cual se muestra en la figura 3.11. El espectro

correspondiente al extracto de hojas de *Tecoma stans* (línea continua) muestra varias bandas. Todas corresponden a los compuestos fenólicos y flavonoides contenidos en la planta; la primera, centrada a  $3266\text{ cm}^{-1}$ , corresponde al enlace O-H, mientras que las ubicadas en  $2946\text{ cm}^{-1}$  y  $1370\text{ cm}^{-1}$  pertenecen al enlace C-H de los alcanos y/o grupos metilos terminales. El enlace C=C debido a los anillos aromáticos se encuentra a  $1595\text{ cm}^{-1}$  y, finalmente, la banda centrada a  $1069\text{ cm}^{-1}$  pertenece al enlace C-O de los fenoles. Por otra parte, en el espectro correspondiente a las AgNPs (línea punteada), se observa la reducción significativa de todas las bandas mencionadas anteriormente. Por lo tanto, se puede concluir que los compuestos fenólicos son los responsables de la reducción de los iones Ag y que los compuestos remanentes se encuentran estabilizando a las nanopartículas sintetizadas. Das y col, determinaron que los compuestos con mayor actividad antioxidante, presentes en esta planta, son la tecomina y tecostatina [131]. Por lo tanto, en este estudio se le atribuye a estos compuestos la síntesis de NPs.



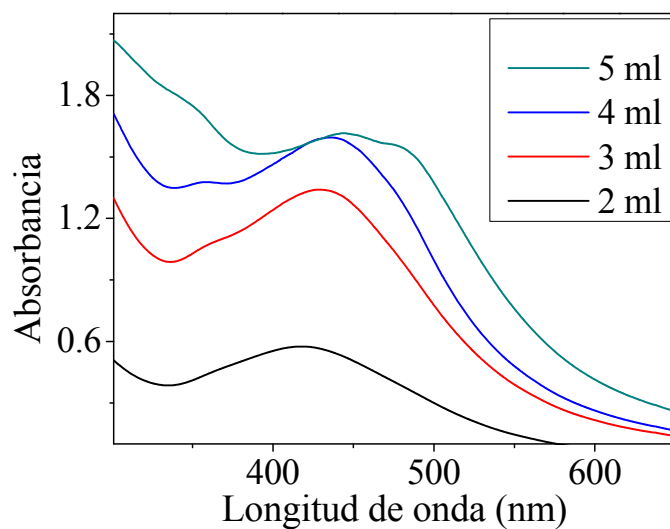
**Figura 3.11** Análisis de FT-IR del extracto de *Tecoma stans* (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada).

### 3.1.1.3 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de hojas de *Ficus carica*

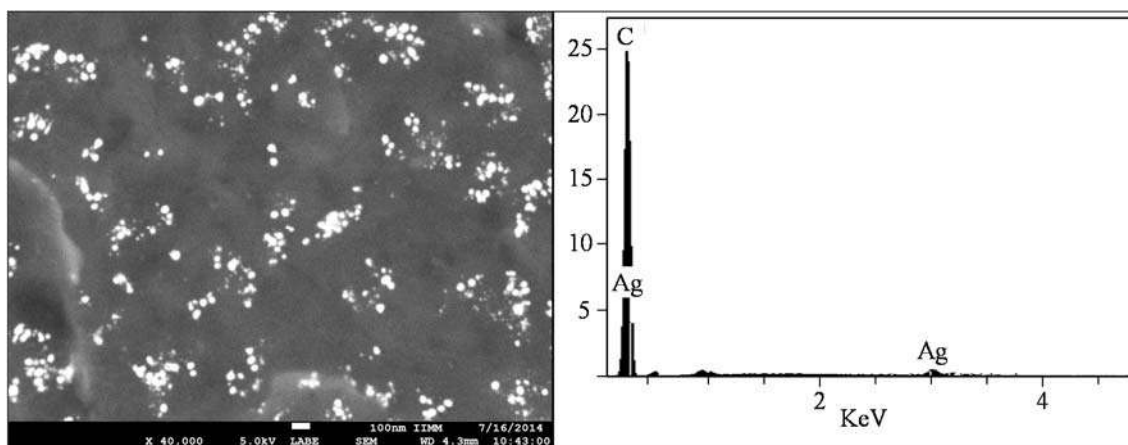
Debido a que las plantas anteriormente utilizadas no mostraron un control adecuado de las características de las nanopartículas sintetizadas a condiciones ambientales, se seleccionó otra

planta con alto contenido de compuestos reductores la cual fue *Ficus carica* (hojas de higo). La figura 3.12 muestra los resultados obtenidos del análisis por UV-Vis al variar la cantidad de extracto empleado. Como se puede observar, para todas las cantidades de extracto se aprecia que la banda de absorbancia típica de las AgNPs para 2 ml se encuentra centrada en 420 nm, aproximadamente. Al incrementar la cantidad del extracto, no se observa algún movimiento significativo en la posición de dicha banda, lo que sugiere que las nanopartículas mantienen el mismo rango de tamaño al incrementar el volumen del extracto. Sin embargo, la intensidad de la banda se observa notablemente afectada al emplear más extracto ya que para 2 ml se presenta una absorbancia de alrededor de 0.6, mientras que cuando se emplearon 3 ml se obtuvo un valor de 1.7. Lo anterior significa que a medida que se adicionó más cantidad de extracto se sintetizaron una mayor cantidad de AgNPs, lo cual es consistente con lo reportado por Ahluwalia y col [132] quienes sintetizaron AgNPs empleando un extracto de *Trichoderma harzianum* obteniendo una mayor concentración de nanopartículas a medida que se incrementa la cantidad de extracto, lo cual se demostró por el incremento en la intensidad de la banda de absorción, sin apreciar un corrimiento de la misma lo cual se debe al hecho que el extracto tiene suficientes compuestos estabilizadores que actúan de la misma forma sin importar la cantidad de iones de plata que sean reducidos. El comportamiento anterior ha sido poco reportado ya que es típico que haya una disminución en el tamaño de las NPs a medida que se incrementa el volumen de extracto tal y como ha sido reportado en varias investigaciones [133-136]. Finalmente, la banda de absorción correspondiente a 5 ml de extracto mostró una intensidad similar a la de 4 ml pero más amplia, lo cual sugiere un mayor rango de tamaño. Además, se observan tres diferentes picos lo cual significa que hay diversas morfologías de las AgNPs sintetizadas.

La figura 3.13 muestra los resultados de MEB de la muestra en la cual se obtuvieron los mejores resultados, es decir, cuando se utilizaron 4 ml de extracto de *Ficus carica*. Como se puede observar en la micrografía, la mayoría de las AgNPs sintetizadas se encuentran en cúmulos o aglomerados que probablemente son formados por los compuestos orgánicos. Por otra parte, se aprecian diversos tamaños de NPs, todas ellas dentro del rango nanométrico. La forma de las AgNPs no es posible determinarla debido a la resolución de esta técnica. Finalmente, en el análisis EDS se observan únicamente las señales de plata y carbono, provenientes de las nanopartículas y compuestos orgánicos, respectivamente.



**Figura 3.12** Análisis por UV-Vis de las nanopartículas de plata empleando un extracto de *Ficus carica* y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

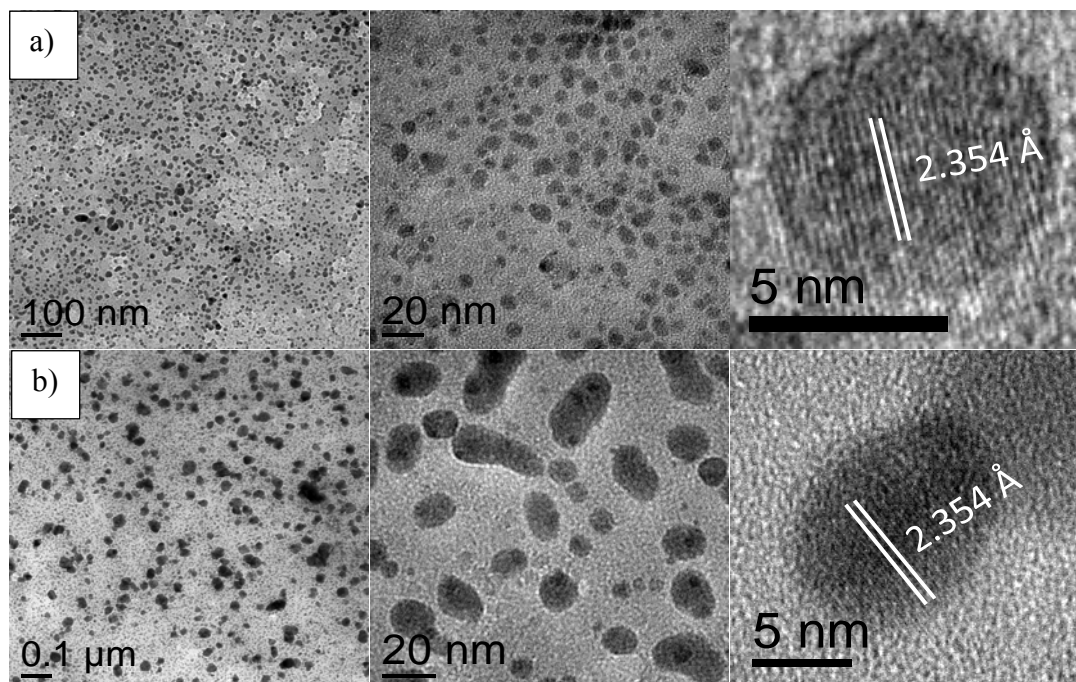


**Figura 3.13** Análisis de MEB de las nanopartículas de plata sintetizadas con 4 ml del extracto de *Ficus carica* y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

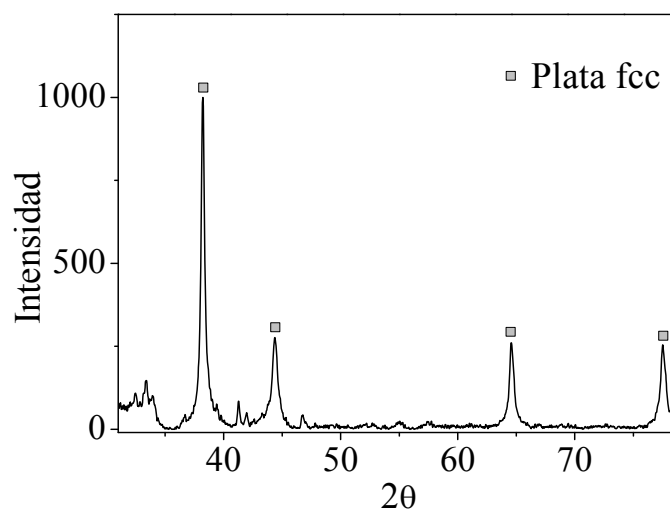
En la figura 3.14 se muestran los resultados de microscopía electrónica de transmisión en donde se puede apreciar la concentración, morfología y tamaño de las AgNPs al emplear el extracto de *Ficus carica*. La figura 3.14a corresponde a la muestra en la que se emplearon 4 ml de extracto que, de acuerdo a UV-Vis, es la condición que presentó los mejores resultados. En las micrografías se pueden observar una alta concentración de nanopartículas lo cual se debe al

incremento en la cantidad de compuestos reductores al aumentar la cantidad de extracto [137]. Además, a mayores magnificaciones se observa su morfología, la cual es esférica en su mayoría. Respecto al tamaño, se observa una dispersión estrecha ya que el rango de tamaño se encuentra entre 7 y 20 nm. De acuerdo a Bindhu y col [43], este comportamiento se debe a que el tamaño de las nanopartículas se vuelve más pequeño a medida que se agrega más cantidad de extracto, consecuentemente la cantidad de agente reductor y estabilizador se incrementa y la dispersividad de las mismas es más pequeña. Por otra parte, cuando se usaron 5 ml de extracto (figura 3.14b) se observa una concentración similar de AgNPs, tal y como se determinó por medio de UV-Vis. Sin embargo, el tamaño de las NPs se incrementó ya que en este caso fue de 15 a 55 nm y la morfología es esférica e irregular; además en algunas partículas se presentó cierta aglomeración. La existencia de estas diversas morfologías es el motivo por el cual el espectro de UV-Vis presenta una banda más ancha centrada a una mayor longitud de onda. Lo anterior se debe a que los compuestos estabilizadores, presentes en el extracto, no son suficientes para estabilizar una mayor cantidad de AgNPs, por lo que comienzan a crecer en ciertas direcciones y/o aglomerarse entre ellas. Finalmente, en ambos casos se indexó, por medio de la técnica de alta resolución, el plano de mayor intensidad (111) correspondiente a la plata, que tiene una distancia interplanar de 2.354 Å.

Por otra parte, la figura 3.15 muestra el difractograma de las AgNPs sintetizadas con 4 ml de extracto de *Ficus carica*; Los picos principales fueron indexados con la tarjeta No. 01-087-0720 que pertenece a la plata con estructura cúbica centrada en las caras. Las reflexiones ubicadas en 38, 44, 64 y 77° corresponden a los planos (111), (200), (220) y (311), respectivamente. De acuerdo a la ecuación de Scherrer, el tamaño de cristal es de 17 nm, confirmando los resultados obtenidos por microscopía electrónica de transmisión. Finalmente, se observan algunos picos sin indexar, los cuales pertenecen a los compuestos orgánicos que se encuentran encapsulando a las AgNPs, tal como ha sido reportado en otros trabajos.



**Figura 3.14** Análisis por MET de las nanopartículas de plata empleando 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  y variando el volumen del extracto de *Ficus carica* a) 4 ml y b) 5 ml.

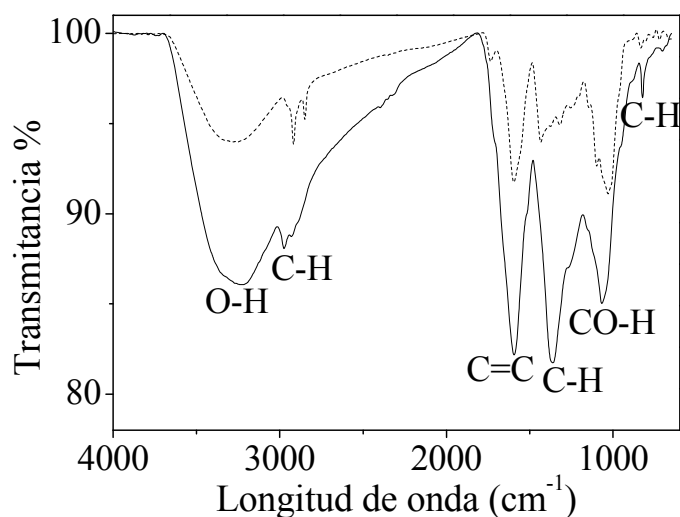


**Figura 3.15** Difractograma de rayos-X de las nanopartículas obtenidas con 4 ml del extracto de *Ficus carica* y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

Para determinar el tipo de compuestos, provenientes del extracto de *Ficus carica*, que están involucrados en la síntesis de AgNPs, se llevó a cabo el análisis por FT-IR mostrado en la figura



3.16. En el espectro del extracto (línea continua) se pueden apreciar las bandas correspondientes a los enlaces O-H de los fenoles centrada a  $3245\text{ cm}^{-1}$ , C-H de alcanos o metilos terminales ubicadas en  $2970$  y  $1368\text{ cm}^{-1}$ , C=C de los anillos aromáticos en  $1590\text{ cm}^{-1}$ , CO-H de los fenoles centrada a  $1068\text{ cm}^{-1}$  y C-H de los alcanos a  $823\text{ cm}^{-1}$ . Por otro lado, en el espectro de las AgNPs se aprecian las mismas bandas pero con una intensidad notablemente reducida, por lo que se puede deducir que los compuestos fenólicos son los encargados de reducir los iones de plata; además los compuestos remanentes son los que se encuentran estabilizando a las nanopartículas formadas. Estos resultados son soportados con estudios realizados a esta planta en los que la actividad antioxidante o reductora es atribuida al contenido de flavonoides y compuestos fenólicos presentes en las hojas. Además, de acuerdo a Konyaloglu y col [129], la mayor concentración de dichos compuestos se logra al emplear agua para obtener el extracto, tal y como se llevó a cabo en el presente estudio.

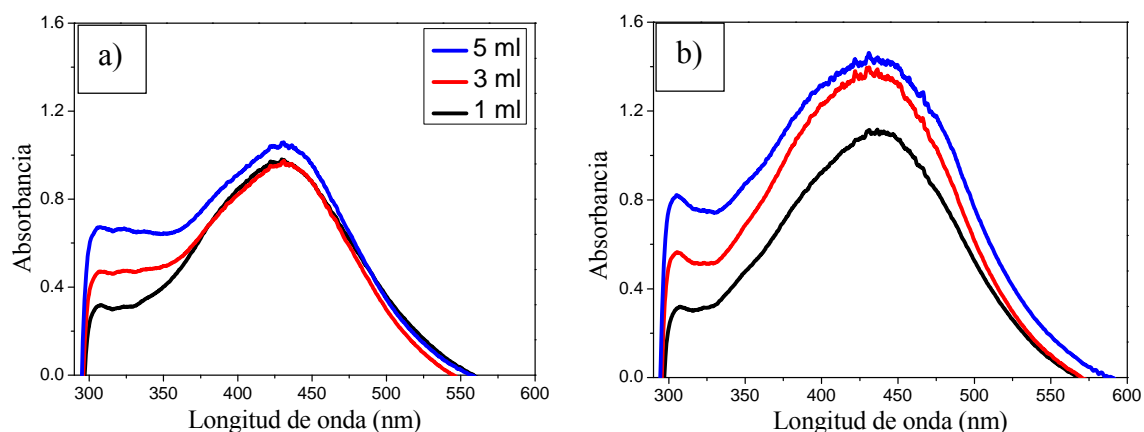


**Figura 3.16** Análisis de FT-IR del extracto de *Ficus carica* (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada).

#### 3.1.1.4 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de hojas de *Salvia microphylla kunth*.

Para la síntesis de AgNPs empleando el extracto de *Salvia microphylla Kunth*, el primer indicativo de la formación de nanopartículas fue el cambio de color típico de transparente a marrón oscuro que presentaron todas las muestras. Los espectros de UV-Vis de las AgNPs con

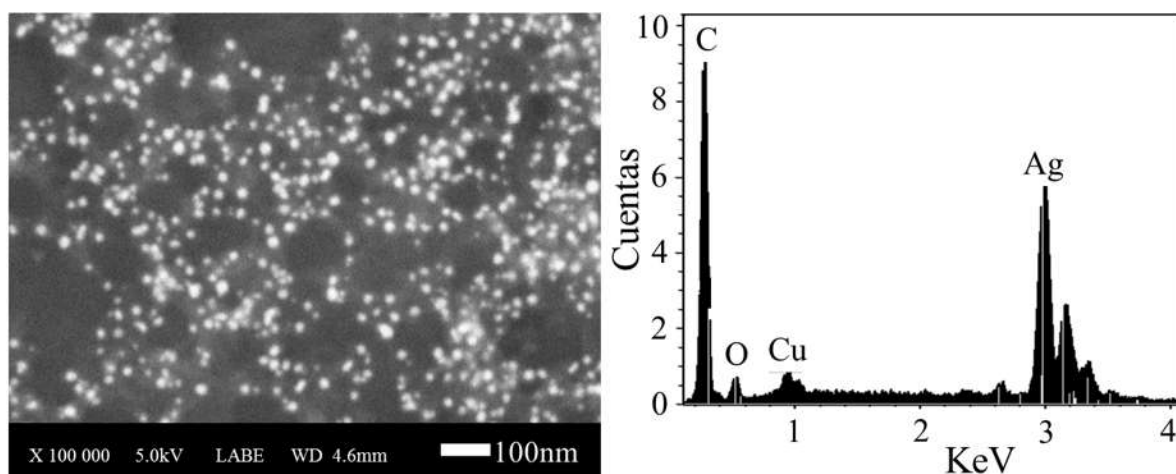
diferentes concentraciones de extracto de la planta *Salvia microphylla Kunth* registrado después de 0.5 h y 72 h de tiempo de reacción se muestran en la figura 3.17a y b, respectivamente. De la figura 3.17a se puede observar que la banda típica de las nanopartículas de plata se encuentra aproximadamente en una longitud de onda de 430 nm. La intensidad de dicha banda de absorción aumenta con el incremento de la cantidad de extracto utilizado, sin embargo no es muy significativo. Por otro lado, el efecto de la concentración del extracto de la planta se aprecia mejor cuando se analizaron las muestras después de 72 h de reacción, como se muestra en la figura 3.17b. Sin embargo, se observa que el ensanchamiento de las bandas incrementa lo cual significa que el rango de tamaño de las nanopartículas es mayor. Los resultados observados son consistentes con investigaciones previas donde el aumento de la concentración de agente reductor, conlleva al aumento de la intensidad de la banda de absorción y consecuentemente un incremento de la concentración de AgNPs [138, 139].



**Figura 3.17** Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas con 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  y variando el volumen del extracto de *Salvia microphylla Kunth* después de a) 0.5 h y b) 72 h de tiempo de reacción.

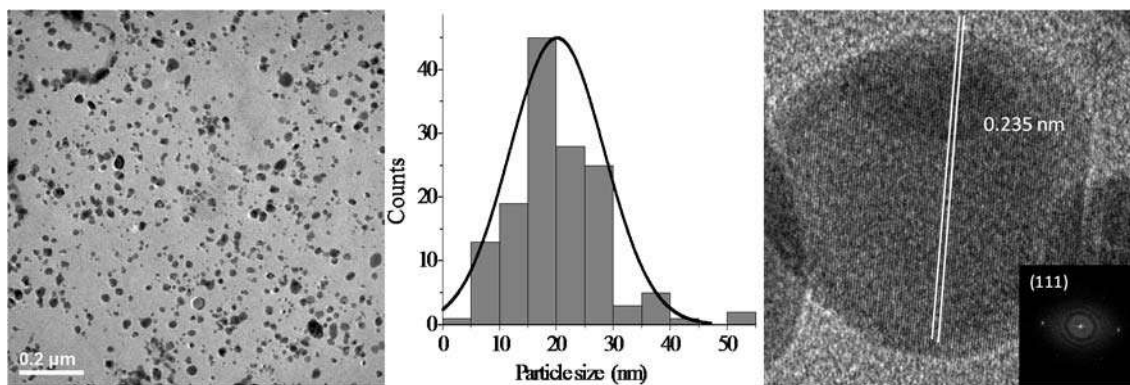
Posteriormente, se llevó a cabo la caracterización por MEB de las AgNPs obtenidas y su correspondiente análisis químico obtenido por EDS los cuales se muestran en la figura 3.18. La micrografía muestra que las NPs son de forma cuasi-esférica, mostrando una buena dispersión, sin formación de agregados. Estos resultados indican que el extracto de la planta contiene, además de los agentes reductores, compuestos estabilizadores que impiden la agregación de las

AgNPs formadas. El espectro de EDS muestra una fuerte señal del elemento plata. Sin embargo, también se observan señales de carbono y oxígeno atribuidas a las biomoléculas que se encuentran alrededor de las nanopartículas, tal y como ha sido reportado previamente [140]. Finalmente, el pico de Cu se debe al portamuestras empleado.



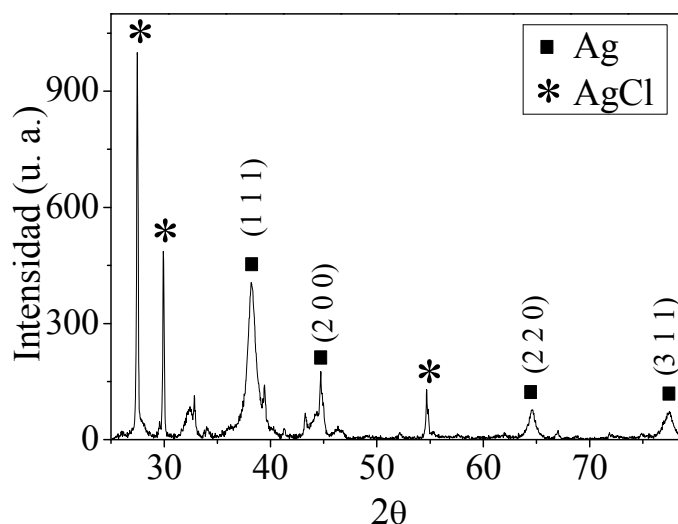
**Figura 3.18** Análisis de MEB de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de *Salvia microphylla Kunth* y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

La figura 3.19 muestra el análisis por MET de las AgNPs empleando 5 ml de extracto de *Salvia microphylla Kunth*. En la micrografía se pueden observar diferentes características morfológicas de las AgNPs sintetizadas. Las nanopartículas son de forma cuasi-esféricas con poca agregación entre partículas y polidispersas. El análisis de distribución de tamaño de partícula fue realizado en 200 nanopartículas de plata y muestra que el tamaño de partícula oscila entre 8 y 30 nm con una alta frecuencia de partículas de tamaño entre 15 y 20 nm. Por otra parte, la micrografía de alta resolución muestra que las NPs no son completamente de forma esférica. Además, se pueden observar los planos cuya distancia interplanar es de 0.23 nm, la cual corresponde al plano (111) de plata. Estos resultados corroboran los obtenidos en MEB y UV-Vis y demuestran la capacidad del extracto de *Salvia microphylla kunth* para sintetizar AgNPs.



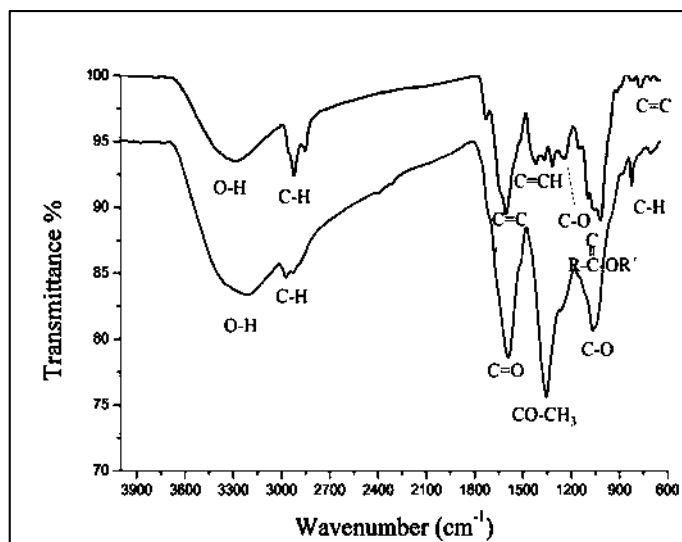
**Figura 3.19** Análisis por MET empleando 5 ml del extracto de *Salvia microphylla kunth* y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  para sintetizar nanopartículas de plata.

Estos resultados pueden ser corroborados con el análisis estructural realizado por rayos-X, el cual se muestra en la figura 3.20. El patrón de difracción de rayos X muestra las reflexiones de la plata ubicadas a  $38^\circ$ ,  $44^\circ$ ,  $64^\circ$  y  $77^\circ$ , los cuales corresponden a los planos (111), (200), (220) y (311) de la estructura fcc de la plata, respectivamente. Esta fase fue indexada con la tarjeta No. 01-087-0720 de la base de datos empleada. El tamaño de cristal fue determinado por medio de la ecuación de Sherrer, para lo cual se empleó la reflexión del plano (111) y cuyo resultado fue de 23 nm, corroborando los resultados obtenidos por MET. Además, se identificaron tres reflexiones de AgCl ubicadas en  $27^\circ$ ,  $30^\circ$  y  $54^\circ$ , las cuales se indexaron con la tarjeta No. 01-085-1355. Dicha fase pudo haberse formado debido al contenido de cloro de la planta o del agua empleada. Finalmente, se observaron un par de pequeñas reflexiones que no corresponden a ninguna de las fases anteriores, por lo que pueden atribuirse a los compuestos orgánicos encargados de estabilizar a las nanopartículas, tal y como lo reportó Ulug [141].



**Figura 3.20** Difractograma de rayos-X de las nanopartículas de plata obtenidas con 5 ml del extracto de *Salvia microphylla kunth* y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

El tipo de compuestos involucrados en la reducción y estabilización de las AgNPs fue estimado por medio de la determinación de los grupos funcionales presentes en el extracto y en las nanopartículas, para lo cual se llevó a cabo el análisis por FT-IR mostrado en la figura 3.21. En el espectro correspondiente al extracto de *Salvia microphylla kunth* (línea continua) se presentan las bandas del enlace O-H ubicado en  $3280 \text{ cm}^{-1}$ , el enlace C-H en  $2950 \text{ cm}^{-1}$ , el enlace C=C de los compuestos aromáticos centrado en  $1600 \text{ cm}^{-1}$ , el enlace C-H de los metilos terminales en  $1460 \text{ cm}^{-1}$ , el enlace C-O de los compuestos fenólicos en  $1100 \text{ cm}^{-1}$  y el enlace C-Cl a  $850 \text{ cm}^{-1}$ . Esta última banda demuestra el contenido de cloro en la planta y confirma la fuente de cloro por la cual se formó el AgCl indexado en el patrón de rayos-X. Por otro lado, el espectro correspondiente a las AgNPs (línea punteada) contiene las mismas bandas pero con una intensidad menor. Dicha reducción puede ser atribuida a que los compuestos fenólicos actúan en la reducción de los iones de Ag, mientras los compuestos remanentes son los que se encuentran estabilizando a las NPs formadas.

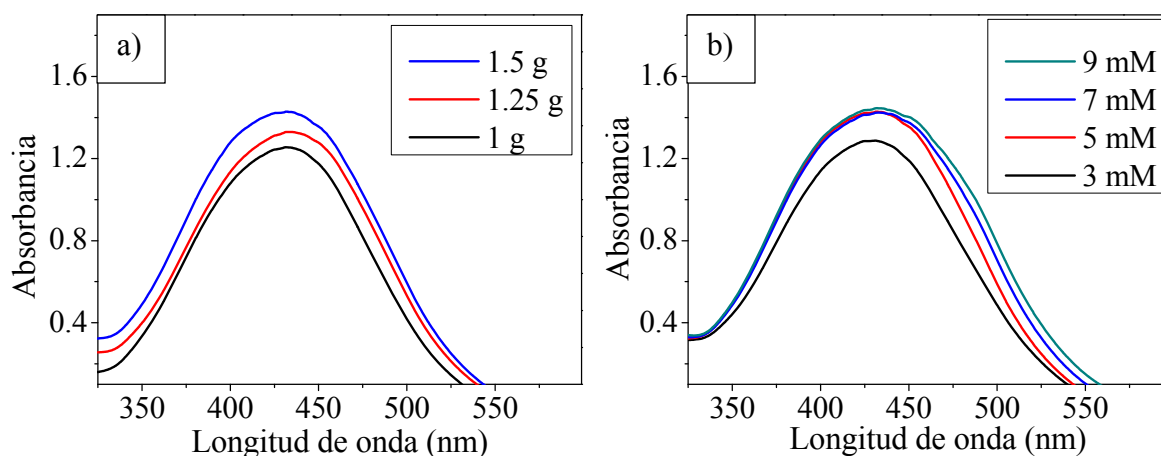


**Figura 3.21** Análisis de FT-IR del extracto de *Salvia microphylla kunth* (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada).

### 3.1.1.5 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de hojas de *Tamarix gallica*.

Tal y como ha sido reportado, el primer indicio de la formación de AgNPs es un cambio de color en la solución; este cambio regularmente es de amarillo a café [21, 22]. Para el caso del extracto de taray, dicho cambio fue observado aproximadamente 15 min después de iniciada la mezcla entre la solución de  $\text{AgNO}_3$  y el extracto de la misma planta. Este cambio se debe al fenómeno de resonancia de plasmón superficial (SPR) [23]. El SPR, también llamada banda o pico de absorción, para las nanopartículas de plata en la espectroscopía UV-Vis aparece en un rango de 400-500 nm [24]. Existen varios factores que pueden afectar dicha banda, entre los que se encuentran la temperatura, la concentración de la muestra, el tipo de solvente, la cantidad de extracto, entre otros. Por lo tanto, la cantidad de planta empleada para obtener el extracto fue una de las variables analizadas, cuyos resultados se muestran en la figura 3.22a. Como se puede observar, a medida que se incrementa la cantidad de hojas la banda de las AgNPs incrementa en intensidad, obteniéndose los mejores resultados cuando se emplearon 1.5 g de planta. En lo que se refiere a la posición de la banda de absorción, esta se encuentra en una longitud de onda de 430 nm para una cantidad de 1 g de planta; para las siguientes cantidades empleadas únicamente se observan ligeros cambios. Lo anterior significa que a medida que se incrementa la cantidad de

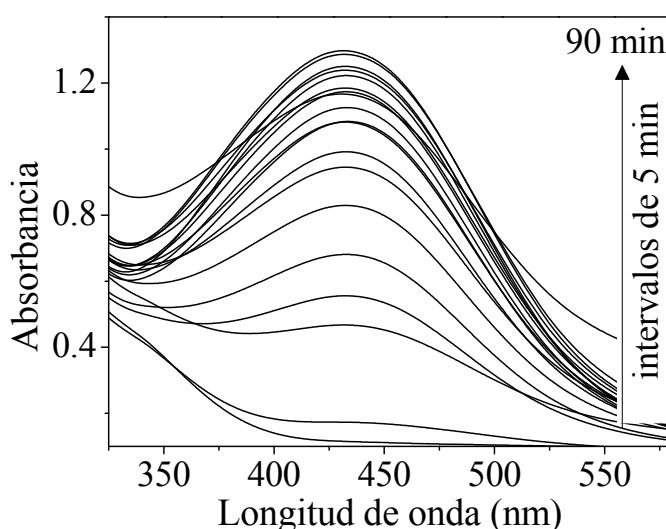
*Tamarix gallica* hay una mayor formación de AgNPs, las cuales tienen un tamaño similar. Este comportamiento ha sido observado en varias investigaciones anteriores, lo cual se debe al incremento de la concentración de agentes reductores y estabilizadores a medida que se incrementa la cantidad de planta o extracto de planta [10-12]. Por otra parte, se analizó el efecto de la concentración de la solución de  $\text{AgNO}_3$ , empleando 4 diferentes concentraciones (3, 5, 7 y 9 mM). Los resultados obtenidos de UV-Vis se muestran en la figura 3.22b. En todas las muestras se emplearon 1.5 g de *Tamarix gallica*, ya que de acuerdo al análisis anterior, esta fue la condición a la que se obtuvieron los mejores resultados. El espectro correspondiente a la solución 3 mM se observa menos intenso que los demás espectros, en los cuales la intensidad es muy similar. Sin embargo, a medida que se incrementa la concentración de la solución, se observa una banda de absorción más ancha, lo cual sugiere una mayor distribución de tamaño de las AgNPs sintetizadas. Lo anterior se debe a que se reducen una mayor cantidad de iones, sin embargo, los estabilizadores provenientes del extracto no son suficientes y las partículas comienzan a crecer. Por lo tanto, se deduce que la concentración ideal de  $\text{AgNO}_3$  para la síntesis de nanopartículas es de 5 mM.



**Figura 3.22** Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas variando: a) la concentración de *Tamarix gallica* y b) la concentración de  $\text{AgNO}_3$ .

Uno de los aspectos claves en la síntesis de nanopartículas es el inicio y velocidad de la misma, la cual depende en gran medida de la composición química de la planta empleada. La figura 3.23 muestra el análisis de UV-Vis de la cinética de la reacción para la síntesis de AgNPs al emplear

el extracto de *Tamarix gallica*. Como se puede observar, el inicio de la reacción ocurre 5 min después de llevarse a cabo la mezcla entre el extracto y la solución precursora. La banda de absorción típica de las nanopartículas de plata incrementa a medida que el tiempo transcurre, lo cual significa un aumento en la concentración de AgNPs formadas. Cabe señalar que el tiempo de inicio es más corto comparado con otras investigaciones [25, 26], pero similares con los obtenidos en algunos trabajos [11, 27]. En lo que se refiere a la posición y el ancho de la banda de absorción se mantienen sin cambios significativos, lo cual sugiere un tamaño y distribución de tamaño constantes a través del tiempo.

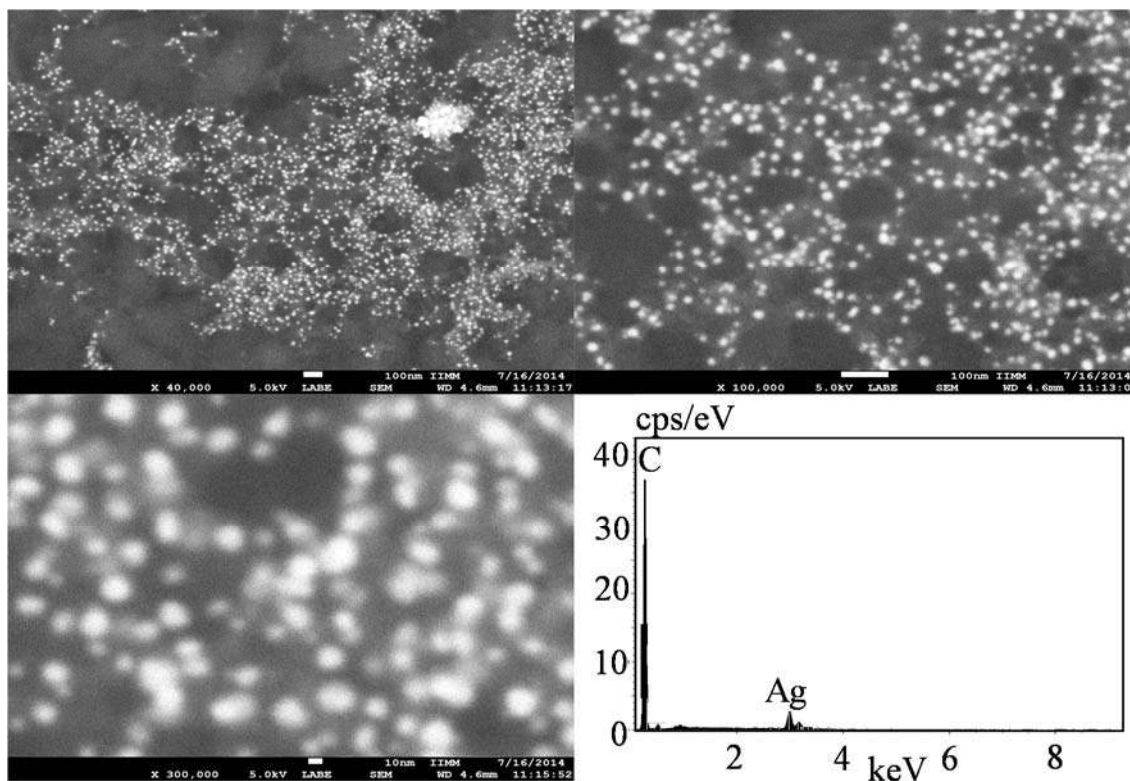


**Figura 3.23** Espectro de UV-Vis mostrando la cinética de la reacción de síntesis de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de *Tamarix gallica* y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

La caracterización por microscopía electrónica de barrido fue llevada a cabo para analizar la morfología y tamaño de las NPs. La figura 3.24 muestra diferentes micrografías obtenidas a diferentes magnificaciones, en las cuales se observan las AgNPs sintetizadas con extracto de *Tamarix gallica*. Las imágenes claramente muestran una gran concentración de nanopartículas de plata, las cuales se aprecian de morfología esférica; la mayoría de ellas con un tamaño menor a 50 nm. Además, las NPs se observan dispersas, con muy pocos aglomerados de las mismas. Estos resultados confirman la capacidad del extracto de hojas de *Tamarix gallica* para sintetizar AgNPs. El análisis por medio de EDS confirma la síntesis de AgNPs ya que, como se aprecia en



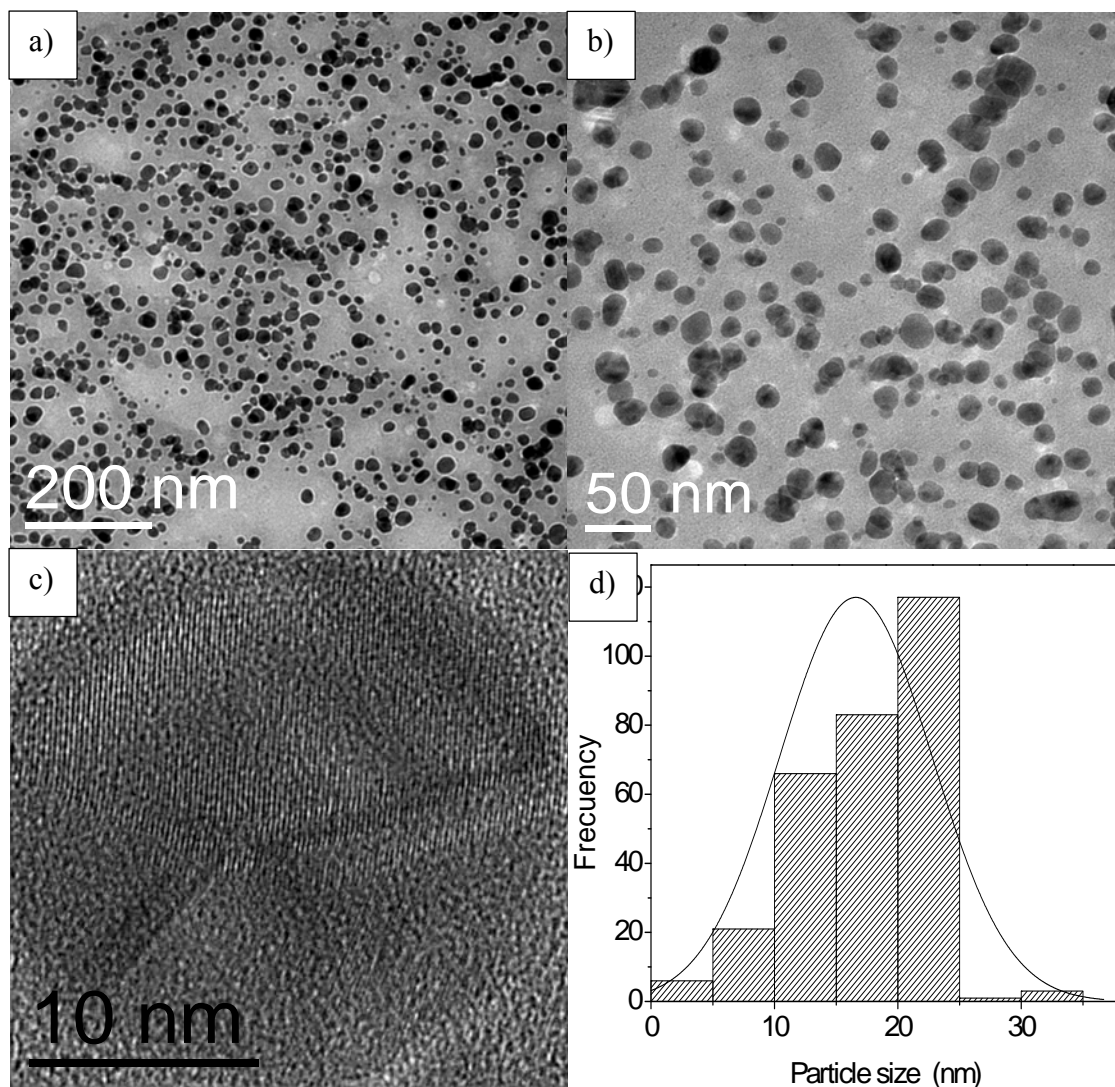
la figura 4d, hay una clara señal de plata. También se observa una señal de carbono la cual proviene del portamuestras empleado.



**Figura 3.24** Análisis por MEB de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de *Tamarix gallica* y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

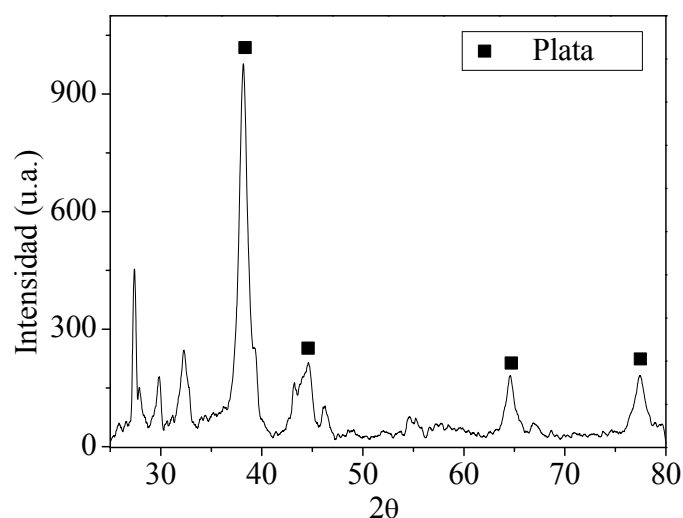
Por otra parte, el análisis por MET, mostró resultados más detallados acerca del tamaño, morfología y estructura de las AgNPs. Las figuras 3.25a-b son micrografías de las AgNPs sintetizadas con el extracto de *Tamarix gallica* y una solución 5 mM de nitrato de plata. Las nanopartículas se observan bien dispersas y la mayoría de ellas muestran una morfología esférica. Este comportamiento sugiere que el extracto de *Tamarix gallica* contiene compuestos orgánicos capaces de reducir y estabilizar las NPs. Dichos compuestos estabilizadores pueden actuar como barrera para evitar que las nanopartículas se aglomeren. De acuerdo al análisis de tamaño de partícula mostrado en la figura 3.25d, el tamaño de las AgNPs sintetizadas fue de 5-40 nm con un tamaño promedio de 12 nm y una alta frecuencia entre 25 y 45 nm. Esta distribución de tamaño es más estrecha comparada con algunos resultados previos, tales como los reportados por Mo y

col [28]. Estos resultados son consistentes con los obtenidos por medio de UV-Vis. Además, también se llevó a cabo el análisis por medio de microscopía electrónica de transmisión por alta resolución cuyos resultados se muestran en la figura 3.25c. En dicha imagen se observan los planos cristalográficos de las AgNPs, cuya distancia interplanar es de 0.28 nm que corresponde a la distancia del plano (200) de la fase cúbica centrada en las caras de la plata. Estos resultados confirman los obtenidos por difracción de rayos-X.



**Figura 3.25** Análisis por MET de las nanopartículas de plata: a-b) micrografías a diferentes magnificaciones, c) imagen de alta resolución y d) histograma mostrando la distribución de tamaño de partícula.

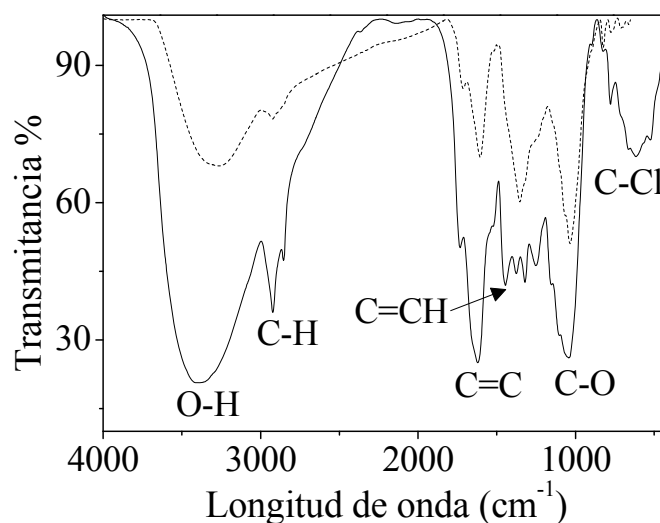
Una vez que fueron realizados los análisis por microscopía, se procedió a secar las muestras con la finalidad de realizar el análisis por medio de difracción de rayos-X. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 3.26, en la cual se observan las cuatro principales reflexiones de la plata cúbica centrada en las caras. Dichos picos se encuentran a 38, 44, 64 y 77°, los cuales pertenecen a los planos (111), (200), (220) y (311), respectivamente. De acuerdo a la ecuación de Sherrer, el tamaño de cristal es de 12.3 nm, confirmando la estructura de las AgNPs obtenidas. Por otra parte, los picos que no están identificados provienen de los compuestos orgánicos que estabilizan a las AgNPs tal y como ha sido reportado en otros trabajos [11, 12].



**Figura 3.26** Patrón de difracción de rayos-X de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de *Tamarix gallica* y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

Las figura 3.27 muestra los espectros de FT-IR de *Tamarix gallica* y de los productos obtenidos después de la reducción. En el espectro del extracto, se observa una banda a  $3300\text{ cm}^{-1}$  generada por la vibración del grupo O-H de los alcoholes o grupos fenólicos. Un par de bandas se encuentran en  $2920$  y  $1050\text{ cm}^{-1}$ , las cuales indican la presencia de enlaces C-H y C-O, respectivamente. Ambas bandas son típicas de los compuestos fenólicos presentes en las plantas [28]. Las bandas situadas a  $1620$ ,  $1450$ ,  $1375$  y  $1320\text{ cm}^{-1}$  pertenecen al enlace C=C y C=CH de los compuestos aromáticos [29]. Finalmente, la banda situada a  $780\text{ cm}^{-1}$  pertenece al grupo C-Cl debido a la presencia de cloro. Por otra parte, en el espectro de las AgNPs se puede observar que existen varias similitudes con el espectro del extracto. Sin embargo, algunas bandas

desaparecieron, principalmente las ubicadas entre 1300 y 1500  $\text{cm}^{-1}$ , las cuales se deben a los compuestos aromáticos. Las bandas que permanecen presentes son las situadas en 3300, 2920 y 1050  $\text{cm}^{-1}$ , las cuales pertenecen a los compuestos fenólicos que encapsulan o estabilizan a las nanopartículas. De acuerdo a lo anterior, se puede concluir que los compuestos que tienen un papel fundamental en la etapa de reducción y estabilización son los fenoles y algunos compuestos aromáticos. Estos resultados son similares a los obtenidos por Ser y col, quienes sintetizaron nanopartículas de plata con el extracto de *Erythrina indica lam*, una planta rica en alcaloides y fenoles [30]. En lo que se refiere a la banda C-Cl, se puede apreciar que desapareció por completo debido a que el cloro formó AgCl tal como se puede observar en el patrón de rayos-X. Las propiedades antioxidantes o reductoras del extracto de *Tamarix gallica* se atribuyen a los ácidos gálico y elágico que son los compuestos de mayor concentración que exhiben excelentes propiedades antioxidantes.

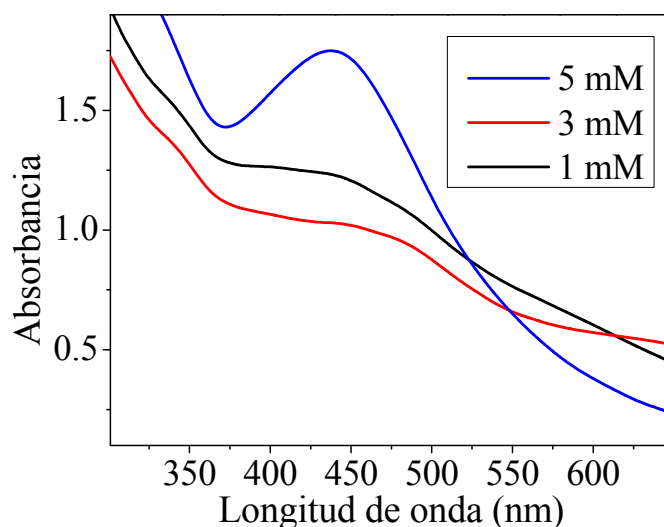


**Figura 3.27** Análisis de FT-IR del extracto de *Tamarix gallica* (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada).

### 3.1.1.6 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de hojas de *Eriobotrya japónica*

La figura 3.28 muestra los resultados obtenidos por medio de espectroscopía UV-Vis al emplear 5 ml de extracto de *Eriobotrya japónica* y 3 diferentes concentraciones de la solución precursora. Cuando se empleó una solución 1 mM se puede apreciar la banda de absorción, típica de las

AgNPs, centrada en 460 nm. Esta longitud de onda sugiere un tamaño grande de las AgNPs obtenidas. Además, la banda es muy ancha, lo cual se debe a una amplia distribución de tamaño. Cuando se incrementó la concentración de  $\text{AgNO}_3$  a 3 mM, la banda, ubicada en 480 nm, fue de menor intensidad sugiriendo una menor concentración de nanopartículas y de un tamaño mayor que las obtenidas con la solución 1 mM. Sin embargo, a 640 nm comienza a observarse otra pequeña banda, lo cual puede deberse a NPs de gran tamaño, incluso de tamaños fuera del rango nanométrico. Finalmente, cuando se utilizó la solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ , la banda obtenida fue de mayor intensidad debido a una mayor cantidad de AgNPs sintetizadas. En lo que se refiere a su posición, se puede apreciar que la banda se movió hacia la izquierda, centrándose en 445 nm. Este movimiento se debe a una disminución en el tamaño de las nanopartículas sintetizadas, tal como ha sido reportado [142]. Finalmente, el ancho de la banda es menor que en los dos casos anteriores, sugiriendo una menor distribución de tamaño. Este comportamiento se debe a que a menores concentraciones de sal precursora, la reacción de síntesis se lleva a cabo a velocidades muy lentas con lo que se favorece el crecimiento excesivo de las partículas. Cuando se incrementa la concentración de iones, se lleva a cabo rápidamente la reducción de los mismos y se favorece la síntesis de NPs de menor tamaño, de forma definida y con una distribución de tamaño estrecha tal y como ha sido reportado [143, 144]



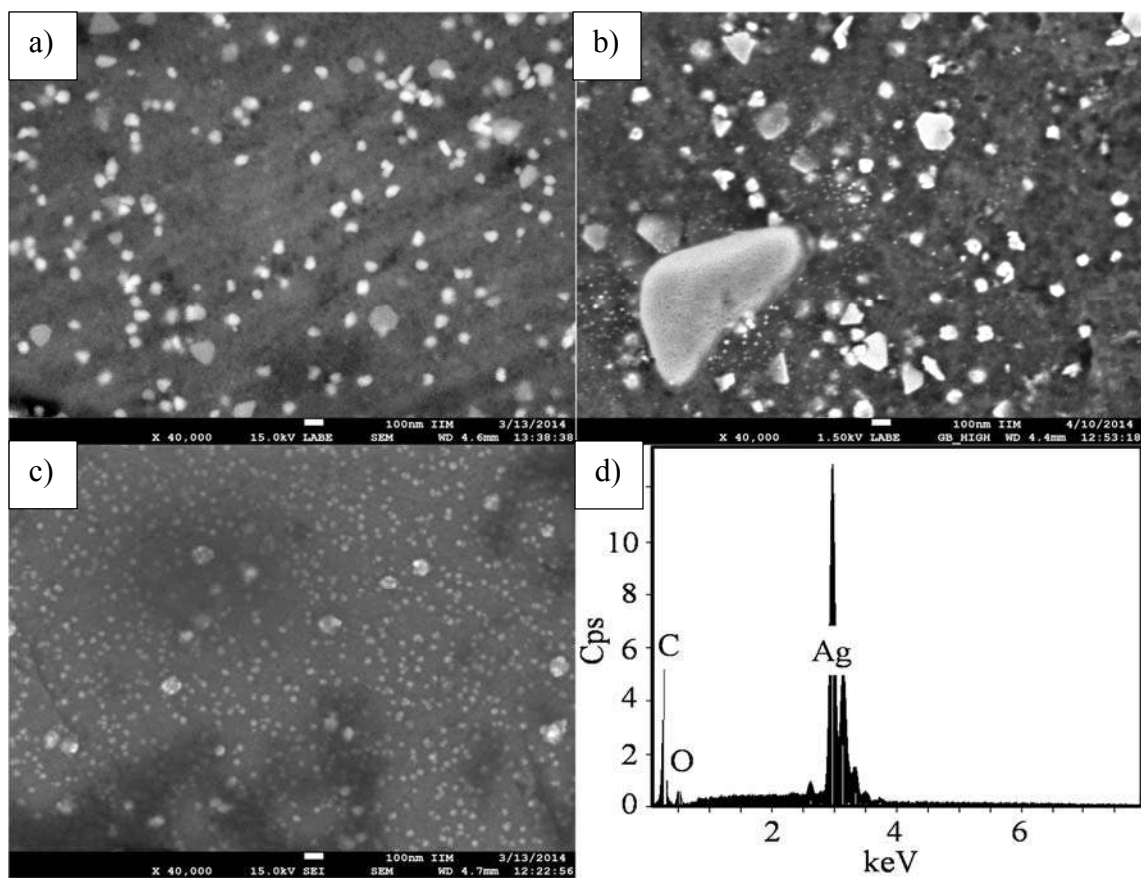
**Figura 3.28** Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de *Eriobotrya japonica* variando la concentración de  $\text{AgNO}_3$ .

Por otra parte, para corroborar los resultados anteriores, la figura 3.29 muestra los resultados de microscopía electrónica de barrido para corroborar los resultados anteriores. En la micrografía correspondiente a una concentración 1 mM de  $\text{AgNO}_3$  (figura 3.29a) se observan partículas de morfologías esféricas y triangulares; respecto al tamaño, la mayoría se encuentran entre 80-120 nm. Cuando se empleó una concentración 3 mM (figura 3.29b), se obtuvieron algunas nanopartículas muy pequeñas, sin embargo también se observan partículas de mayor tamaño que, incluso se encuentran fuera de la escala nanométrica. Este hecho confirma la existencia de dos bandas de absorción en el espectro de UV-Vis de la figura anterior. La figura 3.29c corresponde a una concentración 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ , en la que se aprecia una gran concentración de nanopartículas de forma esférica y tamaño homogéneo, con algunos pequeños aglomerados. Estos resultados son congruentes con las características de la banda obtenida en UV-Vis. Finalmente, la figura 3.29d es un análisis EDS de una de las partículas más grandes de la micrografía 3.29b en la que se aprecian las señales de carbono y plata que pertenecen a los compuestos orgánicos y a las nanopartículas, respectivamente. Cabe señalar que los análisis EDS de las otras muestras presentan los mismos elementos, con ligeras variaciones en las intensidades de las señales.

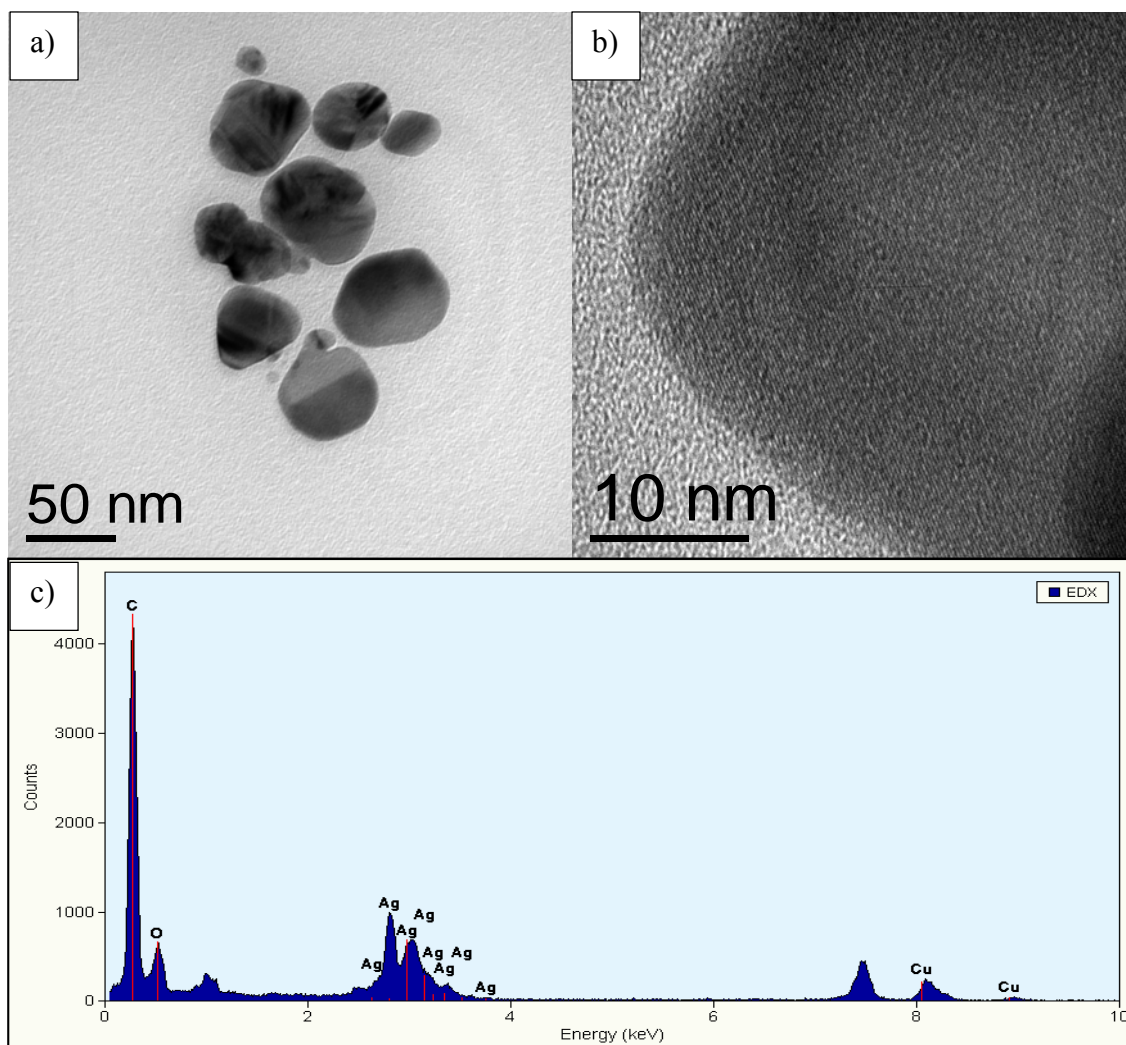
Para determinar con mayor precisión las características de las AgNPs, se realizó un análisis por microscopía electrónica de transmisión, mostrado en la figura 3.30, para lo cual se seleccionó la mejor muestra, en la que se utilizó la solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  y 5 ml de extracto de *Eriobotrya japonica*. En la figura 3.30a se observan partículas de tamaño nanométrico, las cuales se encuentran atrapadas en el material orgánico proveniente del extracto y que actúa como estabilizador, el cual se encuentra alrededor de las nanopartículas y que ha sido observada en otros trabajos [142, 145]. De acuerdo a Parameshwaran [145], esta interacción ocurre cuando hay suficientes moléculas orgánicas para reducir iones de plata a metal y encapsular estas partículas nanométricas. Por otra parte, se observaron diversos tamaños de partícula entre 15-60 nm. En cuanto a la forma de las AgNPs, se observó que la mayoría de estas son esféricas, sin embargo, se encontraron algunas con formas irregulares. La figura 3.30b es una micrografía de alta resolución en la cual se aprecian los planos atómicos cuya distancia es 0.23 nm que corresponde al plano (111) de la plata. Estos resultados son similares a los obtenidos por Prabhu [54], quien sintetizó AgNPs de forma esférica y cúbica con un rango de tamaño promedio de 5-47 nm, las cuales



fueron obtenidas empleando 5ml de un extracto de hojas de vitex negundo y 45 ml de una solución 1 mM de  $\text{AgNO}_3$ . Finalmente, la figura 3.30c muestra el análisis químico, en el cual se observan únicamente los elementos de interés que es la plata de las nanopartículas, el cobre y carbón de la rejilla y compuestos orgánicos del extracto.



**Figura 3.29** Análisis de MEB de las muestras con 5 ml de extracto de *Eriobotrya japonica* para las diferentes concentraciones de  $\text{AgNO}_3$ : a) 1mM, b) 3mM, c) 5mM y d) análisis EDS.

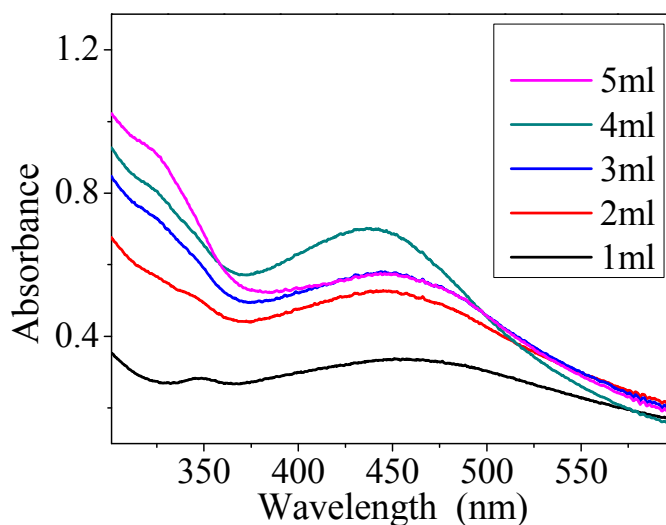


**Figura 3.30** Análisis de MET de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de *Eriobotrya japonica* y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ : a) Micrografía mostrando tamaño y forma, b) Micrografía de alta resolución y c) Análisis químico.

Una vez que se determinó la concentración idónea de sal precursora, se procedió a variar el volumen de extracto cuyos resultados de UV-Vis se muestran en la figura 3.31. Se puede apreciar una banda de absorción, típica de las AgNPs, centrada en 450 nm aproximadamente, la cual incrementa a medida que se incrementa la cantidad de extracto de 1 a 4 ml. Estos resultados son similares a los reportados por Mansour Ghaffari y col [139] quienes sintetizaron AgNPs empleando el extracto del fruto *Crataegus douglasii* y al evaluar los resultados por UV-Vis determinaron que a medida que se incrementa la cantidad de extracto se sintetizaron más



nanopartículas, ya que la banda de absorción se incrementó significativamente. Lo anterior se debe al hecho que a medida que se incrementa la cantidad de extracto, los agentes reductores están en mayor concentración y se reducen en mayor cantidad los iones de plata. Además, se puede apreciar que a medida que se incrementó la cantidad de extracto, la banda sufre un ligero movimiento hacia la izquierda, desde 470 nm para cuando se empleó 1 ml, hasta 430 nm para 4 ml de extracto. Este movimiento en la banda de absorción se debe a que las NPs disminuyeron en tamaño a medida que se incrementó la cantidad de extracto, ya que se incrementa la cantidad de agente reductor y estabilizador, favoreciendo la reacción de síntesis de NPs de menor tamaño tal y como lo han reportado, en otros trabajos [142-144]. Para el caso en donde se emplearon 5 ml de extracto, la banda de absorción se observa menos intensa que la correspondiente a 4 ml, lo que sugiere una menor concentración de AgNPs. Además, en este caso la banda se mueve ligeramente hacia la derecha en aproximadamente 450 nm. Este comportamiento se debe a que el extracto no contiene suficiente agente estabilizador por lo que las partículas son más grandes e incluso pueden estar fuera del rango nanométrico.



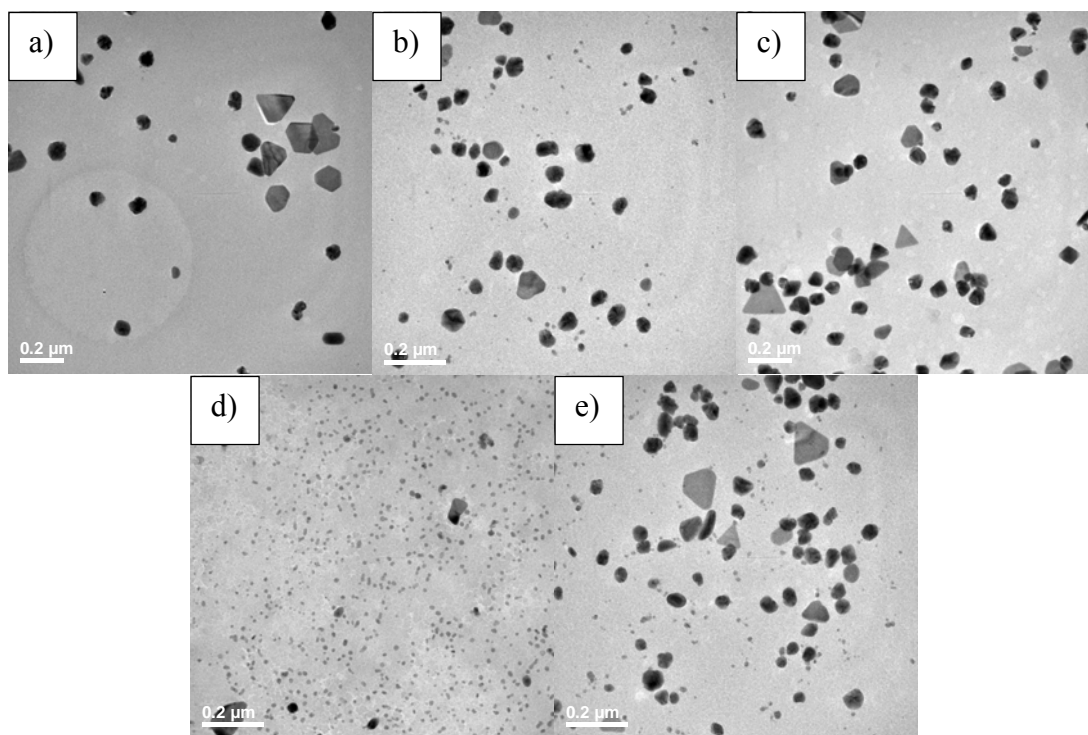
**Figura 3.31** Espectros de UV-Vis de las nanopartículas de plata variando la cantidad de extracto, empleando 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

Mansour Ghaffari y col [139] obtuvieron resultados similares a los anteriores, al emplear un extracto frutal de *Crataegus douglasii*, variando la cantidad del mismo de 10 a 70% en volumen. En dicho trabajo, la banda de absorción perteneciente a 50% de extracto fue menos intensa que la

correspondiente a 40%, sin embargo para mayores concentraciones la banda fue más intensa por lo que se determinó que a esas condiciones de síntesis existe cierta interacción entre los diversos compuestos presentes en la solución, lo que provoca una menor concentración de nanopartículas.

Para determinar con mayor precisión las características de las AgNPs sintetizadas empleando diferentes cantidades de extracto de *Eriobotrya japonica*, se realizó el análisis por microscopía electrónica de transmisión, mostrado en la figura 3.32. La figura 3.32a es una micrografía de la muestra en la que se utilizó 1 ml de extracto y en la cual se puede apreciar un rango de tamaño grande ya que se observan algunas partículas de 70 nm y otras que exceden del rango nanométrico. En cuanto a la morfología, existen NPs esféricas, triangulares y hexagonales, lo cual justifica la forma de la banda de absorción obtenida por UV-Vis. Estas diversas morfologías son atribuidas a un crecimiento sin control de las nanopartículas, lo cual se debe a los agentes estabilizadores de la planta tal y como lo reportó Prabhu [54], quien sintetizó AgNPs de forma esférica y cúbica con un rango de tamaño promedio de 5-47 nm, las cuales fueron obtenidas empleando 5 ml de un extracto de hojas de vitex negundo y 45 ml de una solución 1 mM de  $\text{AgNO}_3$ . Para las siguientes micrografías en las que se incrementó la cantidad de extracto a 2 y 3 ml (figuras 3.32b-c), se observa una mayor cantidad de partículas nanométricas, sin embargo se continúan observando algunas formas triangulares y hexagonales, lo cual es un indicativo del poco control en la etapa de crecimiento de las NPs. Cuando se utilizaron 4 ml de extracto se aprecian una gran concentración de AgNPs de menor tamaño, menor distribución de tamaño y de morfología esférica, en su gran mayoría, tal y como se aprecia en la figura 3.32d. Finalmente, cuando se emplearon 5 ml se observó un mayor rango de tamaño así como AgNPs de diversas formas, nuevamente, tal y como se aprecia en la figura 3.32e. En cuanto al tamaño promedio de las nanopartículas también se aprecia una disminución a medida que se empleó mayor cantidad de extracto, ya que cuando se adicionaron 2 ml el tamaño promedio fue de 50 nm con algunas partículas de 100 nm, mientras que cuando se emplearon 4 ml el tamaño se redujo a 15-20 nm, aproximadamente. Estos resultados son congruentes con los obtenidos por medio de UV-Vis, ya que la banda de absorción correspondiente a 4 ml de extracto mostró las mejores características. Estos resultados son similares a los reportados por Ashokkumar y col [146], quienes evaluaron 4 diferentes cantidades de extracto de *tribulus terrestris* (2, 2.5, 3 y 3.5 ml) obteniendo el menor

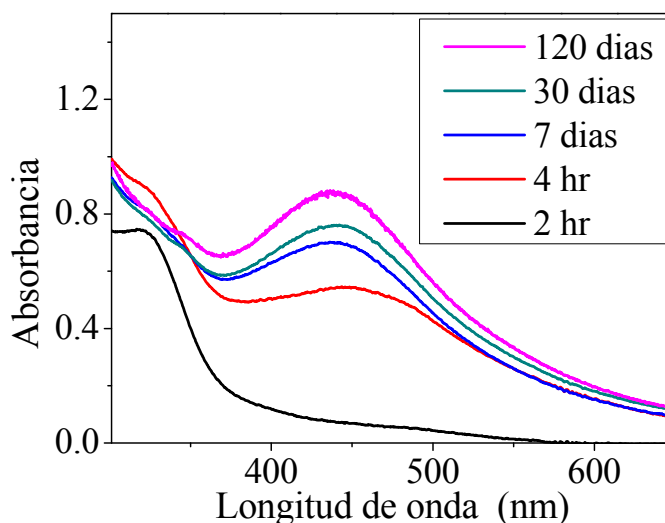
tamaño de partícula y menor distribución de tamaño para el caso en el que se usó 3.5 ml de extracto, debido al incremento de agentes reductores y estabilizadores presentes en el extracto.



**Figura 3.32** Análisis de MET para diferentes cantidades de extracto de *Eriobotrya japonica*: a) 1, b) 2, c) 3, d) 4 y e) 5 ml.

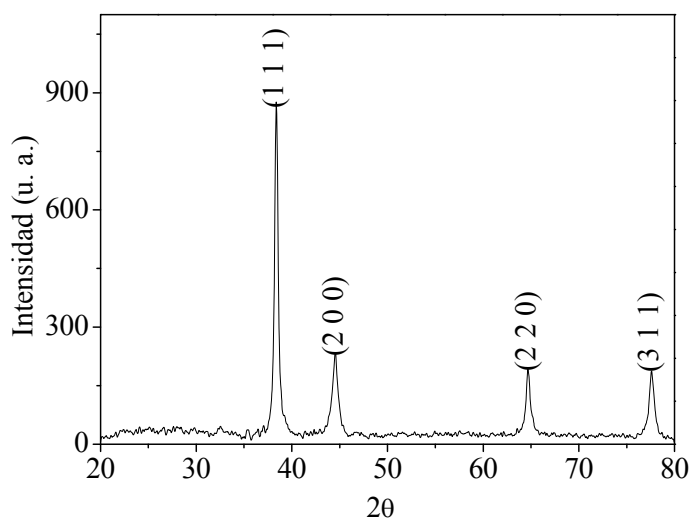
Otra variable importante a evaluar es la estabilidad que tienen las AgNPs, es decir, si el extracto puede mantener estables a las nanopartículas por periodos prolongados de tiempo. La figura 3.33 muestra los espectros de UV-Vis a diferentes tiempos de la muestra en la que se agregaron 4 ml de extracto de *Eriobotrya japonica*, ya que esta condición fue la que mostró mejores resultados en cuanto a concentración y tamaño de las AgNPs. En primer lugar, no se tiene claro el momento en el cual las NPs comenzaron a formarse, sin embargo, se puede determinar que la reacción de síntesis no se llevó a cabo inmediatamente o en un tiempo corto ya que, como se puede apreciar, a 2 horas de reacción no existe evidencia de la banda de absorción típica de estas nanopartículas, la cual se observa claramente a 4 horas de reacción. El tiempo en el cual comienza la reacción de síntesis depende directamente de la concentración y tipos de compuestos presentes en el extracto [134, 147-149]. Por ejemplo, cuando se utilizó un extracto de cascara de mango, la formación de

AgNPs comenzó después de 15 min [147]. Sin embargo, cuando se usó el extracto de cocos nucifera la reacción de síntesis de AgNPs ocurrió después de 24 horas [134]. Por otra parte, los espectros muestran que a medida que incrementa el tiempo de reacción, la formación de nanopartículas de plata también incrementa hasta en un tiempo de 4 meses aproximadamente. Lo anterior demuestra que las NPs formadas tienen una buena estabilidad a través del tiempo, aun cuando ciertos compuestos orgánicos se lleguen a descomponer.



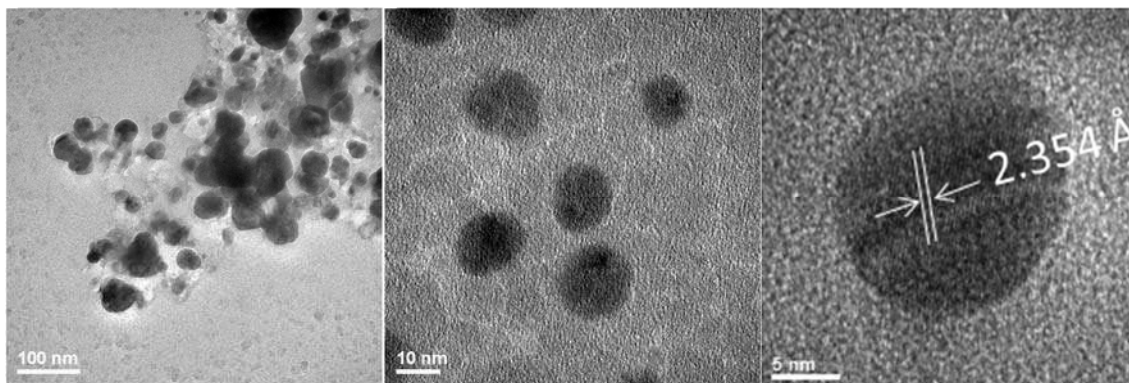
**Figura 3.33** Espectro de UV-Vis mostrando la evolución de las nanopartículas a través del tiempo, empleando 4 ml de extracto de *Eriobotrya japonica* y 10 ml de solución de  $\text{AgNO}_3$  5 mM.

La figura 3.34 muestra el patrón de rayos-X de la muestra en la cual se emplearon 4 ml de extracto de *Eriobotrya japonica* para la síntesis de AgNPs. En el difractograma se pueden apreciar cuatro diferentes picos que corresponden a los planos (111), (200), (220) y (311) de la plata con una estructura cúbica centrada en las caras. Dicha estructura fue indexada con la tarjeta No. 01-087-0720. Además, fue calculado el tamaño de cristal promedio por medio de la fórmula de Scherrer para lo cual se empleó el ancho medio del pico perteneciente a la reflexión del plano (111) del difractograma. El resultado de dicho cálculo mostró que el tamaño de cristal fue de 28 nm, con lo cual se confirma la formación de nanocristales. Por otra parte, no existe evidencia de algún compuesto orgánico proveniente de la planta, tal y como ha sido reportado en varias investigaciones [141, 150, 151]. Lo anterior está en función del proceso de lavado de la muestra y de la cantidad de compuestos orgánicos involucrados en la estabilización de las AgNPs.



**Figura 3.34** Patrón de difracción de rayos-X de las nanopartículas de plata sintetizadas a temperatura ambiente con 4 ml del extracto de *Eriobotrya japónica* y 10 ml de solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

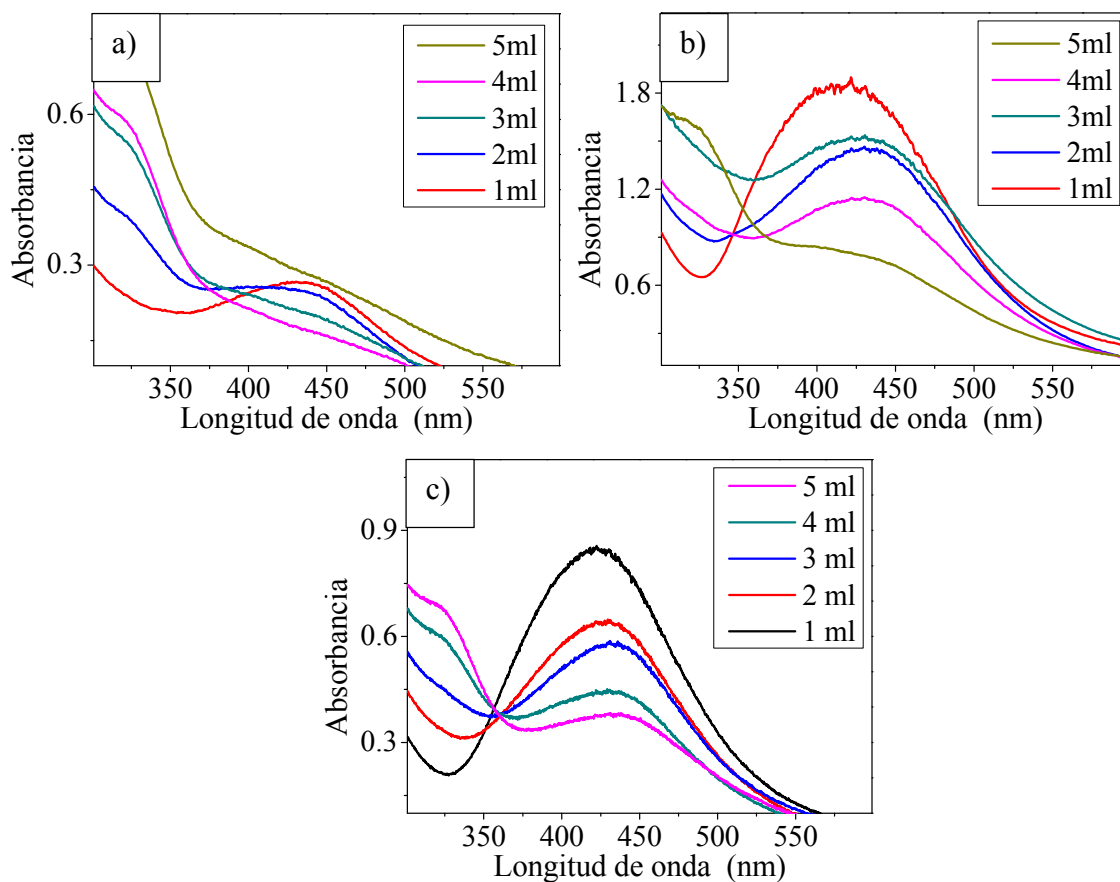
La figura 3.35 muestra el análisis por TEM realizado a la muestra secada en la que se empleó el extracto de *Eriobotrya japónica* y una solución 5 mM de nitrato de plata. En la micrografía se puede apreciar que las AgNPs continúan atrapadas dentro de una matriz que proviene del extracto, el cual actúa como agente estabilizador y que ya ha sido observada en otros trabajos [142, 145]. De acuerdo a Parameshwaran [145], esta interacción ocurre cuando hay suficientes moléculas orgánicas para reducir iones de plata a metal y encapsular estas partículas nanométricas. Sin embargo a mayores magnificaciones se observan nanopartículas dispersas de morfología esférica, con un tamaño promedio de 18 nm aproximadamente. Finalmente, en la imagen de alta resolución de una nanopartícula esférica de 20 nm se determinó la distancia interplanar de 2.354 Å que pertenece al plano (111) de la tarjeta con la cual se indexó el patrón de rayos-X. Este análisis demuestra que el proceso de secado no afecta el tamaño, morfología y distribución de las AgNPs, ya que los compuestos orgánicos provenientes del extracto que actúan como estabilizadores siguen presentes.



**Figura 3.35** Micrografías electrónicas de transmisión de la muestra seca conteniendo nanopartículas de plata empleando 4 ml del extracto de *Eriobotrya japónica* y 10 ml de solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

Debido al poco control de las características de las AgNPs obtenidas a condiciones ambientales, se varió la temperatura de la reacción de síntesis, en 50, 75 y 95 °C, cuyos resultados de UV-Vis se muestran en la figura 3.36 realizados 2 horas después de la reacción. Para el caso de una temperatura de 50 °C (figura 3.36a) se observa que únicamente las curvas correspondientes a 1 y 2 ml de extracto muestran la banda de absorción de las AgNPs. En el caso en el que se empleó una temperatura de 75 °C (figura 3.36b) se observa un comportamiento similar, ya que la banda correspondiente a 1 ml fue la que mayor absorbancia mostró seguida de la de 2 ml. Estos mismos experimentos fueron realizados 1 día después de la reacción mostrando el comportamiento que se esperaba, es decir, una mayor absorbancia en las curvas que denota una mayor concentración de nanopartículas y esto a medida que se incrementó la cantidad de extracto. Este comportamiento significa que los compuestos reductores presentes en 1 ml de extracto se agotan en un tiempo corto ya que la banda de absorción para 2 h y 1 día, no muestran cambios significativos, mientras que las bandas correspondientes a las otras cantidades de extracto muestran un incremento importante en la absorbancia 1 día después de la reacción, observándose, tal y como era de esperarse, una mayor absorbancia a medida que la cantidad de extracto se incrementó. Estos resultados han sido reportados en algunos trabajos [132, 147], en donde la temperatura incrementa la velocidad y eficiencia de la reacción. Yang y col [147] sintetizaron AgNPs con extracto de cascara de mango y evaluaron 4 diferentes temperaturas de 25 a 100 °C. Los resultados mostraron una reducción en el tamaño y mayor concentración de NPs a medida que se incrementó la temperatura; lo anterior se debe a que a medida que se incrementa la temperatura,

la velocidad de reducción se incrementa, por lo tanto, una mayor cantidad de iones son consumidos para la formación de núcleos, evitando el proceso de crecimiento secundario en la superficie de las partículas ya formadas. Finalmente, la figura 3.36c muestra el análisis de UV-Vis realizado a la muestra que se trató a 95 °C y 2 horas después de iniciada la reacción; En ésta imagen se aprecia que a medida que fue mayor la cantidad de extracto, se redujo la banda de absorción y consecuentemente se obtuvieron una menor concentración de nanopartículas.



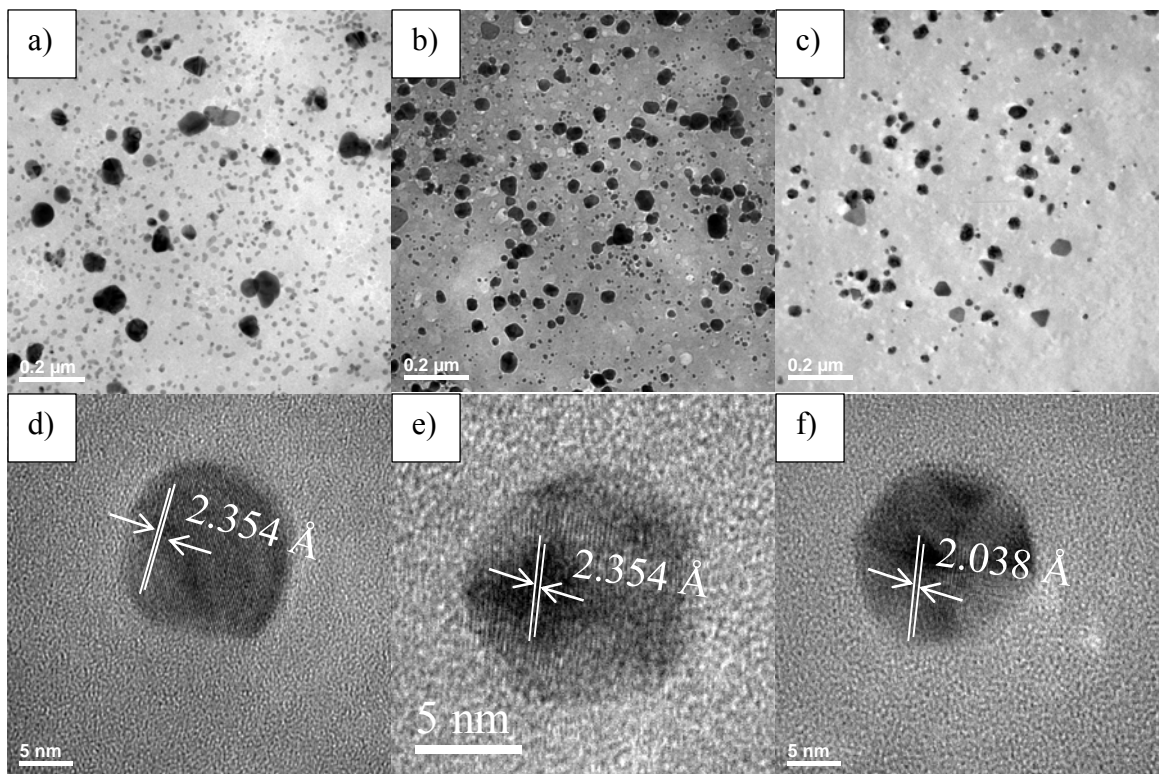
**Figura 3.36** Análisis de UV-Vis de la síntesis de nanopartículas de plata empleando una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  y llevada a cabo a diferentes temperaturas: a) 50, b) 75 y c) 95 °C.

El comportamiento anterior es contrario incluso al observado con la técnica de síntesis química convencional en donde a mayores temperaturas se obtienen mayor concentración de nanopartículas con un tamaño promedio menor; lo anterior se debe al incremento en la velocidad de la reacción lo cual provoca una mayor formación de núcleos, los cuales favorecen la

formación de nanopartículas de menor tamaño. Sin embargo, en la síntesis verde no es simple explicar este comportamiento, ya que los compuestos y variables involucradas en la reacción son numerosos e incluso pueden ocurrir algunas reacciones secundarias que afecten la formación de las nanopartículas, tal y como ocurrió cuando se empleó un extracto de té verde para sintetizar nanopartículas de plata [152].

Por otra parte, la figura 3.37 muestra el análisis de MET para evaluar la morfología y tamaño de las AgNPs sintetizadas a diferentes temperaturas. La figura 3.37a corresponde a la muestra que se llevó a cabo a 50 °C, en la cual se aprecia un comportamiento similar a la reacción a temperatura ambiente, es decir un tamaño de partícula promedio de 20 nm pero con la presencia de partículas con un tamaño de alrededor de 100 nm. Por otro lado la figura 3.37b corresponde a la reacción a 75 °C en la cual se puede observar claramente la presencia de dos distribuciones de tamaño, la primera que tiene un rango de 47-76 nm y el segundo de 6-18 nm. Este comportamiento es una característica típica de lo que se conoce como crecimiento secundario, el cual consiste en el crecimiento de nanopartículas de mayor tamaño a expensas de otras más pequeñas hasta llegar a la estabilidad, quedando partículas pequeñas. Estos resultados no son consistentes con los de UV-Vis, mostrados anteriormente, sin embargo, debe mencionarse que el análisis de espectroscopía fue realizado 2 horas después de la reacción mientras que el estudio por MET se llevó a cabo aproximadamente 10 días después, por lo que cabe la posibilidad que durante este tiempo el proceso de crecimiento haya continuado. Para el caso en el que la temperatura fue de 95 °C, (figura 3.37c) se observa una menor concentración de NPs, sin embargo en este caso el tamaño es más homogéneo; en cuanto a la morfología se aprecian nanopartículas esféricas y triangulares. Finalmente, las figuras 3.37d-f son micrografías de alta resolución de las muestras realizadas a 50, 75 y 95 °C, respectivamente, en donde se puede observar una morfología esférica, lográndose indexar los planos de mayor intensidad, siendo estos: (111) y (200) cuyas distancias interplanares son 2.354 y 2.038 Å, respectivamente.

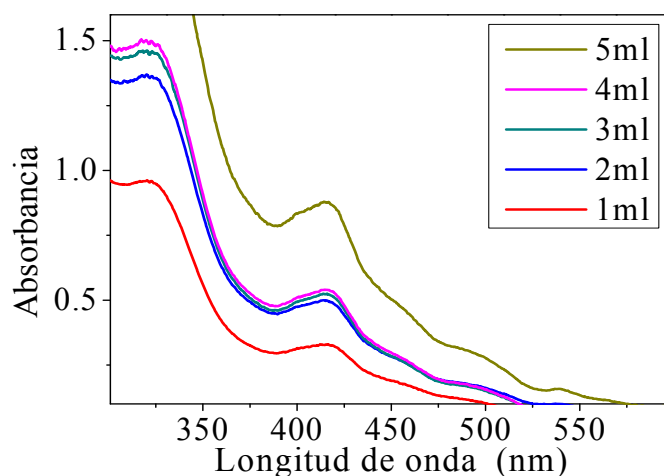




**Figura 3.37** Análisis de MET de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml de extracto de *Eriobotrya japónica* y 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ , a diferentes temperaturas: a) 50, b) 75 y c) 95 °C y sus respectivas HRTEM (d-f).

Debido al poco contenido de agentes estabilizadores en el extracto acuoso de hojas de níspero, se llevó a cabo un extracto a base de alcohol con el propósito de extraer más compuestos que puedan encapsular o estabilizar las NPs. La figura 3.38 muestra los resultados de UV-Vis para el caso en el que los extractos fueron hechos con alcohol etílico. Se puede observar en todos los espectros, que la posición de la banda de absorción correspondiente a las AgNPs está centrada en 420 nm, sin mostrar un movimiento significativo para las diferentes cantidades de extracto adicionado. El comportamiento con respecto a la intensidad de la banda con el incremento del extracto sigue siendo el mismo, es decir mayor absorbancia con mayor cantidad de extracto empleado, obteniendo el mejor resultado con 5 ml de extracto de *Eriobotrya japónica* con una absorbancia igual a 1, la cual fue mayor que la obtenida en el caso del extracto acuoso que fue de 0.8 aproximadamente. Además, se observa claramente que la banda de absorción es más estrecha que el caso del extracto a base de agua; esto indica que el rango de tamaño de las NPs es más

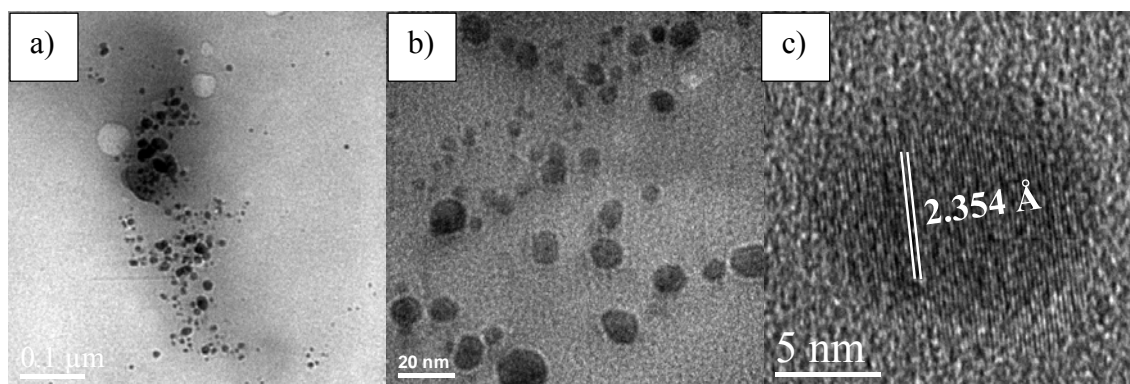
pequeño. Lo anterior sugiere que el alcohol extrae compuestos orgánicos en diferentes proporciones, comparado con el agua, por lo cual se favorece o mejora las características de las AgNPs tales como morfología, tamaño y dispersión.



**Figura 3.38** Análisis de UV-Vis de las nanopartículas de plata variando la cantidad de extracto a base de alcohol de *Eriobotrya japonica* y empleando 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

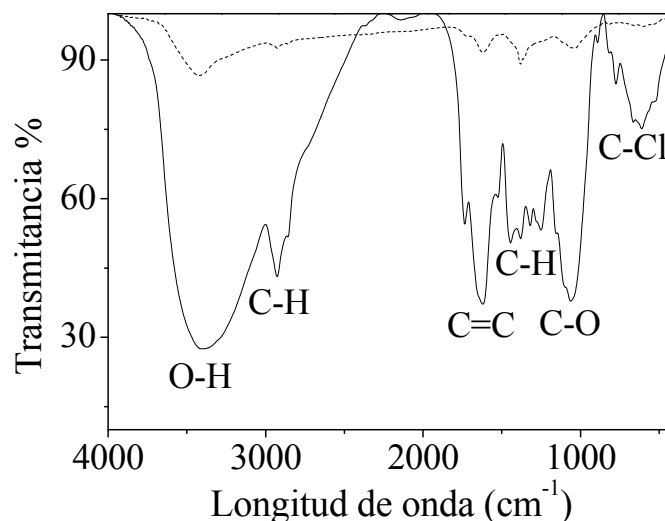
En la figura 3.39 se muestran las micrografías de MET pertenecientes a la muestra en la que se usó 5 ml de extracto a base de etanol. En la figura 3.39a se puede apreciar la concentración de nanopartículas, observándose una gran cantidad de las mismas encapsuladas por los compuestos orgánicos. Por otro lado, en la figura 3.39b se aprecian las características de las AgNPs, las cuales son en su mayoría de forma esférica con un rango de tamaño de 10-18 nm; estos resultados son consistentes con los obtenidos por UV-Vis ya que no se observan partículas de gran tamaño ni diversas morfologías como se obtuvieron cuando se realizó el extracto con agua. Finalmente, la figura 3.39c es una micrografía de alta resolución en donde se logró medir una distancia de 2.325 Å, que pertenece al plano (111) de la plata, de fase cúbica centrada en las caras. Estos resultados sugieren que el uso del alcohol etílico muestra mejores propiedades para sintetizar AgNPs ya que sus características, tales como forma, tamaño y dispersividad fueron mejoradas con respecto a los resultados obtenidos con el extracto en agua. El uso de alcohol para obtener extractos ha sido poco reportado; Logeswari y col [153] sintetizaron AgNPs empleando extractos de 4 diferentes plantas los cuales los llevaron a cabo utilizando alcohol etílico, sin embargo, dichos extractos fueron secados por completo para posteriormente adicionarlos a las soluciones

de  $\text{AgNO}_3$ . Los resultados, en todos los casos, fue la síntesis de nanopartículas de formas irregulares con tamaños de 40-55 nm, los cuales son valores más grandes comparados con los obtenidos en el presente trabajo.



**Figura 3.39** Micrografías electrónicas de transmisión de las nanopartículas de plata sintetizadas con 10 ml de una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  y empleando 5 ml del extracto de *Eriobotrya japonica* a base de alcohol etílico.

Para determinar los grupos funcionales involucrados en el proceso de síntesis de nanopartículas por medio del extracto de *Eriobotrya japonica*, se llevó a cabo un análisis de FT-IR el cual se muestra en la figura 3.40. En el espectro del extracto (línea continua) se aprecian las bandas debido a los flavonoides y compuestos fenólicos situadas en  $3395\text{cm}^{-1}$ ,  $2926\text{cm}^{-1}$ ,  $1620\text{cm}^{-1}$  y  $1045\text{cm}^{-1}$  que corresponden a los enlaces O-H, C-H, C=C y C-O, respectivamente. Además, se observan varias bandas  $1460\text{cm}^{-1}$  y  $1250\text{cm}^{-1}$  que pertenecen al enlace C-H de los grupos metilos terminales; la banda centrada en  $620\text{cm}^{-1}$  corresponde al enlace C-Cl. Al comparar el espectro de las nanopartículas se observan las mismas bandas pero con una intensidad drásticamente reducida. Dicha diferencia de intensidad puede ser atribuida a la alta concentración de nanopartículas que fueron sintetizadas y en las cuales se involucraron la gran parte de los compuestos fenólicos. Por otra parte las bajas señales de los enlaces corresponden a los pocos compuestos orgánicos que se encuentran estabilizando a las nanopartículas.



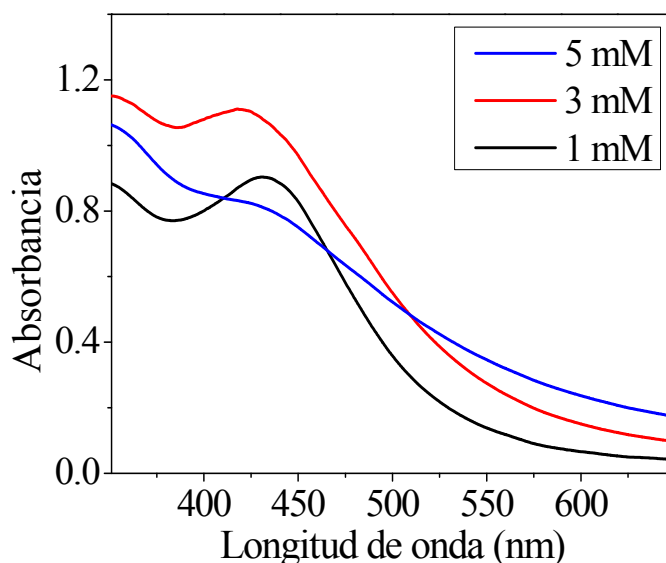
**Figura 3.40** Análisis de FT-IR del extracto de *Eriobotrya japonica* (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada), empleando 4 ml del extracto y 10 ml de la solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

La capacidad reductora del extracto de hojas de *Eriobotrya japonica* se debe a su composición química la cual está conformada en su mayoría por derivados de ácidos cafeico y ferúlico y pequeñas cantidades de quercetin [127]. Todas estas sustancias son bien conocidas por su capacidad antioxidante, es decir, su capacidad reductora. Por lo tanto, en este caso es probable que se lleve a cabo tres posibles mecanismos de reacción con cada uno de los compuestos nombrados.

### ***3.1.1.7 Síntesis de nanopartículas empleando el extracto de Aloysia triphylla.***

La figura 3.41 muestra los espectros de UV-Vis al emplear 3 diferentes concentraciones de la solución precursora y 5 ml de extracto de *Aloysia triphylla*; en todos los casos se puede apreciar una banda de absorción del plasmón superficial (SPR), típica de las AgNPs. Para una concentración de 1 mM de  $\text{AgNO}_3$ , dicha banda se encuentra situada en 432 nm con una intensidad moderada y un ancho relativamente pequeño. Cuando la concentración de la sal precursora corresponde a 3 mM, la banda es significativamente más intensa, lo cual significa que hay una mayor concentración de NPs formadas, además, en esta condición la banda se sitúa a 419 nm. Este comportamiento se debe a que el tamaño de las AgNPs se vuelve más pequeño, ya que

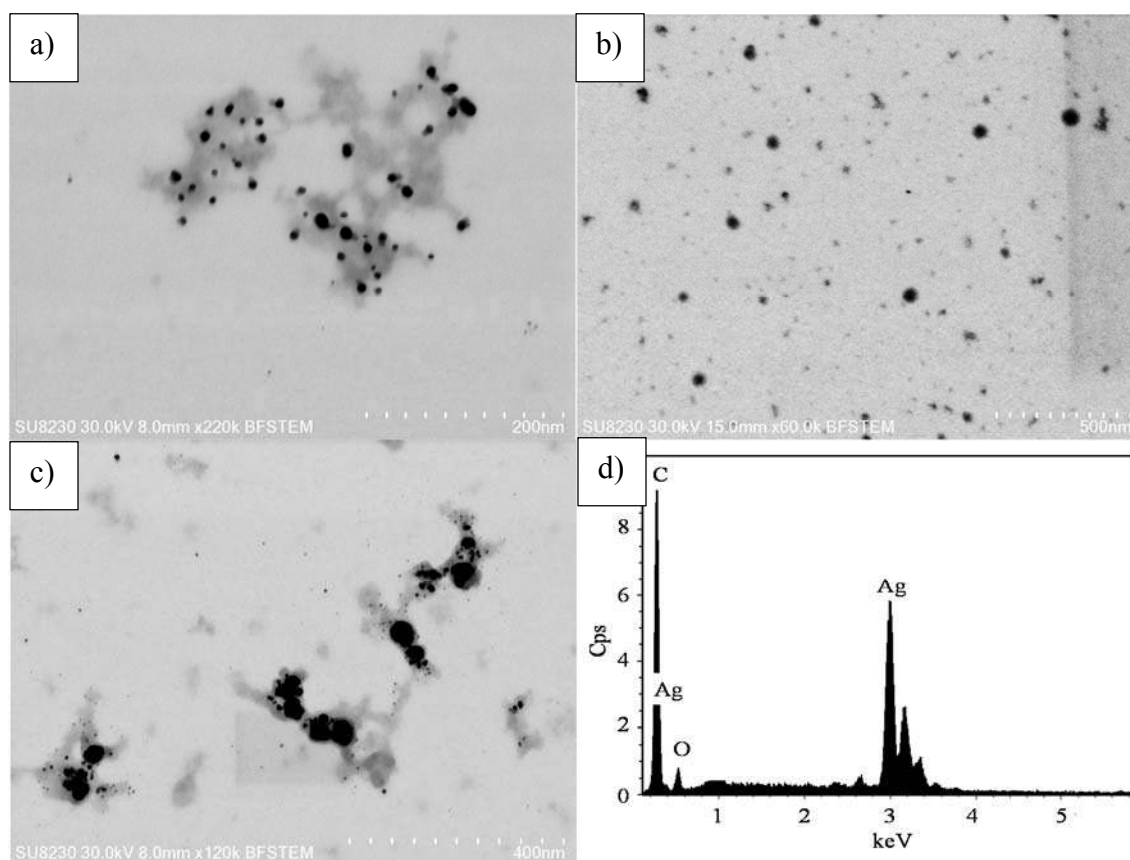
al incrementar la concentración de sal precursora, hay una mayor concentración de iones de plata los cuales son reducidos rápidamente y estabilizados por los compuestos orgánicos provenientes del extracto. Estos resultados coinciden con previas investigaciones [43]. Finalmente, para la concentración de 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  se observa una banda muy amplia de menor intensidad con respecto a las dos condiciones anteriores, lo que significa que hay una menor cantidad de nanopartículas y que, además, hay una amplia distribución de tamaños. Este comportamiento se debe a que, para esta condición, hay una mayor concentración de iones reducidos, sin embargo, los compuestos estabilizadores no son suficientes, por lo que ocurre un crecimiento excesivo de las partículas.



**Figura 3.41** Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml del extracto de *Aloysia triphylla* variando la concentración de  $\text{AgNO}_3$ .

Para corroborar los resultados obtenidos por medio de UV-Vis, se realizó un análisis de microscopía electrónica de barrido, el cual es mostrado en la figura 3.42. Los resultados son congruentes con los obtenidos en UV-Vis, ya que cuando se usó una solución 1 mM (figura 3.42a) se observan pocas partículas de tamaño considerable y con un rango de tamaño considerable, mientras que cuando se utilizó una solución correspondiente a 3 mM (figura 3.42b) se observa una gran concentración de AgNPs, de menor tamaño, aproximadamente de 20 nm, y con una distribución de tamaño uniforme. Finalmente, en el caso de la solución perteneciente a 5

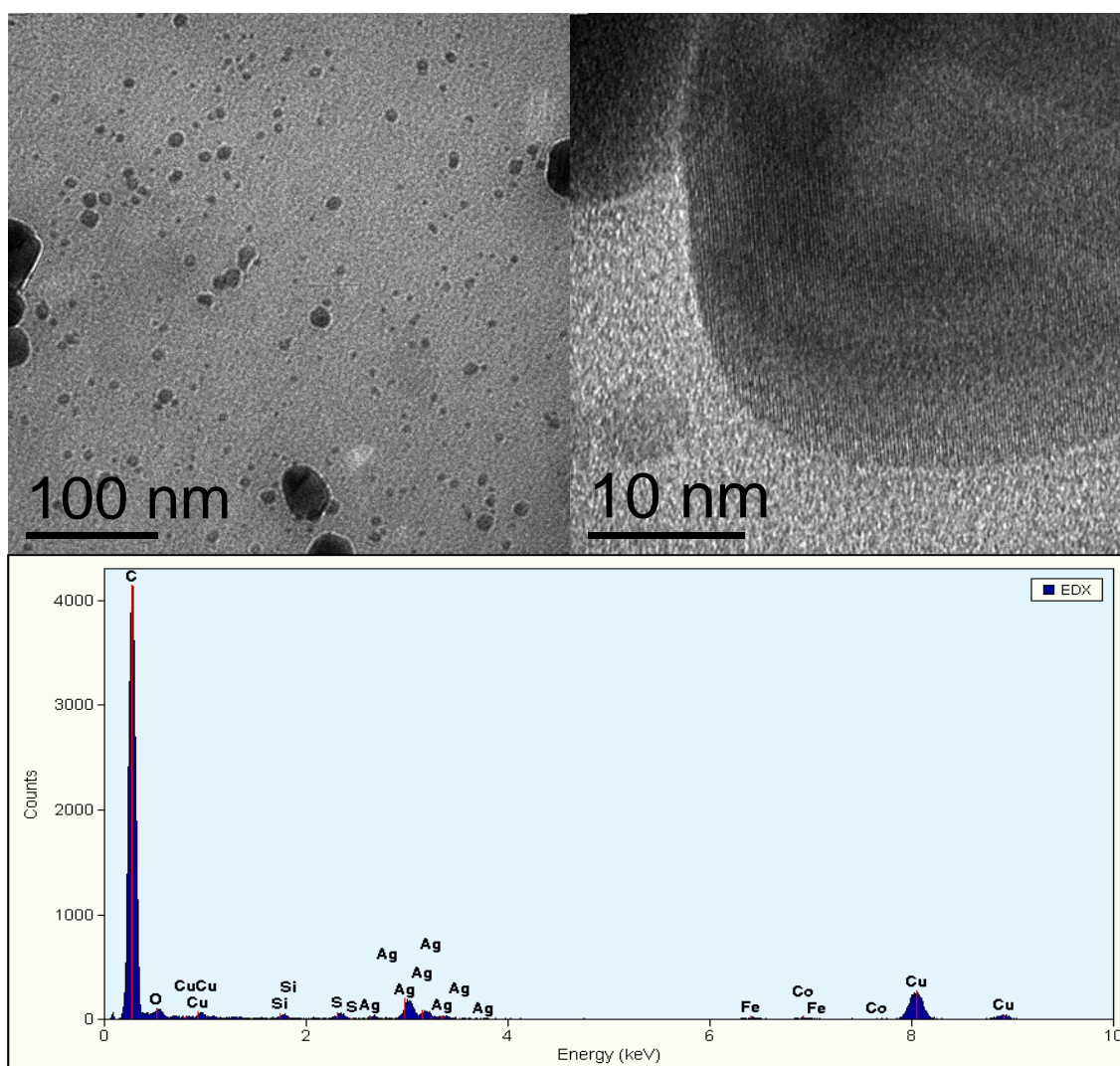
mM (figura 3.42c) se observa una menor concentración de NPs que en las figuras anteriores. Respecto al tamaño, se observan dos distribuciones de tamaño, justificando la forma de la banda obtenida en el espectro de UV-Vis. Otra característica que debe notarse, es la presencia de los compuestos orgánicos provenientes del extracto y que actúan como estabilizadores, rodeando a las AgNPs y que ya ha sido observada en otros trabajos [142, 145]. En el análisis EDS, se observan las señales de carbono y plata, correspondientes a los compuestos orgánicos y a las nanopartículas de plata, respectivamente.



**Figura 3.42** Análisis de MEB de las muestras con 5 ml de extracto de *Aloysia triphylla* para las diferentes concentraciones de AgNO<sub>3</sub>: a) 1mM, b) 3mM, c) 5mM y d) análisis EDS.

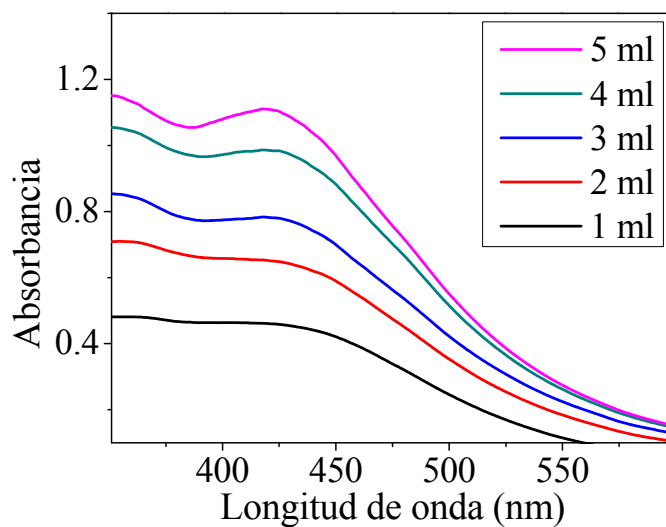
Para determinar con mayor precisión las características de las AgNPs, se realizó un análisis por microscopía electrónica de transmisión, el cual es mostrado en la figura 3.43. En este fue seleccionada la muestra en la que se utilizó 10 ml de la solución 3 mM con 5 ml de extracto de *Aloysia triphylla*, siendo esta la de mejores resultados. La mayoría de las NPs se encuentran en

un rango de tamaño de 5-30 nm y tienen morfología esférica, sin embargo, se observan algunas con tamaños mayores a 50 nm cuya morfología es irregular debido a un crecimiento sin control. En la micrografía de alta resolución se observan los planos atómicos cuya distancia interplanar fue de 0.23 nm correspondiente al plano (111) de la plata. Finalmente, el análisis químico muestra los elementos de interés que son: la plata de las nanopartículas, el cobre de la rejilla, el carbón del soporte y al igual perteneciente a los compuestos orgánicos provenientes del extracto. Con estos resultados se corrobora la capacidad reductora y estabilizadora del extracto de *Aloysia triphylla*.



**Figura 3.43** Análisis de MET de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 ml de extracto de *Aloysia triphylla* y 10 ml de una solución 3 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

Otra de las variables investigadas fue la cantidad o volumen del extracto empleado, el cual fue variado en 1, 2, 3, 4 y 5 ml, cuyas muestras fueron analizadas por UV-Vis y sus resultados son mostrados en la figura 3.44. La banda típica de las AgNPs se encuentra centrada en aproximadamente 450 nm, cuando se emplea 1 ml de extracto; sin embargo, la banda de absorción presenta muy baja intensidad. A medida que se incrementó la cantidad de extracto, se observa la absorbancia de la banda significativamente más intensa, lo que indica un incremento en la concentración de AgNPs. Además, dicha banda se mueve ligeramente a longitudes de onda menores. Este comportamiento indica que las nanopartículas de plata tienen un tamaño promedio más pequeño. Consecuentemente, los mejores resultados se obtuvieron en el caso en el que se utilizaron 5 ml, como era de esperarse, observándose la mayor absorbancia de la banda la cual está ubicada en 435 nm. Este comportamiento ha sido ampliamente reportado en anteriores investigaciones, el cual se debe a que a medida que se incrementa el volumen de extracto empleado, la cantidad de agentes reductores y estabilizadores están en mayor proporción, lo cual conlleva a una mayor reducción de iones de plata y consecuentemente, una mayor concentración de AgNPs [43, 139].

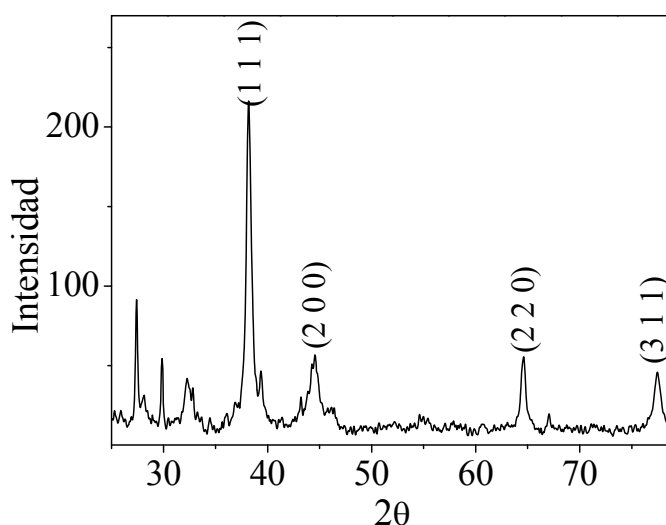


**Figura 3.44** Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas con varias cantidades de extracto de *Aloysia triphylla* y 10 ml de una solución 3 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

La muestra en la que se emplearon 5 ml de extracto de *Aloysia triphylla* fue secada para realizar un estudio por medio de difracción de rayos-X, cuyos resultados se muestran en la figura 3.45. En



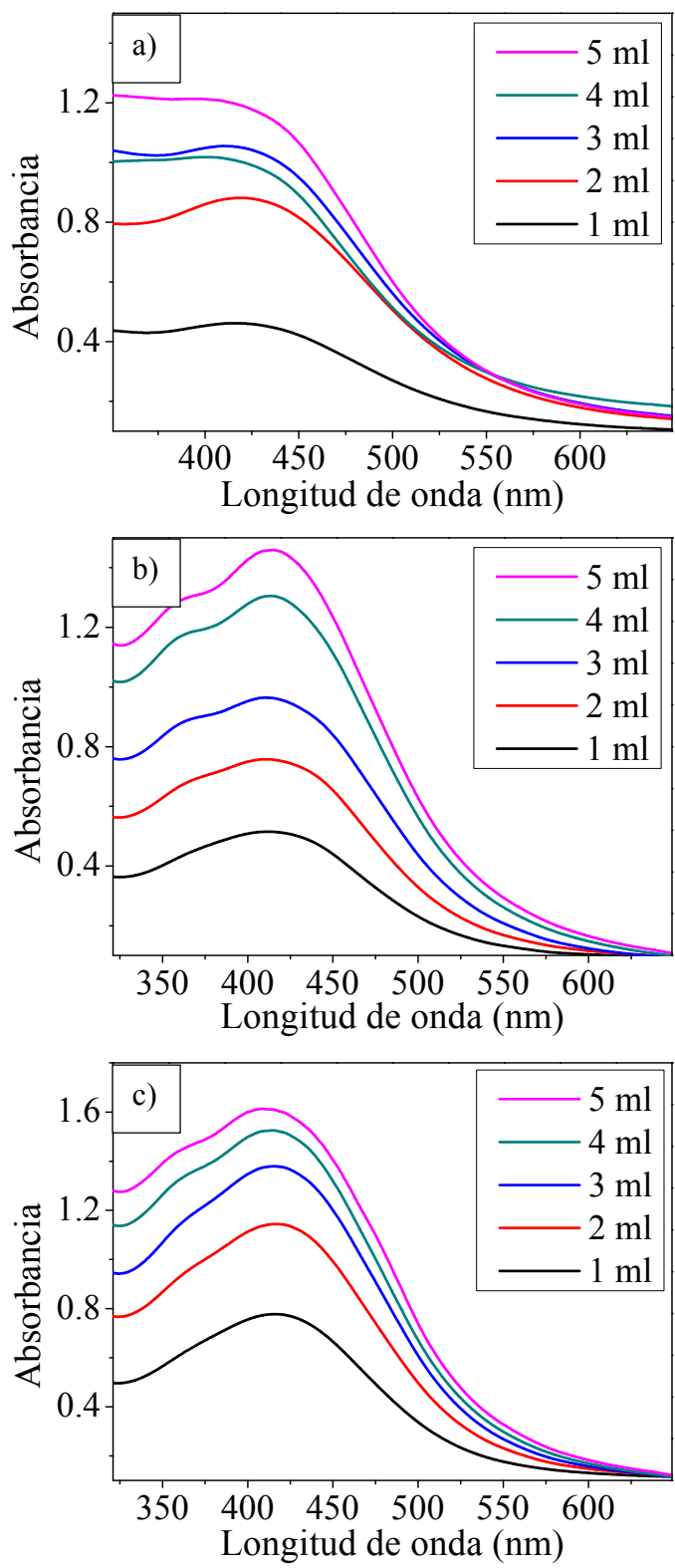
éste se pueden apreciar los picos principales de la fase cúbica centrada en las caras correspondiente a la plata, situados en  $37.96^\circ$ ,  $44.3^\circ$ ,  $64.5^\circ$  y  $77.44^\circ$ , los cuales pertenecen a los planos (111), (200), (220) y (311), respectivamente. Dichos planos fueron perfectamente indexados con la tarjeta No. 03-065-2871 de la base de datos empleada. Además, se observan otros picos que no pertenecen a plata o algún compuesto formado por la misma, por lo que dichos picos son atribuidos a los compuestos orgánicos presentes en las AgNPs después del proceso de secado. La presencia de picos de difracción de compuestos orgánicos ha sido ampliamente reportada en varias investigaciones, sin embargo su indexación por medio de esta técnica es muy compleja [141, 154, 155]. Ulug y col, encontraron un par de reflexiones entre  $20-30^\circ$ , y concluyeron que dichos picos pertenecían a los compuestos orgánicos que encapsulan a las AgNPs [141].



**Figura 3.45** Patrón de difracción de rayos-X de las nanopartículas de plata sintetizadas con 5 del extracto de *Aloisia triphylla* y 10 ml de una solución 3 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

Como se observó en las micrografías, el tamaño y morfología de las nanopartículas no es tan uniforme, por lo tanto, se incrementó la temperatura de la reacción con el objetivo de mejorar las características de las AgNPs. La figura 3.46 presenta los resultados de UV-Vis a las tres diferentes temperaturas empleadas. En primer lugar, cuando la temperatura de reacción fue de  $50^\circ\text{C}$  (figura 3.46a) se observa que la banda típica de las AgNPs se encuentra centrada en 430 nm, la cual incrementa en intensidad a medida que se utilizó mayor volumen de extracto, lo cual sugiere

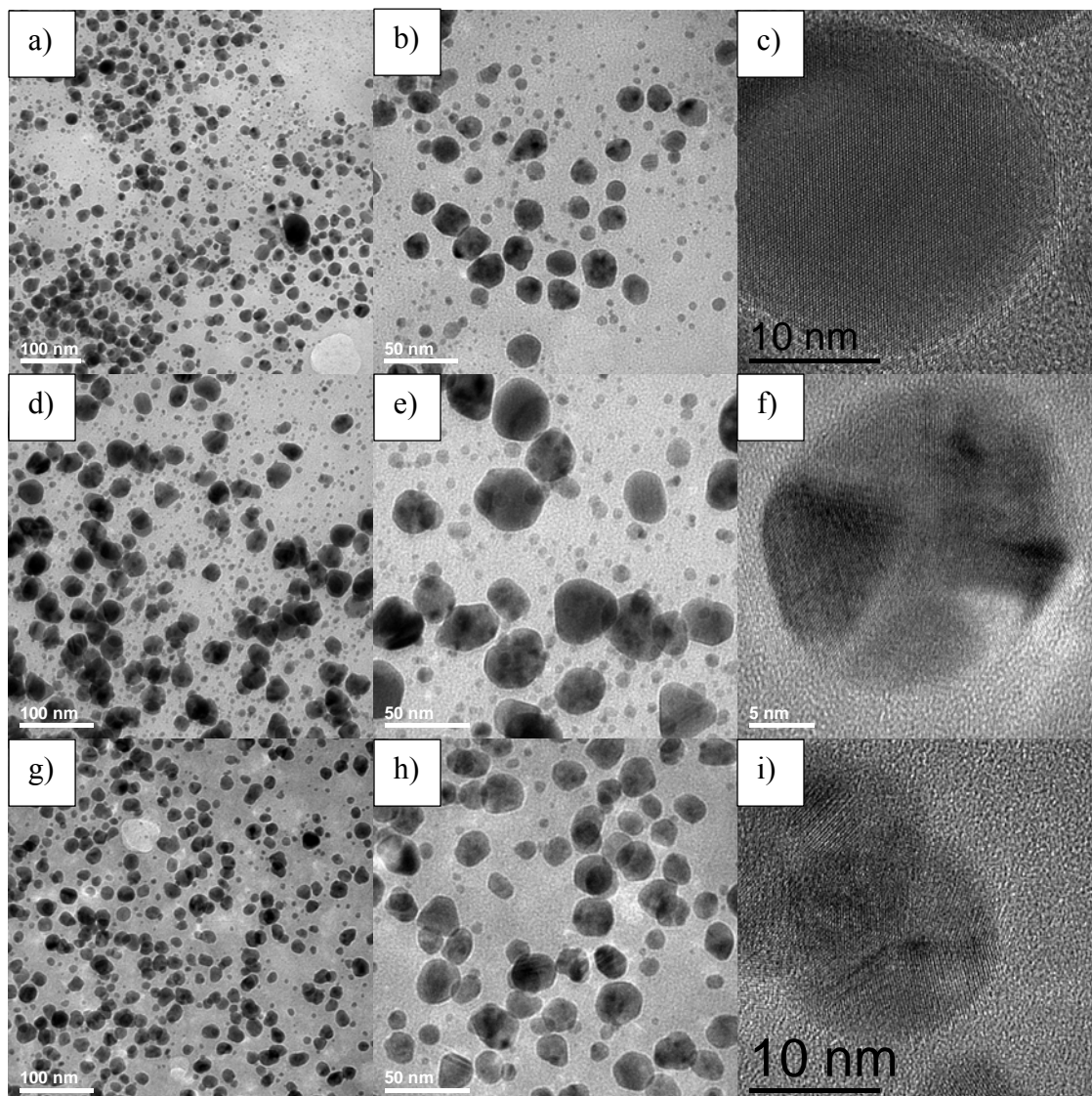
la presencia de una mayor densidad de AgNPs. La posición de la banda permanece constante por lo que el tamaño es el mismo para todos los volúmenes empleados. También se puede apreciar que para 3, 4 y 5 ml de extracto, la banda se vuelve muy amplia de tal manera que no es posible determinar su inicio; lo anterior sugiere que hay una distribución de tamaño muy amplia. Por otra parte, para 75 °C (figura 3.46b), se observa la misma tendencia, es decir, la intensidad de la banda de absorción es mayor a medida que se incrementó la cantidad de extracto de *Aloysia triphylla*. En este caso, la posición de la banda se mueve ligeramente a longitudes de onda menores, sugiriendo un menor tamaño de las NPs. Por otra parte, en los espectros correspondientes a 4 y 5 ml de extracto de *Aloysia triphylla* se observa la presencia de otra pequeña banda situada en 360 nm, lo cual sugiere la existencia de una distribución bimodal. Finalmente, para 95 °C (figura 3.46c), se obtuvo un comportamiento similar al observado para la condición anterior. Este comportamiento ha sido previamente reportado en algunas investigaciones [132, 156]. Por lo tanto, los mejores resultados fueron observados cuando la temperatura de reacción fue de 95 °C empleando 5 ml de extracto de *Aloysia triphylla*, ya que la banda muestra mayor intensidad y es más estrecha que las demás. Esto último sugiere que las nanopartículas tienen un rango de tamaño menor. Ahluwalia y col, emplearon 5 diferentes temperaturas desde 10 hasta 50 °C, observando la mayor absorbancia a mayor temperatura [132]. Este comportamiento se debe a que a medida que se incrementa la temperatura de la reacción, la velocidad de reducción se incrementa y por lo tanto, mayor cantidad de iones son consumidos en la formación de núcleos, con lo cual se evita un proceso de reducción secundario y el resultado es la formación de una mayor cantidad de nanopartículas de menor tamaño [147].



**Figura 3.46** Análisis de UV-Vis de la síntesis de nanopartículas de plata a diferentes temperaturas: a) 50, b) 75 y c) 95 °C, empleando 10 ml de una solución 3 mM de AgNO<sub>3</sub>.

Para corroborar los resultados anteriores, se llevó a cabo un análisis por microscopía electrónica de transmisión para las diferentes temperaturas de reacción, cuyos resultados se presentan en la figura 3.47. Las micrografías 3.47a-c pertenecen a las muestras que se realizaron a 50 °C, en este caso, la morfología es en su mayoría cuasi-esférica con algunas formas irregulares, las cuales se pueden apreciar con mayor claridad en la imagen 3.47b, en donde, además, se aprecia el amplio rango de tamaño, tal como sugería la forma de la banda obtenida en UV-Vis. El tamaño promedio fue de 16.56 nm con una distribución bimodal, la primera ubicada entre 7 y 12 nm y la segunda entre 15 y 25 nm. La imagen 3.47c es una micrografía de alta resolución en la cual se observa la naturaleza cristalina de las nanopartículas mostrando principalmente 2 distancias interplanares que son 0.23 y 0.20 nm, las cuales pertenecen respectivamente a los planos (111) y (200), de la plata fcc.

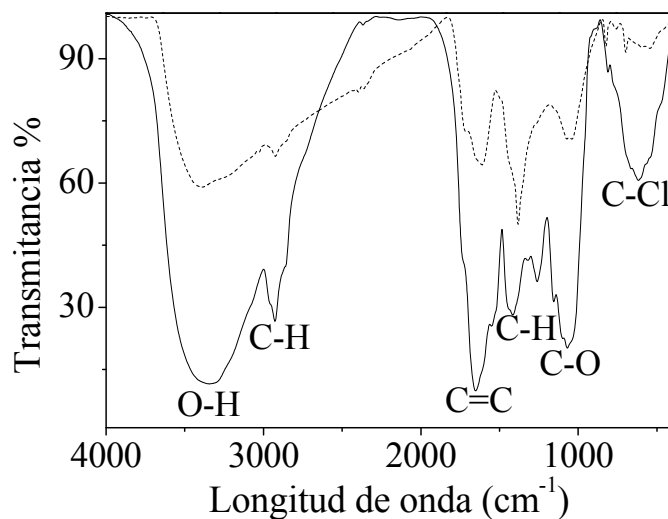
Por otra parte, las figuras 3.47d-f corresponden a una temperatura de reacción de 75 °C, en donde se puede apreciar un incremento en la cantidad y el tamaño de las AgNPs. En cuanto a la morfología, se pueden observar partículas cuasi-esféricas, triangulares y algunas de forma irregular. Se observan dos distribuciones de tamaño, la primera entre 5 y 15 nm y la segunda entre 25 y 40 nm, con un tamaño promedio de 13 nm corroborando los resultados obtenidos por la técnica de UV-Vis. Al igual que en el caso anterior, fueron indexados los principales planos cristalográficos de la plata que son (111) y (200). Finalmente, las imágenes 3.47g-i corresponden a una temperatura de 95 °C, en las cuales se observa la morfología cuasi-esférica de las NPs, el tamaño promedio fue de 9.53 nm, donde las nanopartículas presentan una reducida distribución de tamaño. Como se puede observar en la figura 3.47i, las distancias interplanares fueron las mismas que en los casos anteriores. Estos resultados son congruentes con los obtenidos por espectroscopía UV-Vis, mostrados en la figura 3.46.



**Figura 3.47** Micrografías electrónicas de transmisión de las nanopartículas de plata sintetizadas a diferentes temperaturas: a-c) 50, d-f) 75 y g-i) 95 °C, al emplear 5 ml del extracto de *Aloysia triphylla* y 10 ml de una solución 3 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

Para determinar los posibles compuestos orgánicos involucrados en el proceso de síntesis, se llevó a cabo el análisis de FT-IR presentado en la figura 3.48. En el espectro del extracto se encuentran varias señales. La primera situada en  $3360\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al enlace O-H de los fenoles; la banda centrada en  $2927\text{ cm}^{-1}$  pertenece al enlace C-H. A longitudes de onda mayores se aprecian las bandas debido a los anillos aromáticos; el enlace C=C se encuentra en  $1656\text{ cm}^{-1}$  y la señal del enlace C-H se confirma por la presencia de dos bandas ubicadas en  $1430\text{ cm}^{-1}$  y  $1245$

$\text{cm}^{-1}$ . El enlace C-O de los compuestos fenólicos se encuentra en  $1060 \text{ cm}^{-1}$ . Finalmente, se observa una señal a  $612 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente al enlace C-Cl. Esta última banda confirma la presencia de cloro en el extracto, a partir del cual se formó el cloruro de plata indexado en el análisis de rayos-X. Por otra parte, al observar el espectro de las AgNPs (línea punteada), se observan las mismas bandas aunque con intensidades significativamente menores lo cual se debe a la intervención de estos compuestos en el proceso de reducción; mientras que los compuestos estabilizadores son los responsables de estas señales más débiles. Por lo tanto, la capacidad del extracto de *Aloysia triphylla* para sintetizar AgNPs puede atribuirse a varios compuestos terpenoides que se han determinado en su composición química. Estos compuestos están en porcentajes considerables y son: geranial (24.4%), neral (27.3), espatulenol (25.6%) y otros compuestos en menor proporción, los cuales fueron determinados por Olmedo y col, empleando la técnica de cromatografía de gases [157].



**Figura 3.48** Análisis de FT-IR del extracto de *Aloysia triphylla* (línea continua) y de las nanopartículas de plata sintetizadas (línea punteada), empleando 5 ml del extracto de *Aloysia triphylla* y 10 ml de una solución 3 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

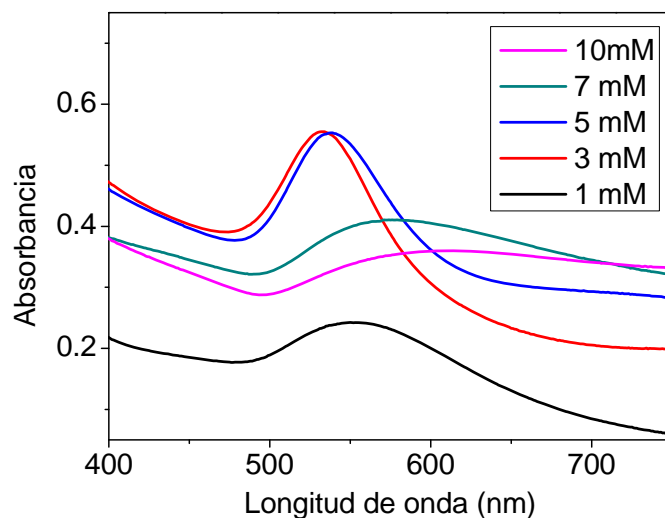
### 3.1.2 Nanopartículas de oro

Tal y como ha sido reportado, el primer indicio de la formación de nanopartículas de oro es un cambio de color en la solución; regularmente de amarillo a rojo o violeta [158], que se atribuye al

fenómeno de resonancia del plasmón superficial (SPR). El SPR, es también llamado banda o pico de absorción. En la espectroscopía UV-Vis, el SPR para las nanopartículas de oro aparece en un rango de 500-600 nm [159]. Sin embargo, existen varios factores que pueden afectar la posición de dicha banda, como el medio en el cual se encuentran las nanopartículas. Por este motivo, al emplear extractos de distintas plantas, se debe analizar cada una de forma independiente. En este estudio se emplearon extractos de tres diferentes plantas que son: *Tamarix gallica*, *Salvia microphylla Kunth* y *Aloysia triphylla*.

### **3.1.2.1 Síntesis de nanopartículas de oro empleando el extracto de *Tamarix gallica***

Para el caso del extracto de *Tamarix gallica*, el cambio de coloración fue observado aproximadamente 5 min después de iniciada la mezcla entre la solución de  $\text{HAuCl}_4$  y el extracto de la planta. El primer parámetro evaluado fue la concentración de la sal precursora, en este caso  $\text{HAuCl}_4$ . La figura 3.49 muestra el análisis de UV-Vis al emplear diferentes concentraciones de sal. Como se puede observar, la banda típica de las AuNPs aparece en 550 nm con una absorbancia de 0.22 cuando se utiliza una solución 1 mM de  $\text{HAuCl}_4$ . En la medida que la concentración de sal se incrementó a 3 mM, la banda se encuentra centrada en 532 nm, con una absorbancia de 0.56. Esta concentración mostró los mejores resultados en cuanto a forma, intensidad y ubicación de la banda, lo cual sugiere una dispersión de nanopartículas pequeña, una mayor concentración de nanopartículas y un menor tamaño promedio, respectivamente. Para las demás concentraciones empleadas, la banda disminuyó su intensidad y su forma fue más amplia a medida que se incrementó la concentración de sal. Lo anterior se debe a que la cantidad del extracto fue el mismo en todas las muestras, por lo cual la concentración de agentes estabilizadores no fue suficiente para estabilizar una mayor cantidad de NPs, lo cual ocurre al incrementar la concentración de  $\text{HAuCl}_4$ . Estos resultados son similares a los resultados reportados por Chandran y col, quienes utilizaron 3 diferentes concentraciones de  $\text{HAuCl}_4$ , obteniendo los mejores resultados con la de menor concentración debido al mismo fenómeno explicado anteriormente [160].



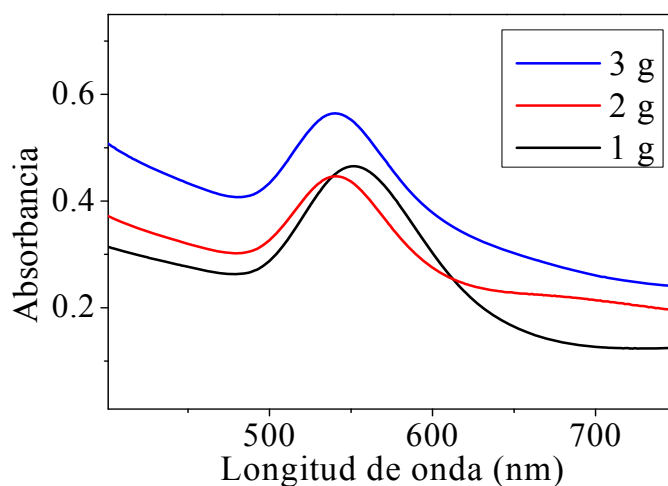
**Figura 3.49** Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de *Tamarix gallica* con diferentes concentraciones de HAuCl<sub>4</sub>.

Otra de las variables evaluadas durante la síntesis de nanopartículas de oro, fue la concentración del extracto de *Tamarix gallica*, cuyos resultados se muestran en la figura 3.50. Como se observa, a medida que se incrementa la concentración del extracto, la intensidad de la banda de las AuNPs es mayor. Lo anterior sugiere una mayor concentración sintetizada de AuNPs. Por otra parte, la banda se ubica a una menor longitud de onda a medida que la concentración del extracto se incrementa, lo que significa que, el tamaño promedio de las nanopartículas fue menor. Este comportamiento se debe a que a medida que se incrementa la concentración del extracto, los compuestos reductores y estabilizadores presentes se incrementan, lo que conlleva a la síntesis de una mayor cantidad de nanopartículas de un menor tamaño [81].

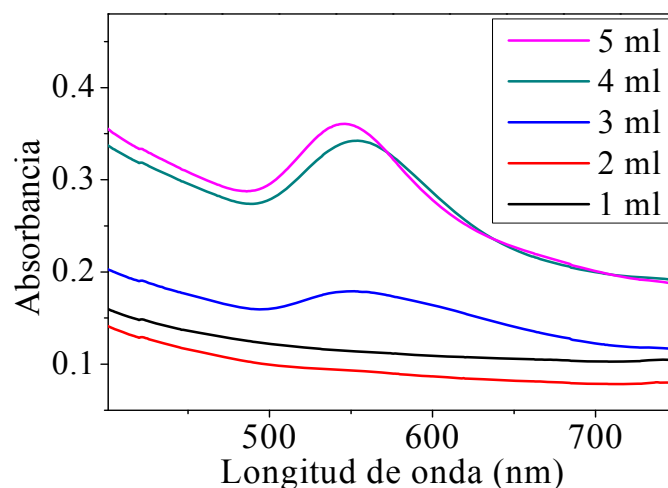
Finalmente, se evaluó la cantidad del extracto de *Tamarix gallica* empleado en la síntesis de AuNPs. La figura 3.51 muestra los espectros de UV-Vis al usar 1, 2, 3, 4 y 5 ml. Como se observa, en los espectros de 1 y 2 ml no se aprecia la banda típica de las AuNPs, por lo cual a estas condiciones no existen nanopartículas formadas, al menos hasta el momento de realizar el análisis. Cuando se emplearon 3 ml de extracto se observa una banda ancha, centrada a 552 nm con una intensidad de 0.17. Posteriormente, cuando se emplearon 4 ml de extracto, la banda característica de las AuNPs se incrementó significativamente en su intensidad, manteniéndose en la misma longitud de onda. Finalmente, para 5 ml se obtuvo el mejor resultado ya que, como se



aprecia en el espectro, la banda de absorción se ubica a 545 nm y presenta la mayor intensidad, lo cual significa que, comparado con las muestras anteriores, para 5 ml de extracto se sintetizaron una mayor concentración de AuNPs, las cuales tienen un menor tamaño. Este comportamiento se debe al incremento de compuestos reductores y estabilizadores al incrementar el volumen de extracto; resultados que son similares a los reportados en varias investigaciones previas [92, 142, 161].

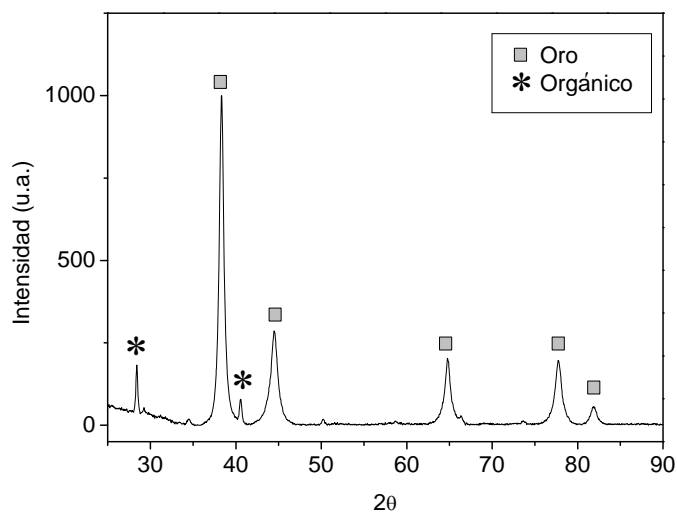


**Figura 3.50** Espectro de UV-Vis variando la concentración del extracto de *Tamarix gallica* en la síntesis de las nanopartículas de oro, utilizando 5 ml del extracto y 10 ml de una solución 3 mM de HAuCl<sub>4</sub>.



**Figura 3.51** Espectro de UV-Vis variando el volumen del extracto de *Tamarix gallica* en la síntesis de las nanopartículas de oro, empleando 10 ml de solución 3 mM de HAuCl<sub>4</sub>.

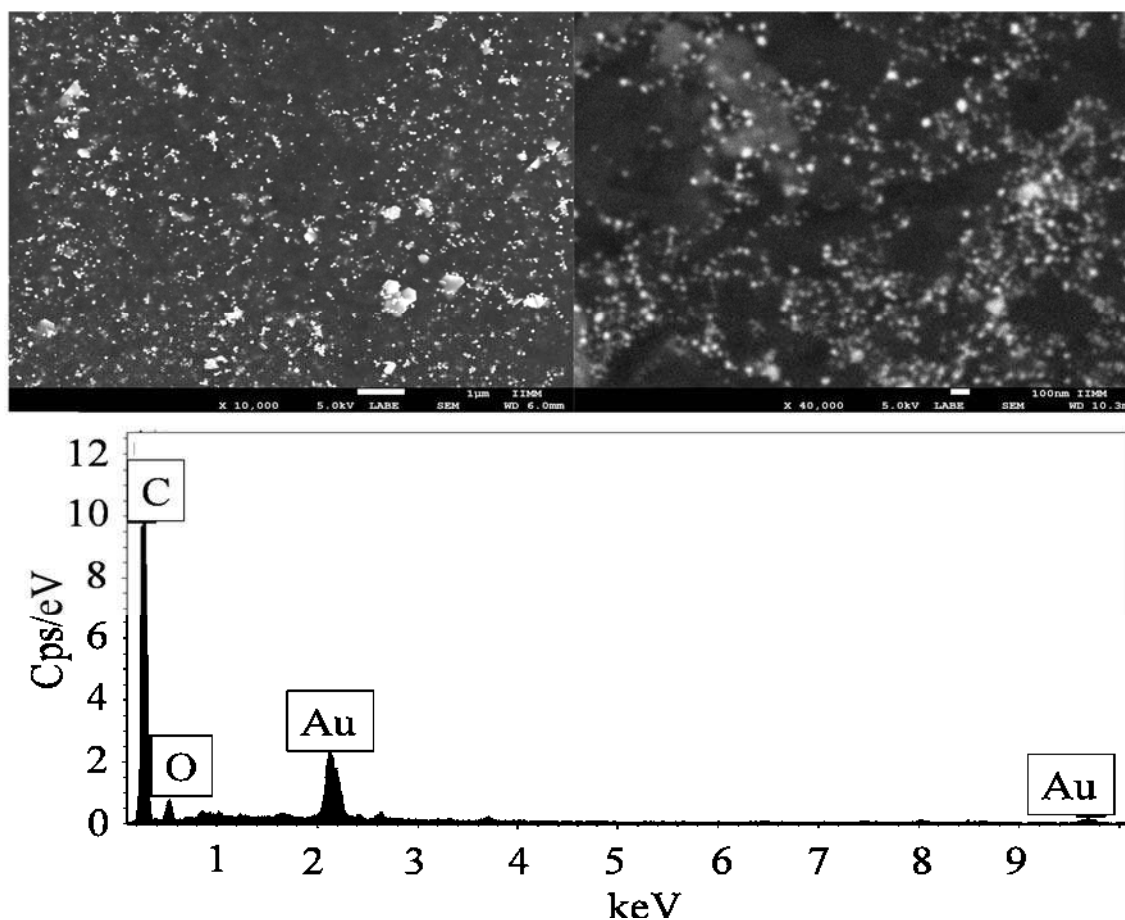
Una vez que fueron realizados los análisis por espectroscopía de UV-Vis y con la finalidad de realizar el análisis por medio de difracción rayos-X, se procedió a secar la mejor muestra. Los resultados obtenidos cuando se utilizó el extracto de *Tamarix gallica* se ilustran en la figura 3.52, en la cual se observan las cinco principales reflexiones de oro cuya fase es cúbica centrada en las caras. Dichos picos se encuentran ubicados en 38, 44, 64, 77 y 82 grados ( $2\theta$ ), que pertenecen a los planos (111), (200), (220), (311) y (222), respectivamente. Las reflexiones anteriores fueron indexadas con la tarjeta No. 03-065-2870 de la base de datos. De acuerdo a la ecuación de Sherrer, el tamaño de cristal es de 46 nm, confirmando el tamaño de las nanopartículas obtenidas. Por otra parte, los picos que no están identificados provienen de los compuestos orgánicos que estabilizan a las AuNPs tal y como ha sido reportado en otros trabajos [62, 162].



**Figura 3.52** Patrón de difracción de rayos-X de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de *Tamarix gallica* y 10 ml de solución 3 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

La caracterización por microscopía electrónica de barrido fue llevada a cabo para analizar la morfología y tamaño de las AuNPs. La figura 3.53 muestra dos micrografías obtenidas a diferentes magnificaciones, en las cuales se observan las AuNPs sintetizadas con extracto de *Tamarix gallica*. Las imágenes claramente muestran una gran concentración de nanopartículas de oro, las cuales se aprecian de morfología esférica; la mayoría de ellas con un tamaño menor a 100 nm. Además, se observan dispersas, con muy pocos agregados de las mismas. Estos resultados confirman la capacidad del extracto de hojas de *Tamarix gallica* para sintetizar AuNPs. El

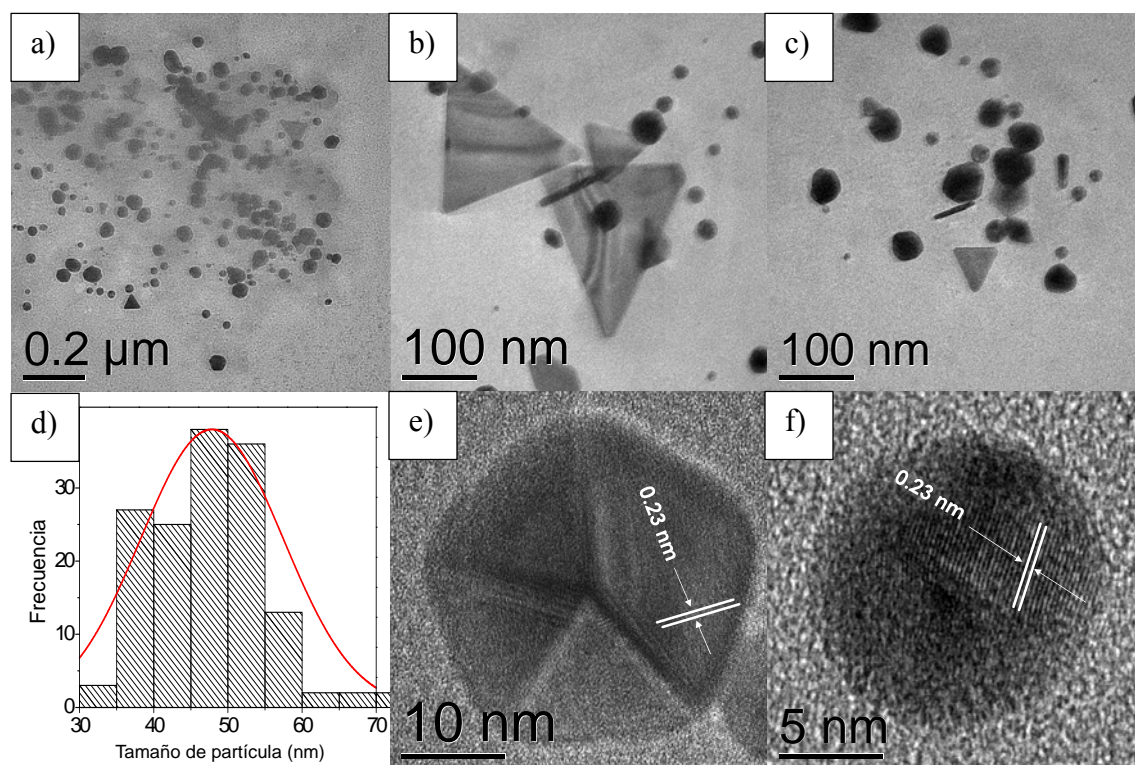
análisis por medio de EDS confirma la síntesis de nanopartículas de oro ya que hay una clara señal de oro, también se observa una señal de carbono la cual proviene del portamuestras empleado.



**Figura 3.53** Análisis por MEB de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de *Tamarix gallica* y 10 ml de solución 3 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

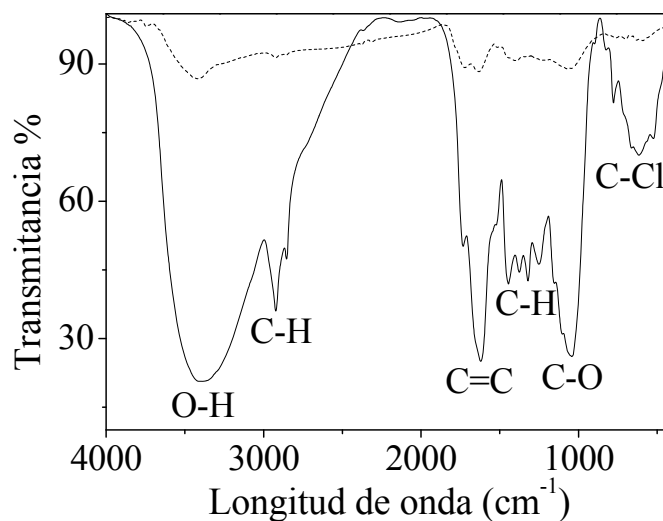
Por otra parte, el análisis por MET, mostró resultados más detallados acerca del tamaño, morfología y estructura de las AuNPs. Cabe señalar que para realizar dicho análisis, la muestra fue sometida a un proceso de centrifugación con la finalidad de hacer una selección en cuanto al tamaño de las nanopartículas y eliminar los compuestos orgánicos en exceso. Dicho proceso se llevó a cabo a una velocidad de 4000 rpm durante un tiempo de 5 min. La figuras 3.54a-b son micrografías en las cuales se muestran las diferentes morfologías y diferentes tamaños obtenidos en la síntesis de las nanopartículas antes del proceso de selección. En la figura 3.54a es evidente

la presencia de sustancia orgánica en exceso dificultando, incluso, la apreciación de las AuNPs. La micrografía 3.54c muestra los resultados obtenidos una vez que se llevó a cabo el proceso de selección por medio de la centrifugación. En esta figura se observan las mismas morfologías, es decir, esféricas, triangulares y algunas alargadas. Sin embargo, el tamaño de las nanopartículas es considerablemente menor, lo cual se corrobora por medio del histograma mostrado en la figura 3.54d, en el cual se aprecia un rango de tamaño de 30-70 nm, con un tamaño promedio de 48 nm. Finalmente, las figuras 3.54e-f son micrografías de alta resolución en las que se aprecian las distancias interplanares de 0.23 nm, que corresponden al plano (111) del oro. Estos resultados son mejores a los mostrados en algunos trabajos [75, 163], los cuales se deben a la dificultad de tener un control de las diferentes variables que intervienen durante la síntesis de las nanopartículas. Consecuentemente, en la mayoría de los casos se obtienen nanopartículas de diferentes morfologías y amplias distribuciones de tamaño.



**Figura 3.54** Análisis por MET de las nanopartículas de oro, empleando 5 ml del extracto y 10 ml de solución 3 mM de  $\text{HAuCl}_4$ : a-c) micrografías a diferentes magnificaciones, d) histograma mostrando la distribución de tamaño de partícula y e-f) imágenes de alta resolución.

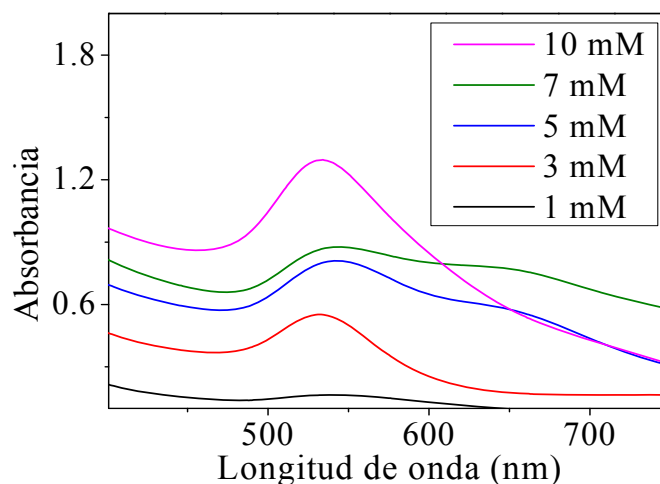
La figura 3.55 muestra el espectro de FT-IR de *Tamarix gallica* y de los productos obtenidos después de la reducción, respectivamente. En el espectro de la planta (línea continua), se observa una banda a  $3380\text{ cm}^{-1}$  generada por la vibración del grupo O-H de los alcoholes o grupos fenólicos. Un par de bandas se encuentran en  $2920$  y  $1050\text{ cm}^{-1}$ , las cuales indican la presencia de enlaces C-H y C-O, respectivamente. Ambas bandas son típicas de los compuestos fenólicos presentes en las plantas [164]. Las bandas situadas a  $1620$ ,  $1450$ ,  $1375$  y  $1320\text{ cm}^{-1}$  pertenecen al enlace C=C de los compuestos aromáticos [165]. Finalmente, la banda situada a  $700\text{ cm}^{-1}$  pertenece al grupo C-H debido a la presencia de alcanos. Por otra parte, en el espectro FT-IR de las AuNPs sintetizadas con el extracto de *Tamarix gallica* (línea punteada) se observan varias similitudes con el espectro del extracto. Sin embargo, algunas bandas desaparecieron, principalmente las ubicadas entre  $1300$  y  $1500\text{ cm}^{-1}$ , las cuales se deben a los compuestos aromáticos. Las bandas que permanecen presentes son las situadas en  $3300$ ,  $2920$  y  $1050\text{ cm}^{-1}$ , las cuales pertenecen a los compuestos fenólicos. De acuerdo a lo anterior, se puede concluir que los compuestos que tienen un papel fundamental en la etapa de reducción y estabilización son los fenoles y algunos compuestos aromáticos.



**Figura 3.55** Análisis de FT-IR del extracto de *Tamarix gallica* (línea continua) y nanopartículas de oro (línea punteada), empleando 5 ml del extracto y 10 ml de solución 3 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

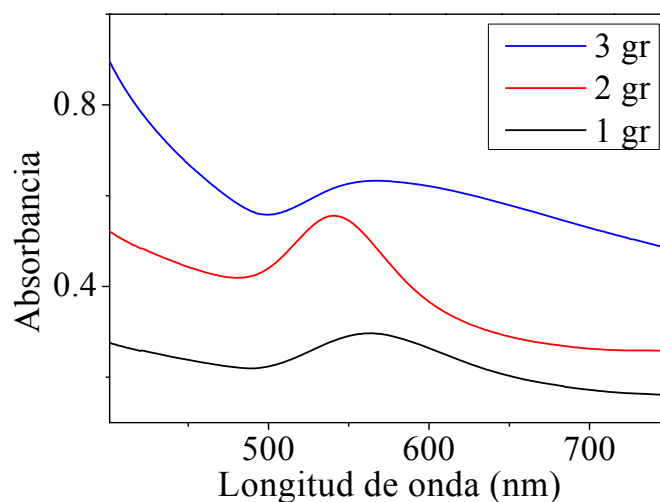
### 3.1.2.2 Síntesis de nanopartículas de oro empleando el extracto de *Salvia microphylla Kunth*

El primer parámetro analizado en la síntesis de AuNPs sintetizadas con el extracto de *Salvia microphylla Kunth* fue la concentración de sal precursora cuyos resultados de UV-Vis se muestran en la figura 3.56. Cuando la concentración fue 1 mM, se aprecia una banda de muy baja intensidad; sin embargo, para 3 mM se aprecia una banda bien formada centrada en 535 nm. Para las concentraciones de 5 y 7 mM, la intensidad de la banda incrementa, lo cual sugiere una mayor concentración de nanopartículas, sin embargo, se observan dos bandas de absorción; la primera, ubicada en 543 nm y la segunda en, aproximadamente, 650 nm; esto sugiere la presencia de una distribución bimodal y la existencia de diversas morfologías [166]. Lo anterior puede deberse a un crecimiento lento o a la existencia de ciertas reacciones secundarias que inhibieron la participación adecuada de los agentes estabilizadores provenientes del extracto de *Salvia microphylla Kunth*. Finalmente, cuando la concentración de  $\text{HAuCl}_4$  fue 10 mM se obtiene la banda de mayor intensidad, lo que significa que existe una mayor concentración de nanopartículas. Además, la banda se encuentra centrada a una longitud de onda menor (530 nm), sugiriendo un menor tamaño de las nanopartículas formadas. Por lo tanto, esta última concentración es la condición en la que mejores resultados se obtuvieron, lo cual se debe a que hay una mayor concentración de iones los cuales son reducidos rápidamente y posteriormente, estabilizados para formar nanopartículas de un tamaño pequeño y una distribución homogénea.



**Figura 3.56** Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de *Salvia microphylla Kunth* a diferentes concentraciones de  $\text{HAuCl}_4$ .

Para mejorar las características de las AuNPs se debe incrementar la concentración de agentes reductores y estabilizadores. Lo anterior puede lograrse incrementando el peso de planta a partir del cual se obtiene el extracto, cuyos resultados se muestran en la figura 3.57. Para 1 g de hojas se obtuvo una banda a 562 nm, de baja intensidad y considerablemente ancha, sugiriendo la presencia de pocas nanopartículas de oro, de gran tamaño y con una distribución amplia. Posteriormente, para 2 g de hojas de *Salvia microphylla Kunth*, la banda tiene una mayor intensidad y una forma estrecha; además, se encuentra a una menor longitud de onda (530 nm), lo que significa una mejoría en las características de las nanopartículas de oro. Finalmente, cuando se incrementó a 3 g el peso de hojas la banda es más intensa, sin embargo, es muy ancha sugiriendo una gran distribución de tamaño; esto se debe a que al incrementar la cantidad de hojas, se aumenta la cantidad de compuestos orgánicos, sin embargo, si los agentes estabilizadores están en menor proporción que los reductores, puede haber una gran concentración de AuNPs formadas, las cuales no es posible estabilizar y consecuentemente, se aglomeran y/o crecen excesivamente, tal como lo reportaron Yu y col [167].

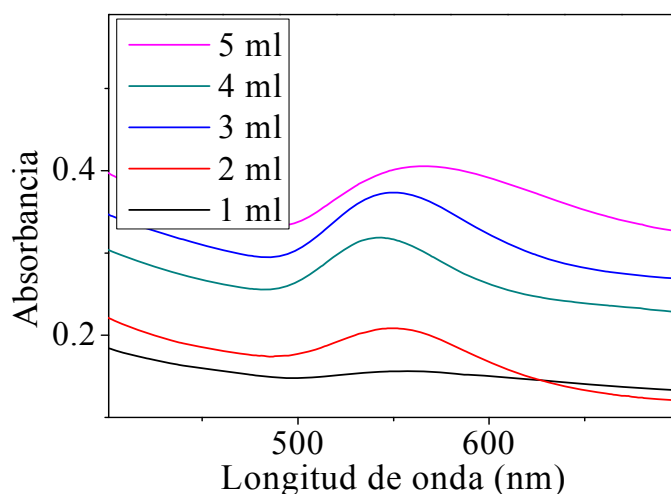


**Figura 3.57** Espectro de UV-Vis variando la concentración del extracto de *Salvia microphylla Kunth* en la síntesis de las nanopartículas de oro, utilizando 5 ml del extracto y 10 ml de solución 10 mM de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>.

Finalmente, se evaluó el volumen de extracto de *Salvia microphylla Kunth* empleado para sintetizar AuNPs. Los resultados se muestran en la figura 3.58, la cual contiene los espectros de UV-Vis para las cantidades de extracto empleadas. Cuando se empleó 1 ml, no se aprecia



ninguna banda, lo que significa que no se sintetizaron nanopartículas, probablemente por los pocos agentes reductores y estabilizadores presentes. Para 2 ml, se observa una banda de baja intensidad situada en 550 nm, que sugiere una baja concentración de AuNPs con un tamaño relativamente grande. Cuando se utilizaron 3 ml, la banda fue de mayor intensidad y se centró en 535 nm; estos cambios significan que hay una mayor cantidad de nanopartículas de oro y que son de un menor tamaño. Este incremento de la banda continua cuando se utilizaron 4 ml del extracto, sin embargo, la banda se mueve ligeramente hacia la derecha (540 nm), sugiriendo el incremento en el tamaño promedio de las nanopartículas. Finalmente, cuando se usaron 5 ml, la banda de absorción es mayor, sin embargo, es significativamente amplia, lo que indica que hay una alta concentración de nanopartículas, pero que tienen una distribución de tamaño grande. Por lo tanto, las mejores características de las Nps se obtuvieron con 4 ml. Resultados similares fueron obtenidos por Rajan y col, quienes determinaron que la cantidad de estabilizadores no era suficiente, por lo que al incrementar el volumen de extracto se obtenían partículas de mayor tamaño y distribución [168].

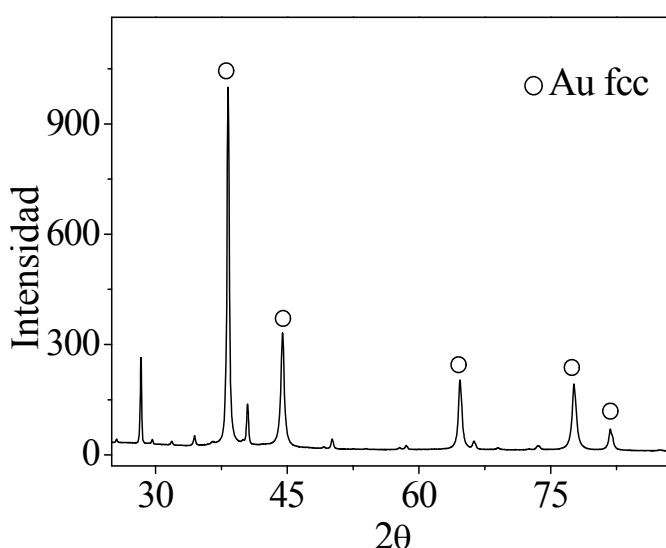


**Figura 3.58** Espectro de UV-Vis variando el volumen del extracto de *Salvia microphylla Kunth* en la síntesis de las nanopartículas de oro, empleando 10 ml de solución 10 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

Posteriormente, la muestra en la que se empleó una solución 10 mM de  $\text{HAuCl}_4$  y 4 ml de extracto de *Salvia microphylla Kunth* obtenido a partir de 2 g de planta, fue secada y analizada por medio de difracción de rayos-X, cuyos resultados se muestran en la figura 3.59. En el



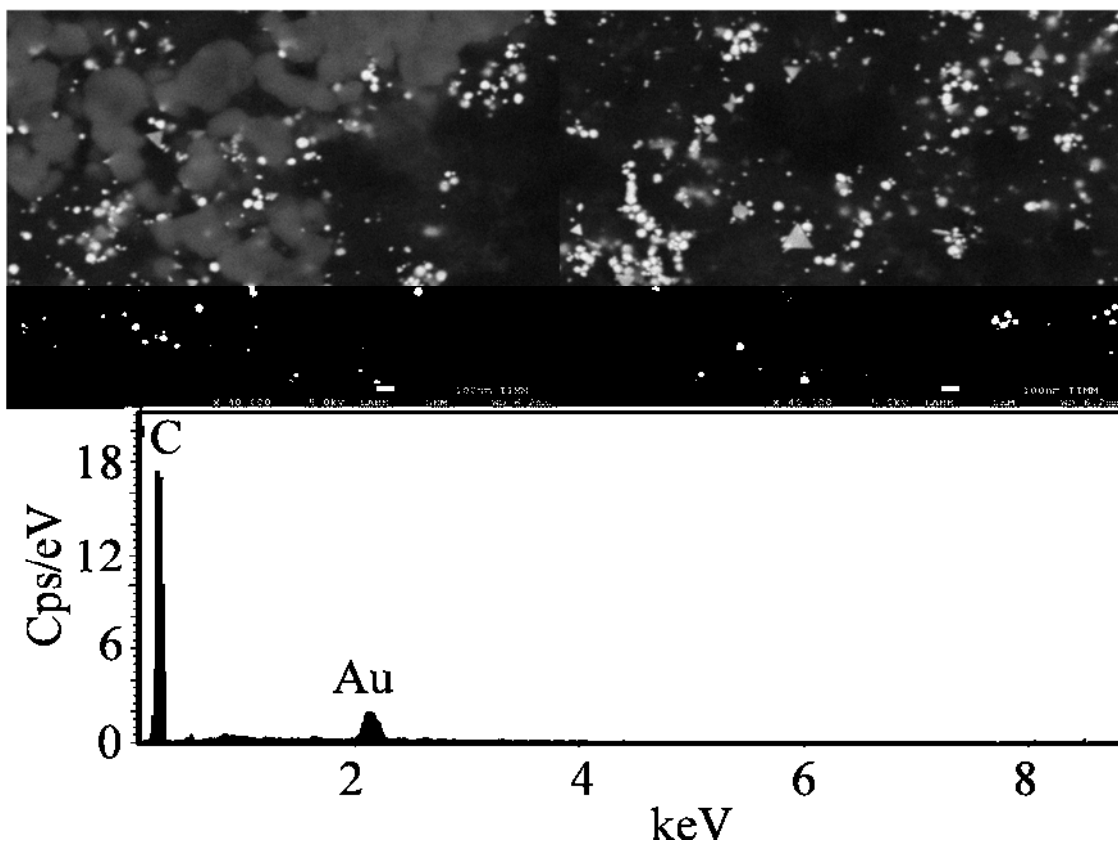
difractograma se indexaron las cinco principales reflexiones de oro con una fase cúbica centrada en las caras. Dichos picos se encuentran ubicados en 38, 44, 64, 77 y 82 grados ( $2\theta$ ), los cuales pertenecen respectivamente a los planos (111), (200), (220), (311) y (222), indexados mediante la tarjeta No. 03-065-2870 de la base de datos PDF. Además, el tamaño de cristal fue determinado por medio de la ecuación de Sherrer, obteniendo un valor de 46 nm, confirmando la estructura nanocrystalina de los sólidos formados. Por otra parte, los picos que no están identificados no se indexaron con ninguna tarjeta, por lo que se deduce que provienen de los compuestos orgánicos que estabilizan a las nanopartículas de oro, tal y como ha sido reportado [62, 162].



**Figura 3.59** Patrón de difracción de rayos-X de las nanopartículas de oro sintetizadas con 4 ml del extracto de *Salvia microphylla Kunth* y 10 ml de una solución 10 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

La caracterización por MEB fue llevada a cabo para analizar la morfología y tamaño de las nanopartículas. La figura 3.60 muestra dos micrografías obtenidas a diferentes magnificaciones, en las cuales se observan las AuNPs sintetizadas con el extracto de *Salvia microphylla Kunth*. Se observa claramente una concentración moderada de nanopartículas de oro; la mayoría de ellas con morfología esférica, sin embargo, algunas son triangulares. Respecto al tamaño, las partículas esféricas se encuentran dentro del rango nanométrico y algunas triangulares presentan un tamaño mayor a 100 nm. Las nanopartículas se observan dispersas, con algunos agregados, además, fue evidente la presencia de compuestos orgánicos remanentes, por lo que el proceso de lavado no

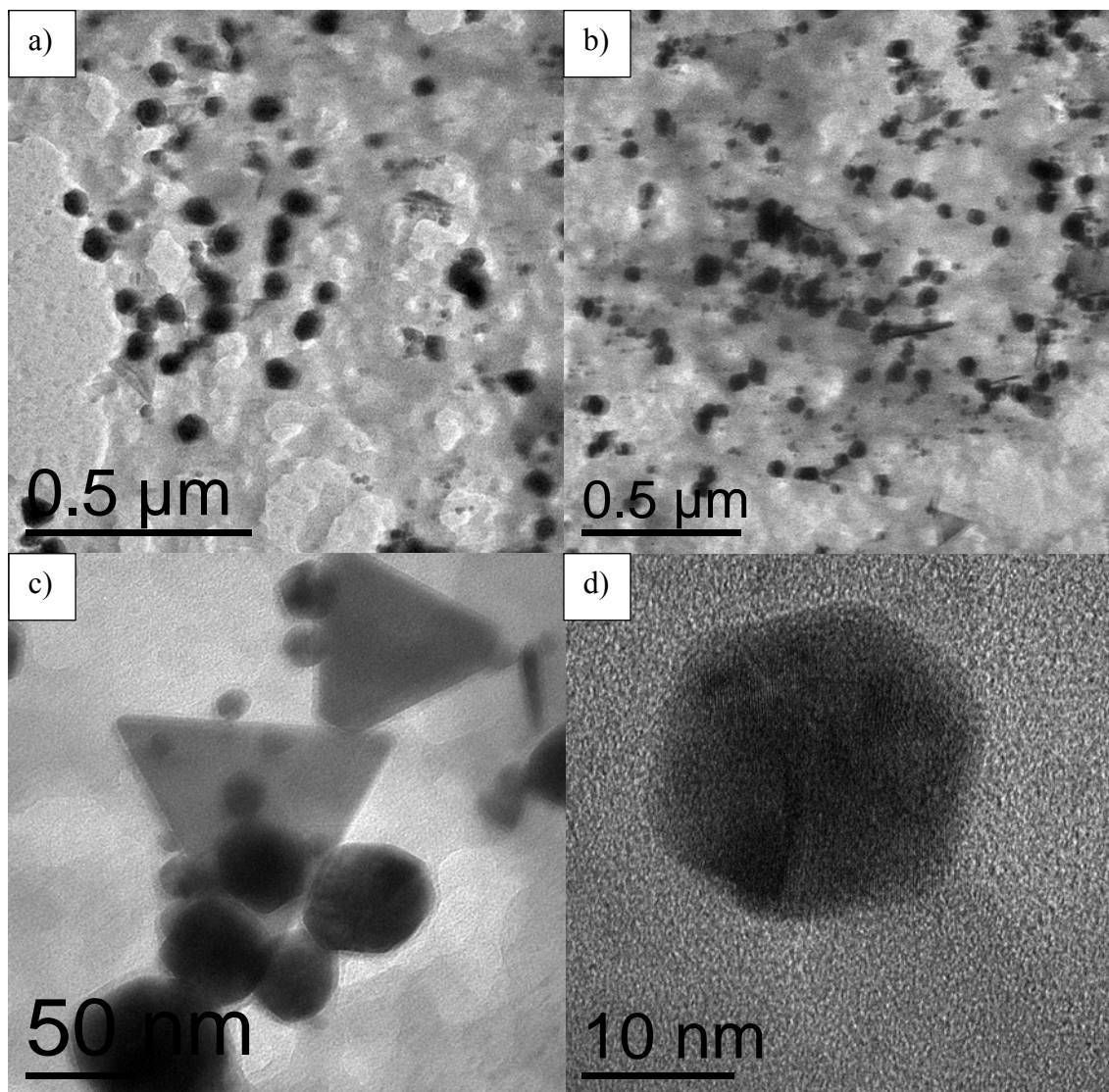
fue adecuado en este caso. Estos resultados confirman la capacidad del extracto de hojas de *Salvia microphylla Kunth* para sintetizar AuNPs. Finalmente, el análisis de EDS presenta una clara señal de oro proveniente de las nanopartículas sintetizadas y una señal de carbono la cual proviene del portamuestras empleado y de los compuestos orgánicos.



**Figura 3.60** Análisis por MEB de las nanopartículas de oro sintetizadas con 4 ml del extracto de *Salvia microphylla Kunth* y 10 ml de una solución 10 mM de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>.

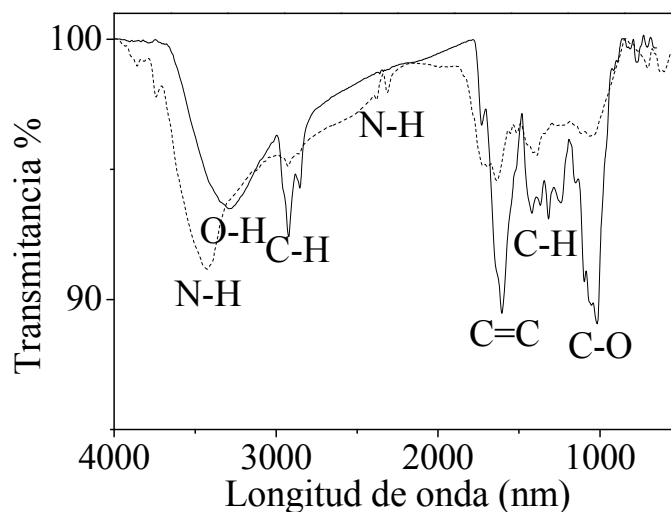
Para determinar con mayor precisión el tamaño y morfología de las AuNPs, se llevó a cabo el análisis por MET mostrado en la figura 3.61. En las micrografías 3.61a y b, se aprecia una densidad moderada de nanopartículas las cuales se encuentran atrapadas en una matriz orgánica. A mayores magnificaciones (figura 3.61c) se pueden apreciar las diferentes morfologías, principalmente esféricas y triangulares. Estas últimas son de un mayor tamaño, cerca de 100 nm, mientras que las esféricas se encuentran en un rango de 20-75 nm; esta amplia distribución de tamaño se debe a un contenido insuficiente de agentes estabilizadores, por lo que las partículas se

aglomeran y comienzan a crecer hasta ser estables. Las mismas morfologías y similares distribuciones de tamaño han sido reportadas anteriormente [72, 75]. Finalmente, la figura 3.61d es una micrografía de alta resolución en la que se pueden apreciar los planos atómicos cuya distancia interplanar es de 0.23 nm que corresponde a los planos (100) del oro. Estos resultados son congruentes con los obtenidos anteriormente y corrobora la capacidad del extracto de *Salvia microphylla Kunth* para sintetizar AuNPs.



**Figura 3.61** Análisis por MET de las nanopartículas de oro sintetizadas con 4 ml del extracto de *Salvia microphylla Kunth* y una solución 10 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

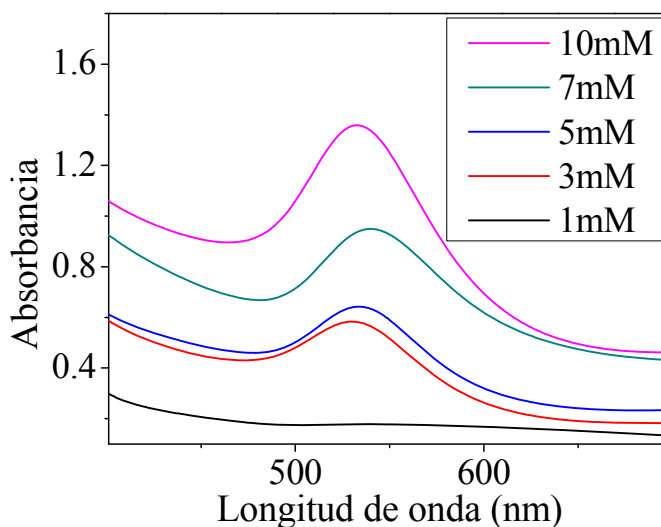
Una vez que se han sintetizado las AuNPs con el extracto de *Salvia microphylla Kunth*, es necesario determinar el tipo de compuestos involucrados en el proceso. La figura 3.62 muestra el análisis de FT-IR realizado tanto al extracto como a las nanopartículas de oro. En el espectro del extracto se puede apreciar las bandas debido a los compuestos fenólicos: el enlace O-H situado en  $3260\text{ cm}^{-1}$ , el enlace C-H centrado en  $2925\text{ cm}^{-1}$ , el enlace C=C de los anillos aromáticos ubicado en  $1600\text{ cm}^{-1}$ , el enlace C-H de los grupos metilos situado en  $1313\text{ cm}^{-1}$  y el enlace C-O ubicado en  $1015\text{ cm}^{-1}$  [164]. En el espectro correspondiente a las nanopartículas se aprecian algunos cambios significativos; a  $3460\text{ cm}^{-1}$  y  $2300\text{ cm}^{-1}$  aparecen nuevas señales, las cuales corresponden al enlace N-H que pudo haber formado durante el proceso debido a la reacción entre el hidrógeno proveniente de la sal precursora y los compuestos orgánicos. Las demás bandas continúan presentes pero con una intensidad, notablemente reducida, debido a su participación en el proceso de reducción de los iones de oro. Únicamente se encuentran aquellos compuestos que están estabilizando a las nanopartículas.



**Figura 3.62** Análisis de FT-IR del extracto de *Salvia microphylla Kunth* (línea continua) y de las nanopartículas de oro sintetizadas (línea punteada), empleando 4 ml del extracto y una solución 10 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

### 3.1.2.3.- Síntesis de nanopartículas de oro empleando el extracto de *Aloysia Triphylla*

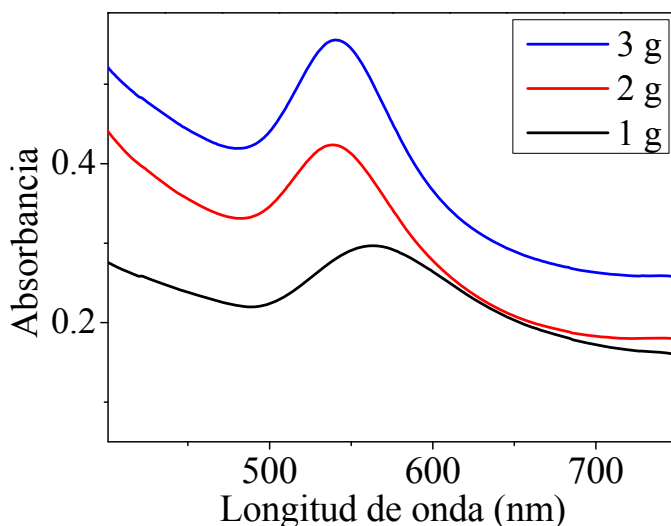
La síntesis de AuNPs empleando el extracto de *Aloysia Triphylla* se llevó a cabo usando  $\text{HAuCl}_4$  como sal precursora, cuya concentración fue variada y los resultados de UV-Vis se muestran en la figura 3.63. Cuando se utilizó una solución 1 mM no hay evidencia de banda de absorción que sugiera la presencia de las AuNPs. Posteriormente, para 3 y 5 mM las bandas de absorción son evidentes y muy similares, ambas ubicándose en 535 nm. Cuando la concentración de  $\text{HAuCl}_4$  fue de 7 mM se observa una banda significativamente más intensa y centrada en 538 nm. La tendencia continúa para la concentración 10 mM, en donde se obtuvo la máxima intensidad, lo que significa una mayor concentración de AuNPs; además, la banda se encuentra situada a 532 nm, que es una longitud de onda menor que en los otros espectros, sugiriendo que las nanopartículas sintetizadas tienen un tamaño promedio menor. Noruzi y col [67], obtuvieron resultados similares al incrementar la concentración de iones de oro en la síntesis de nanopartículas, utilizando un extracto de *Rosa hybrida*, de tal manera que las mejores características del espectro de UV-Vis se obtuvieron con la máxima concentración empleada.



**Figura 3.63** Espectro de UV-Vis de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de *Aloysia Triphylla* con diferentes concentraciones de  $\text{HAuCl}_4$ .

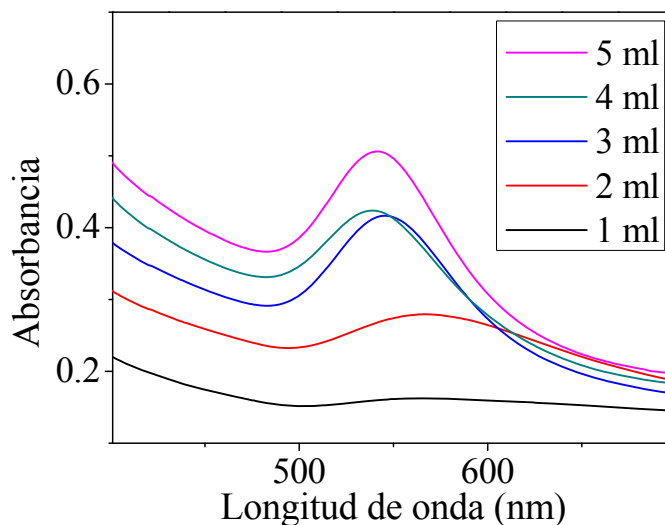
Es obvio que a medida que se incrementa la concentración de un extracto, la cantidad de compuestos orgánicos activos se incrementan, dentro de los cuales se encuentran aquellos que

cumplen la función de reductores y estabilizadores; sin embargo, también se incrementan aquellos compuestos que pueden retardar o inhibir la síntesis de nanopartículas. Debido a lo anterior, la concentración de extracto es una de las variables que se deben evaluar, cuyos resultados se muestran en la figura 3.64. Cuando se empleó 1 g de hojas de *Aloysia Triphylla* se observó una banda amplia, de baja intensidad y centrada a 555 nm. De acuerdo a resultados anteriores, estas condiciones indican la presencia de pocas nanopartículas de un tamaño relativamente grande y con una amplia distribución de tamaño. Para 2 g de planta, la banda se mueve hacia la izquierda, lo que significa la disminución del tamaño promedio, con una mayor intensidad. Finalmente, para 3 g de hojas de *Aloysia Triphylla* se observan las mejores características ya que la banda tiene una intensidad significativamente mayor; en lo que se refiere al ancho y posición de la banda son muy similares a los mostrados en la muestra con 2 g. Por lo tanto, los extractos empleados posteriormente se prepararon utilizando 3 g de hojas de *Aloysia Triphylla*. Este comportamiento se debe a que al aumentar la concentración de extracto, se incrementan los agentes reductores y estabilizadores, tal como lo demostró Park y col, al variar la concentración de ácido gálico, observando que la mayor intensidad de la banda de absorción se obtuvo para la mayor concentración de dicho compuesto [91].



**Figura 3.64** Espectro de UV-Vis variando la concentración del extracto de *Aloysia Triphylla* en la síntesis de las nanopartículas de oro empleando 5 ml del extracto y una solución 10 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

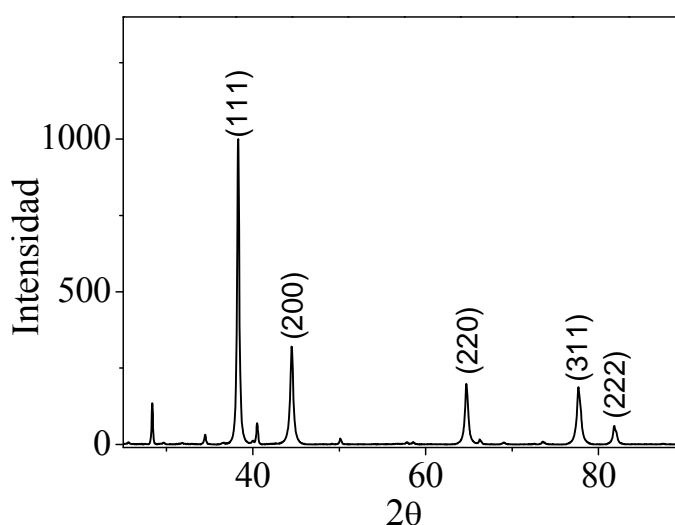
Una vez determinada la concentración de sal precursora y de extracto, se procedió a evaluar el volumen de extracto de *Aloysia Triphylla* cuyos resultados se muestran en la figura 3.65. Cuando se utilizó 1 ml de extracto, se aprecia una banda de baja intensidad y de ancho perfil, mientras que para 2 ml de extracto, la banda es más intensa; sin embargo, sigue siendo muy amplia y ubicada a 565 nm, sugiriendo la presencia de nanopartículas de gran tamaño y con una amplia distribución. Cuando se emplearon 3 y 4 ml de extracto de *Aloysia Triphylla*, las bandas obtenidas son muy similares en cuanto a intensidad; únicamente hay una ligera variación en la posición de cada una, ya que la de 3 ml se encuentra en 545 nm y la de 4 ml en 538 nm. Finalmente, cuando se emplearon 5 ml, se observó una banda más intensa, centrada a una longitud de onda menor (532 nm). Este comportamiento se debe a que a medida que se incrementa el volumen de extracto, los agentes reductores y estabilizadores incrementan su concentración; consecuentemente se reducen, rápidamente, una mayor cantidad de iones que posteriormente son estabilizados de forma adecuada para obtener una alta concentración de AuNPs, de tamaño pequeño y con una baja distribución de tamaño [69].



**Figura 3.65** Espectro de UV-Vis variando el volumen del extracto de *Aloysia Triphylla* en la síntesis de las nanopartículas de oro, empleando una solución 10 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

Para comprobar la presencia de cristales de oro en la muestra, se llevó a cabo el análisis por difracción de rayos X, el cual se muestra en la figura 3.66. La muestra evaluada fue aquella en la que se empleó una concentración 10 mM de  $\text{HAuCl}_4$  y 5 ml del extracto de *Aloysia Triphylla*

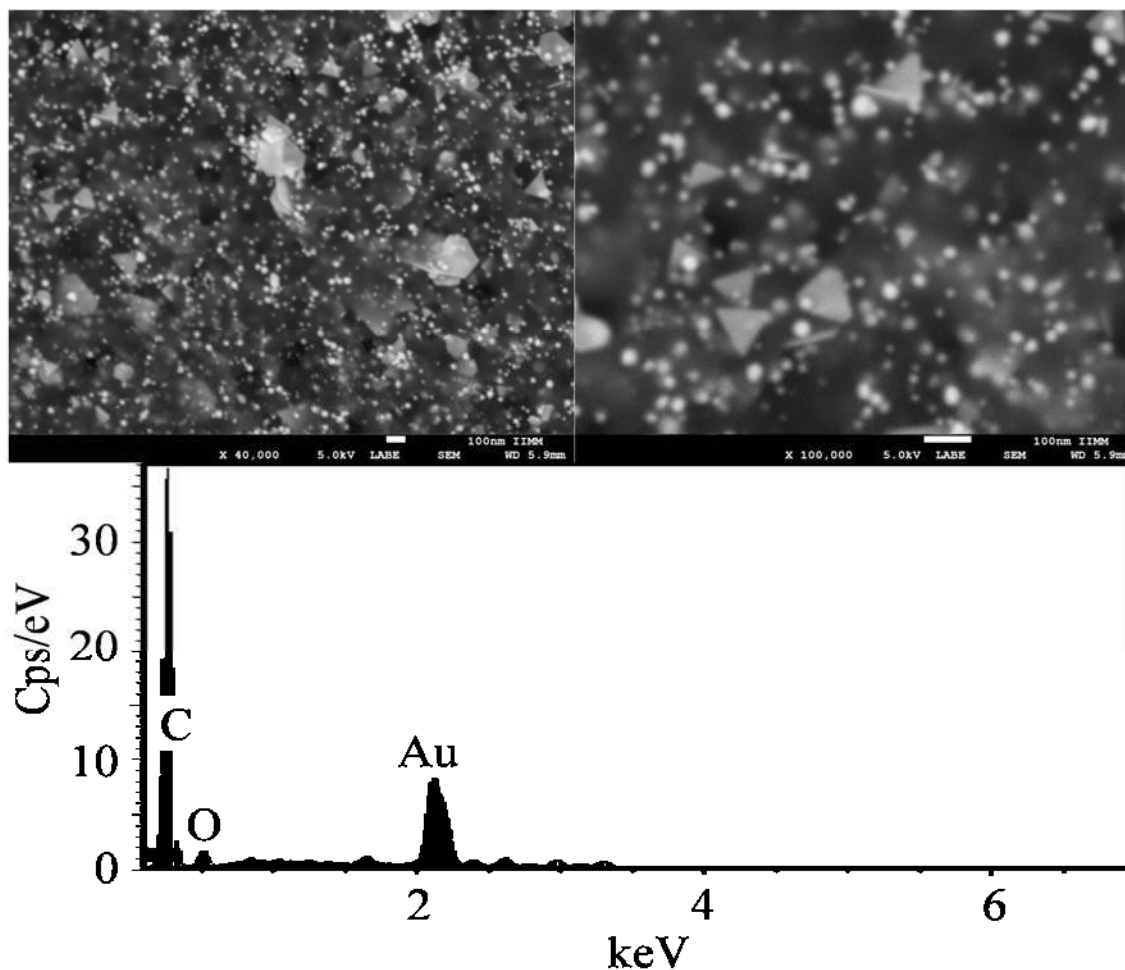
obtenido a partir de 3 g de hojas de la misma planta. El difractograma muestra cinco reflexiones correspondientes a la fase oro, la cual fue indexada con la tarjeta No. 03-065-2870 de la base de datos PDF. Los picos se encuentran ubicados en 38, 44, 64, 78 y 82°, los cuales corresponden a los planos (111), (200), (220), (311) y (222), respectivamente. Además, el tamaño de cristal fue de 37 nm, el cual fue determinado por medio de la ecuación de Debye-Scherrer. Finalmente, se observan varias pequeñas reflexiones que no fueron indexadas con ninguna fase; por lo tanto, se deduce que estos picos corresponden a los compuestos orgánicos que se encuentran estabilizando a las AuNPs, tal como ha sido reportado en otros trabajos [62, 162].



**Figura 3.66** Patrón de difracción de rayos-X de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de *Aloysia Triphylla* y una solución 10 mM de H<sub>AuCl</sub><sub>4</sub>.

La figura 3.67 muestra el estudio de MEB realizado a las AuNPs sintetizadas con el extracto de *Aloysia Triphylla*. En las micrografías se pueden observar una gran cantidad de partículas de tamaño nanométrico, aparentemente de morfología esférica. El tamaño es difícil de precisar, sin embargo, la mayoría son menores de 50 nm. Por otra parte, se aprecian algunas partículas de forma triangular, las cuales se encuentran fuera del rango nanométrico, además, se observa la matriz orgánica en la que se encuentran atrapadas las nanopartículas. Finalmente, en el análisis químico se presentan las señales de carbono y oro que provienen de los compuestos orgánicos y de las nanopartículas, respectivamente.

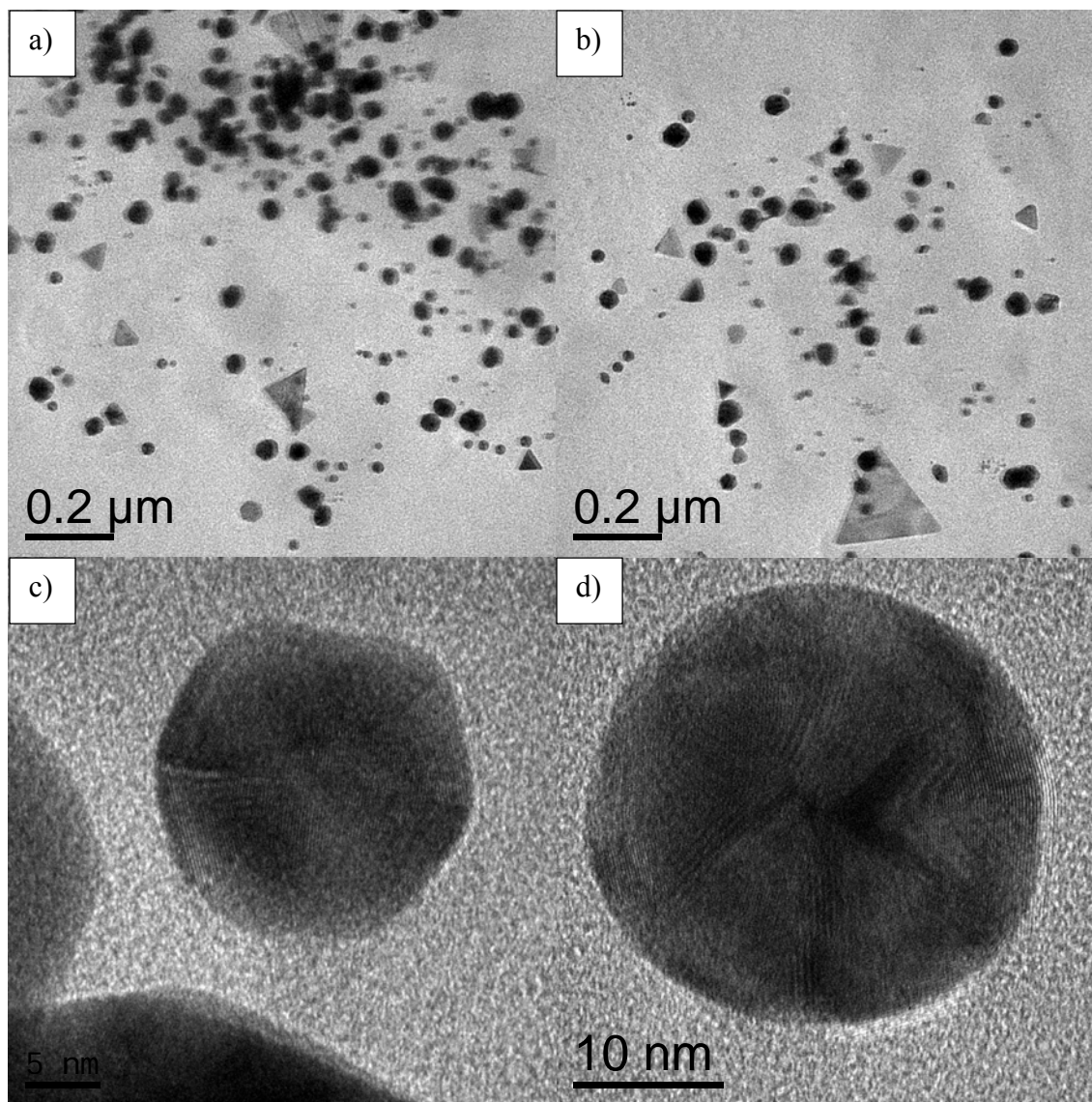




**Figura 3.67** Análisis por MEB de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de *Aloysia Triphylla* y una solución 10 mM de H<sub>AuCl</sub><sub>4</sub>.

Para corroborar los resultados obtenidos, se realizó un estudio por MET, mostrado en la figura 3.68. Como se observa, en las micrografías 3.68a y 3.68b hay una gran cantidad de nanopartículas las cuales tienen dos morfologías, principalmente, esféricas y triangulares. Las AuNPs esféricas tienen un tamaño homogéneo cuya distribución es de 20 a 35 nm; este es un rango más pequeño, comparado con los resultados obtenidos con el uso de las otras plantas y con los reportados por varios autores [75, 81]. El tamaño promedio es de 31 nm, incluyendo únicamente las partículas esféricas. También se puede apreciar una baja concentración de nanopartículas triangulares cuyo tamaño se encuentra entre 80 y 120 nm. Estas morfologías son el resultado de un crecimiento inadecuado debido al agotamiento de los agentes estabilizadores o a la intervención de diversos compuestos orgánicos que favorecen el crecimiento de dichas

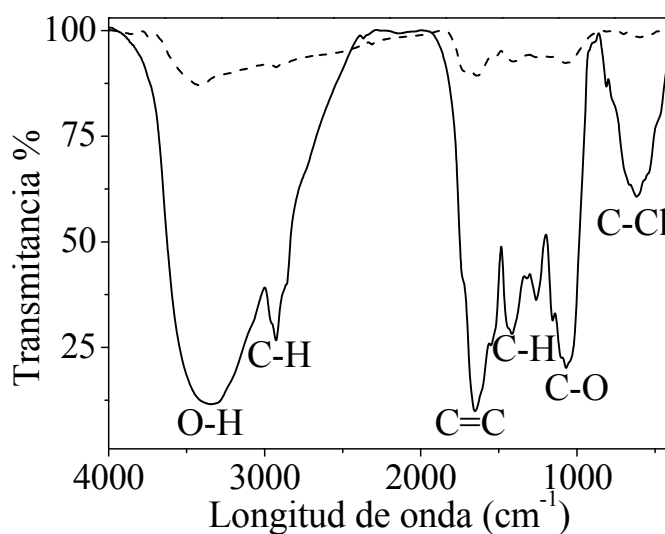
morfologías [92, 169]. Por otra parte, las figuras 3.68c y d son micrografías de alta resolución en la cual se puede observar los planos cristalinos cuya distancia es de 0.23 nm, la cual corresponde al plano (111) de oro con fase cúbica centrada en las caras. Con estos resultados se comprueba la síntesis de AuNPs con el uso del extracto de *Aloysia Triphylla*.



**Figura 3.68** Análisis por MET de las nanopartículas de oro sintetizadas con 5 ml del extracto de *Aloysia Triphylla* y una solución 10 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

Para determinar los compuestos orgánicos involucrados en el proceso de síntesis de AuNPs, se llevó a cabo el análisis por FT-IR mostrado en la figura 3.69. En el espectro correspondiente al

extracto de *Aloysia Triphylla* (línea continua) se observa una banda intensa a  $3360\text{ cm}^{-1}$  perteneciente al enlace O-H proveniente de los compuestos fenólicos [164]. La banda situada en  $2932\text{ cm}^{-1}$  pertenece al enlace C-H que se encuentra en, prácticamente, todos los compuestos orgánicos. La banda intensa centrada en  $1646\text{ cm}^{-1}$  corresponde al enlace C=C de los anillos aromáticos. Además, las bandas situadas entre  $1445$  y  $1240\text{ cm}^{-1}$  pertenecen al enlace C-H de los grupos metilos terminales. Finalmente, se encontró evidencia de la presencia del cloro debido a la banda situada a  $614\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al enlace C-Cl. Por otra parte, en el espectro de las AuNPs se observan las bandas correspondientes a los flavonoides y compuestos fenólicos tales como O-H, C-H y C-O. Las intensidades de estas bandas son muy bajas, lo que sugiere que la gran mayoría de estos compuestos fueron consumidos en la etapa de la reducción de los iones; además, las bandas presentes corresponden, únicamente, a los compuestos que se encuentran estabilizando a las nanopartículas de oro sintetizadas. Finalmente, la banda del enlace C-Cl no se observa debido a que este tipo de compuestos no tomó parte en la reacción de síntesis.

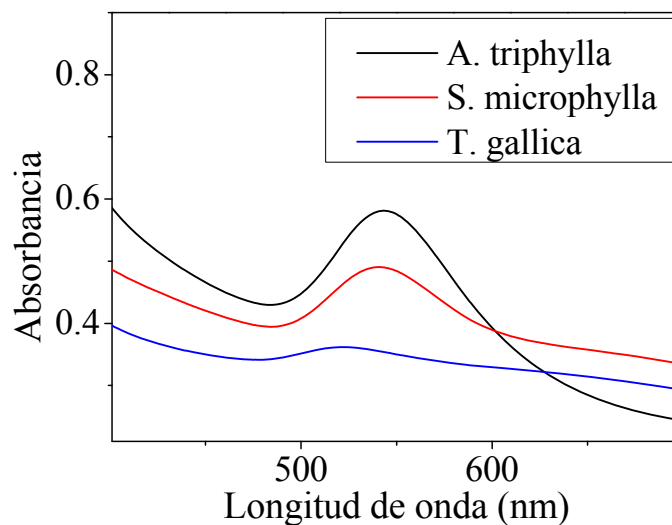


**Figura 3.69** Análisis de FT-IR del extracto de *Aloysia triphylla* (línea continua) y de las nanopartículas de oro sintetizadas (línea punteada), empleando 5 ml del extracto y una solución 10 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

### 3.2 Síntesis verde de nanopartículas bimetálicas plata-oro

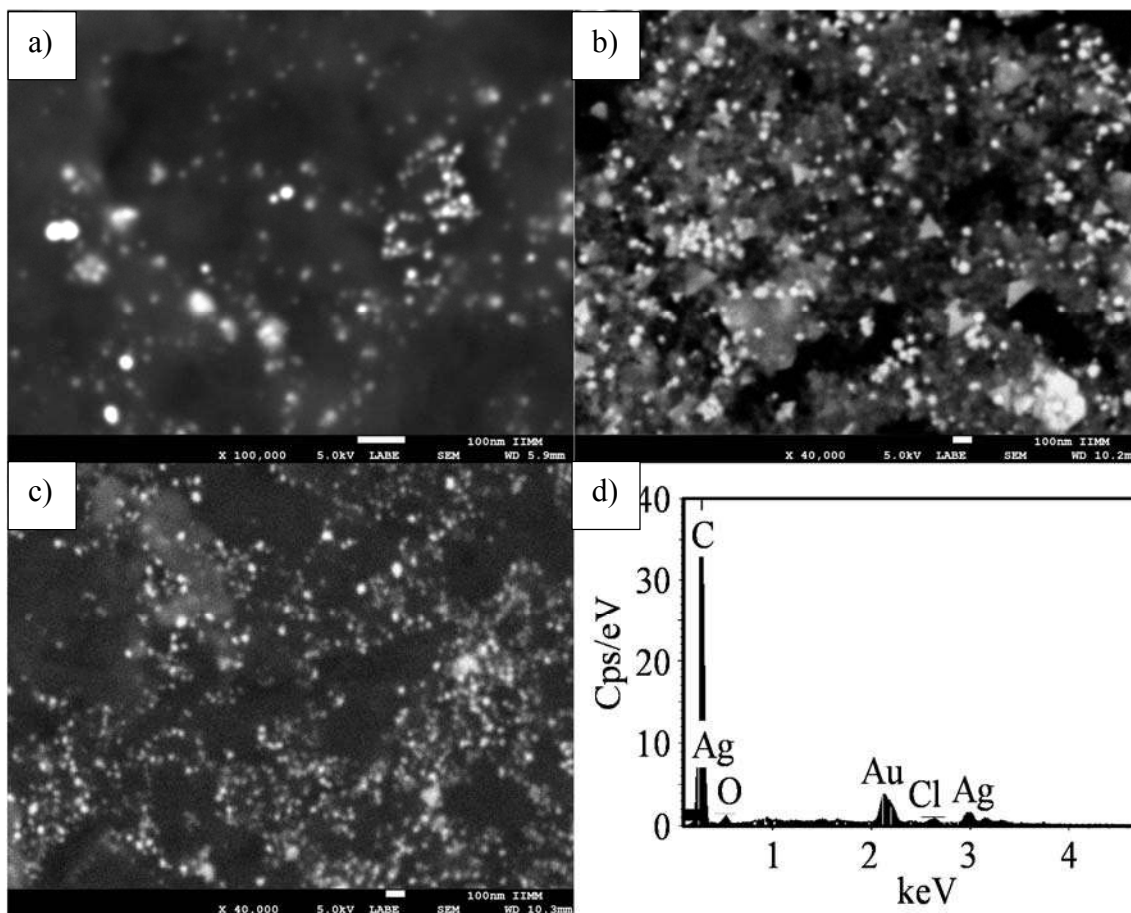
Como se mencionó en la primera sección, las propiedades catalíticas de las nanopartículas bimetálicas pueden ser mejores que las de sus componentes individuales. Por lo tanto, se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas bimetálicas plata-oro, para lo cual se seleccionaron las plantas cuyos extractos mostraron las mejores características en las nanopartículas obtenidas, por lo tanto, se emplearon las plantas *Salvia microphylla kunt*, *Tamarix gallica* y *Aloysia triphylla*.

Los resultados de UV-Vis se muestran en la figura 3.70. Las condiciones a las cuales se sintetizaron las nanopartículas fueron 5 ml de solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ , 5 ml de cada extracto empleado y posteriormente 5 ml de la solución de  $\text{HAuCl}_4$ . En este tipo de nanopartículas es importante analizar un rango el cual incluya las longitudes de onda para las cuales aparecen las bandas de absorción de las nanopartículas monometálicas de los elementos participantes. La espectroscopía UV-Vis es muy útil para el análisis de estos materiales ya que si se trata de una dispersión de partículas individuales, se observarán ambas bandas en sus longitudes de onda. Si se trata de nanopartículas bimetálicas núcleo-coraza también habrá dos bandas de los elementos componentes situadas a longitudes de onda diferentes de sus posiciones habituales. Finalmente, si se tratara de una nanoaleación, únicamente se observaría una banda situada a una longitud de onda media [170, 171]. De acuerdo con lo anterior, estos resultados sugieren que las nanopartículas sintetizadas no son de tipo núcleo-coraza, ya que, en los tres casos, se aprecia una banda de absorción ubicada entre 525 y 545 nm. Como se puede observar, cuando se utilizó el extracto de *Tamarix gallica* se observa una banda muy débil, lo cual es un indicativo de una baja concentración de nanopartículas; la banda obtenida cuando se usó el extracto de *Salvia microphylla kunt*, tiene una mayor intensidad pero es de un ancho mayor. Finalmente, con el extracto de *Aloysia triphylla* se obtuvo una banda con la mayor intensidad y ancho reducido. Sin embargo, no es posible hacer una comparación entre los tres espectros ya que, como se mencionó anteriormente, los solventes o sustancias empleadas juegan un papel muy importante en las características de una banda de absorción, tales como forma, ubicación e intensidad. Por lo tanto, cada extracto se trata de un medio diferente y puede afectar de forma distinta las bandas obtenidas, por lo que es necesario llevar a cabo otra técnica de caracterización.



**Figura 3.70** Espectro de UV-Vis de las nanopartículas bimetálicas plata-oro sintetizadas con 5 ml de cada extracto, 5 ml de solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ , y 5 ml de la solución 5 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

Para corroborar los resultados anteriores, se realizó un estudio de MEB cuyos resultados se muestran en la figura 3.71. La micrografía 3.71a corresponde a la muestra conteniendo las nanopartículas bimetálicas sintetizadas con el extracto de *Tamarix gallica*; como se observa, hay una baja concentración de nanopartículas, la mayoría de ellas de forma esférica. La figura 3.71b muestra las nanopartículas bimetálicas obtenidas con el extracto de *Salvia microphylla kunt.* En este caso se aprecia una mayor concentración de nanopartículas, sin embargo, la distribución de tamaño es amplia y se distinguen morfologías esféricas y triangulares. Estos resultados corroboran la forma de la banda de absorción observada en UV-Vis. La figura 3.71c muestra las nanopartículas sintetizadas con el extracto de *Aloysia triphylla*, en la cual se aprecia una gran cantidad de nanopartículas, la mayoría de ellas, de morfología esférica. En este caso las nanopartículas muestran una distribución de tamaño estrecha. Por lo tanto, se puede concluir que el extracto de *Aloysia triphylla* muestra una mejor capacidad para sintetizar nanopartículas de tamaño homogéneo y morfología esférica. Finalmente, la figura 3.71d muestra un análisis EDS de las nanopartículas plata-oro, el cual es representativo para los tres extractos utilizados. En dicho análisis se observan señales de oro y plata, correspondientes a las nanopartículas; la señal de carbono pertenece al portamuestras compuestos orgánicos y la señal de cloro puede ser debida a contenido de este elemento en la sal precursora empleada ( $\text{HAuCl}_4$ ).

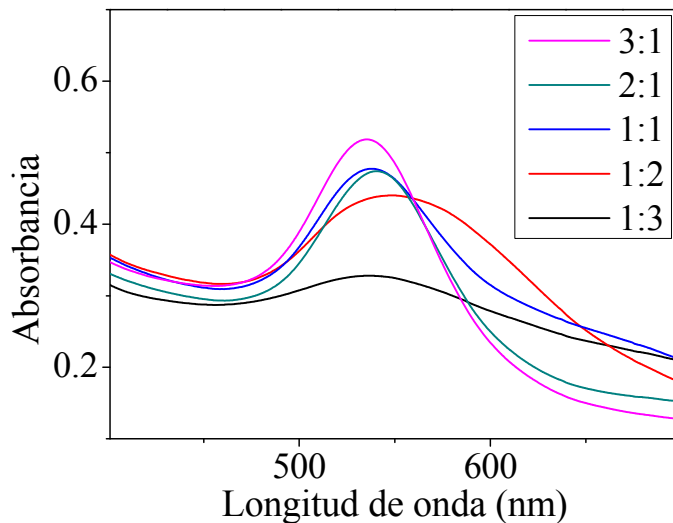


**Figura 3.71** Análisis de MEB de las nanopartículas bimetálicas, sintetizadas con el extracto de a) *Tamarix gallica*, b) *Salvia microphylla kunt*, c) *Aloysia triphylla* y d) Análisis EDS.

### 3.2.1 Síntesis de nanopartículas bimetálicas plata-oro empleando el extracto de *Aloysia triphylla*.

Una vez comprobada la capacidad del extracto de *Aloysia triphylla* para sintetizar nanopartículas bimetálicas plata-oro se variaron algunos parámetros para determinar las condiciones óptimas para obtener nanopartículas con las mejores características. Una de las variables más importantes que se deben evaluar es la relación en volumen de las sales precursoras, ya que de esto depende la formación de nanopartículas bimetálicas [170]. La figura 3.72 muestra el análisis de UV-Vis de las nanopartículas bimetálicas plata-oro, variando la relación en volumen de las sales precursoras  $\text{HAuCl}_4:\text{AgNO}_3$ . En todos los espectros se observa solo una banda de absorción situada entre 500 y 600 nm, lo que significa que las nanopartículas no son de tipo núcleo coraza [171]. Cuando se

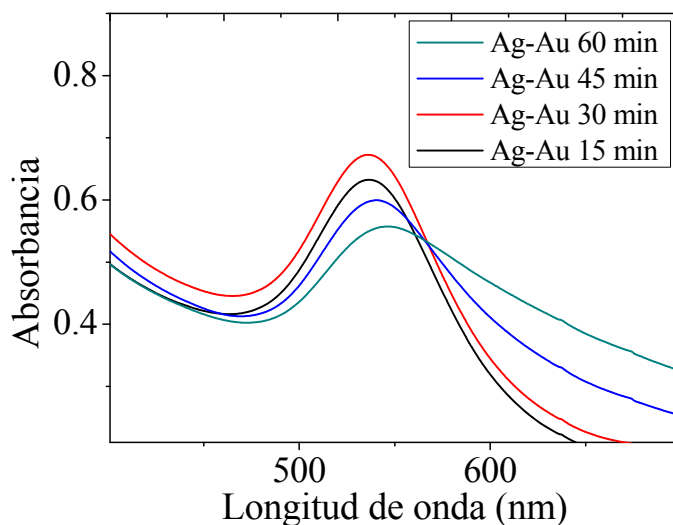
usó una relación 1:3 se observa una banda de absorción a 535 nm, sin embargo es muy amplia y de baja intensidad, sugiriendo la presencia de pocas nanopartículas con una amplia distribución de tamaño. Para una relación 1:2 la banda incrementa significativamente, aumentando la concentración de nanopartículas, sin embargo sigue siendo amplia y se encuentra a una mayor longitud de onda (552 nm). Para las relaciones 1:1 y 2:1 las bandas son muy similares, mostrando una misma intensidad y ubicación (539 nm). El mejor de los resultados se obtuvo para la relación 3:1 donde se observa una banda intensa centrada en 536 nm, indicando una mayor concentración de nanopartículas de un menor tamaño; además, la banda es estrecha, sugiriendo una reducida distribución de tamaño. Estos resultados son congruentes con los obtenidos en algunas investigaciones [83, 170].



**Figura 3.72** Espectro de UV-Vis variando la relación de sales precursoras  $\text{HAuCl}_4:\text{AgNO}_3$  en la síntesis de nanopartículas bimetálicas, empleando 5 ml del extracto, una solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  y una solución 5 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

Otra de las variables importantes en la síntesis de nanopartículas bimetálicas es el tamaño de la semilla, es decir el tamaño de la partícula de plata. En la síntesis verde primero se agrega la sal precursora de uno de los elementos y el extracto de la planta a utilizar; después de un tiempo, se agrega la sal precursora del otro elemento. Este tiempo es variable para cada extracto ya que depende de la capacidad y velocidad de reducción de la planta. La figura 3.73 muestra los resultados de UV-Vis al variar el tiempo de adición de la solución de  $\text{HAuCl}_4$ , después de la

reacción entre la solución de  $\text{AgNO}_3$  y el extracto de *Aloysia triphylla*; en todos los experimentos se utilizó una relación en volumen 3:1 de las sales  $\text{HAuCl}_4:\text{AgNO}_3$ . En el primer espectro, donde el tiempo fue de 15 min se observa una banda en 537 nm y con una intensidad considerable; además la banda es estrecha. Cuando el tiempo fue de 30 min, la banda es más intensa y se encuentra en 535 nm, sugiriendo una mayor cantidad de nanopartículas bimetálicas de menor tamaño; en este caso, el ancho de la banda es muy similar al anterior. Cuando el tiempo se incrementó a 45 min el efecto no fue favorable ya que la banda de absorción es menos intensa; además, es más ancha, sugiriendo una baja concentración de nanopartículas con una amplia distribución de tamaño. Este comportamiento continúa para un tiempo de 60 min en el que la banda presenta la menor intensidad y el mayor ancho de banda, comparado con las demás muestras. El comportamiento de las dos últimas condiciones se debe a que, al aumentar el tiempo de espera para adicionar la solución de  $\text{HAuCl}_4$  se da tiempo para que las nanopartículas de plata crezcan demasiado, de tal manera que al adherirse el oro, se forman partículas muy grandes que pueden estar fuera de la escala nanométrica, resultando una banda poco intensa y amplia.

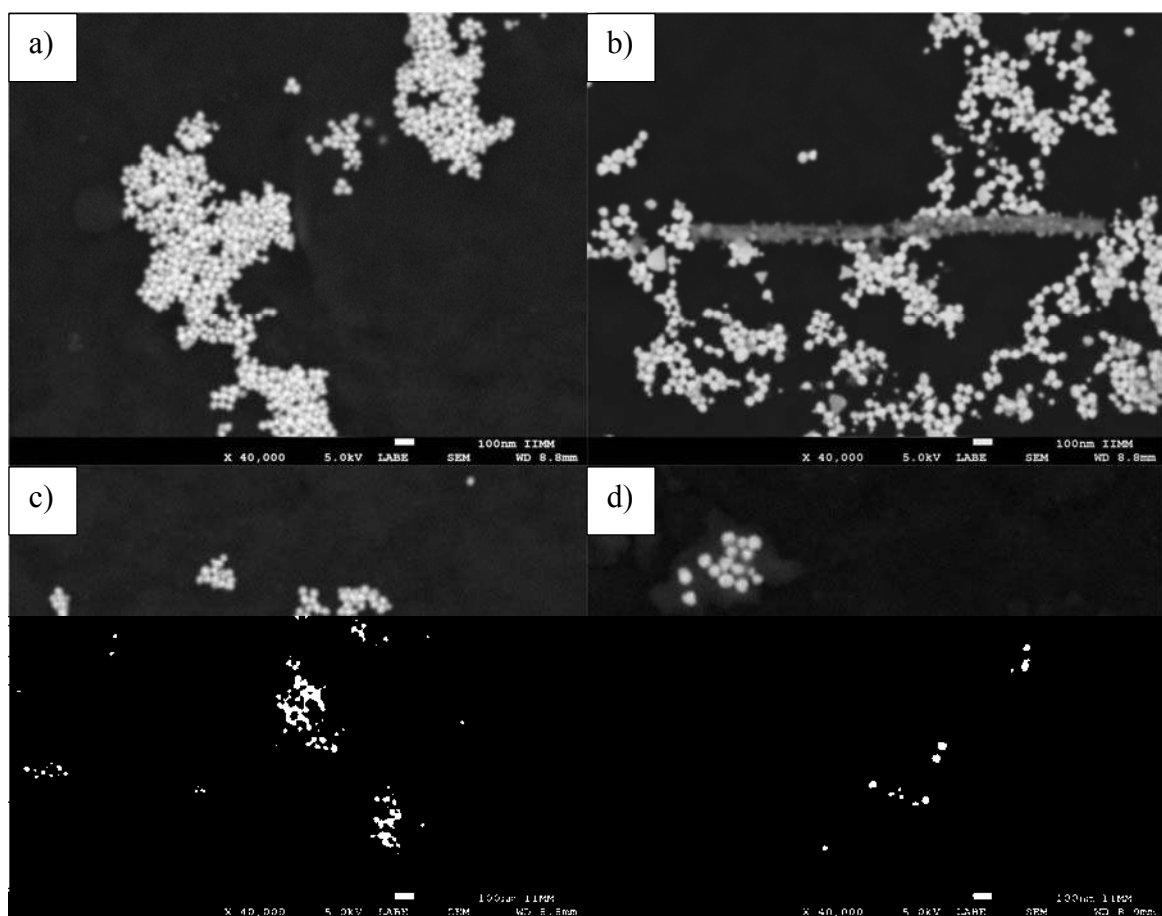


**Figura 3.73** Espectro de UV-Vis variando el tiempo de adición de la solución de  $\text{HAuCl}_4$  en la síntesis de nanopartículas bimetálicas plata-oro, empleando 5 ml del extracto de *Aloysia triphylla* y una relación en volumen 3:1 de las sales  $\text{HAuCl}_4:\text{AgNO}_3$ .

Los resultados anteriores fueron corroborados por medio de MEB, cuyos resultados se muestran en la figura 3.74. La figura 3.74a corresponde a la muestra Ag-Au 15 min, en la cual se puede

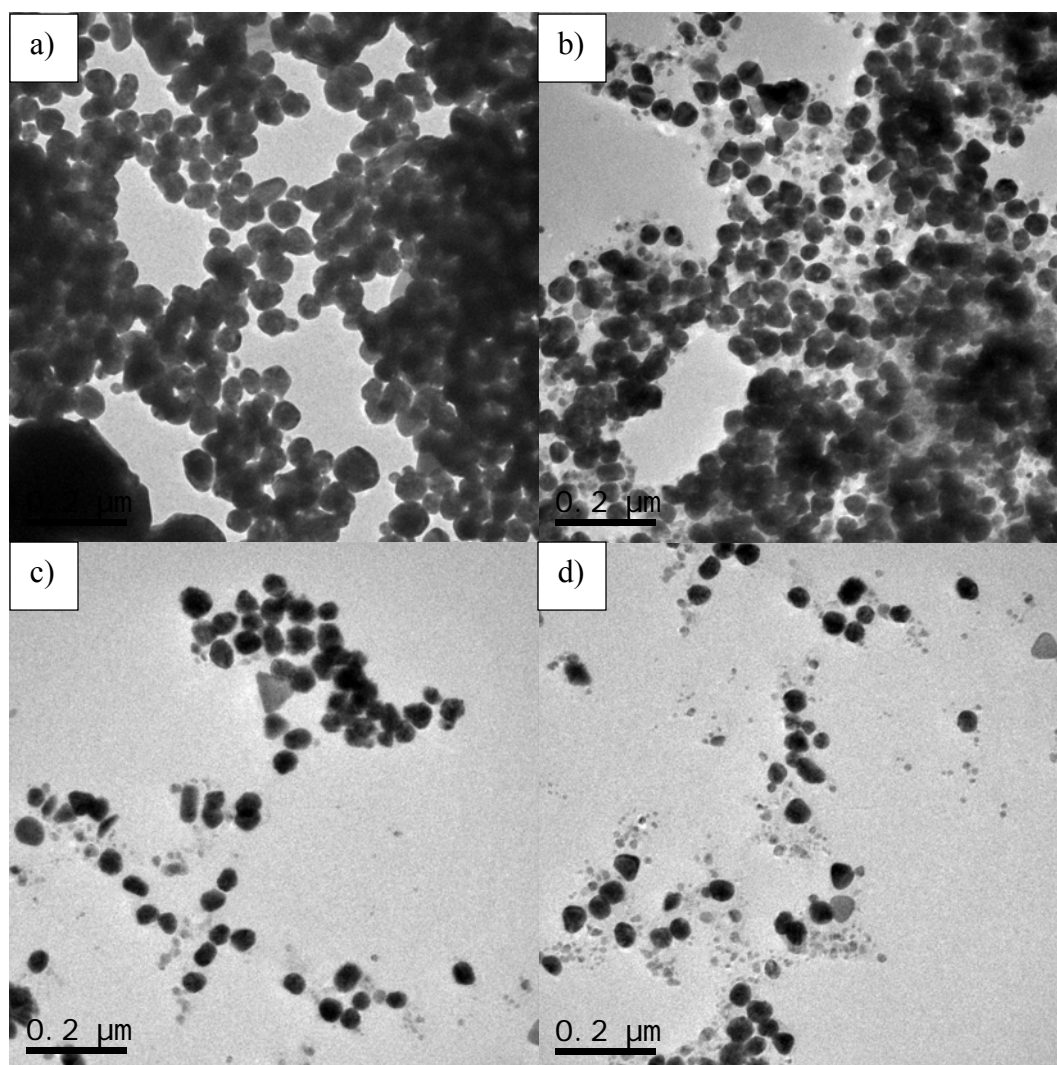


apreciar una alta concentración de nanopartículas de morfología y tamaño uniformes. Para la muestra Ag-Au 30 min (figura 3.74b) se observa una mayor cantidad de nanopartículas, la mayoría de morfología esférica y de una distribución de tamaño estrecha, tal como sugería el espectro de UV-Vis. Es importante notar que en esta figura se aprecia una estructura alargada en forma de alambre, conformada por las nanopartículas bimetálicas, cuya síntesis y características serán discutidas más adelante. Las muestras restantes, Ag-Au 45 min y Ag-Au 60 min, se muestran en las figuras 3.74c y 3.74d, respectivamente; en estos casos se observa una notable disminución en la cantidad de nanopartículas sintetizadas, las cuales tienen un tamaño ligeramente mayor. En todos los casos se aprecia que las nanopartículas se encuentran dentro de pequeños cúmulos debido al efecto estabilizador de los compuestos orgánicos cuyas biomoléculas pueden llegar a ordenar las nanopartículas tal como lo reportó Gopinath y col [172].



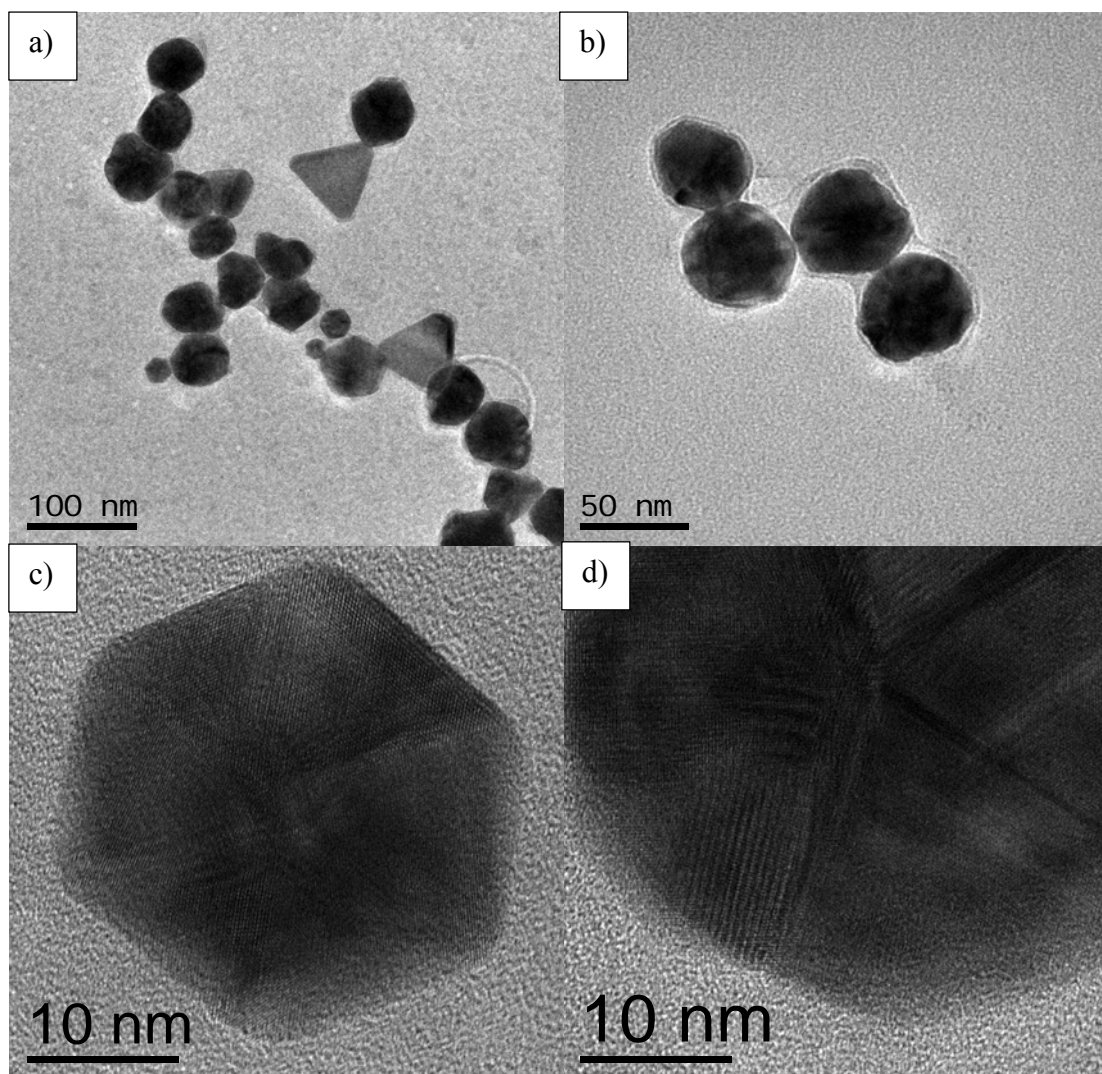
**Figura 3.74** Análisis por MEB de las nanopartículas bimetálicas sintetizadas con extracto de *Aloysia triphylla* al variar el tiempo de adición de  $\text{HauCl}_4$ : a) 15 min, b) 30 min, c) 45 min y d) 60 min.

La figura 3.75 muestra los resultados de TEM de las mismas muestras analizadas en las figuras anteriores, apreciándose a detalle las características de las nanopartículas bimetálicas, como tamaño y forma. En las muestras Ag-Au 15 min y Ag-Au 30 min, figura 3.75a y 3.75b respectivamente, se observan una gran cantidad de nanopartículas bimetálicas. La morfología obtenida, en ambas figuras, es en su mayoría esférica y el tamaño es similar, siendo ligeramente menor en la muestra Ag-Au 30 min (32 nm), tal como sugería el espectro de UV-Vis. Para las muestras Ag-Au 45 min y Ag-Au 60 min, figura 375c y 3.75b respectivamente, se observan concentraciones de nanopartículas muy bajas, las cuales tienen diferentes morfologías y amplias distribuciones de tamaño.



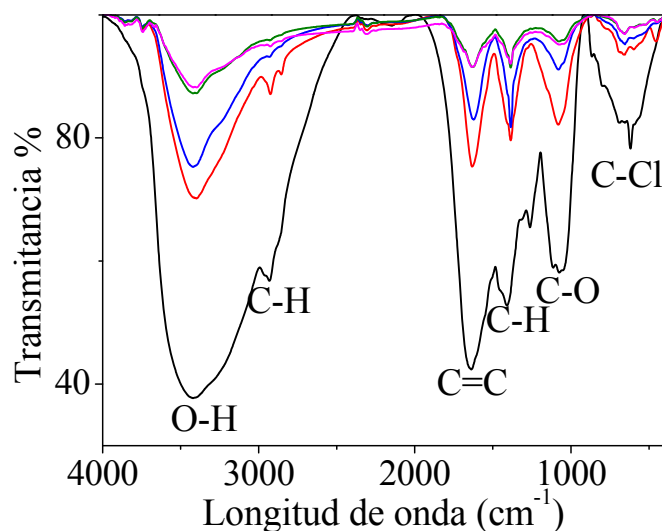
**Figura 3.75** Análisis por MET de las nanopartículas bimetálicas plata-oro sintetizadas con extracto de *Aloysia triphylla* al variar el tiempo de adición de  $\text{HauCl}_4$ : a) 15 min, b) 30 min, c) 45 min y d) 60 min.

En la figura anterior, se puede observar que en todas las micrografías las nanopartículas se encuentran formando agrupaciones y, en algunos casos, mostrando un ordenamiento entre ellas. La figura 3.76 muestra a detalle este comportamiento, donde las biomoléculas provenientes el extracto juegan un papel fundamental ya que son las responsables de encapsular y ordenar a las nanopartículas [27], como se aprecia en la figura 3.76b. Por otro lado, las figuras 3.76c y 3.76d son micrografías de alta resolución, en las cuales se observan los planos atómicos cuya distancia interplanar es de 0.235 nm, correspondiente al plano (111) de oro.



**Figura 3.76** Análisis de MET mostrando: a) y b) la estabilización y ordenamiento de las nanopartículas, c) y d) los planos atómicos de las nanopartículas bimetalicas plata-oro, empleando 5 ml del extracto de *Aloysia triphylla*, 5 ml de solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  y 15 ml de solución 5 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

Para determinar los compuestos orgánicos involucrados en la síntesis de las nanopartículas bimetálicas, se llevó el análisis por FT-IR mostrado en la figura 3.77. En el espectro del extracto de cedrón se pueden observar varias bandas situadas en 3428, 2932, 1647, 1403, 1067 y 623  $\text{cm}^{-1}$ ; dichas señales se deben a los enlaces O-H de fenoles y flavonoides, C-H, C=C de los compuestos aromáticos, C-H de grupos metilos, C-O de los fenoles y C-Cl, respectivamente. Posteriormente, se puede apreciar, en todos los espectros, que las mismas bandas están presentes con diferentes intensidades, en función de la eficiencia de la reacción, es decir de la cantidad de nanopartículas sintetizadas. De esta manera, la muestra Ag-Au 60 min es la que presenta las bandas con mayor intensidad debido a que hay una menor densidad de nanopartículas, por lo que la cantidad de compuestos consumidos fue menor. Posteriormente, el espectro de la muestra Ag-Au 45 min tiene una intensidad ligeramente menor que la muestra anterior. Finalmente, las muestras Ag-Au 15 min y Ag-Au 30 min son las que presentaron más nanopartículas, por lo que las bandas tienen una baja intensidad, indicando mayor consumo de agentes reductores.

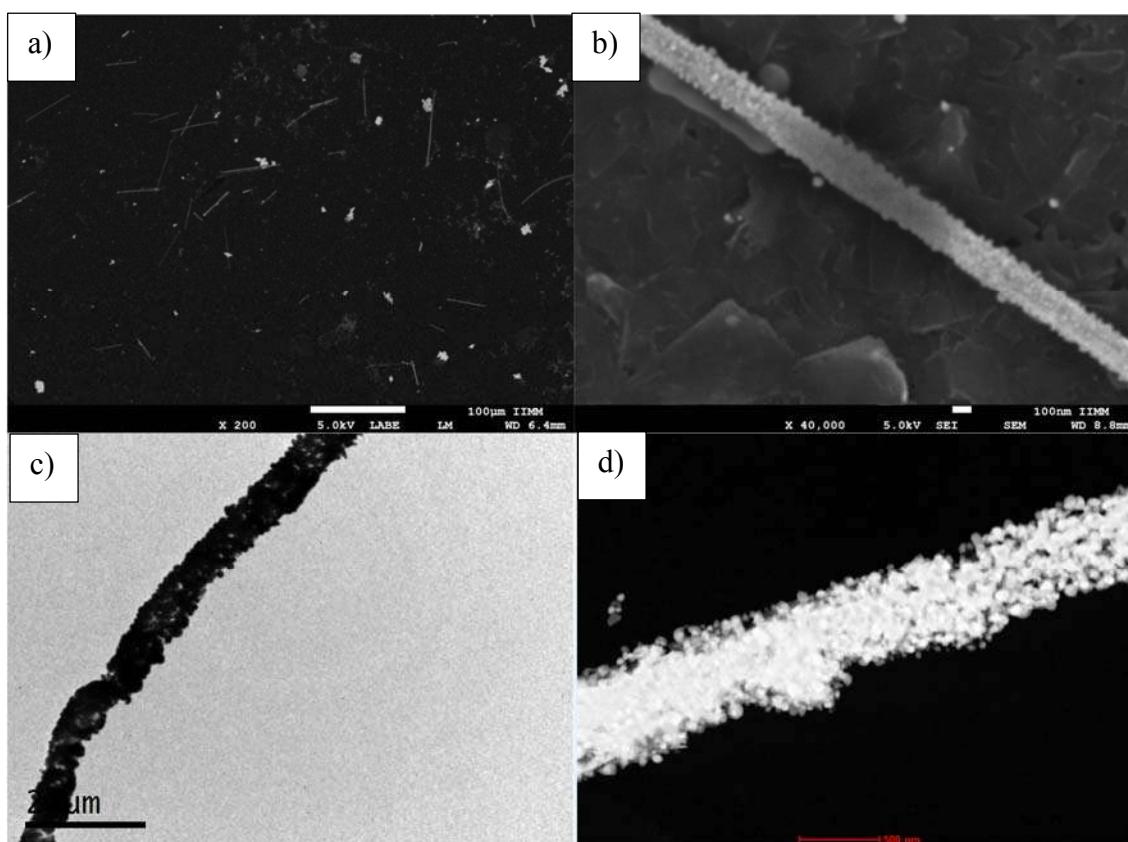


**Figura 3.77** Análisis FT-IR de las nanopartículas bimetálicas plata-oro, obtenidas al variar el tiempo de adición de la solución de  $\text{HAuCl}_4$ , empleando 5 ml del extracto y una relación 3:1 de las sales precursoras.

### 3.2.2 Síntesis de materiales nanoestructurados obtenidos con el extracto de *Aloysia triphylla*.

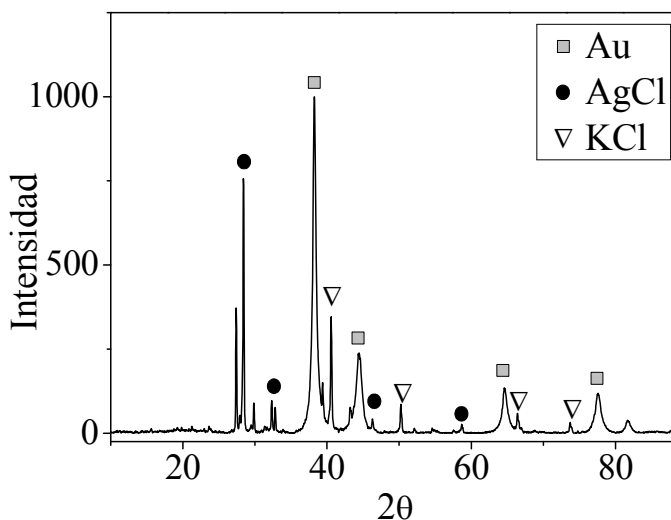
Tal como se mencionó en la sección anterior, las nanopartículas bimetálicas plata-oro se encuentran agrupadas y en algunos casos siguen un orden para formar estructuras alargadas.

Como se observa en la figura 3.78a, hay una gran cantidad de estas estructuras, acompañadas por algunas nanopartículas; tienen forma alargada y sus tamaños son variables, alcanzando hasta 100  $\mu\text{m}$ . Cuando la micrografía se encuentra a mayor magnificación (figura 3.78b), se observa que la estructura alargada está conformada por nanopartículas que se encuentran en la superficie de la misma. Las figuras 3.78c y 3.78d muestran, más a detalle, la forma de las nanoestructuras obtenidas; se corrobora que hay nanopartículas en toda la superficie, sin embargo, no es posible un mayor acercamiento ya que la muestra comienza a quemarse debido al haz del microscopio, e incluso algunas nanopartículas se desprenden de la estructura formada. Dicho material puede estar formado por nanopartículas, o bien, hay un sustrato en el cual se depositan las nanopartículas bimetálicas. En ambos casos, las biomoléculas juegan un papel importante ya que pueden formar complejos para formar este tipo de materiales nanoestructurados [27].



**Figura 3.78** Análisis de microscopía de las nanoestructuras alargadas sintetizadas con 5 ml del extracto de *Aloysia triphylla* y una relación 3:1 en volumen de las soluciones precursoras a una concentración 5 mM.

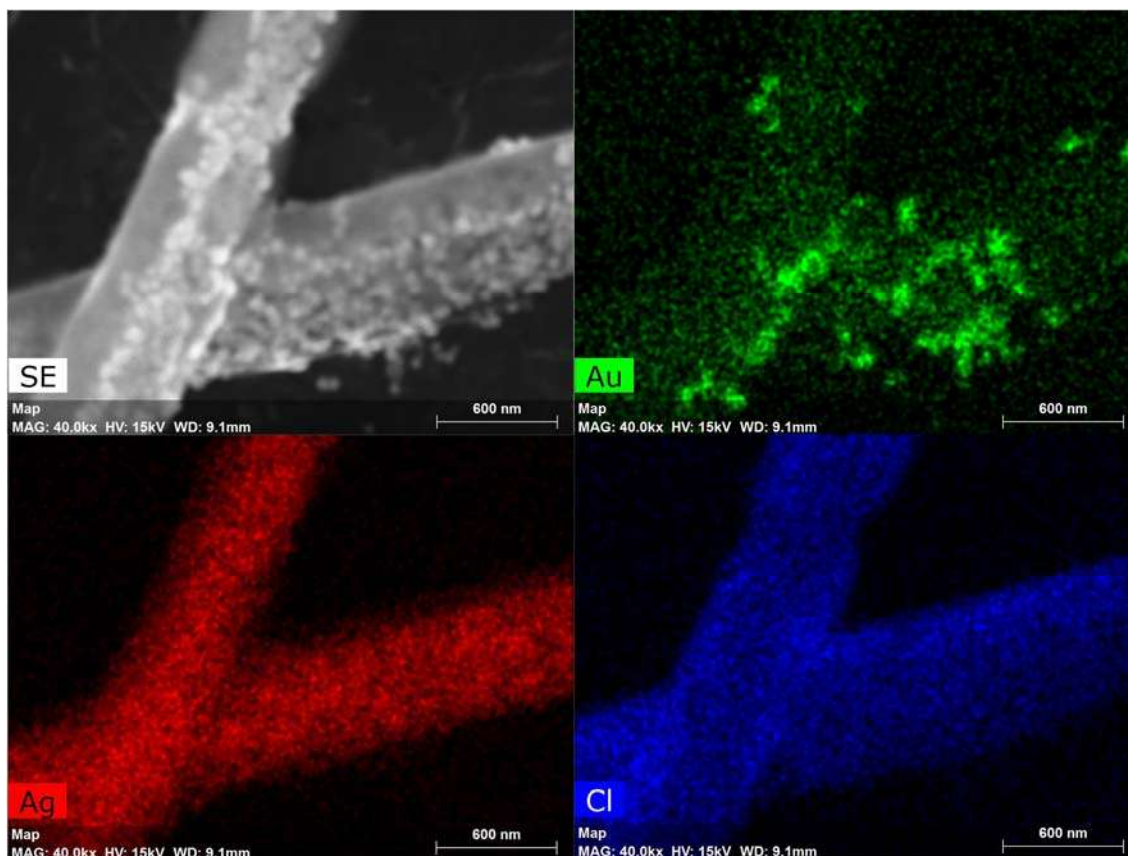
La figura 3.79 muestra el análisis de difracción de rayos-X realizado a la muestra que, de acuerdo a MEB, presentó más alambres nanoestructurados. Se indexaron las 5 principales reflexiones correspondientes a oro en ángulos de  $38^\circ$ ,  $44^\circ$ ,  $65^\circ$ ,  $78^\circ$  y  $82^\circ$  que pertenecen a los planos (111), (200), (220), (311) y (222), respectivamente, de acuerdo a la tarjeta No. 03-065-2870 de la base de datos empleada. Las reflexiones de plata y oro se ubican, prácticamente en los mismos ángulos; sin embargo, con los resultados obtenidos por UV-Vis se determina que las nanopartículas son bimetalicas, de tipo núcleo-coraza. Otra de las fases encontradas fue AgCl, indexada con la tarjeta No. 00-001-1013; en este caso se observan cuatro de las reflexiones correspondientes a esta fase. También se observan reflexiones correspondientes a KCl las cuales fueron indexadas con la tarjeta No. 01-075-0296. Los cloruros encontrados se deben al alto contenido de cloro en el sistema, debido a la sal de oro empleada ( $\text{HauCl}_4$ ), por lo que reacciona fácilmente con algún ión metálico, como por ejemplo la plata del  $\text{AgNO}_3$  y el potasio que puede provenir de la planta. Finalmente, algunos picos no se lograron identificar, por lo que se determinó que dichas reflexiones pertenecen a los compuestos orgánicos que estabilizan y/o forman parte de los alambres nanoestructurados.



**Figura 3.79** Patrón de rayos-X de la muestra conteniendo nanopartículas bimetalicas y nanoestructuras alargadas, empleando 5 ml del extracto de *Aloysia triphylla* y una relación 3:1 en volumen de las soluciones precursoras a una concentración 5 mM.



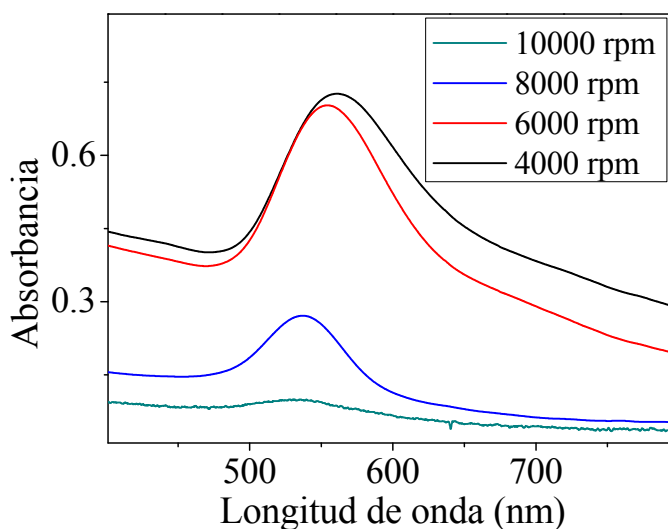
Debido a los resultados de rayos-X, es necesario determinar la ubicación de cada una de las fases encontradas, por lo que se llevó a cabo el mapeo mostrado en la figura 3.80. Como se puede observar, las estructuras alargadas son de AgCl y las nanopartículas que se encuentran adheridas en la superficie son de Ag-Au, las cuales son ordenadas por las biomoléculas provenientes del extracto de *Aloysia triphylla*. Estos resultados sugieren que el cloruro de plata se forma cuando la solución de  $\text{HauCl}_4$  es adicionada, para posteriormente servir de sustrato para que las nanopartículas bimetalicas crezcan y se estabilicen con la ayuda de los compuestos orgánicos, los cuales encapsulan tanto a las nanopartículas como a las nanoestructuras formadas. La cristalización de cloruro de plata es muy común, incluso cuando el agua empleada se encuentre ligeramente contaminada, sin embargo, este compuesto se caracteriza por su gran tamaño y formas geométricas cúbicas. Es por esto, que se determina que ciertos compuestos orgánicos, del extracto de *Aloysia triphylla*, son los causantes de la obtención de este tipo de materiales nanoestructurados.



**Figura 3.80** Mapeo de las nanoestructuras alargadas sintetizadas con el extracto de *Aloysia triphylla*.

### 3.2.3 Control del tamaño de las nanopartículas bimetálicas plata-oro

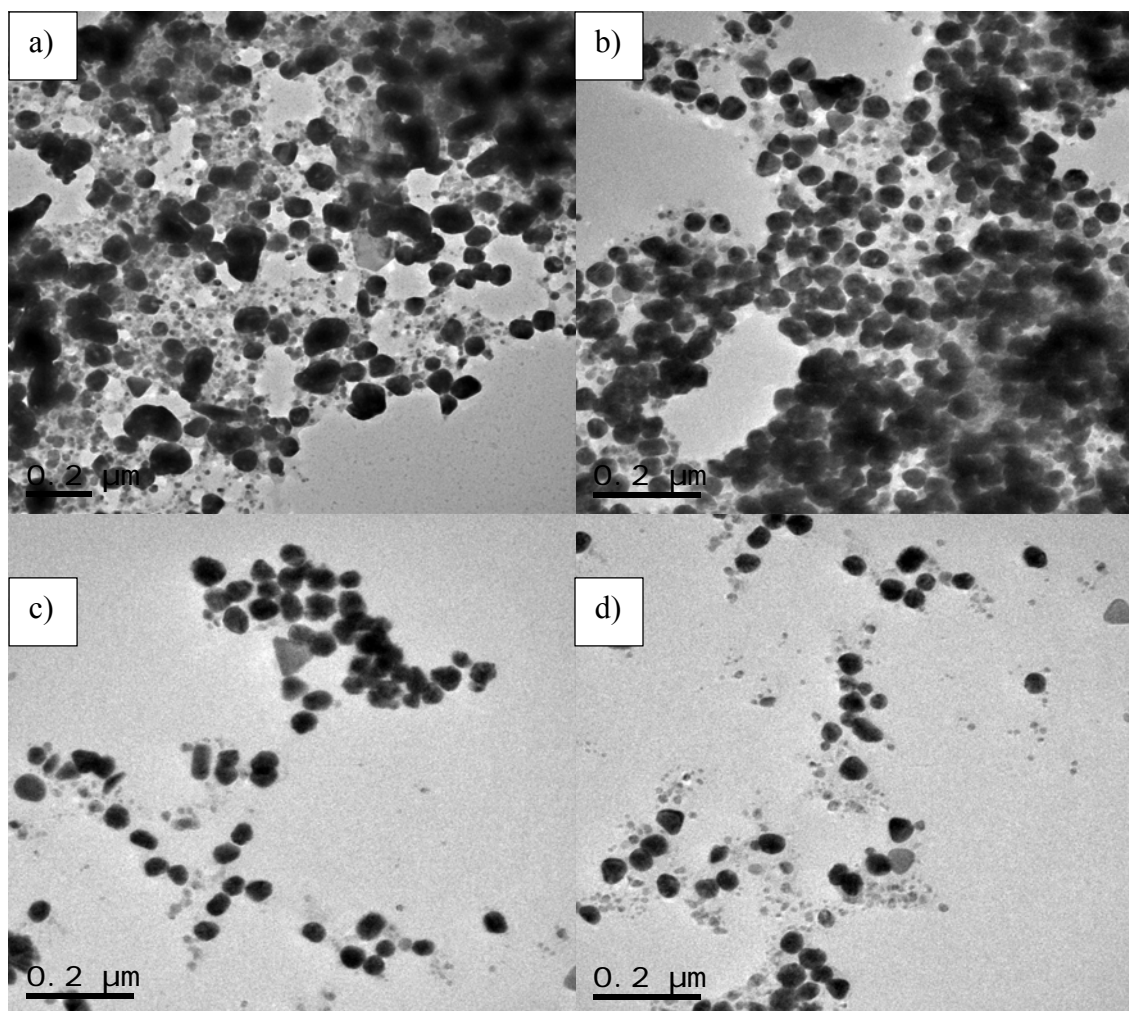
Como se observó en los resultados, el tamaño de las partículas tiene una amplia distribución debido, principalmente, a la gran cantidad de diferentes compuestos orgánicos presentes en los extractos, lo cual favorece a la existencia de diversos mecanismos de reducción y estabilización, conllevando a la obtención de nanopartículas con tamaños y morfologías diferentes. Aun cuando se evaluaron diversas variables, tales como temperatura, volumen y concentración de reactivos, no fue posible tener un completo control de las características de las nanopartículas, por lo que se realizó una selección que consistió en centrifugar la muestra con la mayor cantidad de nanopartículas bimetálicas (Ag-Au 9) a diferentes velocidades; los resultados obtenidos se muestran en la figura 3.81. A medida que se incrementa la velocidad, la posición de la banda de absorción se ubica a longitudes de onda menores; para 4000 rpm se encuentra a 544 nm, mientras que para 6000 rpm se ubica en 540 nm y para 8000 rpm está en 536 nm. Finalmente, cuando se centrifugó a 10000 rpm, no se aprecia la banda, por lo que se deduce que no hay nanopartículas. Lo anterior se debe a que para cada velocidad empleada se precipitan nanopartículas de cierto tamaño; para las velocidades menores, solo se precipitan las nanopartículas más grandes, quedando en la muestra solo aquellas que no se afectan por la fuerza de centrifugación.



**Figura 3.81** Espectro de UV-Vis de las nanopartículas bimetálicas plata-oro sintetizadas con 5 ml del extracto de *Aloysia triphylla*, 5 ml de solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  y 15 ml de solución 5 mM de  $\text{HAuCl}_4$ , mostrando el efecto de la velocidad de centrifugación para controlar el tamaño.



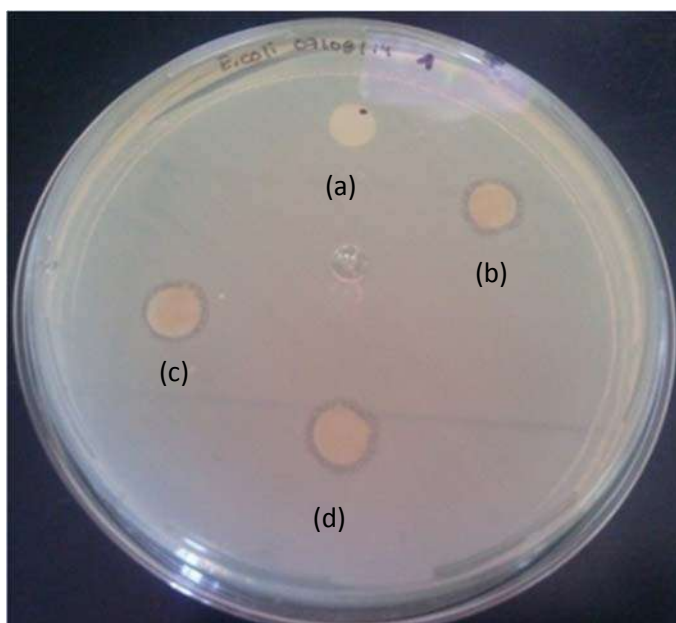
La figura 3.82, que es un análisis de MEB, corrobora los resultados anteriores, mostrando la presencia de nanopartículas de determinados tamaños en función de la velocidad de centrifugación empleadas. Cuando se empleó una velocidad de 4000 rpm (figura 3.82a), se observan nanopartículas de diversos tamaños, todas menores a 80 nm. A medida que se incrementa la velocidad, se aprecia un tamaño promedio menor; además los rangos de tamaño se vuelven más estrechos. De esta manera en la figura 3.82d, correspondiente a una velocidad de 10000 rpm, se observan nanopartículas de 10 nm. Con estos resultados se demuestra una metodología adecuada para obtener nanopartículas con rangos de tamaño estrechos, las cuales pueden ser utilizadas en diversas aplicaciones dependiendo del tamaño adecuado para cumplir ciertas funciones.



**Figura 3.82** Análisis de MET mostrando el tamaño de las nanopartículas después de centrifugar las muestras a las diferentes velocidades: a) 4000 rpm, b) 6000 rpm, c) 8000 rpm y d) 10000 rpm.

### 3.3 Propiedades antibacteriales de las nanopartículas de plata sintetizadas con extractos de plantas

La capacidad antibacterial de las AgNps sintetizadas mediante los diferentes extractos mencionados en las secciones anteriores, contra la bacteria *E. coli*, fue evaluada por medio del método de difusión de disco. La figura 3.83 es una imagen representativa de dicho método, el cual se llevó a cabo exactamente igual para todos los extractos. El disco marcado como (a) contiene únicamente el extracto y se denomina disco de control; el objetivo de este disco es determinar si el extracto empleado muestra alguna capacidad antibacterial. En el presente estudio, ninguno de los extractos utilizados mostró actividad antibacterial. Los tres discos restantes contienen la misma muestra con nanopartículas de plata, en el cual fue medido el círculo de inhibición formado. Este procedimiento se realizó para las nanopartículas sintetizadas con extractos de *Agastache mexicana*, *Tecoma stans*, *Ficus carica*, *Salvia microphylla* Kunth, *Tamarix gallica*, *Eriobotrya japónica* y *Aloysia triphylla*.



**Figura 3.83** Análisis de difusión de disco para evaluar la capacidad antibacterial de las nanopartículas de plata en contra de *E. coli*, empleando cuatro discos que contienen: a) extracto de la planta, b), c), d) nanopartículas de plata.

La tabla 3.1 muestra los resultados resumidos de los círculos de inhibición formados alrededor de los discos que contienen las nanopartículas. Cabe señalar, que en cada caso se utilizó la muestra en la que se obtuvieron las mejores características, tales como concentración, tamaño y forma. Como puede observarse, los resultados son muy similares, obteniendo la menor zona de inhibición cuando se utilizó el extracto de *Ficus carica* y *Tamarix gallica*, cuyo valor fue de 9 mm. Por otro lado, las nanopartículas obtenidos con el extracto de *Aloysia triphylla* mostró la mayor zona de inhibición, con un valor de 10.3 mm. Estos resultados confirman la capacidad antibacterial de las nanopartículas de plata, la cual es menor a la mostrada en la investigación realizada por Kathiravan y col [173]. Sin embargo, son muy similares a las reportadas por Miri y col, quienes evaluaron la capacidad antibacterial contra varias bacterias, obteniendo en todos los casos una zona de inhibición de 9.5 mm [174]. La actividad antibacterial de las nanopartículas depende directamente de la concentración, tamaño y forma de las mismas. Es por esta razón que las nanopartículas de plata sintetizadas con el extracto de *Aloysia triphylla* mostraron la mejor actividad antibacterial, ya que, como se observó en la caracterización, se obtuvieron una gran cantidad de nanopartículas de tamaño homogéneo y forma esférica. El mecanismo del efecto antibacterial de las AgNps no se conoce de forma exacta. Sin embargo hay estudios que sugieren que las nanopartículas de plata pueden atacar la superficie de la membrana celular de las bacterias, destruyendo la permeabilidad y afectando sus funciones de respiración [107]. También es posible que las nanopartículas de plata, no solo interactúen con la membrana celular, sino que puedan penetrar en la bacteria. Ambos mecanismos dan como resultado la muerte de las células bacterianas [175].

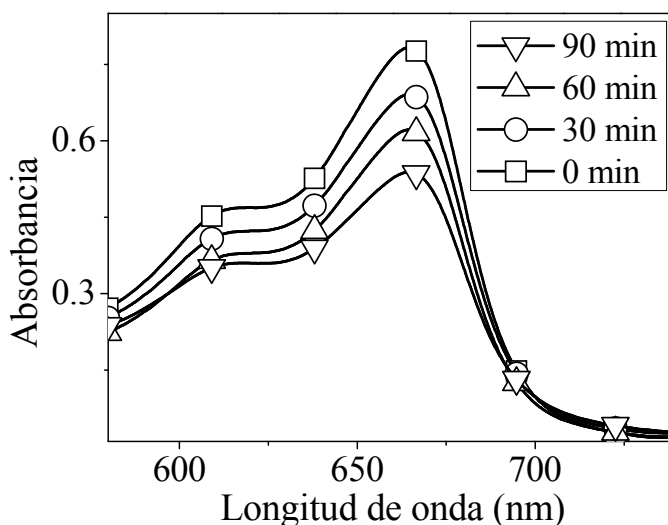
**Tabla 3.1** Zona de inhibición mostrada por las nanopartículas de plata, sintetizadas con diferentes extractos, en contra de la bacteria *E. coli*.

Extracto de planta	Zona de inhibición (mm)
<i>Agastache mexicana</i> ,	9.3
<i>Tecoma stans</i>	9.2
<i>Ficus carica</i>	9
<i>Salvia microphylla Kunth</i>	9.5
<i>Tamarix gallica</i>	9.8

<i>Eriobotrya japónica</i>	9.8
<i>Aloysia triphylla</i>	10.3

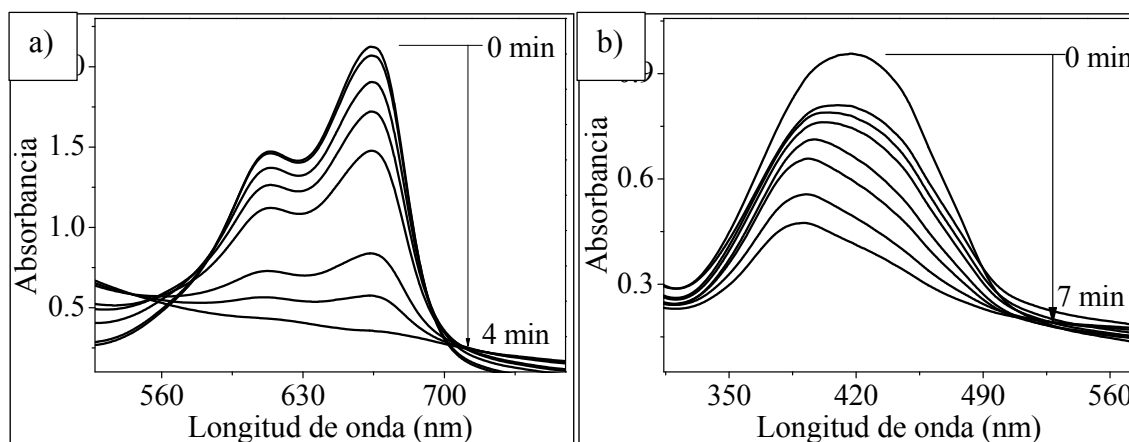
### 3.4 Propiedades catalíticas de las nanopartículas sintetizadas con extractos de plantas

Las AgNps tienen propiedades catalíticas y pueden ser utilizadas en la reducción o degradación de varios compuestos. La figura 3.84 muestra los espectros de UV-Vis de la actividad catalítica de las nanopartículas de plata en la degradación de azul de metileno; en este caso se emplearon las obtenidas con el extracto de *Eriobotrya japónica*. El azul de metileno emite dos bandas de absorción, debido al fenómeno de resonancia de plasmón superficial (SPR), ubicadas en 615 nm y 663 nm, cuya intensidad depende de la concentración del compuesto. Por lo tanto, el análisis consiste en mezclar el azul de metileno con las AgNps y monitorear la banda de absorción del solvente. Como se puede observar después de 30 min, las bandas del azul de metileno disminuyen hasta 90 min donde la intensidad de las bandas es de aproximadamente el 50 %.



**Figura 3.84** Análisis de UV-Vis mostrando la actividad catalítica de las nanopartículas de plata en la degradación de azul de metileno empleando 5 ml extracto de *Eriobotrya japónica* y 10 ml de solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

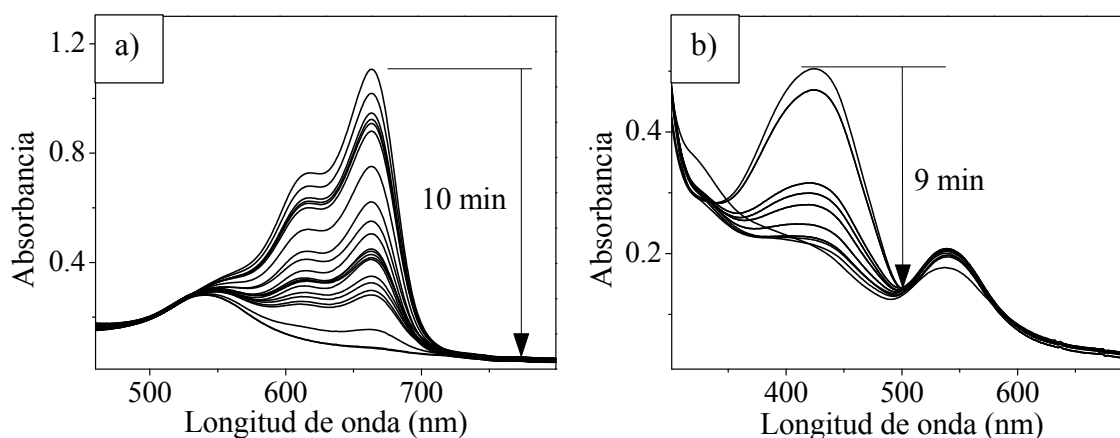
Con los resultados anteriores se demuestra la actividad catalítica de las AgNps, sin embargo, la degradación del azul de metileno es lenta. Esta reacción puede acelerarse mediante el uso de  $\text{NaBH}_4$ , tal como ha sido reportado en varios trabajos [52]. El  $\text{NaBH}_4$  no toma lugar en la reacción, su función es incrementar la velocidad de donación de electrones de las nanopartículas hacia el azul de metileno para llevar a cabo la reducción. La figura 3.85 muestra los espectros de UV-Vis para la degradación de azul de metileno (figura 3.85a) y naranja de metilo (figura 3.85b). Para este caso se agregaron 0.1 ml de solución de  $\text{NaBH}_4$  0.01 M y se realizó un espectro cada 0.5 min. Como puede observarse en la figura 3.85a, correspondiente a la degradación de azul de metileno, la banda disminuye conforme transcurre el tiempo hasta desaparecer por completo después de 4 min, donde no hay evidencia de ninguna de las bandas correspondientes al azul de metileno. Por otra parte, la figura 3.85b muestra la degradación de naranja de metilo, el cual muestra una banda de absorción centrada en el rango de 460-465 nm. En el presente estudio dicha banda se ubica en 462 nm y su intensidad disminuye a medida que pasa el tiempo, teniendo una completa reducción en 7 min, tiempo en que no hay evidencia de la banda de absorción. Otra evidencia de la completa degradación del naranja de metilo es la aparición de una banda de absorción en 425 nm, que corresponde a las AgNps contenidas en la misma muestra.



**Figura 3.85** Análisis de UV-Vis mostrando la actividad catalítica de las nanopartículas de plata en la degradación de: a) azul de metileno y b) naranja de metilo, empleando 5 ml del extracto de *Aloysia triphylla* y 10 ml de solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

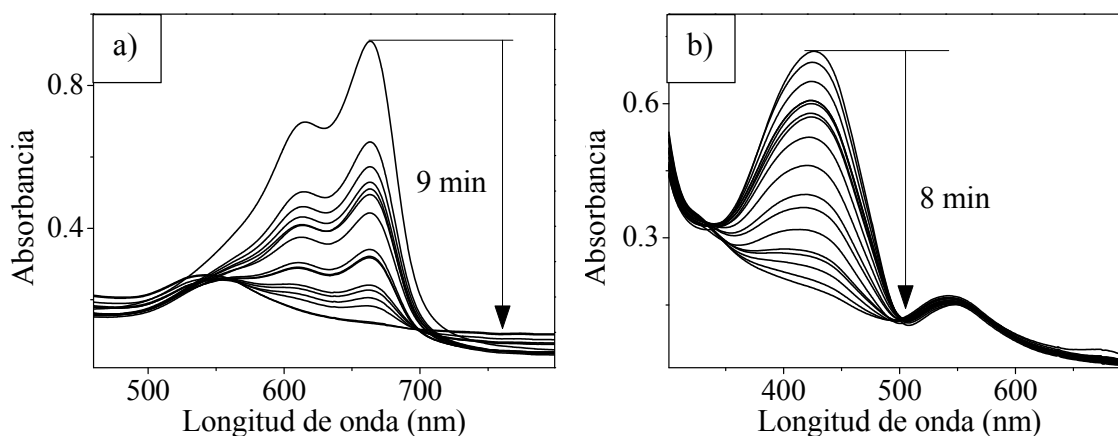
De acuerdo a Joseph y col, mientras el naranja de metilo está presente, la banda de las nanopartículas se encuentra cubierta por la del solvente orgánico [114]. Cabe señalar, que en ambos estudios las muestras cambian de color hasta quedar transparentes, lo cual confirma la degradación de los dos compuestos en tiempos pequeños, comparados con los reportados en otros trabajos [59, 146].

Por otra parte, las AuNPs también han sido empleadas en la degradación de solventes orgánicos debido a sus propiedades catalíticas [72, 77, 167]. La figura 3.86 muestra los resultados de UV-Vis al emplear las AuNPs, sintetizadas con el extracto de *Aloysia triphylla*, para degradar azul de metileno y naranja de metilo. La figura 3.86a corresponde a la degradación de azul de metileno, el cual muestra dos bandas situadas en 616 y 664 nm. La intensidad de las bandas disminuyen conforme avanza el tiempo; de esta forma las bandas desaparecen por completo después de 10 min, tiempo en el cual el azul se degrada por completo y únicamente se observa la banda correspondiente a las AuNPs. Para el caso del naranja de metilo, se aprecia un comportamiento similar, donde la banda ubicada en 425 nm disminuye en intensidad hasta desaparecer después de 9 min. Debido a que la posición de la banda del naranja de metilo (425 nm) es muy diferente a la de las nanopartículas de oro (538 nm), esta última se alcanza a observar en todos los espectros. Estos resultados son mejores que los reportados en varios trabajos [77, 176].



**Figura 3.86** Análisis de UV-Vis mostrando la actividad catalítica de las nanopartículas de oro en la degradación de: a) azul de metileno y b) naranja de metilo, empleando 5 ml del extracto de *Aloysia triphylla* y una solución 10 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

Finalmente, la actividad catalítica de las nanopartículas bimetálicas sintetizadas con el extracto de *Aloysia triphylla* también fue evaluada. Las figura 3.87a y 3.87b muestran los espectros de UV-Vis de la degradación de azul de metileno y naranja de metilo, respectivamente. Para el primero de los solventes se aprecian sus dos bandas típicas centradas en 615 y 664 nm, cuya intensidad comienza a disminuir inmediatamente hasta alcanzar la completa degradación en un tiempo de 9 min. Por otro lado, resultados similares fueron observados en la degradación de naranja de metilo, el cual presenta una banda en 426 nm que desaparece en aproximadamente 8 min. Debido a que las nanopartículas bimetálicas plata-oro son de tipo núcleo-coraza, en ambos análisis se aprecia la banda de las nanopartículas situada en 540 nm. Los resultados mostrados en este caso son mejores que los obtenidos con nanopartículas de oro, sin embargo, la actividad catalítica depende de varios factores, entre ellos la concentración, tamaño y forma de las nanopartículas empleadas.



**Figura 3.87** Análisis de UV-Vis mostrando la actividad catalítica de las nanopartículas bimetálicas plata-oro en la degradación de: a) azul de metileno y b) naranja de metilo, empleando 5 ml del extracto de *Aloysia triphylla*, 5 ml de solución 5 mM de  $\text{AgNO}_3$  y 15 ml de solución 5 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

Con los resultados anteriores se demuestra la capacidad de las nanopartículas de plata, oro y bimetálicas plata-oro para degradar completamente solventes como el azul de metileno y el naranja de metilo. Sin embargo, se debe aclarar que los resultados de la actividad catalítica mediante nanopartículas de plata fueron ligeramente mejores, comparados con los del oro y las nanopartículas bimetálicas, lo que puede atribuirse al tamaño promedio, forma homogénea y

distribución de tamaños de las nanopartículas. Se ha reportado que algunos extractos poseen propiedades catalíticas, para lo cual se llevó a cabo el mismo análisis con el extracto de las plantas usadas y los solventes, sin embargo, en ningún caso se observó que las bandas disminuyeran en intensidad, deduciendo que las únicas responsables de dicha degradación son las nanopartículas mono y bimetálicas. De acuerdo con Tahir, la degradación de este tipo de compuestos por medio de nanopartículas se debe a los radicales generados por electrones con una alta energía. Este nivel de energía se obtiene debido a que los electrones de valencia de las nanopartículas son golpeados por la luz. Posteriormente, estos electrones son emitidos para llevar a cabo la reducción del solvente orgánico [52].

### **3.5 Discusión general**

Las nanopartículas de plata fueron sintetizadas de manera exitosa empleando extractos de siete diferentes plantas típicas del estado de Michoacán, las cuales tienen aplicación en la medicina tradicional. La concentración del extracto juega un papel importante, ya que al emplear una mayor cantidad de planta se incrementan los compuestos presentes en el extracto. Sin embargo, en algunos casos no se obtuvieron resultados favorables para la mayor concentración del extracto; esto se debe a la gran cantidad de compuestos presentes en las plantas, algunos de los cuales pueden retardar o inhibir la reducción y/o estabilización de las nanopartículas. El incremento de la concentración de la sal precursora ( $\text{AgNO}_3$ ) resultó en la síntesis de mas nanopartículas con tamaño y forma homogéneos; lo anterior sucedió siempre y cuando el extracto utilizado contenga suficientes agentes reductores y estabilizadores ya que si no es así, los resultados muestran un incremento en el tamaño de las partículas. Finalmente, el volumen del extracto se varió de 1 a 5 ml, obteniendo los mejores resultados, en la mayoría de los casos, al emplear la mayor cantidad. Las mejores características de las nanopartículas obtenidas con cada extracto se muestran en la tabla 3.2.



**Tabla 3.2** Características de las nanopartículas de plata sintetizadas con extractos de diferentes plantas

PLANTA	MORFOLOGÍA	TAMAÑO (nm)
<i>Agastache Mexicana</i>	Esféricas, hexagonales e irregulares	10 - 80
<i>Tecoma stans</i>	Esféricas e irregulares	10 - 50
<i>Ficus carica</i>	Esféricas e irregulares	7 - 20
<i>Salvia microphylla Kunth</i>	Esféricas	8 - 30
<i>Tamarix gallica</i>	Esféricas	5 - 40
<i>Eriobotrya japónica</i>	Esféricas y triangulares	15 -20
<i>Aloysia triphylla</i>	Esféricas	5 - 30

Otro parámetro evaluado en algunos casos fue la temperatura de la reacción. La tabla 3.3 muestra las características de las nanopartículas de plata sintetizadas con los extractos de *Eriobotrya japónica* y *Aloysia triphylla*. Cabe señalar que al incrementar la temperatura de la reacción se sintetizaron más nanopartículas, sin embargo se obtuvieron distribuciones bimodales. Lo anterior se debe a la formación lenta de una gran cantidad de núcleos seguida de un crecimiento lento con lo cual se favorece la formación de partículas grandes las cuales crecen a expensas de nanopartículas pequeñas que se siguen formando. En la síntesis verde, la distribución del tamaño depende de los compuestos provenientes del extracto, los cuales pueden reaccionar e incluso descomponerse con el incremento de la temperatura.

**Tabla 3.3** Distribución de tamaño de las nanopartículas de plata en función de la temperatura de la reacción.

PLANTA	TEMPERATURA (°C)	TAMAÑO (nm)
<i>Eriobotrya japónica</i>	50	10 – 25
		85 - 100
	75	6 – 18
		47 – 76
	95	15 – 20
		80 - 95

<i>Aloysia triphylla</i>	50	7 – 12 15 - 25
	75	5 – 15 25 - 40
	95	10 – 15 25 - 30

Debido al poco control en las características de las nanopartículas obtenidas, se utilizó alcohol etílico para obtener el extracto de *Eriobotrya japónica*, con el objetivo extraer diferentes compuestos de la planta. Los resultados mostraron la síntesis de nanopartículas de tamaño y forma homogéneos, sin embargo la cantidad fue muy reducida, en comparación al uso del extracto acuoso.

Las nanopartículas de oro fueron sintetizadas con tres de los extractos que mostraron los mejores resultados en la síntesis de nanopartículas de plata, es decir, *Tamarix gallica*, *Salvia microphylla Kunth* y *Aloysia triphylla*. Las variables evaluadas en este caso fueron la concentración del extracto, la concentración de la solución de H<sub>Au</sub>Cl<sub>4</sub> y la cantidad de extracto. Para el caso en el que se usó el extracto de *Tamarix gallica*, se observó, por medio de UV-Vis, que la concentración ideal de la solución de H<sub>Au</sub>Cl<sub>4</sub> fue de 3 mM ya que la banda de absorción mostro la mayor intensidad y la ubicación a una menor longitud de onda, lo que significa la mayor cantidad de nanopartículas con un tamaño menor. El extracto empleado fue a base de 3 g, ya que el espectro de UV-Vis presentó la mayor intensidad. Finalmente, la cantidad de extracto que mostró los mejores resultados fue 5 ml. Las nanopartículas obtenidas en este caso son de forma esférica y triangular y tienen un rango de tamaño de 30-70 nm. Cuando se empleó el extracto de *Salvia microphylla Kunth* los mejores resultados fueron obtenidos con las siguientes condiciones: una solución 10 mM de H<sub>Au</sub>Cl<sub>4</sub> con 3 ml de extracto obtenido con 2 g de hojas de *Salvia microphylla Kunth*. Las nanopartículas obtenidas son de forma esférica y triangular con un tamaño de 20 a 75 nm. Finalmente, con el extracto de *Aloysia Triphylla* se observó que las nanopartículas presentaron las mejores características con 5 ml del extracto obtenido a base de 3 g y con una solución 10 mM de H<sub>Au</sub>Cl<sub>4</sub>. Las nanopartículas son principalmente esféricas con un tamaño de 20 a 35 nm.

Por otra parte, se evaluaron los extractos de *Salvia microphylla kunt*, *Tamarix gallica* y *Aloysia triphylla* en la síntesis de nanopartículas bimetálicas plata-oro. De acuerdo al análisis de UV-Vis se determinó que el extracto de *Aloysia triphylla* sintetiza una mayor cantidad de nanopartículas, por lo que este extracto fue el único que se usó para evaluar algunas variables. Las nanopartículas bimetálicas plata-oro fueron obtenidas mezclando el extracto con la sal de plata y después de cierto tiempo se adicionó la sal de oro. De acuerdo al análisis de UV-Vis se determinó que las nanopartículas son de tipo aleación. A medida que se incrementó la relación  $\text{HAuCl}_4:\text{AgNO}_3$  se obtuvieron más nanopartículas las cuales tienen un tamaño homogéneo. Otra variable importante fue el tiempo de adición de la solución de  $\text{HAuCl}_4$ , observando el mejor comportamiento para un tiempo de 30 min, ya que para mayores tiempos se obtienen menos nanopartículas y amplias distribuciones de tamaño. Las nanopartículas son en su mayoría esféricas con un tamaño promedio de 32 nm. Finalmente, el extracto de *Aloysia triphylla* mostró cierta capacidad para ordenar las nanopartículas y, además se observaron estructuras alargadas de  $\text{AgCl}$  y nanopartículas  $\text{Ag-Au}$  que se encuentran adheridas en la superficie. Los resultados sugieren que el cloruro de plata se forma cuando la solución de  $\text{HAuCl}_4$  es adicionada, para posteriormente servir de sustrato para que las nanopartículas bimetálicas crezcan y se estabilicen con la ayuda de los compuestos orgánicos, los cuales encapsulan tanto a las nanopartículas como a las nanoestructuras formadas. La capacidad de ciertos extractos para ordenar y formar estructuras de diversas formas ya ha sido reportada anteriormente.

Debido a la presencia de una gran cantidad de compuestos orgánicos, provenientes de los extractos, fue complicado el control de las características de las nanopartículas, tales como tamaño y forma. Por lo anterior, se llevó a cabo un proceso de centrifugación a las nanopartículas bimetálicas, con la finalidad de controlar y/o seleccionar el tamaño de las nanopartículas. Los resultados muestran que a medida que se varía la velocidad, se precipitan las partículas de mayor tamaño y las de menor tamaño continúan en la solución.

La capacidad antibacterial de las nanopartículas de plata, sintetizadas con los diferentes extractos, fue evaluada por medio del método de difusión de disco. Los resultados mostraron que las nanopartículas obtenidas con el extracto de *Aloysia triphylla* generaron una mayor zona de inhibición, de alrededor de 10.3 mm. La actividad antibacterial de las nanopartículas depende

directamente de la concentración, tamaño y forma de las mismas. Es por esta razón que las nanopartículas de plata sintetizadas con el extracto de *Aloysia triphylla* mostraron la mejor actividad antibacteriana, ya que, como se observó en la caracterización, se obtuvieron una gran cantidad de nanopartículas de tamaño homogéneo y forma esférica. Posteriormente, se evaluó la capacidad catalítica de las nanopartículas de plata, oro y bimetalicas plata-oro por medio de la degradación de azul de metileno y naranja de metilo, monitoreando por UV-Vis la disminución de las bandas típicas de cada uno de los solventes. El azul de metileno muestra dos bandas de absorción situadas en 615 nm y 663 nm y el naranja de metilo una situada en 462 nm. Para acelerar la reducción de ambos solventes, se agregaron 0.1 ml de NaBH<sub>4</sub>. Los tiempos a los cuales se obtuvo la completa degradación de los solventes se muestran en la tabla 3.4. Cabe señalar que el tiempo de reducción está en función de la concentración, tamaño y forma de las nanopartículas utilizadas.

**Tabla 3.4** Tiempo de reducción del azul de metileno y naranja de metilo empleando nanopartículas de plata, oro y bimetalicas plata-oro.

	Tiempo de reducción (min)	
	Azul de metileno	Naranja de metilo
AgNPs	4	7
AuNPs	10	9
Ag-Au Nps	9	8

Con todos los resultados obtenidos se comprobó la capacidad de las plantas seleccionadas para reducir las sales de plata y oro y, consecuentemente, sintetizar nanopartículas. Para determinar los compuestos involucrados en el proceso, se realizó un análisis de espectroscopía FT-IR, tanto a los extractos, como a las nanopartículas; comparando ambos espectros se determinaron los grupos funcionales involucrados. A su vez, se realizó una amplia revisión bibliográfica de las plantas y de esta manera, se determinaron los compuestos responsables de la reducción y estabilización de las nanopartículas, los cuales se muestran en la tabla 3.5. Cabe señalar que en algunos casos no existe información suficiente para determinar de forma precisa los compuestos involucrados en el proceso.

**Tabla 3.5** Compuestos orgánicos involucrados en la síntesis de nanopartículas.

Planta	Compuestos reductores y/o estabilizadores
<i>Agastache mexicana</i>	Quercetin y hesperitin
<i>Tecoma stans</i>	Tecomina y tecostatina
<i>Ficus carica</i>	Flavonoides y fenoles
<i>Salvia microphylla Kunth</i>	Compuestos fenólicos
<i>Tamarix gallica</i>	Ácido gálico y ácido elágico
<i>Eriobotrya japónica</i>	Ácido cafeico, ácido ferúlico y quercetin
<i>Aloysia triphylla</i>	Geranial, neral y espatulenol

## CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES

- 1) Se caracterizaron los extractos de las diferentes plantas utilizadas y se determinaron la presencia de ciertos compuestos orgánicos capaces de actuar como agentes reductores, como compuestos fenólicos y flavonoides. La concentración de estos compuestos depende de las condiciones experimentales empleadas, para lo cual se evaluó la temperatura, tiempo de permanencia, cantidad de planta y tipo de solvente. Previamente se realizó una revisión amplia de la composición química de las plantas seleccionadas, todas ellas con propiedades antioxidantes, es decir, con capacidad reductora.
- 2) Se sintetizaron nanopartículas monometálicas de plata empleando soluciones de  $\text{AgNO}_3$  como sal precursora y extractos de nueve diferentes plantas que fueron *Tamarix gallica*, *estafiate*, *Aloysia triphylla*, *Salvia microphylla Kunth*, *Eriobotrya japónica*, *Taraxacum officinale*, *Ficus carica*, *Agastache Mexicana* y *Tecoma stans*. Dos de las plantas, *estafiate* y *Taraxacum officinale*, no mostraron capacidad para reducir los iones de plata; con todos los demás extractos se sintetizaron nanopartículas de plata de diferentes formas y tamaños. Los mejores resultados fueron obtenidos con los extractos de *Tamarix gallica*, *Aloysia triphylla*, *Salvia microphylla Kunth*, *Eriobotrya japónica*. En el caso de las nanopartículas de oro, se utilizaron soluciones de  $\text{HAuCl}_4$  como sal precursora y los extractos de *Tamarix gallica*, *Aloysia triphylla*, *Salvia microphylla Kunth*, los cuales mostraron capacidad para sintetizar nanopartículas de oro. Finalmente, el extracto de *Aloysia triphylla* mostró los mejores resultados para sintetizar nanopartículas plata-oro, tipo núcleo-coraza.
- 3) Se caracterizaron las muestras por medio de espectroscopía UV-Vis, comprobando la síntesis de nanopartículas con la aparición de una banda de absorción debida al fenómeno de resonancia de plasmón superficial que presentan este tipo de materiales. Las nanopartículas de plata mostraron esta banda entre 420 y 470 nm, mientras que las de oro entre 530 y 570 nm. Además se demostró que las nanopartículas bimetálicas plata-oro eran de tipo núcleo-coraza ya que la banda de absorción generada en estas muestras se

ubicó en longitudes de onda correspondientes a las nanopartículas de oro, lo que significa que este elemento es el que se encuentra en la superficie de las partículas.

- 4) Las características de las nanopartículas, como concentración, forma, tamaño y dispersión se determinaron por MEB y MET. Las nanopartículas de plata obtenidas con los extractos de *Ficus carica*, *Agastache Mexicana* y *Tecoma stans* tienen diversas morfologías, tales como esféricas, triangulares e irregulares; además, se observaron cierta aglomeración entre ellas. El extracto de *Tamarix gallica* mostró excelentes resultados ya que se obtuvo una gran concentración de nanopartículas, buena dispersión entre ellas, todas de forma esférica y con un rango de tamaño de 5-40 nm. Con el extracto de *Aloysia triphylla* se observaron resultados similares, es decir, una gran cantidad de nanopartículas de forma esférica; en este caso el rango de tamaño fue de 5-30 nm. Con el extracto de *Salvia microphylla Kunth* se sintetizaron una alta concentración de nanopartículas que oscilan entre 8 y 30 nm, con una dispersión adecuada. La morfología es, en su mayoría, esférica con algunas formas irregulares. Finalmente, el extracto de *Eriobotrya japónica* se sintetizaron nanopartículas de forma esférica e irregular y con un tamaño entre 5 y 47 nm. En lo que se refiere a la síntesis de nanopartículas de oro, se utilizaron extractos de las plantas *Tamarix gallica*, *Aloysia triphylla* y *Salvia microphylla Kunth*. Con la primera planta se obtuvieron una gran densidad de nanopartículas de morfologías triangulares y esféricas que tienen un tamaño entre 30 y 70 nm. Las nanopartículas obtenidas con el extracto de *Aloysia triphylla* tienen dos morfologías que son esférica y triangular. Las nanopartículas esféricas se encuentran en gran cantidad y mayor proporción, teniendo un tamaño entre 20 y 35 nm; mientras que las nanopartículas triangulares son pocas y tienen un mayor tamaño que oscila entre 80 y 120 nm. Finalmente, con el uso del extracto de *Salvia microphylla Kunth*, se sintetizó una menor cantidad de nanopartículas, las cuales tienen formas variables, destacando las esféricas, triangulares e irregulares; El rango de tamaño es de 20 a 75 nm, sin embargo las nanopartículas se encuentran en pequeños aglomerados.

Por otra parte, las nanopartículas bimetálicas fueron sintetizadas con los extractos de *Salvia microphylla Kunth*, *Tamarix gallica* y *Aloysia triphylla*. Sin embargo, esta última

planta fue la que mejores resultados mostro, por lo que únicamente se utilizó el extracto de *Aloysia triphylla* para sintetizar este tipo de nanopartículas. Los resultados mostraron que las mejores condiciones fueron el uso de una relación 1:3 en volumen de las soluciones precursoras  $\text{AgNO}_3:\text{HAuCl}_4$ . Además, el tiempo de espera óptimo para que crezcan las nanopartículas de plata y agregar la solución de  $\text{HAuCl}_4$  fue de 30 min. Las nanopartículas bimetálicas obtenidas fueron de forma esférica con una estrecha distribución de tamaño con un tamaño promedio de 32 nm. Además, se lograron sintetizar formas alargadas nanoestructuradas, es decir, consistentes de nanopartículas bimetálicas. Dichas nanoestructuras están conformadas por una base o sustrato de  $\text{AgCl}$  a lo largo del cual se depositan las nanopartículas sintetizadas. La forma alargada, de aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ , se atribuye a las biomoléculas del extracto de *Aloysia triphylla*, que permite el crecimiento preferencial en ciertas direcciones, hasta conseguir este tipo de arreglos. La formación de  $\text{AgCl}$  se atribuye a la presencia del cloro proveniente de la sal de oro, el cual reacciona rápidamente con la plata para formar dicho compuesto.

- 5) Se evaluaron diferentes variables en la síntesis de nanopartículas. La concentración del extracto mostró los mejores resultados con 2 g de planta. Para concentraciones menores no se extraen suficientes agentes reductores y estabilizadores ya que se sintetizó una baja concentración de nanopartículas con una amplia distribución de tamaño y diferentes formas. Por otro lado, para concentraciones mayores, se extraen algunos compuestos que disminuyen la eficiencia de la reacción, obteniendo nanopartículas de gran tamaño de formas irregulares. Otra de las variables evaluadas fue la temperatura de la reacción; con el incremento de la temperatura, se favorece la síntesis de una mayor cantidad de nanopartículas, sin embargo no se logró tener un control adecuado y en todos los casos se observaron distribuciones de tamaño bimodales. Además, no fue posible detener la reacción, por lo que se prolongó hasta varios días hasta agotarse los reactivos, conllevando a un crecimiento excesivo de ciertas partículas por medio de la maduración Ostwald. Finalmente, al incrementar la cantidad del extracto se mejoraron las características de las nanopartículas tales como tamaño y forma; además, se incrementó la cantidad de partículas lo cual se debe a la existencia de una mayor cantidad de agentes reductores y estabilizadores, provenientes de las plantas utilizadas.



- 6) Se sugirieron los compuestos, provenientes de cada una de las plantas, responsables de la reducción y estabilización de las nanopartículas monometálicas de oro y plata y bimetálicas plata oro. Lo anterior se realizó por medio de una amplia investigación bibliográfica acerca de las plantas y de los compuestos orgánicos de mayor concentración que tuvieran capacidad reductora. Por otro lado, se analizaron todos los extractos por espectroscopía FT-IR, cuyos resultados arrojaron las bandas correspondientes a los enlaces característicos de los compuestos fenólicos y flavonoides, responsables de la síntesis de las nanopartículas. Relacionando estos resultados con la revisión bibliográfica se establecieron los agentes reductores y estabilizadores de cada planta: geranial, neral y espatulenol para *Aloysia triphylla*, ácido caféico y ferúlico para *Eriobotrya japónica*, ácido gálico y elágico para *Tamarix gallica*, varios compuestos fenólicos para *Salvia microphylla kunth*, compuestos fenólicos y flavonoides para *Ficus carica*, tecomina y tecostatina para *Tecoma stans*, quercetin y hesperitin para *Agastache mexicana*.
- 7) Se evaluaron las propiedades antibacteriales de las nanopartículas de plata utilizando el método de difusión de disco. Todas las nanopartículas de plata sintetizadas con los diferentes extractos mostraron propiedades antibacteriales al inhibir el crecimiento de la bacteria *E. coli*. Los mejores resultados fueron obtenidos con las nanopartículas de plata sintetizadas con el extracto de *Aloysia triphylla*, ya que en este caso se obtuvieron una gran concentración de nanopartículas de tamaño homogéneo y forma esférica, características de las cuales depende la actividad antibacterial de las nanopartículas. En este caso la zona de inhibición fue de 10.3 mm, siendo el mayor valor observado.
- 8) Las nanopartículas monometálicas de plata y oro y bimetálicas plata-oro exhibieron propiedades catalíticas para reducir o degradar solventes orgánicos, tales como azul de metileno y naranja de metilo. El tiempo de degradación fue reducido con el uso de  $\text{NaBH}_4$ , el cual no toma lugar en la reacción sino que actúa como catalizador. Las nanopartículas de plata redujeron el azul de metileno en 4 min, mientras que el naranja de metilo fue reducido por completo en 7 min. Las nanopartículas de oro tardaron 10 y 9 min en degradar completamente el azul de metileno y el naranja de metilo, respectivamente.

Finalmente, los resultados fueron muy similares para el caso de las nanopartículas bimetálicas, ya que el azul de metileno se redujo en 9 min y el naranja de metilo en 8 min.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sahoo S, Parveen S, Panda J, *The present and future of nanotechnology in human health care*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. **3**, 20-31, 2007.
2. Ashby M F, Ferreira P J, Schodek D L, *Nanomaterials, Nanotechnologies and Design*. Elsevier, ed. Butterworth-Heinemann. 2009, Oxford, UK.
3. Thakkar K N, Mhatre S S, Parikh R Y, *Biological synthesis of metallic nanoparticles*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. **6**, 257-262, 2010.
4. Priyanka G, Brian P, David W B, Wenjie H, William P J, Anne J A, *Antimicrobial activities of commercial nanoparticles against an environmental soil microbe, Pseudomonas putida KT2440*. Journal of Biological Engineering. **3**, 1-13, 2009.
5. Nagarajan, P. ,V. Rajagopalan, *Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles-an antimicrobial study*. Journal of Science and Technology of Advanced Materials. **9**, 03-04, 2008.
6. Hosokawa M, Nogi K, Naito M, Yokoyama T, *NANOPARTICLE TECHNOLOGY HANDBOOK*. Elsevier. 2007, Oxford, UK.
7. Cao G, *Nanostructures and Nanomaterials. Synthesis, Properties and Applications*. 2004: Imperial College Press.
8. Wada N, Chem. Eng. **9**, 17-21, 1984.
9. Takashige M ,Nakamura T, *Investigation of Amorphous State of PbTiO<sub>3</sub> and Its Crystallization Process*. Japanese Journal of Applied Physics. **20**, 43-46, 1981.
10. Kurokawa Y ,Hosoya Y, Surface. **34**, 100-106, 1996.
11. Niihara K, *New design concept of structural ceramics*. Journal of the Ceramic Society of Japan. **99**, 974-982 1991.
12. Cushing B L, Kolesnichenko V L, O'Connor C J, *Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles*. Chemical Reviews. **104**(9), 3893-3946, 2004.
13. Stefan S, *Nanotechlogy: Technical Basics and Applications*. European Coatings Tech Files, ed. V. Network. 2008, Hannover, Germany.
14. Tolaymat T M, El-Badawy A M, Genaidy A, Scheckel K G, Luxton T P, Suidan M, *An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticles in synthesis and applications: A systematic review and critical appraisal or peer-reviewed*

- scientific papers. Science of the Total Environment* Science of the Total Environment. **408**, 999-1006, 2010.
15. Varner K, El-Badawy A, Feldhake D, Venkatapathy R, *State of the Science Literature Review: Everything Nanosilver and More*, in *Scientific, Technical, Research, Engineering and Modeling Support Final Report.*, U.S. Environmental Protection Agency: Washington, DC. 2010
  16. Hedberg J, Lundin M, Lowe T, Blomberg E, Wold S, Wallinder I O, *Interactions between surfactants and silver nanoparticles of varying charge*. *Journal of colloid and interface science*. **369**(1 ), 193-201, 2012.
  17. Pillai Z S ,Kamat P V, *What Factors Control the Size and Shape of Silver Nanoparticles in the Citrate Ion Reduction Method?* *The Journal of Physical Chemistry B*. **108**, 945-951, 2004.
  18. Tan Y, Li Y, Zhu D, *Preparation of silver nanocrystals in the presence of aniline*. *Journal of colloid and interface science*. **258** (2), 244-251, 2003
  19. Sahoo P K, Kamal S S, Kalyan K, Jagadeesh T, Sreedhar B, Singh A K, Srivastava S K, *Synthesis of silver nanoparticles using facile wet chemical route*. *Defence Science Journal*. **59**, 447-455, 2009.
  20. Pierre-Yves S, Herrera-Urbina R, Duvauchelle N, Vijayakrishnan V, Elhsissen K T, *Preparation of colloidal silver dispersions by the polyol process. Part 1-Synthesis and characterization*. *Journal of Materials Chemistry*. **6**(4), 573-577, 1996.
  21. Bhatte K D, Deshmukh K M, Patil Y P, Sawant D N, Fujita S I, Arai M, Bhanage B M, *Synthesis of powdered silver nanoparticles using hydrogen in aqueous medium*. *Particuology*. **10**(1 ), 140-143, 2012.
  22. Pacioni N L, Borsarelli C D, Rey V, Veglia A V, *Synthetic Routes for the Preparation of Silver Nanoparticles*, in *Silver Nanoparticle Applications: In the Fabrication and Design of Medical and Biosensing Devices*, E.I. Alarcon, M. Griffith, and K.I. Udekwu, Editors. 2015, Springer International Publishing: Cham. p. 13-46.
  23. Goia D ,Matijevic E, *Preparation of Monodispersed Metal Nanoparticles*. *New Journal of Chemistry*. 1203-1215, 1998.

24. Manikam V J, Cheong K Y, Razak K A, *Chemical Reduction methods for synthesizing Ag and Al nanoparticles and their respective nanoalloys*. Materials Science and Engineering B. **176** 187-203, 2011.
25. Shamaila S, Leghari Sajjad A K, Ryma N, Farooqi S A, Jabeen N, Majeed S, Farooq I, *Advancements in nanoparticle fabrication by hazard free eco-friendly green routes*. Applied Materials Today. **5**, 150-199, 2016.
26. Hutchison J E, *Greener nanoscience: a proactive approach to advancing applications and reducing implications of nanotechnology*. ACS Nano. **2**, 395-402, 2008.
27. Sharma D, Kanchi S, Bisetty K, *Biogenic synthesis of nanoparticles: A review*. Arabian Journal of Chemistry. 2015.
28. Ahmad A, Senapati S, Khan M I, Kumar R, Ramani R, Srinivas V, Sastry M, *Intracellular synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant actinomycete, Rhodococcus species*. Nanotechnology. **14** 824-828, 2003
29. Rajesh S, Raja D P, Rathi J M, Sahayaraj K, *Biosynthesis of silver nanoparticles using Ulva fasciata (Delile) ethyl acetate extract and its activity against Xanthomonas campestris pv. malvacearum*. Journal of Biopesticides. **5**, 119-128, 2012.
30. Shivaji S, Madhu S, Singh S, *Extracellular synthesis of antibacterial silver nanoparticles using psychrophilic bacteria*. Process Biochemistry. **46**(9), 1800-1807, 2011.
31. Mukherjee P, Ahmad A, Mandal D, Senapati S, Sainkar S R, Khan M I, Parishcha R, Ajaykumar P V, Alam M, Kumar R, Sastry M, *Fungus-Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Immobilization in the Mycelial Matrix: A Novel Biological Approach to Nanoparticle Synthesis*. Nano Letters. **1**(10), 515-519, 2001.
32. Syed A, Saraswati S, Kundu G C, Ahmad A, *Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus Humicola sp. and evaluation of their cytotoxicity using normal and cancer cell lines*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **114**(0), 144-147, 2013.
33. Huang J, Chen C, He N, Hong J, Lu Y, Qingbiao L, Shao W, Sun D, Wang X H, Wang Y, Yiang X, *Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried Cinnamomum camphora leaf*. Nanotechnology. **18**, 105-106, 2007.

34. G., S., Arockiamary J S, Kumar V G, Govindaraju K, *A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, Sargassum wightii Greville*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. **57**(1), 97-101, 2007.
35. Singh M, Kalaivani R, Manikandan S, Sangeetha N, Kumaraguru A K, *Facile green synthesis of variable metallic gold nanoparticle using Padina gymnospora, a brown marine macroalga*. Applied Nanoscience. **3**(2), 145-151, 2013.
36. Kannan R R, Arumugam R, Ramya D, Manivannan K, Anantharaman P, *Green synthesis of silver nanoparticles using marine macroalga Chaetomorpha linum*. Applied Nanoscience. **3**(3), 229-233, 2013.
37. Gan P P ,Li S F Y, *Potential of plant as a biological factory to synthesize gold and silver nanoparticles and their applications*. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. **11**(2), 169-206, 2012.
38. Mittal A K, Chisti Y, Banerjee U C, *Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts*. Biotechnology Advances. **31**(2), 346-356, 2013.
39. Ahmed M J, Murtaza G, Mehmood A, Bhatti T M, *Green synthesis of silver nanoparticles using leaves extract of Skimmia laureola: Characterization and antibacterial activity*. Materials Letters. **153**, 10-13, 2015.
40. Vijayakumar M, Priya K, Nancy F T, Noorlidah A, Ahmed A B A, *Biosynthesis, characterisation and anti-bacterial effect of plant-mediated silver nanoparticles using Artemisia nilagirica*. Industrial Crops and Products. **41**(0), 235-240, 2013.
41. Subba R Y, Kotakadi V S, Prasad T N V K V, Reddy A V, Sai G D V R, *Green synthesis and spectral characterization of silver nanoparticles from Lakshmi tulasi (Ocimum sanctum) leaf extract*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **103**(0), 156-159, 2013.
42. Das J, Das M P, Velusamy P, *Sesbania grandiflora leaf extract mediated green synthesis of antibacterial silver nanoparticles against selected human pathogens*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **104**(0), 265-270, 2013.
43. Bindhu M R ,Umadevi M, *Synthesis of monodispersed silver nanoparticles using Hibiscus cannabinus leaf extract and its antimicrobial activity*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **101**(0), 184-190, 2013.

44. Raja S, Ramesh V, Thivaharan V, *Green biosynthesis of silver nanoparticles using Calliandra haematocephala leaf extract, their antibacterial activity and hydrogen peroxide sensing capability*. Arabian Journal of Chemistry. **10**(2), 253-261, 2017.
45. Palanisamy S, Rajasekar P, Vijayaprasath G, Ravi G, Manikandan R, Marimuthu Prabhu N, *A green route to synthesis silver nanoparticles using Sargassum polycystum and its antioxidant and cytotoxic effects: An in vitro analysis*. Materials Letters. **189**, 196-200, 2017.
46. Ren Y, Yang H, Wang T, Wang C, *Green synthesis and antimicrobial activity of monodisperse silver nanoparticles synthesized using Ginkgo Biloba leaf extract*. Physics Letters A. **380**(45), 3773-3777, 2016.
47. Ethiraj A S, Jayanthi S, Ramalingam C, Banerjee C, *Control of size and antimicrobial activity of green synthesized silver nanoparticles*. Materials Letters. **185**, 526-529, 2016.
48. Edison T N J I, Lee Y R, Sethuraman M G, *Green synthesis of silver nanoparticles using Terminalia cuneata and its catalytic action in reduction of direct yellow-12 dye*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **161**, 122-129, 2016.
49. Kumar V, Singh D K, Mohan S, Gundampati R K, Hasan S H, *Photoinduced green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of Physalis angulata and its antibacterial and antioxidant activity*. Journal of Environmental Chemical Engineering. **5**(1), 744-756, 2017.
50. Ravichandran V, Vasanthi S, Shalini S, Ali Shah S A, Harish R, *Green synthesis of silver nanoparticles using Atrocarpus altilis leaf extract and the study of their antimicrobial and antioxidant activity*. Materials Letters. **180**, 264-267, 2016.
51. Sánchez G R, Castilla C L, Gómez N B, García A, Marcos R, Carmona E R, *Leaf extract from the endemic plant Peumus boldus as an effective bioproduct for the green synthesis of silver nanoparticles*. Materials Letters. **183**, 255-260, 2016.
52. Tahir K, Nazir S, Li B, Khan A U, Khan Z U H, Ahmad A, Khan F U, *An efficient photo catalytic activity of green synthesized silver nanoparticles using Salvadora persica stem extract*. Separation and Purification Technology. **150**, 316-324, 2015.

53. Suman T Y, Radhika R S R, Kanchana A, Beena E S, *Biosynthesis, characterization and cytotoxic effect of plant mediated silver nanoparticles using Morinda citrifolia root extract*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. **106**, 74-78, 2013.
54. Prabhu D, Arulvasu C, Babu G, Manikandan R, Srinivasan P, *Biologically synthesized green silver nanoparticles from leaf extract of Vitex negundo L. induce growth-inhibitory effect on human colon cancer cell line HCT15*. Process Biochemistry. **48**(2), 317-324, 2013.
55. Rao K J ,Paria S, *Green synthesis of silver nanoparticles from aqueous Aegle marmelos leaf extract*. Materials Research Bulletin. **48**(2), 628-634, 2013.
56. Antony J J, Sithika M A, Joseph T A, Suriyakalaa U, Sankarganesh A, Siva D, Kalaiselvi S, Achiraman S, *In vivo antitumor activity of biosynthesized silver nanoparticles using Ficus religiosa as a nanofactory in DAL induced mice model* Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. **108**, 185-190, 2013.
57. Zayed M F, Eisa W H, Shabaka A A, *Malva parviflora extract assisted green synthesis of silver nanoparticles*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **98**(0), 423-428, 2012.
58. Nasrollahzadeh M, Sajadi S M, Babaei F, Maham M, *Euphorbia helioscopia Linn as a green source for synthesis of silver nanoparticles and their optical and catalytic properties*. Journal of colloid and interface science. **450**, 374-380, 2015.
59. Varadavenkatesan T, Selvaraj R, Vinayagam R, *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, 2016.
60. Annavaram V, Posa V R, Uppara V G, Jorepalli S, Somala A R, *Facile Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Limonia Acidissima Leaf Extract and its Antibacterial Activity*. BioNanoScience. **5**, 97-103, 2015.
61. Noruzi M, Zare D, Davoodi D, *A rapid biosynthesis route for the preparation of gold nanoparticles by aqueous extract of cypress leaves at room temperature*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **94**, 84-88, 2012.
62. Jayaseelan C, Ramkumar R, Rahuman A A, Perumal P, *Green synthesis of gold nanoparticles using seed aqueous extract of Abelmoschus esculentus and its antifungal activity*. Industrial Crops and Products. **45**(0), 423-429, 2013.



63. Kumar K M, Mandal B K, Sinha M, Krishnakumar V, *Terminalia chebula mediated green and rapid synthesis of gold nanoparticles*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **86**, 490-494, 2012.
64. Surveswaran S, Cai Y Z, Corke H, Sun M, *Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants*. Food Chemistry. **102**, 938-953, 2007.
65. Gaware U, Kamble V, Ankamwar B, *Ecofriendly Synthesis of Anisotropic Gold Nanoparticles: A Potential Candidate of SERS Studies*. International Journal of Electrochemistry. **2012**, 6, 2012.
66. Philip D, *Rapid green synthesis of spherical gold nanoparticles using mangifera indica leaf*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **77**(4), 807-810, 2010.
67. Noruzi M, Zare D, Khoshnevisan K, Davoodi D, *Rapid green synthesis of gold nanoparticles using Rosa hybrida petal extract at room temperature*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **79**(5), 1461-1465, 2011.
68. Kaur B, Markan M, Singh M, *Green Synthesis of Gold Nanoparticles from Syzygium aromaticum Extract and Its Use in Enhancing the Response of a Colorimetric Urea Biosensor*. BioNanoScience. **2**(4), 251-258, 2012.
69. Vilas V, Philip D, Mathew J, *Biosynthesis of Au and Au/Ag alloy nanoparticles using Coleus aromaticus essential oil and evaluation of their catalytic, antibacterial and antiradical activities*. Journal of Molecular Liquids. **221**, 179-189, 2016.
70. Ganeshkumar M, Sathishkumar M, Ponrasu T, Dinesh M G, Suguna L, *Spontaneous ultra fast synthesis of gold nanoparticles using Punica granatum for cancer targeted drug delivery*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. **106**(0), 208-216, 2013.
71. Aswathy A S ,Philip D, *Green synthesis of gold nanoparticles using Trigonella foenum-graecum and its size-dependent catalytic activity*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **97**(0), 1-5, 2012.
72. Paul B, Bhuyan , Purkayastha D D, Vadivel S, Dhar S S, *One-pot green synthesis of gold nanoparticles and studies of their anticoagulative and photocatalytic activities*. Materials Letters. **185**, 143-147, 2016.
73. R A B, Cortez-Valadez M, Bueno L O N, Hurtado R B, Rocha-Rocha O, Delgado-Beleño Y, Martinez-Nuñez C E, Serrano-Corrales L I, Arizpe-Chávez H, Flores-Acosta M,

- Vibrational properties of gold nanoparticles obtained by green synthesis.* Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures. **84**, 191-196, 2016.
74. Dhamecha D, Jalalpure S, Jadhav K, *Nepenthes khasiana mediated synthesis of stabilized gold nanoparticles: Characterization and biocompatibility studies.* Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology. **154**, 108-117, 2016.
75. Khademi-Azandehi P, Moghaddam J, *Green synthesis, characterization and physiological stability of gold nanoparticles from Stachys lavandulifolia Vahl extract.* Particuology. **19**, 22-26, 2015.
76. Ahmad T, Irfan M, Bustam M A, Bhattacharjee S, *Effect of Reaction Time on Green Synthesis of Gold Nanoparticles by Using Aqueous Extract of Elaise Guineensis (Oil palm leaves).* Procedia Engineering. **148**, 467-472, 2016.
77. Paul B, Bhuyan B, Dhar P D, Dey M, Dhar S S, *Green synthesis of gold nanoparticles using Pogestemon benghalensis (B) O. Ktz. leaf extract and studies of their photocatalytic activity in degradation of methylene blue.* Materials Letters. **148**, 37-40, 2015.
78. Balasubramani G, Ramkumar R, Krishnaveni N, Pazhanimuthu A, Natarajan T, Sowmiya R, Perumal P, *Structural characterization, antioxidant and anticancer properties of gold nanoparticles synthesized from leaf extract (decoction) of Antigonon leptopus Hook. & Arn.* Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. **30**, 83-89, 2015.
79. Murugan K, Benelli G, Panneerselvam C, Subramaniam J, Jeyalalitha T, Dinesh D, Nicoletti M, Hwang J S, Suresh U, Madhiyazhagan P, *Cymbopogon citratus-synthesized gold nanoparticles boost the predation efficiency of copepod Mesocyclops aspericornis against malaria and dengue mosquitoes.* Experimental Parasitology. **153**, 129-138, 2015.
80. Balasubramani G, Ramkumar R, Krishnaveni N, Sowmiya R, Deepak P, Arul D, Perumal P, *GC-MS analysis of bioactive components and synthesis of gold nanoparticle using Chloroxylon swietenia DC leaf extract and its larvicidal activity.* Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. **148**, 1-8, 2015.
81. Sadeghi B, Mohammadzadeh M, Babakhani B, *Green synthesis of gold nanoparticles using Stevia rebaudiana leaf extracts: Characterization and their stability.* Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. **148**, 101-106, 2015.

82. Shore M S, Wang J, A.C. Johnston-Peck, Oldenburg A L, Tracy J B, *Synthesis of Au (core)/Ag (shell) nanoparticles and their conversion to AuAg alloy nanoparticles*. *Small*. **7**(2), 230-234, 2011.
83. Mondal S, Roy N, Laskar R A, Sk I, Basu S, Mandal D, Begum N A, *Biogenic synthesis of Ag, Au and bimetallic Au/Ag alloy nanoparticles using aqueous extract of mahogany (Swietenia mahogany JACQ.) leaves*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **82**(2), 497-504, 2011.
84. Vijayaraghavan K ,Nalini S P K, *Biotemplates in the green synthesis of silver nanoparticles*. *Biotechnololy Journal*. **5**(10), 1098-1110, 2010.
85. Lukman A I, Gong B, Marjo C E, Roessner U, Harris A T, *Facile synthesis, stabilization, and anti-bacterial performance of discrete Ag nanoparticles using Medicago sativa seed exudates*. *Journal of colloid and interface science*. **353**(2), 433-444, 2011.
86. Castro L, Blázquez M L, González F, Muñoz J A, B. A, *Extracellular biosynthesis of gold nanoparticles using sugar beet pulp*. *Chemical Engineering Journal*. **164**(1), 92-97, 2010.
87. Lin L, Wang W, Huang J, Li Q, Sun D, Yang X, Wang H, He N, Wang Y, *Nature Factory of Silver Nanowires: Plant Mediated Synthesis using Broth of Cassia Fiatula Leaf*. *Chemical Engineering Journal*. **162**, 852-858, 2010.
88. Fiehn O, Kopka J, Trethewey R N, W. L, *Identification of uncommon plant metabolites based on calculation of elemental compositions using gas chromatography and quadrupole mass spectrometry*. *Analytical Chemistry*. **15**(72), 3573-3580, 2000.
89. Rajani P, SriSindhura K, Prasad T N V K V, Hussain O M, Sudhakar P, Latha P, Balakrishna M, Kambala V, Raja R K, *Fabrication of biogenic silver nanoparticles using agricultural crop plant leaf extracts*. In: AIP conference proceedings. 148-153, 2010.
90. Zhan G, Huang J, Lin L, Lin W, Emmanuel K, Li Q, *Synthesis of gold nanoparticles by Cacumen Platycladi leaf extract and its simulated solution: toward the plant-mediated biosynthetic mechanism*. *Journal of Nanoparticle Research*. **13**(10), 4957-4968, 2011.
91. Park J, Cha S H, Cho S, Park Y, *Green synthesis of gold and silver nanoparticles using gallic acid: catalytic activity and conversion yield toward the 4-nitrophenol reduction reaction*. *Journal of Nanoparticle Research*. **18**, 166, 2016.

92. Q Guo, Q Guo, J Yuan, J. Zeng, *Biosynthesis of gold nanoparticles using a kind of flavonol: Dihydromyricetin* Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. **441**, 127-132, 2014.
93. Maddinedi S B, Mandal B K, Maddili S K, *Biofabrication of size controllable silver nanoparticles - A green approach.* Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology. **167**, 236-241, 2017.
94. Narayanan K B ,Sakthivel N, *Phytosynthesis of gold nanoparticles using leaf extract of Coleus amboinicus Lour.* Materials Characterization. **61**(11), 1232-1238, 2010.
95. Philip D ,Unni C, *Extracellular biosynthesis of gold and silver nanoparticles using Krishna tulsi (Ocimum sanctum) leaf.* Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures. **43**(7), 1318-1322, 2011.
96. Zhou Y, Lin W, Huang J, Wang W, Gao Y, Lin L, Li Q, Lin L, Du M, *Biosynthesis of Gold Nanoparticles by Foliar Broths: Roles of Biocompounds and Other Attributes of the Extracts.* Nanoscale Research Letters. **5**(8), 1351 - 1359, 2010.
97. Song J Y, Jang H K, Kim B S, *Biological synthesis of gold nanoparticles using magnolia kobus and diopyros kaki leaf extracts.* Process Biochemistry. **44**(10), 1133-1138, 2009.
98. Panigrahi S, Kundu S, Ghosh S, Nath S, Pal T, *General method of synthesis for metal nanoparticles.* Journal of Nanoparticle Research. **6**(4), 411-414, 2004.
99. Dwivedi A D ,Gopal K, *Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using Chenopodium album leaf extract.* Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. **369**(1-3), 27-33, 2010.
100. Ghodake G S, Deshpande N G, Lee Y P, Jin E S, *Pear fruit extract-assisted room-temperature biosynthesis of gold nanoplates.* Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. **75**(2), 584-589, 2010.
101. Armendariz V, Herrera I, Peralta-Videa J R, Jose-Yacaman M, Troiani H, Santiago P, Gardea-Torresdey J L, *Size controlled gold nanoparticle formation by Avena sativa biomass: use of plants in nanobiotechnology.* Journal of Nanoparticle Research. **6**(4), 377-382, 2004.
102. Sathishkumar M, Sneha K, Yun Y S, *Immobilization of silver nanoparticles synthesized using Curcuma longa tuber powder and extract on cotton cloth for bactericidal activity.* Bioresource Technology. **101**(20), 7958-7965, 2010.

103. Prathna T C, Chandrasekaran N, Raichur A M, Mukherjee A, *Biomimetic synthesis of silver nanoparticles by Citrus limon (lemon) aqueous extract and theoretical prediction of particle size*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. **82**(1), 152-159, 2011.
104. Shukla V K, Singh R P, Pandey A C, *Black pepper assisted biomimetic synthesis of silver nanoparticles*. Journal of Alloys and Compounds. **507**(1), 13-16, 2010.
105. Parashar V, Parashar R, Sharma B, Pandey A C, *Parthenium leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles: a novel approach towards weed utilization*. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. **4**, 45-50, 2009.
106. Rizwan W, Young-Soon K, Amrita M, Soon-Il Y, Hyung-Shik Sh, *Formation of ZnO-micro flowers prepared via solution process and their antibacterial activity*. Journal of Nanoscale Research Letters. **5**, 1675-1681, 2010.
107. Kvítek L, Panáček A, Soukupová J, Kolář M, Večeřová R, Pucek R, Holecová M, Zbořil R, *Effect of Surfactants and Polymers on Stability and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles (NPs)*. The Journal of Physical Chemistry C. **112**(15), 5825-5834, 2008.
108. Sondi I, Sondi B S, *Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria*. Journal of colloid and interface science. **275**, 177-182, 2004.
109. Pal S, Tak Y K, Song J M, *Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli*. Applied and environmental microbiology. **73**(6), 1712-1720, 2007.
110. Wagner V, Dullaart A, Bock A K, Zweck A, *The emerging nanomedicine landscape*. Nature Biotechnology. **24**, 1211-1218, 2006.
111. Paciotti G F, Myer L, Kingston D G I, Ganesh T, Tamarkin L, *Colloidal gold nanoparticles: a versatile platform for developing tumor targeted cancer therapies*. In: Technical proceedings of the 2005 NSTI nanotechnology conference and trade show. 7-10, 2005.
112. Huang X, El-Sayed M A, *Gold nanoparticles: Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy*. Journal of Advanced Research. **1**(1), 13-28, 2010.
113. Krishnaraj C, Jagan E G, Rajasekar S, Selvakumar P, Kalaichelvan P T, Mohan N, *Synthesis of silver nanoparticles using Acalypha indica leaf extracts and its antibacterial*

- activity against water borne pathogens. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* **76**(1), 50-56, 2010.
114. Joseph S ,Mathew B, *Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles and the study on catalytic activity in the degradation of dyes.* Journal of Molecular Liquids. **204**, 184-191, 2015.
115. Rodríguez E, Larios E, Rodríguez C, Plascencia-Villa G, Iñiguez R A, *Study of Methylene Blue Degradation by Gold Nanoparticles Synthesized within Natural Zeolites.* Journal of nanomaterials. 1-10, 2016.
116. Robinson T, McMullan G, Marchant R, Nigam P, *Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative.* Bioresource Technology. **77**, 247-255, 2001.
117. Kundu S, Lau S, Liang H, *Shape-controlled catalysis by cetyltrimethylammonium bromide terminated gold nanospheres, nanorods, and nanoprisms.* The Journal of Physical Chemistry C. **113**(13), 5150-5156, 2009.
118. Pradeep T ,Anshup A, *Noble metal nanoparticles for water purification: a critical review.* Thin Solid Films. **517**(24), 6441-6478, 2009.
119. Tan S, Erol M, Sukhishvili S, Du H, *Substrates with discretely immobilized silver nanoparticles for ultrasensitive detection of anions in water using surface-enhanced Raman scattering.* Langmuir. **24**(9), 4765-4771, 2008.
120. Yao Y, Tian D, Li H, *Cooperative Binding of Bifunctionalized and Click-Synthesized Silver Nanoparticles for Colorimetric Co<sup>2+</sup> Sensing.* ACS Applied Materials & Interfaces. **2**(3), 684-690, 2010.
121. Vilela D, González M C, Escarpa A, *Sensing colorimetric approaches based on gold and silver nanoparticles aggregation: Chemical creativity behind the assay. A review.* Analytica Chimica Acta. **751**(0), 24-43, 2012.
122. Orendorff C J, Gole A, Sau T K, Murphy C J, *Surfaceenhanced Raman spectroscopy of self-assembled monolayers: Sandwich architecture and nanoparticle shape dependence.* Analytical Chemistry. **77**(10), 3261-3266, 2005.
123. Sehrawat A ,Sultana S, *Evaluation of possible mechanisms of protective role of Tamarix gallica against DEN initiated and 2-AAF promoted hepatocarcinogenesis in male Wistar rats.* Life Sciences. **79**, 1456-1465, 2006.

124. Carvalho I S, Cavaco T, Brodelius M, *Phenolic composition and antioxidant capacity of six artemisia species*. Industrial Crops and Products. **33**, 382-388, 2011.
125. Zamorano-Ponce E, Morales C, Ramos D, Sepúlveda C, Cares S, Rivera P, Fernández J, Carballo M A, *Anti-genotoxic effect of Aloysia triphylla infusion against acrylamide-induced DNA damage as shown by the comet assay technique*. Mutation Research. **603**, 145-150, 2006.
126. Carnat A, Carnat A P, Fraisse D, Lamaison J L, *The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea*. Fitoterapia. **70**, 44-49, 1999.
127. Ferreres F, Gomes D, Valentao P, Goncalves R, Pio R, Chagas E A, Seabra R M, Andrade P B, *Improved loquat (Eriobotrya japonica Lindl.) cultivars: Variation of phenolics and antioxidative potential*. Food Chemistry. **114** 1019-1027, 2009.
128. Bylka W, Matlawska I, Franski R, *Essential oil composition of Taraxacum officinale*. Acta Physiologiae Plantarum. **32**, 231-234, 2010.
129. Konyalioglu S, Saglam H, Kivcak B, *a-Tocopherol, Flavonoid, and Phenol Contents and Antioxidant Activity of Ficus carica Leaves*. Pharmaceutical Biology. **43**, 683-686, 2005.
130. Munuswamy H, Thirunavukkarasu T, Rajamani S, Elumalai E K, David E, *A review on antimicrobial efficacy of some traditional medicinal plants in Tamilnadu*. Journal of Acute Disease. 99-105, 2013.
131. Das V, Dash S, Sahoo D C, Mohanty A, *Evaluation of methanolic bark extract of Tecoma stans Linn, for wound healing in albino rats*. International Journal of Pharmacy and Technology. **2**, 735-742, 2010.
132. Ahluwalia V, Kumar J, Sisodia R, Shakil N A, Walia S, *Green synthesis of silver nanoparticles by Trichoderma harzianum and their bio-efficacy evaluation against Staphylococcus aureus and Klebsiella pneumonia*. Industrial Crops and Products. **55**(0), 202-206, 2014.
133. Kumar P P N V, Pammi S V N, Kollu P, Satyanarayana K V V, Shameem U, *Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Boerhaavia diffusa plant extract and their anti bacterial activity*. Industrial Crops and Products. **52**(0), 562-566, 2014.
134. Mariselvam R, Ranjitsingh A J A, Usha R N A, Kalirajan K, Padmalatha C, Mosae S P, *Green synthesis of silver nanoparticles from the extract of the inflorescence of Cocos*

- nucifera* (Family: *Arecaceae*) for enhanced antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. **129**(0), 537-541, 2014.
135. Kumar D A, Palanichamy V, Roopan S M, *Green synthesis of silver nanoparticles using Alternanthera dentata leaf extract at room temperature and their antimicrobial activity*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. **127**(0), 168-171, 2014.
136. Jeeva K, Thiagarajan M, Elangovan V, Geetha N, Venkatachalam P, *Caesalpinia coriaria leaf extracts mediated biosynthesis of metallic silver nanoparticles and their antibacterial activity against clinically isolated pathogens*. *Industrial Crops and Products*. **52**(0), 714-720, 2014.
137. Raman N, Sudharsan S, Veerakumar V, Pravin N, Vithiya K, *Pithecellobium dulce mediated extra-cellular green synthesis of larvicidal silver nanoparticles*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. **96**(0), 1031-1037, 2012.
138. Bindhu M R ,Umadevi M, *Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver nanoparticles*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. **135**(0), 373-378, 2015.
139. Ghaffari-Moghaddam M ,Hadi-Dabanlou R, *Plant mediated green synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using Crataegus douglasii fruit extract*. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. **20**(2), 739-744, 2014.
140. Kanmani P ,Lim S T, *Synthesis and structural characterization of silver nanoparticles using bacterial exopolysaccharide and its antimicrobial activity against food and multidrug resistant pathogens*. *Process Biochemistry*. **48**(7), 1099-1106, 2013.
141. Ulug B, M. Haluk T, Cicek A, Mete A, *Role of irradiation in the green synthesis of silver nanoparticles mediated by fig (Ficus carica) leaf extract*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. **135**(0), 153-161, 2015.
142. Zayed M F ,Eisa W H, *Phoenix dactylifera L. leaf extract phytosynthesized gold nanoparticles; controlled synthesis and catalytic activity*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. **121**(0), 238-244, 2014.
143. Jagtap U B ,Bapat V A, *Green synthesis of silver nanoparticles using Artocarpus heterophyllus Lam. seed extract and its antibacterial activity*. *Industrial Crops and Products*. **46**(0), 132-137, 2013.



144. Vidhu V K, Aromal S A, Philip D, *Green synthesis of silver nanoparticles using Macrotyloma uniflorum*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **83**(1), 392-397, 2011.
145. Parameshwaran R, Kalaiselvam S, Jayavel R, *Green synthesis of silver nanoparticles using Beta vulgaris: Role of process conditions on size distribution and surface structure*. Materials Chemistry and Physics. **140**(1), 135-147, 2013.
146. Ashokkumar S, Ravi S, Kathiravan V, Velmurugan S, *Synthesis, characterization and catalytic activity of silver nanoparticles using Tribulus terrestris leaf extract*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **121**(0), 88-93, 2014.
147. Yang N ,Li W H, *Mango peel extract mediated novel route for synthesis of silver nanoparticles and antibacterial application of silver nanoparticles loaded onto non-woven fabrics*. Industrial Crops and Products. **48**(0), 81-88, 2013.
148. Yudha S S, Notriawan D, Angasa E, Eka S T, Hendri J, Nishina Y, *Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous rinds extract of Brucea javanica (L.) Merr at ambient temperature*. Materials Letters. **97**(0), 181-183, 2013.
149. Singh S, Saikia J P, Buragohain A K, *A novel 'green' synthesis of colloidal silver nanoparticles (SNP) using Dillenia indica fruit extract*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. **102**(0), 83-85, 2013.
150. Ashokkumar S, Ravi S, Kathiravan V, Velmurugan S, *Synthesis of silver nanoparticles using A. indicum leaf extract and their antibacterial activity*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **134**(0), 34-39, 2015.
151. Vimala R T V, Sathishkumar G, Sivaramakrishnan S, *Optimization of reaction conditions to fabricate nano-silver using Couroupita guianensis Aubl. (leaf & fruit) and its enhanced larvicidal effect*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **135**(0), 110-115, 2015.
152. Sun Q, Cai X, Li J, Zheng M, Chen Z, Yu C P, *Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. **444**(0), 226-231, 2014.

153. Logeswari P, Silambarasan S, Abraham J, *Ecofriendly synthesis of silver nanoparticles from commercially available plant powders and their antibacterial properties*. Scientia Iranica. **20**(3), 1049-1054, 2013.
154. Suresh G, Gunasekar P H, Kokila D, Prabhu D, Dinesh D, Ravichandran N, Ramesh B, Koodalingam A, Vijaiyan S G, *Green synthesis of silver nanoparticles using Delphinium denudatum root extract exhibits antibacterial and mosquito larvicidal activities*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **127**(0), 61-66, 2014.
155. Amin M, Iram F, Iqbal M S, Saeed M Z, Raza M, Alam S, *Arabinoxylan-mediated synthesis of gold and silver nanoparticles having exceptional high stability*. Carbohydrate Polymers. **92**(2), 1896-1900, 2013.
156. Xu W, Jin W, Lin L, Zhang C, Li Z, Li Y, Song R, Li B, *Green synthesis of xanthan conformation-based silver nanoparticles: Antibacterial and catalytic application*. Carbohydrate Polymers. **101**(0), 961-967, 2014.
157. Olmedo R H, Nepote V, Grosso N R, *Aguaribay and Cedron Essential Oils as Natural Antioxidants in Oil-Roasted and Salted Peanuts*. Journal of the American Oil Chemists' Society. **89**(12), 2195-2205, 2012.
158. Kumar V G, Gokavarapu S D, Rajeswari A, Dhas T S, Karthick V, Kapadia Z, Shrestha T, Barathy I A, Roy A, Sinha S, *Facile green synthesis of gold nanoparticles using leaf extract of antidiabetic potent Cassia auriculata*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. **87**, 159-163, 2011.
159. Guo M, Li W, Yang F, Liu H, *Controllable biosynthesis of gold nanoparticles from a Eucommia ulmoides bark aqueous extract*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **142**, 73-79, 2015.
160. K. Chandran, S. Song, S. Yun, *Effect of size and shape controlled biogenic synthesis of gold nanoparticles and their mode of interactions against food borne bacterial pathogens*. Arabian Journal of Chemistry. 2014.
161. Emmanuel R, Karuppiah C, Chen S M, Palanisamy S, Padmavathy S, Prakash P, *Green synthesis of gold nanoparticles for trace level detection of a hazardous pollutant (nitrobenzene) causing Methemoglobinaemia*. Journal of Hazardous Materials. **279**, 117-124, 2014.

162. Reddy G R, Jayakumar C, Morais A B, Sreenivasn D, Gandhi N N, *Green synthesis, characterization and in-vitro antibacterial activity of polyshaped gold nanoparticles by using senna siamea (lam.) plant leaf extract*. International Journal of Green Chemistry and Bioprocess. **2**, 1-5, 2012.
163. Ghodake G, Lee D S, *Green synthesis of gold nanostructures using pear extract as effective reducing and coordinating agent*. Korean Journal of Chemical Engineering. **28**, 2329-2335, 2011.
164. Mo Y, Tang Y, Wang S, Lin J, Zhang H, Luo D, *Green synthesis of silver nanoparticles using eucalyptus leaf extract*. Materials Letters. **144**, 165-167, 2015.
165. Ghoreishi S M, Behpour M, Khayatkashani M, *Green synthesis of silver and gold nanoparticles using Rosa damascena and its primary application in electrochemistry*. Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures. **44**, 97-104, 2011.
166. Ahmed S, Annu, Ikram S, Yudha S S, *Biosynthesis of gold nanoparticles: A green approach*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. **161**, 141-153, 2016.
167. Yu J, Xu D, Guan H N, Wang C, Huang L K, Chi D F, *Facile one-step green synthesis of gold nanoparticles using Citrus maxima aqueous extracts and its catalytic activity*. Materials Letters. **166**, 110-112, 2016.
168. Rajan A, Rajan A R, Philip D, *Elettaria cardamomum seed mediated rapid synthesis of gold nanoparticles and its biological activities*. Open Nano. **2**, 1-8, 2017.
169. Muthuvel A, K. Adavallan, Balamurugan K, Krishnakumar N, *Biosynthesis of gold nanoparticles using Solanum nigrum leaf extract and screening their free radical scavenging and antibacterial properties*. Biomedicine & Preventive Nutrition. **4**, 325-332, 2014.
170. Shenoy D S, Mathew J, Philip D, *Phytosynthesis of Au, Ag and Au-Ag bimetallic nanoparticles using aqueous extract and dried leaf of Anacardium occidentale*. Spectrochimica Acta Part A. **79**, 254-262, 2011.
171. Kumari M M, Jacob J, Philip D, *Green synthesis and applications of Au-Ag bimetallic nanoparticles*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **137**, 185-192, 2015.
172. Gopinath K, Kumaraguru S, Bhakayaraj K, Mohan S, Venkatesh K S, Esakkirajan M, Kaleeswaran P, Alharbi N S, Kadaikunnan S, Govindarajan M, Benelli G, Arumugam A,

- Green synthesis of silver, gold and silver/gold bimetallic nanoparticles using the Gloriosa superba leaf extract and their antibacterial and antibiofilm activities.* Microb Pathog. **101**, 1-11, 2016.
173. Kathiravan V, Ravi S, Ashokkumar S, Velmurugan S, Elumalai K, Khatiwada C P, *Green synthesis of silver nanoparticles using Croton sparsiflorus morong leaf extract and their antibacterial and antifungal activities.* Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **139**, 200-205, 2015.
174. Miri A, Sarani M, Bazaz M R, Darroudi M, *Plant-mediated biosynthesis of silver nanoparticles using Prosopis farcta extract and its antibacterial properties.* Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **141**, 287-291, 2015.
175. Morones J R, Elechiguerra J L, Camacho A, Holt K, Kouri J, Ramirez J T, *The bactericidal effect of silver nanoparticles.* Nanotechnology. **16**, 2346, 2005.
176. Ahmed K B A, Subramanian S, Sivasubramanian A, Veerappan G, Veerappan A, *Preparation of gold nanoparticles using Salicornia brachiata plant extract and evaluation of catalytic and antibacterial activity.* Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. **130**, 54-58, 2014.