



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN METALURGIA Y MATERIALES

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

**“Síntesis y caracterización de nanoestructuras de plata empleando el
extracto del fruto de *Arctostaphylos pungens kunth* y evaluación de sus
propiedades”**

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

M.C. Gabriela González García

Director de tesis:

Dr. Gerardo Antonio Rosas Trejo

Co-asesor de tesis:

Dr. Salomón Eduardo Borjas García

Morelia, Michoacán, México, Febrero, 2022

AGRADECIMIENTOS

Le ofrezco un agradecimiento especial a mi director de tesis el Dr. Gerardo Antonio Rosas Trejo, por haberme guiado, asesorado y enseñado a lo largo de mis estudios de doctorado, por tenerme la paciencia y comprensión durante varios años de mi vida estudiantil.

Agradezco profundamente a mi co-asesor el Dr. Salomón Eduardo Borjas García, que siempre estuvo presente y apoyándome incondicionalmente durante mi formación.

Agradezco al comité tutorial, Dra. Tzarara López, Dr. Ariosto Medina, Dr. Alejandro Verduzco y al Dr. Arnoldo Bedolla por haberme prestado su tiempo para aconsejarme y colaborar en la revisión de mi tesis.

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

Agradezco inmensamente a Dios, a mis padres, mis hermanos, mi esposo y a mis hijos por todo el apoyo brindado, tanto emocional como económico. Sin ellos no lo hubiera logrado. ¡Gracias!

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

DEDICATORIA

Dedico con todo mi corazón mi tesis principalmente a mis padres Roberto y Lupita pues sin ellos no habría llegado hasta donde me encuentro el día de hoy. Su bendición a diario a lo largo de mi vida me protege y me lleva por el camino del bien. Por eso les doy mi trabajo en ofrenda por su paciencia y amor, por siempre creer en mí, no dejarme que me rindiera nunca y siempre motivarme a ser una mejor persona. No tengo manera ni palabras para agradecerles todo lo bonito que me han regalado en esta vida. Los amo y los amaré siempre mami y papi.

A mis hermanos, Galilea, Gardenia y Roberto, que siempre han estado a mi lado en todo momento, echándome porras para no rendirme.

A mis abuelitos Lupita, Adrián, Vicente y Pachita, que me enseñaron cosas valiosas de la vida, con su ternura y amor han dejado una huella en mi corazón, espero que puedan ver desde el cielo lo mucho que eh logrado. Siempre los llevaré en mi mente y en mi corazón.

A mi esposo Valdemar y mis hijos Dante y Robin, que me han enseñado cosas nuevas y hermosas de la vida, siempre me acompañan, me motivan, trabajamos juntos y me inspiran para ser alguien mejor, los amo con todo mi corazón y espero que durante muchos años sigamos siendo un equipo fuerte y unido.

Y finalmente agradezco al resto de mi familia, mis amigos Karina, Ismael, Indra y Marisol, que en los momentos difíciles me dieron palabras de aliento para seguir adelante, estuvieron conmigo en momentos buenos y malos, compartimos muchos momentos alegres y divertidos.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	15
1.1 Objetivo general.....	16
1.2 Objetivos específicos	16
1.3 Justificación.....	17
1.4 Hipótesis.....	17
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO.....	18
2.1 Nanotecnología y nanociencia	18
2.2 Nanomateriales y su clasificación.....	18
2.3 Autoensamblaje y autoensambles	19
2.3.1 Nanoflores	20
2.3.2 Dendritas.....	20
2.4 Métodos de síntesis de nanoestructuras	20
2.4.1 Métodos arriba-abajo.....	21
2.4.2 Métodos abajo-arriba.....	21
2.5 Nucleación y crecimiento de nanoestructuras metálicas.....	25
2.6 Mecanismo de crecimiento de los autoensambles	27

2.6.1 Fuerzas de Van der Waals	27
2.6.2 Fuerza electrostática	28
2.6.3 Otras fuerzas	28
2.6.4 Maduración de Ostwald.....	28
2.7 Propiedades de nanoestructuras metálicas	29
2.7.1 Propiedades ópticas	30
2.7.1 Propiedades catalíticas.....	31
2.7.2 Propiedades antibacterianas.....	32
2.8 Aplicaciones de las nanoestructuras.....	34
2.9 Discusión del estado del arte.....	35
2.9.1 Nanoflores de Ag.....	35
2.9.2 Dendrita de Ag	39
2.10 Pingüica (<i>Arctostaphylos pungens kunth</i>)	41
CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	42
3.1 Selección y adquisición de la planta	43
3.2 Preparación de extracto	44
3.3 Preparación de las sales precursoras	44
3.4 Síntesis de nanoestructuras de Ag.....	45
3.5 Síntesis de nanoestructuras de Ag decoradas con Pd.....	45
3.6 Caracterización estructural de nanoestructuras de Ag	45
3.6.1 Espectroscopía de ultra violeta visible (Uv-vis).....	45
3.6.2 Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	46
3.6.3 Espectroscopía infrarroja (FT-IR)	46
3.6.4 Difracción de rayos X (DRX).....	46
3.7 Actividad catalítica de nanoflores de Ag	46

3.8 Pruebas antibacteriales	47
3.8.1 Prueba de disco o de Kirby-Bauer	48
3.8.2 Medio de cultivo	48
3.8.3 Preparación de inóculo	50
3.8.4 Determinación de la Concentración Mínima Inhibidora	50
3.8.5 Medio de cultivo	50
3.8.6 Preparación de inóculo	51
3.8.7 Pruebas con nanoflores y dendritas	51
CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS	54
4.1 Síntesis de nanoflores de Ag función de tiempo	54
4.2 Síntesis de dendritas de Ag en oscuridad y bajo la influencia de la luz.....	59
4.3 Síntesis de nanoflores y dendritas bajo la influencia del estado de maduración del fruto de pingüica	65
4.4 Dendritas de Ag decoradas con Pd.....	76
4.5 Análisis DRX para nanoflores y dendritas.....	82
4.6 Espectroscopía de infrarrojo de nanoestructuras.....	83
4.7 Actividad catalítica de nanoflores de Ag	84
4.8 Actividad antibacteriana de nanoflores y dendritas	90
CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	99
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES	107
CAPÍTULO 7. REFERENCIAS	109

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 <i>Parámetros de reacción utilizados en la experimentación.</i>	43
Tabla 4.1 <i>Trabajos que utilizan nanocatalizadores en la reducción de MB y RhB.</i>	88
Tabla 4.2 <i>Mediciones de halos de inhibición.</i>	97

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Representación esquemática de la concentración de un soluto disuelto antes y después de la nucleación como una función del tiempo [50].	26
Figura 2.2 La copa de Licurgo se ve verde cuando la luz incide sobre él (a), pero de color rojo cuando la luz brilla dentro (b). La copa contiene nanopartículas de oro [28].....	31
Figura 2.3 Fotografía de una serie completa (izquierda) tras la síntesis de nanopartículas de plata y espectro visible (derecha) mostrando algunas bandas de plasmón experimentales representativas. La foto insertada en el espectro muestra un “nanoprisma” de caras triangulares 111 (bolas blancas) con caras laterales 100 (bolas rojas) [59].	32
Figura 2.4 Imágenes de MEB de nanoflores de Ag que dependen del tiempo de crecimiento durante los procesos de crecimiento de la semilla.....	36
Figura 2.5 Imagen de MEB de estructuras de plata electrodepositada para diferentes tiempos. (a) 1 hora, (b) 70 minutos, (c) 90 minutos y (d) 100 minutos.	37
Figura 2.6 Imágenes de MEB de mesoestructuras de Ag similares a flores con la ayuda de (a-b) 0.5 ml, (c-d) 0.2 ml y (e-f) 0.05 ml de semillas de Ag.....	37
Figura 2.7 Espectros de UV-vis para la degradación fotocatalítica de azul de metileno en presencia de nanoflores de Ag con diferentes disolventes: agua, DMSO y tolueno.....	38
Figura 2.8 Imagen de MEB de dendrita de Ag.....	39
Figura 2.9 Imágenes de MEB de dendritas de Ag obtenida mediante depositación electroquímica.	40
Figura 2.10 Espectro de FT-IR del extracto de cáscara de plátano (BPE) y las nanopartículas de plata.....	41
Figura 3.1 Diagrama de flujo de las actividades experimentales llevadas a cabo.....	42
Figura 3.2 Arbusto de pingüica.	44
Figura 3.3 Fruto de pingüica: (a) inmaduro, (b) intermedio, (c) maduro y (d) seco.	44
Figura 3.4 (a) Agar Müeller-Hinton para uso “ <i>In Vitro</i> ” y (b) sus correspondientes instrucciones de preparación.	48
Figura 3.5 (a) Agar de Müeller-Hinton turbio y (b) Agar de Müeller-Hinton cristalino.	49
Figura 3.6 Zona estéril creada con mecheros de Bunsen.	49
Figura 3.7 Esquema de la preparación del inóculo.....	52

Figura 3.8 Medio de cultivo Müller-Hinton para MIC.....	53
Figura 4.1 Cambio de color de las soluciones sintetizadas con extracto de pingüica en función de tiempo.	54
Figura 4.2 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras de Ag sintetizadas con el extracto del fruto de pingüica con 6 mM de AgNO ₃ en función del tiempo.....	55
Figura 4.3 Imágenes de MEB de muestras en función del tiempo sintetizadas con fruto de pingüica y 6 mM de AgNO ₃ , (a-b) 1 día de reacción, (c-d) 3 días de reacción y (e-f) 5 días de reacción.....	57
Figura 4.4 Imágenes de MEB de muestras en función del tiempo sintetizadas con fruto de pingüica y 6 mM de AgNO ₃ , (a-b) 8 días de reacción, (c-d) 10 días de reacción y (e-f) 15 días de reacción.....	58
Figura 4.5 Micrografías de MEB y composición química de la muestra a los 8 días de reacción, (a-b) micrografías a diferentes aumentos, (c) espectro EDS y (d) mapeo elemental EDS.....	59
Figura 4.6 (a) Inicio de reacción a un tiempo de 1 minuto, (b) reacción bajo la influencia de la luz y (c) reacción sin la influencia de la luz.	60
Figura 4.7 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras de Ag tipo árbol sintetizadas con el extracto del fruto de pingüica con 10 mM de AgNO ₃ a 8 días de reacción (a) en oscuridad y (b) con luz. Imágenes de MEB de muestras sintetizadas, (c) en oscuridad y (d) con luz. ...	62
Figura 4.8 (a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 10 mM de AgNO ₃ en oscuridad y (d) análisis químico por EDS.	63
Figura 4.9 Imágenes de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO ₃ a 100,000 X.	64
Figura 4.10 Imagen de MEB de nanoárboles de plata sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO ₃ , en presencia de luz.	64
Figura 4.11 (a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 10 mM de AgNO ₃ bajo la influencia de la luz y (d) análisis químico por EDS.	65
Figura 4.12 Extractos de fruto de pingüica: a) Seco, b) Maduro, c) Intermedio e d) Inmaduro.	66
Figura 4.13 Cambio de color de las soluciones sintetizadas con extracto de pingüica en función de tiempo, (a) 6 mM y (b) 10 mM de AgNO ₃	67

Figura 4.14 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras de Ag sintetizadas con el extracto del fruto inmaduro de pingüica con (a) 6 mM y (b) 10 mM de AgNO ₃ en función del tiempo.	68
Figura 4.15 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras de Ag sintetizadas con el extracto del fruto intermedio de pingüica con (a) 6 mM y (b) 10 mM de AgNO ₃ en función del tiempo.	69
Figura 4.16 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras de Ag sintetizadas con el extracto del fruto maduro de pingüica con (a) 6 mM y (b) 10 mM de AgNO ₃ en función del tiempo....	70
Figura 4.17 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras de Ag sintetizadas con el extracto del fruto seco de pingüica con (a) 6 mM y (b) 10 mM de AgNO ₃ en función del tiempo.....	71
Figura 4.18 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con fruto de pingüica y 6 mM de AgNO ₃ , (a) inmaduro, (b) intermedio, (c) maduro y (d) seco.	72
Figura 4.19 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con fruto de pingüica y 6 mM de AgNO ₃ , (a) inmaduro, (b) intermedio, (c) maduro y (d) seco.	73
Figura 4.20 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO ₃ , (a) inmaduro, (b) intermedio, (c) maduro y (d) seco.	74
Figura 4.21 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO ₃ , a) inmaduro, b) intermedio, c) maduro y d) seco.	75
Figura 4.22 Espectro de UV-Vis de nanoestructuras de Ag sintetizadas con el extracto del fruto de pingüica.	76
Figura 4.23 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con fruto de pingüica, a) 1,000 X, b) 2,500 X.	77
Figura 4.24 (a) Nanoestructura fractal, (b) Mapeo químico de la muestra y (c) Análisis químico por EDS.	79
Figura 4.25 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras fractales de Ag sintetizadas con el extracto del fruto de pingüica, decoradas con paladio a diferentes concentraciones.	79
Figura 4.26 a) Imagen de MEB de nanoestructuras de Ag-Pd, b) patrón EDS y c-d) mapeo elemental para análisis de superficie de la dendrita de Ag-Pd.	80
Figura 4.27 Patrón de difracción de rayos X de nanoestructuras de Ag-Pd sintetizadas con extracto de fruto de pingüica.	81
Figura 4.28 Patrón de difracción de rayos X de nanoflores de Ag sintetizadas con extracto de fruto de pingüica y 6 mM de AgNO ₃	82

Figura 4.29 Patrón de difracción de rayos X de dendritas de Ag sintetizadas con extracto de fruto de pingüica y 10 mM de AgNO ₃ .	83
Figura 4.30 Espectros de FT-IR de a) extracto del fruto de pingüica y b) nanoestructuras de Ag sintetizadas.	85
Figura 4.31 (a) Espectros UV-Vis para la degradación fotocatalítica del azul de metileno en presencia de nanoflores de Ag y (b) Gráfica de ln (A/A ₀) vs tiempo (min) para la degradación catalítica del azul de metileno, (c) Espectros UV-Vis para la degradación fotocatalítica de rodamina b en presencia de nanoflores de Ag y (d) Gráfico de ln (A/A ₀) frente al tiempo (min) para la degradación catalítica de rodamina b.	86
Figura 4.32 Espectros de UV-Vis de la degradación de MB con respecto al tiempo a diferentes concentraciones de nanoestructuras de plata, (a) 0.5 mg/ml, (b) 0.75 mg/ml, (c) 1 mg/ml, (d) 1.25 mg/ml, and (e) 1.5 mg/ml.	87
Figura 4.33 (a) Curvas cinéticas de Ln (A/A ₀) frente al tiempo y (b) curva de tendencia de degradación para MB a diferentes concentraciones de nanoestructura de Ag	88
Figura 4.34 Antibiograma realizado para comprobar la sensibilidad de <i>E. Coli</i> con nanoflores de Ag a) primera prueba, b) segunda prueba y c) tercera prueba.	92
Figura 4.35 Antibiograma realizado para comprobar la sensibilidad de <i>E. Coli</i> con nanoárboles de Ag a) primera prueba, b) segunda prueba y c) tercera prueba.	93
Figura 4.36 Antibiograma realizado para comprobar la sensibilidad de <i>S. aureus</i> con nanoflores de Ag (a) primera prueba, (b) segunda prueba y (c) tercera prueba.	94
Figura 4.37 Antibiograma realizado para comprobar la sensibilidad de <i>S. aureus</i> con dendritas de Ag a) primera prueba, b) segunda prueba y c) tercera prueba.	95
Figura 4.38 Antibiograma realizado para comprobar la sensibilidad de <i>E. Coli</i> a la derecha y <i>S. aureus</i> a la derecha con extracto de AgNO ₃ a) primera prueba, (b) segunda prueba y (c) tercera prueba.	96
Figura 4.39 Determinación de MIC de a-b) nanoflores de Ag y c-d) nanoárboles frente a <i>E. Coli</i> y <i>S. aureus</i> .	98
Figura 5.1 Imágenes de MEB obtenidas con diferentes ampliaciones de (a-c) nanoflores de Ag y (d-f) dendritas de Ag	100
Figura 5.2 Análisis puntual EDS y mapas químicos de (a-b) nanoflores de Ag y (c-d) dendrita de Ag.	101

Figura 5.3 Patrones de difracción de rayos X de (a) nanoflores, (b) dendritas y (c) sus correspondientes espectros UV-Vis.	101
Figura 5.4 Imágenes MEB de nanoflores de Ag (columna izquierda) y dendritas (columna derecha) en diferentes tiempos de reacción: (a-b) 3 días, (c-d) 5 días y (e-f) 8 días.....	103
Figura 5.5 (a-b) Imágenes de MEB de nanoflores Ag que comienzan a formar nanodendritas, (imagen insertada) mapa químico EDS.....	104
Figura 5.6 Diagrama que resume el posible mecanismo de crecimiento de los productos de reacción.....	105

RESUMEN

Actualmente las nanoestructuras de Ag son de gran importancia, ya que éstas tienen un alto grado de comercialización, debido a sus múltiples aplicaciones ya sea en electrónica, textiles, pintura, cosméticos, bactericidas, biofungicidas, aplicaciones biomédicas, en la industria médico-farmacéutica y alimenticia. En el presente trabajo, se exploró la síntesis de nanoflores y dendritas de Ag, por una técnica económica y no tóxica, la cual consistió en la reducción química de nitrato de plata (AgNO_3) mediante el extracto de la fruta *Arctostaphylos pungens Kunth* comúnmente llamada pingüica, Se observó el comportamiento de la reacción variando la concentración de la sal precursora AgNO_3 , estado de maduración del fruto, tiempo de reacción, bajo la influencia de la luz y sin luz, La espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis), la microscopia electrónica de barrido (MEB), espectroscopía de infrarrojo (FT-IR) y la difracción de rayos X (DRX) caracterizaron los productos obtenidos. Las observaciones en MEB ilustran los nanoproductos de Ag que cambian de forma y tamaño en función del tiempo y de las variables que fueron cambiando. Las nanoflores de plata de hasta $1\ \mu\text{m}$ de tamaño están compuestas de nanopétalos orientados aleatoriamente. La morfología más novedosa consiste en nanocables entrelazados obtenidos después de ocho días de reacción. Por otro lado también se sintetizaron de manera exitosa dendritas de Ag. Los espectros de DRX verificaron la estructura fcc de las nanoflores y dendritas de Ag. Posteriormente, se evaluaron las propiedades catalíticas de las nanoflores en la degradación de colorantes orgánicos azul de metileno (MB) y rodamina B (RhB). Ambas nanoestructuras muestran una buena actividad bacteriana.

PALABRAS CLAVE: Biosíntesis, Nanoflores, Dendritas, Degradación de colorantes y Actividad antibacteriana.

ABSTRACT

Currently, Ag nanostructures are of great importance, since they have a high degree of commercialization, due to their multiple applications in electronics, textiles, paint, cosmetics, bactericides, biofungicides, biomedical applications, in the medical-pharmaceutical industry and food. In the present work, the synthesis of Ag nanoflowers and dendrites was explored, by an economical and non-toxic technique, which consisted of the chemical reduction of silver nitrate (AgNO_3) by means of the extract of the *Arctostaphylos pungens Kunth* fruit, commonly called pingüica. The behavior of the reaction was observed by varying the concentration of the precursor salt AgNO_3 , state of ripening of the fruit, reaction time, under the influence of light and without light, Ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis), microscopy scanning electronics (SEM), infrared spectroscopy (FT-IR) and X-ray diffraction (XRD) characterized the products obtained. SEM observations illustrate Ag nanoproducts changing shape and size as a function of time and changing variables. Silver nanoflowers up to 1 μm in size are composed of randomly oriented nanopetals. The most novel morphology consists of intertwined nanowires obtained after eight days of reaction. On the other hand, Ag dendrites were also successfully synthesized. XRD spectra verified the fcc structure of Ag nanoflowers and dendrites. Subsequently, the catalytic properties of nanoflowers in the degradation of organic dyes methylene blue (MB) and rhodamine B (RhB). Both nanostructures show good bacterial activity.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el creciente interés de la nanotecnología ha llevado a explorar la formación de nanomateriales para posibles aplicaciones. Por ejemplo, se han producido intrincadas estructuras metálicas que demuestran la llegada de materiales prometedores [1, 2]. Entre ellos, las nanopartículas de Ag (AgNPs) tienen morfologías como decaedros [3], bipirámides [4], nanocubos [5], nanoplatos [6], nanorodillos [7] y nanocables pentagonales. Por otro lado, el autoensamblaje ha ganado un interés considerable porque sus propiedades difieren de las correspondientes nanopartículas individuales (NP) empleadas como bloques de construcción [8].

Investigaciones anteriores han demostrado que los autoensamblajes de Ag, como las nanoflores y las dendritas, tienen una gran relación superficie-volumen que contiene varios centros activos disponibles para su estudio como catalizadores [9-14]. Además, estas nanoestructuras metálicas tienen un alto potencial de Fermi, donde la constante de velocidad de la reacción catalítica depende del tamaño de las unidades de construcción [15], han sido ampliamente investigados en la purificación de agua y aire [16], ya que los colorantes orgánicos sintéticos que se utilizan ampliamente en textiles, papel, plástico, alimentos, cosméticos y farmacéuticos, esto resulta en una contaminación ambiental considerable debido a las descargas de estas industrias. Se ha demostrado que muchos de los colorantes son carcinógenos, mutágenos y dañinos para el medio ambiente. Estos colorantes son igualmente tóxicos para los organismos acuáticos y su ambiente [17].

El autoensamblaje impulsa la exploración de enfoques sintéticos para manipular morfologías y composición química de nanoestructuras [18, 19]. Los métodos de síntesis requieren plantillas autoensambladas o estabilizadores artificiales, procedimientos complicados, equipo especializado y productos químicos tóxicos costosos [20].

Por esta razón, en el presente trabajo se propone un método de síntesis verde, empleando el extracto del fruto de *Arctostaphylos pungens kunth* para nanoestructuras de Ag con el cual, no se generan desechos tóxicos para el medio ambiente y están libres de contaminantes que dañan a los seres vivos, en específico a los humanos. Durante la reacción de biosíntesis se evaluó la concentración de sal precursora (AgNO_3), el tiempo de reacción, tiempo de maduración del fruto, entre otras variables.

La caracterización de las nanoestructuras se realizó por espectroscopía de absorción ultravioleta-visible (UV-Vis), microscopía electrónica de barrido (MEB), microscopía electrónica de transmisión (MET). Se realizó análisis de difracción de rayos X (DRX) para determinar la reducción de la sal de plata, espectroscopía de infrarrojo (FT-IR) con la cual se determinaron los posibles grupos funcionales que ayudan a la síntesis de nanoestructuras de plata. Del mismo modo se evaluó su eficiencia antibacterial y para la reducción de azul de metileno, naranja de metilo y rodamina B.

1.1 Objetivo general

Sintetizar y caracterizar nano flores y dendritas de Ag empleando el extracto del fruto de pingüica (*Arctostaphylos pungens Kunth*) evaluando su eficiencia como agentes degradantes de colorantes tóxicos y su potencial como agentes antibacteriales.

1.2 Objetivos específicos

- Llevar a cabo la obtención de nanoestructuras de diferentes morfologías de plata (flor y dendrítica) en solución acuosa de la sal metálica respectiva (AgNO_3), usando el extracto del fruto de pingüica como agente reductor-estabilizante-ligante.
- Optimizar el proceso de obtención variando los parámetros: concentración de sal precursora, influencia de la luz, temperatura de reactivos, tiempo de maduración del fruto y tiempo de reacción.
- Caracterizar química y estructuralmente las nanoestructuras de Ag por medio de espectroscopía Ultravioleta-Visible, espectroscopía de infrarrojo (FT-IR), microscopía electrónica de barrido (MEB) y difracción de rayos X (DRX).
- Medir las propiedades catalíticas de las nanoestructuras metálicas (Ag) empleando los colorantes artificiales: azul de metileno, naranja de metilo y rodamina B.
- Medir las propiedades antibacteriales de las nanoflores y las dendritas de Ag.

1.3 Justificación

El presente trabajo, pretende la biosíntesis de nanoestructuras tipo flor y árbol de Ag las cuales pueden ser aplicadas para el tratamiento de aguas, en la medicina y catálisis. Para lo cual se emplearán el extracto del fruto de pingüica (*Arctostaphylos pungens kunth*), como agente reductor y estabilizante, el cual contiene compuestos, tales como: flavonoides, catequinas, taninos, etc. que pueden ser utilizados como agentes reductores de los iones presentes en la sal de plata. Las nanoestructuras tipo flor y árbol de Ag han sido comúnmente utilizados como catalizadores y dispositivos basados en el efecto SERS (por sus siglas en inglés *Surface-enhanced Raman Scattering*).

Existen varias formas para sintetizar nanoestructuras de tipo flor y árbol, sin embargo, todos consisten en métodos costosos, reactivos tóxicos y una compleja metodología; mediante este proyecto se pretende reducir significativamente los costos y la complejidad de la metodología, realizando la síntesis en un solo paso sin el uso de reactivos tóxicos que pueda afectar al medio ambiente. Del mismo modo se pretende contribuir en la medición de las propiedades evaluando la influencia del confinamiento cuántico en la nanoestructura hacia la explicación de sus propiedades.

1.4 Hipótesis

Las sustancias activas que hay en el fruto de Pingüica (*Arctostaphylos pungens Kunth*) como pirocatequinas y taninos, actuarán como agentes reductores de los iones de plata presentes en la solución acuosa de nitrato de plata y debido a la falta de agentes estabilizantes y la presencia de ligantes que contiene el mismo extracto se formarán arreglos nanométricos de tipo flor y árbol que van a variar en morfología y tamaño en función del tiempo de crecimiento y la cantidad de AgNO_3 empleada, con lo cual se espera una buena eficiencia antibacterial y catalítica en la reducción de colorantes tóxicos (azul de metileno, naranja de metilo y rodamina B).

CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO

Hoy en día, el campo de la nanotecnología es una de las áreas más activas de investigación en la ciencia de los materiales modernos, se ha diversificado en un gran número de áreas diferentes debido a sus importantes beneficios en términos de mejorar el rendimiento en muchos campos [21]. El auge de la nanotecnología ha dado lugar al descubrimiento de una serie de formas de nanopartículas y nanoagregados. Una serie de estructuras tipo flor y árbol han sido obtenidos, frecuentemente junto o en equilibrio con otras nanoformas, dependiendo de las condiciones de reacción. Las posibles aplicaciones de las nanoflores y dendritas son en la optoelectrónica, dispositivos o sensores, catálisis, y las células solares con lo cual, causaron una interés definido por estas nanoestructuras [22, 23].

2.1 Nanotecnología y nanociencia

La nanotecnología se puede definir como la ingeniería involucrada en el diseño, síntesis, caracterización y aplicación de materiales y dispositivos cuya organización funcional está en la escala nanométrica o la mil millonésima parte de un metro en al menos una de sus dimensiones [24]. La propia escala nanométrica es en la actualidad considerada entre 1 a 100 nm. Un matiz ligeramente diferente se refiere a la manipulación deliberada y controlada, medición, modelado y producción de la materia a escala nanométrica para crear materiales, aparatos y sistemas con nuevas propiedades y funciones. Por otro lado, la nanociencia algunas veces es definida como “la ciencia que fundamenta la nanotecnología”, pero esto realmente es la biología, la química y la física o "ciencias moleculares", dado que los científicos de este campo están estudiando un campo dimensional muy pequeño para una mejor comprensión del mundo que nos rodea [25].

2.2 Nanomateriales y su clasificación

Nanomateriales, es un término usado para describir una amplia y disparada gama de materiales, que contiene elementos característicos de dimensiones inferiores a 100 nm [26]. Los nanomateriales se pueden clasificar de acuerdo a sus dimensiones, un nanomaterial n -dimensional es ese material que tiene n dimensiones fuera de la nanoescala, es decir, n

dimensiones mayores de cien nanómetros [27]. Basándose en este criterio, se tendrían así nanomateriales de acuerdo a lo siguiente:

- Cero-dimensionales (0-D). Son materiales en los que todas sus dimensiones están dentro de la escala nanométrica.
- Unidimensionales (1-D). A diferencia de las nanoestructuras 0-D, estas tienen una de sus dimensiones fuera de la escala nanométrica.
- Bidimensionales (2-D). Son materiales en los cuales dos de sus dimensiones no se encuentran en el rango nanométrico, como las películas delgadas.
- Tridimensionales (3-D). A esta escala son conocidos como nanomateriales a granel, no tienen ninguna de sus dimensiones en el rango nanométrico, sin embargo, estos materiales tienen una estructura nanocristalina, es decir, están compuestos de un arreglo múltiple de cristales de tamaño nanométrico, que en su mayoría están en la misma o diferente orientación [28].

Las nanoflores y las dendritas se encuentran dentro de la clasificación de los nanomateriales bidimensionales, sin embargo este tipo de estructuras están conformadas por materiales cero- dimensionales y unidimensionales.

2.3 Autoensamblaje y autoensambles

El autoensamble es el proceso por el cual los elementos participantes se agrupan en estructuras ordenadas y funcionales. Por las propiedades intrínsecas de los componentes y condiciones del medio, estas nuevas estructuras sólo pueden crecer hasta cierto tamaño, siendo del orden nanométrico y se conocen como nanoestructuras. [29]. Los ensamblajes dirigidos y los autoensamblajes han sido ampliamente estudiados a través de los años, ya que, pueden ajustarse de manera precisa en microestructuras, se han logrado hacer materiales híbridos y se pueden organizar nanopartículas en las superficies de otros materiales [30]. Los autoensambles de metales nobles dependen en gran medida de las propiedades de las nanopartículas individuales (distribución de tamaño / forma), interacciones, fuerzas débiles entre partículas, los ligandos modificadores y los métodos externos asistidos [31, 32]. Dicho de otra manera, el autoensamble de átomos, iones o moléculas se debe a que estos elementos siempre buscarán los niveles más bajos de energía, uniéndose rápidamente a su vecino más próximo, iniciando de este modo la formación de una “semilla” que dará lugar a una

nanopartícula o de una nanoestructura . En consecuencia, pueden configurarse en diferentes formas geométricas bidimensionales y tridimensionales como: esferas, anillos, cubos, prismas, barras y otras formas más [29], como las nanoflores y las dendritas.

2.3.1 Nanoflores

"Nanoflores" es un término utilizado recientemente por los investigadores para un grupo particular de nanoestructuras que son similares a las flores a vista microscópica [33]. Estas consisten en autoensamblajes que están compuestas de varias capas de pétalos que abarcan un área de superficie más grande en una estructura pequeña [34]. Hay una gran diversidad de nanoflores que se han sintetizado actualmente, entre ellas están las nanoflores de Au, monóxidos, sulfuros, selenida y telururo, hidróxidos y oxisales y de Ag [35]. Las nanoflores han despertado el interés de los científicos debido a las características topográficas de nanocapas, cuya superficie especial permite una mayor relación superficie-volumen en comparación con las clásicas nanopartículas esféricas, lo que aumenta significativamente la eficiencia de las reacciones superficiales [36].

2.3.2 Dendritas

Las dendritas (también llamadas estructuras fractales) están formadas por troncos principales y muchas ramas jerárquicas con hojas adheridas que brindan una gran superficie y estructuras interfaciales que mejoran en gran medida ciertas características deseadas [37]. Las dendritas o fractales bidimensionales pueden crecer a bajas temperaturas mediante deposición homoepitaxial o heteroepitaxial en superficies fcc (111) o hcp (0001) [38]. En general, el crecimiento de estructuras jerárquicas fractales y dendríticas se observa en condiciones de crecimiento sin equilibrio. La formación de estas se describe en términos de agregación limitada por difusión y/o mecanismo de unión orientado [39].

2.4 Métodos de síntesis de nanoestructuras

La manipulación de las condiciones de síntesis permite el control racional del tamaño y la forma de las partículas y provee los medios para adaptar las propiedades de los materiales a una aplicación específica [40]. Las nanoestructuras pueden ser sintetizadas por una variedad de métodos que utilizan gas, líquido o procesos en fase sólida. Estos incluyen procedimientos

en fase gas como, evaporación con alta temperatura, síntesis de plasma, irradiación de microondas, deposición física y química de vapor. El método coloidal o métodos en fase líquida son aquellos en donde las reacciones químicas en disolventes conducen a la formación de coloides; también está el auto-ensamblaje molecular y los procesos mecánicos de reducción de tamaño, incluyendo trituración y molienda [41]. Los métodos para la síntesis de los nanomateriales mencionados anteriormente, se pueden dividir en dos clases principales: los métodos de arriba-abajo y los de abajo-arriba.

2.4.1 Métodos arriba-abajo

En el método arriba-abajo, se reestructura un material a granel (es decir, se dismantela, mecaniza, procesa o deposita) para formar nanomateriales. Para estos métodos, los desafíos aumentan a medida que los dispositivos se reducen de tamaño y mientras, los diseños de los componentes deseados se hacen más grandes y más complejos. Además, el conjunto de arriba-abajo de nanocomponentes en grandes áreas es difícil y costoso [26]. Este enfoque puede involucrar la molienda o el desgaste, métodos químicos, y la volatilización de un sólido seguido por la condensación de los componentes volatilizados. Existen varios métodos que utilizan la aproximación de arriba-abajo, los más representativos son:

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

2.4.2 Métodos abajo-arriba

Existen diversos métodos que utilizan la aproximación de “abajo hacia arriba” para la síntesis de nanopartículas, los más empleados son aquellos que utilizan procedimientos químicos. Por lo general, inician con la reducción de los iones metálicos a átomos metálicos, seguido por la agregación controlada de estos átomos. El método químico es el más conveniente para la obtención de nanopartículas uniformes y pequeñas [42].

Los métodos más representativos de esta aproximación son:

- Reducción fotoquímica

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

Casi todos los métodos utilizados para la síntesis de nanoflores y dendritas son de este tipo, ya que si utilizan el enfoque de arriba-abajo es necesario a final de cuentas los métodos de abajo-arriba.

A continuación se hace otra clasificación de las técnicas utilizadas para la fabricación de los nanomateriales en cuestión.

Síntesis de nanoflores:

Las estrategias actuales para el arreglo de nanomateriales en forma de nanoflores se pueden agrupar en cuatro clases:

- Método de inmovilización: Consiste en inmovilizar la sustancia en la superficie, para aumentar la estabilidad y la eficiencia de la superficie.
- Método de reticulación. Enlace covalente de dos o más moléculas químicas mediante el uso de polímeros catiónicos y aniónicos.
- Método de conjugación. Enlace entre dos o más moléculas usando metales o polímeros.
- Método de recolección automática. Auto-recolección de partículas por fuerza intermolecular en bien definida y forma estable [34]

Síntesis de dendritas:

En general, las técnicas de síntesis de las dendritas de Ag se pueden dividir en cuatro tipos:

- Método de confinamiento de auto-estructura. Puede fabricar directamente nanoestructuras dendríticas de Ag solo en condiciones muy limitadas.
- Método de plantilla. Puede regular bien el crecimiento de los fractales de Ag, pero no son buenos para la pureza de las dendritas.
- Método de solución blanda. También regula bien el crecimiento de las dendritas.
- Método de química física. Estos incluyen electroquímica, fotoquímica, sonoquímica, microondas, etc. Estas se consideran rutas efectivas, pero generalmente requieren

equipos especiales y un costo más alto [43]. A continuación se explicarán en qué consisten alguna para tener un panorama más amplio.

2.4.2.1 Método electroquímico

La electroquímica es una técnica simple y de bajo costo. Su fuerza motriz, el potencial del electrodo, se puede ajustar continua y externamente a voluntad. Este método se ha utilizado ampliamente para generar nanoestructuras novedosas con formas bien definidas que incluyen cables, varillas, cubos, pirámides, placas y dendritas. La fabricación electroquímica de NP de metal soportado en condiciones cercanas al equilibrio forma poliedros que terminan en caras de cristal termodinámicamente estables. En condiciones lejos del equilibrio, la nucleación y el crecimiento son rápidos y resultar en la inestabilidad de la superficie de crecimiento y formación de morfologías jerárquicas [44].

2.4.2.2 Método de plantilla

El método de plantilla es una técnica versátil que se ha utilizado ampliamente para la preparación de nanoestructuras metálicas porque el tamaño y la forma de las nanoestructuras deseadas se pueden controlar fácilmente eligiendo una plantilla adecuada. Los factores que afectan la formación de dendritas de Ag dentro de las plantillas incluyen la estructura de la plantilla, la presencia de especies iónicas en trance y las condiciones de síntesis. En la mayoría de los casos, las dendritas de Ag formadas por el método de plantilla deben combinarse con un suministro de energía externa para acelerar la nucleación de Ag y la difusión de iones de Ag [37].

2.4.2.3 Método de reducción química

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

- i) Precursor metálico

- ii) Agente reductor
- iii) Agente estabilizante.

El mecanismo de formación de las disoluciones coloidales a partir de la reducción de iones de plata consta de dos etapas diferentes: nucleación y crecimiento [45].

2.4.2.4 Método de biosíntesis

En los métodos de síntesis químicos tradicionales, se utilizan varios productos químicos tóxicos, que son perjudiciales para la salud de los seres vivos, por lo que actualmente las nanopartículas se sintetizan mediante el uso de métodos biológicos basados en la química verde para la reducción de los productos químicos tóxicos.

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

- La selección del medio disolvente
- La selección de los agentes reductores del medio ambiente
- La selección de sustancias no tóxicas para la estabilidad de Nps [46].

2.4.2.4.1 Biosíntesis de nanopartículas metálicas utilizando extractos de plantas

Una razón importante para la investigación de plantas en la síntesis de nanoestructuras es su fácil disponibilidad. Las nanopartículas metálicas pueden producirse mediante un extracto con toda la planta o una parte en particular de ella; sin embargo, la cantidad de agentes reductores es bastante grande en el extracto de la planta entera. En este tipo de biosíntesis, simplemente se realiza un extracto de la planta seleccionada y se mezcla con una solución de la sal precursora a temperatura ambiente. La reacción generalmente se completa en poco tiempo [47].

Se ha investigado recientemente el proceso de biosíntesis, siendo reportados el efecto de las variables del proceso tales como, la concentración del extracto, la relación de mezcla de

los reactivos, la concentración de sal, el tiempo de reacción y el pH. Más de 2000 plantas pertenecientes a diferentes familias han sido utilizadas por su capacidad para sintetizar diversas nanopartículas de metales como plata, oro, hierro, paladio, plomo y cobre. La reducción y estabilización de los iones de metales se debe a la combinación de biomoléculas tales como proteínas, aminoácidos, enzimas, polisacáridos, alcaloides, taninos, compuestos fenólicos, saponinas, terpenoides y vitaminas que ya están establecidas en los extractos de plantas [46, 48].

Aunque este tipo de síntesis ha sido utilizada ampliamente utilizada para la fabricación de nanopartículas, en este trabajo se utilizará para la obtención de nanoflores y dendritas aprovechando los agentes ligantes y poco estabilizantes que contiene la fruta de pingüica.

2.5 Nucleación y crecimiento de nanoestructuras metálicas

Para entender el mecanismo de la formación de las nanoflores y dendritas, se necesita empezar con el entendimiento del crecimiento de nanopartículas, ya que éstas estructuras básicamente están formadas por la coalescencia de estas partículas que van creciendo en ciertos planos preferenciales.

En la síntesis química de nanopartículas metálicas, "nucleación" pueden definirse ampliamente como la formación de un pequeño grupo de átomos en la solución. Sin embargo, Xiong y Xia lo definen como la formación de semillas con una estructura estable y cristalinidad bien definida [49]. Existen dos tipos de nucleación, la homogénea y heterogénea.

El modelo básico propuesto para explicar la precipitación de una solución se basa en la teoría de nucleación clásica publicada por LaMer y Dinegar en 1950. El llamado diagrama de LaMer ilustra la variación de la concentración del soluto en función del tiempo como se muestra en la figura 2.1. Dicha teoría se basa en los mecanismos de nucleación y crecimiento en la cual considera la nucleación como la etapa limitante del proceso; el diagrama se divide en tres etapas.

Durante la etapa I, la concentración de sales va aumentando hasta alcanzar la concentración de nucleación (C_{min} , figura 2.1). Al llegar a esta concentración, el sistema se vuelve heterogéneo, y las moléculas de soluto se combinan para producir embriones o núcleos. Los núcleos se forman y disuelven de forma continua. La estabilidad de los núcleos

críticos depende de la altura de la barrera de energía libre (ΔG): si es alta en comparación con la energía térmica (T), la posibilidad de la formación de dichos núcleos es insignificante y no se formarán partículas. Sin embargo, si la barrera de ΔG es lo suficientemente baja, la velocidad de nucleación tiende a ser infinita. Si no se logra la concentración crítica, se forma una fase esponjosa con una longitud de onda característica en lugar de partículas. Esto se conoce como descomposición espinodal.

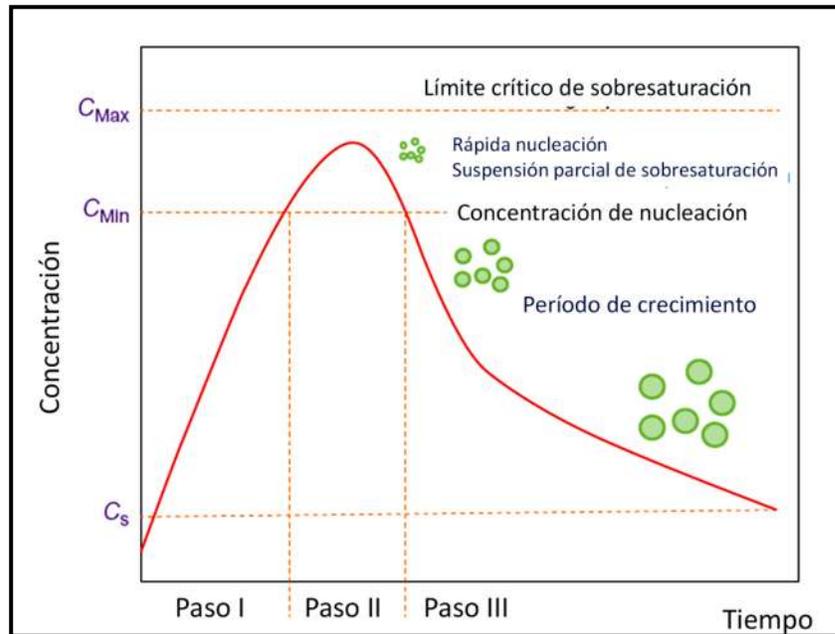


Figura 2.1 Representación esquemática de la concentración de un soluto disuelto antes y después de la nucleación como una función del tiempo [50].

En el paso II, la aparición de núcleos reduce parcialmente la sobresaturación, lo suficientemente rápido para que la velocidad de nucleación caiga inmediatamente casi a cero. La nucleación continuará hasta que la concentración caiga del límite crítico de sobresaturación (C_{Max} , figura 2.1) para C_{Min} , donde el crecimiento de partículas sustituye a la nucleación [50].

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

- (i) Generación de especies de crecimiento

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

El suministro de las especies de crecimiento a la superficie de crecimiento se denomina “difusión”, que incluye la generación, difusión y adsorción de las especies sobre la superficie de crecimiento, mientras que la incorporación de especies adsorbidas sobre la superficie en la estructura sólida se denota como el “crecimiento” [51].

Por otro lado, las energías de cohesión que se requieren para formar las nanoestructuras son de menor orden que la energía que mantiene unida a los compuestos iónicos o moléculas, por ello éstas pueden ser modificadas con la aplicación de factores externos como temperatura, alta presión y el tiempo de almacenaje [29].

2.6 Mecanismo de crecimiento de los autoensambles

Diferentes interacciones se han considerado como uno de los mecanismos fundamentales que conducen a las nanopartículas individuales al autoensamblaje en diversas nanoestructuras. Como ya se mencionó anteriormente las interacciones entre nanopartículas constan de la fuerzas de Van der Waals, fuerza electrostática, interacción hidrofóbica, entre otras. En algunos casos, no hay sólo una interacción existente en un proceso de montaje si no que pueden estar actuando múltiples interacciones complejas e interdependientes.

La capa de moléculas (surfactante, ligando o biomolécula), que generalmente está cubriendo a las nanopartículas coloidales, se puede usar para controlar el proceso de agregado en un solvente. Por lo tanto, las interacciones y moléculas modificadas juegan un papel importante en las partículas o partícula/ambiente. Además, el tamaño y la forma de una nanopartícula individual pueden influir en la estructura y morfología de los ensamblajes [31].

2.6.1 Fuerzas de Van der Waals

La fuerza de Van der Waals, como fuerza motriz fundamental, es ampliamente utilizada para guiar los procesos de autoensamblaje. Estas son las fuerzas residuales de atracción o repulsión, que se originan de las fluctuaciones electromagnéticas debidas a movimientos

incesantes de cargas positivas y negativas dentro de todo tipo de átomos y moléculas. Típicamente, la fuerza de Van der Waals incluye tres tipos diferentes: fuerza de Keesom, fuerza de Debye y fuerza de dispersión de London, que aparecen respectivamente entre dipolos permanentes, entre un dipolo permanente y un dipolo inducido correspondiente, entre dipolos inducidos instantáneamente.

2.6.2 Fuerza electrostática

La fuerza electrostática también juega un papel importante en los procesos de autoensamblaje. Las nanopartículas generalmente se modifican con moléculas de protonación o desprotonación que absorben los iones cargados en las superficies, lo que puede conducir a la agregación de nanopartículas por interacción electrostática. En la solución acuosa, la interacción electrostática depende en gran medida de factores como el valor de pH, la fuerza iónica o tipo de los electrolitos. Las repulsiones electrostáticas comúnmente protegen las nanopartículas coloidales contra la agregación o coagulación entre nanopartículas cargadas, lo que mejora estabilidad coloidal. Por el contrario, la atracción electrostática ocurre entre nanopartículas con carga opuesta puede ser útil para controlar la concentración de las nanopartículas en el autoensamblaje de nanoestructuras. El atractivo electrostático es uno de las herramientas más utilizadas en los autoensamblajes basados en soluciones.

2.6.3 Otras fuerzas

Para mantener la estabilidad de los coloides o el autoensamblaje inducido de nanopartículas, existen diferentes tipos de interacciones moleculares entre nanopartículas o campo magnético físico, como el enlace de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, enlace covalente, fuerzas de agotamiento, interacciones dipolo-dipolo e interacciones magnéticas [31].

2.6.4 Maduración de Ostwald

El conocimiento sobre la maduración de Ostwald no es un proceso nuevo, su importancia en la síntesis y formación de objetos en nanoescala aumenta todo el tiempo. Recientemente, el envejecimiento y maduración de diversas sales de plata coloidal en presencia de estabilizadores se utilizan en el examen de la maduración de Ostwald en detalle [52]. Bajo

las condiciones apropiadas, los nanocoloides pueden sintetizarse para tener distribuciones de tamaño de partículas esféricas bien controladas y exhibir características únicas. En años más recientes ha habido una gran cantidad de interés en las versiones no esféricas de estos sistemas coloidales. Las morfologías anisotrópicas son interesantes no solo en términos de comprender el desarrollo de sus formas sino también porque ofrecen una variedad de nuevas oportunidades para explotar a los nanocoloides en la tecnología. Para ser comercialmente prácticos, estos nanocoloides deben ser estables con el tiempo. Las partículas coloidales se vuelven cada vez más inestables con la disminución del tamaño de partículas debido al aumento relativo en el área superficial de mayor energía. Entonces por definición se puede decir que la maduración de Ostwald es un envejecimiento que consiste en la transferencia del soluto desde partículas pequeñas a las grandes, a través de la solución.

La ecuación de Gibbs-Thomson (Ec. 1) expresa esta inestabilidad de fase en términos de la concentración de solubilidad, $C(r)$, de una partícula con radio r :

$$C(r) = C^{\circ} \exp\left(\frac{2\gamma V_m}{rRT}\right) \quad \text{Ec. 1}$$

Donde C es la solubilidad de un átomo tomado de una superficie plana infinita, V_m es el volumen molar de la partícula, γ es la energía superficial, R es la constante de los gases, y T es la temperatura. La inestabilidad depende de este tamaño, lo cual, conduce a la maduración de Ostwald, que es la transferencia de átomos a lo largo del tiempo de partículas más pequeñas y menos estables a partículas más grandes. Lo que se ha hecho evidente en los últimos años es que esta influencia de tamaño en la inestabilidad de la energía libre se vuelve aún más aguda cuando las partículas de metal se reducen por debajo de un tamaño crítico [53, 54]. Este fenómeno es importante mencionarlo, ya que es uno de los posibles mecanismos que siguen las nanoflores y las dendritas en su autoensamblaje.

2.7 Propiedades de nanoestructuras metálicas

Propiedades insólitas de la física, química y biología pueden surgir en los materiales que tienen una estructura nanométrica. Estas propiedades presentan una respuesta y comportamiento distinto a los materiales a granel [55]. El grado de anisotropía de este tipo de nanoestructuras es claro en los vértices, lo que favorece la resonancia de plasmones

superficiales localizados (LSPR) y genera alta mejora del campo electromagnético. En plasmónica, las nanoestructuras metálicas pueden servir como antenas para dirigir la luz hacia ubicaciones con precisión nanométrica. LSPR ocurre a través de una fuerte interacción entre la luz incidente y los electrones libres en las nanoestructuras [56].

2.7.1 Propiedades ópticas

Michael Faraday fue el primero en describir las nanopartículas metálicas, ya que en 1847 descubrió que las propiedades ópticas de los diminutos cristales de oro dispersados en agua diferían de las del metal a granel, las cuales presentaban una fuerte tonalidad de rojo rubí. Ésta fue probablemente la primera observación de los efectos de confinamiento cuántico, producido cuando los electrones son confinados en una partícula menor del espacio que tienden a recorrer espontáneamente en un determinado metal a una determinada temperatura [57].

Las nanopartículas pueden presentarse como un fino polvo, depositadas sobre una superficie, formando patrones ordenados o desordenados, embebidas en el interior de otro material sólido o dispersas en un líquido formando lo que se llama una suspensión coloidal. A principios del siglo XX, Gustav Mie propuso una explicación basada en la interacción de la luz con los electrones de las partículas. Para ciertos valores del tamaño de la partícula y de la frecuencia de la luz incidente sobre la misma, se puede lograr que los electrones se muevan oscilando de forma colectiva, dando lugar a lo que se denomina plasmón. La energía absorbida en una cierta frecuencia cambia el espectro de la luz reemitida. De esta manera, si se controla el tamaño y la forma de la nanopartícula, se pueden obtener disoluciones coloidales rojas, anaranjadas, verdosas, azules, etc. [58].

Una de las muestras más interesantes de las propiedades ópticas de las nanoestructuras es la copa de Licurgo. La característica más notable de esta copa es que en condiciones normales de iluminación externa el vidrio asume un color verde, pero cuando se ilumina desde adentro, se observa un rojo fuerte (figura 2.2). Los análisis han demostrado que el vidrio de la copa de Licurgo, contiene pequeñas cantidades de polvo de oro incrustadas dentro de él, estas pequeñas partículas metálicas en suspensión dentro de la matriz de vidrio, tienen diámetros comparables a las longitudes de onda de la luz visible. Como consecuencia, se puede producir una forma de excitación plasmónica (una oscilación de los electrones libres en la superficie

de una partícula de metal, a una cierta frecuencia). En la copa, las propiedades de color dependen principalmente de la reflexión cuando la luz está externa a la taza y la absorción y transmisión, cuando la fuente de luz es interna [28].



Figura 2.2 La copa de Licurgo se ve verde cuando la luz incide sobre él (a), pero de color rojo cuando la luz brilla dentro (b). La copa contiene nanopartículas de oro [28].

Los causantes de las propiedades ópticas en los nanomateriales, en pocas palabras, son los plasmones de superficie localizados, los cuales, son las oscilaciones colectivas de electrones restringidos en pequeños volúmenes metálicos. Para que este fenómeno ocurra, la partícula tiene que ser mucho menor que la longitud de onda de la luz incidente [59]. En la figura 2.3 se muestran una serie típica de disoluciones coloreadas que contienen nanopartículas de plata y su espectro de UV-Vis para algunos de los tubos, mostrando su banda de plasmón. Se observa que a medida que el tamaño de la partícula va creciendo, la solución muestra un color más intenso, siendo las soluciones claras (amarillas) las partículas más pequeñas y los más oscuros (azul-negro) las partículas más grandes.

2.7.1 Propiedades catalíticas

La importancia de las nanoestructuras en cualquier campo se atribuye a la alta área de superficie disponible para la reactividad química, que está ausente en los materiales a granel [60]. El campo donde más se ha aprovechado esta propiedad es para la degradación de colorantes. En términos de metodologías de eliminación de colorantes, se suele preferir el proceso de absorción debido a su costo económico y facilidad de operación Sin embargo,

desventajas tales como la remoción incompleta de contaminantes, baja eficacia de absorción y pobre estabilidad mecánica de los adsorbentes crean problemas para la eliminación efectiva de contaminantes. La fotodegradación de contaminantes es otra técnica que ha ganado enorme popularidad en los últimos años. Sin embargo, el generación de radicales libres dañinos, costos elevados y bajas tasas de degradación, son algunas de las principales preocupaciones que limitan la eficiencia de eliminación de este método. El advenimiento de los nanomateriales en general aborda estas limitaciones. En este enfoque, la funcionalización mejorada de la superficie del material en el rango nanométrico se explota su actividad catalítica para llevar a cabo la degradación fácil y eficaz de los contaminantes nocivos [61].

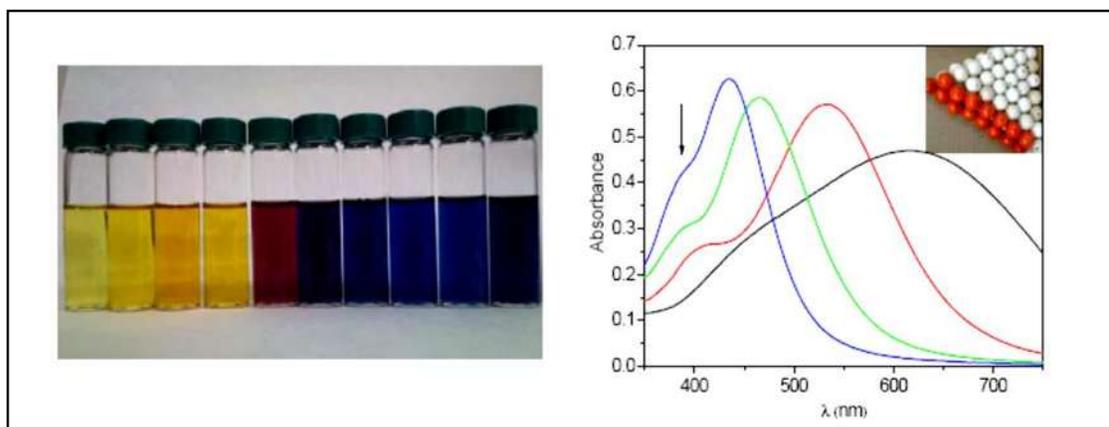


Figura 2.3 Fotografía de una serie completa (izquierda) tras la síntesis de nanopartículas de plata y espectro visible (derecha) mostrando algunas bandas de plasmón experimentales representativas. La foto insertada en el espectro muestra un “nanoprismo” de caras triangulares 111 (bolas blancas) con caras laterales 100 (bolas rojas) [59].

2.7.2 Propiedades antibacterianas

La actividad antibacteriana es presentado por compuestos que matan las bacterias a nivel local o ralentizan su crecimiento, los cuales se pueden clasificar como bactericida y bacteriostático, los agentes antibacterianos son de suma importancia para luchar contra enfermedades infecciosas, pero, debido al hecho de que las bacterias desarrollan resistencia contra muchos agentes antibacterianos comunes, las enfermedades infecciosas siguen siendo uno de los mayores problemas de salud en todo el mundo. Esto ha impulsado el desarrollo

de estrategias alternativas para el tratamiento de enfermedades bacterianas, entre ellos, los materiales a nanoescala han surgido como nuevos agentes antimicrobianos [62].

La Ag metálica, el cual, es uno de los elementos básicos que componen nuestro planeta, la plata pura tiene la más alta conductividad eléctrica y térmica [63], además, muestra sorprendentes propiedades antibacterianas. Desde tiempos remotos, los griegos y chinos utilizaban Ag para cocinar y comer porque se creía que esta práctica era más higiénica [27]. El mecanismo del efecto bactericida de la plata y las nanoestructuras aún no se ha entendido del todo. Varios estudios proponen que las nanoestructuras de Ag se pueden adjuntar a la superficie de la membrana celular perturbando la permeabilidad y funciones de respiración de la célula. Las nanoestructuras más pequeñas tienen una gran área de superficie disponible para la interacción con las bacterias, lo que daría un efecto bactericida mayor que el de las partículas más grandes. También es posible que las nanoestructuras, no sólo interactúen con la superficie de la membrana, si no también, puede penetrar dentro de la bacteria [64]. El mecanismo de acción de la Ag está relacionada con su interacción con compuestos del grupo tiol que se encuentran en las enzimas respiratorias de las células bacterianas [65].

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

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

Sin embargo, el aporte de individual de cada uno de los mecanismos de acción varía según las propiedades de las partículas sintetizadas (tamaño, morfología, recubrimientos), condiciones experimentales (luminosidad, temperatura, pH, concentración de oxígeno) y

tipos de microorganismos empleados. Por ejemplo, algunos autores señalan que la liberación de ROS es el mecanismo principal, en otro estudio se observó que la liberación de Ag^+ resultaba determinante, mientras que en algunos casos el daño a la membrana se determinó como la causa principal [66].

Un aspecto importante de la actividad antimicrobiana de las nanoestructuras de Ag es el efecto sinérgico que se produce cuando estas partículas se combinan con otros compuestos naturales y sintéticos. Por ejemplo, se ha reportado que las nanopartículas de Ag y la fenazina-1-carboxamida juntos aumentan el efecto antibacteriano frente a cepas resistentes a la meticilina de *Staphylococcus aureus* (MRSA) por 32 veces, resultado de alteraciones morfológicas de la pared celular bacteriana [67].

2.8 Aplicaciones de las nanoestructuras

Explorar los cambios que se producen en la materia a escala cuántica es la clave de las enormes posibilidades de innovación, del poder y del potencial de la nanotecnología. Manipulando los materiales a escala nanométrica, los científicos están transformando drásticamente y diseñando nuevos materiales [68].

Las nanoflores se componen de varias capas de pétalos para abarcar un área de superficie más grande en una estructura más pequeña, lo que se aprovecha en múltiples aplicaciones como en catálisis, biosensores para la detección rápida y precisa de afecciones como diabetes, parkinsonismo, Alzheimer, infección alimentaria, etc. También se ha descubierto que las nanoflores tienen una acción específica en un sitio y una administración controlada de fármacos. Las aplicaciones extendidas de las nanoflores cubren la purificación de enzimas, eliminación de colorantes y metales pesados del agua, detección de gas con óxido de níquel. Una investigación reciente muestra que la estructura 3D de las nanoflores mejoran la sensibilidad de la superficie mediante espectroscopía Raman. Este sistema de nanoflores actuará como un material inteligente en un futuro cercano debido a la alta relación superficie-volumen y mejorará la eficiencia de adsorción en sus pétalos [34].

Por otro lado, las dendritas son aplicadas para dispositivos SERS (por sus siglas en inglés *Surface-Enhanced Raman Scattering*) ya que es bien sabido que las señales SERS más intensas se obtienen a partir de moléculas adsorbidas en nanoestructuras de Ag. Debido a que la mejora de SERS es causada principalmente por el efecto electromagnético, los “puntos

calientes” ubicados en uniones o intersticios a nanoescala por agregación de nanoestructuras proporcionan un gran campo electromagnético. Las dendritas de Ag tienen un área superficial considerable y bloques de construcción de tamaño nanométrico con caras cristalográficas seleccionadas, por lo que se usan por su buena actividad catalítica. Superficies superhidrofóbicas son fabricadas para diferentes sustratos que contienen dendrita de Ag [69].

2.9 Discusión del estado del arte

Varios aspectos se han estudiado en la síntesis de nanoflores y dendritas de Ag, como lo es el mecanismo de formación de estas estructuras y sus aplicaciones como sustratos para SERS y en catálisis.

2.9.1 Nanoflores de Ag

Qingquan y col. [70] sintetizaron nanoflores de Ag utilizando moléculas de L-cisteína (l-cys) como agentes reductores y estabilizadores. Investigaron a fondo el mecanismo de crecimiento de las nanoflores de Ag mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) y espectroscopía ultravioleta visible (UV-vis), lo que demostró que hubo tres etapas clave en el crecimiento de las nanoflores de Ag:

- 1) Aparición de nanocristales primarios aglomerados para formar nanopartículas similares a multipods.
- 2) Había nanopartículas similares a multipods agregadas en nanopartículas parecidas a flores sueltas.
- 3) Las nanopartículas finalmente se convirtieron en nanoflores de Ag compactas a través de la maduración de Ostwald. El crecimiento de las nanoflores de Ag es muy sensible tanto a la concentración de estabilizador como de precursor.

Principalmente observaron un cambio de coloración de amarillo a blanco cremoso y luego amarillo brillante que lo atribuyeron a la reducción de los iones de Ag. Las nanoflores que obtuvieron dan más la semejanza a dendritas que en sí a nanoflores (figura 2.4).

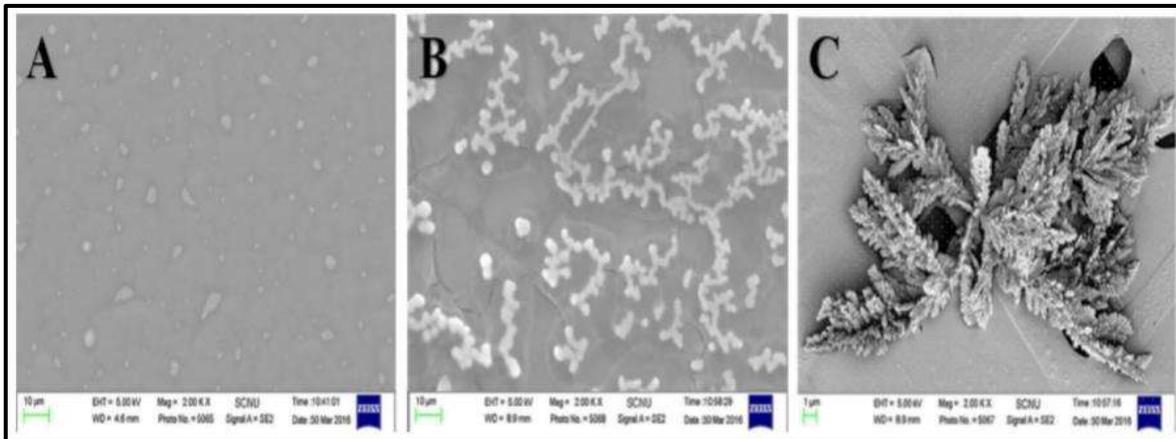


Figura 2.4 Imágenes de MEB de nanoflores de Ag que dependen del tiempo de crecimiento durante los procesos de crecimiento de la semilla.

Otras estructuras más similares a las que se han definido como nanoflores fueron sintetizadas por Bi [12] mediante un enfoque electroquímico, define que sus nanoflores están compuestas por cientos de nanohojas entrelazadas (figura 2.5), la cuales contienen numerosos “puntos calientes” lo que les da una alta sensibilidad SERS a los sustratos realizados por estas estructuras. El tiempo de depositación de la plata fue determinante para la obtención de las nanoflores, donde se puede observar que el tiempo ideal fue a los 90 min (figura 2.5 c).

Otro método utilizado por Xu y col. [71] fue un enfoque mediado por semillas, ellos obtuvieron ensamblajes de nanoláminas de Ag primarias que exhiben una arquitectura similar a una flor, presumen que sus nanoestructuras están químicamente limpias ya que no hubo surfactantes involucrados en el proceso. Controlaron el tamaño y la morfología de la nanoflores mediante el control de cantidad de semillas utilizadas (figura 2.6).

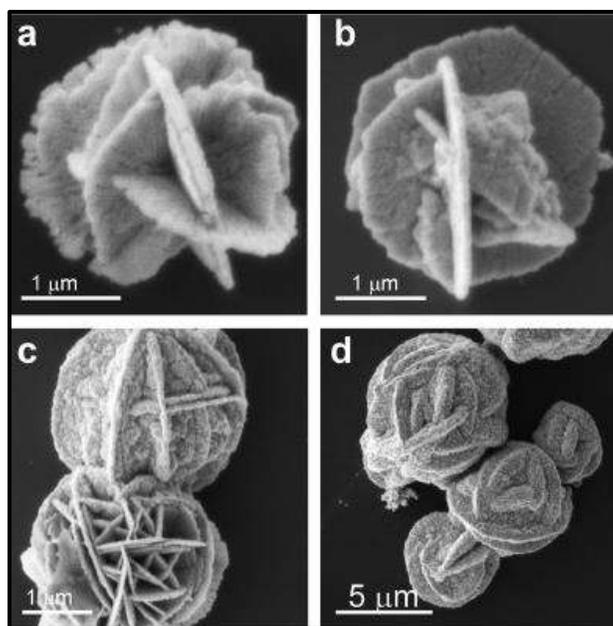


Figura 2.5 Imagen de MEB de estructuras de plata electrodepositada para diferentes tiempos. (a) 1 hora, (b) 70 minutos, (c) 90 minutos y (d) 100 minutos.

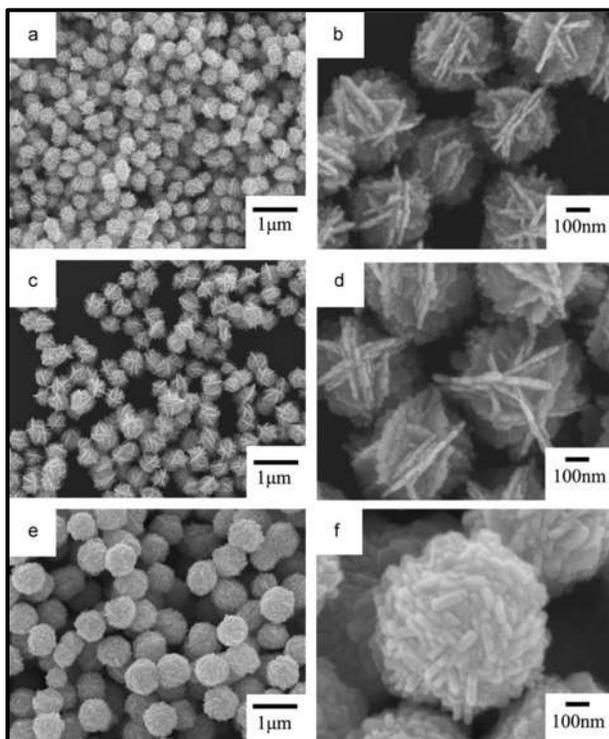


Figura 2.6 Imágenes de MEB de mesoestructuras de Ag similares a flores con la ayuda de (a-b) 0.5 ml, (c-d) 0.2 ml y (e-f) 0.05 ml de semillas de Ag.

Un trabajo que es importante mencionar es el de Molina y col. [72], ya que utilizaron un método completamente verde con el uso del extracto de *Kalanchoe Daigremontiana*. Aplicaron estas estructuras para la degradación de azul de metileno (figura 2.7) en distintos medios acuosos que fueron agua, tolueno y dimetilsulfóxido (DMSO). Ellos presumen la alta eficiencia de las nanoflores de Ag como agentes degradantes, obteniendo un tiempo de 1 min en tolueno, cabe resaltar que utilizaron como catalizador el borohidruro de sodio. Por otro lado también realizaron prueba antibacteriales frente a *E. Coli* y *S. Aureus* obteniendo una buena actividad antibacteriana.

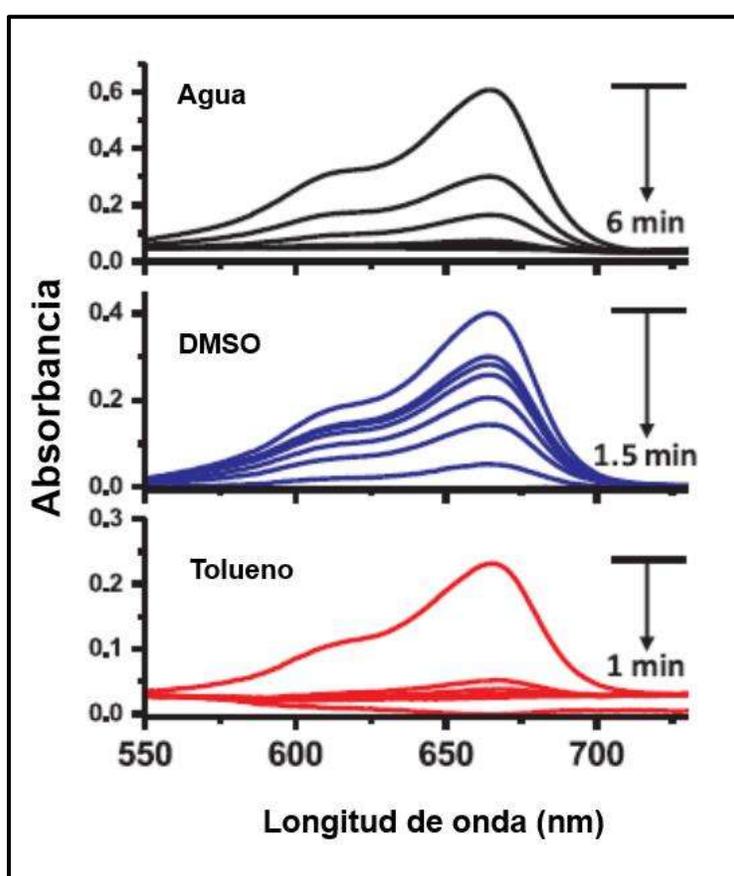


Figura 2.7 Espectros de UV-vis para la degradación fotocatalítica de azul de metileno en presencia de nanoflores de Ag con diferentes disolventes: agua, DMSO y tolueno.

2.9.2 Dendrita de Ag

Dentro del estado del arte de la síntesis de estructuras fractales o dendritas de Ag hay una amplia variedad de trabajos publicados, por mencionar algunos está el caso de Dhanush y col. [73] que las sintetizaron mediante reacción de sustitución galvánica, obteniendo una longitud del tronco principal de 1 a 10 micras, además de que estas dendritas estaban interconectadas entre sí (figura 2.8). Estas estructuras las aplicaron para la detección de paracetamol.

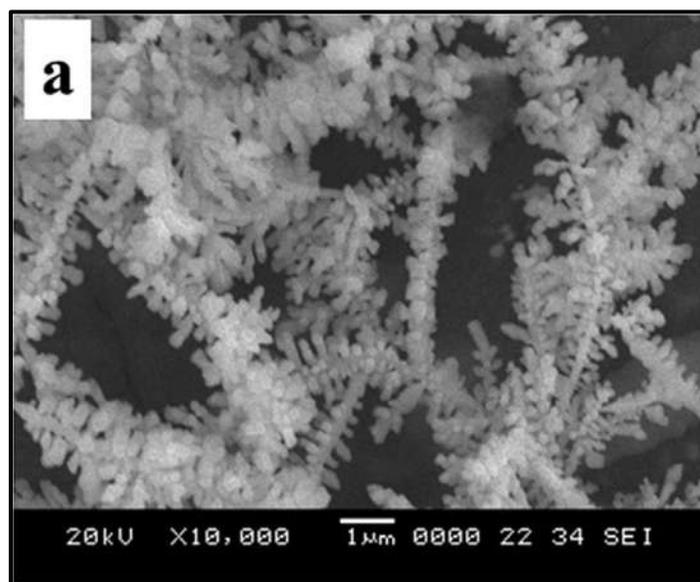


Figura 2.8 Imagen de MEB de dendrita de Ag.

Cheng y col. [74] obtuvieron dendrita de Ag mediante un método de deposición electroquímica, donde mediante la concentración de AgNO_3 controlaron la forma de la dendrita (figura 2.9)

A modo de que tanto para nanoflores como dendritas no hay métodos verdes utilizando extractos de Ag se buscó literatura sobre nanopartículas de Ag para la determinación de los posibles compuestos orgánicos que hacen la reducción de los iones de Ag. Ibrahim [75], estudió más a fondo las sustancias orgánicas contenidas en el extracto de cáscara de plátano (*Musa sapientum*), responsables de la reducción de nanopartículas de Ag. Se realizó por medio de FT-IR, haciendo dos mediciones, una antes y otra después de la reacción. En la figura 2.10 se muestra el espectro (extracto sin AgNO_3) donde muestra varios picos que

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

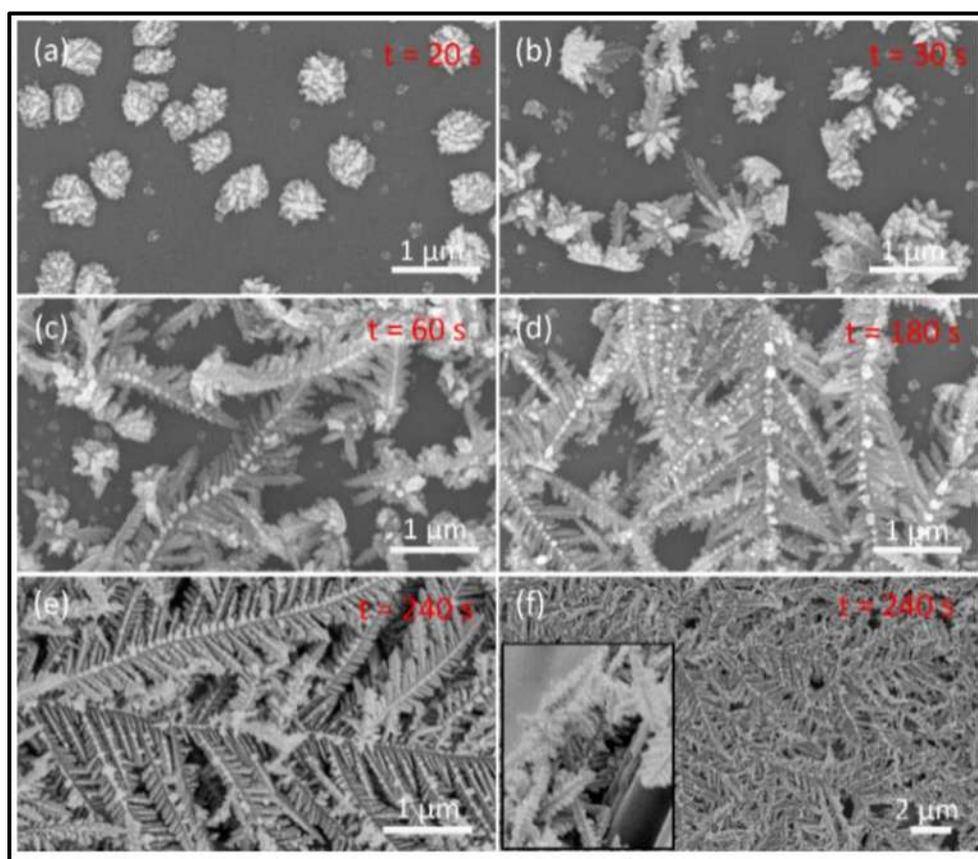


Figura 2.9 Imágenes de MEB de dendritas de Ag obtenida mediante deposición electroquímica.

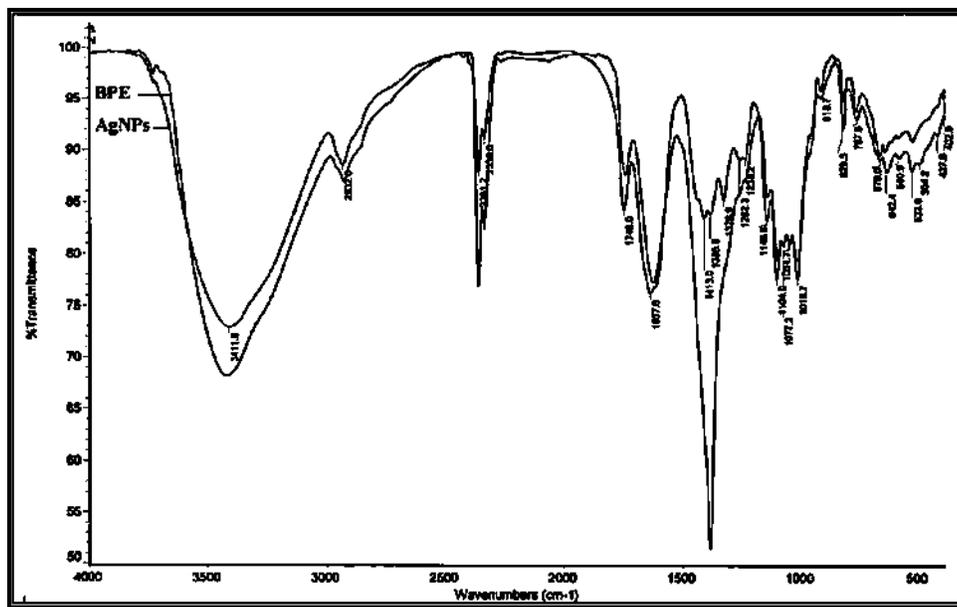


Figura 2.10 Espectro de FT-IR del extracto de cáscara de plátano (BPE) y las nanopartículas de plata.

2.10 Pingüica (*Arctostaphylos pungens kunth*)

El fruto de pingüica fue seleccionado para el estudio del presente trabajo, el cual, proviene de un arbusto de hojas oblongas, las flores terminan en racimos, sus pétalos son de color rosado y el fruto es drupáceo, con pulpa granulosa y el aspecto de una manzanita. Por el alto contenido de taninos en toda la planta ésta se emplea como diurético, astringente y antinefrítico. Los indígenas prehispánicos de México comieron mucho esas frutillas de la planta pingüica, tanto por ser muy alimenticias como porque el sacaruro que contienen aumentan la orina y disminuye la albúmina [76]. En el fruto se han detectado pirocatequina, una resina y taninos [77].

Lo anteriormente descrito, en cuanto a los métodos utilizados para la síntesis de nanoflores y dendritas de Ag y toda la información recaudada, se apoyó para la realización de la metodología que se menciona a continuación en el capítulo 3 y para explicar el posible comportamiento en cuanto a los resultados obtenidos que se estudiaron en este proyecto.

CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El diagrama de flujo de la figura 3.1 se describe de manera resumida, las etapas principales de la experimentación, constando de 7 etapas importantes que se explicarán más detalladamente a continuación.

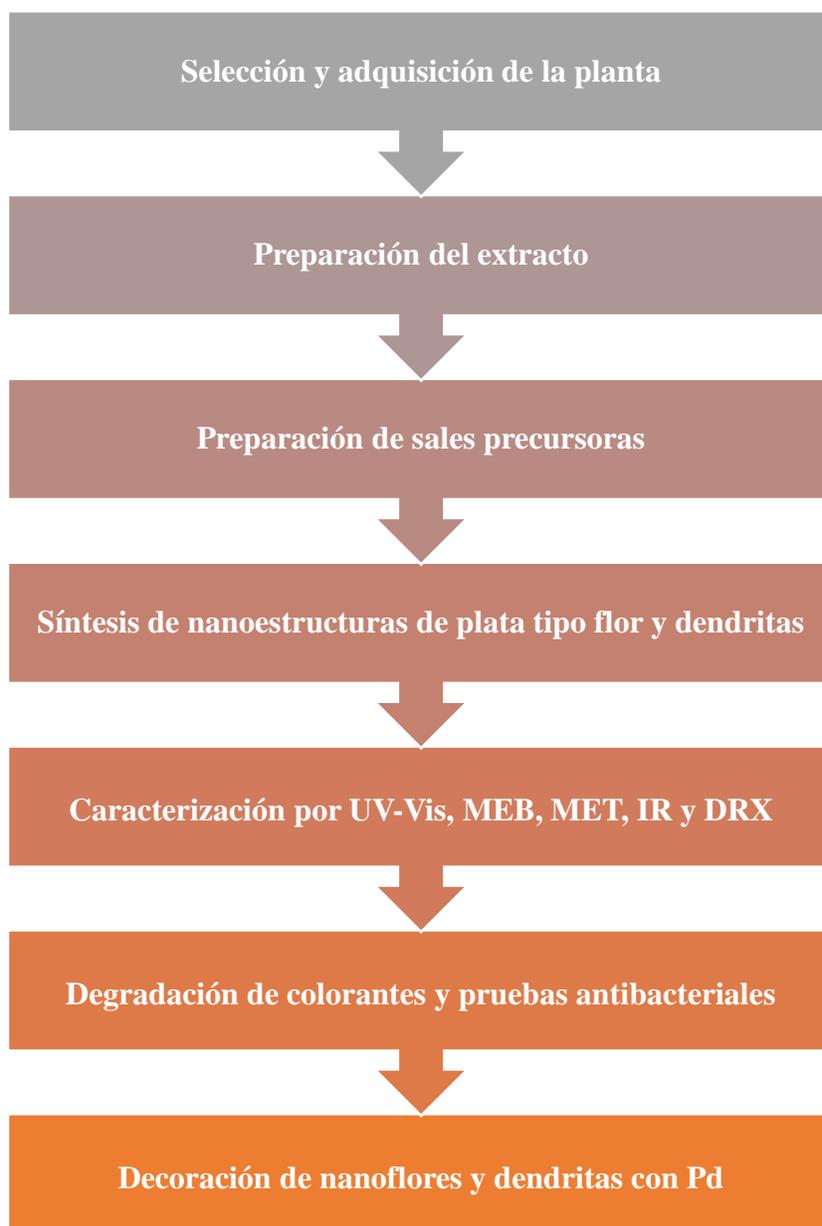


Figura 3.1 Diagrama de flujo de las actividades experimentales llevadas a cabo.

Se variaron distintos parámetros para estudiar la influencia de ellos en la reacción para la obtención de las nanoestructuras de Ag, en la tabla 3.1 se resumen estos parámetros.

Tabla 3.1 Parámetros de reacción utilizados en la experimentación.

Nanoestructura	AgNO ₃ (mM)	Con luz	Tiempo de reacción (días)	Estado de maduración	Decoración con Pd	
Nanoflores	6	Sí	5	Verde	No	
				Intermedio		
				Maduro		
		No	1, 3, 5, 8, 10 y 15	Seco		
Dendritas	10	Sí	5	Verde		No
				Intermedio		
				Maduro		
		Sí	8	Seco	Sí	
No	8					

3.1 Selección y adquisición de la planta

Las planta seleccionada para el estudio de la síntesis de nanoestructuras de plata es el fruto de pingüica (*Arctostaphylos pungens kunth*), elegida principalmente porque es utilizada en la medicina tradicional mexicana, es originaria de México y no ha sido reportada en la literatura, además se tiene la certeza de que no es tóxica por estudios previos [78]. Para el estudio de la influencia del proceso de maduración del fruto, se tomaron 4 estados que fueron: inmaduro, intermedio, maduro y seco, los 3 primeros se obtuvieron de manera directa de un arbusto ubicado dentro de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (Figura 3.2), mientras que el fruto seco se adquirió en el mercado independencia ubicado en Morelia, Michoacán. En la figura 3.3 se muestran las características del fruto bajo estudio.



Figura 3.2 Arbusto de pingüica.

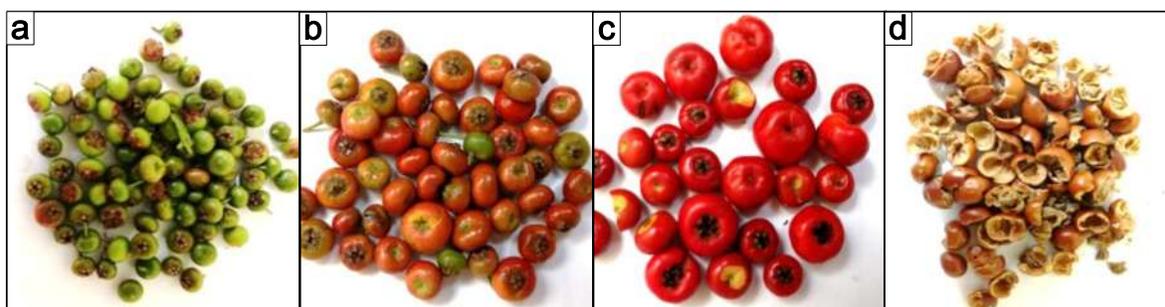


Figura 3.3 Fruto de pingüica: (a) inmaduro, (b) intermedio, (c) maduro y (d) seco.

3.2 Preparación de extracto

Los extractos se realizaron agregando 2 g del fruto de pingüica en 50 ml de agua destilada, se calentó el agua hasta su punto de ebullición, posteriormente se agregó el fruto (sin aplicar más calor) y se tapó el vaso de precipitados en el que se encontraba el agua dejando la mezcla en agitación continua por 30 minutos; después se filtró el extracto para retirar los residuos del fruto y se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente.

3.3 Preparación de las sales precursoras

Para la preparación de la sal precursora, se utilizó la sal de nitrato de plata (AgNO_3) la cual se disolvió en agua destilada, se preparó una molaridad de 6 y 10 milimolar (mM). De manera

adicional se prepararon soluciones de K_2PdCl_4 a una concentración de 0.25, 0.5, 0.75 y 1 mM para observar el efecto de esta sal sobre las nanoestructuras ya obtenidas. Estas soluciones se almacenaron en frascos ámbar para evitar la descomposición con la luz.

3.4 Síntesis de nanoestructuras de Ag

De manera general, se agregó el $AgNO_3$ (6 y 10 mM) en los distintos extractos (diferentes tiempos de maduración) que se realizaron anteriormente con una relación 1:1 extracto-sal precursora. Para las muestras que se estudiaron en oscuridad, se taparon los frascos con papel aluminio evitando en todo momento el contacto con la luz, mientras que para las muestras que fueron estudiadas bajo la influencia de la luz se dejaron destapadas, cabe recalcar que no estuvieron bajo el sol directamente si no que estuvieron expuestas indirectamente. Por otro lado los tiempos de reacción que se manejaron fueron de 1, 3, 5, 8, 10 y 15 días.

3.5 Síntesis de nanoestructuras de Ag decoradas con Pd

Se lavaron las muestras obtenidas a los 8 días de reacción (dendritas) mediante una centrifuga a 5,000 rpm durante 20 minutos, tratando de quitar iones de Ag que hayan quedado sin reaccionar y evitar la formación de cloruro de plata ya que la sal de Pd (K_2PdCl_4) utilizada para este estudio contiene iones de cloro, una vez que se lavaron las soluciones se agregó inmediatamente el K_2PdCl_4 a las concentraciones anteriormente mencionadas y se dejaron reaccionando por 1 día.

3.6 Caracterización estructural de nanoestructuras de Ag

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

3.6.1 Espectroscopía de ultra violeta visible (Uv-vis)

Esta técnica es de gran relevancia en el estudio de las nanoestructuras suspendidas en solución (coloides), debido a que se puede realizar el análisis en líquido y las corridas son relativamente rápidas [79]. Las nanoestructuras de Ag, tienen la característica de que interactúan de manera muy importante con ciertas longitudes de onda de la luz, exhibiendo

una banda de absorción característica en el UV- vis, la cual no está presente en el espectro del metal a granel. Esta banda de absorción se encuentra en un rango de 400 y 470 nm [80] para las nanopartículas de plata, en el caso de las nanoestructuras esta banda es más amplia.

Esta técnica es de gran importancia para determinar la formación de nanopartículas y se realizó por medio de un espectrofotómetro miniatura de la marca *Ocean Optics*, modelo USB 400.

3.6.2 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Por esta técnica de caracterización fueron analizadas las nanoestructuras de Ag para corroborar los resultados obtenidos por UV-vis en lo referente al tamaño, forma aproximada y composición química, además, se realizó un análisis y mapeo químico para constatar la presencia de Ag. El microscopio electrónico de barrido utilizado es de la marca JEOL JSM-7600F. Este microscopio cuenta con un detector de EDS para efectuar un análisis químico puntual. MEB y UV-vis fueron primordiales para este trabajo.

3.6.3 Espectroscopía infrarroja (FT-IR)

Se utilizó la técnica de espectroscopía de infrarrojo por medio de un espectrómetro Bruker Tensor 27 que trabaja con un rango de operación $4000-400\text{ cm}^{-1}$, se sometieron bajo estudio el extracto, nanoflores y dendritas, con el cual se definieron los grupos funcionales presentes en el extracto, y se obtuvo una aproximación de las posibles sustancias que actúan como reductores y estabilizantes en la síntesis.

3.6.4 Difracción de rayos X (DRX)

Una vez obtenidas las nanoflores y dendritas se estudiaron por difracción de rayos X en un difractómetro Bruker modelo D8 que trabaja a 40 kV para confirmar que se trata efectivamente de cristales de plata.

3.7 Actividad catalítica de nanoflores de Ag

La actividad catalítica de las nanoflores de Ag se evaluó mediante la técnica UV-Vis reduciendo azul de metileno, la rodamina B y naranja de metilo a concentraciones de 0.3 mM, 0.1 mM y 0.25 mM, respectivamente. Durante las mediciones de degradación, las

muestras se expusieron a la luz solar dispersa en el laboratorio. Se utilizaron nanoflores de Ag en polvo, eliminando la humedad de las muestras. Se añadieron 1,5 mg/ml de nanoflores a las soluciones acuosas que contenían cada tinte. Se realizaron experimentos de degradación del azul de metileno para conocer la concentración mínima de degradación variando la concentración de nanoflores de Ag (0,5, 0,75, 1,0, 1,25 y 1,5 mg/ml) en base a trabajos anteriores [81, 82]. La concentración de colorante restante a las 24 h se determinó mediante la absorbancia utilizando la ley de Beer-Lambert [83].

Las curvas de calibración de los colorantes se realizaron en los rangos 0.006-0.3 mM para azul de metileno y 0.0056-0.1 mM para rodamina B con buenos coeficientes de correlación ($R = 0.9813$ azul de metileno y $R = 0.9964$ rodamina B). La ecuación 1 determina el % de degradación.

$$\% \text{ Degradación} = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Donde C_0 es la concentración inicial de la solución y C es la concentración final de la solución a 24 h. La constante de velocidad de reacción k también se calculó usando la ecuación 2, donde A_t es la absorbancia, A_0 es la absorbancia inicial y t es el tiempo.

$$\ln\left(\frac{A_t}{A_0}\right) = -kt \quad \text{Ec. 2}$$

3.8 Pruebas antibacteriales

La introducción de elevadas cantidades de antibióticos en el mercado mundial y el abuso irracional de los mismos ha provocado una alteración ecológica de los gérmenes, produciendo que estos agentes desarrollen la capacidad de inactivarlos [84]. Para que los estudios de sensibilidad de los microorganismos a antibióticos tengan aplicación y validez clínica, es necesario que los procedimientos de laboratorio que la investigan sean confiables, por lo que es necesario una normalización en la metodología [85].

Las bacterias seleccionadas para el estudio fueron las cepas Gram positivo *Staphylococcus aureus* (ATTC25923) y la Gram negativo *Escherichia Coli* (ATTC25922). El método

seleccionado para el estudio fue el método de Kirby-Bauer y la determinación de la concentración mínima de inhibición para cada una de estas cepas.

3.8.1 Prueba de disco o de Kirby-Bauer

La difusión de disco o la prueba de Kirby-Bauer es una de las técnicas clásicas de microbiología, y todavía se usa con mucha frecuencia. Debido a su conveniencia, eficiencia y bajo costo, el método de difusión de disco es probablemente el método más utilizado para determinar la resistencia a los antimicrobianos en todo el mundo [86]. A continuación se explican los pasos que se llevaron a cabo para la prueba mencionada.

3.8.2 Medio de cultivo

- 1.- Se preparó el medio de cultivo con agar de Müller-Hinton (figura 3.4 a-b) el cual se preparó de acuerdo a las instrucciones de la casa manufacturera, una vez que se pesaron y se agregó el polvo de Müller-Hinton en matraces Erlenmeyer con agua destilada, se calentó la solución hasta el punto de ebullición la cual se mantuvo hasta que la apariencia turbia (figura 3.5 a) que tenía la solución cambio a cristalina (figura 3.5 b). Se monitoreó el caldo con tiras indicadoras de pH para verificar que este se encontrara a un pH de 7.
- 2.- Se esterilizó el agar en los mismos matraces en una autoclave durante 15 min.
- 3.- Una vez esterilizado el agar, se creó una zona estéril mediante dos mecheros de bunsen, lo cuales aportan un perímetro de 10 cm alrededor de la mecha de cada uno, para agregar el agar en cajas de Petri que ya estaban esterilizadas (figura 3.6).

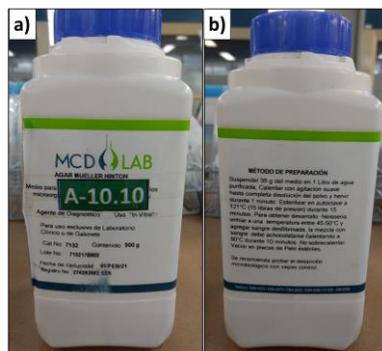


Figura 3.4 (a) Agar Müller-Hinton para uso “*In Vitro*” y (b) sus correspondientes instrucciones de preparación.

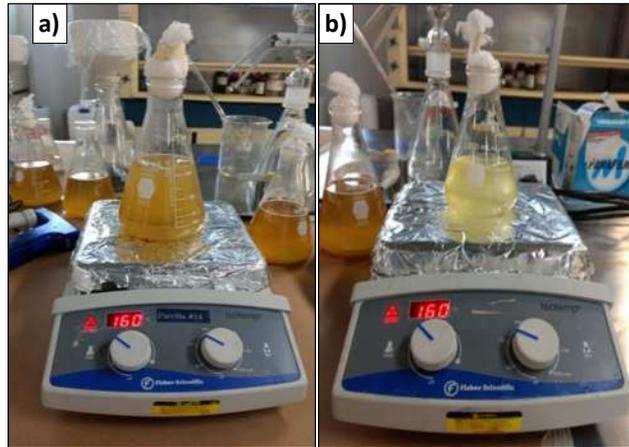


Figura 3.5 (a) Agar de Müller-Hinton turbio y (b) Agar de Müller-Hinton cristalino.



Figura 3.6 Zona estéril creada con mecheros de Bunsen.

4.- Una vez que ya estaban listas las cajas de Petri con el agar, se dejaron incubando en un horno que se encontraba a una de temperatura de 37°C en un tiempo de 18-24 h, para comprobar que no se contaminaron, ya que si hubo una contaminación, en el agar se iban a encontrar bacterias.

5.- Ya que se revisaron las placas de agar, las que no estaban contaminadas se guardaron bajo refrigeración.

3.8.3 Preparación de inóculo

En el siguiente esquema (figura 3.7) se muestra de manera concisa como se preparó el inóculo. Se puede observar en el esquema que se tomaron bacterias que ya estaban determinadas y caracterizadas con un asa de siembra, se colocaron los inóculos que se tomaron con el asa en un tubo de ensayo que contenía solución salina estéril hasta que se llegó a una turbidez de Mc Farland de 0.5, el cual corresponde a 10^8 microorganismos viables por ml. Después se introdujo un hisopo en el inóculo para extenderlo en una placa de agar teniendo cuidado de que quedara toda cubierta la superficie. Por último se colocaron pequeños discos de papel filtro esterilizado e impregnado con las nanoestructuras de plata sobre las placas de agar y se dejó incubando 24 h para posteriormente observar si hubo halos de inhibición o no.

3.8.4 Determinación de la Concentración Mínima Inhibidora

La cuantificación de la actividad *in vitro* de los antimicrobianos se evalúa habitualmente mediante algunas de las variantes de los métodos de dilución. La Concentración Mínima Inhibitoria (MIC por sus siglas en inglés *minimum inhibitory concentration*) se define como la mínima concentración de antimicrobiano (en $\mu\text{g/ml}$) que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37°C . La MIC se ha establecido como "gold Standard" frente a otros métodos que evalúan susceptibilidad antimicrobiana; además de confirmar resistencias inusuales, da respuestas definitivas cuando el resultado obtenido por otros métodos es indeterminado [87].

3.8.5 Medio de cultivo

Para el caldo se repitió el mismo procedimiento que se utilizó para el medio de cultivo del método de Kirby-Bauer, sólo que se utilizó Caldo de Müller-Hinton (figura 3.8). Una vez preparado el caldo se agregaron 3 ml en cada uno de los tubos de ensayo que se esterilizaron para la prueba en una autoclave por 15 min.

3.8.6 Preparación de inóculo

- 1.- Al caldo que se preparó anteriormente se le colocaron las cepas con un asa para siembra en uno de los tubos de ensayo, hasta llegar a la turbidez de Mc Farland 0.5, se dejó incubando por 24 h.
- 2.- Una vez que se incubó el inóculo se agregaron 100 ml a los otros tubos de ensayo que contenía el caldo sin bacterias junto con el material bajo estudio, cabe mencionar que se extrajo caldo estéril ajustando un volumen final de 3 ml, esto se incubó de nuevo por 24 h.
- 3.- Ya que se observó la turbidez en los tubos, se colocó una gota de 10 μ l sobre placas de agar de cada una de los tubos y se dejó incubando de nuevo.

3.8.7 Pruebas con nanoflores y dendritas

Para la prueba de Kirby-Bauer se utilizaron 1, 20, 50, 100, 120 y 150 ppm de las nanoestructuras de tipo flor y árbol, mientras que para los MIC's se utilizaron 1, 5, 15 y 20 ppm. Cada una de las pruebas se repitieron tres veces para comprobar que tuviera reproducibilidad y tuvieran una mayor validez los resultados.

Las pruebas se realizaron en la Universidad de la Ciénega de Estado de Michoacán de Ocampo en el municipio de Sahuayo, Michoacán. Esto se realizó bajo la asesoría y supervisión de la Doctora Yvaín de los Ángeles Salinas Delgado.

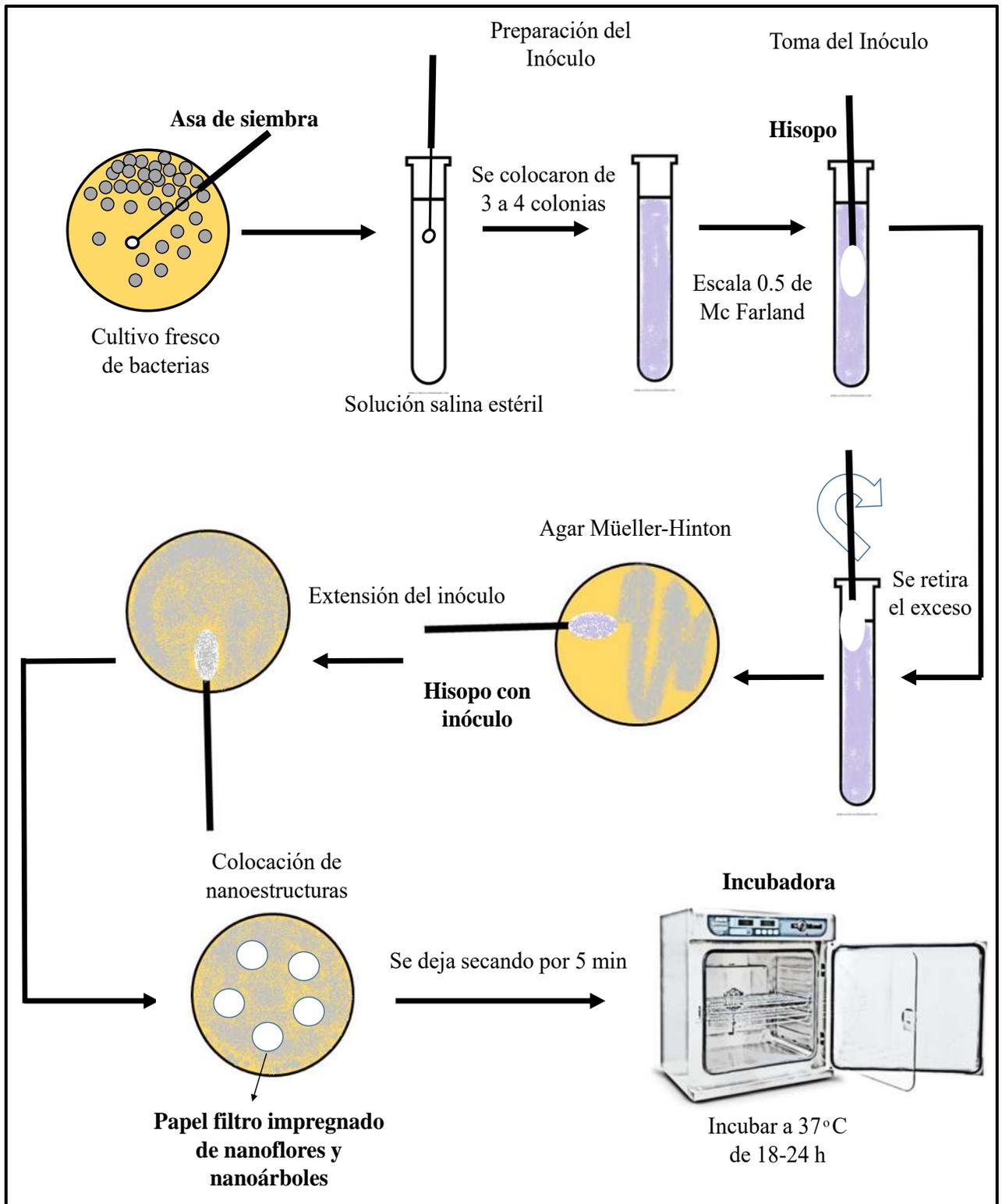


Figura 3.7 Esquema de la preparación del inóculo.



Figura 3.8 Medio de cultivo Müller-Hinton para MIC.

CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En esta sección se presentan los resultados obtenidos, los cuales, se centran principalmente en el tamaño y la morfología obtenida de acuerdo a los distintos parámetros que se emplearon durante el proceso de biosíntesis, con el fin de optimizar la obtención de nanoflores y dendritas de Ag mediante el uso del extracto del fruto de pingüica.

4.1 Síntesis de nanoflores de Ag función de tiempo

Después de que se realizó la síntesis con 6 mM de AgNO_3 en el extracto de pingüica, en primera instancia se notó un cambio de color característico en las muestras que indican que hay presencia de nanoestructuras de plata [88], en las primeras etapas de reacción que fue visualmente observado en la solución de reacción entre el AgNO_3 y el extracto acuoso del fruto de pingüica (figura 4.1). En la solución inicial se observa que es de color transparente, después de 40 minutos de reacción hay un ligero cambio de color, sin embargo, es hasta los 180 minutos que se nota una alteración más intensa a café claro que va oscureciéndose conforme pasa el tiempo hasta cambiar a una tonalidad café oscuro apreciado después de 660 minutos, después de tomar este color no hay variación aparente. Esto lo reportó Cruz y Col. [89], quienes sometieron bajo estudio el fenómeno de la banda de plasmón de superficie característico de las disoluciones acuosas de nanopartículas metálicas, las sintetizaron mediante un método bien establecido (reducción de aniones de plata con borohidruro de sodio), en el cuál observaron que en el plasmón intervienen diversos factores. Estos son: la naturaleza del metal, forma, tamaños y grado de dispersión [90], método de síntesis, del medio en su entorno inmediato, composición del medio [91], entre otros.

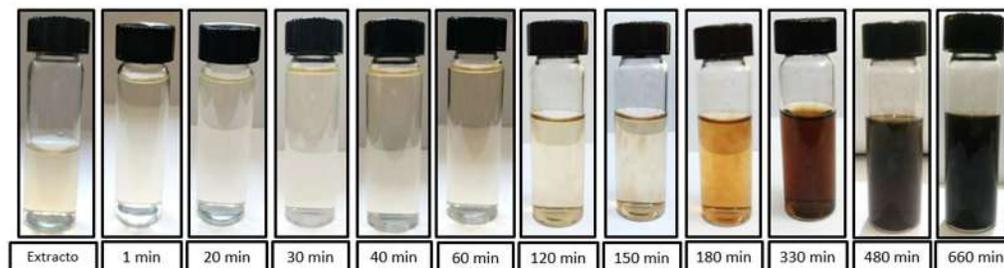


Figura 4.1 Cambio de color de las soluciones sintetizadas con extracto de pingüica en función de tiempo.

Para constatar la reducción de los iones de plata por medio del extracto de pingüica, se analizaron las soluciones mediante la técnica de Uv-vis. La figura 4.2 muestra los espectros de UV-Vis de la solución después de la reacción para obtener nanoflores de Ag en función del tiempo, que va desde el primer día hasta los quince días de reacción en completa oscuridad.

Se observa que desde la primera medición (un día de reacción) aparece un pico agudo y ancho que comienza en 400 nm y termina en 570 nm, esto describe la excitación colectiva de electrones de conducción del metal Ag [92], el cuál varía en base al tamaño de las nanoestructuras, su forma y si están polidispersas o no, lo que indica que el ensanchamiento del pico, se atribuye a que existen un amplio rango de tamaños de las nanoestructuras o bien son polidispersas. A medida que va avanzando el tiempo el pico aumenta su intensidad, indicando que hay una mayor cantidad de nanoestructuras de plata, del mismo modo, el pico se ensancha a medida que crece en intensidad y se observa que a los 15 días de reacción alcanza su mayor ensanchamiento estando este entre los 355 y 650 nm, este fenómeno se debe a que las nanoestructuras que están presentes son muy polidispersas debido a que las unidades estructurales que componen el ensamblado son de distintas dimensiones.

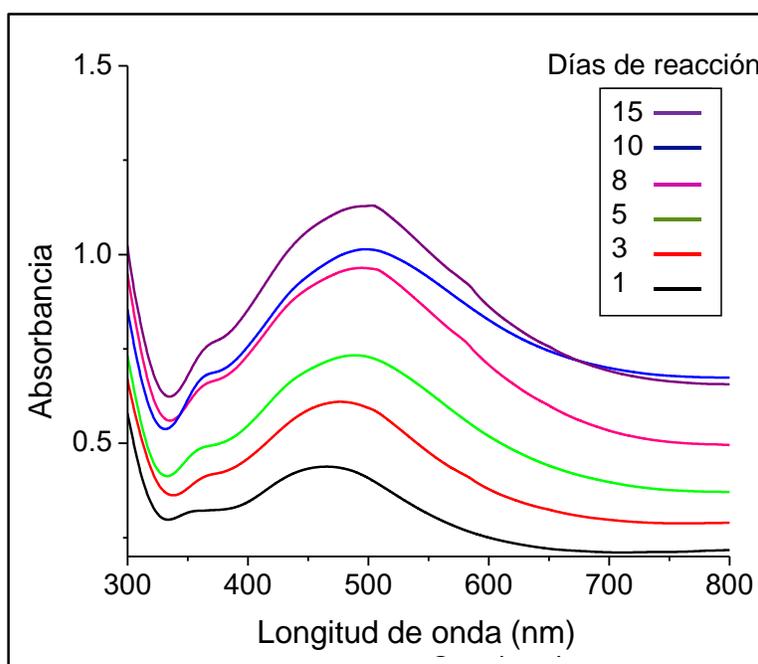


Figura 4.2 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras de Ag sintetizadas con el extracto del fruto de pingüica con 6 mM de AgNO_3 en función del tiempo.

Kuppusamy y Col. [93] sintetizaron nanopartículas de Ag mediante el uso del extracto de brócoli donde monitorearon la reacción en función del tiempo mediante Uv-vis siendo que el pico de la plata se manifestó a los 450 nm; al igual que en el presente trabajo, ellos obtuvieron un comportamiento similar al obtenido con las nanoestructuras de plata, donde el pico del plasmón se intensifica conforme avanza el tiempo de reacción, indicativo de que hay una mayor cantidad de nanopartículas sintetizadas, en este caso nanoestructuras.

Las figuras 4.3 y 4.4 muestran micrografías MEB de bajo y alto aumento de los productos reducidos por el extracto acuoso de pingüica en función del tiempo y a una concentración de la sal precursora AgNO_3 6 mM. En general, las imágenes MEB de bajo aumento muestran una buena dispersión de los productos reducidos (columna de la izquierda). Mientras que en las micrografías de gran aumento ilustradas en la columna de la derecha, aparecen en detalle nanoestructuras jerárquicas similares a una flor con múltiples nanohojas agregadas [94].

En particular, el tamaño y la morfología de las nanoestructuras se registraron en función del tiempo de reacción, como se muestra en la figura 4.3 a-b. Los productos tienen diámetros de 300 nm después de 1 día de reacción. Sin embargo, son más compactos y aumentan a 400 nm después de 3 días (figuras 4.3 c-d). Además, las nanoflores están morfológicamente definidas y aumentan alrededor de 500 nm después de 5 días (figuras 4.3 e-f). En este caso, las unidades 2D orientadas aleatoriamente dentro de la estructura (recuadro) contienen nanopétalos de entre 20 y 50 nm de espesor medidos directamente en la imagen.

Cuando la reacción alcanza los 8 días (figuras. 4.4 a-b), la morfología de la flor cambia, donde la partícula se parece más a una bola de hilo compuesta de nanofibras entrelazadas como bloques de construcción en una estructura jerárquica similar a una flor; además, el producto aparece distribuido uniformemente con tamaños de 540 a 600 nm. Finalmente, después de 10 y 15 días de reacción, los diámetros de las estructuras resultantes aumentan a aproximadamente 1 μm (figuras 4.4 c-d y 4.4 e-f).

Después de 15 días de reacción, la estructura en forma de flor tiende a desintegrarse, atribuida a la degradación o transformación del extracto acuoso de las biomoléculas. Las moléculas naturales del extracto cumplen la función de estabilizar y dirigir el crecimiento de nanoestructuras, como se advierte mediante el uso expreso de tensioactivos [95-99]. En este caso, es aconsejable añadir más extracto acuoso de pingüica para mantener una estructura un poco más estable.

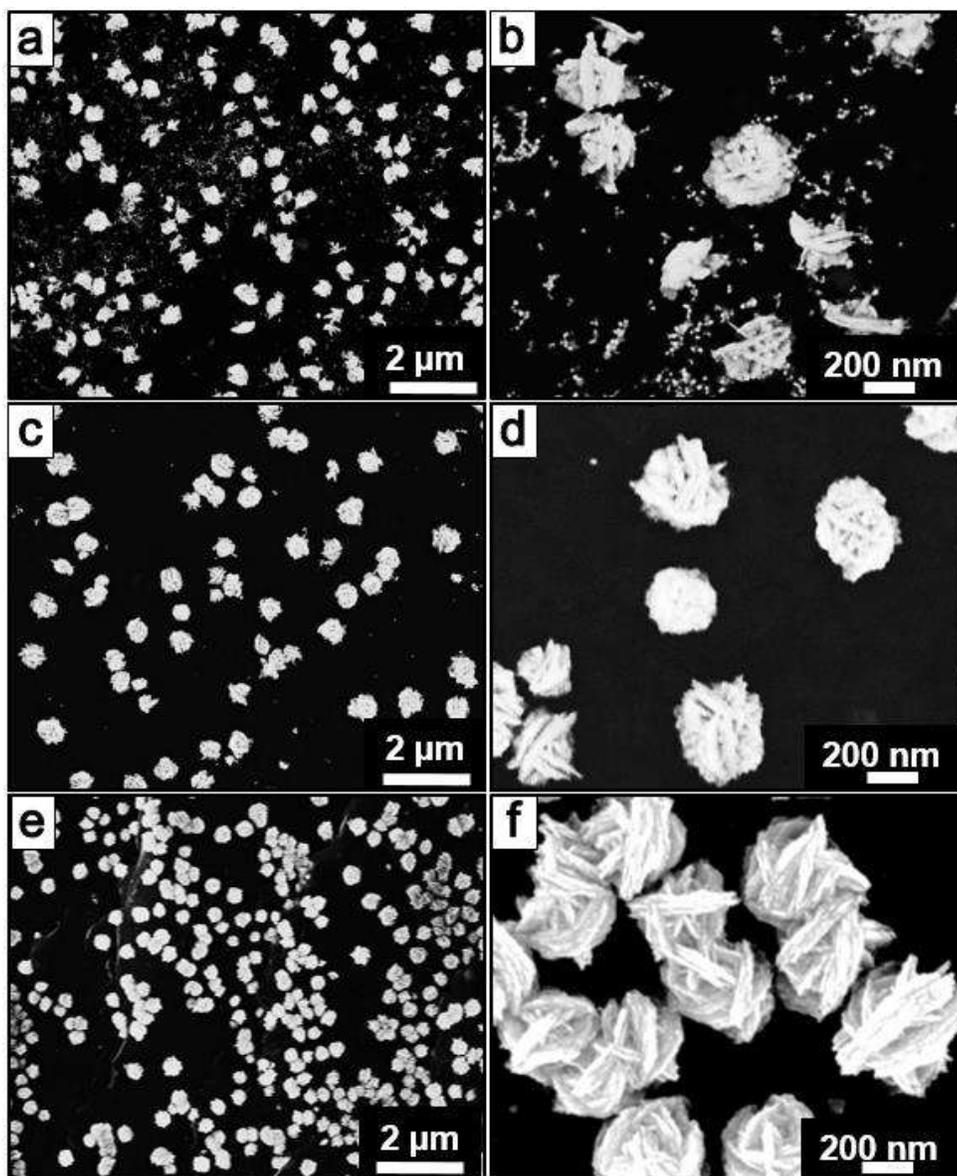


Figura 4.3 Imágenes de MEB de muestras en función del tiempo sintetizadas con fruto de pingüica y 6 mM de AgNO_3 , (a-b) 1 día de reacción, (c-d) 3 días de reacción y (e-f) 5 días de reacción.

Las figuras 4.5 a-b muestra la morfología de las nanoflores registradas después de ocho días de reacción integradas por la superposición de nanorodillos en diferentes orientaciones cristalográficas. Este autoensamblaje, no informado anteriormente, es una de las novedades de este trabajo. La Figura 4.5 c muestra el análisis químico de EDS y su correspondiente mapeo elemental de las flores (figuras 4.5 a y d), indicando únicamente la presencia del elemento Ag. Además, la plata aparece distribuida espacialmente por toda la nanoestructura. El elemento de cobre proviene del portamuestras empleado.

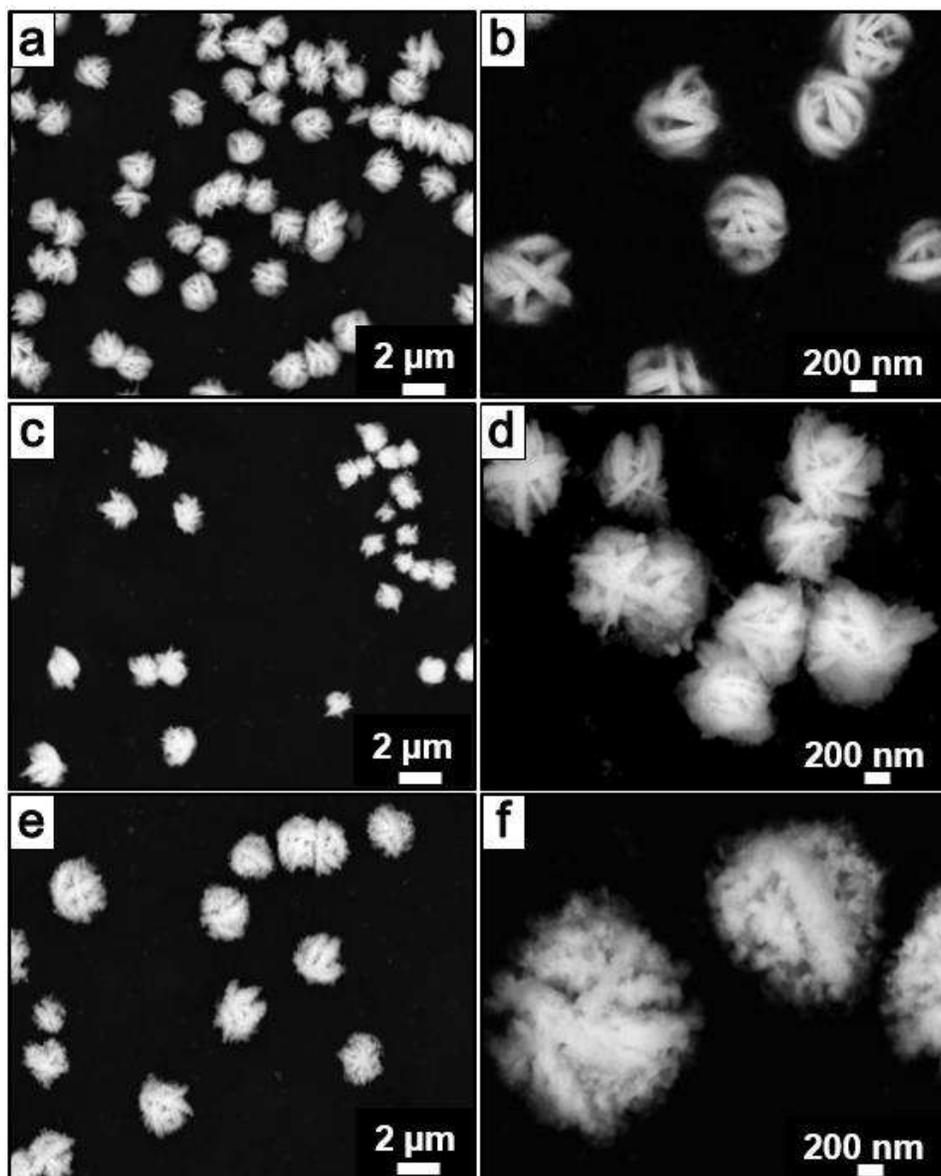


Figura 4.4 Imágenes de MEB de muestras en función del tiempo sintetizadas con fruto de pingüica y 6 mM de AgNO_3 , (a-b) 8 días de reacción, (c-d) 10 días de reacción y (e-f) 15 días de reacción.

Según estos resultados, el extracto de la fruta de pingüica es adecuado para reducir los iones Ag para formar nanoestructuras similares a flores. Al mismo tiempo, se puede controlar el tamaño y la morfología de la flor de Ag dependiendo de los tiempos de reacción entre 1 día y 15 días.

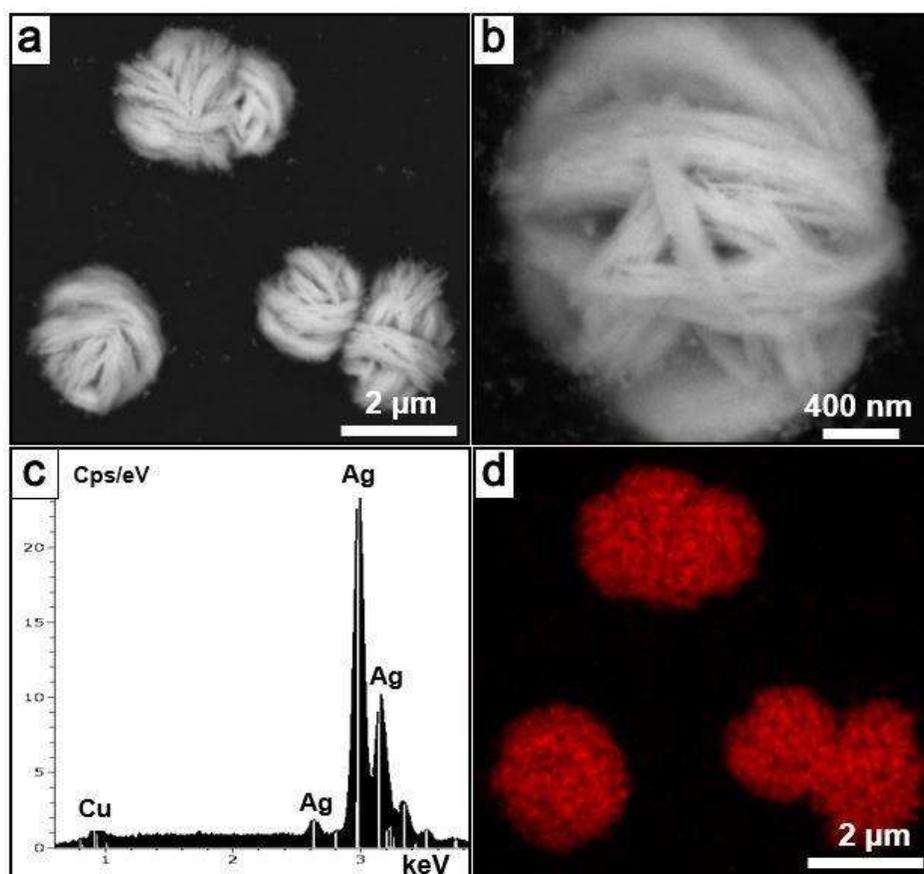


Figura 4.5 Micrografías de MEB y composición química de la muestra a los 8 días de reacción, (a-b) micrografías a diferentes aumentos, (c) espectro EDS y (d) mapeo elemental EDS.

4.2 Síntesis de dendritas de Ag en oscuridad y bajo la influencia de la luz

Los resultados obtenidos en este apartado corresponden a las muestras con 10 mM de AgNO_3 , en la imagen 4.6 a se ilustra el color generado a un minuto de reacción, mientras que en la figura 4.6 b se muestra la reacción después de 24 h bajo la influencia de la luz, en esta muestra el cambio de coloración se mostró a los 40 min, cambiando de un color amarillo pálido casi transparente a un marrón que fue tornándose más oscuro conforme pasaba el tiempo, sin embargo después de las 24 h ya no se apreció algún otro cambio de color significativo.

En la ilustración 4.6 c se aprecia la reacción después de 24 h sin la influencia de la luz, es decir, en completa oscuridad, en primera instancia se observa un cambio de color de amarillo pálido a un verde oliva, este cambio de coloración se presentó hasta las 6 h de reacción, después de las 24 h no hay otro cambio aparente de color. Comparativamente en estas muestras, la solución que está bajo la influencia de la luz, reacciona de manera más rápida que la que está en

completa oscuridad. Estos cambio de color indican que hay presencia de nanoestructuras de Ag [88]. Un trabajo similar se realizó por Tang y Col. [100], donde se estudió el factor de la luz solar sobre la reacción de síntesis de las nanopartículas de plata y comparativamente con el trabajo presentado, se observó un mismo comportamiento, en donde los colores de las soluciones variaban de amarillo a verde o azul, dependiendo si las muestras estuvieron en oscuridad o bajo la luz del sol.

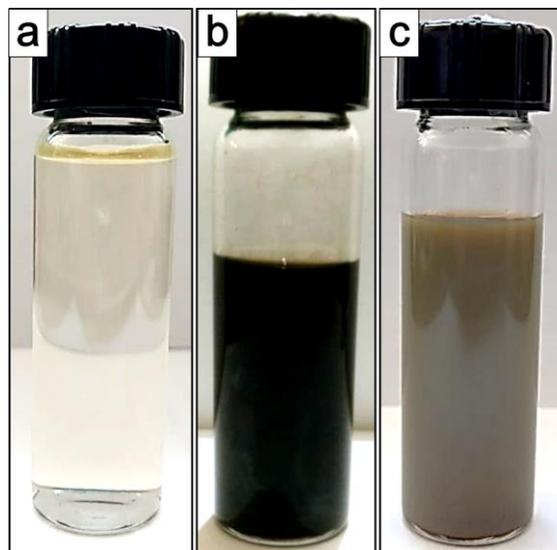


Figura 4.6 (a) Inicio de reacción a un tiempo de 1 minuto, (b) reacción bajo la influencia de la luz y (c) reacción sin la influencia de la luz.

La figura 4.7 a-b muestra los espectros de UV-Vis de la solución después 24 h de reacción bajo la influencia de la luz y a oscuras. En ambos casos se puede observar la aparición del pico característico de la plata demostrando la formación de coloides de plata dado que las nanoestructuras de plata exhiben un pico de absorción intenso debido al plasmón superficial, que describe la excitación colectiva de electrones de conducción [92, 101]. En el espectro de la muestra en oscuridad (figura 4.7 a) el pico comienza a 320 nm pero este termina en 560 nm, mientras que la muestra que fue expuesta a la luz (figura 4.7 b) se observa un pico ancho que comienza en 320 nm y termina en 650 nm. Comparando estos resultados se puede apreciar que la muestra que estuvo en la luz, es más intenso que el que estuvo en completa oscuridad, indicando que hay una mayor cantidad de nanoestructuras formadas en la muestra con luz en el tiempo de 24 h.

Se ha comprobado mediante estudios reportados anteriormente [102, 103], que la luz del sol en la síntesis verde se utiliza como un agente catalizador para la síntesis de nanoestructuras de plata. Se puede acertar que la influencia de esta radiación ayuda a una mejor eficiencia de la reacción, lo cual se podría atribuir a que las sustancias orgánicas de los frutos de pingüica son activadas mediante la energía luminosa, reconociendo los mecanismos biológicos de su función natural al estar expuestas a la luz solar.

En las micrografías de MEB (figura 4.7 c-d) se puede observar la influencia de la luz en las morfologías y tamaños obtenidos de las nanoestructuras. En la ilustración 4.7 c, que es la reacción a oscuras, se observa una estructura en forma de árbol o mejor conocida en la literatura como dendrita, la cual logra crecer hasta un tamaño de 5 a 7 micras. Esto determina que la cantidad de agentes de superficie incluidos en el fruto no son suficientes para frenar la gran cantidad de iones reducidos a un tamaño controlado y nanométrico, llegando a alcanzar hasta micras en la estructura formada. Este crecimiento de agregados es atribuida a un crecimiento anisotrópico [104].

Por otro lado en la muestra que estuvo sometida a la luz (figura 4.7 d) hubo un aumento en la velocidad de reducción del fruto de pingüica que se manifiesta por el mayor tamaño de las estructuras observadas, se puede apreciar notoriamente que esta estructura es más grande que la anterior, sin embargo, también se puede presenciar una estructura dendrítica [105].

En la figura 4.8 a-d, se presentan los análisis químicos efectuados a los productos biosintetizados a oscuridad, en donde se observa, la imagen amplificada en gris mostrando una de las dendritas de Ag (figura 4.8 a), los cuales se conforman de varias unidades pequeñas que registran tamaños nanométricos, como las que se despliegan en la figura 4.9. El análisis químico puntual a confirmando que las nanoestructuras se componen de Ag en su composición, esto es mostrado en la figura 4.8 d.

Las dendritas se compone entonces de varias unidades con formas hexagonales y nanopartículas que se agregan y se encuentran interconectadas unas con otras formando hojas simétricas de ramificaciones, las cuales se ven como un árbol de múltiples hojas. Se observa que la longitud de estas unidades (figura 4.9) varían desde un tamaño menor a 100 nm para las nanopartículas agregadas y de 120 nm aproximadamente para las formas triangulares y hexagonales agregadas, sin embargo, de acuerdo al número de dimensiones que caen en el

rango nanométrico se puede decir que estas pertenecen a las nanoestructuras 1 D con una relación de aspecto baja.

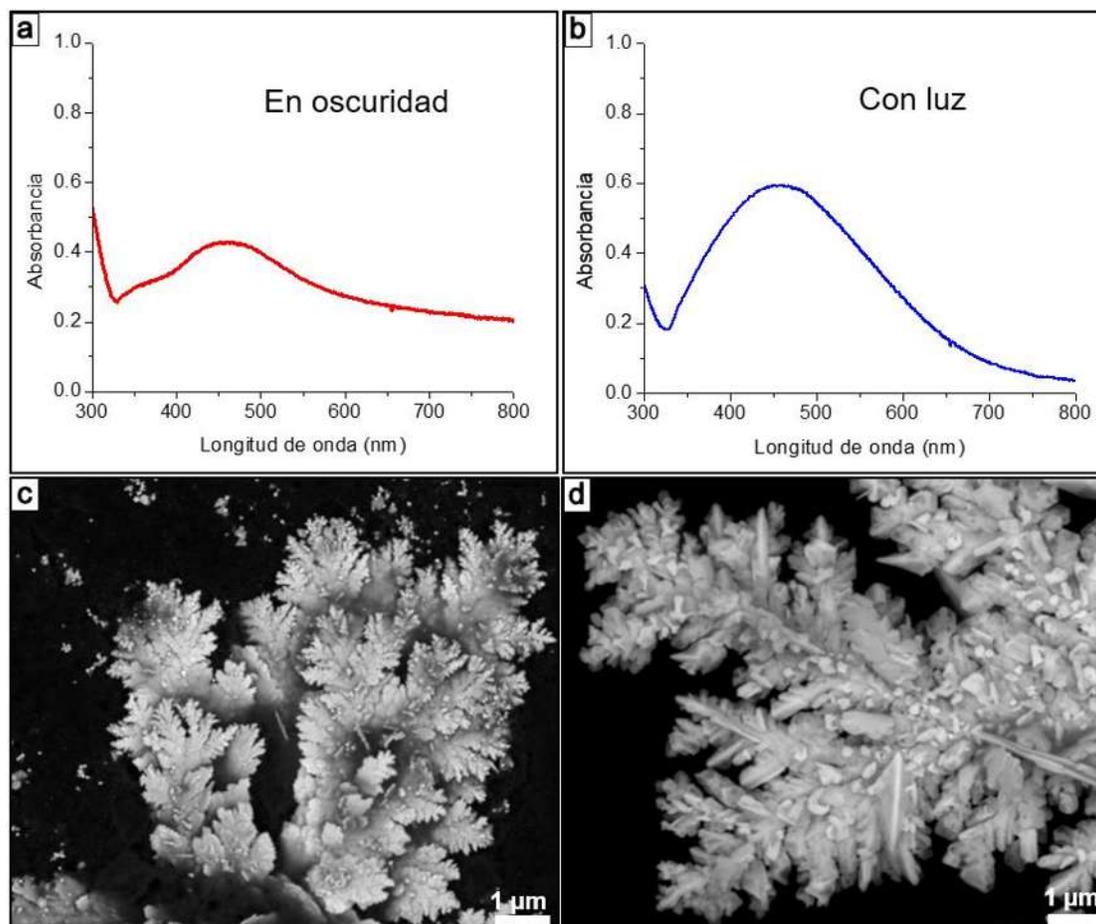


Figura 4.7 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras de Ag tipo árbol sintetizadas con el extracto del fruto de pingüica con 10 mM de AgNO_3 a 8 días de reacción (a) en oscuridad y (b) con luz. Imágenes de MEB de muestras sintetizadas, (c) en oscuridad y (d) con luz.

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

Por otro lado, el resultado obtenido con la muestra sometida a la radiación de la luz es de igual manera una como el mostrado en la figura 4.10. En comparación con la otra muestra, se observa que se compone más como una sola pieza desarrollada que por partículas que coalescen entre ellas, sin embargo, se puede también apreciar que hay pequeñas nanopartículas adheridas en la superficie de la estructura dendrítica. Se estima que la velocidad de crecimiento es mucho mayor formando las estructuras de mayor tamaño rebasando el rango nanométrico. Los análisis químicos confirman también la composición los cuales son presentados en la figura 4.11 a-d, confirmando que efectivamente estas nanoestructuras están conformadas por Ag pura.

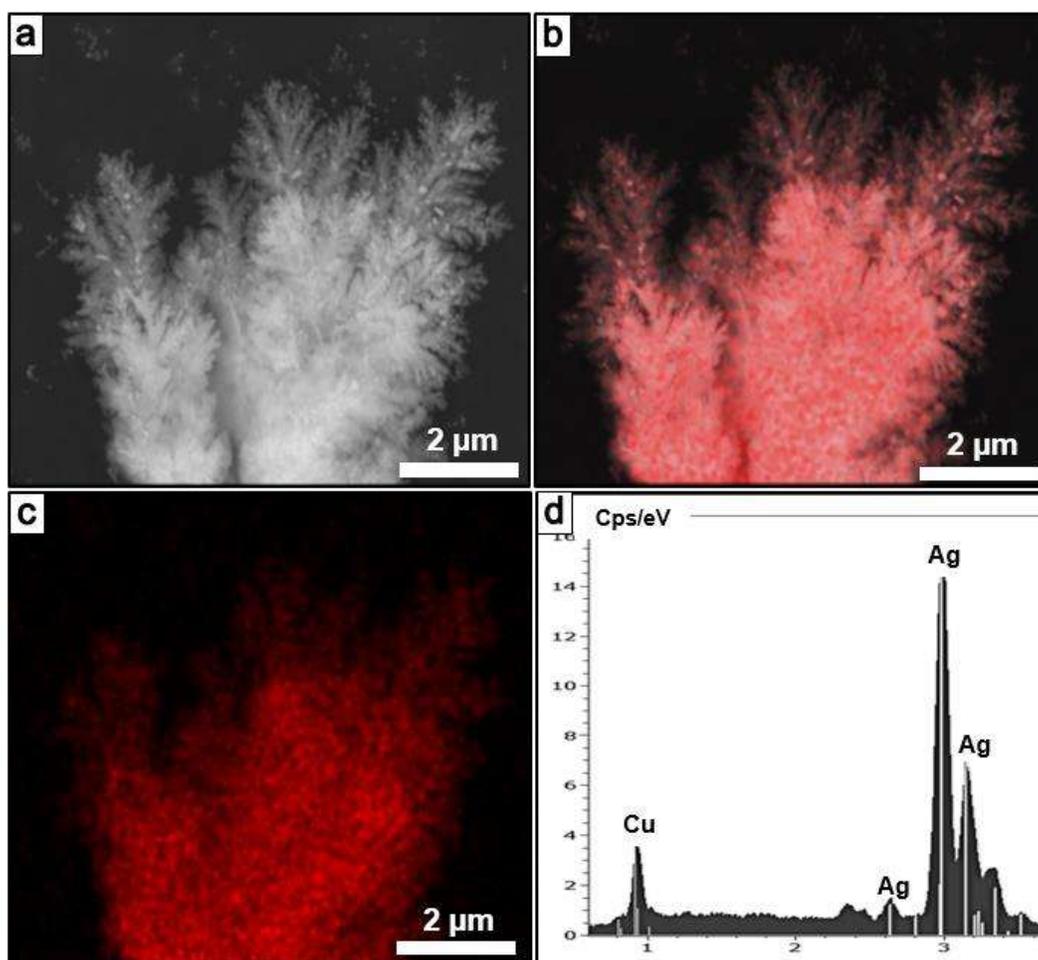


Figura 4.8 (a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 10 mM de AgNO_3 en oscuridad y (d) análisis químico por EDS.

Es importante recalcar que un estudio sistemático de estas dendritas que se ha realizado mediante biosíntesis con extracto de pingüica no existe aún en la literatura, sin embargo, trabajos realizados por métodos no eco-amigables han utilizado, donde se sintetiza con una diversidad de sustancias [106], los resultados se presumen con novedosas propiedades para sus aplicaciones como detección de fármacos [73], para superficies superhidrofóbicas [107], catálisis [108], espectroscopía Raman de superficie mejorada [109] y para fluorescencia de superficie mejorada (SEF) [55].

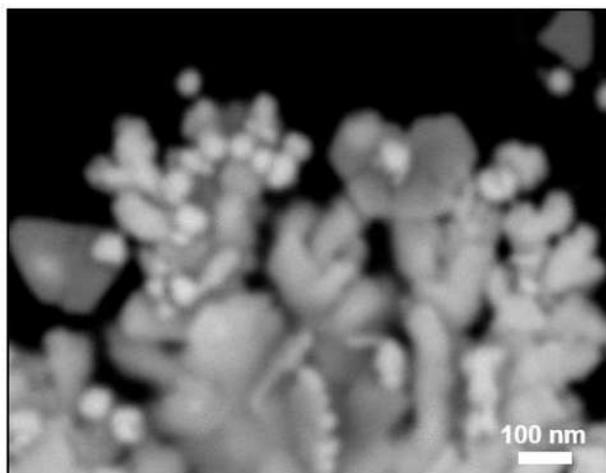


Figura 4.9 Imágenes de MEB de nanopartículas de plata sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO₃ a 100,000 X.

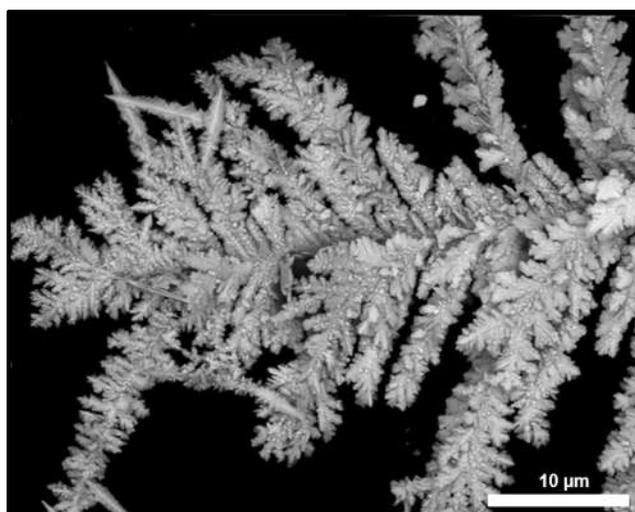


Figura 4.10 Imagen de MEB de nanoárboles de plata sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO₃, en presencia de luz.

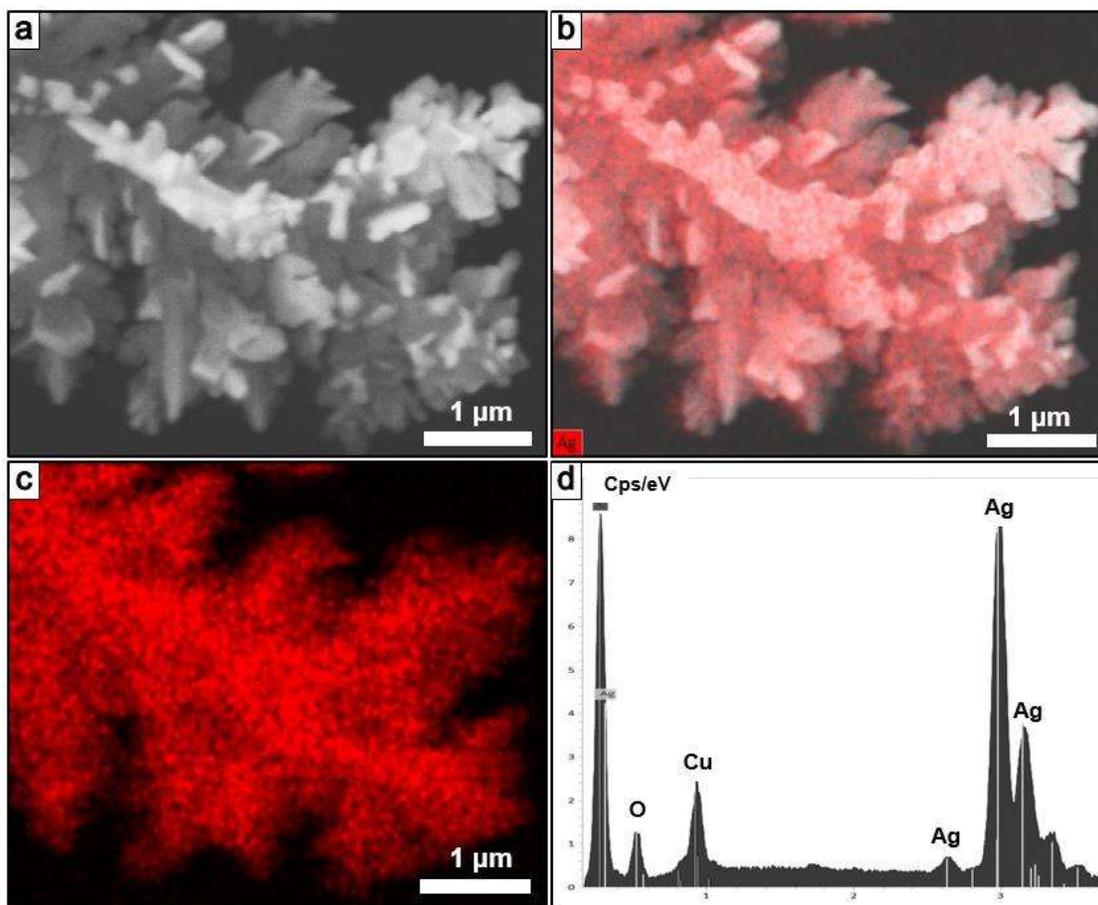


Figura 4.11 (a-c) Mapeo químico de la muestra sintetizada por fruto de pingüica con 10 mM de AgNO_3 bajo la influencia de la luz y (d) análisis químico por EDS.

4.3 Síntesis de nanoflores y dendritas bajo la influencia del estado de maduración del fruto de pingüica

Antes de comenzar con esta sección cabe resaltar las características de pingüica la cual proviene de un arbusto, es una especie leñosa, perenne, usualmente de 0.5 a 3 m de altura con flores de color blanco a rosa mexicano mientras que el fruto es una drupa comestible globosa deprimida, lisa, de aproximadamente 5 a 8 mm, carnosa [110]. La fruta carnosa durante su estado inmaduro contiene ácidos orgánicos luego, durante la maduración experimenta profundas modificaciones fisiológicas, bioquímicas y estructurales [111, 112] que conducen a la adquisición del color y sabor característicos de la fruta. Durante ella, se produce una acumulación lenta y continua de azúcares, se desarrollan las sustancias responsables del sabor y aroma, y declina sustancialmente la cantidad de almidón y de ácidos

[113]. Por esta razón se decidió hacer un estudio realizando los extractos con 4 diferentes estados de maduración del fruto que se muestran en la figura 4.12, para observar un efecto en la velocidad de reacción, morfología y tamaño de las nanoestructuras de Ag.

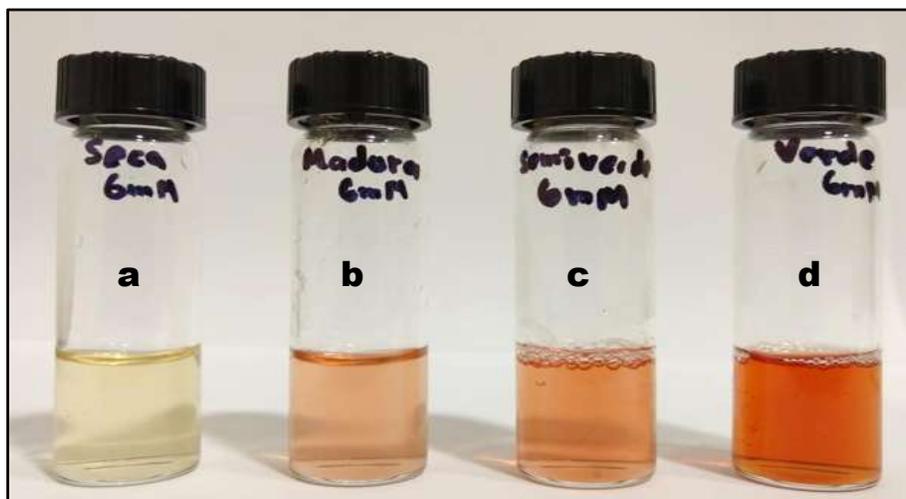


Figura 4.12 Extractos de fruto de pingüica: a) Seco, b) Maduro, c) Intermedio e d) Inmaduro.

En primera instancia se inició monitoreando el cambio de coloración de la solución que se puede apreciar en la figura 4.13, donde se observan las muestras que se prepararon, correspondientes al inciso a) con 6 mM y el inciso b) 10 mM; en todos los casos se presenta un cambio de coloración característico al fenómeno de la banda de plasmón de superficie que ya se mencionó anteriormente. En los extractos que se efectuaron con el fruto inmaduro a 6 mM de AgNO_3 a un minuto de tiempo de reacción no se aprecia un cambio aparente de color, sin embargo, a los 5 min la solución cambia de un tono marrón claro a un café oscuro que va oscureciéndose a medida que pasa el tiempo de 20 a 60 min en donde no se aprecia un cambio significativo en el color, por otra parte, a una mayor concentración de sal (figura 4.13 b) se percibe que a un minuto de reacción ya hay cambio de color significativo a un café oscuro que se oscurece más a lo largo del tiempo, no obstante, no logra notarse un cambio tan elocuente como en la reacción anterior.

Para los experimentos con extractos de frutos intermedios y maduros, tanto a 6 y 10 mM se contempla la misma tendencia, donde a más tardar a los 5 minutos hay un importante cambio de color de marrón claro a café oscuro. Por otro lado en las últimas muestras (extracto con frutos secos) claramente se nota que es una reacción más lenta que todas las anteriores,

ya que es hasta los 40 minutos que hay un cambio notorio en la coloración de la solución en ambos casos (6 y 10 mM) cabe destacar que estos experimentos se realizaron con luz dispersa. Cruz y Col. [114] sometieron bajo estudio el fenómeno de la banda de plasmón de superficie característico de las disoluciones acuosas de nanopartículas metálicas, sintetizaron nanopartículas de plata mediante un método bien establecido (reducción de aniones de plata con borohidruro de sodio), en el cuál observaron que en el plasmón intervienen diversos factores. Estos son: la naturaleza del metal, forma, tamaños y grado de dispersión [115], método de síntesis, del medio en su entorno inmediato, composición del medio [91], entre otros.

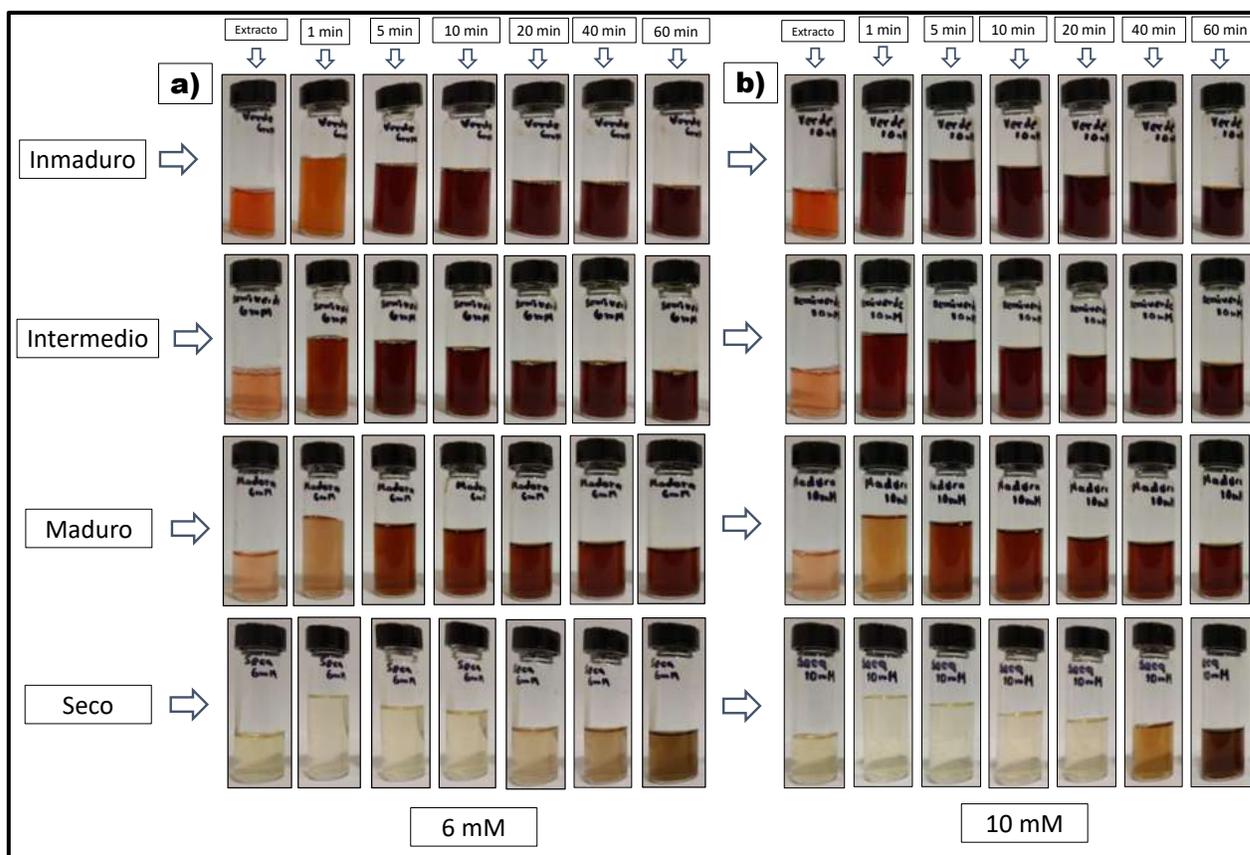


Figura 4.13 Cambio de color de las soluciones sintetizadas con extracto de pingüica en función de tiempo, (a) 6 mM y (b) 10 mM de AgNO_3 .

La figura 4.14 a-b muestra los espectros de UV-Vis correspondientes a las soluciones con frutos inmaduros en función del tiempo, que va desde el primer minuto hasta los sesenta minutos de reacción.

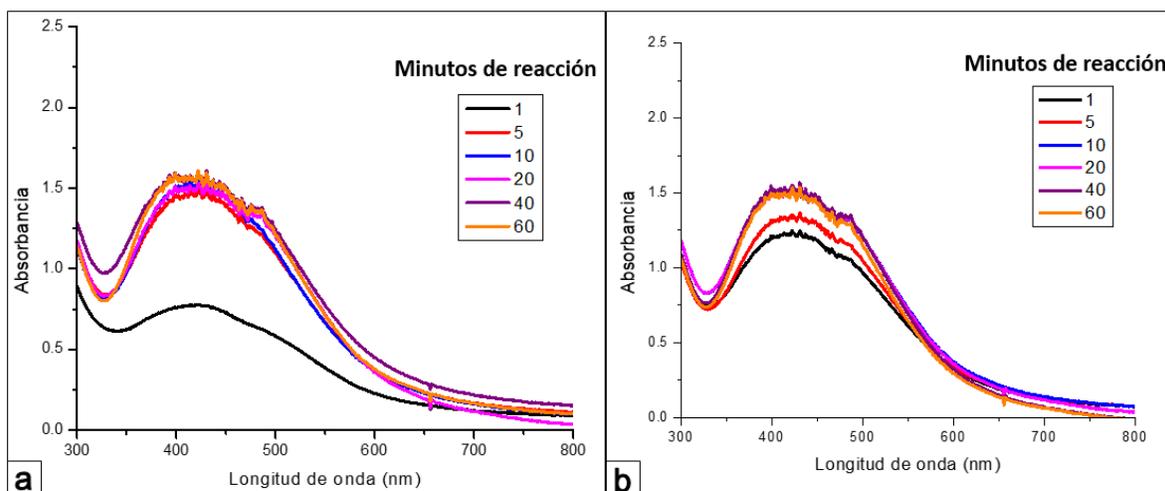


Figura 4.14 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras de Ag sintetizadas con el extracto del fruto inmaduro de pingüica con (a) 6 mM y (b) 10 mM de AgNO_3 en función del tiempo.

Se observa que desde la primera medición (un minuto de reacción) en ambos casos está la aparición del pico característico de Ag, en el espectro (figura 4.14 a) se muestra un pico agudo y ancho que comienza en 350 nm y termina en 575 nm con baja intensidad, mientras que para el segundo espectro (figura 4.14 b) el pico comienza en 340 nm y termina en 500 nm, sin embargo, este tiene una mayor intensidad en comparación con las muestras a 6 mM, lo que indica que a mayor concentración de sal, la velocidad de reacción aumenta y para un minuto de reacción hay una mayor cantidad de iones de plata reducidos. Por otro lado, cuando la reacción avanza hacia los 5 minutos a una concentración de 6 mM ya hay un incremento en la intensidad del pico siendo que a partir de ese tiempo ya no cambia de manera significativa en intensidad, más bien el pico se ensancha hasta los 40 min de reacción, lo que indica que existen un amplio rango de tamaños de las nanoestructuras o bien se encuentran polidispersas. A la concentración de 10 mM, después del primer minuto de reacción, se observa un incremento en intensidad con el tiempo de reacción. En los dos casos se alcanza la máxima intensidad a 60 minutos de reacción.

Cabe destacar que esta es considerada una velocidad rápida de reducción en comparación con resultados que se han reportado anteriormente, tal es el caso de Hemmati y Col. [116] que sintetizaron nanopartículas de Ag mediante el extracto de *Fritillaria*, donde utilizaron la flor de la planta y no agregaron ningún otro reductor o estabilizante, el tiempo de reducción

que ellos reportaron fue de 30 minutos, la banda de resonancia de plasmón se reportó a 430 nm y atribuyen la formación de nanopartículas a los polifenoles y triterpenos que contiene la flor.

En la figura 4.15 a-b se analizan los espectros de Uv-vis de las muestras sintetizadas con los frutos intermedios a las concentraciones de 6 y 10 mM de AgNO_3 . Nuevamente se observa en ambos espectros que hay nanoestructuras de Ag desde el primer minuto de reacción. En la figura 4.15 a, el pico con mayor intensidad es a 5 minutos de reacción y después esta comienza a descender, lo que podría indicar que las nanoestructuras están creciendo a tamaños fuera del rango nanométrico, por lo que el equipo no los puede detectar, esto debido a la falta de estabilizantes en el extracto; también hay que recordar que la resonancia del plasmón de la superficie es extremadamente sensible a la naturaleza, distribución de tamaño y a la forma de las nanoestructuras [117]. Por otra parte, en la figura 4.15 b, el máximo pico fue a los 60 minutos de reacción, en donde también se observa ensanchamiento en los picos que para la concentración de 6 mM, este comportamiento se atribuye a una amplia distribución de tamaños.

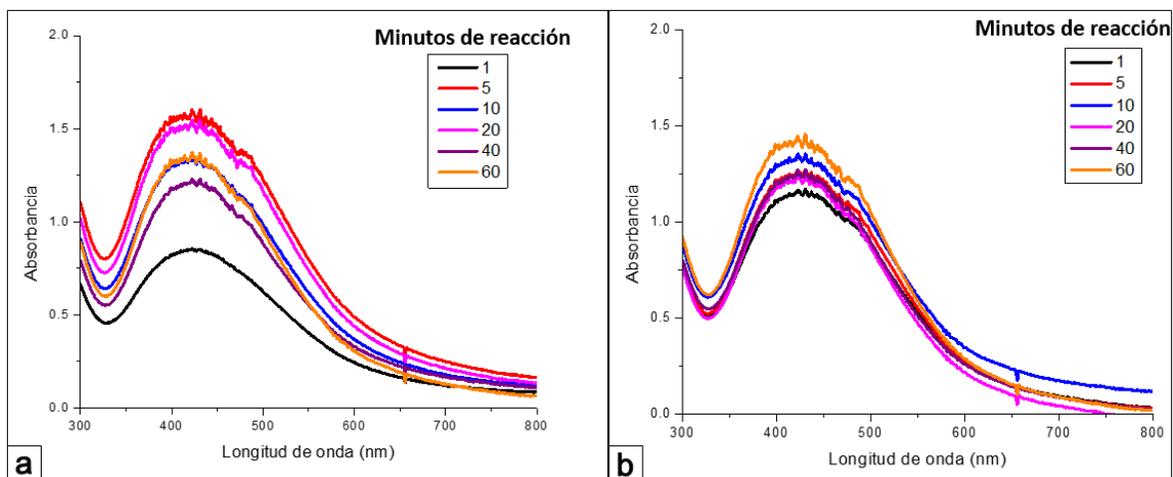


Figura 4.15 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras de Ag sintetizadas con el extracto del fruto intermedio de pingüica con (a) 6 mM y (b) 10 mM de AgNO_3 en función del tiempo.

Se muestran en las figuras 4.16 a-b y 4.17 a-b los espectros de Uv-vis, donde, notoriamente se ve que son menos intensos, sobre todo en la figura 4.17 a correspondiente a una concentración de 6 mM sintetizada con frutos secos, en donde a los 60 minutos aparece un

pequeño pico ensanchado y poco intenso. En las reacciones con frutos maduros (figura 4.16), desde la primera medición hay picos anchos que en su mayoría van aumentando conforme avanza el tiempo de reacción. Para las síntesis con frutos secos, solo hay un pico más definido a 60 minutos con una concentración de 10 mM (figura 4.17 b). Esto indica que conforme más inmaduro es el fruto más sustancias activas están presentes en el fruto, ya que es notorio que es más lenta la reacción de síntesis cuando el fruto está maduro y aún más cuando el fruto está seco. De acuerdo a estos resultados se midió el pH de los extractos para conocer la influencia sobre las soluciones, siendo los siguientes:

- Inmaduros = 7
- Intermedios = 6
- Maduros = 6
- Secos = 4

En la literatura se reporta que a medida que avanza la madurez de los frutos el pH baja [118], lo que coincide con las mediciones realizadas en los extractos.

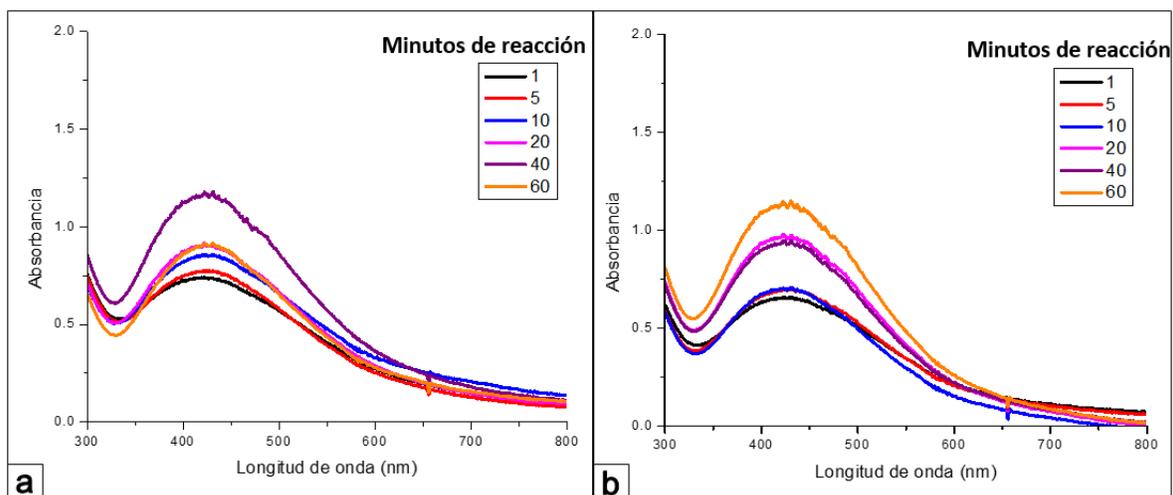


Figura 4.16 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras de Ag sintetizadas con el extracto del fruto maduro de pingüica con (a) 6 mM y (b) 10 mM de AgNO_3 en función del tiempo.

Un trabajo similar fue presentado por Chowdhury y Col. [119] en el que sintetizaron nanopartículas de Ag mediante el extracto de *carambola* variando el pH de la reacción con hidróxido de sodio, se sometieron bajo estudio muestras con pH de 4, 7 y 10; observaron que a medida que el pH era menor el pico se desplazaba hacia la derecha indicando un mayor

tamaño en las nanopartículas sintetizadas, también se señaló que para la solución con un pH de 10 el cambio de coloración fue más rápido que en las otras muestras. Concluyeron que con el aumento del pH de la solución, la capacidad de cobertura y estabilización de las biomoléculas derivadas del extracto de carambola, creció debido al mayor grado de repulsión de las partículas de carga eléctrica para estabilizar los nanopartículas de Ag derivando en tamaños más pequeños. La solución a pH neutro (pH 7) redujo la distribución de tamaño de partícula en comparación con el pH ácido (pH 4), y alcalino (pH 10). Los actuales resultados coinciden con los expuestos en ese trabajo.

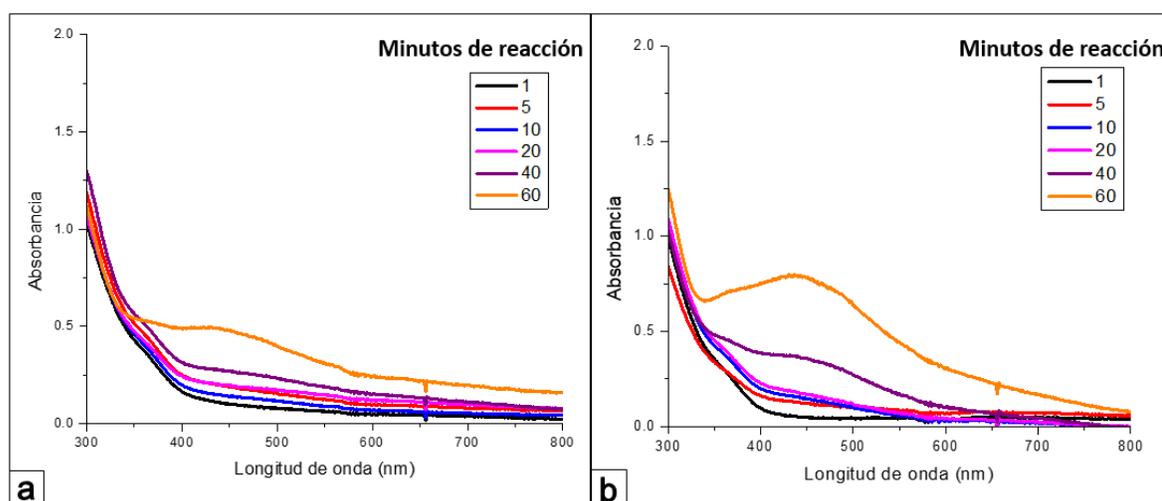


Figura 4.17 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras de Ag sintetizadas con el extracto del fruto seco de pingüica con (a) 6 mM y (b) 10 mM de AgNO_3 en función del tiempo.

Se caracterizó mediante MEB, para observar la influencia de los extractos en las morfologías y tamaños obtenidos de las nanoestructuras, las micrografías son mostradas en la figura 4.18 a-d para las muestras con 6 mM de sal de Ag. En general se aprecian nanoarquitecturas las cuales están formadas por pequeñas nanoláminas que se asemejan a una flor clasificándose como nanoensambles 2D. En primera instancia, se presentan en una mayor cantidad con el extracto de frutos inmaduros (ver figura 4.18 a) y en un rango de tamaños inferiores a las demás que va desde 200 hasta 500 nm. Se nota que en la medida que el fruto tiene un mayor estado de maduración hasta llegar al fruto seco, la cantidad de nanoestructuras disminuye y su tamaño se incrementa en el rango que va desde 800 nm hasta alrededor de 3 micras.

En las figuras 4.18 b-c se presentan nanoflores muy similares en forma y tamaño que oscilan alrededor de 1 micra. Por otra parte, en la figura 4.18 d las nanoestructuras son más esféricas y cuentan con tamaños alrededor de 3 micras. La existencia de un mayor número de nanoensambles en la muestra con frutos inmaduros se atribuye a la mayor cantidad de agentes reductores ya que aumenta la cantidad de núcleos que nacen en el seno del líquido, los cuales comienzan a crecer a medida que avanza la reacción. Estas nanoestructuras, también han sido reportadas por Hong y Col. [120], en donde fueron sintetizadas en presencia de ácido cítrico y ascórbico.

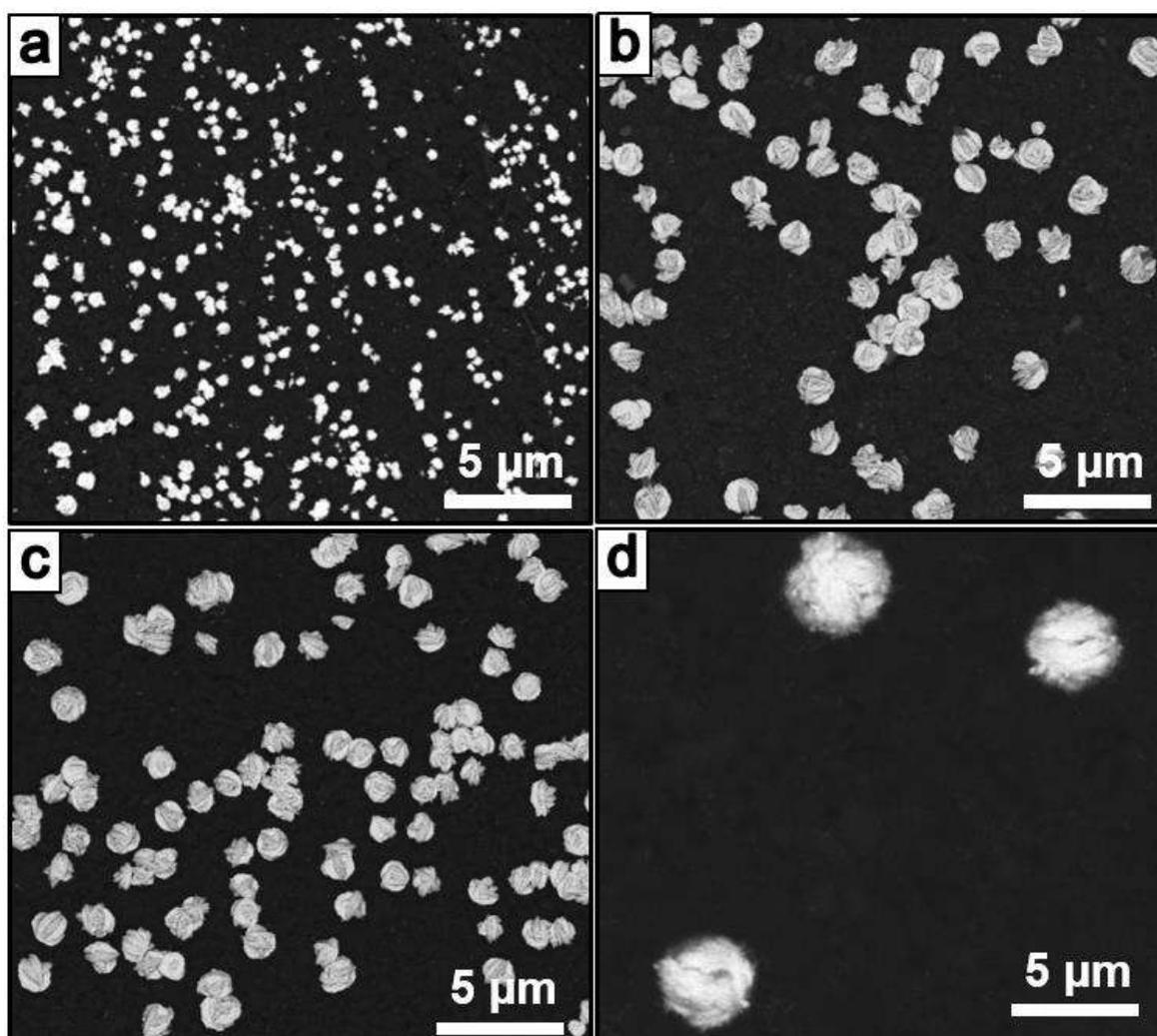


Figura 4.18 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con fruto de pingüica y 6 mM de AgNO_3 , (a) inmaduro, (b) intermedio, (c) maduro y (d) seco.

Una vista ampliada de estas nanoestructuras se muestra en las figuras 4.19 a-d correspondientes a cada condición de extracto. Se puede apreciar en la figura 4.19 a que los nanopétalos están más definidos en comparación con las nanoflores de las figuras 4.19 b y c, se presume que el espesor de estos es inferior a los 100 nm por lo que se encuentra en el rango nanométrico. Por otro lado, en la figura 4.19-d se observa una estructura más esférica que las otras, sin embargo, esta es porosa.

La variación de estas morfologías está sujeta a la influencia del pH de los extractos debido a su maduración y a las sustancias que contienen los frutos en esos diferentes estados. Esto lo destaca Hong y Col. [120], que ya fueron mencionados anteriormente en donde determinan que factores como el pH y la concentración de los agentes reductores afectan el crecimiento de las nanoarquitecturas.

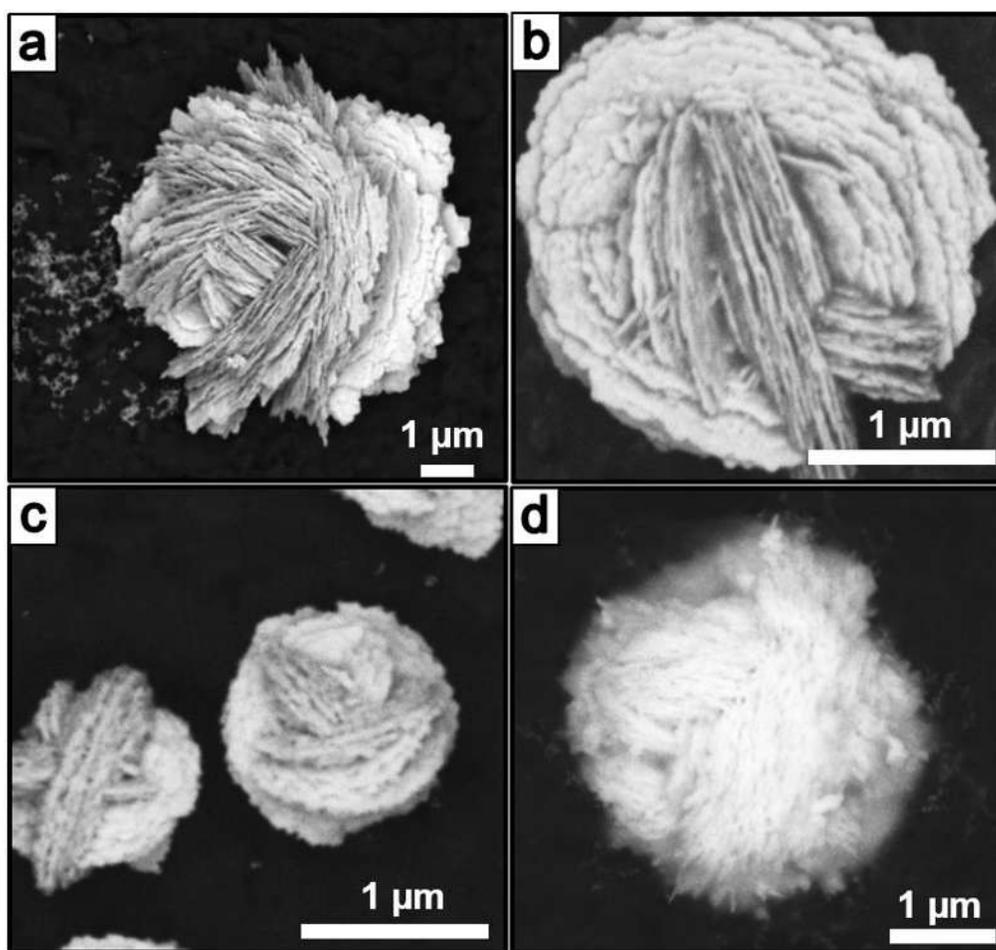


Figura 4.19 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con fruto de pingüica y 6 mM de AgNO_3 , (a) inmaduro, (b) intermedio, (c) maduro y (d) seco.

Los resultados obtenidos a una concentración de 10 mM de AgNO_3 se observan en las figuras 4.20 y 4.21. En el primer bloque se aprecia que hay un mayor descontrol en la reacción tanto en el extracto del fruto inmaduro (figura 4.20 a) como en el intermedio (figura 4.20 b), ya que hay estructuras de distintos tipos y en su mayoría una gran cantidad de nanopartículas, también hay la presencia de otras estructuras que aún no se han definido bien y alcanzan aproximadamente las 4 micras. Por otro lado, se observa un poco más de control en el extracto del fruto maduro (figura 4.20 c) y mucho más en el fruto seco (figura 4.20 d), ya que hay menos presencia de nanopartículas y mayor cantidad de estructuras grandes. Esto demuestra que para el beneficio de las estructuras que se están buscando es preferible una velocidad lenta de reacción.

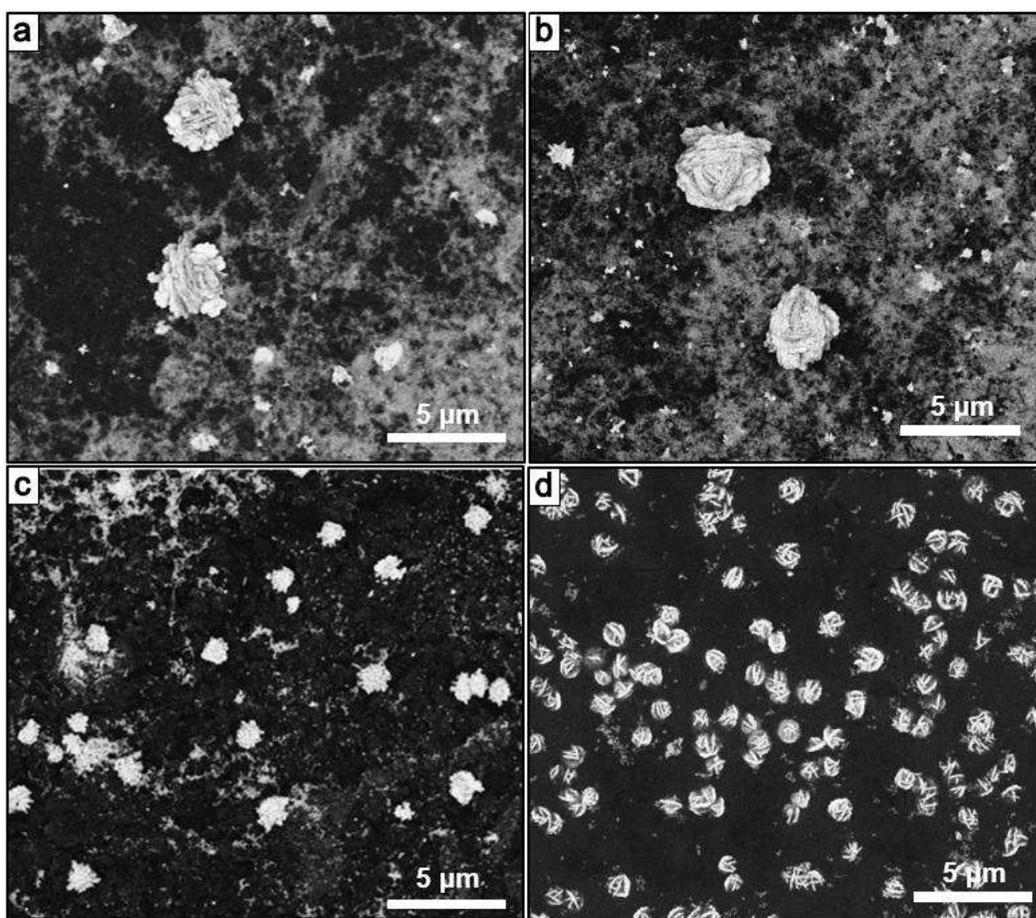


Figura 4.20 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO_3 , (a) inmaduro, (b) intermedio, (c) maduro y (d) seco.

Se observan de más cerca estas estructuras en la figura 4.21 a-d, sin embargo se puede percibir que a consecuencia de que hay una mayor cantidad de agente precursor hay una mayor cantidad de nanopartículas comparadas con la muestra a 6 mM, ya que las sustancias de la pingüica no alcanza a estabilizar todos esos iones de Ag que se están reduciendo, como se ha mencionado anteriormente. Otra observación notoria es que no hay presencia de dendritas, quizás les falte más tiempo para formar ese tipo de estructuras o simplemente la velocidad de reacción no está favoreciendo para la síntesis de dendritas. También se contempla en la figura 4.21 b, que las estructuras que se van formando van creciendo en tamaño en consecuencia de la coalescencia entre las estructuras sintetizadas.

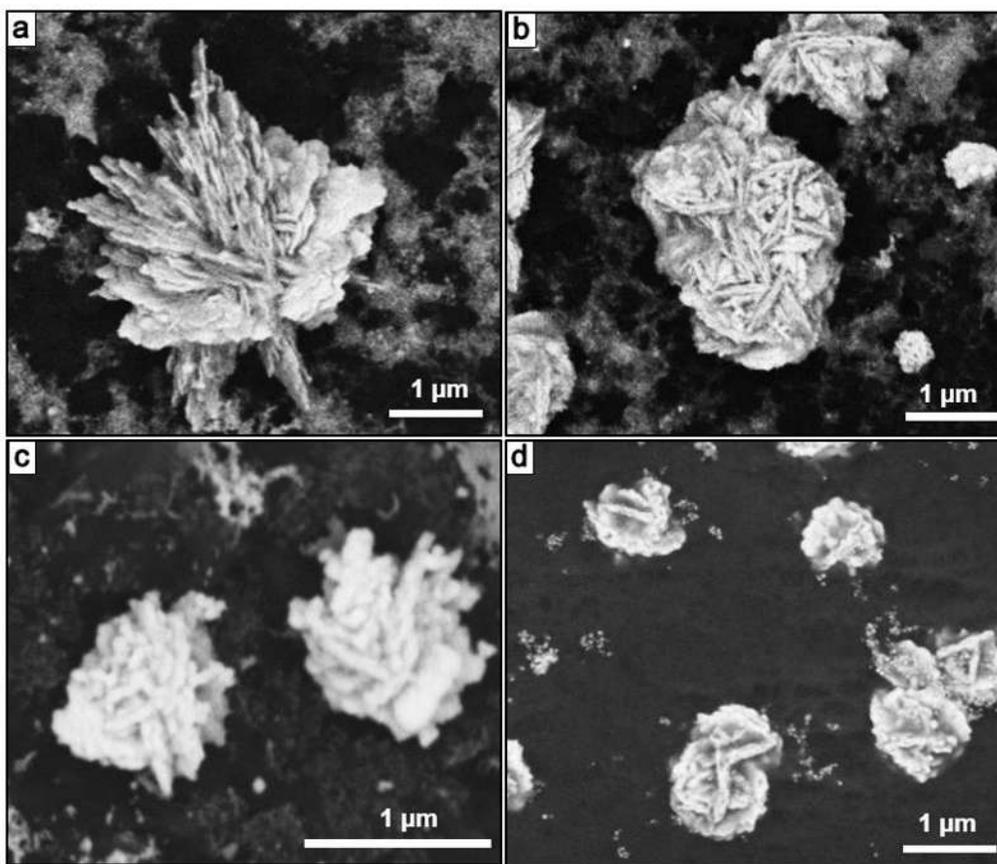


Figura 4.21 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con fruto de pingüica y 10 mM de AgNO_3 , a) inmaduro, b) intermedio, c) maduro y d) seco.

4.4 Dendritas de Ag decoradas con Pd

Las nanoestructuras de paladio (Pd) se han convertido en materiales prometedores, ya que tienen una gran eficiencia como catalizadores y actualmente se están imponiendo frente a los catalizadores clásicos de rodio y platino; el Pd es el doble de abundante que el Pt y se comercializa a un precio que es la cuarta parte del Pt. Este funciona de forma muy parecida a como lo hace el Pt en las catálisis heterogéneas [121-123].

Con base a los experimentos realizados anteriormente, se determinó que la manera más efectiva de sintetizar las dendritas de Ag es mediante el fruto seco, en oscuridad y dejando reaccionar por 8 días, por lo que para hacer este decorado con Pd se siguió la metodología mencionada, sin embargo, una vez realizada la síntesis de las dendritas de Ag se midió por Uv-vis. La figura 4.22 muestra el espectro de UV-Vis de la solución después de la reacción para obtener dendritas de Ag en función del tiempo, en el cual se observa la presencia de nanoestructuras de Ag por su pico característico [101]. El espectro ilustra una amplia banda de absorción que va desde los 326 nm a los 578nm, es bien sabido que el ancho del pico de UV-Vis varía según la distribución de tamaños de las nanopartículas. Sin embargo, en el caso de las nanoestructuras Ag autoensambladas, los picos amplios se atribuyen a las diferentes dimensiones nanométricas de variadas estructuras que forman la nanoestructura dendrítica. El pico es intenso, lo cual indica que hay una abundante cantidad de nanoestructuras sintetizadas.

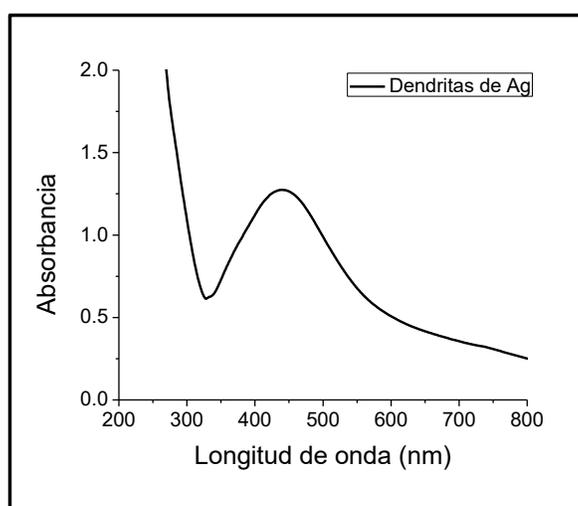


Figura 4.22 Espectro de UV-Vis de nanoestructuras de Ag sintetizadas con el extracto del fruto de pingüica.

Esto es comparable con el trabajo que realizaron Gao y Col. [124] quienes sintetizaron dendritas de Ag mediante la reducción de AgNO_3 con NaBH_4 en soluciones de tolueno con un copolímero tribloque como estabilizante, ellos observaron en sus espectros de UV-Vis picos anchos que iban desde los 370nm hasta 550 nm aproximadamente lo cual lo atribuyen a que el diámetro de partícula es relativamente grande al igual que su rango de dispersión.

Se estudiaron las morfologías y tamaños de las dendritas de Ag por medio de MEB para comprobar la presencia de nanoestructuras dendríticas. En la figura 4.23 a-b se muestran las imágenes de MEB a diferentes ampliaciones de los productos de bioreducción, se puede notar la formación de una gran cantidad de dendritas de Ag con una amplia distribución de tamaños desde 1 micra hasta las 7 micras, sin embargo, se observa la existencia de partículas aún más pequeñas que son nanopartículas de Ag. En comparación con trabajos anteriores para la síntesis verde de nanopartículas de Ag [125-127], en esta investigación se utilizó una mayor concentración de sal de Ag que puede estar dando como resultado la agregación de estas partículas pequeñas en ciertas direcciones preferenciales formando partículas más grandes, lo cual es una ventaja para el crecimiento de las dendritas [124].

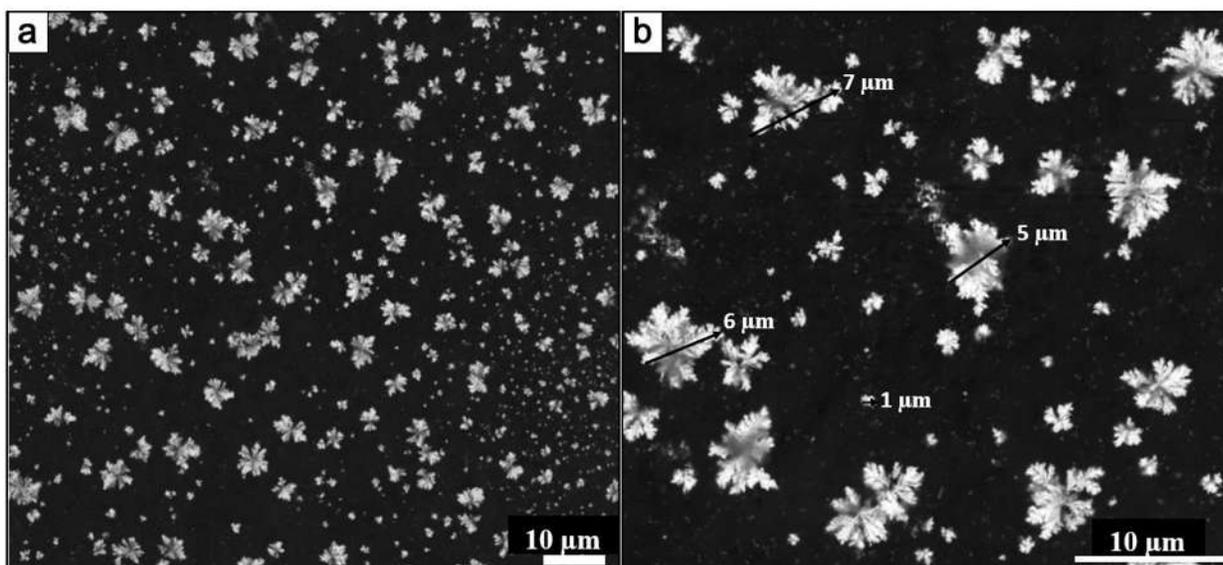


Figura 4.23 Imágenes de MEB de muestras sintetizadas con fruto de pingüica, a) 1,000 X, b) 2,500 X.

La figura 4.24 a muestra una dendrita pequeña y una grande formadas por varias unidades de construcción. Los fractales dendríticos son fenómenos generalmente observados en crecimiento no equilibrado, como el crecimiento de copos de nieve, la agregación de partículas de hollín y la solidificación de metales; para interpretar y analizar este tipo de crecimiento se han utilizado varios modelos como lo son el modelo de agregación de difusión limitada, el modelo de agregación de clúster-clúster, entre otros.

Se puede especular que la formación de las nanoestructuras fractales bajo estudio implica las siguientes etapas, que se basaron en el estudio de Sun [128]:

- 1.- Los iones libres Ag^+ , obtenidos gracias a la disolución del AgNO_3 en agua destilada, se reducen rápidamente a Ag^0 gracias a las sustancias activas del extracto de pingüica para formar átomos de Ag cuando estas dos soluciones se mezclan, estos átomos a su vez comienzan a formar pequeños clústers de Ag.
- 2.- Los clústers de Ag que se formaron rápidamente en grandes concentraciones mediante una fase de nucleación inicial entran en la fase de crecimiento en la cual estas semillas recién formadas capturan átomos de Ag libres en la solución.
- 3.- Se produce un crecimiento de cristales debido todavía a la presencia de agentes reductores en el extracto y también por la falta de estabilizantes en la reacción.
- 4.- Algunas de las nanopartículas libres comienzan a difundirse hacia semillas que se encuentran cercanas a ellas, una vez que tocan a esta semilla, se inmovilizan instantáneamente en la superficie vacía de la semilla, produciendo un agregado inicial de nanopartículas de Ag con la semilla como centro y la nanopartícula adjunta como brazo.
- 5.- Con el transcurso del tiempo, otras nanopartículas libres se difundirán continuamente hacia el agregado y se inmovilizarán en la superficie vacía del brazo, formando un agregado más grande. Este proceso de crecimiento de cristales puede repetirse hasta que se agoten todas las nanopartículas libres, dando lugar a cristales dendríticos.

Por otro lado, para revelar la distribución espacial de los diferentes elementos en las dendritas, se llevó a cabo un mapeo elemental. Las figuras 4.24 b muestra la imagen del barrido composicional obtenido por fluorescencia de rayos X. Como se muestra en las figuras, hay presencia y distribución homogénea de los átomos de Ag sobre toda la nanoestructura, lo que indica que la reacción de reducción se produjo exitosamente. La figura 4.24 c muestra el análisis químico EDS de una dendrita que indica la presencia del elemento

Ag, Cl que quizás sea contaminación del agua con el que se realizó el extracto y el Cu que es del portamuestras.

Una vez que se obtuvieron exitosamente las estructuras fractales de Ag, se prosiguió al recubrimiento de Pd. Se caracterizó mediante UV-Vis para comprobar que se estuviera haciendo el recubrimiento sobre las dendritas de Ag, el espectro se muestra en la figura 4.25.

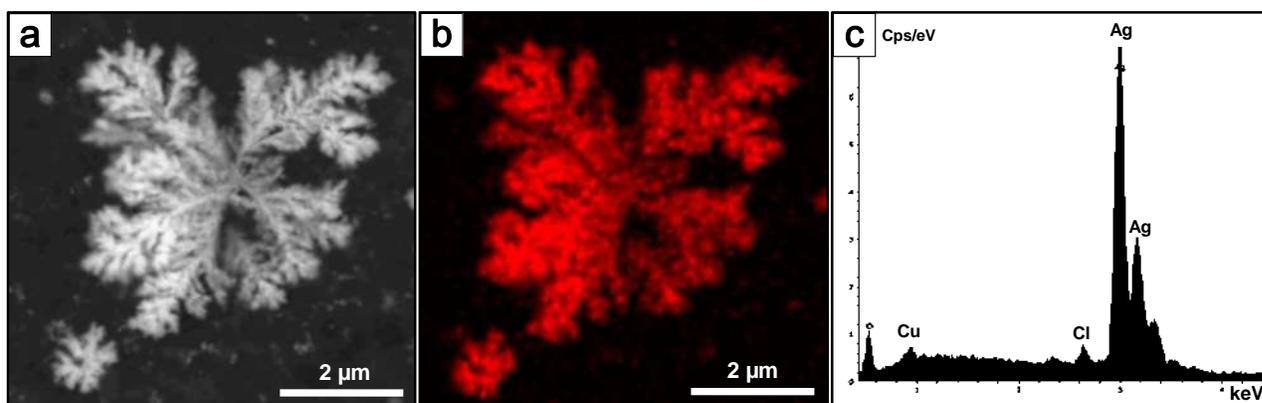


Figura 4.24 (a) Nanoestructura fractal, (b) Mapeo químico de la muestra y (c) Análisis químico por EDS.

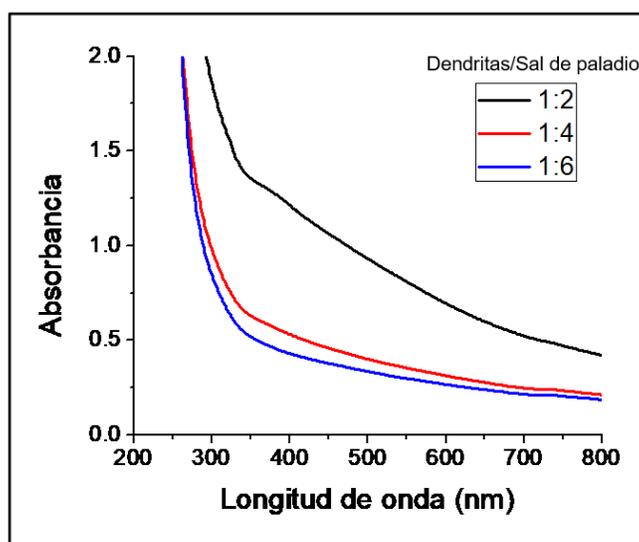


Figura 4.25 Espectros de UV-Vis de nanoestructuras fractales de Ag sintetizadas con el extracto del fruto de pingüica, decoradas con paladio a diferentes concentraciones.

Se puede observar que desde la concentración más baja de K_2PdCl_4 ya se aprecia la disminución notable del pico característico de Ag que a medida que se incrementó la

concentración este pico desaparece por completo, este comportamiento es común para nanopartículas bimetalicas Ag-Pd, el espectro indica que las dendritas se encapsularon por el paladio por una capa lo suficientemente gruesa como para amortiguar el pico de resonancia plasmónica de la Ag [129]. Es importante remarcar que este comportamiento es característico del Pd a nivel nanométrico el no presentar una banda de resonancia del plasmón de superficie definida en el intervalo de 300 nm a 900 nm [130]. Para corroborar estos resultados de UV-Vis y para observar el recubrimiento del Pd se realizaron estudios en MEB que se ilustran en la figura 4.26 a-d.

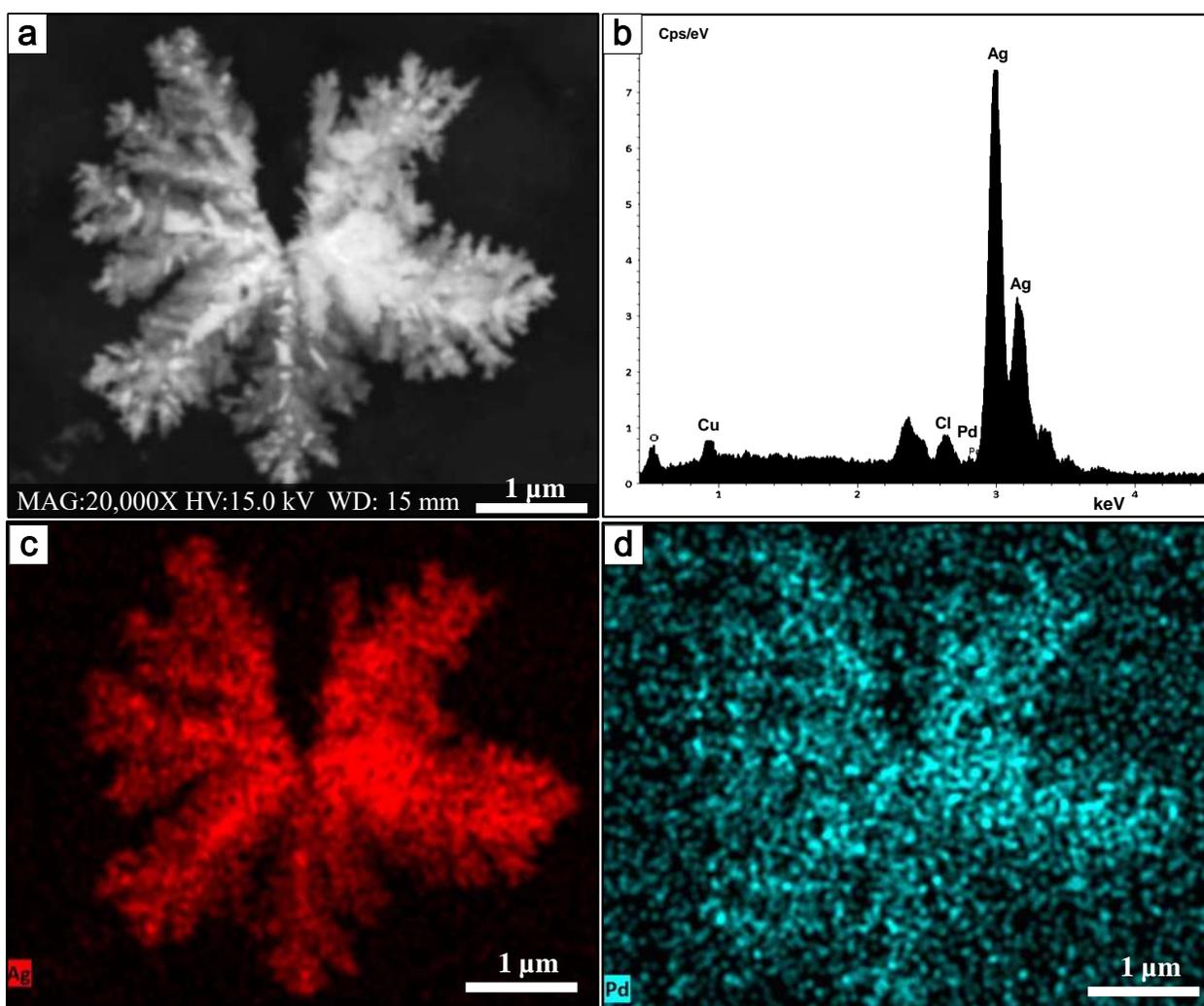


Figura 4.26 a) Imagen de MEB de nanoestructuras de Ag-Pd, b) patrón EDS y c-d) mapeo elemental para análisis de superficie de la dendrita de Ag-Pd.

En primera instancia se observa que las dendritas están un poco menos definidas y menos porosas ya con el recubrimiento de Pd, pero en sí la morfología se sigue manteniendo. La figura 4.26 b muestra el análisis químico EDS de una dendrita que indica la presencia del elemento Ag, sin embargo, el elemento de Pd apenas sobresale por lo que se llevó a cabo un mapeo elemental para verificar si efectivamente no estaba el Pd recubriendo a las dendritas de Ag (figura 4.26 c-d). Se ilustra notablemente en las figura 4.26 c la presencia y distribución homogénea de los átomos de Ag en su gran mayoría sobre la nanoestructura, a pesar de eso, se muestra en la figura 4.26 d la distribución de átomos del Pd que también se encuentran sobre la estructura fractal, en menor cantidad que la Ag pero si se encuentra presente. Con esto se puede decir que la depositación del Pd sobre las nanoestructuras se realizó de manera exitosa.

Las muestras fueron examinadas mediante difracción de rayos X (DRX). El patrón de DRX se ilustra en la figura 4.27. Todos los picos de difracción del producto presentes en los ángulos de difracción 2θ : 38.38° , 44.48° , 64.56° y 77.13° se lograron indexar con los planos (111), (200), (220) y (311) que corresponden a la estructura cúbica fcc de la Ag respectivamente (JCPDS no. 99-101-3079), sin embargo, en este estudio tampoco se ve la presencia de Pd (JCPDS no. 99-101-2232) en la muestra sintetizada, quizás la cantidad de Pd es muy poca y sobre sale más la Ag, por otro lado los picos de Ag están un poco desfasados lo que puede ser consecuencia de la presencia del Pd en las dendritas.

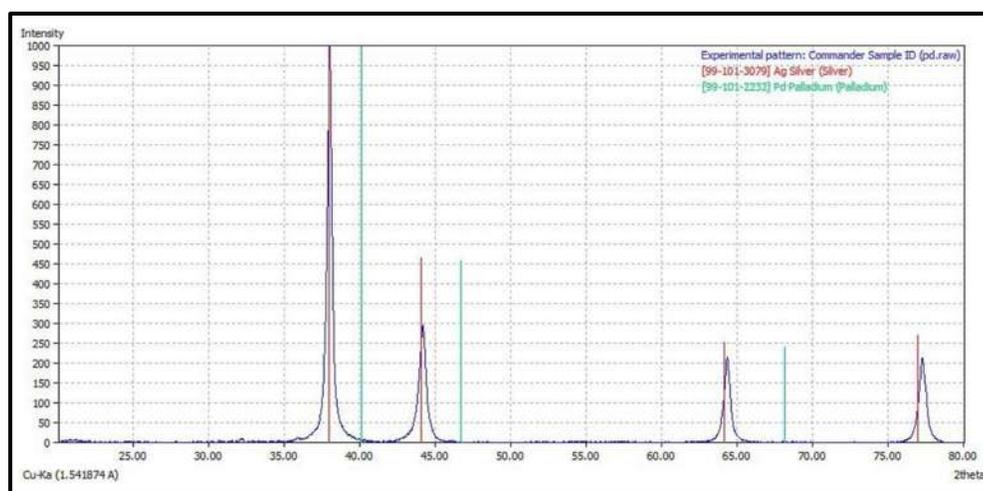


Figura 4.27 Patrón de difracción de rayos X de nanoestructuras de Ag-Pd sintetizadas con extracto de fruto de pingüica.

Si bien no se realizaron estudios para observar la eficiencia catalítica de estas estructuras, quedan estos resultados como antecedente para experimentos posteriores.

4.5 Análisis DRX para nanoflores y dendritas

Se tomaron las muestras más representativas de lo que son las nanoflores y las dendritas que fueron en ambos casos muestras en oscuridad, con extracto de fruto seco y con un tiempo de reacción de 8 días, solo para reafirmar que las nanoestructuras efectivamente son de Ag pura. Se aprecia para la nanoflores en la figura 4.28, todos los picos de difracción del producto presentes en los ángulos de difracción 2θ : 38.38° , 44.48° , 64.48° y 77.78° se lograron indexar con los planos (111), (200), (220) y (311), que corresponden a la estructura cúbica fcc de la Ag respectivamente (JCPDS no. 99-101-0051).

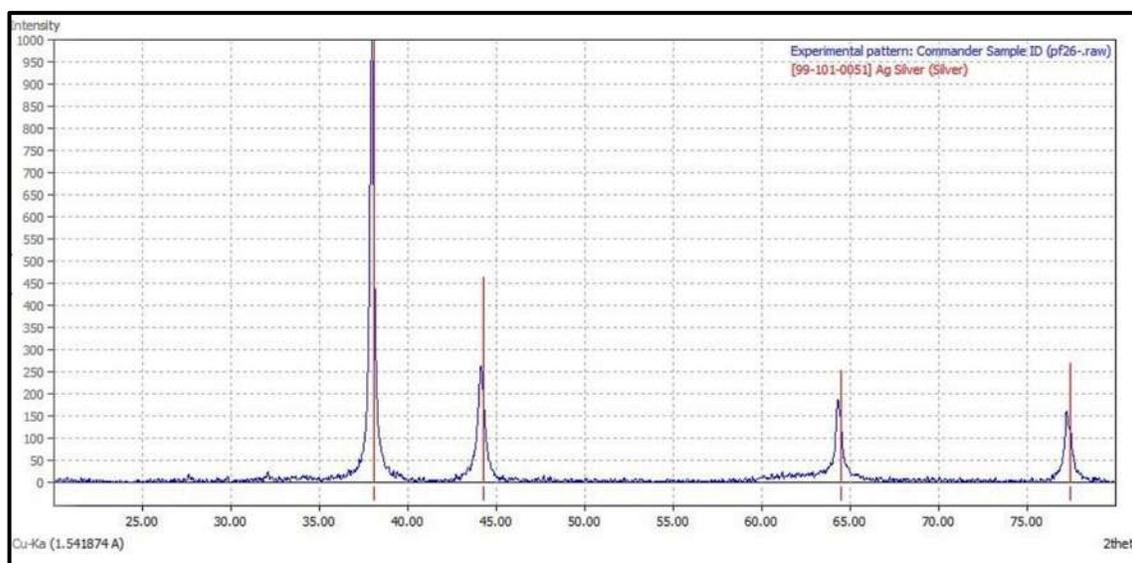


Figura 4.28 Patrón de difracción de rayos X de nanoflores de Ag sintetizadas con extracto de fruto de pingüica y 6 mM de AgNO_3 .

El mismo comportamiento mostró la muestra de las dendritas (figura 4.29) donde también se presentan los ángulos de difracción 2θ : 38.39° , 44.51° , 64.82° y 77.78° , de igual manera se lograron indexar con los planos (111), (200), (220) y (311), que corresponden a la estructura cúbica fcc de Ag (JCPDS no. 99-101-0051). Estos resultados confirman que las nanoflores

como las dendritas de Ag pura, pueden ser obtenidas exitosamente por la reducción del AgNO_3 usando el extracto del fruto de pingüica como agente reductor.

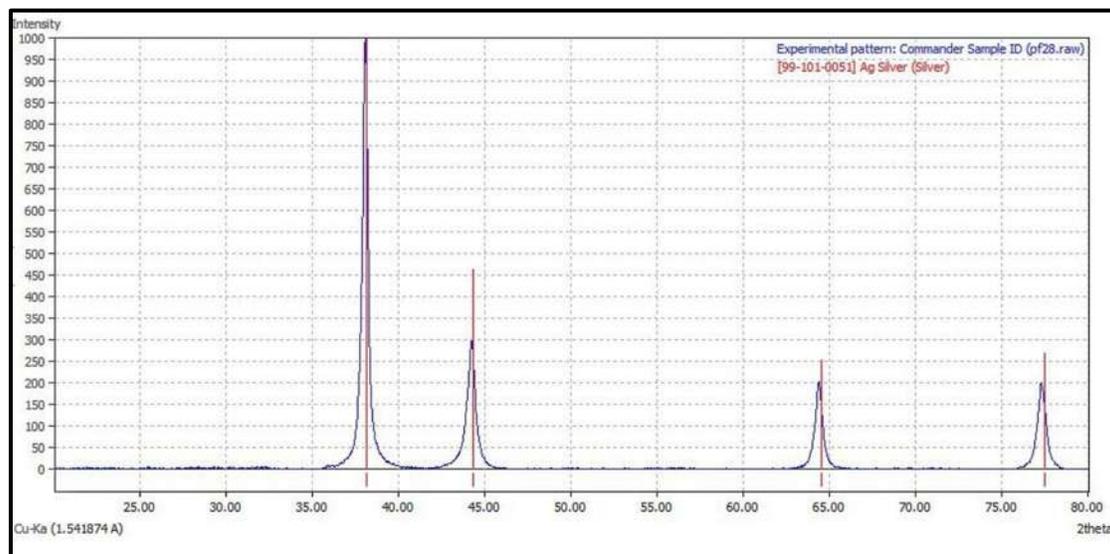


Figura 4.29 Patrón de difracción de rayos X de dendritas de Ag sintetizadas con extracto de fruto de pingüica y 10 mM de AgNO_3 .

4.6 Espectroscopía de infrarrojo de nanoestructuras

Se realizaron pruebas de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) para identificar los grupos funcionales presentes en el fruto de pingüica para reducir los iones de Ag. En el primer espectro (figura 4.30 a), una banda de absorción a 3420 cm^{-1} pertenece a la frecuencia de vibración N-H o al estiramiento de hidroxilo de ácido carboxílico y fenoles [131]. Las bandas de 2925 cm^{-1} y 2861 cm^{-1} corresponden al estiramiento o flexión de los alquenos C-H [132]. La banda de 2300 cm^{-1} indica el estiramiento $\text{C}\equiv\text{N}$, mientras que la de 1731 cm^{-1} pertenece al tramo $\text{C}=\text{O}$ [133]. La banda ubicada en 1625 cm^{-1} está asociada con los modos de vibración de estiramiento $\text{C}=\text{C}$ [134], mientras que la ubicada en 1464 cm^{-1} está asociada con la flexión del metileno C-H [135]. La banda situada a 1158 cm^{-1} correspondía al estiramiento C-O [136] y situada a 670 cm^{-1} a la flexión OH de celulosa y hemicelulosa [137]. Las bandas de 3420 cm^{-1} , 1731 cm^{-1} y 1625 cm^{-1} , en general, indican la presencia de flavonoides y otros fenoles presentes en el fruto de *Arctostaphylos pungens Kunth*. Este tipo de fitoquímicos, especialmente los fenoles adsorbidos en la superficie de las nanoestructuras de Ag [138], podrían modificar la constitución de las nanoestructuras. Esto

último se confirma en la figura 4.30 b, que muestra el espectro FTIR registrado después de la reacción de reducción, donde predominan estas bandas (3420 cm^{-1} , 1731 cm^{-1} y 1625 cm^{-1}). Mientras que las bandas de absorción en 2861 cm^{-1} , 2300 cm^{-1} y 1464 cm^{-1} correspondientes a los grupos alqueno, nitrilo y metilo, respectivamente, están suprimidas, la reducción de los iones de Ag se le atribuye a estos grupos. Por otro lado, se puede observar la aparición de otros picos ubicados en 1383 cm^{-1} , 1052 cm^{-1} y 793 cm^{-1} , correspondientes al grupo amino II, que probablemente surge del carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) por estiramiento en proteínas [139]; a las vibraciones de $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ y $\text{C}-\text{OH}$ [140], y finalmente al estiramiento del grupo aromático $\text{C}-\text{H}$ [141]. Estos compuestos son productos que probablemente se forman después de la reacción de reducción de las nanoestructuras de Ag e impulsan la formación de una estructura anisotrópica.

La solución compleja de varias biomoléculas en la fruta de pingüica juega un papel fundamental en el crecimiento de la nanoestructura, impulsando a la nanoestructura de Ag 3D autoensamblada. Tanto la falta de agentes estabilizantes como la presencia de biomoléculas ligando permiten el crecimiento morfológico de la unidad estructural debido a la agregación progresiva de los iones reducidos en su superficie. De lo contrario, una cantidad suficiente de agentes estabilizadores podría generar nanopartículas de Ag.

Como se vio en la mayoría de las micrografías que se presentaron a lo largo de este capítulo, algunas nanopartículas aparecen alrededor de las nanoflores y dendritas, lo que sugiere que la pingüica contiene algunos agentes estabilizadores, en cantidad insuficiente para prevenir el desarrollo de nanoestructuras de Ag a 6 y 10 mM de AgNO_3 .

4.7 Actividad catalítica de nanoflores de Ag

La morfología similar a un estambre (figura 4.4 b), al estar compuesta por nanorodillos (1D), debería tener una superficie mayor en comparación con las esferas formadas por placas (2D) (figura 4.3 f). Además, debido a la novedad de la morfología de Ag tipo estambre, se estudiaron sus propiedades catalíticas para la degradación de colorantes azul de metileno (MB) y rodamina B (RhB). La espectroscopía UV-Vis monitoreó la degradación del colorante orgánico empleando las nanoflores obtenidas después de 8 días de reacción (figura 4.31). La degradación de MB se evaluó desde unos pocos segundos hasta 120 min en

intervalos de 15 min. Dos bandas de absorción de MB aparecen en la figura 4.31 a, a 664 nm, y un hombro a 614 nm [142].

Hubo una disminución progresiva en la intensidad del pico de MB con el tiempo, mostrando una eficiencia de degradación del 94 % hasta los 120 min y del 96 % después de 24 h de reacción. Siguiendo la cinética del proceso experimental registrada a los 120 min, se realiza la última medición a las 24 h, donde el proceso se acerca al equilibrio sin cambios significativos en la disminución de la absorbancia. La figura 4.31 b muestra el gráfico de $\ln(A/A_0)$ frente al tiempo cuando la velocidad de reacción era $k = 1.887 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ para la degradación de MB.

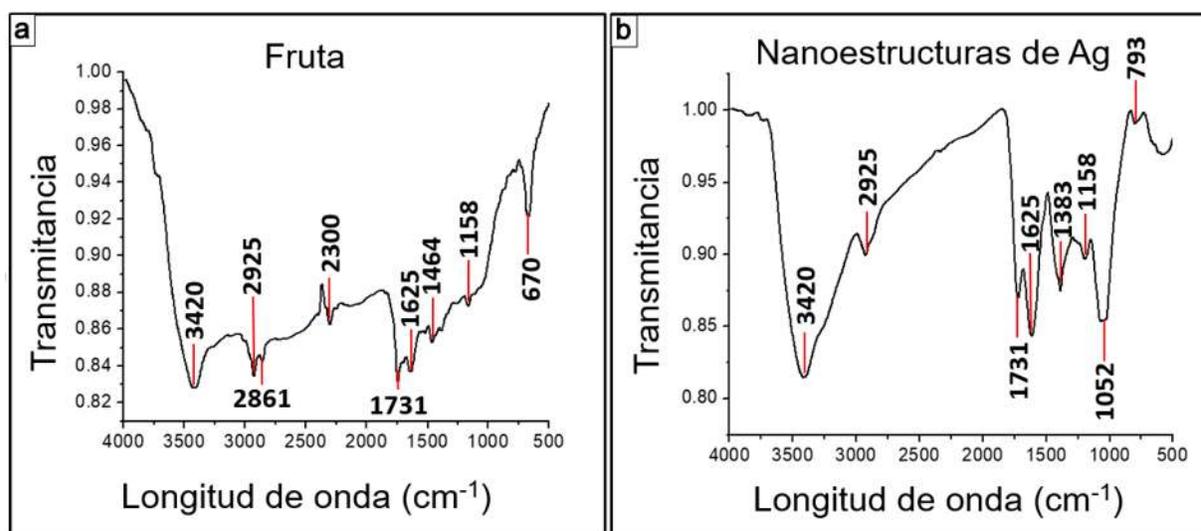


Figura 4.30 Espectros de FT-IR de a) extracto del fruto de pingüica y b) nanoestructuras de Ag sintetizadas.

En RhB, se produjo una banda de absorción a 554 nm (figura 4.31 c) [143]. Después de 120 min, había un 46 % de degradación del colorante. Mientras que a las 24 h se produce cambio en la intensidad máxima, obteniendo un 82% de degradación del colorante. Además, la velocidad de reducción fue $k = 1.194 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ (figura 4.31 d), menor que el colorante MB. La cinética de la reacción se puede considerar de pseudo primer orden respecto a MB, y la constante de velocidad de la reacción (k) se puede evaluar a partir de la pendiente de la recta obtenida a partir de la gráfica de $\ln(A/A_0)$ en función del tiempo (t). De manera similar, la cinética de la reacción de RhB se considera de pseudoprimer orden.

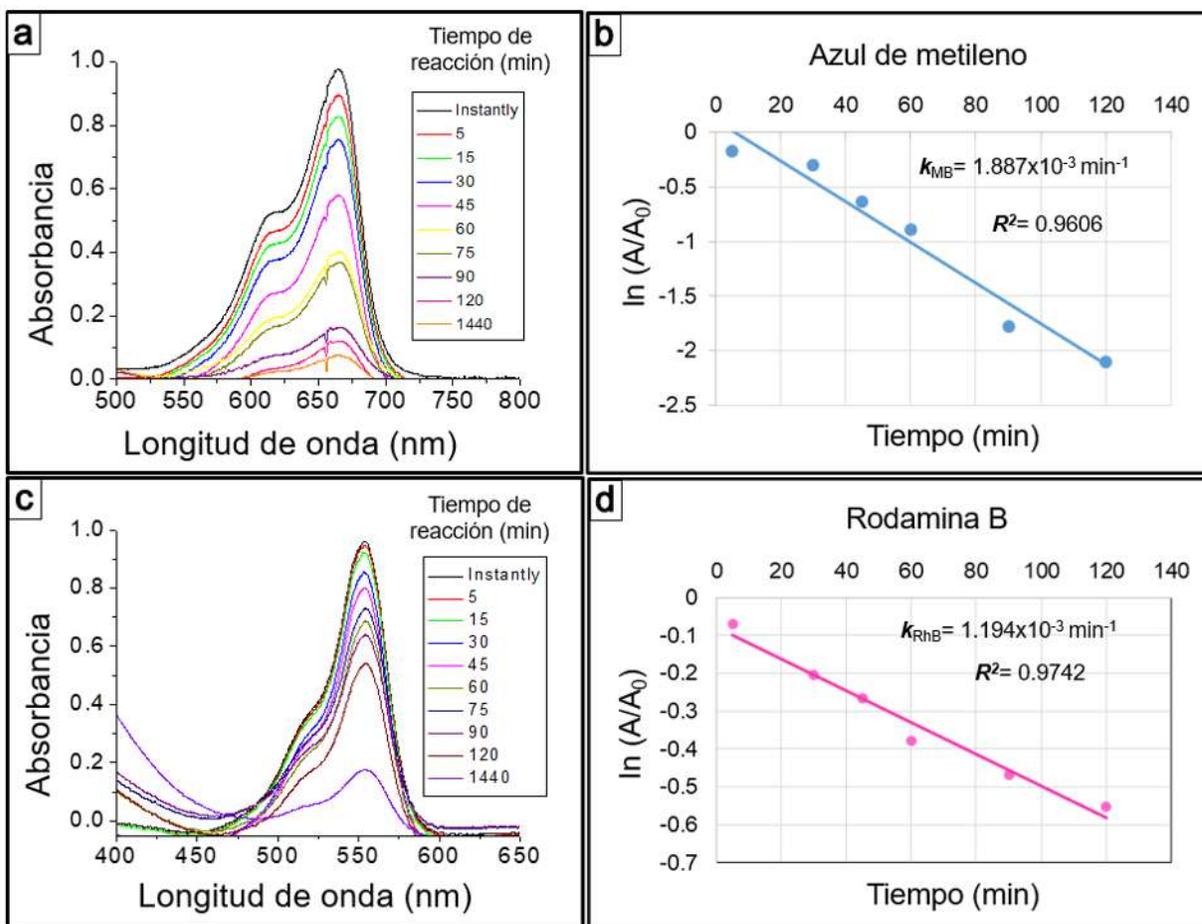


Figura 4.31 (a) Espectros UV-Vis para la degradación fotocatalítica del azul de metileno en presencia de nanoflores de Ag y (b) Gráfica de $\ln(A/A_0)$ vs tiempo (min) para la degradación catalítica del azul de metileno, (c) Espectros UV-Vis para la degradación fotocatalítica de rodamina b en presencia de nanoflores de Ag y (d) Gráfico de $\ln(A/A_0)$ frente al tiempo (min) para la degradación catalítica de rodamina b.

La figura 4.32 a-e muestra los espectros de absorción UV-Vis de la degradación del colorante MB a diferentes concentraciones de AgNO_3 de 0.5 a 1.5 mg/ml. Con la concentración de partículas de Ag en la solución de reacción, hay un aumento en la degradación del colorante notado por la reducción en la intensidad de sus picos característicos. De manera similar, la figura 4.33 a muestra las tasas de degradación del tinte que ilustran el mismo comportamiento. Cuando aumenta la concentración de las partículas de Ag, aumenta la velocidad de degradación, apreciada por el aumento de la pendiente de la curva, siendo una reacción de pseudo primer orden. Además, el gráfico de la figura 4.33 b muestra la curva de

tendencia de degradación de MB, lo que indica que se necesitan alrededor de 0.1 mg/ml para degradar al menos alrededor del 35% de MB. La curva de degradación del colorante tiene un comportamiento logarítmico.

El posible mecanismo general de la actividad catalítica de las nanoflores de Ag se debe a la adsorción de moléculas de colorante en la superficie de las nanoestructuras, para posteriormente ocurrir un proceso de óxido-reducción [60, 144]. Cabe recordar que según el estudio FT-IR, tras la reacción de síntesis, las nanoestructuras quedan recubiertas de productos como grupos carboxílicos e hidroxilos, que pueden degradar todo tipo de colorantes catiónicos como MB y RhB [81, 145]. El azul de metileno es de color azul en estado oxidado y pierde color por reducción, formando un leuco-azul de metileno incoloro [146]. Al mismo tiempo, la RhB en presencia de las moléculas mencionadas anteriormente se degrada en fragmentos menos tóxicos, como amonio (NH^4), dióxido de carbono (CO_2), nitrato (NO^3) y moléculas de agua en presencia de nanoflores de Ag [82].

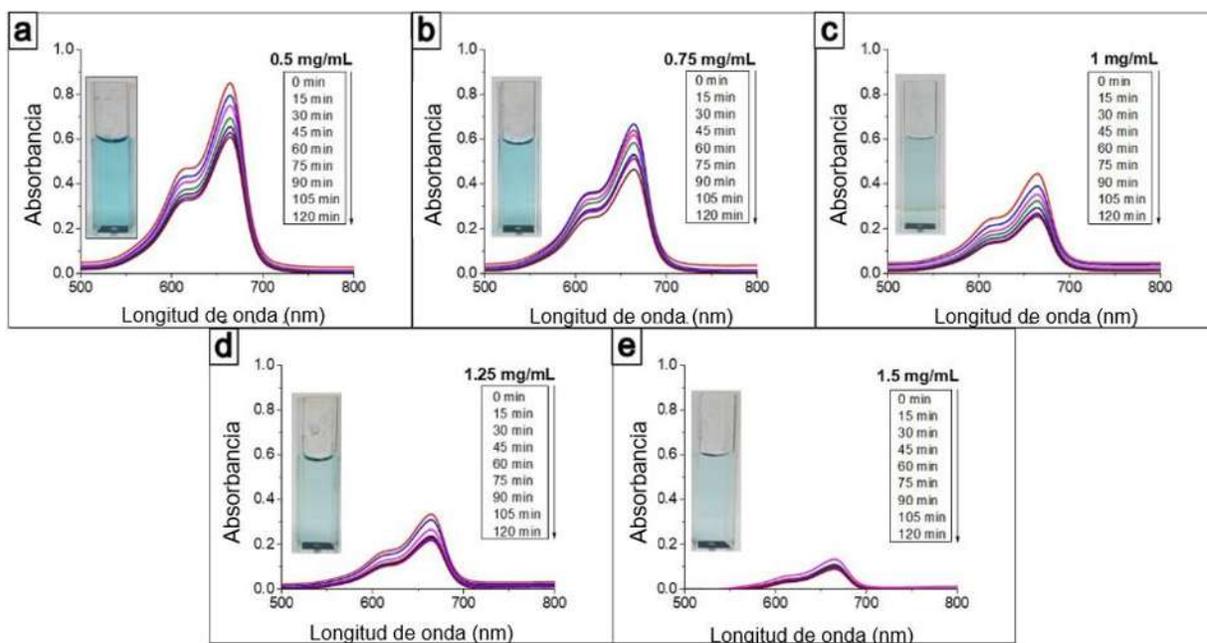


Figura 4.32 Espectros de UV-Vis de la degradación de MB con respecto al tiempo a diferentes concentraciones de nanoestructuras de plata, (a) 0.5 mg/ml, (b) 0.75 mg/ml, (c) 1 mg/ml, (d) 1.25 mg/ml, and (e) 1.5 mg/ml.

Estos resultados son significativamente útiles, sin considerar ningún catalizador adicional, por ejemplo, NaBH_4 [72, 147]. Por otro lado, hay pocos o ningún trabajo de la actividad catalítica sobre morfologías de flores de Ag sintetizadas por métodos verdes. La Tabla 4.1 muestra una compilación de trabajos que compararon varias morfologías, métodos de síntesis y diferentes catalizadores en la reducción de estos colorantes orgánicos.

A partir de los datos, existen porcentajes de eficiencia de degradación comparables en la mayoría de los casos en comparación con el presente trabajo, aunque los tiempos de proceso fueron más cortos en esas investigaciones. Sin embargo, este trabajo no utiliza ningún catalizador (por ejemplo, NaBH_4) para mejorar la velocidad de reacción con el fin de preservar el carácter ecológico del proceso. Así, este método propuesto es fácil, económico y amigable con el medio ambiente en comparación con otros métodos, obteniendo tiempos razonables para la degradación de MB y RhB.

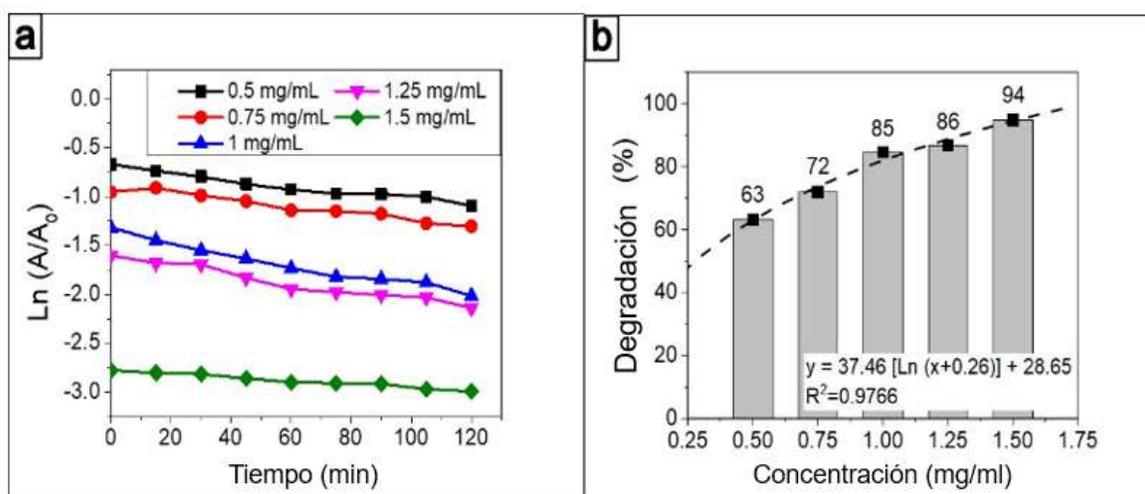


Figura 4.33 (a) Curvas cinéticas de $\text{Ln}(A/A_0)$ frente al tiempo y (b) curva de tendencia de degradación para MB a diferentes concentraciones de nanoestructura de Ag

Tabla 4.1 Trabajos que utilizan nanocatalizadores en la reducción de MB y RhB.

Agentes reductores	Morfología de Ag	Colorante	Catalizadores con/sin	Degradación %	Tiempo (min)	Ref.
<i>Lippia citriodora</i>	Nps	MB	Luz	95	4320	[148]
<i>Chlorella ellipsoidea</i>	Nps	MB	NaBH_4	-	30	[2]

<i>Kalanchoe Daigremontiana</i>	Nanoflores	MB	NaBH ₄	100	6	[72]
<i>Hamelia patens</i>	Esferas	MB	-	98.6	80	[149]
		RhB		97.5	90	
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Nps	MB	NaBH ₄	-	19	[150]
<i>Zanthoxylum armatum</i>	Nps	MB	-	-	1440	[151]
<i>Crataegus pentagyna</i>	Nps	MB	Luz solar	78	90	[132]
		RhB		85		
<i>Guggulutiktham Kashayam</i>	Nps	MB	NaBH ₄	-	20	[142]
<i>Entada spiralis</i>	Nps	MB	NaBH ₄	99	20	[143]
		RhB		94	4	
<i>Bacopa monniera</i>	Nps	MB	NaBH ₄	-	0.75	[144]
<i>Aerva lanata</i>	Nps	MB	Luz	49.26	120	[145]
<i>Dillenia indica</i>	Nps	MB	NaBH ₄	-	25	[146]
<i>Matricaria chamomilla L</i>	Nps	RhB	Bajo radiación UV	93.37	130	[82]
<i>Gmelina arborea</i>	Nps	MB	NaBH ₄	100	10	[147]
<i>Imperata cylindrica</i>	Nps	MB	NaBH ₄	92.06	14	[152]
<i>Vaccinium macrocarpon</i>	Nps/ clinoptilolita	MB	NaBH ₄	100	0.66	[153]
		RhB			1.5	
Poliestireno	Tipo flor	MB	NaBH ₄	-	40	[154]
Otros componentes						
Agentes reductores	Morfología	Colorante	Catalizador con/sin	Degradación %	Tiempo (min)	Ref.
<i>Catharanthus roseus</i>	Ag Nps depositadas en oxido de grafeno	MB	-	98	5	[81]
<i>Euphorbia heterophylla</i>	Ag/HZSM-5 composito	MB	NaBH ₄	-	1.56	[155]
		RhB			3.33	
Ag₂WO₄ y NaCl	Ag/AgCl microrodillos	MB	Bajo radiación de luz visible	-	40	[156]
		RhB			25	
Hidrato de hidracina	Ag nanoalambres /TiO ₂	MB	Bajo radiación UV	100	120	[157]

	nanohojas/ grafeno					
--	-----------------------	--	--	--	--	--

Por otro lado, el colorante de naranja de metilo no hubo ninguna reducción ni a las 24 h de reacción, si bien las nanoestructuras de Ag no son lo suficientemente activas para reducirlo o bien, su tiempo de degradación es mucho más lento que para RhB y MB.

4.8 Actividad antibacterial de nanoflores y dendritas

Las nanoestructuras de plata anisotrópicas autoensambladas han sido poco investigadas como agentes antibacteriales, lo cual es importante ya que se presume mucho acerca de la efectividad de la Ag como agente antibacterial.

El mecanismo principal de las propiedades antibacterianas de las nanoestructuras de Ag es anclar y penetrar las partículas de Ag en la pared celular bacteriana; una vez dentro de la célula, las nanopartículas de plata modulan la señalización celular desfosforilando sustratos de péptidos clave supuestos, que son críticos para la viabilidad y división celular. La capacidad antimicrobiana de las nanoestructuras de plata les permite emplearse adecuadamente en aplicaciones y productos tales como materiales de filtro de agua, textiles y aplicaciones médicas [158].

Como ya se mencionó anteriormente, la prueba de disco o de Kirby-Bauer es una de las más utilizadas para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico o en este caso para nanomateriales que tienen propiedades antibacterianas.

En los últimos años, las pruebas antibacteriales con nanopartículas de Ag han aumentado, las interacciones de las nanopartículas de plata con las bacterias dependen del tamaño y la forma de las nanopartículas [159], por lo que en el presente trabajo se quiere observar el comportamiento antimicrobiano de los nanoárboles y de las nanoflores de plata.

Se han realizado estudios que demuestran que los brotes por *S. aureus* y *E. coli* son en su gran mayoría por manejo deficiente de los alimentos, estas bacterias pueden desarrollarse rápidamente en los alimentos, cuando encuentran condiciones propicias para su desarrollo. Clínicamente la *E. coli* y *S. aureus* pueden causar implicaciones severas. La intoxicación por *S. aureus* se debe a la ingestión de exotoxinas, que provocan náuseas, vómito, dolores abdominales y diarrea, mientras que la *E. coli* causa severos desórdenes gastrointestinales, y en ambos casos, se ha reportado la muerte por infecciones de ambos organismos patógenos [160].

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en uno de sus últimos informes en 2018, reportaron que diversas bacterias, entre ellas la *E. Coli* y el *S. Aureus* han creado una resistencia frente los antibióticos que se usan comúnmente para tratar infecciones causadas por estas, lo cual presenta una grave situación a nivel mundial [161]. Por esta razón se consideró de importancia realizar el estudio de las propiedades antimicrobianas de estas nanoestructuras.

Como ya se mencionó en la metodología, se utilizaron seis concentraciones diferentes de las nanoflores y de los nanoárboles, los cuales se colocaron impregnando discos de papel filtro con el coloide correspondiente; las concentraciones utilizadas fueron 1, 20, 50, 100, 120 y 150 ppm, en la figura 4.34 a-c se muestran los resultados con las nanoflores de plata con *E. Coli*. Se puede apreciar que en las tres pruebas que se realizaron, que alrededor de los discos aparecen zonas de inhibición, en los tres casos es a partir de la concentración de 20 ppm de las nanoflores de Ag que se observan pequeños halos los cuales incrementaron su tamaño a medida que iba aumentando la concentración de las nanoflores de Ag, sin embargo, en la primera prueba realizada (figura 4.34 a) se observa discrepancia, ya que los halos disminuyeron en tamaño a las concentraciones de 120 y 150 ppm, esto debió suceder por fallas técnicas, ya que el método básicamente consiste en el contacto que tiene el disco con el agar, en este caso pudo no colocarse de manera correcta el disco o el inóculo era demasiado denso, por este motivo es que las pruebas deben repetirse al menos dos veces para tener una mayor certeza de los resultados. Se midieron los halos con un vernier y se registró con una medida de 8.5 mm el halo más pequeño correspondiente a la concentración de 20 ppm y de 11 mm el halo más grande para 120 y 150 ppm.

Por otro lado, se muestran los antibiogramas en la figura 4.35 con la misma bacteria pero ahora para comprobar la sensibilidad con dendritas de Ag, se realizaron el mismo número de repeticiones. Se puede apreciar que del mismo modo que las nanoflores, para una concentración de 1 ppm no se observan halos de inhibición, lo que indica que aparentemente esa cantidad de dendritas no es suficiente para impedir el crecimiento de bacterias. En este caso se muestra que a medida que aumenta la concentración de las dendritas aumentan ligeramente el tamaño de los halos. El tamaño más pequeño reportado fue de 7.5 mm, mientras que el más grande fue de 12 mm, se puede observar que los halos son ligeramente similares con los obtenidos con las nanoflores, pero se puede determinar que los nanoárboles tienen una mejor actividad antibacterial frente a las nanoestructuras tipo flor.

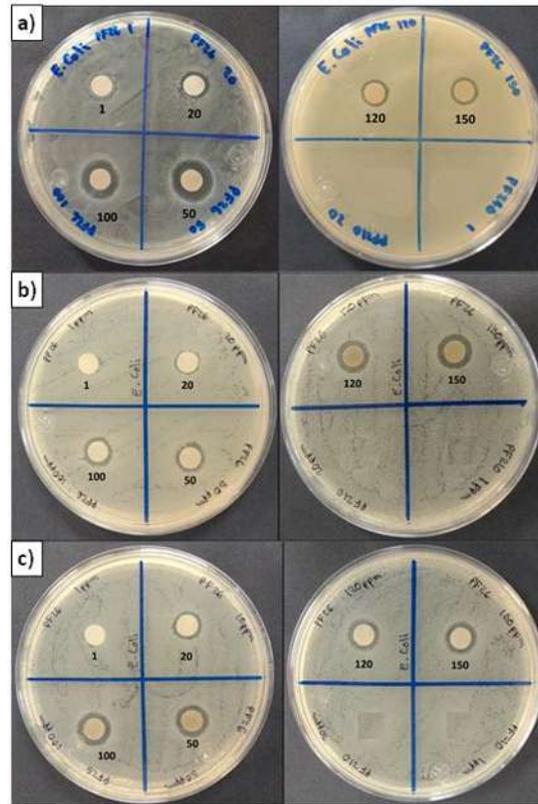


Figura 4.34 Antibiograma realizado para comprobar la sensibilidad de *E. Coli* con nanoflores de Ag a) primera prueba, b) segunda prueba y c) tercera prueba.

Mucho se ha reportado ya de estas pruebas con nanopartículas de Ag [162-164], y muy pocos estudios se han hecho con este tipo de estructuras. Uno de los investigadores que han reportado actividad antibacteriana con nanoflores de Ag han sido Molina y col. [72] en donde informan de una muy buena actividad antibacteriana de estas estructuras, sin embargo, ellos utilizan concentraciones de 100, 200, 400, 800, 1600, 3200 y 6400 ppm, en comparación con las cifras utilizadas en este trabajo se observa que son concentraciones muchísimo más bajas las utilizadas aquí, por lo que se presume que las nanoflores sintetizadas con el extracto de pingüica son mucho más eficientes que las que sintetizaron Molina y col. con el extracto de *Kalanchoe Daigremontiana*. Por otro lado, Ugwoke y col. [165] sintetizaron nanopartículas de Ag con *Moringa Oleifera*, obtuvieron halos de inhibición de 15 mm a una concentración de 20 ppm, esto comprueba que aunque si se tienen una buena actividad antimicrobiana las nanoflores y dendritas, las nanopartículas de Ag siguen siendo más efectivas.

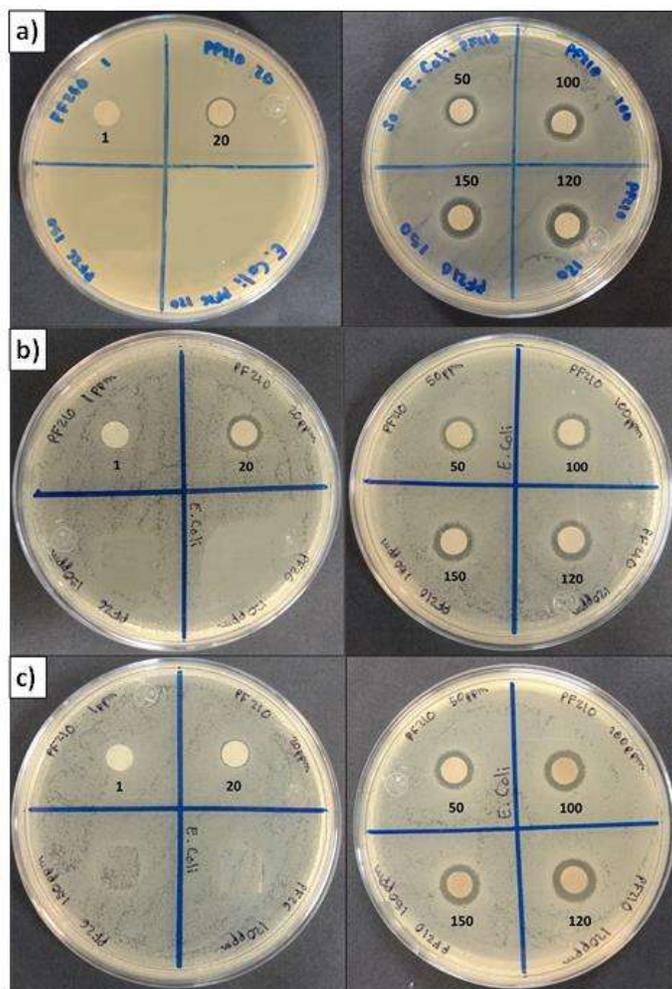


Figura 4.35 Antibiograma realizado para comprobar la sensibilidad de *E. Coli* con nanoárboles de Ag a) primera prueba, b) segunda prueba y c) tercera prueba.

También se presentan los estudios realizados con *S. Aureus* tanto para las nanoflores como para las dendritas, de igual manera que para *E. Coli* se realizó el experimento tres veces. Para las nanoflores se muestra la figura 4.36 a-c y para las dendritas se muestra la figura 4.37 a-c. De primera instancia se observa que en los dos diferentes materiales hay una mayor resistencia de esta bacteria en comparación con la *E. Coli* ya que en las nanoflores como en las dendritas se presentan halos de inhibición hasta la concentración de 50 ppm y se obtuvo un aumento del halo a medida que aumentaba la concentración, habiendo también unas incongruencias como con *E. Coli* que se le atribuyen a errores técnicos o una densidad del inóculo alta. Se realizaron pruebas de control tanto de *E. Coli* como para *S. Aureus*, colocando

un disco impregnado con el extracto y con AgNO_3 a las concentraciones de 6 mM y 10 mM que fueron las utilizadas para sintetizar nanoflores y dendritas respectivamente.

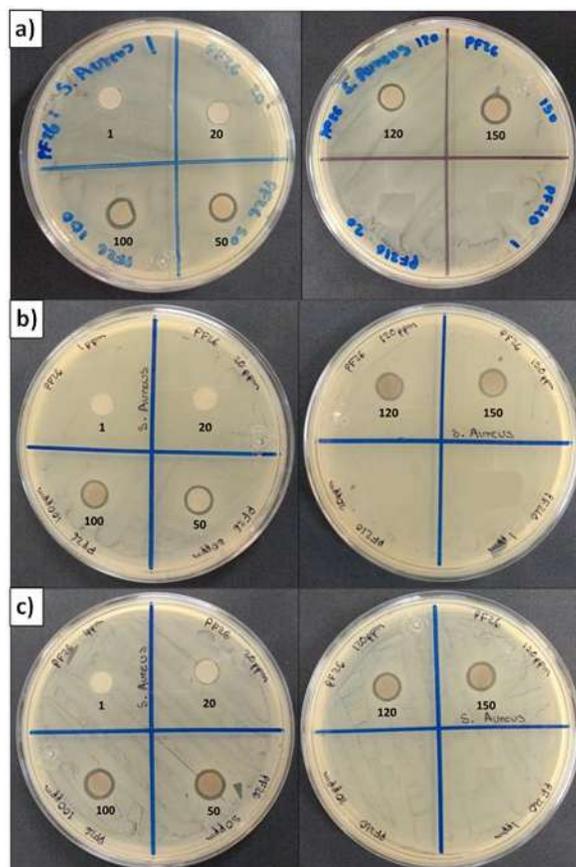


Figura 4.36 Antibiograma realizado para comprobar la sensibilidad de *S. aureus* con nanoflores de Ag (a) primera prueba, (b) segunda prueba y (c) tercera prueba.

En la figura 4.38 se muestran las pruebas con solo extracto y con la sal de Ag. Mediante estos resultados se comprueba que el extracto no tiene propiedades antibacterianas y no influye con las nanoestructuras para la inhibición, por otro lado, con el AgNO_3 si presenta halos de inhibición, sin embargo, hay que destacar que es una concentración mucho mayor la que se está utilizando con las nanoestructuras, esto ya ha sido señalado por otros autores [166] que si bien el AgNO_3 muestra un comportamiento bactericida es empleando concentraciones a nivel micromolar, mientras que las nanoestructuras producen un efecto a nivel nanomolar.

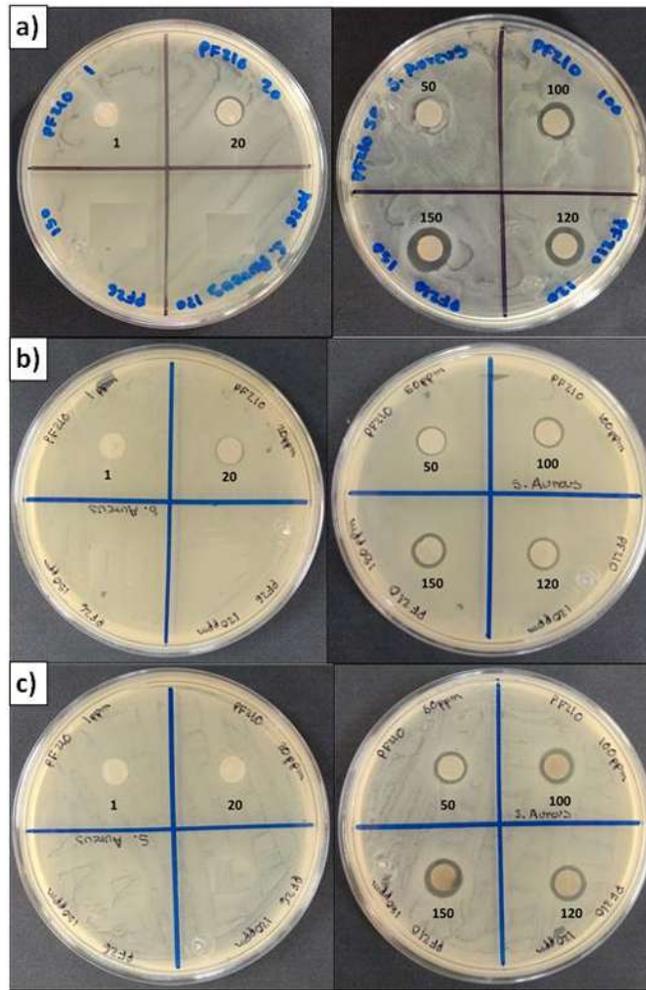


Figura 4.37 Antibiograma realizado para comprobar la sensibilidad de *S. aureus* con dendritas de Ag a) primera prueba, b) segunda prueba y c) tercera prueba.

Para resumir todas las mediciones de los halos que se obtuvieron se realizó la tabla 4.2. Estas mediciones se promediaron para obtener la media de la inhibición de las bacterias. Los cuadros que se presentan en rojo fueron mediciones que se descartaron debido a que eran incongruentes con las otras dos pruebas realizadas. Se vuelve a remarcar que no hay información en la literatura de este tipo de pruebas para estas estructuras.

Se realizaron las pruebas de MIC's para encontrar la concentración mínima de inhibición, es decir, la cantidad mínima de nanoestructuras de Ag para el impedimento del crecimiento de los microorganismos, se utilizaron las concentraciones de 1, 5, 15 y 20 ppm con referencia a los resultados obtenidos con las pruebas anteriores, donde se observaba que a 20 ppm ya hay inhibición de bacterias como ya se mencionó. En la figura 4.39 a-d se muestran estos

resultados. En todas las pruebas se dejó un tubo como control para observar la turbidez del inóculo.

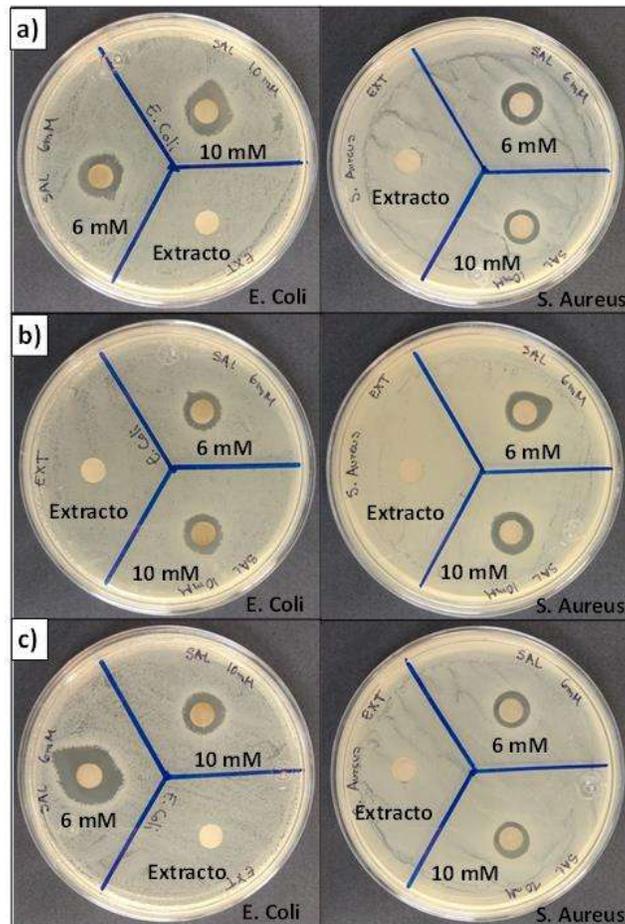


Figura 4.38 Antibiograma realizado para comprobar la sensibilidad de *E. Coli* a la derecha y *S. aureus* a la derecha con extracto de AgNO_3 a) primera prueba, (b) segunda prueba y (c) tercera prueba.

Se determina que en el caso de las nanoflores de Ag (figura 4.39 a) frente a *E. Coli* la turbidez a 1 ppm sólo disminuye un poco, sin embargo, aún se aprecia lo que indica que aún hay presencia de bacterias, para 15 ppm ya hay una mayor cristalinidad en el caldo, aun así, cuando se colocó una gota de los caldos sobre una placa de agar de cada una de las concentraciones, se observa que para todas las concentraciones hay un crecimiento de *E. Coli*, que aunque ya existe una cristalinidad para 15 y 20 ppm solo hay una inhibición pero no hay muerte de las bacterias.

Para *S. Aureus* ocurre que en ninguno de los tubos existe cristalinidad en los caldos, lo que predice en primera instancia que no hay inhibición, esto se comprobó comprueba en la placa de agar, donde hay crecimiento de bacterias para todas la concentraciones.

Los estudios realizados con dendritas fueron más satisfactorios para los dos inóculos, donde se presenta una concentración mínima inhibitoria para 15 ppm en ambos casos, ya que al momento de colocar las gotas de los caldos en las placas de agar a esa concentración no hay crecimiento de microorganismos. Revisando la literatura, se encontró a Kim y col. [167], quienes sintetizaron nanopartículas de Ag y determinaron su MIC la cual fue a 100 ppm, que es mucho más alta que en los nanoárboles de Ag obtenidos en este estudio, lo que se presume como resultados muy satisfactorios.

Tabla 4.2 Mediciones de halos de inhibición.

NANOFLORES						NANOÁRBOLES					
BACTERIAS	REPETICIONES					BACTERIAS	REPETICIONES				
	CONCENTRACIÓN	PRIMERA	SEGUNDA	TERCERA	PROMEDIO		CONCENTRACIÓN	PRIMERA	SEGUNDA	TERCERA	PROMEDIO
ESCHERICHIA COLI	Extracto	Nada	Nada	Nada	Nada	ESCHERICHIA COLI	Extracto	Nada	Nada	Nada	Nada
	Sal 6 mM	11 mm	13 mm	17.5 mm	12 mm		Sal 10 mM	12 mm	14 mm	12 mm	12.6 mm
	1 ppm	Nada	Nada	Nada	Nada		1 ppm	Nada	Nada	Nada	Nada
	20 ppm	8.5 mm	9 mm	8 mm	8.5 mm		20 ppm	8 mm	9.5 mm	7.5 mm	8.3 mm
	50 ppm	13 mm	10 mm	9 mm	9.5 mm		50 ppm	10 mm	10 mm	9.5 mm	9.8 mm
	100 ppm	12 mm	11 mm	10 mm	11 mm		100 ppm	11 mm	10 mm	10 mm	10.3 mm
	120 ppm	9 mm	10 mm	11 mm	10 mm		120 ppm	12 mm	11 mm	10 mm	11 mm
	150 ppm	9 mm	10 mm	11 mm	10 mm		150 ppm	11 mm	11 mm	10 mm	10.6 mm
STAPHYLOCOCCUS AUREUS	Extracto	Nada	Nada	Nada	Nada	STAPHYLOCOCCUS AUREUS	Extracto	Nada	Nada	Nada	Nada
	Sal 6 mM	13 mm	11.5 mm	12.5 mm	12.3 mm		Sal 10 mM	10.5 mm	11 mm	13.5 mm	10.7 mm
	1 ppm	Nada	Nada	Nada	Nada		1 ppm	Nada	Nada	Nada	Nada
	20 ppm	Nada	Nada	8 mm	Nada		20 ppm	8 mm	Nada	7.5 mm	7.7 mm
	50 ppm	9 mm	9 mm	9 mm	9 mm		50 ppm	10 mm	10 mm	8 mm	10 mm
	100 ppm	9.5 mm	9 mm	10 mm	9.5 mm		100 ppm	10 mm	10.5 mm	8.5 mm	10.2 mm
	120 ppm	9 mm	9 mm	9 mm	9 mm		120 ppm	11 mm	10.5 mm	8.5 mm	10.7 mm
	150 ppm	9.5 mm	10 mm	9 mm	9.5 mm		150 ppm	13 mm	10.5 mm	9.5 mm	10 mm

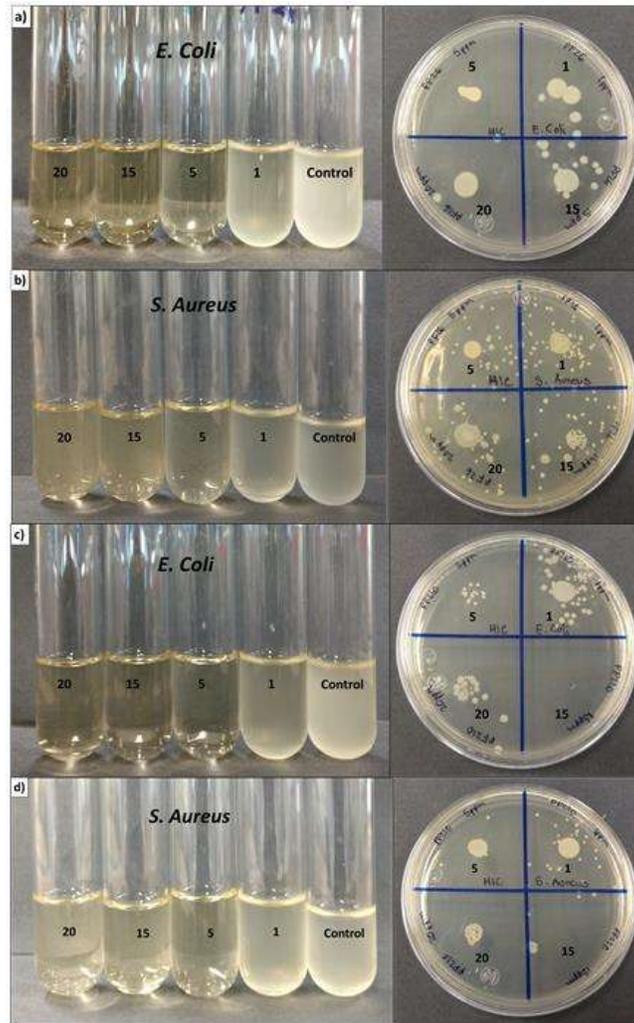


Figura 4.39 Determinación de MIC de a-b) nanoflores de Ag y c-d) nanoárboles frente a *E. coli* y *S. aureus*.

CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El fruto de pingüica presentó espectaculares resultados derivados de la biosíntesis, obteniendo exitosamente nanoflores y dendritas de Ag. El crecimiento espontáneo de todas esas formas se debió precisamente a la cantidad de sal precursora utilizada (6 y 10 mM), que permite la bio-reducción también por la adecuada cantidad del extracto del fruto de esta planta.

Es importante mencionar que en su mayoría los extractos de las plantas juegan un doble papel importante que consiste en reducir los iones metálicos a nanopartículas y estabilizar la solución coloidal, ha sido reportado [168] que con muy pocas excepciones este doble papel no se cumple ya sea en una o las dos funciones. Sin embargo, en el actual trabajo la cantidad de sal precursora se encontró por encima de la capacidad de la planta para estabilizar la reacción para la formación de nanopartículas, es decir por encima de la cantidad requerida de los agentes surfactantes necesaria para mantener a las nanopartículas en una solución nanocoloidal estable, lo que significa que el fruto presenta una desproporción considerable entre su capacidad de reducción y su capacidad de estabilización lo cual fue importante para el crecimiento incontrolado anisotrópico. Esa diferencia en capacidad de reducción y estabilización es fácil de entender ya que, por lo general, las plantas medicinales son reconocidas ancestralmente por sus capacidades antioxidantes y no por la presencia de sustancias tensoactivas.

El crecimiento insostenible de los núcleos de plata para dar lugar a la diversidad de formas encontradas mediante la planta de pingüica, se basó en la superación experimental en el laboratorio, de la capacidad de dicha planta para contar con las sustancias surfactantes adecuadas para estabilizar las nanoestructuras de Ag. Esa diversidad de formas es principalmente una consecuencia de una alta velocidad de crecimiento en las partículas la cual es del tipo polinuclear que se encuentra ayudada por un crecimiento secundario combinada con una influencia anisotrópica.

Haciendo una comparación entre estas dos nanoestructuras obtenidas la figura 5.1 a muestra una alta dispersión y uniformidad de morfologías similares a flores preparadas con una concentración de sal precursora de 6 mM. Las micrografías a mayores aumentos se muestran en la figura 5.1b-c, en la cual se muestran flores con un tamaño entre 0.4 y 1.0 μm compuestas de varios bloques 2D. Las unidades 2D son nanoláminas de alrededor de 20 nm

de espesor. Por otro lado, dendritas fractales mostradas en las figura 5.1 d-f presenta imágenes de MEB y MET en diferentes aumentos de los productos preparados con una concentración de sal precursora de 10 mM. Los productos consisten en dendritas con brazos grandes y uniformemente distribuidos de hasta 10 μm , con múltiples picos formados por pequeñas varillas al final de cada brazo, cuyos tamaños rondan los 100 nm.

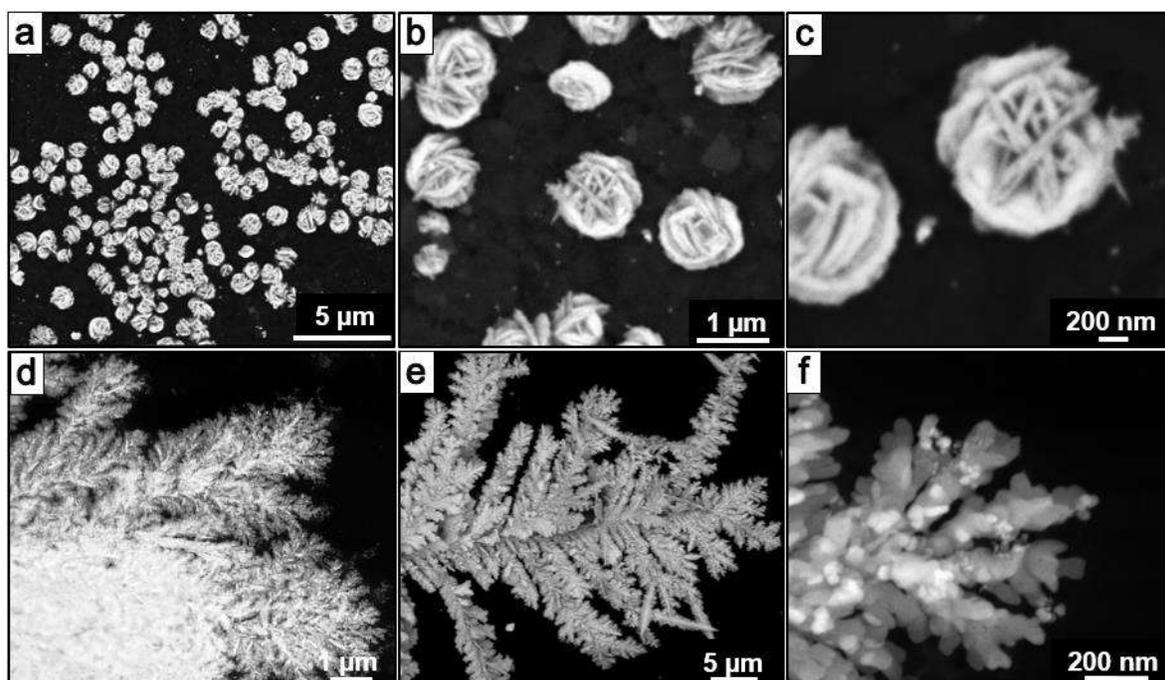


Figura 5.1 Imágenes de MEB obtenidas con diferentes ampliaciones de (a-c) nanoflores de Ag y (d-f) dendritas de Ag.

El análisis químico de espectroscopía de dispersión de energía (EDS) determinó la composición química de ambos productos, tanto de flores como de dendritas (figura 5.2). Se puede apreciar que en ambas estructuras solo aparece el elemento Ag, lo que confirma la existencia de materiales nanoestructurados de Ag en ambos casos. Además, los estudios de DRX determinaron la estructura cristalina de ambos materiales. La figura 5.3 a-b muestra los patrones DRX en los que los planos cristalográficos (111), (200), (220) y (311) aparecen indistintamente en ambos tipos de nanoestructuras cuya distribución angular corresponde a los reflejos típicos de la red cristalina fcc de Ag. Estos resultados confirman la reducción exitosa de nanoflores y dendritas de una composición y estructura completamente de Ag utilizando el extracto de fruta *Arctostaphylos pungens Kunth*.

A partir de los patrones DRX, es evidente que los picos se están ampliando debido a la formación de nanocristales en ambos materiales. Por lo tanto, la ecuación de Debye-Scherrer calcula el tamaño del cristalito a partir del pico de DRX más prominente (111). Los resultados indicaron 24 nm para las dendritas mientras que 43 nm para las morfologías de tipo flor. Este resultado es evidente desde el punto de vista de que las dendritas terminan en forma de cuña, donde el espesor disminuye mientras que las nanoláminas mantienen aproximadamente el mismo espesor.

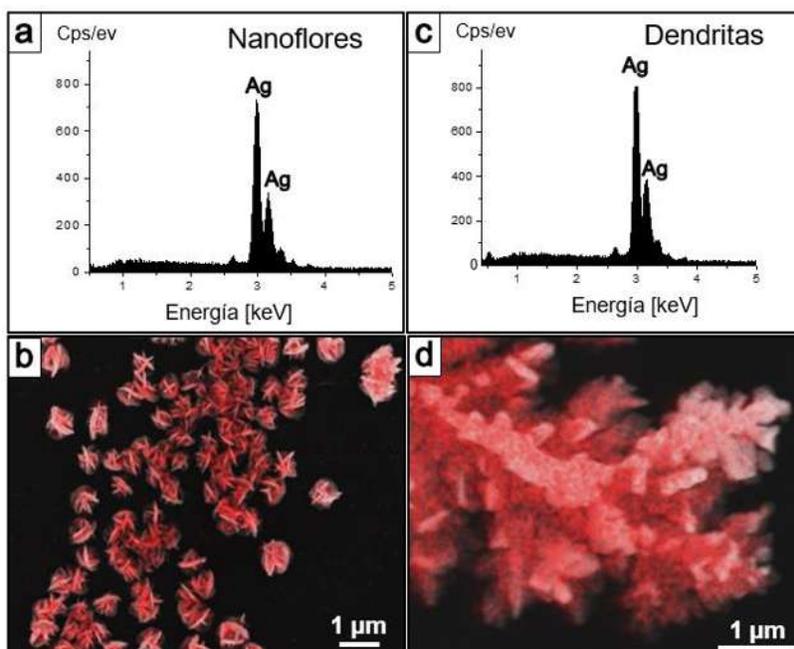


Figura 5.2 Análisis puntual EDS y mapas químicos de (a-b) nanoflores de Ag y (c-d) dendrita de Ag.

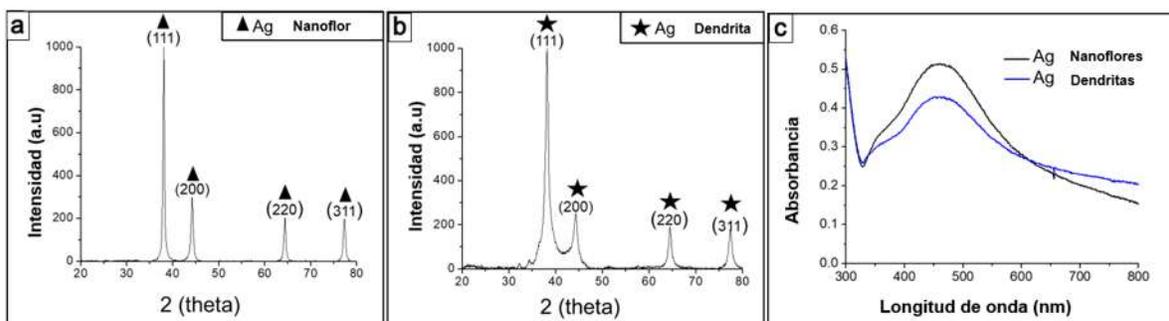


Figura 5.3 Patrones de difracción de rayos X de (a) nanoflores, (b) dendritas y (c) sus correspondientes espectros UV-Vis.

La figura 5.3 c presenta los espectros UV-Vis de las dendritas de Ag y las flores de Ag registrados después de ocho días de reacción mostrando un amplio rango de 328 a 649 nm con un máximo de 463 nm. Los diferentes grados de confinamiento cuántico atribuidos a la diversidad de tamaños y las superficies de las nanoestructuras provocan un pico ancho y un corrimiento al rojo.

Estos resultados indican que la concentración molar del precursor influyó en la morfología de los productos obtenidos al mismo tiempo de reacción con el extracto del fruto de pingüica. Las morfologías florales se forman para la concentración más baja del precursor, mientras que, al mismo tiempo de reacción, las dendritas fractales aparecen para la mayor concentración de precursores. Investigaciones anteriores también han obtenido resultados similares Ag nanoestructuras [13, 169, 170].

Una vez determinada la morfología de las nanoestructuras, la composición química y la estructura cristalina de los productos sintetizados, se puede concluir que el extracto del fruto de pingüica (*Arctostaphylos pungens Kunth*) contiene sustancias naturales suficientes para reducir los iones de Ag, dependiendo de la composición de la sal precursora. Además, esta planta posee sustancias directrices que dan formas anisotrópicas cuyos iones reducidos se difunden a la superficie sólida para formar flores o dendritas de Ag.

Los cambios morfológicos como función del tiempo de reacción se realizaron para determinar el mecanismo de crecimiento de las nanoestructuras de Ag. En MEB se analizaron los productos relacionados para ambas concentraciones (6 mM y 10 mM de AgNO_3) a los 1, 3, 5 y 8 días de reacción. La figura 5.4 muestra las imágenes donde la izquierda columna corresponde a la concentración de 6 mM y la derecha a las obtenidas para 10 mM. En las primeras etapas de crecimiento (figuras 5.4 a-b), los átomos comienzan a agregarse para formar nanopartículas.

Debido a la falta de sustancias estabilizadoras, las nanopartículas coloidales se aglomeran gradualmente después de 3 días de reacción y son consumidas por toda la partícula esférica en forma de nanoflor (figuras 5.4 c-d). Cuando el tiempo de reacción alcanza los 5 días, el producto se compone en su totalidad de un agregado relativamente uniforme de nanoflores (figuras 5.4 e-f). Finalmente, durante la reacción hasta los 8 días, la morfología de los productos se consolidó en flores o dendritas (figuras 5.4 g-h). Estos resultados también

muestran que la evolución de la morfología evoluciona a partir de nanopartículas, nanoestructuras similares a flores y finalmente, la morfología dendrítica.

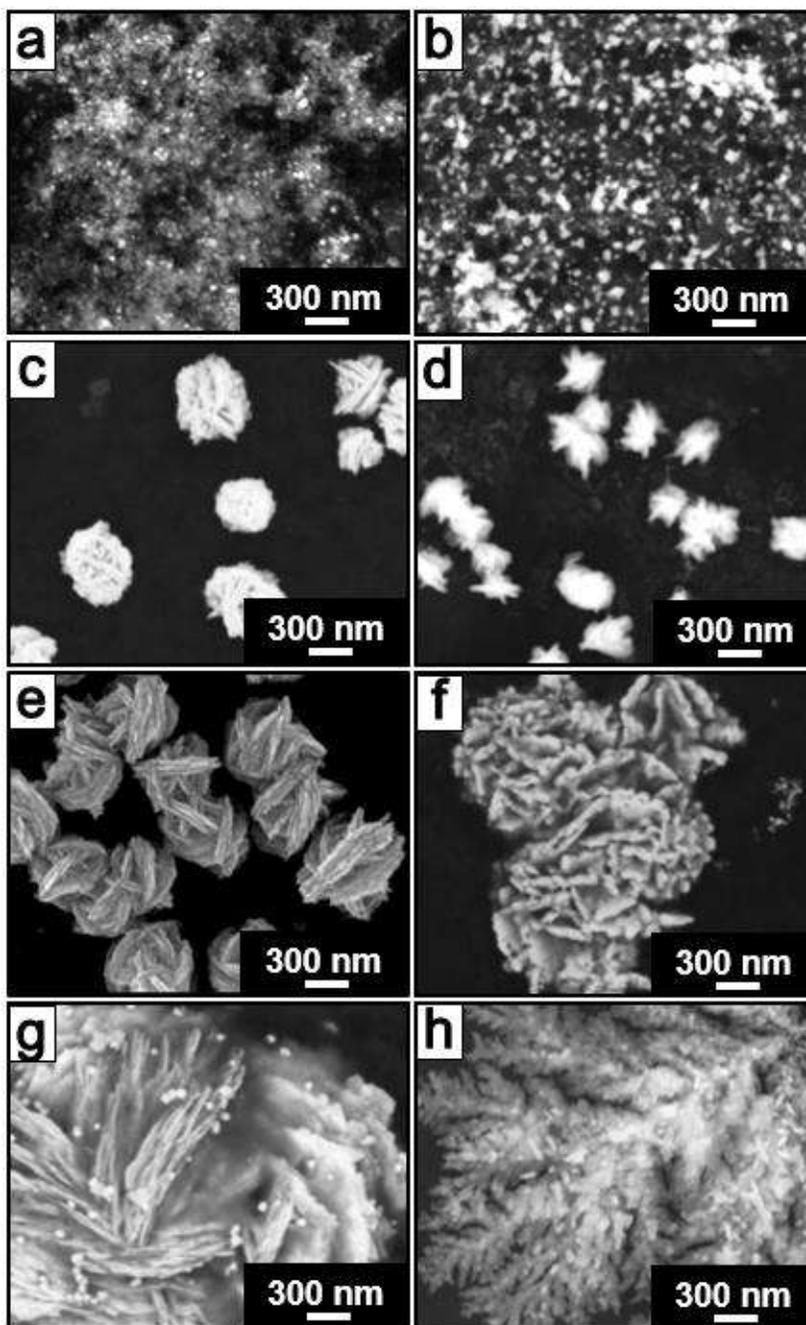


Figura 5.4 Imágenes MEB de nanoflores de Ag (columna izquierda) y dendritas (columna derecha) en diferentes tiempos de reacción: (a-b) 3 días, (c-d) 5 días y (e-f) 8 días.

Otro ensayo sobre la conversión de nanoflores en dendritas se muestra en las imágenes de MEB en la figura 5.5. Estas imágenes corresponden a una muestra tratada durante 8 días de reacción con 8 mM de AgNO_3 . Las micrografías muestran un crecimiento dendrítico en el lado de las nanoláminas que forman la morfología tipo flor, lo que sugiere que las nanoláminas continúan su crecimiento con el aumento de la concentración de la sal precursora, desarrollando los brazos dendríticos primarios para posteriormente crecer los brazos secundarios. El desarrollo de brazos dendríticos es a partir de las nanoplacas, lo que puede suponer, que el crecimiento se da en la parte de las terminaciones más rugosas de las nanoplacas, se aprecia que, en un principio, el espesor de las láminas sigue siendo nanométrico.

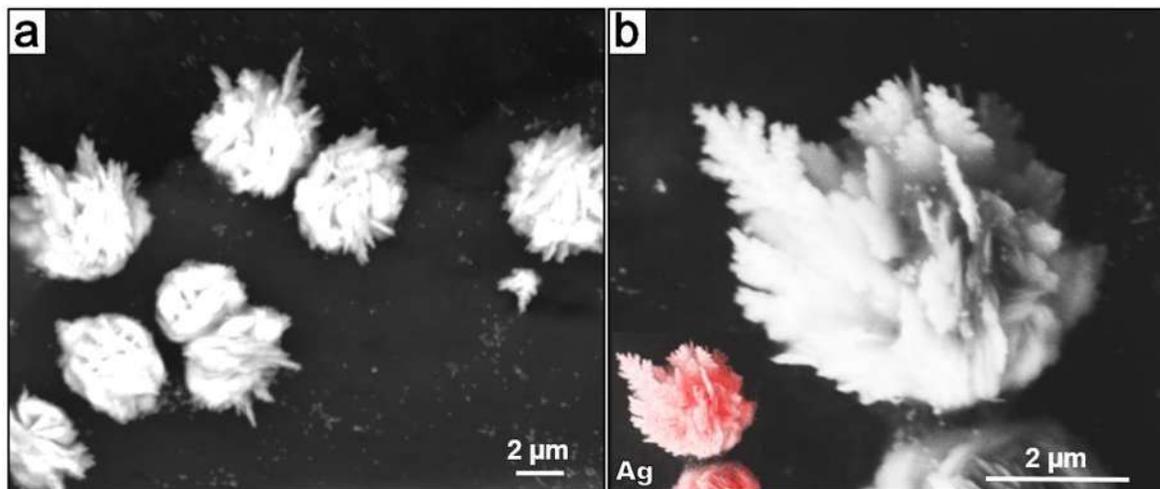


Figura 5.5 (a-b) Imágenes de MEB de nanoflores Ag que comienzan a formar nanodendritas, (imagen insertada) mapa químico EDS.

En base a estos resultados, se especula sobre el mecanismo de crecimiento que da origen a las nanoflores y dendritas. La figura 5.6 muestra un diagrama que resume el crecimiento de los productos de reacción. Como se ve, para concentraciones de sal más bajas, inicialmente se forman nanopartículas, lo que indica que el extracto de fruta de pingüica contiene agentes biorreductores y estabilizadores adecuados para formar nanopartículas de Ag (a). Sin embargo, como el aumenta el número de iones reducidos, los agentes estabilizadores se agotan o se transforman estructuralmente, provocando la agregación de tamaño de partícula para aumentar más allá del tamaño nanométrico (b). Los átomos que alcanzan la superficie

de crecimiento se adsorben y se desarrollan anisotrópicamente para formar los pétalos o láminas del arreglo floral que se desarrolla aleatoriamente (c). Además, otras biomoléculas participan como guías en el crecimiento de la estructura floral (c). Existen sustancias directoras o aglutinantes en el extracto acuoso que se depositan en planos cristalográficos preferenciales, lo que permite la formación de caras planas o pétalos.

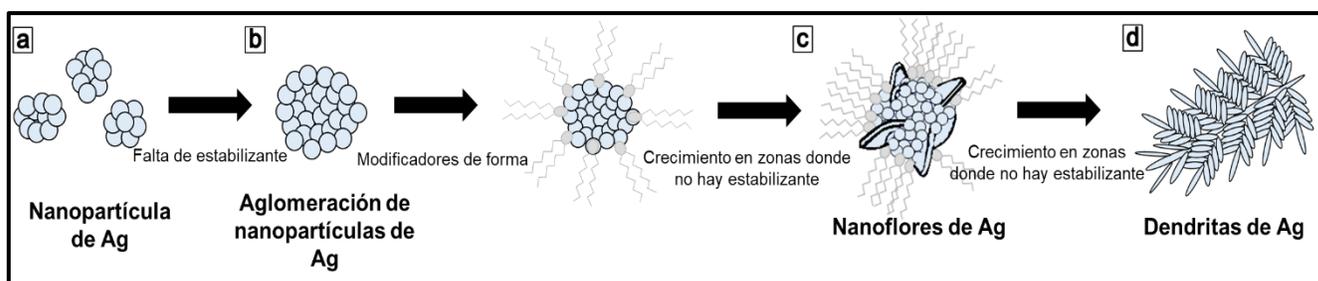


Figura 5.6 Diagrama que resume el posible mecanismo de crecimiento de los productos de reacción.

Una vez que se forma la nanoestructura similar a una flor y la concentración de sal aumenta a 10 mM, el exceso de iones de Ag reducidos hará que las nanoláminas crezcan hasta convertirse en una nanoestructura dendrítica (d). Las sustancias que estabilizan los pétalos de las flores en las caras planas se agotan o transforman nuevamente, provocando que las hojas crezcan principalmente en sus extremos formando direccionalmente los brazos primarios y, en consecuencia, los brazos secundarios de la estructura dendrítica.

Por otro lado, mucho se ha informado que el mecanismo de síntesis de nanoestructuras de Ag es muy complejo. Las nanoestructuras se obtienen por la presencia de entidades biológicas que se encuentran compuestas por un gran número de compuestos orgánicos tales como: hidratos de carbono, grasas, proteínas, enzimas y coenzimas, fenoles, flavonoides, terpenos, alcaloides, etc. [171, 172], capaces de donar electrones para la reducción de los iones de Ag a Ag^0 . Aunque se sabe que los radicales libres se generan por las especies reactivas de oxígeno (ROS). Las biomoléculas tales como las proteínas, glicoproteína, lípidos, ácidos grasos, fenoles, flavonoides y azúcares controlan fuertemente la formación de radicales libres [173].

El mecanismo exacto en cada planta varía considerablemente ya que el fotoquímico involucrado varía, aunque el principal mecanismo implicado es la reducción de los iones.

Estos fitoquímicos son reclamados en la conducción de electrones lo que involucra las propiedades reductoras, que es un mecanismo complejo ya que existen más de 5.000 fitoquímicos hasta ahora identificados [174].

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

Una de las sustancias reconocidas que puede participar de la bioreducción son los terpenos. Se debe reconocer que hay más de 50,000 terpenoides [175] que han sido aislados de las plantas terrestres, marinas y hongos, se entiende que eso puede complicar el mecanismo específico de la bioreducción. Los terpenos son los responsables del olor de las plantas y su molécula básica es el isopreno. Por ejemplo, una clasificación de ellos son los tetraterpenos que poseen ocho unidades isopreno y tienen la fórmula molecular $C_{40}H_{56}$. Los tetraterpenos más importantes biológicamente incluyen al acíclico licopeno, el monocíclico gamma-caroteno y al bicíclico alfa- y beta-caroteno.

Otras de las sustancias que han sido reportadas como las responsables de la bioreducción son los flavonoides [176]. Los flavonoides son un grupo grande de compuestos polifenólicos que comprenden varias clases, incluyendo, antocianinas, isoflavonoides, flavonoles, chalconas, flavonas, flavanonas y, que pueden quelar activamente y reducir los iones metálicos en nanopartículas. Los flavonoides forman un grupo de aproximadamente nueve mil metabolitos vegetales que químicamente, pueden ser clasificados como polifenoles o compuestos fenólicos, por lo que, determinar exactamente los metabolitos que contiene el fruto no es tarea fácil, se requieren años de estudio.

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES

- Se obtuvieron exitosamente las nanoestructuras de Ag tipo flor mediante el uso del extracto del fruto de pingüica utilizando la concentración de 6 mM de AgNO₃, lo que deja ver que la pingüica contiene sustancias reductoras pero no suficientes estabilizantes, permitiendo la obtención de las nanoflores.
- Fue notado que con el incremento en el tiempo de reacción las nanoflores cambian su tamaño y morfología, siendo que se mantienen estables hasta un tiempo de 10 días de reacción, después de ese tiempo los agentes que mantienen estas estructuras estables comienzan a degradarse, provocando que la nanoestructura comience a deshacerse.
- Se sintetizaron nanoflores de Ag mediante los extractos de pingüica con diferentes estados de maduración, mientras que para las dendritas de Ag no se obtuvieron bajo esas mismas condiciones.
- Se determinó que los frutos inmaduros realizan una síntesis más rápida que los demás extractos que se sometieron al estudio.
- Se obtuvieron exitosamente dendritas de Ag pura mediante el extracto del fruto de *Arctostaphylos pungens kunth* a un tiempo de 8 días de reacción en oscuridad total y una concentración de AgNO₃ de 10 mM.
- Se degradaron exitosamente los colorantes de azul de metileno y rodamina B con un porcentaje de degradación de 96% y 82% respectivamente.
- No hubo ninguna degradación del naranja de metilo para el tiempo de 24 horas.
- Se obtuvieron resultados satisfactorios en las pruebas antibacteriales con el método de Kirby-Bauer, donde hay halos de inhibición a partir de la concentración de 20 ppm tanto para nanoflores como para dendritas frente a *Escherichia Coli*.
- Para *Staphylococcus Aureus* se mostraron halos de inhibición a partir de la concentración de 50 ppm en ambas nanoestructuras.
- Se le podrían dar más aplicaciones de las que se encuentran en la literatura a este tipo de nanoestructuras, aprovechando su propiedad antimicrobiana.
- La Concentración Mínima de Inhibición para las nanoflores no fue encontrada, mientras que para las dendritas de Ag fue de 15 ppm frente a las dos cepas estudiadas.

- Las propiedades antibacteriales de los dos tipos de nanoestructuras es muy similar, aunque por los resultados obtenidos con los MIC's, las dendritas presentan una mejor actividad antimicrobiana que las nanoflores de Ag, que al no encontrarse el MIC en estas estructuras es indicativo que necesita una concentración más alta de nanoflores de Ag.
- El extracto de pingüica también es capaz de bio-reducir los iones de paladio
- Se sintetizaron de manera exitosa nanoestructuras fractales de Ag mediante el extracto de pingüica sin la necesidad de plantillas o de productos químicos adicionales.
- Se depositó exitosamente el Pd sobre las dendritas de Ag, cabe resaltar que no se agregó más extracto para la reacción, por lo que el extracto de pingüica aún después de la reducción de los iones de Ag sigue teniendo las suficientes sustancias reductoras para reducir los iones de Pd.

CAPÍTULO 7. REFERENCIAS

- [1] B. Khodashenas and H. R. Ghorbani, Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. *Arabian Journal of Chemistry*, 2019. 12(8): p. 1823-1838.
- [2] D. Borah, N. Das, N. Das, A. Bhattacharjee, P. Sarmah, K. Ghosh, M. Chandel, J. Rout, P. Pandey and N. N. Ghosh, Alga-mediated facile green synthesis of silver nanoparticles: Photophysical, catalytic and antibacterial activity. *Applied Organometallic Chemistry*, 2020. 34(5): p. e5597.
- [3] K. Wang, Z. Liu, T. Zhang, Y. Qin and X. Yang, Structural transition of synthesized silver nanoparticles under irradiation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2019. 570: p. 89-95.
- [4] M. Tavakkoli Yarak, S. Daqiqeh Rezaei, E. Middha and Y. N. Tan, Synthesis and Simulation Study of Right Silver Bipyramids via Seed-Mediated Growth cum Selective Oxidative Etching Approach. *Particle & Particle Systems Characterization*, 2020. 37(5): p. 2000027.
- [5] L. Liu, Y. Wu, N. Yin, H. Zhang and H. Ma, Silver nanocubes with high SERS performance. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 2020. 240: p. 106682.
- [6] A. D. Ardianrama, Y. N. Wijaya, S. H. Hur, H.-C. Woo and M. H. Kim, Reshaping of triangular silver nanoplates by a non-halide etchant and its application in melamine sensing. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2019. 552: p. 485-493.
- [7] X. Zhuo, M. Henriksen-Lacey, D. Jimenez de Aberasturi, A. Sánchez-Iglesias and L. M. Liz-Marzán, Shielded silver nanorods for bioapplications. *Chemistry of Materials*, 2020. 32(13): p. 5879-5889.
- [8] J. R. Ansari, N. Singh, R. Ahmad, D. Chattopadhyay and A. Datta, Controlling self-assembly of ultra-small silver nanoparticles: Surface enhancement of Raman and fluorescent spectra. *Optical Materials*, 2019. 94: p. 138-147.
- [9] X. Zhao, S. Su, G. Wu, C. Li, Z. Qin, X. Lou and J. Zhou, Facile synthesis of the flower-like ternary heterostructure of Ag/ZnO encapsulating carbon spheres with enhanced photocatalytic performance. *Applied Surface Science*, 2017. 406: p. 254-264.

- [10] Q. Dai, L. Li, C. Wang, C. Lv, Z. Su and F. Chai, Fabrication of a Flowerlike Ag Microsphere Film with Applications in Catalysis and as a SERS Substrate. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2018. 2018(24): p. 2835-2840.
- [11] J. Tong, S. Li, C. Chen, Y. Fu, F. Cao, L. Niu, T. Zhai and X. Zhang, Flexible Random Laser Using Silver Nanoflowers. *Polymers*, 2019. 11(4): p. 619.
- [12] J. Bi, Electrodeposited silver nanoflowers as sensitive surface-enhanced Raman scattering sensing substrates. *Materials Letters*, 2019. 236: p. 398-402.
- [13] Q. Chang, X. Shi, X. Liu, J. Tong, D. Liu and Z. Wang, Broadband plasmonic silver nanoflowers for high-performance random lasing covering visible region. *Nanophotonics*, 2017. 6(5): p. 1151-1160.
- [14] J. Yang and Z. Jiang, Facile fabrication of dendritic silver structures and their surface enhanced Raman spectroscopic properties. *Journal of Chemical Sciences*, 2015. 127(1): p. 173-176.
- [15] P. Verma, Y. Kuwahara, K. Mori and H. Yamashita, Design of silver-based controlled nanostructures for plasmonic catalysis under visible light irradiation. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 2019. 92(1): p. 19-29.
- [16] J. Chao, D. Duan, S. Xing, Y. Zhao, X. Zhang, S. Gao, X. Li, Q. Fan and J. Yang, Visible-light-driven photocatalytic properties and electronic structures of nickel sulfide nanoflowers. *Solid State Sciences*, 2015. 43: p. 59-62.
- [17] S. Josepha and B. Mathewb, Facile synthesis of silver nanoparticles and their application in dye degradation. *Materials Science and Engineering B*, 2015. 195: p. 90-97.
- [18] T. Lee, D. Jung, J.-S. Wi, H. Lim and J.-J. Lee, Surfactant-free galvanic replacement for synthesis of raspberry-like silver nanostructure pattern with multiple hot-spots as sensitive and reproducible SERS substrates. *Applied Surface Science*, 2020. 505: p. 144548.
- [19] Y. Tian, H. Liu, Y. Chen, C. Zhou, Y. Jiang, C. Gu, T. Jiang and J. Zhou, Seedless one-spot synthesis of 3D and 2D Ag nanoflowers for multiple phase SERS-based molecule detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019. 301: p. 127142.
- [20] J. J. Zhong and Y. H. Wang, Synthesis of Sphere-Like Silver Nanostructures Composed of Self-Assembled Nanosheets. *Journal of Electronic Materials*, 2020. 49(6): p. 3804-3812.

- [21] S. Kargozar and M. Mozafari, Nanotechnology and Nanomedicine: Start small, think big. *Materials Today: Proceedings*, 2018. 5(7, Part 3): p. 15492-15500.
- [22] B. I. Kharisov, A Review for Synthesis of Nanoflowers. *Recent Patents on Nanotechnology*, 2008. 2(3): p. 190-200.
- [23] W. Ren, S. Guo, S. Dong and E. Wang, A Simple Route for the Synthesis of Morphology-Controlled and SERS-Active Ag Dendrites with Near-Infrared Absorption. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2011. 115(21): p. 10315-10320.
- [24] G. A. Silva, Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. *Surgical Neurology*, 2004. 61(3): p. 216-220.
- [25] J. Ramsden, *Essentials of Nanotechnology*. 2009: Bookboon.
- [26] C. Ngo and M. van de Voorde, *Nanotechnology in a Nutshell: From Simple to Complex Systems*. 2014: Atlantis Press.
- [27] A. M. Velázquez, *Una revolución en miniatura: Nanotecnología al servicio de la humanidad*. 2011: Publicacions de la Universitat de València.
- [28] D. L. Schodek, P. Ferreira and M. F. Ashby, *Nanomaterials, Nanotechnologies and Design: An Introduction for Engineers and Architects*. 2009: Elsevier Science.
- [29] E. V. Mejía-Urriarte and H. O. M. S, *Autorganización de nanoestructuras luminiscentes: sus formas y dimensiones*. *Mundo Nano*, 2015. 8.
- [30] Y. Zhang, Q. Xiang, J. Xu, P. Xu, Q. Pan and F. Li, Self-assemblies of Pd nanoparticles on the surfaces of single crystal ZnO nanowires for chemical sensors with enhanced performances. *Journal of Materials Chemistry*, 2009. 19(27): p. 4701-4706.
- [31] J. Chen, L. Guo, B. Qiu, Z. Lin and T. Wang, Application of ordered nanoparticle self-assemblies in surface-enhanced spectroscopy. *Materials Chemistry Frontiers*, 2018. 2(5): p. 835-860.
- [32] J. Gong, G. Li and Z. Tang, Self-assembly of noble metal nanocrystals: Fabrication, optical property, and application. *Nano Today*, 2012. 7(6): p. 564-585.
- [33] M. Negahdary and H. Heli, Applications of Nanoflowers in Biomedicine. *Recent Patents on Nanotechnology*, 2018. 12(1): p. 22-33.
- [34] P. Shende, P. Kasture and R. S. Gaud, Nanoflowers: the future trend of nanotechnology for multi-applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 2018. 46(sup1): p. 413-422.

- [35] D. Ekata, K. A. Salunkhe and A. R. Shedage, Review on Nanoflowers.
- [36] D. Shcharbin, I. Halets-Bui, V. Abashkin, V. Dzmitruk, S. Loznikova, M. Odabaşı, Ö. Acet, B. Önal, N. Özdemir, N. Shcharbina and M. Bryszewska, Hybrid metal-organic nanoflowers and their application in biotechnology and medicine. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2019. 182: p. 110354.
- [37] L. Fu, T. Tamanna, W.-J. Hu and A. Yu, Chemical preparation and applications of silver dendrites. *Chem. Pap.*, 2014. 68: p. 1-15.
- [38] M. Hohage, M. Bott, M. Morgenstern, Z. Zhang, T. Michely and G. Comsa, Atomic processes in low temperature Pt-dendrite growth on Pt(111). *Phys Rev Lett*, 1996. 76(13): p. 2366-2369.
- [39] S. Xie, X. Zhang, D. Xiao, M. C. Paa, J. Huang and M. M. F. Choi, Fast Growth Synthesis of Silver Dendrite Crystals Assisted by Sulfate Ion and Its Application for Surface-Enhanced Raman Scattering. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2011. 115(20): p. 9943-9951.
- [40] R. Zanella, Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 2012. 5: p. 69-81.
- [41] R. Nagarajan, T. A. Hatton, A. C. S. D. o. Colloid, S. Chemistry and A. C. S. Meeting, *Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Passivation, and Functionalization*. 2008: American Chemical Society.
- [42] R. Zanella, Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología.*, 2012. 5: p. 69-81.
- [43] W.-F. Cai, K.-B. Pu, Q. Ma and Y.-H. Wang, Insight into the fabrication and perspective of dendritic Ag nanostructures. *Journal of Experimental Nanoscience*, 2017. 12(1): p. 319-337.
- [44] X. K. Meng, S. C. Tang and S. Vongehr, A Review on Diverse Silver Nanostructures. *Journal of Materials Science & Technology*, 2010. 26(6): p. 487-522.
- [45] M. Monge, Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de Química*, 2009. 105 (1): p. 33-41.

- [46] M. Ghaffari-Moghaddam, R. Hadi-Dabanlou, M. Khajeh, M. Rakhshanipour and K. Shameli, Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 2014. 31(4): p. 548-557.
- [47] R. Rajan, K. Chandran, S. L. Harper, S.-I. Yun and P. T. Kalaichelvan, Plant extract synthesized silver nanoparticles: An ongoing source of novel biocompatible materials. *Industrial Crops and Products*, 2015. 70: p. 356-373.
- [48] S. Ahmed, M. Ahmad, B. L. Swami and S. Ikram, A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *Journal of Advanced Research*, 2016. 7(1): p. 17-28.
- [49] Y. Xiong and Y. Xia, Shape-Controlled Synthesis of Metal Nanostructures: The Case of Palladium. *Advanced Materials*, 2007. 19(20): p. 3385-3391.
- [50] J. M. de la Fuente and V. Grazu, *Nanobiotechnology: Inorganic Nanoparticles Vs Organic Nanoparticles*. 2012: Elsevier.
- [51] G. Cao, *Nanostructures & Nanomaterials: Synthesis, Properties & Applications*. 2004: Imperial College Press.
- [52] I. Piwoński, K. Spilarewicz-Stanek, A. Kisielewska, K. Kądzioła, M. Cichomski and J. Ginter, Examination of Ostwald ripening in the photocatalytic growth of silver nanoparticles on titanium dioxide coatings. *Applied Surface Science*, 2016. 373: p. 38-44.
- [53] S. T. Gentry, S. F. Kendra and M. W. Bezpalko, Ostwald Ripening in Metallic Nanoparticles: Stochastic Kinetics. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2011. 115(26): p. 12736-12741.
- [54] H. A. Laitinen and W. E. Harris, *Análisis químico*. 1982: Editorial Reverte.
- [55] J. Dong and H. Zheng, Self-assembled synthesis of SEF-active silver dendrites by galvanic displacement on copper substrate. *Applied Physics B*, 2013. 111(3): p. 523-526.
- [56] X. H. Vu, N. D. Dien, T. T. Ha Pham, T. T. Trang, N. X. Ca, P. T. Tho, N. D. Vinh and P. Van Do, The sensitive detection of methylene blue using silver nanodecahedra prepared through a photochemical route. *RSC Advances*, 2020. 10(64): p. 38974-38988.
- [57] v. p. josep saldaña, joan escofet, *Nanowiki, Manual de Operaciones 1.0*. víctor puntés.

- [58] P. A. S. Domingo, La nanotecnología. 2010: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- [59] D. A. Cruz, M. C. Rodríguez, J. M. López, V. M. Herrera, A. G. Orive and A. H. Creus, NANOPARTÍCULAS METÁLICAS Y PLASMONES DE SUPERFICIE: UNA RELACIÓN PROFUNDA. Avances en Ciencias e Ingeniería, 2012. 3: p. 67-78.
- [60] S. Marimuthu, A. J. Antonisamy, S. Malayandi, K. Rajendran, P.-C. Tsai, A. Pugazhendhi and V. K. Ponnusamy, Silver nanoparticles in dye effluent treatment: A review on synthesis, treatment methods, mechanisms, photocatalytic degradation, toxic effects and mitigation of toxicity. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2020. 205: p. 111823.
- [61] R. Begum, J. Najeeb, A. Sattar, K. Naseem, A. Irfan, A. G. Al-Sehemi and Z. H. Farooqi, Chemical reduction of methylene blue in the presence of nanocatalysts: a critical review. Reviews in Chemical Engineering, 2020. 36(6): p. 749-770.
- [62] M. J. Hajipour, K. M. Fromm, A. Akbar Ashkarran, D. Jimenez de Aberasturi, I. R. d. Larramendi, T. Rojo, V. Serpooshan, W. J. Parak and M. Mahmoudi, Antibacterial properties of nanoparticles. Trends in Biotechnology, 2012. 30(10): p. 499-511.
- [63] M. Ramya and M. S. Subapriya, Green synthesis of silver nanoparticles. International Journal of pharma medicine and biological sciences, 2012. 1.
- [64] V. K. Sharma, R. A. Yngard and Y. Lin, Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. Advances in Colloid and Interface Science, 2009. 145(1–2): p. 83-96.
- [65] M. Rai, A. Yadav and A. Gade, Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnology Advances, 2009. 27(1): p. 76-83.
- [66] R. Alvarado, F. Solera and J. Vega–Baudrit, SÍNTESIS SONOQUÍMICA DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE CINC Y DE PLATA ESTABILIZADAS CON QUITOSANO. EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA. Revista Iberoamericana de Polímeros, 2014. 15: p. 134-148.
- [67] N. Durán, M. Durán, M. B. de Jesus, A. B. Seabra, W. J. Fávaro and G. Nakazato, Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2016. 12(3): p. 789-799.

- [68] L. Starke and W. Institute, *La situación del mundo 2006: informe anual del Worldwatch Institute sobre progreso hacia una sociedad sostenible*. 2006: Icaria.
- [69] L. Fu, T. Tamanna, W.-J. Hu and A. Yu, Chemical preparation and applications of silver dendrites. *Chemical Papers*, 2014. 68(10): p. 1283-1297.
- [70] G. Qingquan, M. Xinfu, X. Yu, T. Wei and Z. Hui, Green synthesis and formation mechanism of Ag nanoflowers using l-cysteine and the assessment of Ag nanoflowers as SERS substrates. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2017. 530: p. 33-37.
- [71] M. Xu and Y. Zhang, Seed-mediated approach for the size-controlled synthesis of flower-like Ag mesostructures. *Materials Letters*, 2014. 130: p. 9-13.
- [72] G. A. Molina, R. Esparza, J. L. López-Miranda, A. R. Hernández-Martínez, B. L. España-Sánchez, E. A. Elizalde-Peña and M. Estevez, Green synthesis of Ag nanoflowers using *Kalanchoe Daigremontiana* extract for enhanced photocatalytic and antibacterial activities. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2019. 180: p. 141-149.
- [73] S. Dhanush, M. Sreejesh, K. Bindu, P. Chowdhury and H. S. Nagaraja, Synthesis and electrochemical properties of silver dendrites and silver dendrites/rGO composite for applications in paracetamol sensing. *Materials Research Bulletin*, 2018. 100: p. 295-301.
- [74] Z. Cheng, Y. Qiu, Z. Li, D. Yang, S. Ding, G. Cheng, Z. Hao and Q. Wang, Fabrication of silver dendrite fractal structures for enhanced second harmonic generation and surface-enhanced Raman scattering. *Optical Materials Express*, 2019. 9(2): p. 860-869.
- [75] H. M. M. Ibrahim and M. S. Hassan, Characterization and antimicrobial properties of cotton fabric loaded with green synthesized silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*.
- [76] H. G. Rivas and J. Narro, *Cocina prehispánica mexicana: la comida de los antiguos mexicanos*. 1991: Panorama Editorial.
- [77] UNAM. *Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana*. 2016 [cited 2016 7 DE MAYO]; Available from: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php>.

- [78] UNAM. *Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana*. 2009; Available from: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Ping%C3%BCica&id=7917>.
- [79] G. Pérez. *Espectrometría ultravioleta-visible*. 2016; Available from: http://www.espectrometria.com/espectrometra_ultravioleta-visible.
- [80] L. Cardeño Calle and M. E. Londoño, Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo (*Allium sativum*). 2014.
- [81] A. Rohaizad, S. Shahabuddin, M. M. Shahid, N. M. Rashid, Z. A. M. Hir, M. M. Ramly, K. Awang, C. W. Siong and Z. Aspanut, Green synthesis of silver nanoparticles from *Catharanthus roseus* dried bark extract deposited on graphene oxide for effective adsorption of methylene blue dye. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2020. 8(4): p. 103955.
- [82] A. A. Alshehri and M. A. Malik, Phytomediated Photo-Induced Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Matricaria chamomilla* L. and Its Catalytic Activity against Rhodamine B. *Biomolecules*, 2020. 10(12).
- [83] R. S. Dariani, A. Esmacili, A. Mortezaali and S. Dehghanpour, Photocatalytic reaction and degradation of methylene blue on TiO₂ nano-sized particles. *Optik*, 2016. 127(18): p. 7143-7154.
- [84] M. Montero-Recalde, L. Vayas, D. Avilés-Esquivel, P. Pazmiño and V. Erazo-Gutierrez, Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. *Rev Inv Vet Perú*, 2018. 4.
- [85] M. B. R and M. G. U, El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. *BIOMEDICA*, 1984. 4.
- [86] T. Sandle, 14 - Antibiotics and preservatives, in *Pharmaceutical Microbiology*, Sandle, Editor. 2016, Woodhead Publishing: Oxford. p. 171-183.
- [87] G. Horna Quintana, M. Silva Díaz, W. Vicente Taboada and J. Tamariz Ortiz, Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Revista Medica Herediana*, 2005. 16: p. 39-45.

- [88] D. Dos Santos Courrol, C. Regina Borges Lopes, T. da Silva Cordeiro, M. Regina Franzolin, N. Dias Vieira Junior, R. Elgul Samad and L. Coronato Courrol, Optical properties and antimicrobial effects of silver nanoparticles synthesized by femtosecond laser photoreduction. *Optics & Laser Technology*, 2018. 103: p. 233-238.
- [89] D. A. Cruz, M. C. Rodríguez, J. M. López, V. M. Herrera, A. G. Orive and A. H. Creus, METALLIC NANOPARTICLES AND SURFACE PLASMONS: A DEEP RELATIONSHIP *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 2012: p. 67-78.
- [90] Y. Xia, Y. Xiong, B. Lim and S. E. Skrabalak, Shape-Controlled Synthesis of Metal Nanocrystals: Simple Chemistry Meets Complex Physics? *Angewandte Chemie*, 2009.
- [91] P. Mulvaney, Surface Plasmon Spectroscopy of Nanosized Metal Particles. *Langmuir*, 1996. 12(3): p. 788-800.
- [92] T. R. Jensen, M. D. Malinsky, C. L. Haynes and R. P. Van Duyne, Nanosphere Lithography: Tunable Localized Surface Plasmon Resonance Spectra of Silver Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2000. 104(45): p. 10549-10556.
- [93] P. Kuppusamy, S. J. A. Ichwan, N. R. Parine, M. M. Yusoff, G. P. Maniam and N. Govindan, Intracellular biosynthesis of Au and Ag nanoparticles using ethanolic extract of *Brassica oleracea* L. and studies on their physicochemical and biological properties. *Journal of Environmental Sciences*, 2015. 29: p. 151-157.
- [94] W.-L.-J. Hasi, X. Lin, X.-T. Lou, S. Lin, F. Yang, D.-Y. Lin and Z.-W. Lu, Chloride ion-assisted self-assembly of silver nanoparticles on filter paper as SERS substrate. *Applied Physics A*, 2015. 118(3): p. 799-807.
- [95] H. Li, Z. Xiong, X. Shi, F. Gao, H. Peng and Y. Jia, Controllable ionic self-assembly of polyoxometalate and melamine for synthesis of nanostructured Ag. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2021. 623: p. 126732.
- [96] Y. Li, X. Xin, T. Zhang, W. Li, J. Li and R. Lu, Raspberry-like polyamide@Ag hybrid nanoarrays with flexible cores and SERS signal enhancement strategy for adenosine detection. *Chemical Engineering Journal*, 2021. 422: p. 129983.
- [97] C.-y. Zhang, R. Hao, B. Zhao, Y.-z. Fu, Y.-w. Hao and Y.-q. Liu, Novel synthesis of hierarchical flower-like silver assemblies with assistance of natural organic acids for

- surface-enhanced Raman spectroscopy. *Journal of Materials Science*, 2017. 52(19): p. 11391-11401.
- [98] L. Mei, S. Li, Y. Shao, C. Zhang and J. Wang, Single-step synthesis of hierarchical flower-like silver structures with assistance of gallic acid. *Materials Research Express*, 2021. 8(1): p. 015010.
- [99] G. A. El-Nagar, R. M. Sarhan, A. Abouserie, N. Maticiuc, M. Bargheer, I. Lauermann and C. Roth, Efficient 3D-Silver Flower-like Microstructures for Non-Enzymatic Hydrogen Peroxide (H₂O₂) Amperometric Detection. *Scientific Reports*, 2017. 7(1): p. 12181.
- [100] B. Tang, L. Sun, J. Li, M. Zhang and X. Wang, Sunlight-driven synthesis of anisotropic silver nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*, 2015. 260: p. 99-106.
- [101] J. Xia, R. Wei, Y. Wu, W. Li, L. Yang, D. Yang and P. Song, Synthesis of large flower-like substrates for surface-enhanced Raman scattering. *Chemical Engineering Journal*, 2014. 244: p. 252-257.
- [102] L. Rastogi and J. Arunachalam, Sunlight based irradiation strategy for rapid green synthesis of highly stable silver nanoparticles using aqueous garlic (*Allium sativum*) extract and their antibacterial potential. *Materials Chemistry and Physics*, 2011. 129(1): p. 558-563.
- [103] G. Brahmachari, S. Sarkar, R. Ghosh, S. Barman, N. Mandal, S. Jash, B. Banerjee and R. Roy, Sunlight-induced rapid and efficient biogenic synthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. with enhanced antibacterial activity. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 2014. 4:18: p. 1-10.
- [104] J. Dong, H. Zheng, X. Yan, Y. Sun and Z. Zhang, Fabrication of flower-like silver nanostructure on the Al substrate for surface enhanced fluorescence. *Applied Physics Letters*, 2012. 100(5): p. 051112.
- [105] J. Song, J. Hou, L. Tian, Y. Guan, Y. Zhang and X. X. Zhu, Growth of giant silver dendrites on layer-by-layer assembled films. *Polymer*, 2015. 63: p. 237-243.
- [106] J. Bian, S. Shu, J. Li, C. Huang, Y. Y. Li and R.-Q. Zhang, Reproducible and recyclable SERS substrates: Flower-like Ag structures with concave surfaces formed by electrodeposition. *Applied Surface Science*, 2015. 333: p. 126-133.

- [107] Q. Wang, Y. Liu, Y. Bai, S. Yao, Z. Wei, M. Zhang, L. Wang and L. Wang, Superhydrophobic SERS substrates based on silver dendrite-decorated filter paper for trace detection of nitenpyram. *Analytica Chimica Acta*, 2019. 1049: p. 170-178.
- [108] W. Zhang, F. Tan, W. Wang, X. Qiu, X. Qiao and J. Chen, Facile, template-free synthesis of silver nanodendrites with high catalytic activity for the reduction of p-nitrophenol. *Journal of Hazardous Materials*, 2012. 217-218: p. 36-42.
- [109] W. Ye, C. Shen, J. Tian, C. Wang, L. Bao and H. Gao, Self-assembled synthesis of SERS-active silver dendrites and photoluminescence properties of a thin porous silicon layer. *Electrochemistry Communications*, 2008. 10(4): p. 625-629.
- [110] J. S. Ramírez, O. M. Rico, G. S. Martínez, J. d. J. L. Ruíz and M. E. S. Delgado, Contribución al conocimiento ecológico del chaparral de manzanita (*Arctostaphylos pungens* Kunth) en la Sierra Fría, Aguascalientes. 1 ed. 2016, México.
- [111] E. Alós, M. J. Rodrigo and L. Zacarias, Chapter 7 - Ripening and Senescence, in *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*, Yahia, Editor. 2019, Woodhead Publishing. p. 131-155.
- [112] R. L. Perez-Cotapos, *Manual de Alimentacion Sana*. 2006: Editorial Pax.
- [113] M. B. Cockrell and E. S. Barrantes, *Fruticultura General (fruticultura I)*. Segunda ed. 1991: Euned.
- [114] D. A. Cruz, M. C. Rodríguez, J. M. López, V. M. Herrera, A. G. Orive and A. H. Creus, NANOPARTÍCULAS METÁLICAS Y PLASMONES DE SUPERFICIE: UNA RELACIÓN PROFUNDA *Avances en Ciencias e Ingeniería* 2012. 3: p. 67-78.
- [115] Y. Xia, Y. Xiong, B. Lim and S. E. Skrabalak, Shape-Controlled Synthesis of Metal Nanocrystals: Simple Chemistry Meets Complex Physics? *Angewandte Chemie International Edition*, 2009. 48(1): p. 60-103.
- [116] S. Hemmati, A. Rashtiani, M. M. Zangeneh, P. Mohammadi, A. Zangeneh and H. Veisi, Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Fritillaria* flower extract and their antibacterial activity against some human pathogens. *Polyhedron*, 2019. 158: p. 8-14.
- [117] M. Latha, M. Sumathi, R. Manikandan, A. Arumugam and N. M. Prabhu, Biocatalytic and antibacterial visualization of green synthesized silver nanoparticles using *Hemidesmus indicus*. *Microbial Pathogenesis*, 2015. 82: p. 43-49.

- [118] C. Merodio and M. I. Escribano, *Maduración y post-recolección de frutos y hortalizas*. 2003: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- [119] I. H. Chowdhury, S. Ghosh, M. Roy and M. K. Naskar, Green synthesis of water-dispersible silver nanoparticles at room temperature using green carambola (star fruit) extract. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 2015. 73(1): p. 199-207.
- [120] L. Hong, Q. Li, H. Lin and Y. Li, Synthesis of flower-like silver nanoarchitectures at room temperature. *Materials Research Bulletin*, 2009. 44(6): p. 1201-1204.
- [121] S. Roy Chowdhury, S. Ghosh and S. K. Bhattacharya, Improved Catalysis of Green-Synthesized Pd-Ag Alloy-Nanoparticles for Anodic Oxidation of Methanol in Alkali. *Electrochimica Acta*, 2017. 225: p. 310-321.
- [122] P. R. Castellanos and M. C. V. Moreno, *Avances en calidad ambiental*. 2002: Ediciones Universidad de Salamanca.
- [123] E. G. ROCHOW, *Química inorgánica descriptiva*. 1981. 332.
- [124] X. Gao, G. Gu, Z. Hu, Y. Guo, X. Fu and J. Song, A simple method for preparation of silver dendrites. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2005. 254(1): p. 57-61.
- [125] M. R. Bindhu and M. Umadevi, Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2015. 135: p. 373-378.
- [126] S. Neethu, S. J. Midhun, E. K. Radhakrishnan and M. Jyothis, Green synthesized silver nanoparticles by marine endophytic fungus *Penicillium polonicum* and its antibacterial efficacy against biofilm forming, multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microbial Pathogenesis*, 2018. 116: p. 263-272.
- [127] D. Rithesh Raj, S. Prasanth, T. V. Vineeshkumar and C. Sudarsanakumar, Surface plasmon resonance based fiber optic dopamine sensor using green synthesized silver nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016. 224: p. 600-606.
- [128] X. Sun, Morphology and size-controllable preparation of silver nanostructures through a wet-chemical route at room temperature. *Inorganic Materials*, 2010. 46(6): p. 679-682.
- [129] B. S. Sivamaruthi, V. S. Ramkumar, G. Archunan, C. Chaiyasut and N. Suganthy, Biogenic synthesis of silver palladium bimetallic nanoparticles from fruit extract of

- Terminalia chebula* – In vitro evaluation of anticancer and antimicrobial activity. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2019. 51: p. 139-151.
- [130] E. Turunc, R. Binzet, I. Gumus, G. Binzet and H. Arslan, Green synthesis of silver and palladium nanoparticles using *Lithodora hispidula* (Sm.) Griseb. (Boraginaceae) and application to the electrocatalytic reduction of hydrogen peroxide. *Materials Chemistry and Physics*, 2017. 202: p. 310-319.
- [131] S. Tang, X. Meng, C. Wang and Z. Cao, Flowerlike Ag microparticles with novel nanostructure synthesized by an electrochemical approach. *Materials Chemistry and Physics*, 2009. 114(2): p. 842-847.
- [132] M. A. Ebrahimzadeh, A. Naghizadeh, O. Amiri, M. Shirzadi-Ahodashi and S. Mortazavi-Derazkola, Green and facile synthesis of Ag nanoparticles using *Crataegus pentagyna* fruit extract (CP-AgNPs) for organic pollution dyes degradation and antibacterial application. *Bioorganic Chemistry*, 2020. 94: p. 103425.
- [133] J. Balavijayalakshmi and V. Ramalakshmi, *Carica papaya* peel mediated synthesis of silver nanoparticles and its antibacterial activity against human pathogens. *Journal of Applied Research and Technology*, 2017. 15(5): p. 413-422.
- [134] M. Shahriary, H. Veisi, M. Hekmati and S. Hemmati, In situ green synthesis of Ag nanoparticles on herbal tea extract (*Stachys lavandulifolia*)-modified magnetic iron oxide nanoparticles as antibacterial agent and their 4-nitrophenol catalytic reduction activity. *Materials Science and Engineering: C*, 2018. 90: p. 57-66.
- [135] A. Syafiuddin, Salmiati, T. Hadibarata, M. R. Salim, A. B. H. Kueh and A. A. Sari, A purely green synthesis of silver nanoparticles using *Carica papaya*, *Manihot esculenta*, and *Morinda citrifolia*: synthesis and antibacterial evaluations. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2017. 40(9): p. 1349-1361.
- [136] J. Du, Z. Hu, Z. Yu, H. Li, J. Pan, D. Zhao and Y. Bai, Antibacterial activity of a novel *Forsythia suspensa* fruit mediated green silver nanoparticles against food-borne pathogens and mechanisms investigation. *Materials Science and Engineering: C*, 2019. 102: p. 247-253.
- [137] K. M. Soto, C. T. Quezada-Cervantes, M. Hernández-Iturriaga, G. Luna-Bárceñas, R. Vazquez-Duhalt and S. Mendoza, Fruit peels waste for the green synthesis of silver

- nanoparticles with antimicrobial activity against foodborne pathogens. *LWT*, 2019. 103: p. 293-300.
- [138] O. Azizian-Shermeh, A. Einali and A. Ghasemi, Rapid biologically one-step synthesis of stable bioactive silver nanoparticles using Osage orange (*Maclura pomifera*) leaf extract and their antimicrobial activities. *Advanced Powder Technology*, 2017. 28(12): p. 3164-3171.
- [139] M. Nasrollahzadeh, S. Mahmoudi-Gom Yek, N. Motahharifar and M. Ghafari Gorab, Recent Developments in the Plant-Mediated Green Synthesis of Ag-Based Nanoparticles for Environmental and Catalytic Applications. *The Chemical Record*, 2019. 19(12): p. 2436-2479.
- [140] S. F. Hashemi, N. Tasharrofi and M. M. Saber, Green synthesis of silver nanoparticles using *Teucrium polium* leaf extract and assessment of their antitumor effects against MNK45 human gastric cancer cell line. *Journal of Molecular Structure*, 2020. 1208: p. 127889.
- [141] M. I. Said and A. A. Othman, Fast green synthesis of silver nanoparticles using grape leaves extract. *Materials Research Express*, 2019. 6(5): p. 055029.
- [142] V. S. Suvith and D. Philip, Catalytic degradation of methylene blue using biosynthesized gold and silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2014. 118: p. 526-532.
- [143] W. K. A. Wan Mat Khalir, K. Shameli, S. D. Jazayeri, N. A. Othman, N. W. Che Jusoh and N. Mohd Hassan, In-Situ Biofabrication of Silver Nanoparticles in *Ceiba pentandra* Natural Fiber Using *Entada spiralis* Extract with Their Antibacterial and Catalytic Dye Reduction Properties. *Nanomaterials*, 2020. 10(6): p. 1104.
- [144] S. Ganguly, S. Mondal, P. Das, P. Bhawal, T. Das, M. Bose, S. Choudhary, S. Gangopadhyay, A. Das and N. Das, Natural saponin stabilized nano-catalyst as efficient dye-degradation catalyst. *Nano-Structures & Nano-Objects*, 2018. 16: p. 86-95.
- [145] P. Kanniah, J. Radhamani, P. Chelliah, N. Muthusamy, E. Joshua Jebasingh Sathiya Balasingh Thangapandi, J. Reeta Thangapandi, S. Balakrishnan and R. Shanmugam, Green Synthesis of Multifaceted Silver Nanoparticles Using the Flower Extract of

- Aerva lanata and Evaluation of Its Biological and Environmental Applications. ChemistrySelect, 2020. 5(7): p. 2322-2331.
- [146] M. Swargiary, A. Mitra, D. Halder and S. Kumar, Fruit extract capped colloidal silver nanoparticles and their application in reduction of methylene blue dye. Biocatalysis and Biotransformation, 2019. 37(3): p. 183-189.
- [147] J. Saha, A. Begum, A. Mukherjee and S. Kumar, A novel green synthesis of silver nanoparticles and their catalytic action in reduction of Methylene Blue dye. Sustainable Environment Research, 2017. 27(5): p. 245-250.
- [148] E. E. Elemike, D. C. Onwudiwe, A. C. Ekennia, R. C. Ehiri and N. J. Nnaji, Phytosynthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extracts of Lippia citriodora: Antimicrobial, larvicidal and photocatalytic evaluations. Materials Science and Engineering C, 2017: p. 980–989.
- [149] K. Chávez and G. Rosas, Facile synthesis of self-assembling silver spheres and evaluation of their catalytic properties in organic dyes degradation. Journal of Sol-Gel Science and Technology, 2021. 97(2): p. 320-328.
- [150] V. K. Vidhu and D. Philip, Catalytic degradation of organic dyes using biosynthesized silver nanoparticles. Micron, 2014. 56: p. 54-62.
- [151] K. Jyoti and A. Singh, Green synthesis of nanostructured silver particles and their catalytic application in dye degradation. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 2016. 14(2): p. 311-317.
- [152] A. A. Fairuzi, N. N. Bonnia, R. M. Akhir, M. A. Abrani and H. M. Akil, Degradation of methylene blue using silver nanoparticles synthesized from imperata cylindrica aqueous extract. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2018. 105.
- [153] B. Khodadadi, M. Bordbar, A. Yeganeh-Faal and M. Nasrollahzadeh, Green synthesis of Ag nanoparticles/clinoptilolite using Vaccinium macrocarpon fruit extract and its excellent catalytic activity for reduction of organic dyes. Journal of Alloys and Compounds, 2017. 719: p. 82-88.
- [154] J. Zhang, Q. Liu, W. Yang, B. Yang, M. Wu, J. Yang, Q. Wu, B. Wu and J. Lin, Facile fabrication and catalytic property of 'flower-like' silver nanoparticles. Micro & Nano Letters, 2012. 7(4): p. 370-372.

- [155] M. Tajbakhsh, H. Alinezhad, M. Nasrollahzadeh and T. A. Kamali, Green synthesis of the Ag/HZSM-5 nanocomposite by using Euphorbia heterophylla leaf extract: A recoverable catalyst for reduction of organic dyes. *Journal of Alloys and Compounds*, 2016. 685: p. 258-265.
- [156] H. Chen, L. Xiao and J. Huang, Template synthesis of Ag/AgCl microrods and their efficient visible light-driven photocatalytic performance. *Materials Research Bulletin*, 2014. 57: p. 35-40.
- [157] C. Liu, Y. Lin, Y. Dong, Y. Wu, Y. Bao, H. Yan and J. Ma, Fabrication and investigation on Ag nanowires/TiO₂ nanosheets/graphene hybrid nanocomposite and its water treatment performance. *Advanced Composites and Hybrid Materials*, 2020. 3(3): p. 402-414.
- [158] P. Van Dong, C. H. Ha, L. T. Binh and J. Kasbohm, Chemical synthesis and antibacterial activity of novel-shaped silver nanoparticles. *International Nano Letters*, 2012. 2(1): p. 9.
- [159] G. A. Martínez-Castañón, N. Niño-Martínez, F. Martínez-Gutierrez, J. R. Martínez-Mendoza and F. Ruiz, Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes. *Journal of Nanoparticle Research*, 2008. 10(8): p. 1343-1348.
- [160] N. C. d. Campo, C. C. Quiroz, W. R. Carrasco and J. B. V. Torres, Sobrevivencia de Escherichia coli y Staphylococcus aureus en frutos mínimamente procesados. *Revista Cubana de Salud Pública*, 2004.
- [161] O. M. d. I. Salud. *Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo*. [Comunicado de prensa] 2018 [cited 16 de Enero de 2020; Available from: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/es/>].
- [162] C. S. Espenti, K. S. V. K. Rao and K. M. Rao, Bio-synthesis and characterization of silver nanoparticles using Terminalia chebula leaf extract and evaluation of its antimicrobial potential. *Materials Letters*, 2016. 174: p. 129-133.
- [163] G. M. Raghavendra, J. Jung, D. kim and J. Seo, Step-reduced synthesis of starch-silver nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016. 86: p. 126-128.

- [164] S. Priyadarshini, S. Sulava, R. Bhol and S. Jena, Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* and *Ocimum sanctum* leaf extract CURRENT SCIENCE, 2019. 117.
- [165] E. Ugwoke, S. O. Aisida, A. A. Mirbahar, M. Arshad, I. Ahmad, T.-k. Zhao and F. I. Ezema, Concentration induced properties of silver nanoparticles and their antibacterial study. Surfaces and Interfaces, 2020. 18: p. 100419.
- [166] M. Monge, Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. INVESTIGACION QUIMICA, 2009. 1.
- [167] S.-H. Kim, H.-S. Lee, D.-S. Ryu, S.-J. Choi and D.-S. Lee, Antibacterial Activity of Silver-nanoparticles Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Korean J. Microbiol. Biotechnol, 2011. 39: p. 77-85.
- [168] S. A. Babu and H. G. Prabu, Synthesis of AgNPs using the extract of *Calotropis procera* flower at room temperature. Materials Letters, 2011. 65(11): p. 1675-1677.
- [169] X. Ma, Q. Guo, Y. Xie and H. Ma, Green chemistry for the preparation of l-cysteine functionalized silver nanoflowers. Chemical Physics Letters, 2016. 652: p. 148-151.
- [170] R. Ma, B. Kang, S. Cho, M. Choi and S. Baik, Extraordinarily High Conductivity of Stretchable Fibers of Polyurethane and Silver Nanoflowers. ACS Nano, 2015. 9(11): p. 10876-10886.
- [171] Q. Sun, X. Cai, J. Li, M. Zheng, Z. Chen and C.-P. Yu, 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, 2014. 444: p. 226-231.
- [172] S. K. Srikar, D. D. Giri, D. B. Pal, P. K. Mishra and S. N. Upadhyay, Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Review. Green and Sustainable Chemistry, 2016. 6: p. 34-56.
- [173] C. Marambio-Jones and E. M. V. Hoek, A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. Journal of Nanoparticle Research, 2010. 12(5): p. 1531-1551.
- [174] S. RK, S. D, P. K, G. S, S. I and S. A, Green Synthesis of Silver Nanoparticles using Plants. International Journal of Nanomedicine and Nanosurgery, 2016. 2.2.

- [175] Y. Yamada, T. Kuzuyama, M. Komatsu, K. Shin-ya, S. Omura, D. E. Cane and H. Ikeda, Terpene synthases are widely distributed in bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015. 112(3): p. 857-862.
- [176] V. V. Makarov, A. J. Love, O. V. Sinitsyna, S. S. Makarova, I. V. Yaminsky, M. E. Taliansky and N. O. Kalinina, “Green” Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants. *Acta Naturae*, 2014. 6(1): p. 35-44.