



---

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

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

**“SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS Y  
CATALÍTICAS DE NANOESTRUCTURAS DE Ag EMPLEANDO LA PLANTA  
*SEDUM PREALTUM*”.**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

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

**PRESENTA:**

**ING. VICTOR HUGO MORENO SICAIROS**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DR. GERARDO ANTONIO ROSAS TREJO**

**MORELIA MICHOACAN, AGOSTO DEL 2024**

## ÍNDICE

<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN</b> .....	7
1.1 JUSTIFICACIÓN .....	8
1.2 OBJETIVO GENERAL .....	8
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
1.4 HIPÓTESIS.....	9
1.5 METAS CIENTÍFICAS .....	9
<b>CAPÍTULO 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	10
2.1. NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA .....	10
2.2 CLASIFICACIÓN DE LOS NANOMATERIALES.....	11
2.2.1 <i>Clasificación de acuerdo con el número de dimensiones que se encuentren en el régimen nanométrico</i> .....	12
2.3 NANOMATERIALES AUTOENSAMBLADOS .....	13
2.4. SÍNTESIS VERDE MEDIANTE EL USO DE PLANTAS .....	14
2.5 APLICACIONES Y PROPIEDADES DE LAS NANOESTRUCTURAS .....	16
2.5.1 <i>Reducción de colorantes</i> .....	18
2.6 ESTADO DEL ARTE .....	19
2.6.1 <i>Síntesis verde de nanoestructuras para uso en el medio ambiente</i> .....	30
<b>CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL</b> .....	34
3.1 REACTIVOS EMPLEADOS.....	34
3.2 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO DE LA PLANTA .....	34
3.3 SÍNTESIS DE NANOESTRUCTURAS DE AG .....	35
3.4 CARACTERIZACIÓN DE LOS NANOMATERIALES .....	36
3.4.1 <i>Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis)</i> .....	36
3.4.2 <i>Microscopía electrónica de barrido (MEB)</i> .....	36
3.4.3 <i>Difracción de rayos X (DRX)</i> .....	38
3.4.4 <i>Espectroscopía infrarroja con transformadas de Fourier (FTIR)</i> .....	39
3.4.5 <i>Reducción de colorantes</i> .....	40
3.4.6 PRUEBAS ANTIBACTERIANAS.....	40
<b>CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSION</b> .....	42
<b>4.1 ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS</b> .....	42
<b>4.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO</b> .....	44
4.2.1 <i>Morfología obtenida a pH 3</i> .....	44
4.2.2 <i>Morfologías obtenidas a pH 8</i> .....	47

4.2.3 Morfologías obtenidas a pH 9.....	48
4.3 DIFRACCIÓN DE RAYOS X.....	49
4.4 PRUEBAS DE REDUCCIÓN DE COLORANTES .....	53
4.5 PRUEBAS ANTIBACTERIANAS.....	55
4.6 SÍNTESIS DE NANOESTRUCTURAS DE PLATA USANDO <i>S. PREALTUM</i> .....	57
4.7 MODELO DE CRECIMIENTO DE LAS NANOESTRUCTURAS DE PLATA.....	59
4.8 MECANISMO DE REDUCCIÓN .....	60
4.9 INFLUENCIA DEL pH EN LA MORFOLOGÍA DE LAS NANOESTRUCTURAS DE PLATA.....	61
4.10 MECANISMO ANTIBACTERIANO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA .....	62
4.11 ACTIVIDAD CATALÍTICA DE AGNFs EVALUADA EN AZUL DE METILENO (MB).....	62
<b>5 CONCLUSIONES .....</b>	<b>65</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>66</b>

## Tabla de figuras

Figura 2.1. Diferentes objetos en la escala nanométrica-micrométrica [9].	10
Figura 2.2 Clasificación de nanomateriales [14].	12
Figura 2.3 Ejemplos de nanoestructuras de carbono 0D, 1D, 2D y 3D [15].	13
Figura 2.4 Imágenes MEB de esferas de Ag a diferentes aumentos [17].	14
Figura 2.5 Proceso de síntesis verde de nanopartículas de plata [18].	14
Figura 2.6 (a, b) imágenes SEM, (c-e) imágenes TEM, (f) imagen HRTEM, (g) patrón SAED, (h) espectro XRD, (i) espectro de absorción y (j) EDS de Nanoflores de Ag jerárquicas en 3D [28].	20
Figura 2.7 (a) y (c) imágenes de SEM de las flores de Ag nanoestructuradas con pétalos lisos bajo diferentes ampliaciones. (b) y (d) imágenes de SEM de las flores de Ag con pétalos porosos bajo diferentes ampliaciones [29].	22
Figura 2.8 Muestra el patrón XRD de nanopartículas de plata. El ángulo de exploración $2\theta$ se realizó de $30^\circ$ a $80^\circ$ . Los planos de difracción que se muestran son (111), (200), (220), (311), que concuerdan bien con la tarjeta PDF estándar (# 65-3107). Los resultados muestran que el material son nanopartículas de plata pura [30].	22
Figura 2.9 Las imágenes de SEM (a), (b), (c), (d), (e), (f) y (g) muestran respectivamente la relación [Vc]: [AgNO <sub>3</sub> ] las cuales son 1:1; 2:1.; 4:1; 8:1; 1:2; 1:4. [30].	23
Figura 2.10 . (a) Imagen que muestra los espectros de XRD de las NF de Ag [31].	24
Figura 2.11 Muestra las imágenes de SEM de la (a–e) después del calentamiento a diferentes temperaturas (60, 80, 100, 120 y 140 °C) durante 30 min. Las imágenes muestran diferentes NF de Ag en la mezcla de polvo [31].	25
Figura 2.12 Caracterización de las Ag NF fabricadas. (A–H) Imágenes de SEM registradas con diferentes concentraciones de PVP de 23 mm (A y E), 46 mm (B y F), 115 mm (C y G) y 137 mm (D y H) por separado [32].	26
Figura 2.13 EDS correspondiente de las NFs de Ag (PVP, 23 mm) [32].	26

Figura 2.14 Espectro de XRD de NFs de Ag a (PVP, 23 mm), frente al espectro de XRD de la tarjeta PDF estándar [32].	27
Figura 2.15 Imágenes de SEM de las nanoestructuras preparadas a diferentes concentraciones molares de melamina a PTA: a) 23:1, b) 16:1, c) 4:1 y d) 4:3. la concentración de la melamina estaba a 16 mM [33].	29
Figura 2.16 a) Espectros de FTIR (1) PTA puro, (2) muestra 4 mM, (3) muestra 23:1 y (4) melamina pura. b) Patrones XRD de (1) muestra de 4 mM y (2) muestra de 23:1 [34].	30
Figura 2.17 Estudios espectroscópicos de Ag NS: (a) espectros de UV-visible del extracto vegetal y (b) AgNS con diferentes volúmenes de extracto, (c) espectro FTIR (d) tamaño y distribución de las partículas [35].	31
Figura 2.18 Reducción del 4-nitrofenol: espectro UV-vis de la potencia catalítica de la degradación de 4-NP (a-c) utilizando los diferentes volúmenes de AgNP (5, 10 y 15 $\mu$ l) en presencia de 4-NP y $\text{NaBH}_4$ y (d) la relación lineal entre el tiempo de reacción (min) y la concentración normalizada [35].	32
Figura 3.1 Espectrofotómetro de Luz Visible y UV, VELAB (VE-5100UV)	37
Figura 3.2 Microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-7600F	37
Figura 3.3 Difractómetro Bruker D8 Advance DAVINCI	38
Figura 3.4 Equipo de FTIR Bruker Tensor 27.	39
Figura 3.5 Imagen del equipo utilizado para realización de las pruebas de reducción fotocatalítica de los colorantes orgánicos.	40
Figura 3.6 Imagen antibiogramas por difusión en disco.	41
Figura 4. 1 Fotografías indicando el cambio de coloración en la solución de reacción para la síntesis de las nanoestructuras de Ag.	43
Figura 4. 2 Espectros de UV-vis de las muestras a pH 3 y pH 5 indicando el RPS de Ag.	43
Figura 4. 3 Espectros de UV-vis de la muestra a pH 8 y 9.	44
Figura 4. 4 Imágenes de MEB y análisis químico (EDS) de los productos obtenidos a pH 3; a) baja magnificación 1000X, b) un solo espécimen a 40000X, c) alta magnificación a 100,000X y d) análisis químico.	45
Figura 4. 5 Micrografías registradas por MEB a diferentes amplificaciones y análisis químico (EDS) de los productos a pH 8; a) 1000 X, b) 40,000 X, c) 100,000 X y d) análisis químico.	46
Figura 4. 6 Micrografías registradas por MEB de los productos a pH 9 a diferentes amplificaciones a) 1000 X, b) 40,000 X, c) 100,000 X y d) análisis químico (EDS).	48
Figura 4. 7 Difractogramas de DRX de los diferentes valores de pH 3, 8 y 9.	49
Figura 4. 8 Indexación de manera ilustrativa y cuantificación de las fases presentes en la muestra.	50
Figura 4. 9 Difractogramas que presenta la información obtenida de la muestra analizada a pH 9.	51
Figura 4. 10 FHHM medido con el software de cálculos de la estructura fina	52
Figura 4. 11 Posiciones angulares medidas con el software de caculos de la estructura fina.	53
Figura 4. 12 Espectrogramas de UV-VIS de la reducción de colorante azul de metileno con las nanoestructuras de pH 3 y pH 9.	54
Figura 4. 13 Antibiogramas del efecto de las nanoestructuras de plata para <i>E coli</i> ; a) pH3 y b) pH9; <i>S. aureus</i> c) pH3 y d) pH9.	56
Figura 4. 14 Concentración mínima inhibitoria para las esferas de plata a 1, 5, y 15 ppm simultáneamente para a) <i>S. aureus</i> y b) <i>E. coli</i> , c) mínima inhibitoria	57

**Figura 4. 15 Modelo de crecimiento de La Mer para nanopartículas [40].**

**59**

## **Índice de Tablas**

**Tabla 2.1 Síntesis verde de nanoestructuras basadas en Ag mediante el uso de varios extractos de plantas [19].**

**15**

**Tabla 3.2. Variantes implicadas en la realización de las nanoestructuras de Ag.**

**35**

## RESUMEN

Los nanomateriales varían en apariencia porque son individuos y sus propiedades varían de sus contrapartes submicrónicas o micrométricas. Esta tendencia es una buena razón para que la nanociencia y la nanotecnología sean un área de inversión de emergencia. En este trabajo se pretende sintetizar nanoestructuras de plata utilizando el extracto acuoso de *Sedum Prealtum*. Los antioxidantes polifenólicos reconocidos en la planta *Sedum Prealtum*, incluidos el kaempferol y la quercetina, pueden atribuirse a la reducción de los iones de plata a plata metálica. El pH de las partículas que se prepararon fueron 3, 8 y 9.

La caracterización de nanoestructuras se realizó por medio de espectroscopía ultravioleta-visible media (UV-Vis), difracción de rayos X (XRD), espectroscopía infrarroja, microscopía electrónica de barrido (SEM) y FTIR, además se midieron las propiedades catalíticas y biológicas. Los productos de la reacción se evaluaron mediante la reducción del colorante azul de metileno. Al mismo tiempo se realizaron pruebas antibacteriales de las nanopartículas.

### Abstract

Nanomaterials vary in appearance because they are individuals, and their properties vary from their submicron or micrometer counterparts. This trend is a good reason for nanoscience and nanotechnology to be an emergency investment area. In this work, the aim is to synthesize silver nanostructures using the aqueous extract of *Sedum Prealtum*. The polyphenolic antioxidants recognized in the *Sedum Prealtum* plant, including kaempferol and quercetin, can be attributed to the reduction of silver ions to metallic silver. The pH of the particles that were prepared were 3, 8 and 9.

The characterization of nanostructures was carried out by means of ultraviolet-medium visible spectroscopy (UV-Vis), X-ray diffractometry (XRD), infrared spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM) and FTIR, in addition the catalytic and biological properties were measured. The reaction products were evaluated by the reduction of the methylene blue dye. At the same time, antibacterial tests of the nanoparticles were carried out.

Palabras clave: Nanociencia, nanotecnología, plata, síntesis verde y pH.

## 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 estructuras metálicas intrincadas que demuestran la llegada de materiales prometedores [1]. Investigaciones anteriores han demostrado que los autoensamblajes de Ag, como las nanoflores, tienen una gran relación superficie-volumen que contiene varios centros activos disponibles para su estudio como catalizadores [2]. 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 [3]. Se han investigado ampliamente en la purificación de agua y aire [4], por ejemplo, en la remoción de colorantes orgánicos sintéticos que se utilizan ampliamente en las industrias: textil, papel, plástico, alimentos, cosméticos y farmacéuticos, lo que 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 [5]. La planta *S. prealtum* es originaria de México, crece en los estados de Hidalgo, Puebla, Tlaxcala, sobre suelos pedregosos y húmedos, está relacionada con la vegetación perturbada de matorral xerófilo, laderas de cerros y bosques, con clima templado entre los 2400 y los 2700 msnm (metros sobre el nivel del mar) [6]. Se demostró en *S. prealtum* la presencia de compuestos carboxílicos, flavonoides, alcoholes, cumarinas, azúcares reductores, alcaloides, así como algunos del tipo glucósidos como los principales encontrados en mayor cantidad (kaempferol y quercetina).

En este trabajo, se efectuó la síntesis, caracterización y medición de las propiedades catalíticas y biomédicas de nanoestructuras de Ag, en medio ácido y alcalino utilizando el extracto de la planta *Sedum prealtum* a temperatura ambiente. Se evaluaron las propiedades catalíticas de las nanoestructuras de Ag, a través de la reducción de los colorantes amarillo de metilo, Índigo carmín y violeta de genciana. Las pruebas biomédicas se realizaron midiendo la capacidad de las nanoestructuras en las pruebas de antibiogramas y de concentración mínima inhibitoria en las bacterias *Escherichia coli* Gram-negativa y

*Staphylococcus aureus* Gram-positiva. La caracterización de los productos se realizó mediante MEB, DRX, UV-VIS y FTIR.

## **1.1 Justificación**

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

## **1.2 Objetivo general**

Sintetizar las nanoestructuras de Ag empleando el extracto de la planta *Sedum prealtum* y evaluar su capacidad catalítica y antibacteriana.

## **1.3 Objetivos específicos**

1. Sintetizar las nanoestructuras de plata en medio ácido y alcalino, empleando el extracto *Sedum Prealtum*.

2. Evaluar las características estructurales de las nanoestructuras mediante difracción de rayos X, microscopía electrónica de barrido, espectroscopía UV-VIS y espectroscopía de infrarrojo.
3. Evaluar la efectividad en la reducción del colorante azul de metileno a través de ensayos catalíticos con las nanoestructuras de Ag.
4. Evaluar la efectividad antibacteriana de las nanoestructuras de Ag in vitro, para las bacterias *Escherichia coli* Gram-negativa y *Staphylococcus aureus* Gram-positiva.

#### 1.4 Hipótesis

Los flavonoides como kaempferol y quercetina del extracto de la planta *Sedum prealtum* reducen químicamente el nitrato de plata, para obtener nanoestructuras de Ag durante la cristalización química, mediante la manipulación del pH. Las cuáles serán efectivas en la reducción de intensidad del colorante contaminantes, así como en su comportamiento antibacterial.

#### 1.5 Metas científicas

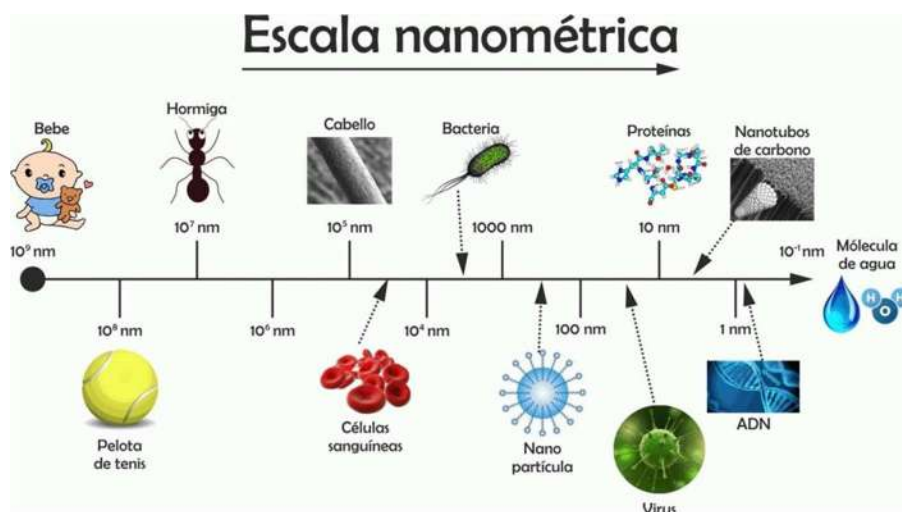
2. Obtener nanoestructuras de Ag con tamaños entre 1 a 4  $\mu\text{m}$ .
3. Obtener una reducción de al menos 80% en el colorante azul de metileno,
4. Obtener resultados en la inhibición de las bacterias *Escherichia coli* Gram-negativa y *Staphylococcus aureus* Gram-positiva.
5. Aportar conocimiento en las propiedades catalíticas de las nanoestructuras de Ag.

## CAPÍTULO 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En el siguiente capítulo se habla sobre la revisión bibliográfica, se abordan temas sobre los significados de la nanociencia y la nanotecnología, además, de cómo {Estos materiales en la escala nanométrica se clasifican, como son sus diferentes tipos de síntesis, las aplicaciones de los nanomateriales y las aplicaciones en los que pueden ser utilizados.

### 2.1. Nanociencia y nanotecnología

La nanociencia se constituye como un área emergente, la cual estudia los fenómenos y la manipulación de materiales a escala nanométrica (<100nm). No puede denominarse química, física o biología, dado que los científicos de este campo estudian esas dimensiones muy pequeñas, para una mejor comprensión del mundo que nos rodea [7]. Feynman propuso fabricar productos en base a la manipulación de átomos y moléculas [8]. La Fig. 2.1 representa los diferentes objetos que se presentan desde la escala micrométrica hasta la escala nanométrica.



**Figura 2.1.** Diferentes objetos en la escala nanométrica-micrométrica [9].

En cambio, la nanotecnología trabaja con materiales estructurados en escalas nanométricas o sea nanoestructuras. Éstas nanoestructuras forman bloques de construcción (*building blocks*) como clústers, nanopartículas, nanotubos y nanofibras que a su vez se forman a partir

de átomos y moléculas. Manipulando estos bloques de construcción se forman los materiales y dispositivos nanoestructurados que es el objetivo central de la nanotecnología. Los materiales fabricados con la nanotecnología tienen menos defectos y mejor calidad. Sus propiedades son novedosas, manteniendo todas las mismas cantidades de divisiones, longitud y diámetro de una forma diferente a cuando se manipula material a escalas más grandes [10]. ¿Qué se quiere decir al utilizar el prefijo nano en nuestro léxico? En términos sencillos, nano es un prefijo griego que significa “enano” y al usarlo en términos y conceptos denota una amplia gama de fenómenos y objetos cuyas dimensiones son de una millonésima parte de un milímetro ( $1 \times 10^9$  mts). Hablar de objetos de esta magnitud, puede referirse a átomos, moléculas y pequeños agregados que forman un diminuto universo cuyas leyes es necesario explicar [11].

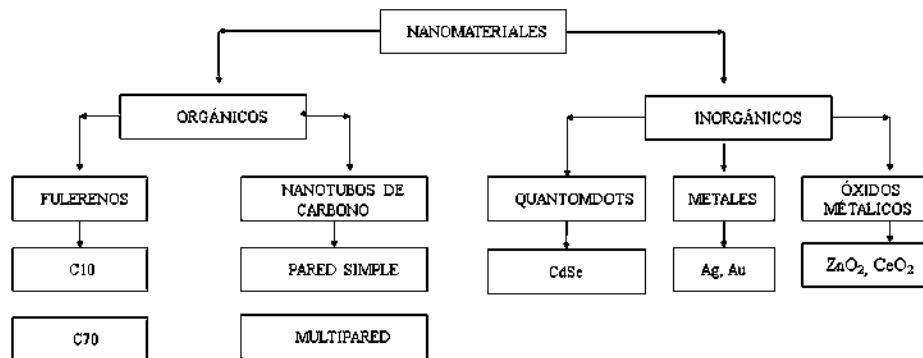
## **2.2 Clasificación de los Nanomateriales**

Los nanomateriales son una nueva clase de materiales (sean cerámicos, metales, semiconductores, polímeros o bien, una combinación de estos), en donde por lo menos una de sus dimensiones se encuentra entre 1 y 100 nm. Debido a su tamaño reducido (unos cuantos nanómetros), se modifican sus propiedades que finalmente difieren del mismo material con dimensiones del sólido a granel. Las características de los nanomateriales incluyendo las peligrosas, deben ser investigadas [12].

La creciente demanda de nuevas nanoestructuras en diversos sectores como la biotecnología, telecomunicaciones, informática, áreas biomédicas, síntesis química, separación, agricultura e industria de alimentos, ha impulsado el interés de científicos e ingenieros para producir nanoestructuras que optimicen los procesos e incrementen la producción. Las nanoestructuras pueden tomar diferentes morfologías por ejemplo nanoflores, nanotubos, nanoalambres y esferas. Para elaborar nanoestructuras ha surgido un método sencillo y de bajo costo conocido como síntesis verde [13].

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

La gran variedad de las nanoestructuras derivada de su amplia naturaleza química, formas y morfologías, el medio en el cual las partículas se encuentran presentes, el estado de dispersión de las partículas y más importante, las numerosas modificaciones a las que pueden ser sometidas las nanopartículas, hacen de esto un importante campo activo de la ciencia [14].



**Figura 2.2** Clasificación de nanomateriales [14].

En base al número de dimensiones, los nanomateriales se pueden clasificar en cuatro tipos [15]:

- Materiales de dimensión cero, las tres dimensiones se ubican en el régimen nanométrico, ejemplo de esta categoría son las nanopartículas.
- Materiales de una dimensión, teniendo una longitud variable, conservan dos dimensiones en el régimen de nanómetros, en esta clasificación están los nanoalambres y nanotubos.
- Materiales bidimensionales con dos dimensiones fuera del rango nanométrico, mantienen su espesor en el orden de 1 a 100 nm, como en el caso de películas delgadas.
- Materiales de tres dimensiones, los sólidos tridimensionales están formados por unidades nanométricas.

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

## 2.3 Nanomateriales autoensamblados

En las últimas décadas, se han realizado numerosos avances en el campo de la nanociencia y la nanotecnología, posibilitando la fabricación de materiales que poseen propiedades muy interesantes con las que trabajar. Los nanomateriales pueden incorporarse en el diseño de dispositivos y herramientas para hacerlos más eficientes y otorgarles propiedades y funciones nuevas [16].

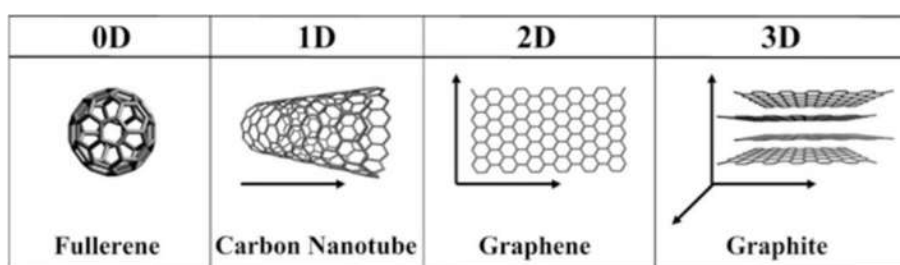


Figura 2.3 Ejemplos de nanoestructuras de carbono 0D, 1D, 2D y 3D [15].

Una de las metodologías más utilizadas para controlar la organización de las nanopartículas, y por tanto sus propiedades, es el autoensamblaje. El autoensamblaje se ha convertido en una metodología puntera en la fabricación de materiales funcionales con propiedades ópticas, electrónicas, químicas y biológicas únicas [17].

En las estructuras formadas por nanopartículas autoensambladas, cada partícula individual es el bloque de construcción fundamental que sirve para confeccionar la estructura ordenada [17]. La figura 2.4 muestra una estructura de autoensamblaje en forma de esfera formada en su superficie por rodillos y otra esfera conteniendo poros nanométricos y protuberancias en la superficie [17].

## 2.4. Síntesis verde mediante el uso de plantas

La producción tradicional de nanopartículas utiliza materiales tóxicos como son los solventes y surfactantes que pueden afectar el medio ambiente. La síntesis verde es una técnica alternativa de bioproducción de un material nanoparticulado junto con un material metálico (oro, plata, hierro y óxidos metálicos), que busca ser amigable con el medioambiente. La síntesis verde se basa en la reducción de sales metálicas mediante especies naturales con poder antioxidante [18]. Durante la última década se ha demostrado que muchos sistemas biológicos pueden reemplazar los agentes químicos reductores incluyendo, plantas y algas, diatomeas, bacterias, levaduras, hongos, virus y células humanas. La Fig. 2.5. muestra como los microorganismos son capaces de transformar los iones inorgánicos metálicos en nanopartículas de metal por medio de las capacidades reductoras de los metabolitos y de las proteínas de estos mismos.

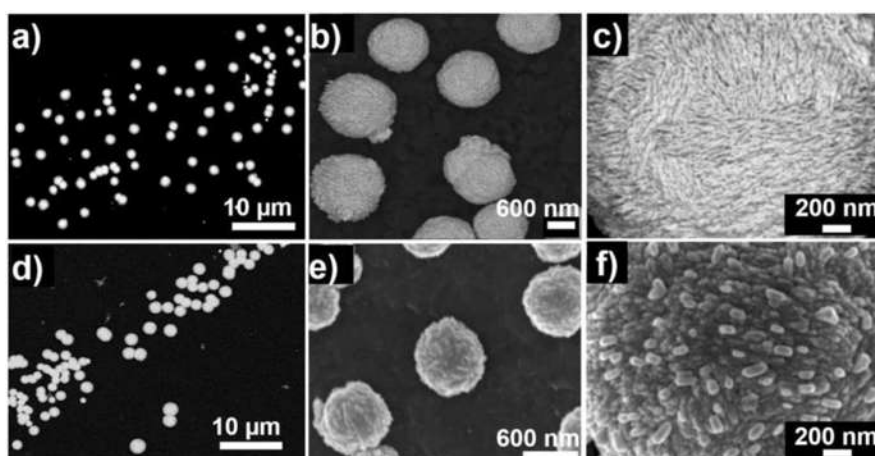


Figura 2.4 Imágenes MEB de esferas de Ag a diferentes aumentos [17].

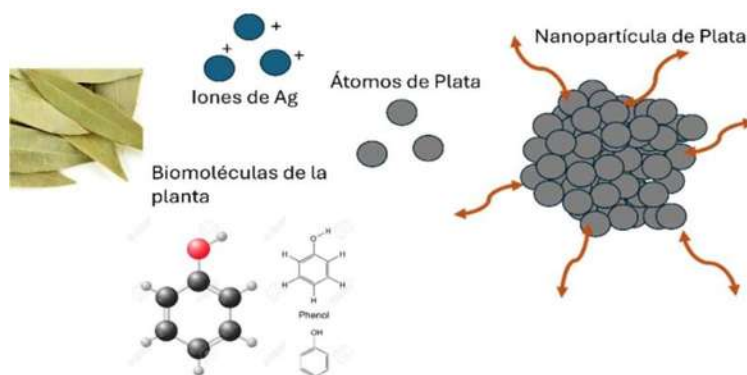


Figura 2.5 Proceso de síntesis verde de nanopartículas de plata [18].

La tabla 2.1 resume algunos resultados que se derivan de la síntesis verde empleando extractos de plantas. Entre los métodos verdes este es el más empleado ya que es muy simple, económico, amigable con el medio ambiente y fácil de realizar. En la tabla se presentan las diferentes morfologías y tamaños los cuales han sido obtenidos a través de esta técnica.

**Tabla 2.1** Síntesis verde de nanoestructuras basadas en Ag mediante el uso de varios extractos de plantas [19].

Precursor	Morfología	Tamaño (nm)	Planta/ extracto de la planta	Parte usada	Referencia
AgNO <sub>3</sub>	Esférica	12.4	<i>Ananas comosus</i>	Hojas	Emeka y Co.
AgNO <sub>3</sub>	Esférica	10	<i>Ocimum basilicum</i>	Raíz	Ahmad y Co.
AgNO <sub>3</sub>	Esférica	15	<i>Beta vulgaris</i>	Raíz	Bindhu y Co.
AgNO <sub>3</sub>	Esférica	4-60	<i>Eucalyptus globulus</i>	Hojas	Prathibha y Co.
AgNO <sub>3</sub>	Irregular	10.78	<i>Artocarpus heterophyllus</i>	Semillas	Jagtap y Co.
AgNO <sub>3</sub>	Esférica	10-15	<i>Jatropha curcas</i>	Semillas	Bar y Co.
AgNO <sub>3</sub>	Esférica	29.28	<i>Crataegus douglasii</i>	Fruta	Ghaffari y Co.
AgNO <sub>3</sub>	Esférica	10-30	<i>lansium domesticum</i>	Cascara de Fruta	Shankar y Co.
AgNO <sub>3</sub>	Esférica	23.7	<i>Banana</i>	Fruta	Ibrahim y Co.
AgNO <sub>3</sub>	Predominantemente cuadrado	70-90	<i>Artemesia nilagirica</i>	Hojas	Vijayakumar y Co.

AgNO <sub>3</sub>	Mayormente esféricas	18.62	<i>Aerva lanata</i>	Hojas	Joseph y Co.
AgNO <sub>3</sub>	Esféricas	20-100	<i>Annona squamosa</i>	Hojas	Vivek y Co.
AgNO <sub>3</sub>	Esféricas	25	<i>Boerhavia diffusa</i>	Toda la planta	Vijay-Kumar y Co

## 2.5 Aplicaciones y propiedades de las nanoestructuras

En los últimos años, las nanopartículas de metales nobles (MNP) han recibido una atención considerable debido a sus importantes aplicaciones en diversos campos, como la biotecnología, la catálisis, el tratamiento del agua, la bioingeniería, los productos de consumo a base de metales, la ingeniería textil y otras áreas que incluyen la terapia contra el cáncer, los biosensores, etiquetas para células y biomoléculas, optoelectrónica, electrónica, magnética y almacenamiento de información [20].

Las MNPs toman una importancia en catálisis, en la que han mostrado mejores propiedades catalíticas que los correspondientes compuestos a granel. Las propiedades únicas de las MNPs dependen en gran medida de su forma, tamaño, cristalinidad, composición y estructura (sólida o hueca) [21].

No obstante, en los últimos veinte años se ha incrementado el interés por la nanoquímica, ciencia que se encarga de estudiar y generar nuevas rutas sintéticas para la producción de bloques de construcción de diferente tamaño (dentro de la escala nanométrica) y para estudiar su forma, composición, superficie estructural, carga y funcionalidad, o para la construcción de procesos de autoensamblaje espontáneos dirigidos por patrones de superficie definidos química o litográficamente; estos pueden formar arquitecturas que actúan en una función inteligente y que auguran un uso particular [22].

Para la formación de nanopartículas se puede utilizar el método de reducción de sales metálicas con un agente reductor sintético o con un biorreductor, utilizando surfactantes para su estabilización. También existen técnicas físicas, como la ablación láser o el depósito por vapor reactivo, entre otras técnicas que se utilizan en una estrategia general conocida como “bottom-up”, en el que las nanoestructuras se van formando átomo por átomo hasta llegar a materiales con dimensiones nanométricas [22]. Otra estrategia general es la conocida como “top-down”, donde materiales macroscópicos son fraccionados hasta llegar a la escala nanométrica; dentro de este grupo se encuentran el pulido y la molienda mecánica.

Los nanomateriales son producidos en diferentes morfologías entre las que se encuentran nanoflores, esferas, tubos, alambres, rodillos y dendritas, entre otras. Los nanomateriales metálicos poseen propiedades fisicoquímicas que difieren de su material a bulto. Estas propiedades están fuertemente relacionadas al tamaño, forma, composición, cristalinidad y estructura de la partícula.

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

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

Los materiales nanoestructurados de Ag cuentan con diversas aplicaciones estudiadas a lo largo de los últimos años, estos materiales pueden ser utilizados como: agentes bactericidas,

agentes fungicidas, en membranas y filtros, como catalizadores en reducción de diversos colorantes utilizados en la industria textil y en la electrónica.

### ***2.5.1 Reducción de colorantes***

Las estructuras de Ag se han utilizado como catalizadores, ya que pueden servir como un relevador de electrones en el sistema oxidante-reductor, encontrando utilidad en la reducción catalítica de azul de metileno (MB), un colorante desechado y muy utilizado en la industria textil [23]. Las pruebas para degradar colorantes como: azul de metileno, 4-nitrofenol, rojo Congo, violeta de metilo, rodamina b, etc., producidos en diversas industrias, principalmente la textil, ha llevado a producir estructuras porosas capaces de reducir y hasta eliminar los residuos de grupos cromóforos de alto peso molecular, presentes en los colorantes.

Los colorantes sintéticos son compuestos químicos xenobióticos, los cuales no se encuentran en forma natural en la biosfera, sino que han sido sintetizados por el hombre. Por la complejidad estructural que presentan las plantas de tratamiento convencionales tienen un bajo porcentaje de remoción de estos, razón por la cual son vertidos sin ser tratados. Los colorantes azoicos se utilizan en grandes cantidades en las industrias textil y alimentaria, y su vertido en aguas residuales de dichas industrias, incluso en bajas concentraciones, produce una intensa coloración que tiene un fuerte impacto ambiental, no sólo por su contaminación visual sino también por su toxicidad. De ahí la relevancia de su tratamiento y eliminación de las aguas previas al vertido de las industrias, buscando su decoloración [24].

La fabricación de microesferas porosas de metales nobles o dopadas con óxidos metálicos ha tenido un gran auge recientemente, debido a la facilidad para eliminar contaminantes de corrientes de aire y agua debido a la posibilidad de oxidación de contaminantes orgánicos a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  en presencia de semiconductores [25].

Las dendritas de Ag tienen un área superficial considerable y bloques de construcción nanométricos con caras cristalográficas seleccionadas, por lo que se espera que tengan mayor actividad catalítica. La reducción de 4-nitrofenol (4-NP) en una solución acuosa es rápida y

fácilmente monitoreada y por lo tanto se usa como reacción modelo para evaluar la actividad catalítica de la plata [27]. Los espectros de absorción UV-vis, presentan un pico de absorción a 400 nm atribuido a los iones 4-NP en condiciones alcalinas se reduce significativamente y se observa el desarrollo concomitante de un nuevo pico a 300 nm correspondiente al 4-aminofenol (4-AP).

## 2.6 Estado del arte

### 2.6.1 Síntesis y caracterización de nanoestructuras de Ag

Tian y Co. [28] utilizaron un método que empleó un líquido ecológico que mediante el ajuste de la velocidad de bombeo de  $\text{AgNO}_3$  a diferentes temperaturas sintetizó nanoestructuras de Ag 2D y 3D, para ser utilizadas en una plataforma SERS para la detección de moléculas en múltiples fases. Las abundantes puntas afiladas y los espacios ultraestrechos de las nanoflores de Ag jerárquicas en 3D permiten un ensayo eficaz de 2-NAT en líquido y p-ATP en gas.

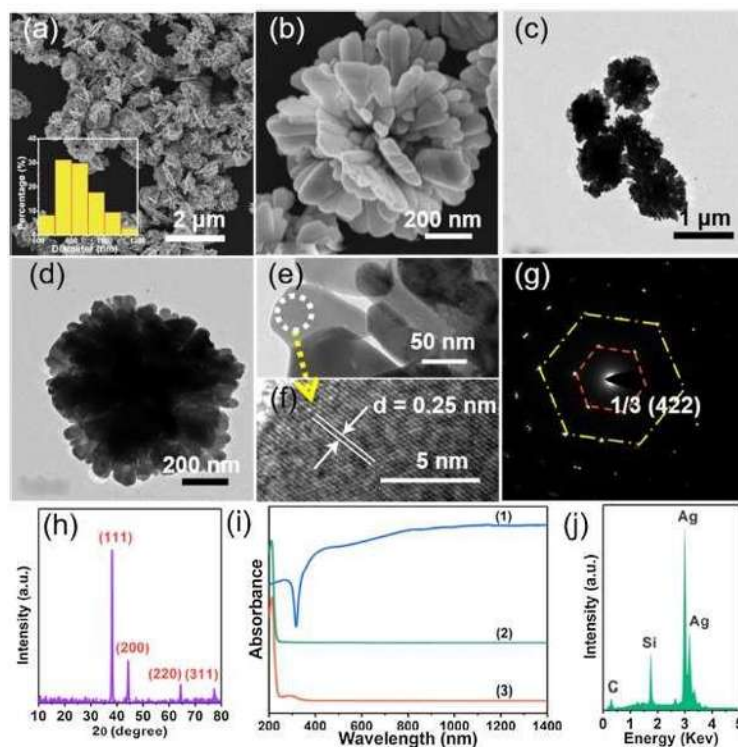
Se encontró que el LOD en la detección de líquidos ( $1.45 \times 10^{-9} \text{ M}$ ) es mucho más bajo que el de la detección de gases ( $7.08 \times 10^{-6} \text{ M}$ ). Además, las nanoflores de Ag jerárquicas en 3D pueden incluso lograr la detección sensible de SS en vino tinto comercial con un rango lineal exterior de 0,005 a 0.5 mg/mL y un LOD ultra bajo de 0.0018 mg/mL.

La Fig. 2.6a de SEM muestra sus resultados obtenidos en donde se observan las nanoestructuras obtenidas con un tamaño promedio de aproximadamente 800 nm. La imagen SEM ampliada revela las típicas nanoestructuras similares a flores jerárquicas en 3D, que se compone de numerosas nanoláminas apiladas con un diámetro de aproximadamente 200 nm (ver Fig. 2.6 b). La imagen de TEM en la (Fig. 2.6 c y d) muestra las puntas afiladas y espacios estrechos en las nanoflores. Como se puede confirmar a partir de la imagen ampliada de la región local en las nanoláminas (Fig. 2.6e), el tamaño de estos espacios entre las láminas fue de 3 a 5 nm. Las nanoflores anisotrópicas se analizaron por HRTEM y mediante el patrón SAED (Fig. 2.6 f y g), las franjas de red están separados un espacio interplanar de 0,25 nm, que se puede atribuir a los planos (422).

La caracterización XRD (Fig. 2.6h) confirma el carácter monocristalino de la nanoestructura de Ag, de la cual se asignan cuatro picos ubicados en 38.1, 44.1, 64.7 y 77.5 ° a los planos (111), (200), (220) y (311) de Ag (ficha JCPDS 04-0783), respectivamente. Una relación alta

entre las intensidades (111) / (200), indicó la abundancia de los planos (111) en las nanoflores de Ag.

El análisis químico de EDS en una sola nanoflor jerárquica 3D, se ilustra en la Fig. 2.6j, la cual revela la presencia dominante del elemento Ag en los materiales.

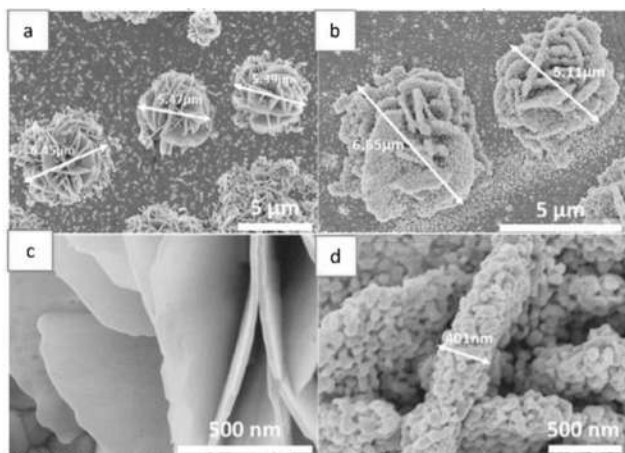


**Figura 2.6** (a, b) imágenes SEM, (c-e) imágenes TEM, (f) imagen HRTEM, (g) patrón SAED, (h) espectro XRD, (i) espectro de absorción y (j) EDS de Nanoflores de Ag jerárquicas en 3D [28].

Chen y Co [29]. desarrollaron un método universal para fabricar flores de Ag nanoporosas en un sustrato de Ni. La transformación de la morfología de lisa a porosa se debe a los procesos de oxidación y reducción de la Ag. Los electrodos de flores de Ag nanoporosas se utilizaron para la detección de glucosa no enzimática a 0.75 V. Debido a la excelente conductividad de Ag y la alta relación superficie/volumen de la estructura tridimensional, este material muestra una alta sensibilidad para la detección de glucosa. Las flores de Ag nanoporosas son un material prometedor para desarrollar un nuevo sensor de glucosa libre de enzimas.

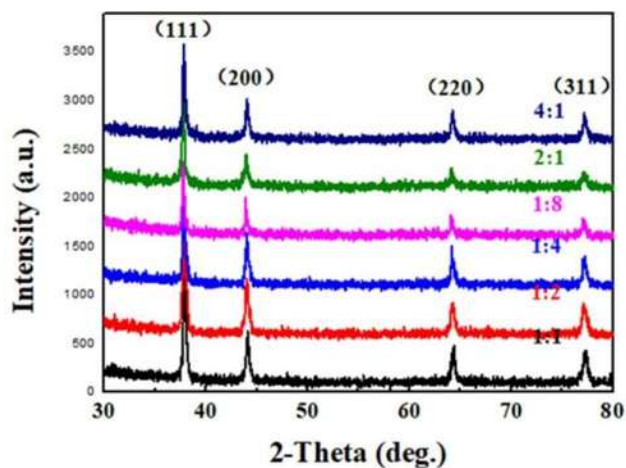
Las Fig. 2.7 (a) y (c) muestran imágenes SEM de las flores de Ag nanoestructuradas. El diámetro medio de las flores fue de  $6\ \mu\text{m}$ , y el grosor de cada pétalo de  $10\ \text{nm}$ . En este estudio, la flor de Ag/sustrato de Ni se sometió luego a una electrodeposición de barrido cíclico en una solución de NaOH  $0.1\ \text{M}$  para convertir las flores de Ag lisas en estructuras nanoporosas. Un análisis de espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDX) verifica la formación de la capa de NiO después del CSE en la solución de NaOH.

Las Fig. 2.7 (b) y (d) muestran las imágenes SEM de las flores de Ag nanoporosas después del primer ciclo CSE. En comparación con las estructuras que se muestran en las Fig.2.7 (b) y (c), los pétalos lisos ya no existían y se transformaron en estructuras porosas. El grosor de cada pétalo aumentó a unos  $400\ \text{nm}$ , que era 40 veces más grande que antes. Se presentan los perfiles de CV correspondientes a la formación de estructuras nanoporosas en escaneos repetidos. Las corrientes máximas (tanto anódicas como catódicas) aumentaron después de cada exploración CV, lo que implica el cambio de morfología en 10 ciclos. La mayor diferencia de las corrientes máximas anódicas apareció entre el primer y el segundo ciclo. El aumento de la respuesta actual se debe al aumento del área superficial después de la formación de la estructura porosa. Se muestra la morfología de las flores de Ag después del primer escaneo, donde los pétalos lisos se volvieron porosos.



**Figura 2.7** (a) y (c) imágenes de SEM de las flores de Ag nanoestructuradas con pétalos lisos bajo diferentes ampliaciones. (b) y (d) imágenes de SEM de las flores de Ag con pétalos porosos bajo diferentes ampliaciones [29].

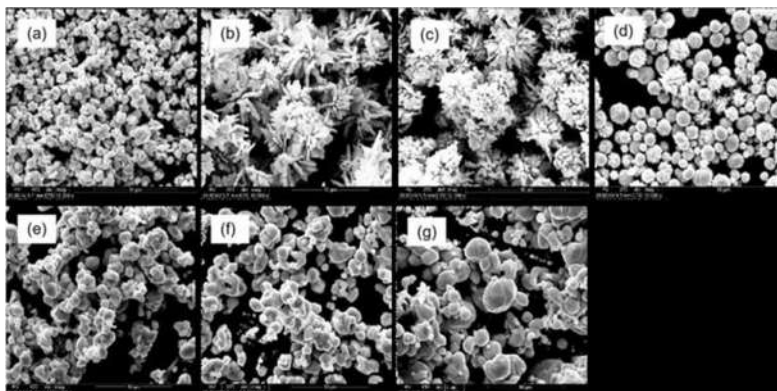
Li y Co. [30] encontraron que la estructura y las propiedades de las nanopartículas de plata han llamado mucho la atención, usando el ácido ascórbico como un agente reductor y también como un regulador del crecimiento de los cristales, la idea central fue estudiar el efecto del contenido de ácido ascórbico en la morfología y el tamaño de las nanopartículas de plata. En este artículo se discutió la preparación y caracterización de nanopartículas de plata a temperatura ambiente. Se sabe, a partir del experimento, la relación molar 2:1 [Vc]: [AgNO<sub>3</sub>] juega un papel importante en la estructura, el tamaño y la morfología de las nanopartículas de plata obtenidas.



**Figura 2.8** Muestra el patrón XRD de nanopartículas de plata. El ángulo de exploración  $2\theta$  se realizó de  $30^\circ$  a  $80^\circ$ . Los planos de difracción que se muestran son (111), (200), (220),

(311), que concuerdan bien con la tarjeta PDF estándar (# 65-3107). Los resultados muestran que el material son nanopartículas de plata pura [30].

La Fig.2.9. muestra las imágenes SEM obtenidas cuando la relación molar de ácido ascórbico a la de  $\text{AgNO}_3$  es diferente. Se puede ver en la imagen que los microcristales de plata obtenidos al cambiar la relación molar de ácido ascórbico y de  $\text{AgNO}_3$  (MR) son diferentes. Cuando la relación molar de ácido ascórbico a  $\text{AgNO}_3$  se reduce a 1:2 a 1:4 y 1:8, se puede observar que el tamaño de las nanopartículas de plata aumenta significativamente y la morfología no cambia. Sin embargo, cuando la relación molar de ácido ascórbico a  $\text{AgNO}_3$  aumentó de 2:1 a 4:1 y 8:1, disminuyó el número de microcristales de plata con estructura jerárquica dendrítica.



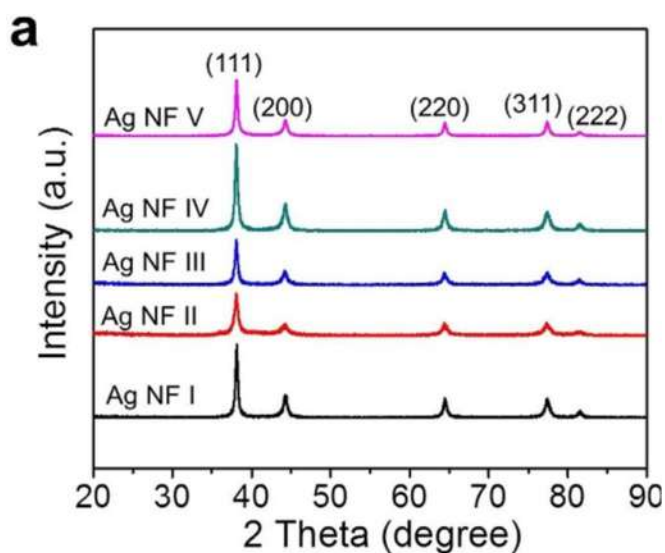
**Figura 2.9** Las imágenes de SEM (a), (b), (c), (d), (e), (f) y (g) muestran respectivamente la relación  $[\text{Vc}]: [\text{AgNO}_3]$  las cuales son 1:1; 2:1.; 4:1; 8:1; 1:2; 1:4. [30].

Kp y col [31] desarrollaron un nuevo método de síntesis de nanoflores (NF) de Ag. La síntesis de las NF de Ag tuvo un alto rendimiento de  $> 99,5 \%$ . La afinidad preferencial de las moléculas de citrato en la superficie de la plata (111) permitió el crecimiento anisotrópico espontáneo de las NF de Ag en solución acuosa. El tamaño de la yema (250~580 nm) podía controlarse mediante la concentración de ácido ascórbico, y los pétalos monocristalinos (grosor = 9~22 nm) sobresalen de la superficie. La estructura única en forma de flor resultó en la coalescencia de los pétalos a partir de la temperatura de curado de  $80 \text{ }^\circ\text{C}$ , y se observó

un cambio morfológico sorprendente a 120 °C. Este excelente comportamiento de coalescencia permitió la construcción de vías de percolación en las NF de Ag.

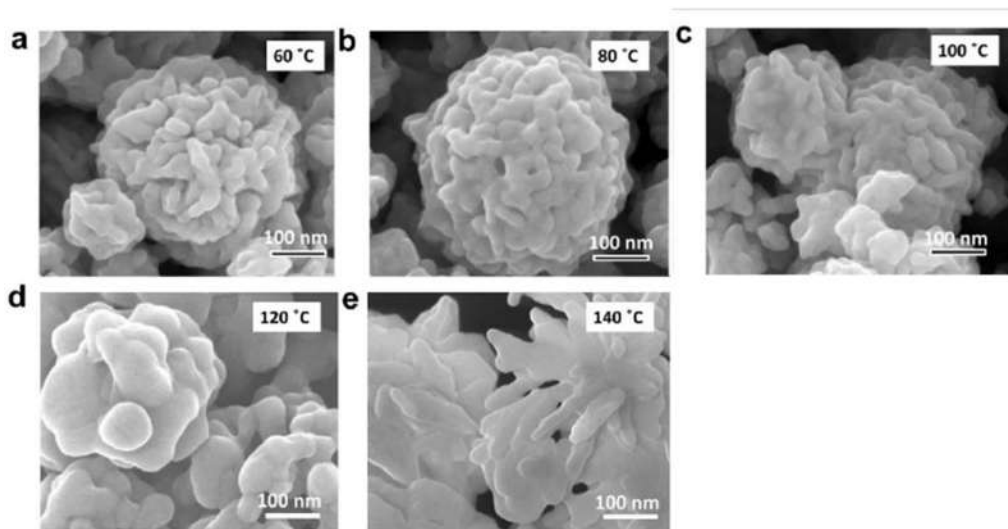
La Fig.2.10. muestra los patrones de difracción de XRD de las NFs de Ag. Los picos que se observan corresponden a los planos (111), (200), (220), (311) y (222) de la estructura cristalina fcc por medio de la tarjeta cristalográfica (JCPDS 65-2871). La relación de intensidad (111)/(200) (3.17~3.56) fue mayor que el archivo estándar valor (2.1) que indica abundantes facetas (111).

La coalescencia de las NFs de Ag se lleva a cabo con la energía térmica adecuada. La figura 2.11 (a-e) muestra el cambio de morfología de las NFs de Ag después del calentamiento a diferentes temperaturas (60~140 °C) durante 30 minutos en condiciones de medio ambiente. No hubo cambios cuando la temperatura de calentamiento fue de 60 °C (Fig. 2.11a). Sin embargo, los pétalos con un grosor a nanoescala (~12 nm) comenzaron a deformarse a una temperatura de calentado a 80 °C (Fig. 2.11b). El cambio de morfología a 80 °C se hizo más evidente cuando la temperatura de curado aumentó aún más hasta 120 °C. La estructura de la flor afilada se deformó notablemente a 120 °C debido al cambio por la coalescencia de los pétalos (Fig. 2.11d). Las NFs de Ag se fusionaron por completo y se aplanaron un poco cuando la temperatura de calentado se incrementó aún más a 140 °C (Fig. 2.11e).



**Figura 2.10 .** (a) Imagen que muestra los espectros de XRD de las NF de Ag [31].

Chang y Col. [32] sintetizaron NF de Ag en un solo paso utilizando ácido ascórbico y PVP como agente reductor y tensoactivo respectivamente. Los diámetros de las nanoestructuras se lograron controlar con la adición del PVP en la solución desde 1200 nm hasta 1000 nm, agregando 23 - 137 mM. Las NFs de Ag se fabricaron en un período de crecimiento de 5 min usando el método de baño de agua helada, bajo diferentes concentraciones de PVP. Las nanoestructuras de las NFs de Ag sintetizadas se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido (SEM) como se muestra en la Fig. 2.12 a-h, presentando NFs de Ag con abundantes nanohuecos. Una inspección minuciosa revela que estas NFs de Ag en realidad están compuestas por nanoláminas de Ag (Fig. 2.12e-h). Los diámetros de Ag NF se pueden controlar sistemáticamente desde  $1200 \pm 10$  nm (Fig. 2.12a y e) hasta  $1000 \pm 15$  nm (Fig. 2.12b y f) y desde  $500 \pm 18$  nm (Fig. 2.12c y g) que van desde 360 - 20 nm (Fig. 2.12d y h) y aumentando la concentración de PVP en la solución de reacción de 23 a 46 y 115 a 137 mM, respectivamente.



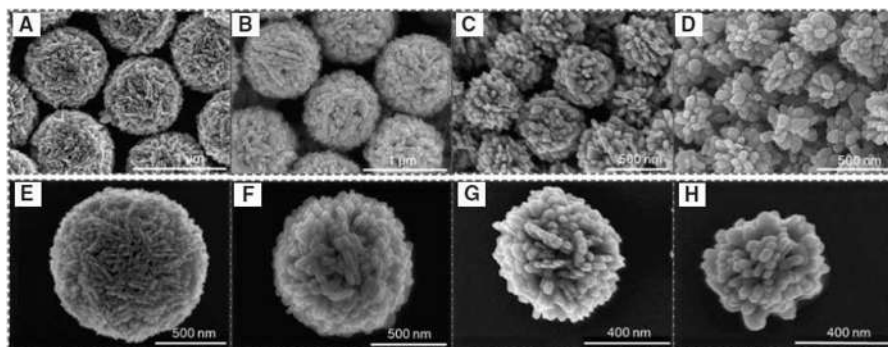
**Figura 2.11** Muestra las imágenes de SEM de la (a–e) después del calentamiento a diferentes temperaturas (60, 80, 100, 120 y 140 °C) durante 30 min. Las imágenes muestran diferentes NF de Ag en la mezcla de polvo [31].

El grosor de las nanoláminas aumenta simultáneamente de 21-3 a 51-8 nm al aumentar la concentración de PVP de 23 a 137 mM. Las partículas más pequeñas y las nanoláminas más grandes inducen a menos nanobrechas. Como resultado, la densidad y la cantidad de

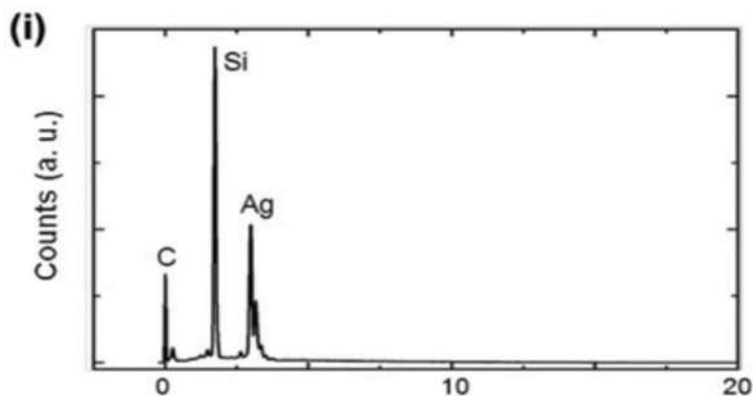
nanohuecos dentro de las NFs de Ag disminuirán al aumentar la concentración de PVP. Es decir, la densidad del nanohuecos se puede controlar variando el concentrado de PVP y el tamaño de la NFs de Ag.

La espectroscopia de dispersión de energía (EDS) mostrada en la Fig.2.13 demuestra que las nanopartículas se componen de plata pura ya que el elemento plata posee 100% a 3 keV, excepto el elemento de fondo.

Para determinar la estructura cristalina nanoporosa de las Nfs de Ag, se empleó la técnica de (red de 4.086 Å), que está en buen acuerdo con la tarjeta cristalográfica de Ag (PDF 040783). El pico con el ángulo de difracción de 38,116° es el más intenso, lo que se puede atribuir a la mayor área expuesta de las facetas correspondientes.

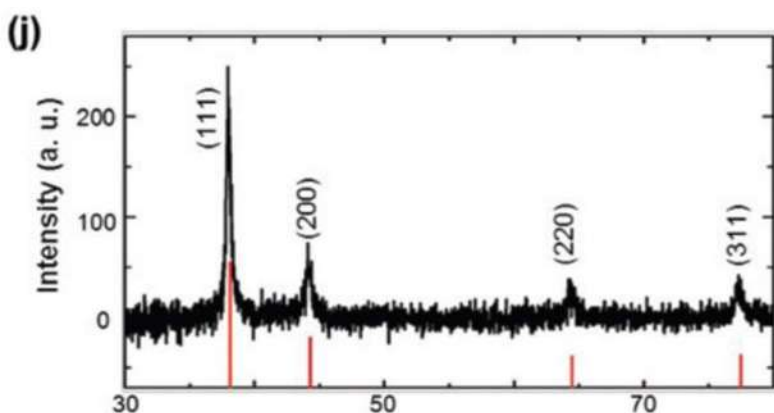


**Figura 2.12** Caracterización de las Ag NF fabricadas. (A–H) Imágenes de SEM registradas con diferentes concentraciones de PVP de 23 mm (A y E), 46 mm (B y F), 115 mm (C y G) y 137 mm (D y H) por separado [32].



**Figura 2.13** EDS correspondiente de las NFs de Ag (PVP, 23 mm) [32].

Curiosamente, las relaciones de intensidad de (111)/(200) son picos de difracción que están entre 3.18 y 3.73 para las NFs de Ag, las cuales son más grandes que la relación de intensidad 2,5 de la tarjeta cristalográfica de Ag. El resultado indica que las NFs producidas exhiben una orientación preferida a lo largo del plano (111) en su crecimiento aleatorio a lo largo de las direcciones radiales. XRD) la Fig.2.14 muestra los cuatro picos de difracción característicos en el patrón de XRD en los cuales se pueden indexar los planos (111), (200), (220) y (311) con una constante de  $4.086\text{\AA}$ , que concuerda bien con el valor tradicional de Ag (PDF 040783). El pico en el ángulo de difracción de  $38,116^\circ$  es el más intenso, lo que se puede atribuir a la mayor área expuesta de las facetas correspondientes. Curiosamente, las proporciones de intensidad de los picos de difracción (111) (200) se encuentran entre 3.18 y 3.73 para los NF de Ag preparados, que son mayores que la proporción de intensidad 2.5 de la base de datos de difracción de Ag estándar. El resultado indica que los Ag NF producidos exhiben una orientación preferida a lo largo del plano (111) en el proceso de crecimiento aleatorio a lo largo de las direcciones radiales.

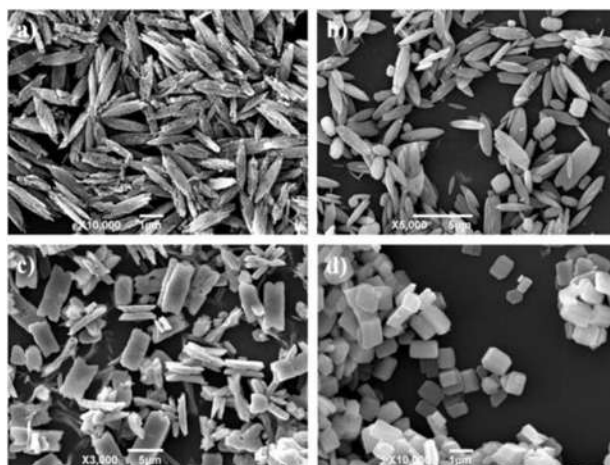


**Figura 2.14** Espectro de XRD de NFs de Ag a (PVP, 23 mm), frente al espectro de XRD de la tarjeta PDF estándar [32].

Li y Co. [33] han demostrado que el autoensamblaje iónico de PTA y melamina es posible para la construcción de materiales híbridos orgánico-inorgánicos, obteniendo una serie de nanoestructuras con diferentes tamaños y morfologías, como láminas, nanovarillas y nanopartículas tipo rugby, estas se pueden obtener variando los parámetros de preparación, incluida la concentración, la proporción de dos de los componentes y la temperatura. Además de la virtud de la propiedad de fotorreducción del PTA, estas nanoestructuras híbridas

podrían usarse como plantilla para la síntesis in situ de nanoestructuras de Ag, logrando la integración de dos componentes catalíticamente activos de POM y nanopartículas de metales nobles en un material. Esta estrategia empleada fue simple, conveniente y altamente eficiente para la fabricación de materiales híbridos orgánico-inorgánicos. La incorporación de nanopartículas de Ag en nanoláminas 2D puede facilitar sus aplicaciones en dispositivos electrónicos, optoelectrónicos o de detección funcionales.

Se encontró que el tamaño y la forma de la morfología de agregación de PTA y melamina podían ajustarse variando sus proporciones molares. En este estudio se emplearon varias relaciones molares de melamina a PTA, especialmente 23:1, 16:1, 4:1 y 4:3, mientras que la concentración de melamina se mantuvo en 16 mM. A partir de las imágenes SEM de las nanoestructuras preparadas bajo una serie de proporciones de dos componentes, se puede ver claramente que se obtuvo un nanomaterial altamente ordenado y uniforme con forma de rugby en una proporción de 23: 1 (Fig. 2.15 a). Estas nanoestructuras tienen  $\sim 2 \mu\text{m}$  de largo y  $\sim 0,5 \mu\text{m}$  de ancho. Al aumentar aún más el contenido de PTA a la proporción de 16:1, se formaron partículas tipo rugby de formas aleatorias con una amplia distribución de tamaño. Algunas partículas son más pequeñas, mientras que otras partículas se vuelven más anchas (Fig. 2.15b). Además, la morfología de las nanoestructuras híbridas cambió dramáticamente de una forma de rugby a nanoláminas inmaduras con muchos defectos cuando la proporción de precursores se mantuvo en 4:1, teniendo una longitud de 7 a 12  $\mu\text{m}$  con un ancho de entre 3 y 5  $\mu\text{m}$ , que es totalmente diferente al preparado, con altas proporciones de melamina a PTA (Fig. 2.15c). En una proporción de 4:3, se formaron algunas partículas de pseudo cubo con una longitud de borde de 0,5 a 1,3  $\mu\text{m}$  (Fig. 2.15d).



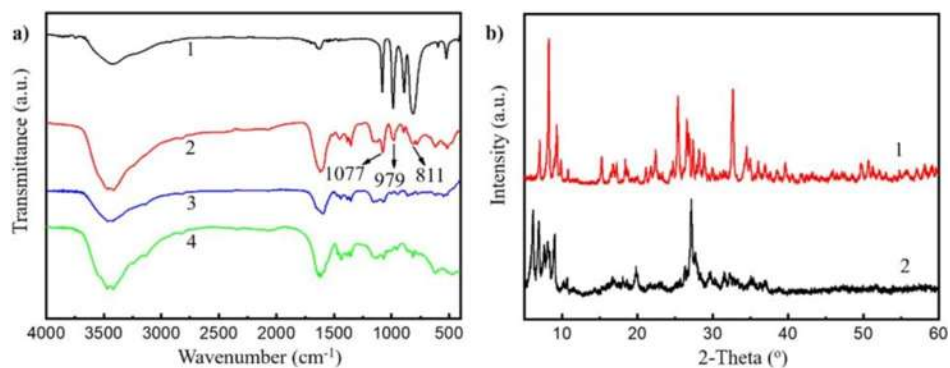
**Figura 2.15** Imágenes de SEM de las nanoestructuras preparadas a diferentes concentraciones molares de melamina a PTA: a) 23:1, b) 16:1, c) 4:1 y d) 4:3. la concentración de la melamina estaba a 16 mM [33].

Además, se investigó la interacción entre la melamina y el PTA en las nanoestructuras de Ag utilizando (FTIR) y (XRD). Los espectros FTIR de las nanoestructuras de Ag, PTA y melamina se presentan en la Fig.2.16 a. Como se muestra todas las nanoestructuras muestran las bandas de absorción características del PTA y la melamina. Para el PTA puro, el anión trivalente  $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$  tiene un tetraedro  $PO_4$  rodeado por cuatro unidades  $W_3O_{13}$  que están unidas por átomos de oxígeno a través de W-Ob-W. Los cuatro picos principales de la estructura Keggin de PTA se pueden asignar a las bandas de vibración de estiramiento de la siguiente manera:  $1080\text{ cm}^{-1}$  para  $\nu(P-O_a)$ ,  $982\text{ cm}^{-1}$  para  $\nu(W=O_d)$ ,  $890\text{ cm}^{-1}$  para  $\nu(W-Ob-W)$ , y  $810\text{ cm}^{-1}$  para  $\nu(W-Oc-W)$  (curva 1). En el espectro de la melamina, los picos de absorción en el rango de  $1400-1700\text{ cm}^{-1}$  se atribuyen a las vibraciones esqueléticas de los heterociclos de carbono-nitrógeno. Las bandas de absorción en  $3340-3600\text{ cm}^{-1}$  y  $1637\text{ cm}^{-1}$  pueden asignarse a la vibración de estiramiento y flexión del N-H, respectivamente (curva 4). Después de la formación de complejos de PTA con melamina, la muestra de 4 mM obviamente muestra las bandas de absorción tanto de PTA como de melamina con un ligero cambio en la posición de la banda, que podría ser el resultado de las posibles interacciones de enlaces de hidrógeno o interacciones electrostáticas (curva 2). Para la muestra 23:1, los picos de absorción están dominados por las bandas de absorción características de la melamina debido a su baja cantidad de PTA (curva 3). Además, la estructura cristalina de las nanopartículas se examinó mediante patrones XRD (Fig.2.16b). Dos muestras de

nanoestructuras de Ag muestran picos de reflexión distintivos con excelente intensidad, que no solo indican el estado altamente cristalizado de la complejidad de la PTA con melamina, sino que también confirman las diferentes estructuras de apilamiento de dos muestras.

### 2.6.1 Síntesis verde de nanoestructuras para uso en el medio ambiente.

Rani y col. [35] prepararon con éxito diversas NP de Ag utilizando hojas de desecho de *Brassica oleracea*. Las NP de Ag sintetizadas mostraron un excelente potencial de remediación basado en la degradación de 4-nitrofenol y actividad antimicrobiana contra bacterias gram + y gram-. Además, el sistema desarrollado también posee una notable detección colorimétrica y espectrofotométrica de glucosa y peróxido de hidrógeno; sin embargo, el estudio de las muestras reales debe llevarse a cabo en el futuro para aplicaciones industriales. Por lo tanto, este estudio anima a los investigadores a la transformación de residuos en productos de valor añadido, que se pueden emplear de manera efectiva en diversas aplicaciones biológicas y ambientales.



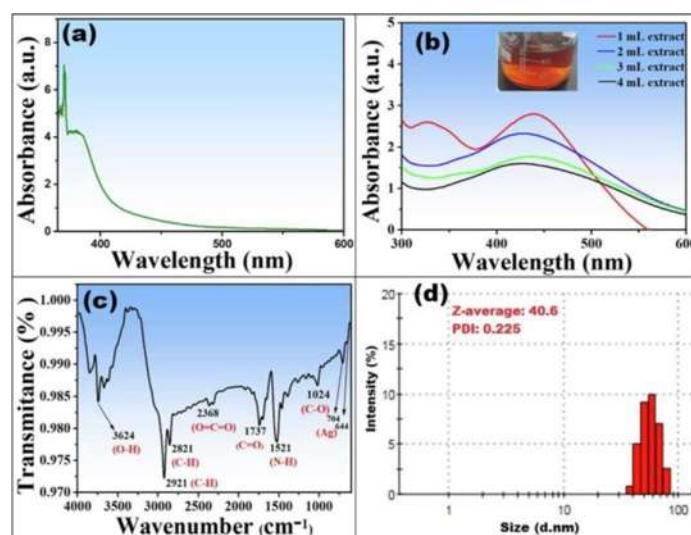
**Figura 2.16** a) Espectros de FTIR (1) PTA puro, (2) muestra 4 mM, (3) muestra 23:1 y (4) melamina pura. b) Patrones XRD de (1) muestra de 4 mM y (2) muestra de 23:1 [34].

Cuando el extracto se agregó a la solución adecuada de nitrato de plata, el color cambió de incoloro a amarillo pálido y luego marrón oscuro, lo que indica el crecimiento de las AgNP. La conversión de  $Ag^+$  a  $Ag^0$ , tras la adición de extracto de *Brassica oleracea*, se evidenció mediante espectroscopia UV-Vis con el advenimiento de una banda de resonancia de plasmones superficiales (SPR) a 440-450 nm, sinónimo de las AgNP, como se muestra en la Fig. 2.20 (b). Se encontró una fuerte banda de absorción a 442 nm después de agregar 1 ml,

lo que se correlaciona con la distribución de tamaño limitada de las partículas sintetizadas. Como resultado, se emplearon AgNP mediados por un 1 ml de extracto para una mayor caracterización y aplicaciones.

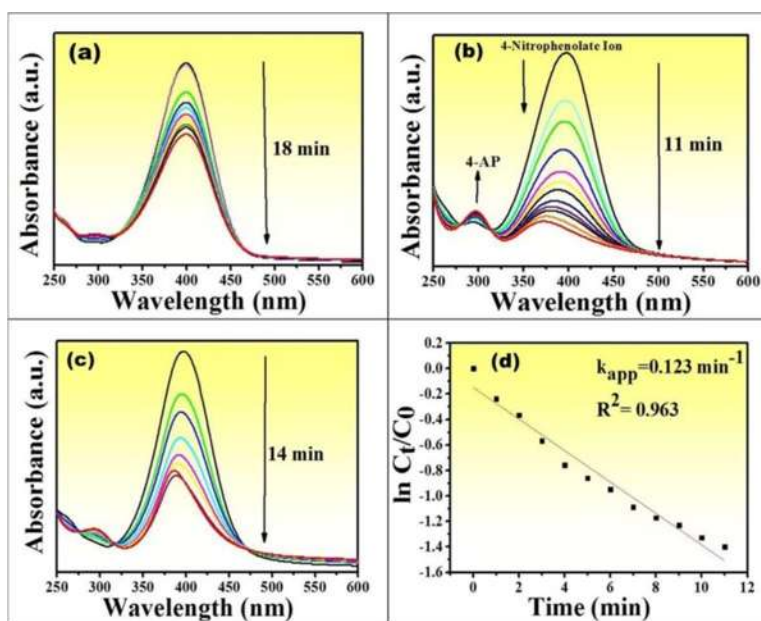
Se utilizó espectroscopia FTIR para determinar cuánta funcionalidad estaba disponible en la superficie de las AgNP. El espectro de FTIR de las AgNP se muestra en la Fig.2.20©. El contenido orgánico en la superficie de los NP de Ag se indica mediante altos picos de absorción en 1024 (C-O, estiramiento de alcohol/éter) 2921  $\text{cm}^{-1}$  (C-H str.), 1521  $\text{cm}^{-1}$  (C-C str.) 1737  $\text{cm}^{-1}$  (C=O str.), y 3624 (calle O-H). La materia orgánica funciona como un límite para las AgNP, evitando que se agrupen. Los picos observados en 704 y 644  $\text{cm}^{-1}$  son causados por oscilaciones de estiramiento de las NP de metal que reaccionan.

El potencial catalítico de las NP de Ag obtenidos con respecto a la transformación del 4-NP al 4-AP, en presencia de  $\text{NaBH}_4$ , se inspeccionó mediante espectroscopia UV-Vis (Fig.2.21<sup>a-c</sup>). En la degradación de 4-NP, la banda de absorbancia inicial característica de 4-NP sufre un cambio batocrómico (rojo) con efecto hipercrómico a medida que se convierte en su correspondiente ion nitrofenolato intermedio evidenciado a 400 nm. Al mismo tiempo, apareció una nueva banda de absorción a 297 nm, que aumentó en intensidad, mientras que la banda de nitrofenolato disminuyó a medida que avanzaba la reacción. Esta reacción se investigó con diferentes proporciones de NP de Ag (5, 10 y 15  $\mu\text{l}$ ).



**Figura 2.17** Estudios espectroscópicos de Ag NS: (a) espectros de UV-visible del extracto vegetal y (b) AgNS con diferentes volúmenes de extracto, (c) espectro FTIR (d) tamaño y distribución de las partículas [35].

Se consideró que el mejor volumen era a 10  $\mu\text{l}$  de solución de AgNPs, que dio lugar a una degradación completa en 11 min (Fig.2.21b). Esto podría deberse a que la velocidad de reacción se redujo por una cantidad considerable de catalizadores y agentes de protección (fitoquímicos). Como se informó anteriormente, aumentar el volumen del extracto preparado y estabilizar los fitoconstituyentes retrasó la reestructuración (interacciones redox entre las superficies de los reactivos y el catalizador) en la superficie catalítica, lo que resultó en una velocidad de reacción más lenta. En el ausentismo de NP de Ag, la degradación de 4-NP fue baja y el ion 4-nitrofenolato no se generó en ausencia de borohidruro de sodio en un control positivo.



**Figura 2.18** Reducción del 4-nitrofenol: espectro UV-vis de la potencia catalítica de la degradación de 4-NP (a-c) utilizando los diferentes volúmenes de AgNP (5, 10 y 15  $\mu\text{l}$ ) en presencia de 4-NP y  $\text{NaBH}_4$  y (d) la relación lineal entre el tiempo de reacción (min) y la concentración normalizada [35].

En esta revisión del estado actual, se ha notado la diversidad de nanoestructuras que se pueden sintetizar a través de diferentes métodos físicos y químicos entre las que encontramos, cubos, placas, esferas huecas y flores. No obstante, el obtener no no estructuras en un solo paso siempre seguirá siendo de mucho interés en la síntesis de los nanomateriales de tal forma

que este trabajo aborda la preparación verde de esferas huecas que se obtienen en un solo paso mediante el uso del extracto acuoso de *Sedum Preatum*. La síntesis verde, es además económico y amigable con el medio ambiente lo que suma importantes factores en la posible utilización de los productos que se obtienen en forma de nanoestructuras

## CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

En este capítulo se presentará la metodología experimental que se llevó a cabo para la síntesis de las nanoestructuras de plata y la caracterización química, morfológica y estructural, y también para la medición de sus propiedades catalíticas, en la reducción del colorante violeta de genciana y propiedades antibacterianas contra *Escherichia coli* Gram-negativa y *Staphylococcus aureus* Gram-positiva.

### 3.1 Reactivos empleados

Se utilizaron los siguientes reactivos para la preparación de los productos de Ag:

- Hojas y Tallo de *Sedum Prealtum*
- Nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) 99.5% de pureza
- Agua desionizada
- Ácido acético  $\text{CH}_3\text{COOH}$
- Hidróxido de amonio  $\text{NH}_4\text{OH}$
- Azul de metileno
- Materiales biológicos (*Escherichia coli* Gram-negativa y *Staphylococcus aureus* Gram-positiva)

### 3.2 Preparación del extracto de la planta.

Para la preparación de la infusión, se utilizó la planta de *Sedum Prealtum*, la cual se consiguió en un mercado local en la ciudad de Morelia, Michoacán. Se separaron las hojas del tallo, para solo utilizar las hojas para la reacción, las cuales se molieron mediante un mortero. Posteriormente, se realizó la infusión empleando agua destilada a un volumen de 50 mL y 60 °C, para después, agregar 0.25 gr de planta molida, agitando durante 30 min a 8,000 rpm. La infusión se filtró con papel Whatman de 150  $\mu\text{m}$ .

### 3.3 Síntesis de nanoestructuras de Ag

La reacción de síntesis de las nanoestructuras se realizó mezclando el extracto con una solución de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) a 10 mM en proporción 1:1, la cual tendrá una concentración de extracto de 0.25 g/mL, con agitación magnética y a temperatura ambiente. Después de obtener las reacciones a partir de la mezcla del extracto de la planta *Seudum prealtum* y el  $\text{AgNO}_3$ , se modificó el pH de la solución de reacción a diferentes valores. Para lograr esta variación se agregó ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) para obtener un pH ácido igual a 3, también se realizaron experimentos a pH básico (8 y 9) utilizando hidróxido de amonio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ). Los experimentos fueron monitoreados durante la reacción hasta que presentó el cambio de coloración característico de la reducción de los iones de plata.

La tabla 2 muestra las variantes implicadas en la síntesis de las nanoestructuras de Ag y como éstas se variaron para obtener el resultado esperado.

**Tabla 3.2.** Variantes implicadas en la realización de las nanoestructuras de Ag.

Percursor $\text{AgNO}_3$	Agente reductor <i>Seudum prealtum</i>	pH	Ácido acético	Hidróxido de amonio
10mM	0.25 g/mL	2	0.2 mL	
		3	0.4 mL	
		4	0.8mL	
		5.5	Muestra estándar	Muestra estándar
		8		0.7 mL
		9		1 mL
		10		1.5 mL

### **3.4 Caracterización de los nanomateriales**

#### ***3.4.1 Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis)***

Una vez teniendo las muestras realizadas a diferentes pH se analizaron mediante la técnica de espectrofotometría de Ultravioleta-Visible (UV-Vis) a través del equipo VELAB (VE-5100UV), (Fig. 3.1) en un rango de longitud de onda de 190 a 1000 nm. Para realizar la caracterización de las muestras, estas fueron diluidas con agua destilada en relación 1:6, utilizando celdas de poliacrilato. La técnica de análisis de espectroscopía de absorción UV-Vis permitió confirmar la formación de NPs de Ag. Esta técnica correlaciona las bandas de absorción debidas a la resonancia del plasmón de superficie con el tamaño, la distribución de tamaño y las formas de las NPs.

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

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

Mediante la microscopía electrónica de barrido (MEB), se determinó el tamaño y forma de los productos de la reacción. El microscopio que se encuentra en el IIMM cuenta con la técnica de espectroscopía de dispersión de energía (EDS) que nos permitió realizar un análisis elemental semi cuantitativo para confirmar que se obtuvieron las nanoestructuras de Ag. Por medio de esta técnica se pueden detectar elementos químicos con número atómico >4 de manera cualitativa y semicuantitativa que se encuentren en la muestra analizada.



**Figura 3.1** Espectrofotómetro de Luz Visible y UV, VELAB (VE-5100UV)

Toda vez de haber sido realizadas las reacciones para obtener las nanoestructuras, éstas se observaron en el microscopio, para examinar su dispersión y presencia de elementos orgánicos. La técnica que se utilizó para depositar la muestra en el microscopio electrónico de barrido equipo Jeol JSM-7600F (véase Fig. 3.2) consistió en depositar una gota de la muestra en una placa de carbono que atrapa las partículas dentro del microscopio, generando así la conductividad entre las mismas.



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

### 3.4.3 Difracción de rayos X (DRX)

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

La difracción de rayos X consiste en radiaciones electromagnéticas o fotones parecidos a los que se encuentran en la zona de frecuencia elevada a los rayos X y entre la zona de frecuencia más baja como rayos ultravioletas que son dirigidos hacia el espécimen. Básicamente consiste en la interacción de la estructura cristalina de un sólido con la fuente de rayos X. El sólido presente en los materiales consiste en la repetición periódica de átomos o moléculas que forman al material en las tres direcciones espaciales. Para ello la diferencia de difracción entre dos planos es un múltiplo de la longitud de onda ( $\lambda$ ) y matemáticamente se describe como  $2d \sin \theta = n\lambda$  o ley de Bragg. El instrumento empleado para este análisis es el difractómetro Bruker D8 Advance DAVINCI (obsérvese figura 3.3).



**Figura 3.3** Difractómetro Bruker D8 Advance DAVINCI

### 3.4.4 Espectroscopía infrarroja con transformadas de Fourier (FTIR)

Por medio de la técnica de espectroscopia por infrarrojo (FTIR) se realizó el análisis químico y la determinación estructural de las moléculas. Los grupos funcionales tienen frecuencias características en las cuales absorben esas longitudes de onda que van desde 2.5 a 16  $\mu\text{m}$ . Esta técnica se utilizó con el fin de identificar las sustancias presentes en el extracto natural de la planta, de donde se obtuvo la información de los grupos funcionales del extracto, para correlacionar ambas. También se aplicó para conocer la estabilidad del extracto antes y después de la reacción de síntesis de NPs.

La espectroscopía de infrarrojo es un método que estudia la absorción o emisión de energía radiante que se origina por la interacción electromagnética y el material de estudio. Su principio de funcionamiento se basa en que las moléculas tienen la propiedad de rotar y vibrar a diferentes frecuencias, de esta manera, una molécula puede absorber la energía de fotones en el rango energético de espectro infrarrojo cuando hay una diferencia en el momento bipolar de la molécula, mientras ocurre un movimiento vibracional - rotacional y cuando la frecuencia asociada con la radiación resuena con el movimiento vibracional, de esta manera se entiende, que existen modos vibracionales que inducen oscilaciones que pueden entrar en resonancia con un haz de infrarrojo.

El equipo que se va a emplear para realizar esta caracterización fue un Bruker Tensor 27 (Fig. 3.4). La muestra se va a preparar de la siguiente manera, el polvo se mezclará con bromuro de potasio y se compactará con la ayuda de un pastillador de acero inoxidable y se procederá con el análisis de la muestra.



**Figura 3.4** Equipo de FTIR Bruker Tensor 27.

### 3.4.5 Reducción de colorantes

La actividad fotocatalítica de las nanoestructuras fue evaluada utilizando el colorante azul de metileno. Para ello se mezcló 1 mL del colorante orgánico a 0.4 mM con 0.2 mL de la solución de las nanoestructuras de Ag. La mezcla se colocó en una celda de cuarzo y se analizó mediante espectroscopia UV-vis. Los espectros se registraron a intervalos de 20 min. En cada análisis se registraron los espectros hasta que los SPR de los colorantes orgánicos hasta que estas empezaron a presentar una disminución. Se realizaron curvas de calibración para el colorante orgánico la cual se realizó a una concentración de 1 de absorbancia mediante el Uv-vis.



**Figura 3.5** Imagen del equipo utilizado para realización de las pruebas de reducción fotocatalítica de los colorantes orgánicos.

### 3.4.6 Pruebas antibacterianas

Se realizaron pruebas de antibiogramas y de concentración mínima inhibitoria, para estas pruebas se utilizaron las bacterias *Escherichia coli* Gram-negativa y *Staphylococcus aureus* Gram-positiva.

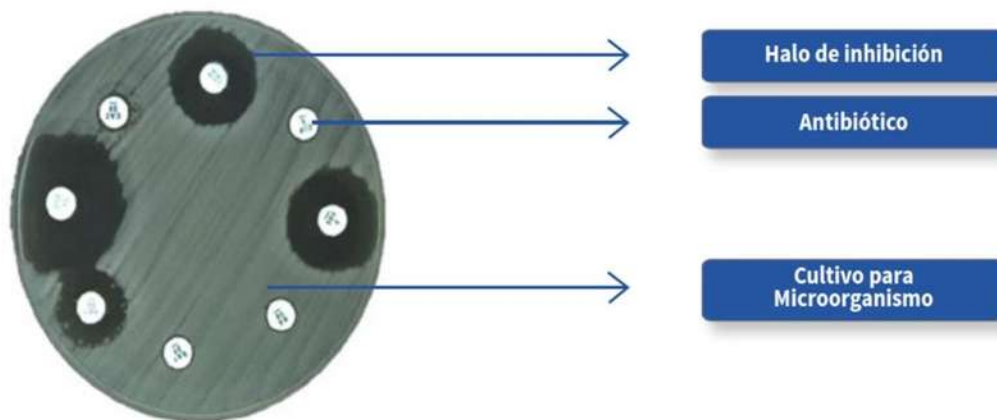
#### Pruebas de antibiogramas

Para estas pruebas de antibiogramas se utilizó las nanoestructuras de Ag en los pH ácidos (3) y básicos (8 y 9), además del extracto de la planta *Sedum prealtum* a una concentración de 2.5 g/ml y la sal de plata  $\text{AgNO}_3$  a una concentración de 10 mM, para la sal de plata se usaron

dos concentraciones las cuales son, la sal 1 que consiste en 5mL AgNO<sub>3</sub> más 5 mL de agua desionizada y la sal 2 la cual consiste en 3 mL de la sal de AgNO<sub>3</sub> y 7 mL de agua desionizada. Las pruebas se realizaron poniendo en una caja de Petri un cultivo de las bacterias *Escherichia coli* Gram-negativa y *Staphylococcus aureus* Gram-positiva, después en un papel filtro fueron depositadas las gotas de las nanoestructuras, de las dos concentraciones de la sal de plata y del extracto de la planta *Sedum prealtum*. Teniendo las muestras preparadas se dejó pasar el tiempo para poder analizar los resultados de estas pruebas.

### Concentración mínima inhibitoria

Para estas pruebas se dividió una caja de Petri para poner un cultivo de las bacterias *Escherichia coli* Gram-negativa y *Staphylococcus aureus* Gram-positiva en donde se utilizaron tres concentraciones mínimas inhibitorias de las nanoestructuras de Ag, de las dos sales de plata, del extracto de la planta y de los sobrenadantes del lavado de las nanoestructuras. Las pruebas se realizaron con las concentraciones de 1, 5 y 15 ppm una vez depositadas en las cajas de Petri se dejaron reaccionar para después ser observados los resultados.



**Figura 3.6** Imagen antibiogramas por difusión en disco.

## CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación, se expresan los resultados obtenidos de la síntesis de nanoestructuras de plata mediante la reducción con el extracto acuoso de *S. prealtum*, la caracterización realizada y su evaluación catalítica y antibacterial.

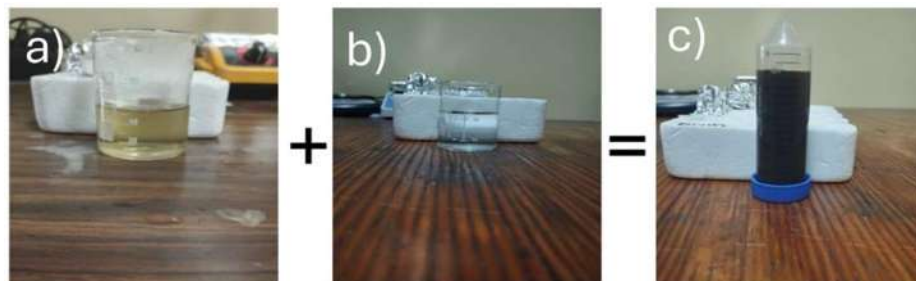
### 4.1 Espectroscopia de UV-VIS

Las muestras sintetizadas fueron evaluadas indirectamente en su naturaleza nanométrica mediante la técnica de espectroscopía de UV-vis. La resonancia de plasmón de superficie (SPR) determinado por el espectro, es la técnica destacada y versátil para evaluar las propiedades ópticas de las nanoestructuras metálicas. Consiste en la oscilación colectiva de los electrones de conducción excitados por el campo electromagnético de luz. El SPR es uno de los mejores ejemplos de que los materiales se comportan diferente en la nanoescala (17). En el caso de las NPs, los electrones están confinados en las tres dimensiones, las oscilaciones de electrones inducen un campo eléctrico alrededor de la NPs que puede ser mucho mayor que la luz incidente. Cuando se reduce el tamaño de una partícula metálica a unos pocos nanómetros, las propiedades ópticas se modifican drásticamente por la aparición del SPR y, su comportamiento resultante es completamente diferente del metal a granel.

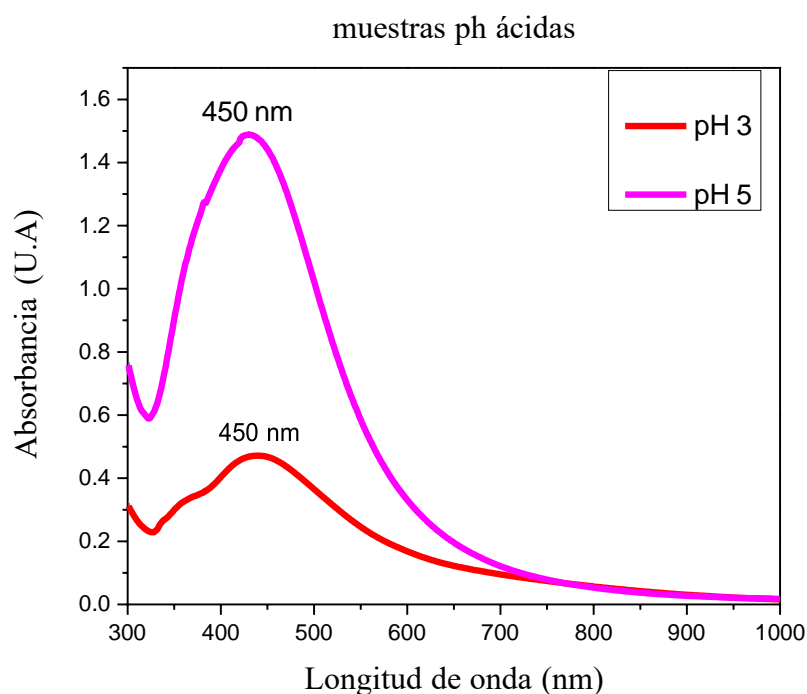
Primeramente, se determinó después de efectuar la mezcla de reacción, el color de la solución en donde el cambió de amarillo a marrón oscuro en un tiempo de 1 h (ver figura 4.1), indica la existencia de los nanomateriales de plata, según los reportes informados previamente [36]. Los espectros de UV-vis de las nanoestructuras de plata preparadas a diferentes valores de pH, en presencia del extracto acuoso de *Sedum Prealtum*, se muestran en la figura 4.2.

El primer conjunto de estos espectros corresponde al valor ácido (pH 3), se incluye también el pH 5 que es la referencia cuando no se modifica este valor, mientras que la figura 4.3 representa a los valores básicos (8 - 9).

Se encuentra que la banda de absorción característica (SPR) de las nanoestructuras de plata, aparece en su máximo entre 400 y 500 nm para pH ácidos, mientras que se desplaza hacia el azul ubicándose cerca de los 400 nm para los valores básicos.



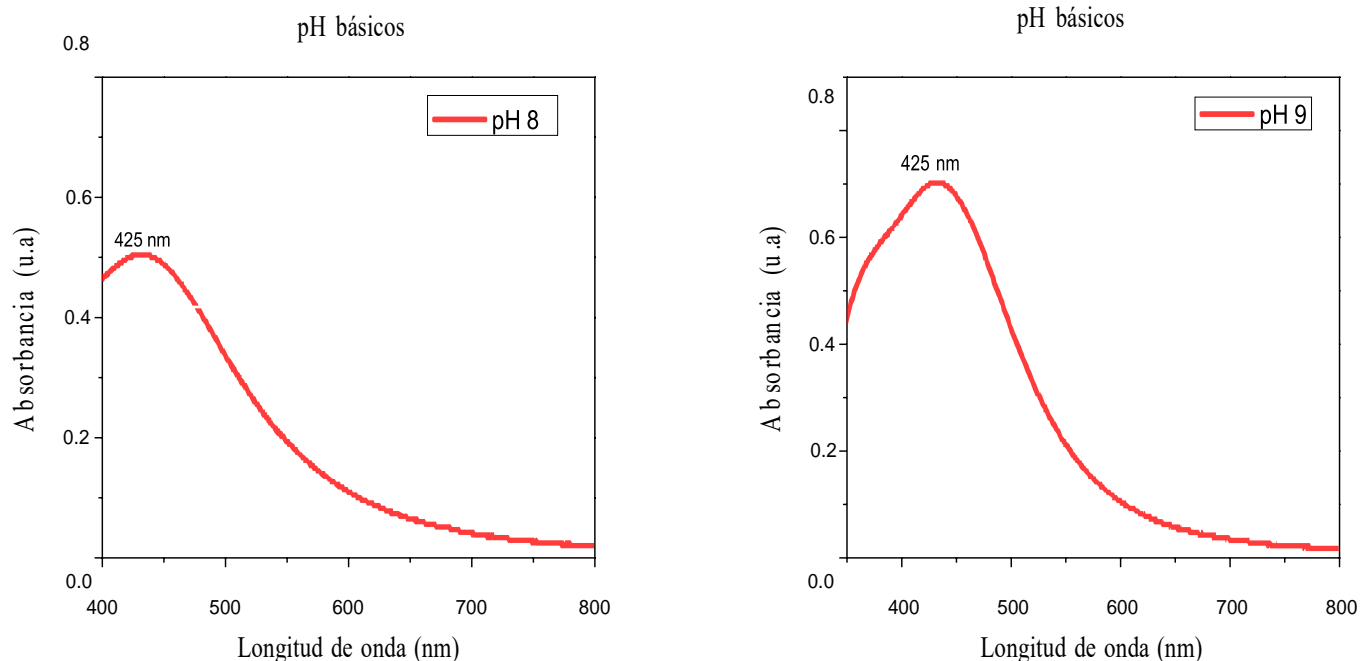
**Figura 4. 1** Fotografías indicando el cambio de coloración en la solución de reacción para la síntesis de las nanoestructuras de Ag.



**Figura 4. 2** Espectros de UV-vis de las muestras a pH 3 y pH 5 indicando el RPS de Ag.

A medida que el pH pasa desde 3 hasta 5, la absorción característica aumenta y el pico se ensancha. El aumento en la intensidad de la banda indica una mayor cantidad de sólidos formados en el estado nanométrico, mientras que, el ensanchamiento de esta sugiere un progresivo incremento en la distribución de tamaños nanométricos.

Similarmente, cuando el pH alcanza los valores básicos (8 y 9), se aprecia que la intensidad del pico disminuye, por lo que la presencia de tamaños nanométricos disminuye.



**Figura 4. 3** Espectros de UV-vis de la muestra a pH 8 y 9.

## 4.2 Microscopía electrónica de barrido

### 4.2.1 Morfología obtenida a pH 3

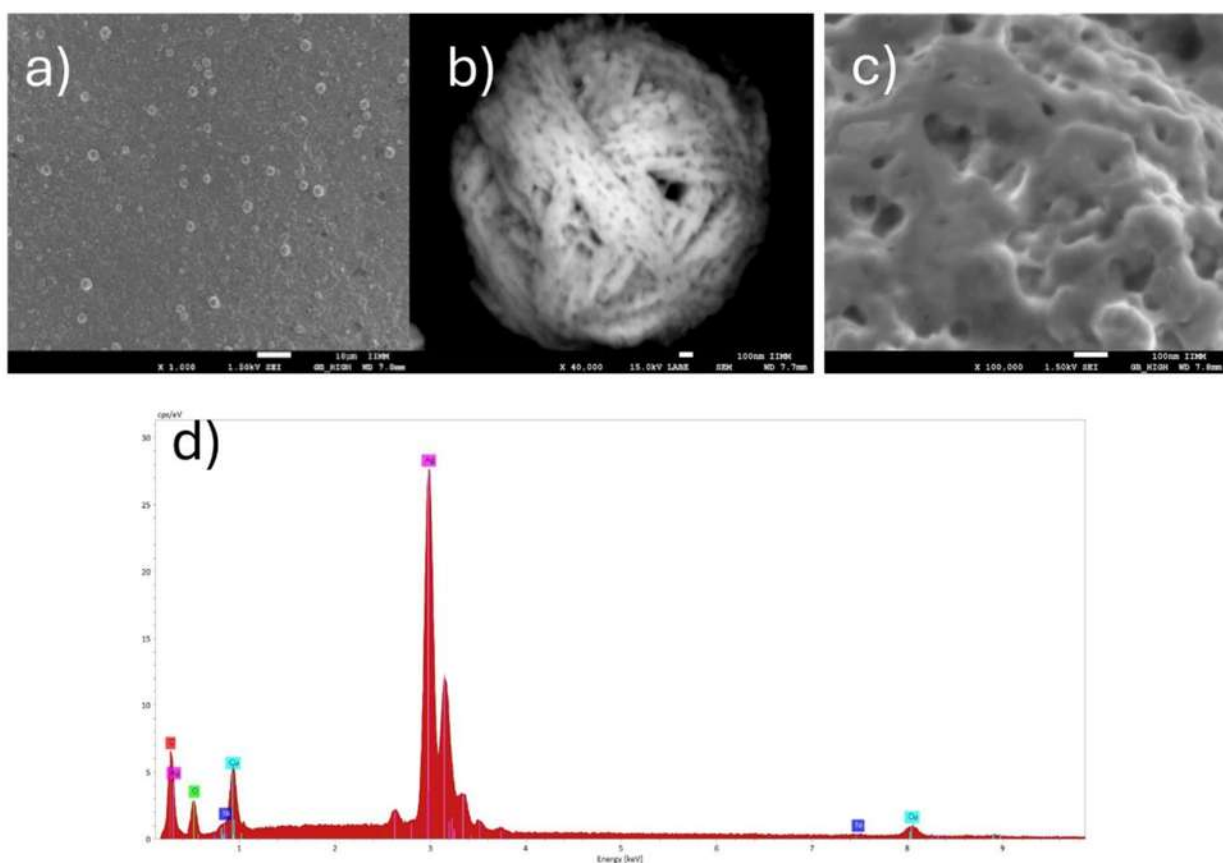
La figura 4.4 a-d despliega las imágenes registradas de los productos preparados por medio del extracto de la planta *Sedum praealtum*, a una concentración de 2.5 g/ml, una concentración de sal de plata 10 mM ( $\text{AgNO}_3$ ) y un pH 3. En la imagen del inciso (a) registrada a una magnificación de 1000X y por la técnica de SEI, se presentan productos de morfología esférica, en gran cantidad, dispersos en la muestra y con un rango de tamaño entre 2 y 3  $\mu\text{m}$ .

En el inciso (b) se registró una imagen por la técnica de LABE (Low-angle backscattered electrons) a la magnificación de 40000X de una nanoestructura en particular. Esta

micrografía muestra en detalle las características de las partículas esféricas y su porosidad. Se deduce que estas partículas se forman de muchos poros entrelazados las cuales presentan

un rango de tamaño entre 50 a 90 nm, por lo tanto, se consideran nanoestructuras de plata. Se encuentra que los poros en la superficie al presentar un tamaño superior a los 50 nm se considera una nanoestructura macroporosa según la IUPAC.

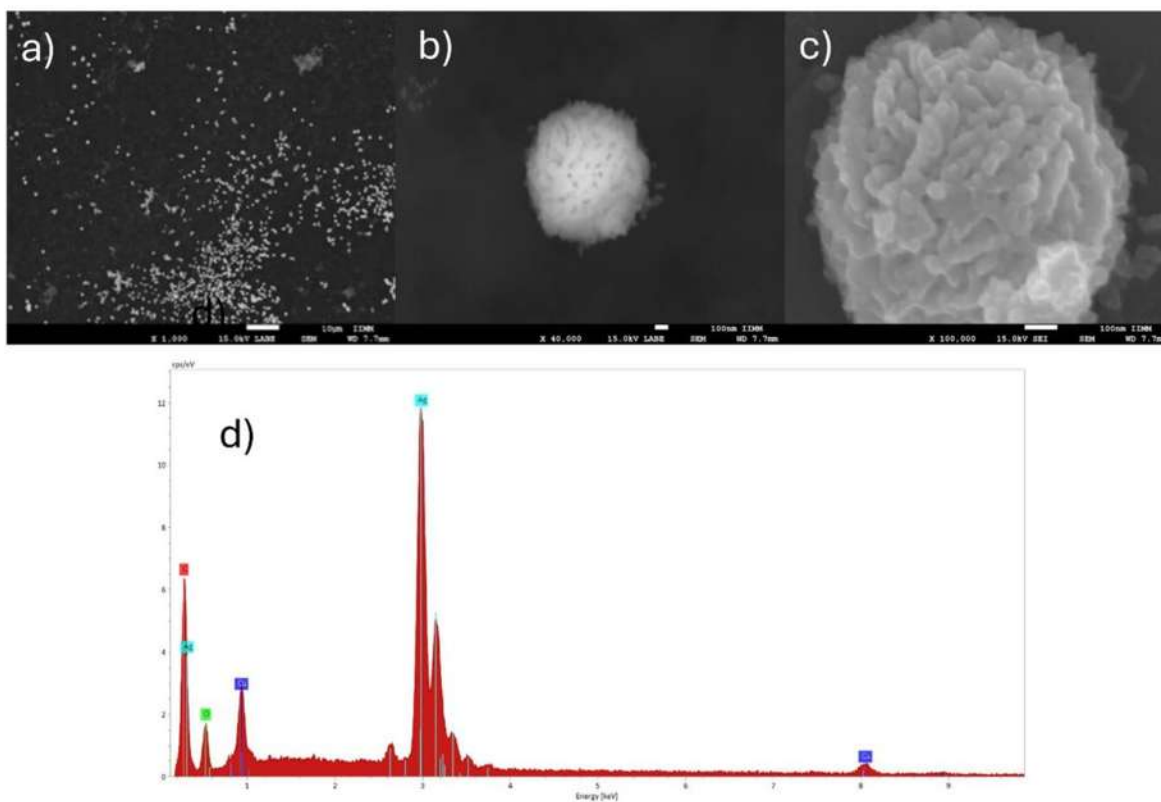
La imagen mostrada en el inciso (c) fue registrada a una magnificación de 100000X por la técnica de SEI, en donde podemos ver que las nanoestructuras tienen muy alta porosidad en toda su superficie constituyéndose como una estructura con gran área superficial, la cual puede estar disponible para la reducción de los colorantes orgánicos. En el inciso d) se presenta el análisis químico (EDS) de las estructuras, donde se aprecian los picos del elemento Ag, lo cual confirma su composición química de plata. Similarmente, se presentan picos de O y C derivados de los componentes residuales del extracto y un pico de Cu que es atribuido al porta muestras.



**Figura 4. 4** Imágenes de MEB y análisis químico (EDS) de los productos obtenidos a pH 3; a) baja magnificación 1000X, b) un solo espécimen a 40000X, c) alta magnificación a 100,000X y d) análisis químico.

#### 4.2.2 Morfologías obtenidas a pH 8

La figura 4.5 a-c presenta las imágenes de las estructuras sintetizadas a un pH de 8. En donde se observa en el inciso (a) una imagen de LABE a 1000 X que presenta partículas en forma esférica en una alta cantidad y dispersas en la muestra, todas las partículas presentan un tamaño inferior a la micra, el cual es el menor tamaño obtenido hasta ahora. Mas discusión al respecto se presenta en las secciones posteriores.



**Figura 4. 5** Micrografías registradas por MEB a diferentes ampliaciones y análisis químico (EDS) de los productos a pH 8; a) 1000 X, b) 40,000 X, c) 100,000 X y d) análisis químico.

Las micrografías de LBE registradas a 40000 X y 100000 X inciso b) y c), muestran más detalles de las partículas esféricas de la muestra, en donde su porosidad no es muy alta y se encuentran formadas aparentemente, de muchas otras pequeñas partículas esféricas casi individuales inferiores a los 100 nm entrelazadas de un tamaño aproximado de 60 nm, por lo tanto, se consideran nanoestructuras de plata. Las nanoestructuras tienen una porosidad no

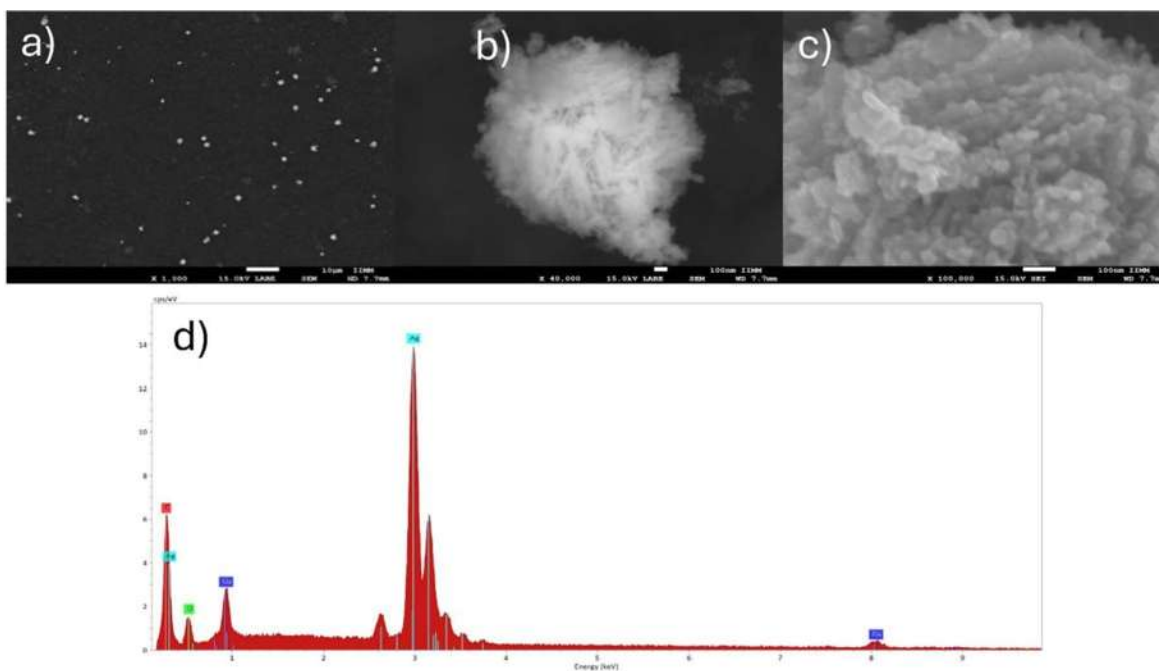
muy alta en su superficie, pero esta misma es muy rugosa. Este tipo de partícula se ha reportado mucho en otras composiciones químicas, pero en plata muy pocas veces y aun menos, obtenidas por síntesis verde. En el inciso (d) se aprecia el análisis químico, donde aparecen los picos de Ag que corresponden a la nanoestructura, confirmando la composición del material. El pico de O y C se derivan del extracto y el de Cu es atribuido al porta muestras.

#### ***4.2.3 Morfologías obtenidas a pH 9***

Las imágenes registradas de las estructuras sintetizadas a pH 9 se muestran en la figura 4.6 a-c. En el inciso (a) la imagen de LABE a una magnificación de 1000X presenta productos de forma esférica dispersos y con un tamaño alrededor de 1  $\mu\text{m}$ . Los incisos b y c, registran un par de imágenes de LABE y SEI a las magnificaciones de 40000X y 100000X, respectivamente. Donde se muestran con mayor detalle los productos. Las estructuras muestran una forma esférica y están compuestas por hileras de partículas que se entrelazan entre sí, en las cuales se observa una pequeña porosidad y un tamaño aproximado de 50 nm, además los polos de la esfera se alargan. Como se puede ver, las partículas crecen en forma aleatoria e integran el cuerpo mostrando una alta rugosidad en la superficie, que puede generar sitios activos de carga cuya característica puede emplearse para la catálisis. En el inciso (d) se confirma su composición basada en plata.

De estas imágenes y aquellas presentadas junto a los análisis químicos anteriores, se puede concluir que el tamaño y la morfología de las partículas de Ag varían en función del pH. Aunque en general las partículas muestran una constitución esférica, los componentes en su superficie varían en forma siendo cada vez más esféricos e individuales al incrementar el pH, lo cual genera una rugosidad progresiva en la partícula. Otro rasgo es que la porosidad que se tiene claramente a valores de pH menores o más ácidos va desapareciendo y el tamaño global de la partícula va disminuyendo. En todo caso las estructuras en la superficie se van apilando al azar en las partículas de Ag, formando un relieve y rugosidad que pueden proporcionarles sitios activos para ciertas propiedades que pueden ser utilizadas en la catálisis. Con estos resultados, podemos aseverar que con el cambio en el pH de esta reacción

se modificó la morfología de las partículas de plata, y se obtuvo una superficie muy porosa, la cual hace que sus propiedades sean específicas para ser utilizada en varios procesos de adsorción de especies.



**Figura 4. 6** Micrografías registradas por MEB de los productos a pH 9 a diferentes ampliaciones a) 1000 X, b) 40,000 X, c) 100,000 X y d) análisis químico (EDS).

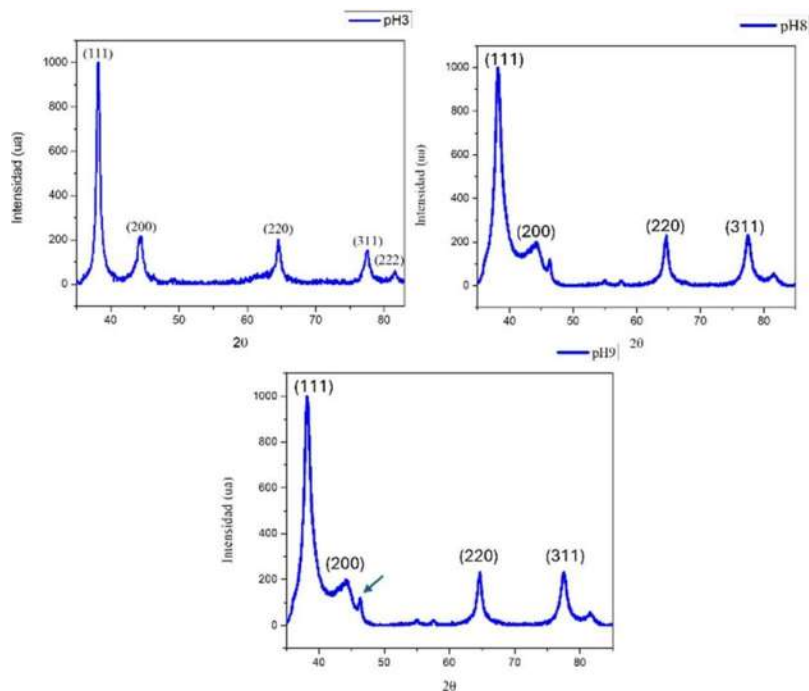
### 4.3 Difracción de rayos X

Para conocer los datos estructurales de los productos bio sintetizados empleando el extracto acuoso de *Sedum Prealtum*, se empleó la técnica de caracterización, de difracción de rayos X. En la figura 4.7 se presentan los patrones de difracción, registrados para las muestras sintetizadas tanto a pH ácido; (a) pH 3, como para pH básico; (b) pH8 y (c) pH 9.

De los patrones se observa, en forma general, reflexiones intensas y ensanchadas lo que significa baja cristalinidad, ya confirmada anteriormente mediante espectroscopia de UV-vis, de la cual se identificó el pico de SPR que aparece solo si hay confinamiento cuántico. Indistintamente los patrones de DRX, muestran una distribución angular con picos que se ubican aproximadamente en los ángulos: 39.6, 46.1, 67.3 y 81.3°, que corresponden

respectivamente a los planos cristalinos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0), y (3 1 1), del sistema cristalino *fcc* de la plata identificada por medio de la tarjeta # 99-101-3078, del comité conjunto de estándares de difracción de polvo (JCPDS).

Este resultado prueba la obtención del sólido cristalino, plata, utilizando como agente reductor el extracto vegetal de *Sedum prealtum* por medio de la reducción de la sal precursora  $\text{AgNO}_3$ . Al mismo tiempo, se observa de los patrones correspondientes a los pH básicos reflexiones pequeñas entre los 45 y 60 °, las cuales se indexan con la estructura cúbica del cloruro de plata ( $\text{AgCl}$ ) cuyo parámetro de red es  $a=5.5491 \text{ \AA}$ . Se reconoce que esta contaminación de la muestra aparece como resultado de pequeñas cantidades de cloro en el agua, ya que un análisis de EDS, efectuado a la planta no arroja la presencia de cloro en su composición. También es importante recalcar que el cloruro de plata solo se forma para cuando fueron utilizados pH básicos. Aunque este resultado afecta la pureza de las partículas, otros investigadores lo reportan y lo incluyen en las propiedades del sólido formado.



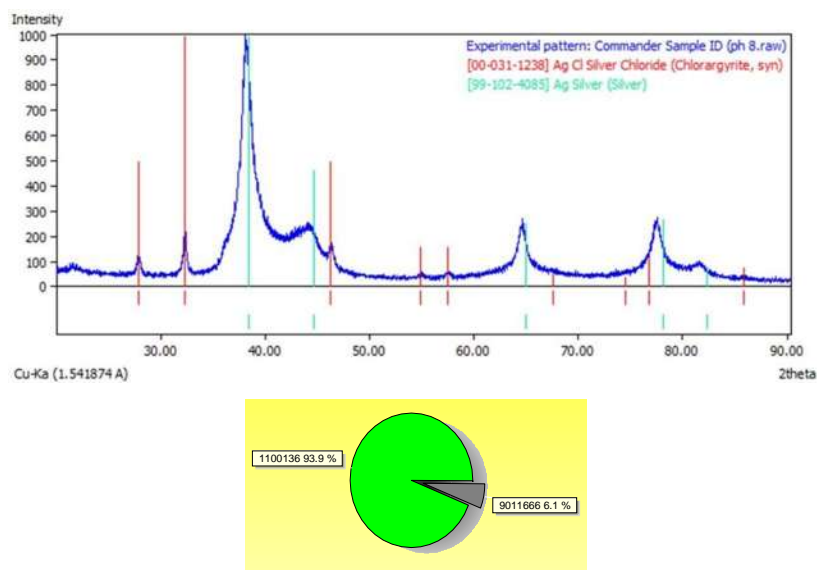
**Figura 4. 7** Difractogramas de DRX de los diferentes valores de pH 3, 8 y 9.

Dado que la precipitación de  $\text{AgCl}$  es muy espontánea y se ve muy afectada por la presencia de estas pequeñas cantidades de cloro, es importante su ausencia en los pH ácidos. Por otro lado, no hay una pérdida de la plata sino su coprecipitación desde el sistema de reacción.

La figura 4.8 presenta la indexación de las tarjetas de manera ilustrativa en la muestra a pH 8 utilizando el programa muestra Xpert Highscore. Puede verse claramente que las líneas azules de la tarjeta JCPDS, se superponen en cada pico de difracción indicando que el patrón corresponde a la plata cúbica *fcc*. Mientras que las líneas rojas hacen lo mismo correspondiendo a la segunda fase existente nombrada cloruro de plata.

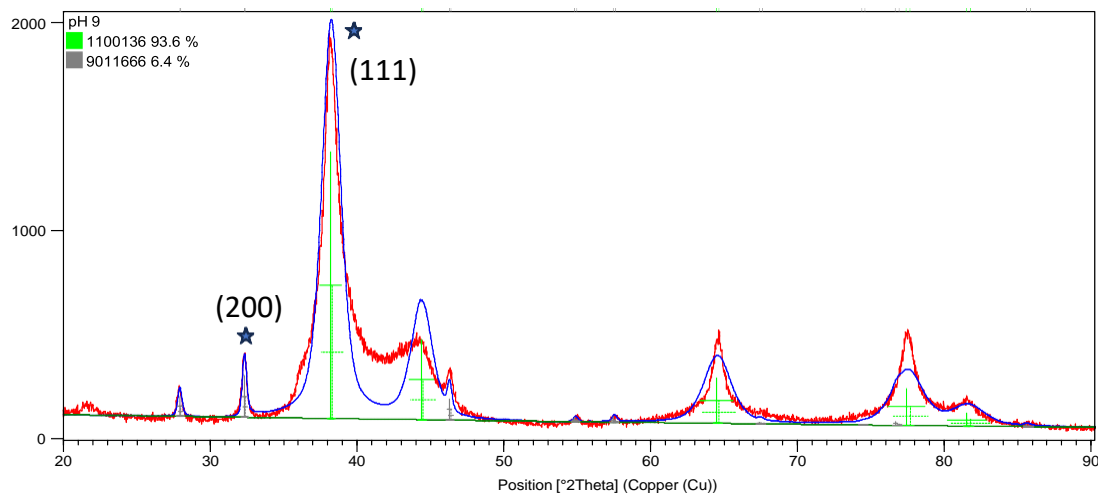
Una información importante que podemos obtener de este patrón es la cantidad presente de la segunda fase, esto lo podemos lograr mediante un software de cuantificación de fase. De esta manera la figura anexa, corresponde al ajuste de los datos de difracción mediante refinamiento Rietveld utilizando el mismo software antes mencionado. Como se aprecia el cloruro de plata se presenta en un porcentaje de 6.1 %. Evidentemente, desde el patrón de difracción es imposible medir de manera directa la presencia de ambas fases por la influencia de los factores de dispersión de rayos X distintos en cada una de ellas, por lo tanto, debe utilizarse un software que contemple esta información.

Al mismo tiempo la figura 4.9 presenta la información obtenida de la muestra analizada a pH 9, observamos en la parte superior izquierda el resultado obtenido de la cuantificación de fase utilizando un procedimiento Rietveld, resultado de esta figura.



**Figura 4. 8** Indexación de manera ilustrativa y cuantificación de las fases presentes en la muestra.

En el proceso, se comparan las intensidades relativas de los planos (111) de la fase cúbica de plata y (200) del cloruro de plata. Esos planos son marcados en la figura.



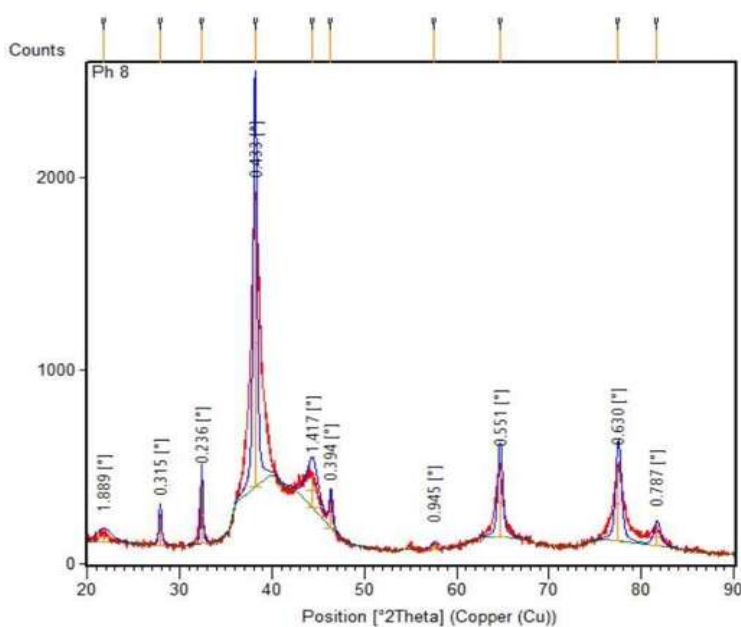
**Figura 4. 9** Difractogramas que presenta la información obtenida de la muestra analizada a pH 9.

Otras características que se derivan del patrón de difracción son el corrimiento y ensanchamiento de los picos, más acentuados en la plata, lo cual quiere indicar que los cristales de esta fase en primera instancia pueden ser de tamaño muy pequeño y de valores del parámetro de red distintos.

La figura 4.9 muestra una estimación de los picos en el patrón de difracción anterior (Fig. 4.8), en donde se logra ver el ancho a la altura media del pico (FWHM) calculado con el programa anterior. Mientras que la figura 4.10, muestra el patrón de difracción mostrando las posiciones angulares de los picos. Por los valores similares, solo en los planos (111), (220) y (311), se puede estimar el tamaño de cristal con la ecuación de Debye-Sherrer (Ec. 1) para conocer el tamaño promedio del cristal, cuando este es muy pequeño:

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

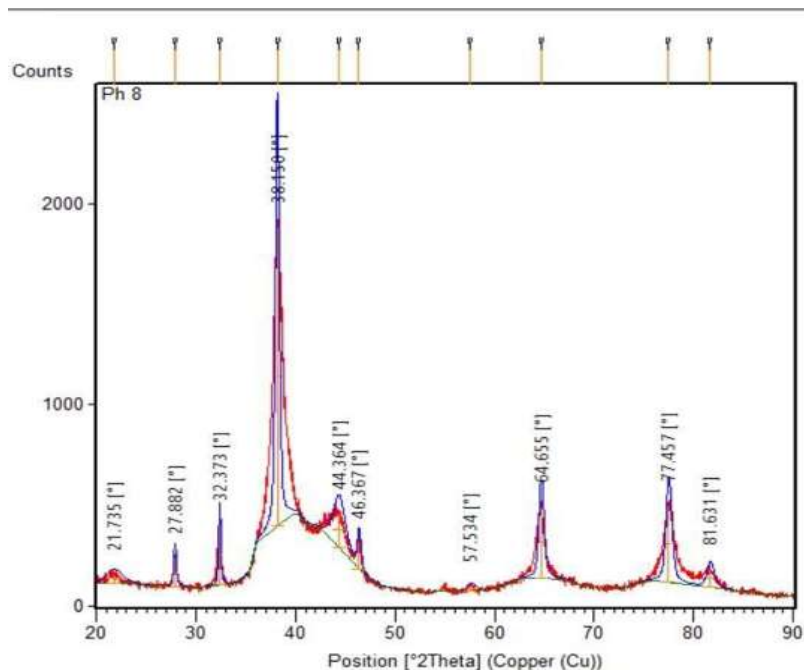
Donde  $D$ ; es el tamaño promedio del cristal en nm o  $\text{\AA}$ ,  $\lambda$ , corresponde a la longitud de onda del ánodo del tubo de rayos X = 1.5406  $\text{\AA}$ ,  $K$  es llamada constante de Sherrer, la cual depende de la forma de los cristalitos, que para los sistemas cúbicos es  $K = 0.9$ ,  $\theta$  es el ángulo del pico de difracción o los picos de difracción de donde se obtiene  $\beta$ , que es el ancho a la altura media del pico (FWHM) en radianes y que representa el desorden reticular causado por el micro estrés de un cristal pequeño el mismo que se ensancha por efectos de interferencia constructiva, lo que demuestra un tamaño de cristal nanométrico y variaciones en las constantes de red con respecto a las ideales.



**Figura 4. 10** FHHM medido con el software de cálculos de la estructura fina.

#### 4.4 Pruebas de reducción de colorantes

Las nanoestructuras de Ag presentan grandes cualidades como catalizadores, esta gran propiedad se ve aplicada en el campo de la industria textil como reductor de colorantes de telas que se utilizan en esta industria. La figura 4.12 a-b muestran los espectros de UV-VIS de las pruebas de reducción del colorante azul de metileno por medio de las nanoestructuras de pH 3.



**Figura 4. 11** Posiciones angulares medidas con el software de caculos de la estructura fina.

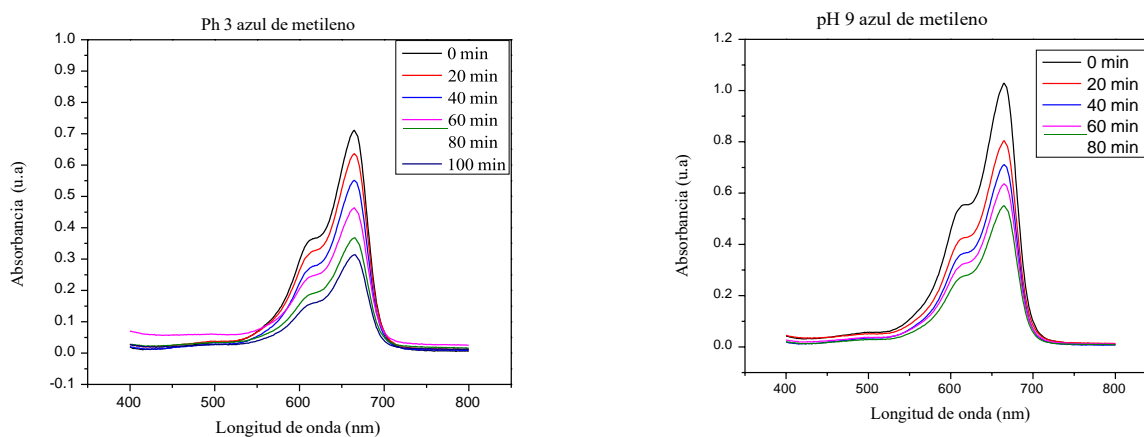
La tabla 1 muestra las estimaciones obtenidas con esos 3 picos de difracción para las muestras estudiadas a pH diferentes.

Tabla 1. tamaño de cristal estimado mediante la Ec. 1.

Muestra	FWHM [ $^{\circ}$ ]	Posición angular $2\Theta$	Tamaño de cristal (A)	a (A)
Ph 3	0.402	38.10	191	4.17
Ph 8	0.433	38.15	195	4.20
Ph 9	0.444	38.15	190	4.25

Se puede observar del inciso a) de la Fig. 4.12 que se realizó la medición de la reducción del colorante azul de metileno solamente con las nanoestructuras de pH 3, esta redujo su absorbancia de 1 a 0.3, demostrando que las nanoestructuras de Ag pueden reducir al colorante azul de metileno. Mientras que en el inciso b podemos observar la medición de la reducción del mismo colorante, pero esta vez agregando las nanoestructuras de Ag a un pH 9 donde se observa que su absorbancia pasa de 1 a 0.5. Estos resultados efectivamente muestran, que las nanoestructuras de plata pueden utilizarse para reducir colorantes tóxicos.

No obstante, el porcentaje de reducción fue relativamente bajo, 55% y 70%, respectivamente, que podría mejorar al agregar, por un lado, más cantidad del catalizador o bien un catalizador auxiliar como el ácido ascórbico. Estas ideas provienen de investigaciones anteriores en las cuales se ha logrado obtener hasta un 95% de reducción.



**Figura 4. 12** Espectrogramas de UV-VIS de la reducción de colorante azul de metileno con las nanoestructuras de pH 3 y pH 9.

#### 4.5 Pruebas antibacterianas

Una de las propiedades más importantes de las nanoestructuras metálicas de Ag, es su actividad antibacteriana aplicada en el campo de la biomedicina dentro de la nanotecnología, las cuales, además, se han utilizado para la liberación de fármacos, terapia génica, síntesis de nuevos medicamentos, detección de tumores celulares, entre otras. La figura 4.13 a-d muestra los antibiogramas obtenidos con las bacterias *E. coli* gram-negativa y *S. aureus* gram-positiva utilizando el método de Kirk-Bauer, en contacto con diferentes soluciones de nitrato de plata, extracto y nanoflores de Ag. Para conocer el efecto de las nanoestructuras se analizó en primer lugar la sal precursora ( $\text{AgNO}_3$ ), a la concentración de 10 mM, marcados en las figuras como sal 1 y sal 2 respectivamente, en donde, los halos de inhibición fueron los más grandes en ambas bacterias y pHs, situación que ha sido ancestralmente reportada para las sales de plata, aunque es aquí utilizada para su comparación con las nanoestructuras de plata.

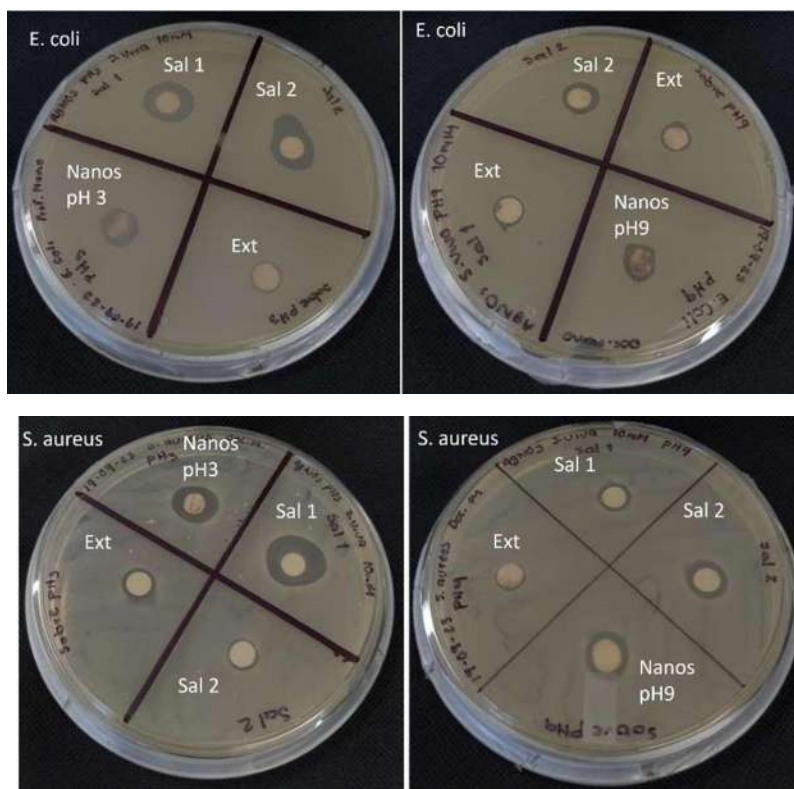
Además, se analizó el extracto, marcado en los antibiogramas como “ext”, con el cual se realizaron las nanoestructuras de plata. Como se aprecia, en cualquiera de los experimentos el extracto genera un pequeño halo de inhibición de aproximadamente 7 mm, lo cual indica que el mismo tiene un comportamiento antibacterial inesperado en nuestros resultados.

En la misma figura, la columna de la izquierda presenta los resultados correspondientes a la bacteria *E. coli* y a la derecha los de *S. aureus*. Sin embargo, las figuras de la columna de la derecha corresponden a la interacción con la bacteria *S. aureus* en presencia de las nanoestructuras de plata. Además, se analizó el papel filtro, empleado, como disco de control, no mostrado que no presentó alguna interacción con las bacterias. De los discos correspondientes a la sal de plata ( $\text{AgNO}_3$  10 mM) se muestra un halo de inhibición de aproximadamente 15 mm, mientras que, para los diversos pH hubo halos de inhibición que en general, fueron más pequeños de aproximadamente de 12 mm comparados con los halos de la sal de plata, cuyo valor es aceptable considerando la misma concentración utilizada de las nanoestructuras de plata (10 mM) en comparación con la sal precursora.

Al comparar el resultado del pH ácido con el básico, cuando se utilizaron las nanoesferas de plata, los halos más grandes se presentaron para la bacteria *S. aureus*, de aproximadamente 14 mm, mientras que para *E. coli* fueron de 12 mm. Al mismo tiempo el efecto antibacterial fue ligeramente mayor para un pH ácido en ambas bacterias. Esto indica que estas nanoestructuras en comparación a las nanopartículas de plata también pueden ser utilizadas como agentes antimicrobianos contra *E. coli* y *S. aureus*, contando con un mayor efecto a pH ácidos. Además, la plata combinada con AgCl fue menos eficiente para esta función, lo cual es esperado, debido obviamente a que su combinación con el Cl debe generar menos iones de Ag libres.

Otro ensayo realizado fue la concentración mínima inhibitoria (MIC, por sus siglas en inglés), que se mide habitualmente in vitro para las partículas, hay algunas variantes del método, pero el más común es el de Kirk-Bauer con dilución, en donde por el cual se ha establecido como un estándar que evalúa la susceptibilidad antimicrobiana; además de confirmar resistencias inusuales, da respuestas definitivas cuando el resultado obtenido por otros métodos es

indeterminado. Se evaluó este efecto para las esferas de plata a 1, 5, y 15 ppm simultáneamente para *S. aureus* y *E. coli*. Al probar esa concentración agregándola al medio con agar, se desarrollan las colonias de bacterias en el área donde se colocó la gota con solución, indicativo que no hay actividad bactericida de las partículas. Entonces estos resultados indican que la bacteria *S. aureus* presenta una MIC menor, siendo un proceso bactericida más sensible en la presencia de las esferas.

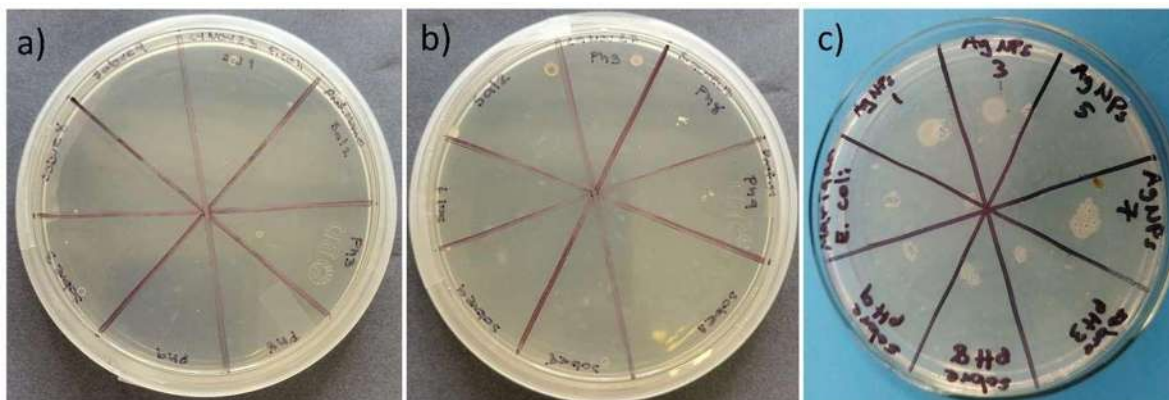


**Figura 4. 13** Antibiogramas del efecto de las nanoestructuras de plata para *E coli*; a) pH3 y b) pH9; *S. aureus* c) pH3 y d) pH9.

#### 4.6 Síntesis de nanoestructuras de plata usando *S. Prealtum*

De acuerdo con estos resultados, las biomoléculas presentes en el extracto de la planta *S. Prealtum* se pueden utilizar para reducir iones metálicos, en particular de Ag, a nanoestructuras en un solo paso y a temperatura ambiente. Estas nanoestructuras son eficientes como agentes activos antibacteriales y para la reducción de colorantes orgánicos.

Se utilizaron las principales técnicas para caracterizar las nanoestructuras de plata tales como UV-vis, FTIR, SEM, EDS y XRD [37].



**Figura 4. 14** Concentración mínima inhibitoria para las esferas de plata a 1, 5, y 15 ppm simultáneamente para a) *S. aureus* y b) *E. coli*, c) mínima inhibitoria

Los resultados de MEB indicaron novedosas nanoestructuras sintetizadas por esta vía, que presentan una porosidad abierta en su superficie, adecuada tanto para su actividad catalítica como antibacterial. La catálisis ocurre solamente en la superficie de las nanoestructuras metálicas, por lo tanto, el aumento de la superficie disponible aumentará grandemente la eficiencia de la degradación.

La síntesis de iones metálicos a metal base con extractos de plantas es bastante rápida, de bajo costo, se lleva a cabo fácilmente a temperatura y presión ambiente y se puede escalar fácilmente. Este método, es ambientalmente benigno con el medio ambiente de partida y los productos de reacción son desechables fácilmente. Los agentes reductores involucrados incluyen diversos metabolitos vegetales solubles en agua, por ejemplo, alcaloides, compuestos fenólicos, y terpenoides. Este método surge como alternativa a los métodos convencionales de reducción química que utilizan sustancias más caras y algunas de ellas son tóxicas y no benignas con el medio ambiente.

El control de la morfología de las nanoestructuras fue evidente encontrando tamaños que oscilaron entre 1 y 4 micrones. Es importante mencionar, que la falta de precisión en la cantidad de los agentes reductores que participan puede afectar la morfología de las nanopartículas, no obstante, en este trabajo, las nanoestructuras obtenidas son grandes

alcanzando los micrones, y para estos tamaños las partículas tienden a ser homogéneas según la técnica de La Mer (ver Fig. 5.1), en donde el tamaño se iguala con el envejecimiento [38]. La formación de nanopartículas se estudió mediante espectroscopia UV-vis. El progreso de la reacción de reducción de las nanoestructuras de plata se confirmó por la aparición de la característica banda de absorción del plasmón centrada alrededor de 450 nm atribuida a la absorción por átomos de Ag.

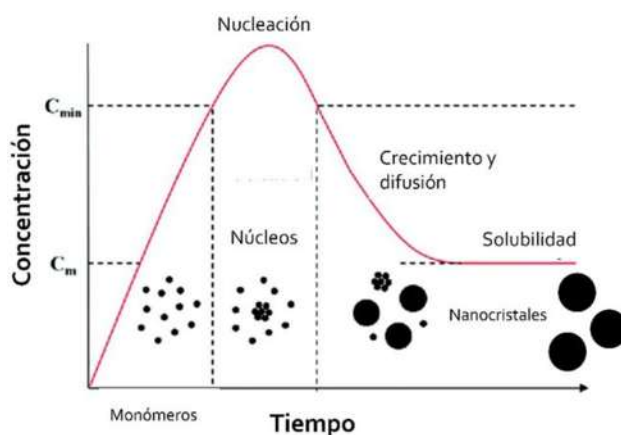
Además, la determinación de la estructura de los sólidos producidos fue mediante difracción de rayos X. Se encontraron en los difractogramas las principales reflexiones cristalográficas de la plata FCC, tales como, (111), (200), (220), (311), (331) y (222), que confirmaron la reducción de los iones de plata, a plata sólida mediante el extracto de *S. prealtum*.

#### **4.7 Modelo de crecimiento de las nanoestructuras de plata**

Las imágenes de microscopía que se ilustran en las Figs. 4.4 - 4.6, demuestran la evolución de la morfología de las nanoflores con el pH de reacción. Esta evolución estructural, también se caracterizó y confirmó con MEB. Para el crecimiento de las nanoestructuras, en primer lugar, existen 2 etapas fundamentales de acuerdo con el modelo de crecimiento de La Mer (ver Fig. 4.15), sugerido para el crecimiento de un sólido con carácter nano y submicrónico, que son la nucleación, y crecimiento, que para el control de las características del nanosólido formado, la nucleación se prefiere a una velocidad rápida y el crecimiento a una velocidad lenta.

No obstante, para el caso de las nanoflores además de estos pasos, debemos dirigirnos al crecimiento de un sólido de estas características. Primero, es posible que durante el crecimiento de las nanopartículas una vez agotados los pasos de su nucleación homogénea y crecimiento, las mismas actúan como semillas de crecimiento para formar las nanoestructuras de Ag, creciendo por coalescencia. La agregación de estas partículas inicialmente, forman nuevos núcleos de crecimiento heterogéneo los cuales presentan altas energías superficiales, muy posiblemente esas NPs se aglomeran rápidamente formando un núcleo cercano a una esfera. Más tarde, se presenta un crecimiento epitaxial de las semillas de cristal que por difusión se encuentran formando las nanohojas delgadas que crecen y seguirán creciendo subsecuentemente hasta que la fuente de NPs se agote. Esta última parte, sería acordé con la

espontaneidad de crecimiento de la nanoestructura, no obstante, se ha demostrado [39] que los compuestos surfactantes o ligantes, pueden dirigir un crecimiento anisotrópico por la deposición de sus grupos funcionales hidrofílicos, sobre la superficie de ciertos planos afines químicamente a ellos, bloqueando el crecimiento sobre los mismos y permitiendo el crecimiento en otros planos para obtener diferentes tipos de morfologías.

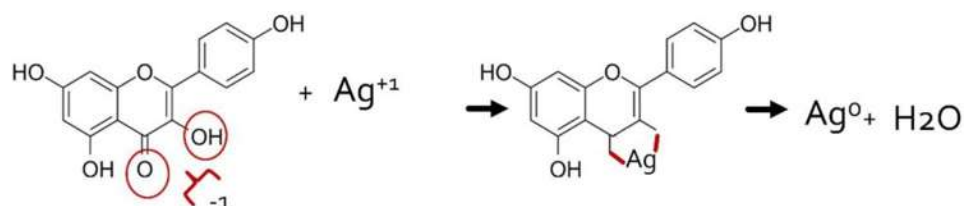


**Figura 4. 15** Modelo de crecimiento de La Mer para nanopartículas [40].

#### 4.8 Mecanismo de Reducción

De acuerdo con los resultados anteriores de espectroscopía, los polifenoles se perfilan como los principales fitoquímicos del extracto de *S. praealtum* que participan en la reducción y estabilización, por lo que se esperaría un descenso en el valor de pH del sistema de síntesis después de la reacción. Según los resultados de FTIR, se determina que los polifenoles son responsables de la reducción de los iones de Ag. Además, existen varios estudios fitoquímicos de la planta *S. praealtum* (41), en dónde se ha demostrado la existencia de alcoholes, flavonoides, ácidos carboxílicos, taninos y glucósidos. De estos estudios se deriva también, que existen cantidades importantes del compuesto flavonoide Kaempferol (42). Basados en la presencia de este compuesto se puede derivar un posible mecanismo de la reducción de las nanoflores de plata, expresado en el esquema 1. De este esquema se aprecia, que los iones de plata se pueden reducir dada la presencia de los grupos OH y O cuya carga en la figura es parcialmente negativa, atrayendo los iones de plata positivos hacia su

estructura. Los iones  $\text{Ag}^+$  forman complejos intermedios con las moléculas del flavonoide (llamados también quelatos) a través de sus grupos de oxígeno, que posteriormente junto a otras moléculas reductoras, estos grupos se oxidan completándose la reducción de los iones de  $\text{Ag}^+$  a  $\text{Ag}^0$  y agua. Posteriormente, crecen a través de la agregación de partículas formadas que se van depositando en la superficie, generando un crecimiento anisotrópico formando los AgNFs. Otros investigadores han señalado un mecanismo similar de crecimiento de este tipo de nanoestructuras (43). [59, 94, 95].



Esquema 1. Proceso tentativo de la reducción de los iones de plata a NPs (43).

#### 4.9 Influencia del pH en la morfología de las nanoestructuras de plata.

Como antecedente encontramos que, de los resultados de SEM se estableció que el aumento del pH en la reacción sintética da como resultado un decremento en el tamaño de las nanoestructuras formadas. Aunque es difícil expresar la distribución de tamaños en la nanoestructura formada por NPs, las cuales son la parte nanométrica expresada en los espectros de Uv-vis, a partir del semiancho del pico, dado que, a pH ácido, no se aprecia una morfología muy clara de partículas agregadas, mientras las obtenidas a pH básico presentan a estas sobresaliendo de la nanoestructura. Esto es, a medida que el pH aumentó se encontró una mayor rugosidad en las AgNFs (ver imágenes 4.4 y 4.6) y menos porosidad, ya que las NPs se encuentran agregándose en la superficie de la nanoestructura ensamblada, aun no adsorbidas por la misma, esto significa que se pueden apreciar diferentes tamaños, lo cual influye en el semiancho del espectro de Uv-vis, mientras que el ensamble a pH ácido es menos texturizado, por lo que la banda SPR fue menos ancha.

Al conocer el valor inicial del pH del extracto acuoso siendo aproximadamente de 5.46, y después de efectuada la reacción 4.69, se determina un  $\Delta\text{pH}=0.76$ . lo cual indica que hay un decremento de este y aumento en los iones hidrógeno. Cuando los iones de plata han sido

reducidos, se desprenden iones hidrogeno ( $H^+$ ) como subproducto. Esto significa que, al generarse esos iones, la velocidad de reacción debe ser más lenta a pH ácidos que básicos, por lo tanto, esto explica porque a mayor pH las nanoestructuras son más grandes, en las que se aprecian incluso las AgNp agregándose de acuerdo con el modelo propuesto a pH ácidos. En este caso, esto también afecta la porosidad ya que a mayor difusión se encontró mayor porosidad o bien a menor velocidad las flores no se han formado cabalmente y por tanto son más compactas y presentan menos poros.

#### **4.10 Mecanismo antibacteriano de las nanopartículas de plata**

Se han propuesto varios mecanismos para explicar los efectos antibacterianos de las nanopartículas de plata. No obstante, el mecanismo exacto aún no ha sido determinado por completo. Se plantea que las nanoestructuras liberan continuamente iones de plata que penetran en la membrana celular alterando las funciones internas de las bacterias causando su muerte celular.

Los iones de plata son atraídos electrostáticamente debido a su afinidad con las proteínas ricas en azufre, debido a esto se adhieren a la pared celular, lo que causa su permeabilidad a través de la membrana citoplasmática. Las enzimas respiratorias de las bacterias tienden a desactivarse generando especies reactivas de oxígeno (ROS) e interrumpiendo la producción de trifosfato de adenosina. Se menciona que las ROS, son un agente que provoca la alteración y la modificación del ácido desoxirribonucleico, ya que el azufre y el fósforo son componentes importantes del ADN evitando la replicación de este y la reproducción celular para provocar la extinción de los microorganismos. Debido a que la pared celular de las bacterias gram-negativas es más estrecha los iones de plata pueden penetrar más fácilmente en comparación a las gram positivas, por lo tanto, estas actúan con más efectividad en la muerte celular de bacterias *S. aureus*.

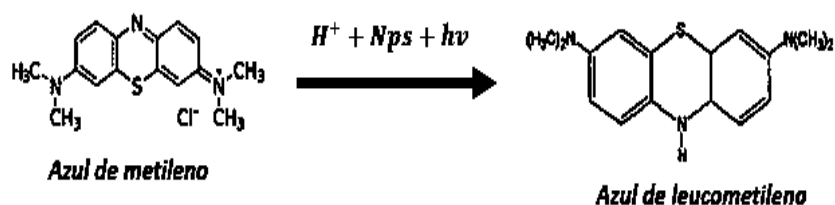
#### **4.11 Actividad catalítica de AgNFs evaluada en azul de metileno (MB)**

Una de las aplicaciones importantes de las nanopartículas metálicas es catalizar algunas reacciones que de otro modo serían inalcanzables. Es bien sabido que la actividad catalítica de las nanopartículas depende en gran medida de su composición, tamaño y forma.

Normalmente, a mayor relación superficie-volumen una mayor actividad catalítica. Es un hecho bien conocido que las AgNPs muestran una mayor actividad catalítica por su gran área superficial en la eliminación de tintes [44].

Por otro lado, el uso de MB, un tinte aromático heterocíclico, ha aumentado en los últimos años en el sector textil. Por tanto, la velocidad de degradación del color del MB se observó en presencia de las nanoestructuras de plata como catalizador bajo la luz de laboratorio, en donde se apreció una disminución del color al observar a simple vista (ver Fig. 5.2). Este resultado demuestra que, después de 60 min de reacción, se puede observar alguna degradación del MB.

La desaparición del color azul del MB en solución se atribuye a la reducción del azul de metileno que progresivamente, se convierte en una solución tendiente a incolora a azul de leucometileno (LCB). En la Figura 5.4 se indica el mecanismo de la degradación del colorante AM usando nanopartículas metálicas, degradando el colorante a una molécula menos compleja como lo es el azul de leucometileno. Se considera que los MB siendo electrofilicos, mientras que las AgNFs son nucleofilicos, por tanto, los electrones se transportan del MB. La actividad catalítica de las AgNFs se justifica por el tamaño y cantidad de los poros en los nanocristales de Ag, causado por la mayor área superficial y la mayor cantidad de átomos disponibles para la transferencia de electrones. Además, él MB se adsorbe primero en la superficie de la partícula antes de la reacción de reducción. Después de eso, las especies adsorbidas reaccionan entre sí y el último producto final se desprende de la superficie de la partícula. Por tanto, podemos decir que las AgNFs son ventajosas para su uso como nanocatalizadores. Se muestran resultados similares al utilizar AgNP biosintetizadas utilizando otros extractos. Para actuar como un catalizador eficaz, el potencial redox de las AgNFs debe encontrarse entre el potencial redox del sistema donante y el aceptor (MB) Por lo general, la actividad catalítica está relacionada positivamente con el área de superficie del catalizador. Cuando el tamaño de poro de las AgNFs disminuye, hay un decremento en el número de átomos de Ag poco coordinados que promueven la adsorción de los reactivos MB en la superficie del catalizador y dificultan la reducción. También se informaron resultados similares con otras nanoestructuras provenientes de diferentes extractos [45].



Esquema 2. Mecanismos de reducción global del azul de metileno [45].

## 5 CONCLUSIONES

1. Se sintetizaron las nanoestructuras de Ag empleando el extracto de *Sedum prealtum* y se evaluaron la capacidad antibacterial y catalítica.
2. Los resultados de microscopía electrónica de barrido indicaron nanoestructuras de plata sintetizadas en medio ácido (pH 3) y básico (pH 8 y 9).
3. Las nanoestructuras presentan tamaños entre 1 y 4  $\mu\text{m}$  con una morfología porosa tipo flor ubicando mayor porosidad a pH ácido.
4. Mediante difracción de rayos X se determinó su estructura cristalina tipo FCC.
5. La espectroscopía de UV-VIS caracterizó el SPR típico de nanoestructuras de plata.
6. Mediante espectroscopía de infrarrojo, se determinó que son los polifenoles y los grupos amino, los responsables de la reducción de los iones de plata, mientras que los grupos carboxílicos prevalecen en las nanoestructuras indicando su responsabilidad en la morfología de estas.
7. A través de los ensayos catalíticos se evaluó de las nanoestructuras su efectividad en la reducción del colorante azul de metileno, siendo del 70% para las obtenidas en condiciones ácidas.
8. Se determinó la actividad antibacteriana in vitro, para las bacterias *E. coli* y *S aureus*, siendo mejor en condiciones ácidas.

## 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] 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
- [3] 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
- [4] 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
- [5] 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.
- [6] DEL CARMEN BELTRÁN-OROZCO M, RASCÓN J J O, CEDILLO F D, TORRES R S. Chemical composition and antioxidant ability of the crude extract of *Sedum praealtum* flowers. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 25(10).778, 2013.
- [7] Mendoza Uribe, G., & Rodríguez-López, J. L. (2007). La nanociencia y la nanotecnología: una revolución en curso. *Perfiles latinoamericanos*, 14(29), 161-186.
- [9] Villarreal, E. N. (2005). Nanotecnología: la nanocatálisis y sus aplicaciones. *CIENCIA UANL*, 8(2), 165.

- {10] Quintili, M. (2012). Nanociencia y Nanotecnología... un mundo pequeño. *Cuadernos del Centro de Estudios en Diseño y Comunicación. Ensayos*, (42), 125-155.
- [11] Uribe, G. M., & López, J. L. R. (2007). La nanociencia y la nanotecnología: una revolución en curso. *Revista Perfiles Latinoamericanos*, 14(29), 161-186.
- [12] Solomon, S. D., Bahadory, M., Jeyarajasingam, A. V., Rutkowsky, S. A., Borito, C., & Mulfinger, L. (2007). Nanoparticulas of Silver. *J. Chem. Ed*, 2, 322.
- [13] Robles-García, M. A., Rodríguez-Félix, F., Márquez-Ríos, E., Barrera-Rodríguez, A., Aguilar-Martínez, J., & Del-Toro-Sánchez, C. L. (2014). Aplicaciones biomédicas, textiles y alimentarias de nanoestructuras elaboradas por electrohilado. *Biotecnia*, 16(2), 44-52.
- [14] Almendárez-Camarillo, A., & González-Calderón, J. A. (2011). Nanomateriales: su crecimiento, caracterización estructural y tendencias. Nagarajan, R., & Hatton, T. A. (Eds.). (2008). *Nanoparticles: synthesis, stabilization, passivation, and functionalization*. American Chemical Society.
- [15] Gutiérrez, W. C. E., Mendoza, A. D., Mondragón, G. G., Pérez, H. R., Fernández, G. M. E., Pérez, A. M., ... & Ángeles, C. C. (2010). Crecimiento controlado de estructuras unidimensionales de plata: síntesis, caracterización y aplicaciones. *Contribuciones del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares al avance de la Ciencia y la Tecnología en México*.
- [16] Pérez Sánchez, L. F. (2021). Técnicas de autoensamblado en Nanociencia.
- [17] Luo, C., Zhang, Y., Zeng, X., Zeng, Y., & Wang, Y. (2005). The role of poly (ethylene glycol) in the formation of silver nanoparticles. *Journal of colloid and interfacescience*, 288(2), 444-448.
- [18] Tran, Q. H., & Le, A. T. (2013). Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 4(3), 033001
- [19] Nasrollahzadeh, M., Mahmoudi-Gom Yek, S., Motahharifar, N., & Ghafori Gorab, M. (2019). Recent developments in the plant-mediated green synthesis of Ag-based nanoparticles for environmental and catalytic applications. *The Chemical Record*, 19(12), 2436-2479.
- [20] M. Okuda, Y. Kobayashi, K. Suzuki, K. Sonoda, T. Kondoh, A. Wagawa, A. Kondo, H. Yoshimura, *Nano Lett.* 2005, 5, 991–993;

- [21] R. K. Selvan, C. O. Augustin, L. B. Berchmans, R. Sarawathi, Mater. Res. Bull. 2003, 38, 41–54.
- [22] Téllez, G. L., Luckie, R. A. M., Mejía, O. F. O., Mendieta, V. S., Reyes, J. T., Guerrero, V. V., & Néstor, A. R. V. (2013). *nanoestructuras metálicas*. Reverté.
- [23] KALLEL F, CHAARI F, BOUAZIZ F, BETTAIEB F, and CHAABOUNI S E. Sorption and desorption characteristics for the removal of a toxic dye, methylene blue from aqueous solution by a low cost agricultural by-product. Journal of Molecular Liquids. 219,279-288,2016
- [24] CORTAZAR-MARTÍNEZ A, GONZÁLEZ-RAMÍREZ C, CORONEL-OLIVARES C, ESCALANTE-LOZADA J, and VILLAGÓMEZ-IBARRA J. Biotecnología aplicada a la degradación de colorantes de la industria textil. Universidad y ciencia. 28,187-199,2012.
- [25] GRABOWSKA E, MARCHELEK M, KLIMCZUK T, TRYKOWSKI G and ZALESKA-MEDYNSKA A. Noble metal modified TiO<sub>2</sub> microspheres: Surface properties and photocatalytic activity under UV–vis and visible light. Journal of Molecular Catalysis A:Chemical.
- [26] REDDY D A, CHOI J, LEE S and KIM T K. Controlled synthesis of heterostructured Ag@AgI/ZnS microspheres with enhanced photocatalytic activity and selective separation 117 of methylene blue from mixture dyes. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers.66,200-209,2016.
- [27] PRADHAN N, PAL A and PAL T. Catalytic reduction of aromatic nitro compounds by coinage metal nanoparticles. Langmuir. 17 5,1800-1802,2001.
- [28] (D1) Tian, Y., Liu, H., Chen, Y., Zhou, C., Jiang, Y., Gu, C., ... & Zhou, J. (2019). Seedless one-spot synthesis of 3D and 2D Ag nanoflowers for multiple phase SERS-based molecule detection. Sensors and Actuators B: Chemical, 301, 127142.
- [29] Chen, J., Liu, C., Huang, Y. T., Lee, H., & Feng, S. P. (2018). Study of the growth mechanisms of nanoporous Ag flowers for non-enzymatic glucose detection. *Nanotechnology*, 29(50), 505501.
- [30] Li, H., Yan, S., Deng, C., Dou, S., & Ren, X. (2021). Synthesis and characterization of Ag nanoflowers with different morphologies. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 1040, No. 1, p. 012015). IOP Publishing.

- [31] KP, F., Singh, S., & Baik, S. (2016). Hierarchically-structured silver nanoflowers for highly conductive metallic inks with dramatically reduced filler concentration. *Scientific reports*, 6(1), 1-9.
- [32] (D5) Chang, Q., Shi, X., Liu, X., Tong, J., Liu, D., & Wang, Z. (2017). Broadband plasmonic silver nanoflowers for high-performance random lasing covering visible region. *Nanophotonics*, 6(5), 1151-1160.
- [33] Li, H., Xiong, Z., Shi, X., Gao, F., Peng, H., & Jia, Y. (2021). Controllable ionic self-assembly of polyoxometalate and melamine for synthesis of nanostructured Ag. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 623, 126732.
- [34] (D7) Mostafa, A. M., Mwafy, E. A., Awwad, N. S., & Ibrahim, H. A. (2021). Catalytic activity of Ag nanoparticles and Au/Ag nanocomposite prepared by pulsed laser ablation technique against 4-nitrophenol for environmental applications. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 32(9), 11978-11988.
- [35] Rani, P., Ahmed, B., Singh, J., Kaur, J., Rawat, M., Kaur, N., ... & Lee, J. (2022). Silver nanostructures prepared via novel green approach as an effective platform for biological and environmental applications. *Saudi journal of biological sciences*, 29(6), 103296.
- [36] Torres-Gómez, N., Ávila-Avilés, R. D., & Vilchis-Nestor, A. R. (2020). Biosíntesis y caracterización de nanoestructuras por microscopía electrónica. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 13(25), 29-43.
- [37] Parsons, J. G., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2007). Use of plants in biotechnology: synthesis of metal nanoparticles by inactivated plant tissues, plant extracts, and living plants. *Developments in environmental science*, 5, 463-485.
- [38] Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology advances*, 31(2), 346-356.
- [39] Guo, Z., Lang, J., Zhang, H., Yang, C., Lin, S., & Wu, H. (2022). Facile and Scalable Synthesis of Ag Nano-Flowers that Can be Sintered Below 120° C. *Advanced Materials Interfaces*, 9(26), 2200611.
- [40] Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology advances*, 31(2), 346-356.
- [41] Zlokarnik, M. (2006). *Scale-up in chemical engineering*. John Wiley & Sons.

- [42] Trinh, V. T., Nguyen, T. M. P., Van, H. T., Hoang, L. P., Nguyen, T. V., Ha, L. T., ... & Nguyen, X. C. (2020). Phosphate adsorption by silver nanoparticles-loaded activated carbon derived from tea residue. *Scientific reports*, 10(1), 3634.
- [43] Yin, W., Liu, M., Zhao, T. L., Qian, F. J., Li, H., Yao, Q. Z., ... & Zhou, G. T. (2020). Removal and recovery of silver nanoparticles by hierarchical mesoporous calcite: Performance, mechanism, and sustainable application. *Environmental Research*, 187, 109699.
- [44] Contreras-Bermúdez, R. E. (2009). Degradación fotocatalítica de azul de metileno en aguas residuales utilizando TiO<sub>2</sub> como catalizador. *Revista latinoamericana de recursos naturales*, 5(2), 86-91.
- [45] Moreno, A., Figueroa, D., & Hormaza, A. (2012). Adsorción de azul de metileno sobre cascarilla de arroz. *Producción+ limpia*, 7(1), 9-18.