



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN  
EN METALURGIA Y MATERIALES**

---

---



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

**“Propiedades catalíticas e incremento en la señal Raman (SERS) de nanopartículas  
monometálicas (Au, Ag) y autoensambles (Ag/AgCl) obtenidas mediante síntesis verde”**

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

Presenta:

**M. en C. RODRIGO HERRERO CALVILLO**

Director de Tesis:

**Dr. GERARDO ANTONIO ROSAS TREJO**

Codirector de Tesis:

**Dr. RODRIGO ALONSO ESPARZA MUÑOZ**

*Morelia, Michoacán, octubre de 2020.*

---

## AGRADECIMIENTO

### **Personas:**

*A mis padres Ana Calvillo Paz y Luis Herrero Ferrer, y a mi hermano Luis W. Herrero Calvillo, gracias por ser mi impulso y motivación principal para la culminación exitosa de este proyecto académico y personal.*

*A mis familiares que siempre estuvieron al pendiente de mi trayectoria profesional, siempre animándome y alentándome a seguir superándome.*

*A mi director de tesis Dr. Gerardo Antonio Rosas Trejo y a mi codirector de tesis Dr. Rodrigo Alonso Esparza Muñoz, gracias por su dedicación, paciencia, apoyo y confianza durante el desarrollo de esta investigación doctoral.*

*A los integrantes del comité revisor Dr. Juan Zárate Medina, Dr. Jorge Alejandro Verduzco Martínez, Dr. Ariosto Medina Flores y Dra. Tzarara López Luke, gracias por los oportunos comentarios que ayudaron a enriquecer esta investigación doctoral.*

*A mis compañeros del grupo de trabajo, gracias por su apoyo y amistad.*

*Al M. en C. Alan Santoveña Uribe, gracias por todo el apoyo recibido para la realización de los análisis por voltamperometría cíclica.*

*Al Dr. Mario Armando Gómez Hurtado, gracias por el apoyo para la elaboración e interpretación de los resultados de espectroscopía de resonancia magnética nuclear.*

### **Instituciones:**

*Al Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales (IIMM) por proveerme de todo lo necesario para la elaboración de este proyecto.*

*A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) por ser mi casa de estudios durante mis estudios de posgrado.*

*Al Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) campus Juriquilla, por haberme abierto sus puertas para la realización de los análisis de voltamperometría cíclica.*

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico mensual durante los cuatro años de mis estudios doctorales.*

***Con amor:***

***a mis padres Luis y Ana.***

## ÍNDICE GENERAL

|                                                                                          |             |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>                                                           | <b>vii</b>  |
| <b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>                                                            | <b>xv</b>   |
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>                                                        | <b>xvii</b> |
| <b>RESUMEN .....</b>                                                                     | <b>xix</b>  |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                                                    | <b>xxi</b>  |
| <br>                                                                                     |             |
| <b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN .....</b>                                                    | <b>23</b>   |
| 1.1. Justificación .....                                                                 | 25          |
| 1.2. Objetivos.....                                                                      | 26          |
| 1.2.1. Objetivo general.....                                                             | 26          |
| 1.2.2. Objetivos particulares.....                                                       | 26          |
| 1.3. Hipótesis .....                                                                     | 27          |
| <br>                                                                                     |             |
| <b>CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....</b>                                         | <b>29</b>   |
| 2.1. Nanociencia y nanotecnología .....                                                  | 29          |
| 2.1.1. Nanopartículas de Au.....                                                         | 30          |
| 2.1.2. Nanopartículas de Ag.....                                                         | 33          |
| 2.1.3. Nanomateriales autoensamblados.....                                               | 34          |
| 2.2. Métodos de síntesis .....                                                           | 35          |
| 2.2.1. Síntesis por reducción química .....                                              | 37          |
| 2.2.2. Mecanismo de síntesis por reducción química .....                                 | 44          |
| 2.3. Química verde.....                                                                  | 52          |
| 2.3.1. Síntesis verde.....                                                               | 54          |
| 2.3.2. Síntesis verde mediante el uso de plantas.....                                    | 56          |
| 2.3.3. Síntesis verde de nanopartículas de Au mediante el uso de plantas .....           | 58          |
| 2.3.4. Síntesis verde de nanopartículas de Ag mediante el uso de plantas .....           | 61          |
| 2.3.5. Mecanismo de síntesis de nanopartículas de Au y Ag.....                           | 65          |
| 2.3.6. Síntesis verde de nanomateriales autoensamblados mediante el uso de plantas ..... | 71          |

|                                                                                                    |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 2.3.7. Mecanismo de síntesis de nanomateriales autoensamblados .....                               | 73         |
| 2.4. Aplicaciones de las nanopartículas .....                                                      | 75         |
| 2.4.1. Degradación de colorantes orgánicos.....                                                    | 75         |
| 2.4.2. Espectroscopía Raman amplificada en la superficie (SERS).....                               | 79         |
| <b>CAPÍTULO III: DESARROLLO EXPERIMENTAL .....</b>                                                 | <b>88</b>  |
| 3.1. Selección de las plantas .....                                                                | 89         |
| 3.2. Selección de los materiales .....                                                             | 90         |
| 3.3. Preparación de los extractos de las plantas .....                                             | 92         |
| 3.4. Preparación de los precursores .....                                                          | 93         |
| 3.5. Síntesis de nanopartículas de Au y Ag .....                                                   | 94         |
| 3.6. Síntesis de nanomateriales autoensamblados.....                                               | 94         |
| 3.7. Caracterización de los nanomateriales.....                                                    | 95         |
| 3.7.1. Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis).....                                           | 95         |
| 3.7.2. Difracción de rayos X (DRX) .....                                                           | 95         |
| 3.7.3. Microscopía electrónica de barrido (MEB).....                                               | 96         |
| 3.7.4. Microscopía electrónica de transmisión (MET) .....                                          | 97         |
| 3.7.5. Voltamperometría cíclica (VC).....                                                          | 97         |
| 3.7.6. Espectroscopía infrarroja con transformadas de Fourier (FTIR).....                          | 98         |
| 3.7.7. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN).....                                   | 98         |
| 3.8. Aplicaciones.....                                                                             | 99         |
| 3.8.1. Degradación de colorantes orgánicos.....                                                    | 99         |
| 3.8.2. Espectroscopía Raman amplificada en la superficie (SERS).....                               | 100        |
| <b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>                                                   | <b>102</b> |
| 4.1. Síntesis de nanopartículas de Au .....                                                        | 102        |
| 4.1.1. Síntesis de nanopartículas de Au mediante el uso de extracto de <i>L. mexicana</i> .....    | 102        |
| 4.1.2. Síntesis de nanopartículas de Au mediante el uso de extracto de <i>E. polystachya</i> ..... | 116        |
| 4.2. Síntesis de nanopartículas de Ag .....                                                        | 119        |
| 4.2.1. Síntesis de nanopartículas de Ag mediante el uso de extracto de <i>L. mexicana</i> .....    | 119        |
| 4.2.2. Síntesis de nanopartículas de Ag mediante el uso de extracto de <i>E. polystachya</i> ..... | 131        |

|                                                                                                                      |         |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 4.3. Síntesis de nanomateriales autoensamblados.....                                                                 | 137     |
| 4.3.1. Síntesis de nanomateriales autoensamblados de Ag/AgCl mediante el uso de extracto de <i>L. mexicana</i> ..... | 137     |
| 4.3.2. Síntesis de nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl mediante el uso de extracto de <i>E. polystachya</i> ..... | 145     |
| 4.4. Mecanismo de síntesis .....                                                                                     | 151     |
| 4.5. Aplicaciones.....                                                                                               | 156     |
| 4.5.1. Degradación de colorantes orgánicos.....                                                                      | 156     |
| 4.5.2. Espectroscopía Raman amplificada en la superficie (SERS).....                                                 | 165     |
| <br><b>CAPÍTULO V. CONCLUSIONES .....</b>                                                                            | <br>171 |
| <br><b>RECOMENDACIONES Y TRABAJO FUTURO .....</b>                                                                    | <br>175 |
| <br><b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                                                                          | <br>176 |
| <br>Anexo A. Productos de la degradación de colorantes orgánicos.....                                                | 199     |
| Anexo A.1. Productos de la degradación de azul de metileno.....                                                      | 199     |
| Anexo A.2. Productos de la degradación de rodamina B .....                                                           | 200     |
| Anexo A.3. Productos de la degradación de violeta de genciana .....                                                  | 201     |
| <br>Anexo B. Resonancia del plasmón superficial en sustratos SERS.....                                               | 202     |
| Anexo B.1. Campos eléctricos confinados en diversas morfologías .....                                                | 202     |
| <br>Anexo C. Trabajos publicados .....                                                                               | 203     |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 2.1. Clasificación de las nanoestructuras con base en las dimensiones: (a) 0D, (b) 1D, (c) 2D y (d) 3D.....                                                   | 30 |
| Figura 2.2. Clasificación de los métodos de síntesis de nanopartículas [73]. ....                                                                                    | 36 |
| Figura 2.3. Imagen de MET a 50,000 ampliificaciones de AuNPs y AuNTs obtenidas por el método Turkevich [78]. ....                                                    | 38 |
| Figura 2.4. Imagen de MET a 50,000 ampliificaciones de AuNPs obtenidas por el método Turkevich [78]. ....                                                            | 38 |
| Figura 2.5. Imágenes de MET de AuNPs obtenidas mediante (a) 1 ml y (b) 0.16 ml de citrato de sodio [79]. ....                                                        | 40 |
| Figura 2.6. Imagen de MET de AgNPs obtenidas mediante el método de Lea [84]. ....                                                                                    | 41 |
| Figura 2.7. Representación gráfica del cambio de energía libre volumétrica, energía libre superficial y energía libre total, como función del radio del núcleo. .... | 46 |
| Figura 2.8. Modelo de LaMer y sus diferentes etapas: (I) prenucleación, (II) nucleación y (III) crecimiento por difusión [103]. ....                                 | 48 |
| Figura 2.9. Tipos de estabilización en coloides: (a) estabilización estérica y (b) estabilización electrostática [107]. ....                                         | 51 |
| Figura 2.10. Diferentes partes de las plantas. ....                                                                                                                  | 56 |
| Figura 2.11. Imágenes de MET de AuNPs obtenidas mediante el extracto acuoso de hojas de <i>Pelargonium graveolens</i> [125]. ....                                    | 58 |
| Figura 2.12. Espectro de UV-Vis de AuNPs de diferentes tamaños [126]. ....                                                                                           | 59 |
| Figura 2.13. Espectro de UV-Vis de AuNPs de diferentes morfologías [127]. ....                                                                                       | 60 |

|                                                                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 2.14. Imágenes de MET de AgNPs obtenidas en <i>Medicago sativa</i> : (a) imagen AgNPs en el interior del tallo, (b) imagen de alta resolución de una nanopartícula [150]. | 62 |
| Figura 2.15. Espectro de UV-Vis de AgNPs de diferentes tamaños [154].                                                                                                            | 63 |
| Figura 2.16. (a) Espectro de UV-Vis, imágenes de MET de (b) AgNPs antes de la irradiación y (c) después de 18 h de irradiación [155].                                            | 64 |
| Figura 2.17. Espectro de FTIR del extracto de <i>Szygium aromaticum</i> antes y después de la síntesis de AuNPs [178].                                                           | 67 |
| Figura 2.18. Mecanismo de reducción de iones metálicos mediante el uso de eugenol [178].                                                                                         | 68 |
| Figura 2.19. Mecanismo de reducción de los iones (a) $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^+$ y (b) $\text{Au}^+ \rightarrow \text{Au}^0$ [180].                                 | 69 |
| Figura 2.20. (a) Polisacárido con un extremo reductor oxidado y (b) modelo de estabilización de AuNPs [180].                                                                     | 70 |
| Figura 2.21. Gráfica de DLS del diámetro hidrodinámico en función de la concentración de L-cisteína [183].                                                                       | 72 |
| Figura 2.22. Imagen de MET de una cadena de AgNPs obtenida con <i>Quercus brantii</i> [184].                                                                                     | 72 |
| Figura 2.23. (a) Imagen de MEB de ensambles de Au/Ag obtenidos mediante el uso de <i>Aloysia triphylla</i> y mapeo químico de elementos (b) Ag, (c) Au y (d) Cl [185].           | 73 |
| Figura 2.24. Espectros de FTIR de (a) extracto de <i>Aloysia triphylla</i> y (b) sobrenadante de la reacción [185].                                                              | 74 |
| Figura 2.25. Mecanismo de degradación de colorantes [189].                                                                                                                       | 76 |
| Figura 2.26. Tipos de dispersión de luz en espectroscopía Raman [215].                                                                                                           | 82 |
| Figura 2.27. Ejemplo de espectro SERS en la identificación de una muestra médica [218].                                                                                          | 83 |
| Figura 3.1. Diagrama de flujo de la metodología experimental de la presente tesis.                                                                                               | 88 |
| Figura 3.2. Preparación de los extractos.                                                                                                                                        | 93 |

|                                                                                                                                                                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 3.3. Esquema de la metodología de la degradación de colorantes mediante el uso de nanoestructuras. ....                                                                                                                               | 100 |
| Figura 3.4. Esquema de la metodología de la preparación de los sustratos SERS. ....                                                                                                                                                          | 101 |
| Figura 4.1. Gráfico de la influencia de la temperatura y el tiempo de elaboración del extracto de <i>L. mexicana</i> en la absorbancia de UV-Vis de la reacción con 2 mM de H <sub>Au</sub> Cl <sub>4</sub> . ....                           | 103 |
| Figura 4.2. Espectros de UV-Vis de la formación de AuNPs variando la concentración de extracto de <i>L. mexicana</i> en los rangos (a) 1.25-15 mg/ml y (b) 30-100 mg/ml, empleando 2 mM de H <sub>Au</sub> Cl <sub>4</sub> . ....            | 104 |
| Figura 4.3. Espectros de UV-Vis de formación de las AuNPs variando la concentración de la solución de H <sub>Au</sub> Cl <sub>4</sub> en los rangos (a) 2-10 mM y (b) 0.1-0.8 mM, empleando 5 mg/ml de extracto de <i>L. mexicana</i> . .... | 105 |
| Figura 4.4. (a) Esquema de la interacción de la radiación electromagnética con las AuNPs y (b) esquema de la oscilación electrónica. ....                                                                                                    | 106 |
| Figura 4.5. Difractogramas de rayos X de las muestras Au-M1 y Au-M2 (a) apilados en el rango de 20-90° y (b) superpuestos en el rango de 36-46° ....                                                                                         | 108 |
| Figura 4.6. Imágenes de MEB de las muestras (a) Au-M1, (b) Au-M2 y (c) Au-M3. (d) Análisis químico elemental por EDS. ....                                                                                                                   | 109 |
| Figura 4.7. Imágenes de MET de la muestra Au-M1: (a) HAADF, (b) campo claro y (c) alta resolución, y de la muestra Au-M2: (d) HAADF, (e) campo claro y (f) alta resolución. ....                                                             | 110 |
| Figura 4.8. Esquema geométrico de las (a) partículas triangulares de Au y (b) AuNPs cuasi-esféricas. ....                                                                                                                                    | 111 |
| Figura 4.9. Voltamperogramas cíclicos efectuados a 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, y 300 mV/s de la muestra Au-M1 vs ESC en (a) 0.5 M de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH. ....                                             | 112 |
| Figura 4.10. Voltamperogramas cíclicos efectuados a 50 mV/s de la muestra Au-M1 vs ESC en (a) 0.5 M de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH. ....                                                                               | 113 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 4.11. Voltamperogramas cíclicos efectuados a 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, y 300 mV/s de la muestra Au-M2 vs ESC en (a) 0.5 M de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH. ....                                                                                                                                    | 114 |
| Figura 4.12. Voltamperogramas cíclicos efectuados a 50 mV/s de la muestra Au-M2 vs ESC en (a) 0.5 M de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH. ....                                                                                                                                                                       | 115 |
| Figura 4.13. Espectros de UV-Vis de (a) la variación de la concentración de extracto de <i>E. polystachya</i> de 5-80 mg/ml, empleando 2 mM de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> , y de (b) la variación de la concentración de H <sub>AuCl</sub> <sub>4</sub> de 0.5-10 mM, empleando 5 mg/ml de extracto de <i>E. polystachya</i> . . | 116 |
| Figura 4.14. Imágenes de MEB de AuNPs obtenidas empleando extracto de <i>E. polystachya</i> , ajustando el pH de reacción a (a) 7 y (b) 9. (c) Análisis químico elemental por EDS.....                                                                                                                                               | 118 |
| Figura 4.15. Gráfico de la influencia de la temperatura y el tiempo de elaboración del extracto de <i>L. mexicana</i> en la absorbancia de UV-Vis de la reacción con 2 mM de AgNO <sub>3</sub> , después de 30 min de exposición a 850 W/m <sup>2</sup> de irradiancia solar. ....                                                   | 120 |
| Figura 4.16. Espectros de UV-Vis de la formación de AgNPs después de 30 min de exposición a 835 W/m <sup>2</sup> de irradiancia solar, variando la concentración de extracto de <i>L. mexicana</i> entre los rangos (a) 5-25 mg/ml y (b) 0.078-2.5 mg/ml, empleando 2 mM de AgNO <sub>3</sub> .....                                  | 121 |
| Figura 4.17. Espectros de UV-Vis de formación de AgNPs después de 30 min de exposición a 862 W/m <sup>2</sup> de irradiancia solar, variando la concentración del AgNO <sub>3</sub> de 1-10 mM, y empleando 5 mg/ml de extracto de <i>L. mexicana</i> .....                                                                          | 122 |
| Figura 4.18. Espectros de UV-Vis de la formación de AgNPs después de la exposición a 842 W/m <sup>2</sup> de irradiancia solar, variando el tiempo de exposición en los rangos (a) 0-25 min y (b) 30-60 min, empleando 2 mM de AgNO <sub>3</sub> y 5 mg/ml de extracto de <i>L. mexicana</i> .....                                   | 123 |
| Figura 4.19. Difractogramas de rayos X de las muestras Ag-M1 y Ag-M2 (a) apilados en el rango de 20-90° y (b) superpuestos en el rango de 25-45°.....                                                                                                                                                                                | 125 |
| Figura 4.20. Imágenes de MEB de las muestras (a) Ag-M1 y (b) Ag-M2. (c) Análisis químico elemental por EDS.....                                                                                                                                                                                                                      | 126 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 4.21. Imágenes de MET de la muestra Ag-M1: (a) campo claro y (b) alta resolución, y de la muestra Ag-M2: (c) campo claro y (d) alta resolución.....                                                                                                                                             | 127 |
| Figura 4.22. Voltamperogramas cíclicos efectuados a 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, y 300 mV/s de la muestra Ag-M1 vs ESC en (a) 0.5 M de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH. ....                                                                                                      | 129 |
| Figura 4.23. Voltamperogramas cíclicos efectuados a 50 mV/s de la muestra Ag-M1 vs ESC en (a) 0.5 M de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH. ....                                                                                                                                         | 130 |
| Figura 4.24. Gráfico de la influencia de la temperatura y el tiempo de elaboración del extracto de <i>E. polystachya</i> en la absorbancia de UV-Vis de la reacción con 2 mM de AgNO <sub>3</sub> , después de 30 min de exposición a 855 W/m <sup>2</sup> de irradiancia solar. ....                  | 133 |
| Figura 4.25. Espectros de UV-Vis de la formación de AgNPs después de 30 min de exposición a 862 W/m <sup>2</sup> de irradiancia solar, variando la concentración de extracto de <i>E. polystachya</i> entre los rangos (a) 5-25 mg/ml y (b) 0.078-2.5 mg/ml, empleando 2 mM de AgNO <sub>3</sub> ..... | 133 |
| Figura 4.26. Espectros de UV-Vis de formación de AgNPs después de 30 min de exposición a 859 W/m <sup>2</sup> de irradiancia solar, variando la concentración del AgNO <sub>3</sub> de 1-5 mM, y empleando 5 mg/ml de extracto de <i>E. polystachya</i> .....                                          | 134 |
| Figura 4.27. Imágenes de MEB capturadas a (a) 10,000, (b) 40,000, y (c) 100,000 ampliaciones de la muestra de AgNPs obtenida con 2 mM de AgNO <sub>3</sub> y 5 mg/ml de extracto de <i>E. polystachya</i> . (d) Análisis químico elemental por EDS. ....                                               | 136 |
| Figura 4.28. Imágenes de MEB de la muestra de AgNPs obtenidas empleando extracto de <i>E. polystachya</i> , ajustando el pH de reacción a (a) 7, (b) 9, y (c) 11. ....                                                                                                                                 | 136 |
| Figura 4.29. Espectro de UV-Vis de la formación de nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de <i>L. mexicana</i> , después de 30 min de exposición a 861 W/m <sup>2</sup> de irradiancia solar. ....                                                                          | 138 |
| Figura 4.30. Difractogramas de rayos X de los materiales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de <i>L. mexicana</i> (a) en el rango de 20-90° y (b) en el rango de 25-45°.....                                                                                                            | 139 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 4.31. Imágenes de MEB capturadas a (a) 5,000, (b) 10,000, y (c) 60,000 ampliificaciones de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de <i>L. mexicana</i> . .                                                                               | 140 |
| Figura 4.32. Análisis de MET de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de <i>L. mexicana</i> : (a) patrón de difracción de electrones de área selecta (SAED), (b) imagen de campo claro, e (b) imagen de campo oscuro.....                       | 141 |
| Figura 4.33. Imagen de alta resolución de MET de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de <i>L. mexicana</i> . ....                                                                                                                             | 142 |
| Figura 4.34. Voltamperogramas cíclicos efectuados a 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, y 300 mV/s de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de <i>L. mexicana</i> vs ESC en (a) 0.5 M de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH. ....    | 143 |
| Figura 4.35. Voltamperogramas cíclicos efectuados a 50 mV/s de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de <i>L. mexicana</i> vs ESC en (a) 0.5 M de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH.....                                        | 144 |
| Figura 4.36. Mapeo elemental por EDS de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de <i>E. polystachya</i> : (a) imagen de referencia, (b) Ag, y (c) Cl. ....                                                                                       | 146 |
| Figura 4.37. Difractogramas de rayos X de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de <i>E. polystachya</i> en el rango de: (a) 20-90° y (b) 25-45°. ....                                                                                          | 146 |
| Figura 4.38. Imágenes de MET de los materiales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de <i>E. polystachya</i> : (a) HAADF, (b) campo claro, (c) alta resolución de una AgClNP, y (d) alta resolución de una AgNP.....                                              | 148 |
| Figura 4.39. Voltamperogramas cíclicos efectuados a 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, y 300 mV/s de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de <i>E. polystachya</i> vs ESC en (a) 0.5 M de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH. .... | 149 |
| Figura 4.40. Voltamperogramas cíclicos efectuados a 50 mV/s de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de <i>E. polystachya</i> vs ESC en (a) 0.5 M de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH.....                                     | 150 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                           |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 4.41. Espectros de RMN del extracto de <i>L. mexicana</i> antes y después de la reacción con la solución de AgNO <sub>3</sub> y HAuCl <sub>4</sub> .....                                                                                                                           | 152 |
| Figura 4.42. Espectros de FTIR del extracto de <i>L. mexicana</i> antes y después de la reacción con (a) AgNO <sub>3</sub> y (b) HAuCl <sub>4</sub> . ....                                                                                                                                | 152 |
| Figura 4.43. Espectros de RMN del extracto de <i>E. polystachya</i> antes y después de la reacción con la solución de AgNO <sub>3</sub> . ....                                                                                                                                            | 153 |
| Figura 4.44. Espectros de FTIR del extracto de <i>E. polystachya</i> antes y después de la reacción con AgNO <sub>3</sub> . ....                                                                                                                                                          | 154 |
| Figura 4.45. Mecanismo propuesto de síntesis.....                                                                                                                                                                                                                                         | 155 |
| Figura 4.46. Estructura molecular de los colorantes (a) azul de metileno, (b) rodamina B, y (c) violeta de genciana. ....                                                                                                                                                                 | 157 |
| Figura 4.47. Espectros de UV-Vis de degradación de azul de metileno: (a) muestra control, (b) Au-M1, (c) Au-M2, (d) Ag-M1, (e) autoensambles Ag/AgCl obtenidos con extracto de <i>E. polystachya</i> , y (f) autoensambles Ag/AgCl obtenidos con extracto de <i>L. mexicana</i> . ....    | 159 |
| Figura 4.48. Espectros de UV-Vis de degradación de rodamina B: (a) muestra control, (b) Au-M1, (c) Au-M2, (d) Ag-M1, (e) autoensambles Ag/AgCl obtenidos con extracto de <i>E. polystachya</i> , y (f) autoensambles Ag/AgCl obtenidos con extracto de <i>L. mexicana</i> . ....          | 160 |
| Figura 4.49. Espectros de UV-Vis de degradación de violeta de genciana: (a) muestra control, (b) Au-M1, (c) Au-M2, (d) Ag-M1, (e) autoensambles Ag/AgCl obtenidos con extracto de <i>E. polystachya</i> , y (f) autoensambles Ag/AgCl obtenidos con extracto de <i>L. mexicana</i> . .... | 161 |
| Figura 4.50. Espectros de FTIR de los colorantes orgánicos (a) azul de metileno, (b) rodamina B, y (c) violeta de genciana, y los espectros correspondientes a la degradación empleando la muestra Au-M2. ....                                                                            | 163 |
| Figura 4.51. Mecanismo propuesto de la degradación fotocatalítica. ....                                                                                                                                                                                                                   | 164 |
| Figura 4.52. Espectros Raman de (a) 10 <sup>-2</sup> M de rodamina B sin sustrato, 10 <sup>-5</sup> M de rodamina B en sustrato de (b) Au-M2, (c) Au-M1, y (d) sin sustrato.....                                                                                                          | 167 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 4.53. Espectros Raman de (a) $10^{-2}$ M de rodamina B sin sustrato, $10^{-5}$ M de rodamina B en sustrato de (b) ensambles Ag/AgCl obtenidos con <i>E. polystachya</i> , (c) Ag-M1, y (d) sin sustrato. ....                                                               | 167 |
| Figura 4.54. Imágenes de MEB y la identificación de algunos puntos calientes de los sustratos SERS fabricados con (a) nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos con <i>E. polystachya</i> , (b) Au-M2, (c) Ag-M1, y (d) Au-M1. ....                                         | 169 |
| Figura A.1. Ruta de degradación fotocatalítica del azul de metileno [282]. ....                                                                                                                                                                                                    | 199 |
| Figura A.2. Ruta de degradación fotocatalítica de la rodamina B [283]. ....                                                                                                                                                                                                        | 200 |
| Figura A.3. Ruta de degradación fotocatalítica de la violeta de genciana [284]. ....                                                                                                                                                                                               | 201 |
| Figura B.1. Representación esquemática de las intensidades de los campos eléctricos confinados producidos por la resonancia del plasmón de (a) un nanoprisma, (b) dos nanoprismas en interacción, (c) dos nanoesferas en interacción, y (d) dos nanopirámides apiladas [222]. .... | 202 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                            |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabla 2.1. Diferentes morfologías de AuNPs.....                                                                                                                                                                                                                            | 32  |
| Tabla 2.2. Datos experimentales en la preparación de AuNPs [79]......                                                                                                                                                                                                      | 39  |
| Tabla 2.3. Ejemplos de reportes de síntesis de AuNPs empleando diversas plantas. ....                                                                                                                                                                                      | 61  |
| Tabla 2.4. Longitud de onda respecto al tamaño promedio de AgNPs [153].....                                                                                                                                                                                                | 63  |
| Tabla 2.5. Ejemplos de reportes de síntesis de AgNPs empleando diversas plantas. ....                                                                                                                                                                                      | 65  |
| Tabla 2.6. Ejemplos de reportes de síntesis verde de AuNPs y aplicación en degradación de colorantes.....                                                                                                                                                                  | 77  |
| Tabla 2.7. Ejemplos de reportes de síntesis verde de AgNPs y aplicación en degradación de colorantes.....                                                                                                                                                                  | 78  |
| Tabla 3.1. Características de las plantas empleadas. ....                                                                                                                                                                                                                  | 90  |
| Tabla 3.2. Materiales consumibles empleados en el trabajo experimental. ....                                                                                                                                                                                               | 91  |
| Tabla 3.3. Factores para la preparación de los extractos de plantas. ....                                                                                                                                                                                                  | 92  |
| Tabla 3.4. Masas calculadas de los precursores para la preparación de 100 ml de solución. ....                                                                                                                                                                             | 94  |
| Tabla 4.1. Valores de absorbancia en UV-Vis de la reacción de extracto de <i>L. mexicana</i> a diferentes condiciones de temperatura y tiempo con 2 mM de H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> . ....                                                                          | 102 |
| Tabla 4.2. Valores de absorbancia en UV-Vis (u. a.) de la reacción de extracto de <i>L. mexicana</i> con 2 mM de AgNO <sub>3</sub> , después de 30 min de exposición a 850 W/m <sup>2</sup> de irradiancia solar a diferentes condiciones de temperatura y tiempo. ....    | 119 |
| Tabla 4.3. Valores de absorbancia en UV-Vis (u. a.) de la reacción de extracto de <i>E. polystachya</i> con 2 mM de AgNO <sub>3</sub> , después de 30 min de exposición a 855 W/m <sup>2</sup> de irradiancia solar a diferentes condiciones de temperatura y tiempo. .... | 132 |

|                                                                                                                        |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabla 4.4. Degradación catalítica de los colorantes orgánicos azul de metileno, rodamina B y violeta de genciana. .... | 162 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

## LISTA DE ABREVIATURAS

|                              |                                                                                                   |
|------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>AgNPs</b>                 | nanopartículas de plata                                                                           |
| <b>AuNPs</b>                 | nanopartículas de oro                                                                             |
| <b>AuNTs</b>                 | nanopartículas triangulares de oro                                                                |
| <b>AgClNPs</b>               | nanopartículas de cloruro de plata                                                                |
| <b><i>L. mexicana</i></b>    | <i>Loeselia mexicana</i>                                                                          |
| <b><i>E. polystachya</i></b> | <i>Eysenhardtia polystachya</i>                                                                   |
| <b>UV-Vis</b>                | espectroscopía ultravioleta-visible                                                               |
| <b>RPS</b>                   | resonancia del plasmón de la superficie                                                           |
| <b>FTIR</b>                  | espectroscopía infrarroja con transformadas de Fourier                                            |
| <b>DRX</b>                   | difracción de rayos X                                                                             |
| <b>MEB</b>                   | microscopía electrónica de barrido                                                                |
| <b>EDS</b>                   | energía dispersiva por rayos X                                                                    |
| <b>MET</b>                   | microscopía electrónica de transmisión                                                            |
| <b>HAADF</b>                 | campo oscuro anular de alto ángulo                                                                |
| <b>VC</b>                    | voltamperometría cíclica                                                                          |
| <b>ESC</b>                   | electrodo saturado de calomelano                                                                  |
| <b>RMN</b>                   | espectroscopía de resonancia magnética nuclear                                                    |
| <b>SERS</b>                  | espectroscopía Raman amplificada en la superficie                                                 |
| <b>Au-M1</b>                 | muestra de nanopartículas de oro obtenida con 60 mg/ml y 2 mM de H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> |

|              |                                                                                                                              |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Au-M2</b> | muestra de nanopartículas de oro obtenida con 15 mg/ml y 2 mM de $\text{HAuCl}_4$                                            |
| <b>Ag-M1</b> | muestra de nanopartículas de plata obtenida con 5 mg/ml, 2 mM de $\text{AgNO}_3$ y 45 min de exposición a la radiación solar |
| <b>Ag-M2</b> | muestra de nanopartículas de plata obtenida con 5 mg/ml, 2 mM de $\text{AgNO}_3$ y 60 min de exposición a la radiación solar |

## RESUMEN

Esta investigación presenta los resultados de la síntesis de diferentes tipos de nanoestructuras de Au y Ag mediante el uso de los compuestos reductores y estabilizantes de los extractos acuosos de hoja de *Loeselia mexicana* y de corteza de *Eysenhardtia polystachya*. Las plantas empleadas fueron propuestas buscando una alternativa de síntesis para su aplicación regional, cumpliendo con los requisitos de originalidad del trabajo, fácil adquisición en la región, bajo costo, propiedades medicinales y estado de conservación natural.

La preparación de los nanomateriales fue realizada mediante la interacción química entre los compuestos presentes de los extractos de las plantas con los precursores  $\text{AgNO}_3$  y  $\text{HAuCl}_4$ . Se realizó la modificación de diferentes variables para la evaluación del efecto sobre el producto obtenido, logrando obtener nanopartículas de Au de morfologías esféricas y triangulares, nanopartículas de Ag, nanopartículas de AgCl, y nanomateriales autoensamblados Ag y AgCl de diferente configuración. Las nanoestructuras obtenidas fueron caracterizadas mediante UV-Vis, DRX, MEB, MET y voltamperometría cíclica.

Mediante el empleo de extracto de *L. mexicana* se logró la obtención de nanopartículas de Au esféricas de  $\sim 42$  nm a elevadas concentraciones de extracto (60 mg/ml), mientras que a concentraciones menores (15 mg/ml) se logró la formación de morfologías triangulares de  $\sim 136$  nm de arista. Además, se obtuvieron nanopartículas de Ag esféricas de tamaños entre  $\sim 20$ -40 nm y cristales de AgCl de  $\sim 240$ -447 nm con nanopartículas de Ag incrustadas en el interior o superficie. Por otro lado, al utilizar extracto de *E. polystachya* se formó una gran cantidad nanopartículas de Ag y AgCl de tamaños entre  $\sim 9$ -15 nm, las cuales después de 3 h de reposo se precipitaron en el fondo del recipiente. Mientras que la reducción de los iones de  $\text{Au}^{3+}$  no se llevó a cabo debido a la sensibilidad de compuestos a pH reducido, tales como ligninas.

Las plantas empleadas tienen una baja concentración de compuestos reductores, por lo que se requirió el empleo de radiación solar como acelerador de la reacción. El compuesto que propició la reducción de los iones fue la glucosa, la cual al reaccionar se transformó en un ácido carboxílico, el cual sirvió como un agente estabilizante de las nanopartículas.

Las nanoestructuras obtenidas presentaron propiedades fotocatalíticas apropiadas para la degradación de colorantes, destacando las muestras de nanopartículas de Au esféricas y

triangulares (Au-M2) y de nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos con *E. polystachya*, mismas que presentaron degradaciones mayores a 93, 84 y 83 % de los colorantes azul de metileno, rodamina B y violeta de genciana, respectivamente. Estos resultados se debieron a la elevada cantidad de nanoestructuras de diferentes morfologías y tamaños reducidos.

En la técnica de espectroscopía Raman amplificada en la superficie (SERS) se produjeron puntos calientes o “*hot spots*”, los cuales son regiones localizadas en los sustratos en donde se presentó la mayor energía de resonancia del plasmón de superficie. Estos puntos calientes se presentan generalmente en los vértices de morfologías irregulares, tales como triángulos, y en los espacios nanométricos entre nanopartículas, originados debido al incremento en el confinamiento cuántico de los electrones de la capa de conducción y a la suma de intensidades del campo eléctrico generado alrededor de nanopartículas colindantes. Por lo tanto, se observó que los sustratos que mostraron una acentuada amplificación de la señal Raman fueron los que contenían nanopartículas de Au esféricas y triangulares (Au-M2) y autoensambles Ag/AgCl obtenidos con extracto de *E. polystachya*, los cuales cumplieron con las condiciones anteriormente mencionadas.

Palabras clave: *Loeselia mexicana*, *Eysenhardtia polystachya*, nanoestructuras de Au y Ag, autoensambles de Ag/AgCl, degradación de colorantes, resonancia del plasmón superficial.

## ABSTRACT

This research presents the results of the synthesis of several types of Au and Ag nanostructures through the employment of reducing and stabilizing compounds from the aqueous extracts of *Loeselia mexicana* leaf and *Eysenhardtia polystachya* bark. These plants were proposed while looking for a synthesis alternative that could be applied within the region, satisfying the requirements of work originality, ease of acquisition in the region, low cost, medicinal properties, and natural conservation status.

The preparation of the nanomaterials was performed through the chemical interaction between the plant extract compounds with  $\text{AgNO}_3$  and  $\text{HAuCl}_4$  precursors. Different variables were manipulated in order to evaluate their effect on the resulting products, obtaining Au nanoparticles of spherical and triangular morphologies, Ag nanoparticles, AgCl nanoparticles, and Ag and AgCl self-assembled nanomaterials with different configurations. These nanostructures were characterized by UV-Vis, XRD, SEM, TEM, and cyclic voltammetry.

Through the use of *L. mexicana* extract, spherical Au nanoparticles of ~42 nm were obtained at high extract concentrations (60 mg/ml), while at lower concentrations (15 mg/ml), the formation of triangular morphologies was achieved with edge size of ~136 nm. In addition, spherical Ag nanoparticles of sizes between ~20-40 nm and AgCl crystals of ~240-447 nm with Ag nanoparticles embedded inside or on the surface were obtained.

By using *E. polystachya* extract, Ag and AgCl nanoparticles were formed in large amounts with sizes between ~9-15 nm, which precipitated at the bottom of the container after 3 h. Meanwhile, the reduction of  $\text{Au}^{3+}$  ions was not carried out due to the sensitivity of compounds, such as lignins, at reduced pH values.

The employed plants have a low concentration of reducing compounds; in consequence, the use of solar radiation was required as an accelerator for the reaction. The compound that triggered the reduction was glucose, which was transformed into a carboxylic acid during the reaction, which served as a stabilizing agent.

The obtained nanostructures showed appropriate photocatalytic properties for the degradation of organic dyes, highlighting the samples with spherical and triangular Au nanoparticles (Au-M2)

and Ag/AgCl self-assemblies obtained with *E. polystachya* extract, which presented degradation values greater than 93, 84, and 83 % of methylene blue, rhodamine B, and gentian violet dyes, respectively. These results were due to the high amount of different morphologies and small nanostructure sizes.

In surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS), it was presented regions located onto the substrates with the highest surface plasmon resonance energy, also known as hot spots. These hot spots generally appear at the vertexes of irregular morphologies, such as triangles, and into nanometric spaces between nanoparticles, originated due to the increase in the quantum confinement of the conduction layer electrons and the sum of the electric field intensities generated around nanoparticles contiguous to them. Therefore, the substrates that showed an enhanced amplification of the Raman signal were those that contained spherical and triangular Au nanoparticles (Au-M2), and Ag/AgCl self-assemblies obtained with *E. polystachya* extract, which complied with the conditions mentioned above.



## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

En años recientes, los nanomateriales han recibido gran atención por parte de investigadores de diversas disciplinas debido a la amplia variedad de aplicaciones tecnológicas de estos materiales [1]. Una gran diversidad de elementos químicos se han empleado como componente principal de diversos tipos de nanoestructuras, las cuales comprenden su tamaño entre 1 a 100 nm. Sin embargo, existen elementos que pueden conformar enteramente a las nanoestructuras, como lo son el oro [2] y la plata [3], caracterizados por poseer una escasa reactividad, es decir, reducida susceptibilidad a corroerse y oxidarse. Por lo tanto, estos metales son muy atractivos para muchos fines tecnológicos en el área de la nanociencia.

Las nanopartículas de plata (AgNPs) poseen una amplia gama de aplicaciones y áreas de estudio, tales como antibacteriales, antifúngicas y antiinflamatorias [4, 5]. Por otra parte, las nanopartículas de Au (AuNPs) destacan debido a sus elevadas propiedades químicas y ópticas, lo cual las hace adecuadas para aplicaciones en distintas áreas, tales como la electrónica, catálisis, entre otras [6, 7].

Dentro de los diversos métodos de obtención de nanopartículas metálicas, existe la síntesis por reducción química, la cual requiere de agentes reductores, tales como citrato y borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ), y agentes estabilizantes, como la polivinilpirrolidona (PVP), los cuales evitan el crecimiento excesivo de las nanopartículas [8, 9]. En general, este tipo de síntesis involucra la reducción de los cationes de Au ( $\text{Au}^{1+}$  o  $\text{Au}^{3+}$ ) de un precursor a su forma basal ( $\text{Au}^0$ ) [10], para el caso de la plata, los cationes  $\text{Ag}^+$  se reducen a  $\text{Ag}^0$  [11]. Posteriormente, se propicia la nucleación y crecimiento controlado de las nanopartículas metálicas en un medio acuoso. Sin embargo, este método puede provocar efectos adversos a la salud humana y al ambiente, debido a que algunas sustancias empleadas son nocivas, haciendo que la disposición final de residuos sea compleja y, en ocasiones, limitando las aplicaciones de las nanopartículas obtenidas [12]. El diseño de nuevos y eficientes métodos de síntesis de nanomateriales que reduzcan el impacto ambiental y el daño a los seres vivos, continúa siendo un desafío [13].

Por lo anterior, en este trabajo se optó por elegir un enfoque sustentable de obtención de nanomateriales empleando la síntesis verde. Este método es una variante de la síntesis por reducción química, en donde la producción de nanoestructuras metálicas se logra aprovechando



las sustancias reductoras y estabilizantes extraídas de sistemas biológicos, tales como plantas, hongos y otros compuestos derivados de la naturaleza [14]. Se ha demostrado que los extractos de las plantas medicinales pueden emplearse tanto como agentes estabilizantes como agentes reductores sin la adición de otras sustancias, lo cual los hace apropiados para emplearse para la síntesis de nanoestructuras metálicas [15]. Otras ventajas adicionales de la síntesis verde radican en el bajo costo, factible disponibilidad, sencilla disposición final y baja toxicidad [16]. No obstante, no todas las plantas medicinales tienen la misma eficiencia de síntesis, siendo algunas muy veloces por sí mismas y otras requiriendo de algún factor externo [17].

El mecanismo general de obtención de nanopartículas metálicas en un coloide consta de dos etapas principales: nucleación y crecimiento. Para que ocurra una nucleación, se requiere la reducción de los iones metálicos y una elevada energía de activación, mientras que el crecimiento requiere baja energía. El tamaño y la forma final de las nanopartículas depende principalmente de las velocidades relativas de estas etapas, las cuales pueden controlarse mediante la modificación de diversos parámetros, tales como la concentración, temperatura, pH, entre otros [18].

Mediante este método, es posible obtener morfologías y tamaños diferentes variando las condiciones de síntesis o utilizando otras plantas, lo cual es importante debido a que son factores que determinan las propiedades ópticas y catalíticas de las nanopartículas [19]. Igualmente, es posible obtener diversos tipos de materiales nanoestructurados, es decir, materiales por encima del rango nanométrico elaborados con nanoestructuras autoensambladas, variando la naturaleza y la concentración de los agentes estabilizantes de las plantas [20].

Dentro de la amplia variedad de aplicaciones de las AuNPs y AgNPs, se pueden destacar la degradación de colorantes orgánicos de efluentes y la utilización de sustratos modificados para la amplificación de la señal Raman (SERS) para la identificación de moléculas orgánicas en muy reducida concentración. La adición de AuNPs y AgNPs a un sistema acuoso de colorantes orgánicos propicia una transferencia de electrones en la superficie de las nanopartículas hacia las moléculas de los colorantes, provocando una degradación química, es decir, la descomposición de las moléculas a otras más simples e inocuas [21]. Por otra parte, las AuNPs y AgNPs resultan atractivas para la fabricación de sustratos SERS debido a la interacción que se genera entre las nanopartículas y la molécula a analizar, derivada de la energía del campo eléctrico generado por la resonancia del plasmón superficial (RPS), destacándose de otros metales debido a su



estabilidad química en condiciones ambientales, además de que estos metales presentan RPS en la mayor parte del rango de la región visible e infrarrojo cercano, donde ocurren generalmente las mediciones de Raman [22].

En la presente investigación, se emplearon dos plantas medicinales de fácil adquisición en la región; *Loeselia mexicana* y *Eysenhardtia polystachya*, para la síntesis verde de nanopartículas monometálicas de Au y Ag y autoensambles de Ag/AgCl, y la evaluación de sus propiedades catalíticas y como materiales amplificadores de la señal Raman (SERS). Estas plantas no destacan por su capacidad reductora, sin embargo, se obtuvieron resultados favorables en la obtención de diversas nanoestructuras al modificarse las condiciones de síntesis.

### 1.1. Justificación

La plata y el oro son metales de transición de fácil reducción con elevadas propiedades ópticas y catalíticas. Debido al confinamiento cuántico que poseen estos metales al alcanzar el rango nanométrico, sus propiedades se ven incrementadas, haciendo que estos materiales sean aptos para la investigación en el saneamiento de efluentes mediante catálisis, y en técnicas de detección de contaminantes orgánicos, tal como la espectroscopía Raman amplificada en la superficie (SERS).

La síntesis convencional de nanopartículas de metales nobles es una técnica eficaz y selectiva de dos pasos, en donde se adiciona un agente reductor y un estabilizante, sin embargo, muchos de éstos deben ser manipulados con cuidado debido a su toxicidad y su complicada disposición final. Además, se requiere un lavado riguroso de las nanopartículas preparadas con el fin de eliminar cualquier residuo peligroso. Debido a las complicaciones ambientales que genera esta síntesis, en los últimos años se han buscado nuevas alternativas que reduzcan el impacto ambiental, generando una menor cantidad de residuos tóxicos.

La síntesis verde es una técnica que emplea biomoléculas de hierbas que actúan como agentes reductores y estabilizantes, haciendo que la disposición final de cualquier residuo sea más sencilla y segura. En este método de síntesis se busca eliminar cualquier posibilidad de interacción con sustancias peligrosas, por lo tanto, se procura el uso de extractos de hierbas



medicinales disueltos en un medio acuoso, debido a que existen muchas especies vegetales que contienen sustancias nocivas en su estructura.

La planta *Loeselia mexicana* es empleada en la medicina tradicional como remedio para afecciones renales y problemas de la piel. Por su parte, *Eysenhardtia polystachya* es utilizada como un agente diurético y para tratar problemas de vesícula. Ambas plantas contienen una gran variedad de compuestos, tales como polifenoles, flavonas y taninos, que coadyuvan a los beneficios a la salud humana. Este método de síntesis se lleva a cabo en un lapso relativamente corto, es reproducible y, en la mayoría de los casos, no requiere adición de energía calorífica o mecánica, lo que hace a esta técnica viable para llevarse a cabo a gran escala con un gasto energético mínimo.

En la actualidad, el crecimiento poblacional y el subsecuente incremento en la producción industrial, propicia un aumento de la producción de contaminantes en los cuerpos de agua, lo que conlleva a una mayor dificultad en el saneamiento de aguas residuales y efluentes, consecuentemente, la combinación tanto de una síntesis verde de nanoestructuras de metales nobles, como de la evaluación de la remoción y degradación de diversos contaminantes, así como nuevas alternativas para la detección de microcontaminantes orgánicos, se vuelven una temática imprescindible en la investigación hoy en día dados los efectos ambientales.

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Objetivo general**

Preparar mediante síntesis verde nanopartículas monometálicas de Au y Ag y autoensambles Ag/AgCl, evaluando sus propiedades en la degradación fotocatalítica de colorantes orgánicos y en la amplificación de la señal Raman (SERS).

### **1.2.2. Objetivos particulares**

- Evaluar la capacidad reductora y estabilizante del extracto de la planta *Loeselia mexicana*.



- Evaluar la capacidad reductora y estabilizante del extracto de la planta *Eysenhardtia polystachya*.
- Utilizando espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis), verificar la formación, distribución de tamaño y forma de los nanomateriales obtenidos.
- Determinar la estructura cristalina del material obtenido mediante difracción de rayos X (DRX).
- Utilizando microscopía electrónica de barrido (MEB) analizar la morfología, tamaño y distribución de tamaño de las nanopartículas, y con análisis de energía dispersiva por rayos X (EDS) conocer los elementos presentes en la muestra.
- Mediante la técnica de microscopía electrónica de transmisión (MET), analizar el tamaño, forma y estructura cristalina de las nanoestructuras.
- Mediante voltamperometría cíclica (VC), evaluar las características electrocatalíticas de las nanoestructuras en función de una variación de potencial.
- Determinar el mecanismo de reacción y obtención de nanoestructuras mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN).
- Mediante espectroscopía infrarroja con transformadas de Fourier (FTIR), conocer los grupos funcionales involucrados en la reducción de los precursores y la estabilización de las nanoestructuras.
- Determinar la capacidad de degradación de los colorantes orgánicos azul de metileno, rodamina B y violeta de genciana utilizando las nanoestructuras sintetizadas.
- Utilizando espectroscopía Raman amplificada en la superficie (SERS), incrementar la señal Raman para la detección y caracterización de  $10^{-5}$  M de rodamina B mediante la modificación de sustratos empleando las nanoestructuras obtenidas.

### 1.3. Hipótesis

El método de síntesis por reducción química verde, aquí estudiado, utilizando las plantas *Loeselia mexicana* y *Eysenhardtia polystachya*, mismas que contienen biomoléculas reductoras y estabilizantes, dará como resultado nanopartículas monometálicas (Au, Ag) y autoensambles (Ag/AgCl) de diversas configuraciones y morfologías, las cuales provocarán una gran eficiencia de degradación fotocatalítica de colorantes orgánicos en menos de 24 h, además podrán ser



empleadas para la fabricación de sustratos SERS con una destacada cantidad de puntos calientes para la amplificación de la señal Raman.



## CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En este capítulo se expone una amplia revisión de los conceptos básicos necesarios para la correcta interpretación de los resultados obtenidos a lo largo de este proyecto de investigación doctoral.

### 2.1. Nanociencia y nanotecnología

A inicios del siglo XIX, se empezó a madurar la idea de descubrir evidencia sobre la conformación de la materia por pequeñas entidades denominadas átomos, lo cual fue motivado por el deseo de poder llegar a controlar la materia átomo por átomo. En 1960, Richard Phillips Feynman, un reconocido físico teórico estadounidense, elaboró y publicó un artículo llamado *“There's plenty of room at the bottom”* (“Hay mucho espacio allí al fondo”) [23] en el cual habla acerca de las ventajas de la fabricación de materiales a nivel atómico. Por ejemplo, él menciona que si un bit de información requiere solamente cien átomos, entonces todos los libros existentes en la época podrían almacenarse en un cubo de 0.5 mm de lado. En años recientes, un estudio permitió a unos investigadores almacenar bits de información empleando alrededor de cien átomos mediante un microscopio de efecto túnel [24]. Por lo anterior, el estudio de la materia a muy pequeña escala ha adquirido considerable relevancia en diversas áreas del conocimiento, creándose la rama del conocimiento llamada nanociencia. La nanociencia puede definirse como el estudio de los fenómenos exhibidos por los materiales a escala nanométrica (1-100 nm) o nanoestructuras [25]. Por otro lado, la nanotecnología puede ser definida como el diseño, manipulación y aplicación de las nanoestructuras [26].

Las nanoestructuras pueden ser clasificadas según su morfología con base en la proporción de sus dimensiones espaciales (Figura 2.1). Cuando una partícula tiene sus tres dimensiones dentro del rango nanométrico se dice que es una nanoestructura 0D (nanopartículas). Si una partícula tiene longitud mayor a 100 nm corresponde a una nanoestructura 1D (nanoalambres). Por otro lado, si el espesor es la única dimensión dentro del rango nanométrico se denomina como nanoestructura 2D (nanopelículas). Finalmente, si el material es nanoestructurado o nanocristalino, corresponde a una nanoestructura 3D (fulerita), aunque ninguna de sus dimensiones sea nanométrica, tiene propiedades pertenecientes a un nanomaterial [27].

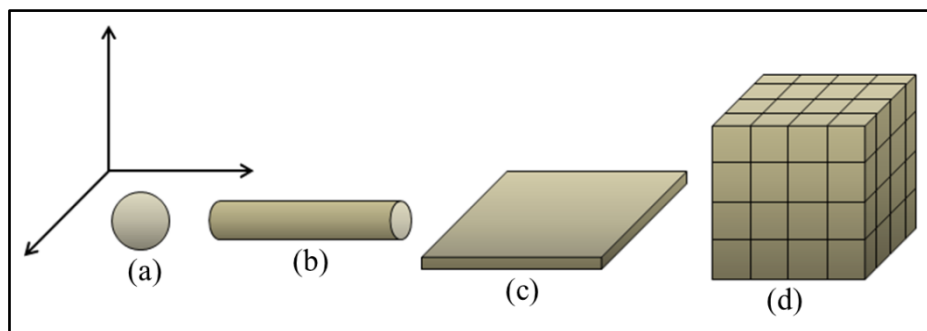


**Figura 2.1.** Clasificación de las nanoestructuras con base en las dimensiones: (a) 0D, (b) 1D, (c) 2D y (d) 3D.

Los nanomateriales tienen la particularidad de poseer propiedades únicas debido a su gran área superficial específica, elevada energía superficial y confinamiento cuántico [28]. Debido a lo anterior, los nanomateriales son aptos para un sinnúmero de aplicaciones en la industria electrónica [29], médica [30], química [31] y alimenticia [32].

### **2.1.1. Nanopartículas de Au**

Entre la gran variedad existente de nanopartículas, las compuestas de oro y de plata poseen un gran número de reportes publicados hasta la actualidad, destacando por su amplia gama de propiedades y aplicaciones. Para cumplir con el objetivo de esta investigación, se realizó una revisión extendida y esquemática de los trabajos publicados más relevantes y afines a esta investigación.

Las nanopartículas de oro (AuNPs) han sido investigadas extensivamente en los últimos años, demostrando que pueden ser empleadas para aplicaciones en medicina [33], dispositivos ópticos [34], catálisis [35], entre otras. Las propiedades químicas y físicas de las AuNPs son diferentes y varían dependiendo del tamaño y forma [36]. Las propiedades están determinadas por el movimiento electrónico, el cual está relacionado con el confinamiento espacial de los electrones dentro de la partícula [37].



Las propiedades mecánicas cambian drásticamente en la escala nanométrica debido a que los cristales generados son muy pequeños, dado que la dureza y resistencia incrementa cuando el tamaño del cristal disminuye. Se ha demostrado que el módulo elástico de las AuNPs es dos tercios comparado con las partículas macroscópicas, debido a su elevado esfuerzo de compresión interno [38]. Conforme el tamaño de las AuNPs disminuye, las bandas de conducción y valencia se vuelven estrechas y una separación aparece entre ellas modificando sus características metálicas. Además, la relación superficial área/volumen es muy elevada, y un gran porcentaje de átomos se encuentra expuesto en la superficie, lo cual es de gran importancia para aplicaciones en catálisis.

Otra característica importante de las AuNPs es la disminución del punto de fusión, ya que mientras en un lingote de oro es de 1,064 °C, se ha reportado que alcanza la temperatura de 940 °C en las AuNPs y, conforme el tamaño de partícula disminuye hasta aproximadamente 10 nm, cambia a poco más de la mitad de la temperatura del punto fusión convencional [39]. Las propiedades eléctricas de las AuNPs también se modifican; la conductividad eléctrica disminuye conforme el tamaño de partícula es menor, debido al incremento de la dispersión superficial [40].

El oro, así como algunos metales nobles, se caracteriza por ser químicamente inerte y por su baja quimisorción en la superficie, sin embargo, se ha demostrado que las AuNPs poseen una capacidad catalítica eficiente en muchos campos [41]. Los catalizadores basados en AuNPs han obtenido gran interés debido a su potencial aplicación en diversas reacciones de importancia industrial y ambiental, y su bajo costo de fabricación en comparación a las nanopartículas de paladio y platino.

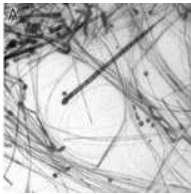
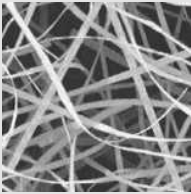
La actividad catalítica de las AuNPs es atribuida a la elevada fracción de átomos en la superficie, estos átomos tienen un número de coordinación bajo, tales como los encontrados en bordes y puntas, lo que hace que tengan un incremento en su reactividad química [42]. Dentro de las aplicaciones catalíticas de las AuNPs destacan la oxidación selectiva de aldehídos [43], alcoholes [44] y carbohidratos [45], y la remoción o degradación de diversos contaminantes en sistemas acuosos [46, 47].

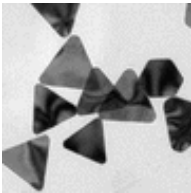
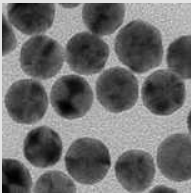
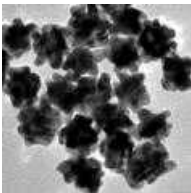
Mientras que las propiedades de los materiales macroscópicos, tales como mecánicas, eléctricas, magnéticas, ópticas y químicas, son independientes del tamaño y forma de las partículas, estas

cambian y son sensibles al cambio en morfología y tamaño dentro de la escala nanométrica. La forma final de las AuNPs influye directamente en las propiedades ópticas y catalíticas debido a que los átomos de las caras de un cristal de un solo elemento se encuentran en diferentes arreglos atómicos según la orientación cristalina, y esto provoca la aparición de diferentes sitios activos en función de la cara expuesta del cristal, además de que un cambio en morfología representa un cambio importante en el área superficial específica [48].

Un crecimiento isotrópico de las AuNPs resulta en la formación de partículas esféricas, mientras que un crecimiento anisotrópico genera partículas de formas particulares. La formación de AuNPs anisotrópicas puede llevarse a cabo mediante un control en la velocidad de reducción del precursor y la selección de un surfactante adecuado. Mediante la implementación de diversos métodos de síntesis, se han obtenido diversas formas de AuNPs (Tabla 2.1) como son rodillos [49], alambres [50], listones [51], platos [52], poliedros [53], flores [54] y dendritas [55]. La selección de un método de obtención de AuNPs adecuado, es de vital importancia debido a que de este dependerá la morfología y el tamaño final de las AuNPs y, por lo tanto, sus propiedades.

**Tabla 2.1.** Diferentes morfologías de AuNPs

| Forma    | Imagen                                                                              | Referencia |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Rodillos |  | [49]       |
| Alambres |  | [50]       |
| Listones |  | [51]       |

|           |                                                                                    |      |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Platos    |   | [52] |
| Poliedros |   | [53] |
| Flores    |   | [54] |
| Dendritas |  | [55] |

### **2.1.2. Nanopartículas de Ag**

Como se ha mencionado en la sección anterior, los materiales cuyas dimensiones oscilan entre 1 y 100 nm poseen características físicas y químicas diferentes a un mayor tamaño de partícula, sin embargo, estas características difieren en gran medida dependiendo de la naturaleza del material. La plata es un metal que ha sido empleado extensivamente por el hombre desde hace miles de años para la fabricación de utensilios para bebidas y alimentos, ya que observaron que se conservaban mayor tiempo en buen estado gracias a su propiedad bactericida [56]. La plata fue empleada extensivamente como un antibiótico hasta el descubrimiento de la penicilina por Sir Alexander Fleming en 1928.

La plata en forma de partículas nanométricas (AgNPs) recibió una enorme atención debido a sus características excepcionales aptas para aplicaciones en medicina [57], tratamientos de aguas [58] y agentes bactericidas [59]. Además, las AgNPs poseen una elevada conductividad eléctrica, lo



cual las hace aptas para la fabricación de tintas, componentes electrónicos, pastas, entre otras [60].

Las AgNPs han adquirido relevancia en el tratamiento de efluentes debido a su conocida acción antimicrobiana, además de poseer una elevada actividad catalítica para la degradación de contaminantes orgánicos disueltos. La actividad catalítica de las AgNPs depende de varios factores como la estructura del compuesto orgánico, pH, concentración, polaridad, temperatura, entre otros [61]. En general, se ha reportado que algunos de los contaminantes a destacar son los colorantes orgánicos, los cuales pueden ser descompuestos o modificados químicamente mediante el empleo de nanopartículas metálicas. Algunos autores asocian la degradación de colorantes con una decoloración atribuida por la adsorción en las nanopartículas y un cambio molecular o descomposición de la molécula orgánica dependiendo del colorante, y en algunos casos puede ser incrementada mediante la irradiación con luz UV o visible [62].

Diversas investigaciones han reportado los efectos del tamaño y la forma de las AgNPs en las propiedades, sin embargo, estos estudios se han centrado más en la citotoxicidad de las AgNPs en función del tamaño [63], esto puede deberse a que las AgNPs de tamaño muy reducido ( $<10\text{nm}$ ) son de fácil absorción, fácil disolución y liberación prolongada de iones dentro de organismos biológicos [64]. Por lo anterior, se ha empezado a investigar alternativas para controlar la citotoxicidad de las AgNPs mediante la modificación de la superficie empleando biomoléculas estabilizadoras naturales que modifiquen el tamaño, la morfología y las propiedades interfaciales [65].

### **2.1.3. Nanomateriales autoensamblados**

Los nanomateriales no solamente consisten en estructuras individuales que poseen al menos una dimensión dentro del rango nanométrico, sino que también pueden considerarse a las estructuras macroscópicas compuestas de nanoestructuras o nanocristales, es decir, materiales que son ensamblados empleando nanoestructuras o materiales que poseen policristalinidad con tamaño de grano dentro del régimen nanométrico. El autoensamblaje se refiere al proceso en el cual las nanoestructuras se organizan espontáneamente debido a una interacción directa específica o indirectamente debido a agentes externos de los alrededores, tales como ligantes, plantillas o



matrices [66]. El proceso de autoensamblaje es generalmente relacionado con un equilibrio termodinámico, y estas estructuras se caracterizan por tener en su sistema un valor mínimo de su energía libre [67].

Las plantillas o matrices pueden contener sitios activos que pueden inducir selectivamente a la deposición de nanopartículas [68], esto implica que la plantilla sea de mayor tamaño que las nanopartículas. Cualquier objeto en el cual se puedan depositar nanopartículas puede ser considerado como una plantilla o matriz, por lo tanto, una gran variedad de elementos o compuestos pueden servir como plantillas para la organización de nanopartículas de diferentes naturalezas, morfologías y tamaños. Sin embargo, muchas plantillas contienen un número limitado de sitios de unión, por lo que resulta en una agregación irreversible de nanopartículas, por lo que escoger una plantilla correcta es un desafío. Por otro lado, las interacciones débiles y reversibles entre las plantillas y los surfactantes que envuelven a las nanopartículas proporcionan una gran variedad de posibilidades de control de los ensambles. El tipo de surfactante es altamente relevante para una correcta distribución en la superficie de las nanopartículas, debido a que un recubrimiento irregular puede resultar en acomodos particulares de los bloques de construcción para el autoensamblaje [69].

Aun cuando una simple mezcla de nanopartículas de cargas opuestas pueda conducir a la formación de arreglos ordenados [70], la adición de estímulos externos puede ayudar a aumentar el control y la modulación de las fuerzas de atracción entre partículas en condiciones dentro o fuera de equilibrio [71]. Algunos de estos estímulos de mayor empleo son la temperatura, luz y polaridad de los solventes, estos pueden modular las fuerzas entre partículas modificando las interacciones hidrofóbicas, enlaces de hidrógeno o interacciones dipolares, lo cual puede generar cambios en las propiedades de los surfactantes promoviendo la atracción o repulsión entre partículas [72].

## **2.2. Métodos de síntesis**

Elegir el método adecuado de síntesis de nanomateriales es esencial, para esto se debe conocer el tipo de nanomaterial que se desea obtener, así como su composición química, tamaño de partícula y morfología. Sin embargo, la selección del método también dependerá de la disponibilidad de

equipos y reactivos, del costo, impacto ambiental y la aplicación final de los nanomateriales. Por lo tanto, el desarrollo de metodologías de síntesis fiables y viables es uno de los puntos principales de estudio de la nanotecnología.

En términos generales, los métodos de síntesis de nanopartículas pueden ser clasificados en técnicas descendentes y técnicas ascendentes, las cuales también se conocen como enfoques “*top-down*” y “*bottom-up*”, respectivamente (Figura 2.2).

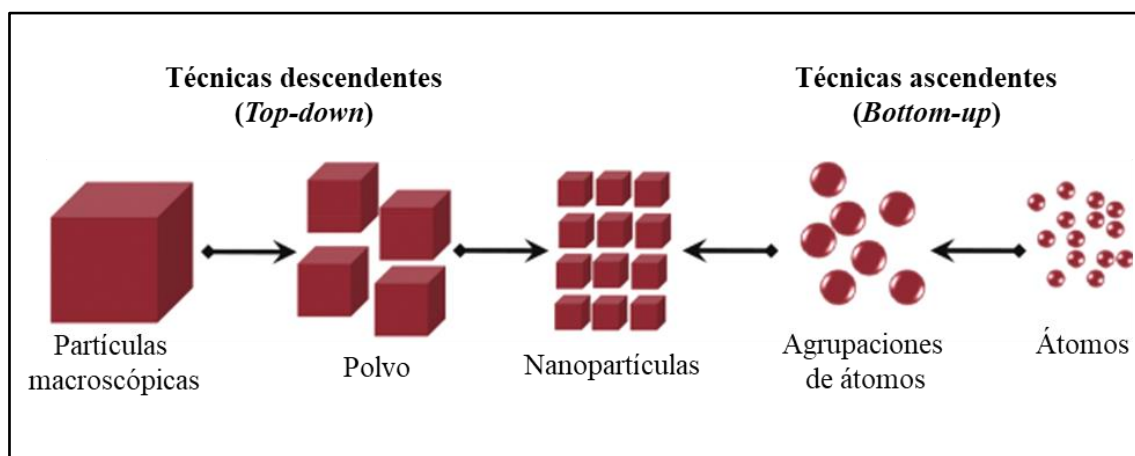


**Figura 2.2.** Clasificación de los métodos de síntesis de nanopartículas [73].

Las técnicas descendentes se basan principalmente en la ruptura de partículas macroscópicas para generar partículas de menor tamaño. Generalmente se emplean herramientas o dispositivos controlados externamente para cortar, fresar, moldear, desbastar o moler las partículas hasta obtener un tamaño y forma deseados. Este enfoque ofrece la oportunidad de obtener algunas nanoaleaciones y nanocompuestos que no pueden ser obtenidos por rutas ascendentes [74]. Algunos métodos descendentes son la micropartición, pirolisis y molienda mecánica.

Por otro lado, el enfoque ascendente se basa en el aprovechamiento de las propiedades de los átomos y moléculas para enlazarse unos con otros hasta obtener las nanopartículas. La ventaja principal de este enfoque consiste en que es posible la fabricación de nanoestructuras con cristalografía perfecta, a comparación del enfoque descendente, en el cual las nanopartículas presentan afectaciones en su cristalografía debido a las fuerzas físicas a las cuales fueron



sometidas [75]. Algunos métodos correspondientes a este enfoque son la microemulsión, método electroquímico, microondas y síntesis por reducción química.

### ***2.2.1. Síntesis por reducción química***

La síntesis por reducción química es el método que se emplea comúnmente para las nanopartículas de metales nobles [76] y consiste en la reducción de iones metálicos disueltos en un medio acuoso por medio de agentes reductores en la presencia de compuestos estabilizantes [77]. En este apartado, se describirán los trabajos más relevantes para la obtención de nanomateriales de oro y plata mediante síntesis por reducción química.

#### ***2.2.1.1. Síntesis por reducción química de nanopartículas de Au***

Las AuNPs pueden obtenerse fácilmente y con gran rapidez mediante la reducción de los iones  $\text{Au}^{+3}$  del compuesto  $\text{HAuCl}_4$  diluido en medio acuoso. El primer método reportado y de mayor empleo fue propuesto por Turkevich y col. en 1951 [78], el cual fue ideado mediante la experimentación empleando ácido cítrico y citrato de sodio. Inicialmente, los autores calentaron a punto de ebullición 95 ml de  $\text{HAuCl}_4$  y añadieron 5 ml de 1% de ácido cítrico bajo agitación constante. La solución experimentó un cambio de coloración a púrpura oscuro después de 5 s. La solución final la analizaron mediante microscopía electrónica de transmisión (MET) (Figura 2.3), en donde observaron la aparición de nanopartículas triangulares (AuNTs) entre esferas de tamaño entre 10 y 50 nm.

Por otro lado, realizaron otro experimento calentando a punto de ebullición 95 ml de  $\text{HAuCl}_4$  y añadieron 5 ml de 1% de citrato de sodio bajo agitación constante. La solución experimentó un cambio de coloración a rosa grisáceo después de 1 min, oscureciéndose hasta obtenerse un rojo vino intenso después de 5 min. La solución final se analizó mediante MET (Figura 2.4) en donde apreciaron AuNPs de morfología esférica de diámetro promedio de 20 nm.

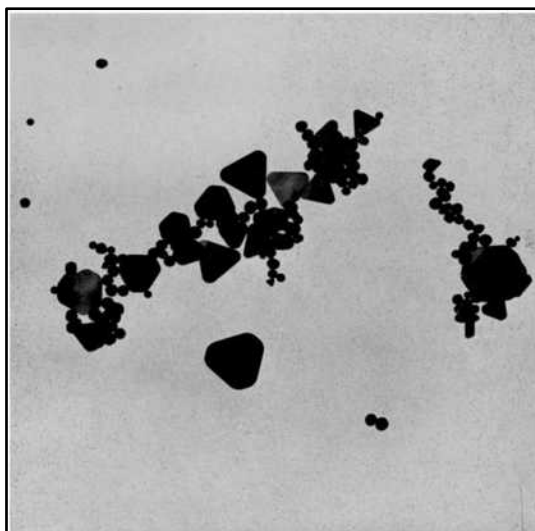


**Figura 2.3.** Imagen de MET a 50,000 ampliificaciones de AuNPs y AuNTs obtenidas por el método Turkevich [78].

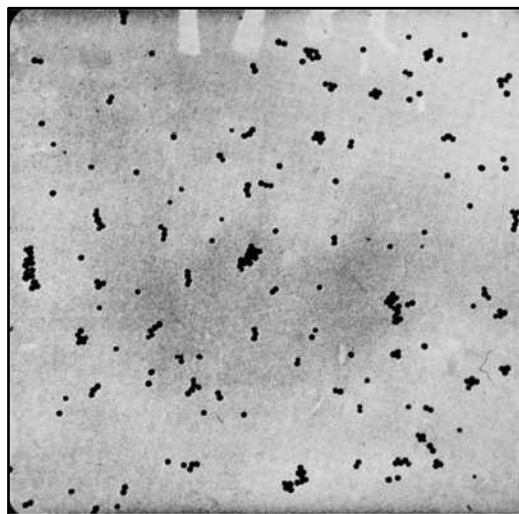


**Figura 2.4.** Imagen de MET a 50,000 ampliificaciones de AuNPs obtenidas por el método Turkevich [78].

En 1973, Frens [79] realizó una modificación al método Turkevich en donde empleó diferentes concentraciones de citrato de sodio para poder analizar la influencia en el tamaño o forma de las AuNPs y, por consecuencia, sus propiedades. El creía que al cambiar la concentración del citrato



de sodio habría cambios en la velocidad de los dos procesos involucrados en la síntesis, los cuales son la nucleación y el crecimiento de las nanopartículas.

El procedimiento consistió en calentar a punto de ebullición 50 ml de solución al 0.1% de  $\text{HAuCl}_4$ , posteriormente agregó diferentes cantidades de solución de citrato de sodio al 1%, mezclándose con agitación magnética durante 5 min. En la Tabla 2.2 se puede observar la tendencia de crecimiento del diámetro promedio de partícula conforme se redujo la concentración del citrato de sodio en la reacción, además de un cambio en las coloraciones finales debido a los diferentes cambios en propiedades ópticas de las AuNPs. En la Figura 2.5 se muestran las imágenes de MET de las AuNPs obtenidas con 1 y 0.16 ml de citrato de sodio, en donde se observa que el tamaño de las AuNPs cambió notablemente al modificarse la cantidad de citrato de sodio en el sistema de reacción, aunque la morfología de las AuNPs no tuvo cambios aparentes.

**Tabla 2.2.** Datos experimentales en la preparación de AuNPs [79].

| Muestra | Cantidad de citrato de sodio (ml) | Diámetro de partícula (nm) | Color de la solución |
|---------|-----------------------------------|----------------------------|----------------------|
| 1       | 1.00                              | 16                         | naranja              |
| 2       | 0.75                              | 24                         | rojo                 |
| 3       | 0.50                              | 41                         | rojo                 |
| 4       | 0.30                              | 71                         | rojo oscuro          |
| 5       | 0.21                              | 97                         | violeta              |
| 6       | 0.16                              | 147                        | violeta              |

En los últimos años, la síntesis por reducción química para la obtención de AuNPs sigue vigente pero con numerosas modificaciones. Por ejemplo, Liu y col. [80] emplearon ácido tartárico en vez de citrato de sodio, como una alternativa para la síntesis mediante el método Turkevich. Mezclaron 40 ml de solución acuosa de  $\text{HAuCl}_4$  con un volumen calculado de ácido tartárico y se llevó a punto de ebullición durante 20 a 30 min. Observaron que ocurrió un rápido cambio de coloración a lila rosado, hasta finalmente obtener un rojo oscuro en la solución, similar a lo visto en el método Turkevich. Mediante análisis de MEB, lograron observar que las AuNPs que

obtuvieron son de tamaño entre 54 y 62 nm, y concluyeron que mediante el empleo de ácido tartárico es posible la producción de AuNPs estables de mayor tamaño.

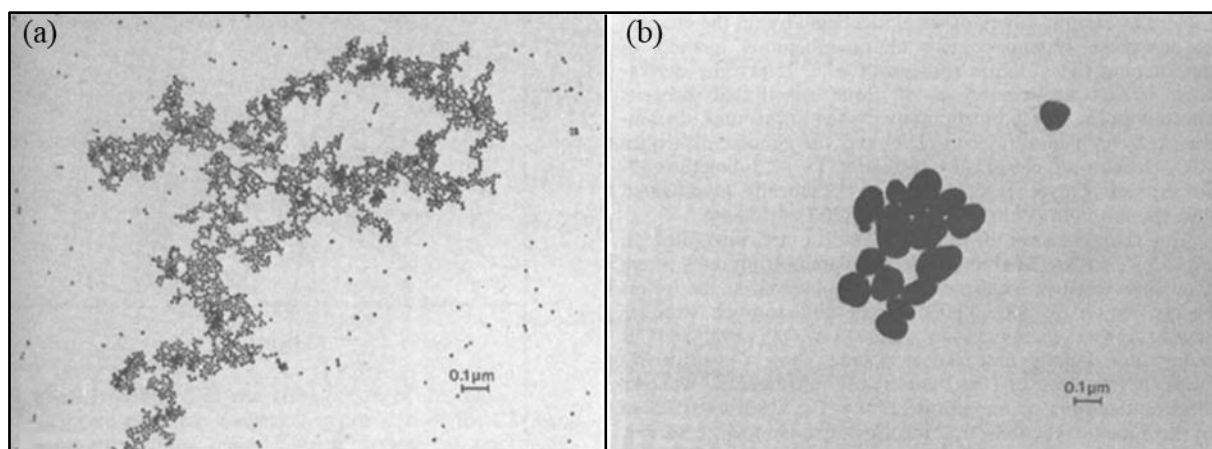


**Figura 2.5.** Imágenes de MET de AuNPs obtenidas mediante (a) 1 ml y (b) 0.16 ml de citrato de sodio [79].

Iqbal y col. [81] emplearon  $\text{NaBH}_4$ , un potente agente reductor actualmente utilizado para la obtención de diversos tipos de nanopartículas. Disolvieron 10 mg de  $\text{HAuCl}_4$  en 500 ml de agua desionizada y disolvieron 1.891 g de  $\text{NaBH}_4$  en 500 ml de agua desionizada. Colocaron 100 ml de la solución de  $\text{HAuCl}_4$  en un vaso de precipitado y fueron agregando mediante goteo la solución de  $\text{NaBH}_4$  bajo agitación magnética hasta obtenerse un cambio de coloración a rojo oscuro después de unos minutos. Las AuNPs obtenidas fueron observadas mediante MET, en donde apreciaron morfologías esféricas con tamaño promedio de 30 nm con tendencia a la agregación entre ellas, esto puede ser atribuido al exceso de agente reductor y la nula presencia de algún compuesto estabilizante.

Abdullah y col. [82] emplearon ácido ascórbico como agente reductor y bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) como estabilizante de las AuNPs. Mezclaron 50  $\mu\text{l}$  de solución de  $\text{HAuCl}_4$  con 10 ml de CTAB en solución, a esta mezcla añadieron 60  $\mu\text{l}$  de ácido ascórbico y 200  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaOH}$  para incrementar el pH, observando un cambio de coloración a rojizo. Las

AuNPs obtenidas fueron observadas mediante MEB, donde se apreciaron que las AuNPs tenían una elevada estabilidad, tamaño promedio de 42 nm y morfología esférica.

#### ***2.2.1.2. Síntesis por reducción química de nanopartículas de Ag***

Por otro lado, las AgNPs pueden ser obtenidas mediante la reducción de iones de  $\text{Ag}^+$  provenientes de  $\text{AgNO}_3$  en estado acuoso. El primer reporte de síntesis por reducción química de AgNPs fue en 1889 por Lea [83], en donde explica que realizó una mezcla acuosa de  $\text{AgNO}_3$ , citrato de sodio y  $\text{FeSO}_4$ , produciendo una solución de color café cobriza altamente concentrada y estable a temperatura ambiente. Lea dedicó gran parte de su vida al estudio de la plata alotrópica, obteniendo destacados descubrimientos, sin embargo, lo que Lea consideró como plata alotrópica en 1889, fue en realidad plata coloidal, lo cual fue esclarecido años después por Frens y Overbeek, quienes en 1969 [84] retomaron esta investigación, replicando la experimentación y caracterizando la solución con MET, la cual no existía durante la investigación de Lea. La imagen de MET (Figura 2.6) muestra un conjunto de AgNPs de tamaño uniforme entre 37 y 45 nm.

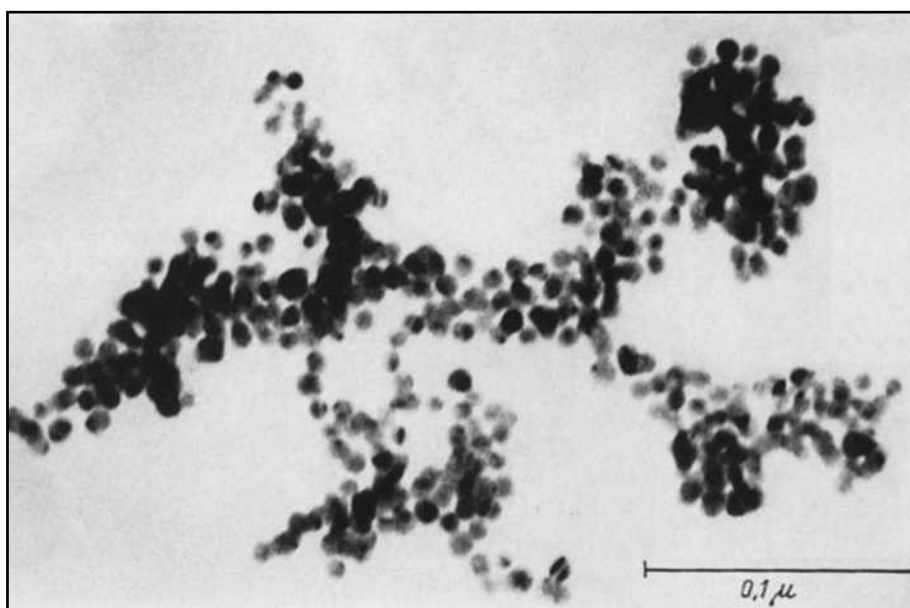


**Figura 2.6.** Imagen de MET de AgNPs obtenidas mediante el método de Lea [84].



Actualmente, se siguen realizando diversas investigaciones correspondientes al método por reducción química para la síntesis de AgNPs. Por ejemplo, Gakiya-Teruya y col. [85] emplearon el citrato de sodio de distintas maneras; agregaron 50 ml de citrato de sodio en un vaso de precipitado y se llevó a punto de ebullición, posteriormente agregaron 8.8 ml de  $\text{AgNO}_3$  mediante goteo y agitación constante. Por otro lado, calentaron hasta punto de ebullición 50 ml  $\text{AgNO}_3$  en un vaso de precipitado, seguido de esto agregaron mediante goteo 500  $\mu\text{l}$  de citrato de sodio bajo agitación mecánica. Mediante MET lograron comprobar que las AgNPs que obtuvieron poseían buena estabilidad, y morfologías esféricas y cilíndricas de aproximadamente 40 nm.

Sun y Xia [86] realizaron una investigación tomando como base el método poliol. El método poliol fue propuesto y desarrollado por Fievet y col. en 1989 [87] en el cual se emplean polioles o polialcoholes que actúan como excelentes solventes debido a su elevada constante dieléctrica, además, también sirven como agentes reductores de precursores metálicos. Sun y Xia mezclaron una cantidad calculada de  $\text{AgNO}_3$  con etilenglicol y la solución la calentaron a 160 °C, posteriormente añadieron polivinilpirrolidona (PVP) como agente estabilizante. Observaron que esta variación de condiciones experimentales resulta en morfologías distintas a las cuasi-esféricas, obteniéndose morfologías cúbicas y nanoalambres.

Patel y col. [88] reportaron una investigación referente a la obtención de AgNPs mediante la reducción de iones  $\text{Ag}^+$  empleando  $\text{NaBH}_4$  como agente reductor y el efecto del PVP, almidón y carboximetilcelulosa de sodio (NaCMC) como agentes estabilizantes de la reacción. Añadieron mediante goteo 10 ml de 1 mM de  $\text{AgNO}_3$  a 30 ml de  $\text{NaBH}_4$  enfriado previamente en agua con hielo, posteriormente agregaron PVP al 0.3%, almidón al 1% y NaCMC al 0.8% y mantuvieron la reacción con agitación magnética hasta obtenerse un cambio de coloración de incoloro a amarillo. Lograron observar mediante microscopía de fuerza atómica que el tamaño de las AgNPs varían dependiendo del tipo de agente estabilizante, observando que las AgNPs obtenidas mediante la adición de PVP, almidón y NaCMC mostraron tamaños promedio de 14, 42 y 159 nm, respectivamente, concluyendo que la combinación de  $\text{NaBH}_4$  y PVP produjo AgNPs de menor tamaño y mayor estabilidad.



### **2.2.1.3. Síntesis por reducción química de nanomateriales autoensamblados**

Durante la última década del siglo pasado, se empezó a observar el interés de la creación de nanomateriales macroscópicos a partir de unidades nanométricas [89], las cuales de forma ordenada y controlada se ensamblan unas con otras mediante una acción externa para formar una unidad de mayor tamaño denominada nanoestructura 3D [90]. El método por reducción química también es apropiado para la producción de estos materiales y se basa principalmente en la modificación de la estabilización de las nanopartículas, con el objetivo de propiciar la unión de unas con otras. Por ejemplo, Zhou y col. [91] obtuvieron cadenas ensambladas de AuNPs mediante el uso de diferentes surfactantes no iónicos. Mezclaron 0.25 ml de solución de los surfactantes Tween 20, Tween 40 y Tween 60, en 0.25 ml de 10 mM de  $\text{HAuCl}_4$  y 4.4 ml de agua desionizada, a la mezcla le agregaron 0.1 ml de 2 mM de ácido ascórbico y se mantuvo sin agitación durante 24 h. Mediante MET pudieron observar que la adición de Tween 20 produjo cadenas de aproximadamente 7  $\mu\text{m}$  conformadas por cientos de AuNPs. Al reemplazar el surfactante por Tween 40, estas cadenas redijeron su longitud a aproximadamente 1  $\mu\text{m}$ . Por otro lado, el empleo de Tween 60 resultó desfavorable debido a la producción de poliedros de AuNPs de morfologías irregulares y elevada distribución de tamaño.

En otra investigación, Lee y col. [92] produjeron un ensamble mesoporoso de AuNPs en dos pasos, el primero fue sintetizar AuNPs mezclando 500 ml de 1 mM de  $\text{HAuCl}_4$  con 50 ml de 38.8 mM de citrato de sodio, la mezcla se calentó hasta punto de ebullición con agitación constante hasta obtenerse un cambio de coloración de amarillo a rojo vino. Se mantuvo a esa temperatura durante 10 min en agitación constante después de retirarse la fuente de calor durante 15 min adicionales. El segundo paso consistió en adicionar una cantidad calculada de polietilenglicol tiolado a 100 ml del coloide de AuNPs, la mezcla se mantuvo en agitación durante 3 h, tiempo en el cual el sobrenadante se tornó incoloro y ocurrió la formación de precipitados de color negro. Mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) lograron apreciar que los precipitados obtenidos fueron AuNPs enlazadas formando un material mesoporoso. Ellos atribuyen al polietilenglicol tiolado la desestabilización de las AuNPs, eliminando las cargas negativas del citrato de sodio en la superficie de las AuNPs, induciendo el ensamblaje de las AuNPs.

Por otro lado, Zhao y col. [93] realizaron una variación del método mediante el uso de cloruro de polidialildimetilamonio (poliDADMAC) como agente coagulante. Este proceso consistió



principalmente en tres pasos; la preparación de un coloide de AgI, la reducción del AgI y la formación del ensamble en un sustrato de cuarzo. En un vaso de precipitado con 50 ml de agua destilada añadieron 2.5 ml de 0.01 M de  $\text{AgNO}_3$  y 5 ml de 0.01 M de ácido 3-mercaptopropionico y se mantuvo bajo agitación constante durante 10 min. Después de este tiempo, se agregaron mediante goteo 2.5 ml de 0.01 M de KI y se mantuvo durante 20 min con agitación constante para obtenerse el coloide de AgI. Posteriormente, agregaron 20 mg de  $\text{NaBH}_4$  a la solución coloidal continuando la agitación durante 20 min, obteniéndose un coloide de AgNPs. Finalmente, una placa de cuarzo se recubrió mediante inmersión con una mezcla de poliDADMAC al 0.9% y el coloide de AgNPs. Mediante microscopía de fuerza atómica pudieron observar la formación de una capa saturada y uniforme de AgNPs en la placa de cuarzo.

### ***2.2.2. Mecanismo de síntesis por reducción química***

En términos generales, el método por reducción química consta de varios procesos, en donde se involucran la nucleación, crecimiento y estabilización de las nanopartículas. Durante el proceso de formación de las nanopartículas ocurre una nucleación homogénea, el cual es un fenómeno muy estudiado que ocurre cuando un sistema inicialmente estable termodinámicamente cambia a un estado metaestable como resultado de fluctuaciones térmicas sin la interacción alguna de impurezas o sustratos añadidos, cuando esto último ocurre, el fenómeno se denomina nucleación heterogénea, la cual puede llevarse a cabo a condiciones de baja sobresaturación comparado con la nucleación homogénea, la cual necesita de un sistema de elevada sobresaturación [94].

Algunas teorías disponibles para comprender la nucleación homogénea se basan en enfoques fenomenológicos, cinéticos y moleculares. Los modelos fenomenológicos son los postulados que intentan explicar la teoría de la nucleación mediante el cálculo de energía libre de la formación de agrupaciones de átomos teniendo como base modelos para partículas macroscópicas [95]. Los modelos cinéticos de nucleación evitan el uso de los valores de tensión superficial, pero permiten el empleo de las energías provenientes de interacciones moleculares [96]. Por último, los modelos moleculares son aquellos que intentan explicar un fenómeno mediante el uso de valores provenientes de cálculos a nivel microscópico o mediante simulación [97].



La teoría clásica de la nucleación es el primer postulado que se basa en un enfoque fenomenológico muy utilizado y aproximado para el estudio de fenómenos basados en nucleación homogénea que permite predecir velocidades de nucleación. Esta teoría proviene de una serie de investigaciones en la primera mitad del siglo pasado elaboradas por Volmer y Weber [98], Becker y Döring [99], y Frenkel [100]. Esta teoría se basa en el fenómeno de condensación de vapor a líquido que se puede extender a otros sistemas en equilibrio líquido-sólido como la cristalización de material fundido o de soluciones. El cambio de energía libre de un sistema durante la nucleación homogénea de un núcleo esférico de radio  $r$  está dado por la siguiente ecuación:

$$\Delta G = 4\pi r^2 \sigma - \frac{4}{3}\pi r^3 \cdot \frac{RT \ln S}{v} = 4\pi r^2 \sigma + \frac{4}{3}\pi r^3 \Delta G_v \quad (2.1)$$

Donde el segundo término representa la contribución de la energía libre volumétrica a  $\Delta G$ ,  $4\pi r^3/3v$  representa el número de moléculas en un agregado de radio  $r$ ,  $S$  es la relación de sobresaturación de vapor,  $\sigma$  es la energía superficial específica de la interfase entre una gota condensada y el vapor de los alrededores. Para los núcleos de mayor radio  $r$ , el primer término predomina permitiendo la disminución de  $\Delta G$  ya que representa la disminución de la energía de la transición de vapor a líquido. Cuando  $r$  es menor, el segundo término predomina representando la formación de una nueva superficie, resultando en un incremento de  $\Delta G$ , de este modo, los dos términos de la ecuación 2.1 dependen de forma diferente del valor del radio  $r$ , por lo que el cambio de la energía libre de formación  $\Delta G$  alcanza un valor máximo cuando se alcanza un valor de radio crítico del núcleo  $r^*$ , en donde la formación de núcleos alcanza un valor mínimo, y conforme aumenta o disminuye el valor del radio respecto a  $r^*$ , la formación de núcleos aumenta o los embriones se disuelven, respectivamente (Figura 2.7). Cuando el valor de  $r$  se convierte en el radio crítico  $r^*$  se obtiene un valor máximo de  $\Delta G$ , que corresponde al cambio crítico de energía libre  $\Delta G^*$ , lo anterior permite obtener la ecuación del radio crítico  $r^*$  empleando la ecuación 2.1, sustituyendo el valor de  $r$  por  $r^*$ , derivando la ecuación resultante, igualándola a cero y despejando  $r^*$  da como resultado la siguiente expresión:

$$r^* = - \frac{2\sigma}{\Delta G_v} \quad (2.2)$$



Ya conocida la ecuación del radio crítico  $r^*$  se sustituye en la ecuación 2.1, resultando en una ecuación cuadrática cuyo primer valor crítico de energía libre  $\Delta G^*$  es igual a cero cuando el sistema está en equilibrio termodinámico y no ocurre nucleación, por otro lado, el segundo valor se puede determinar usando la siguiente ecuación:

$$\Delta G^* = \frac{16\pi\sigma^3}{3\Delta G_v^2} \quad (2.3)$$

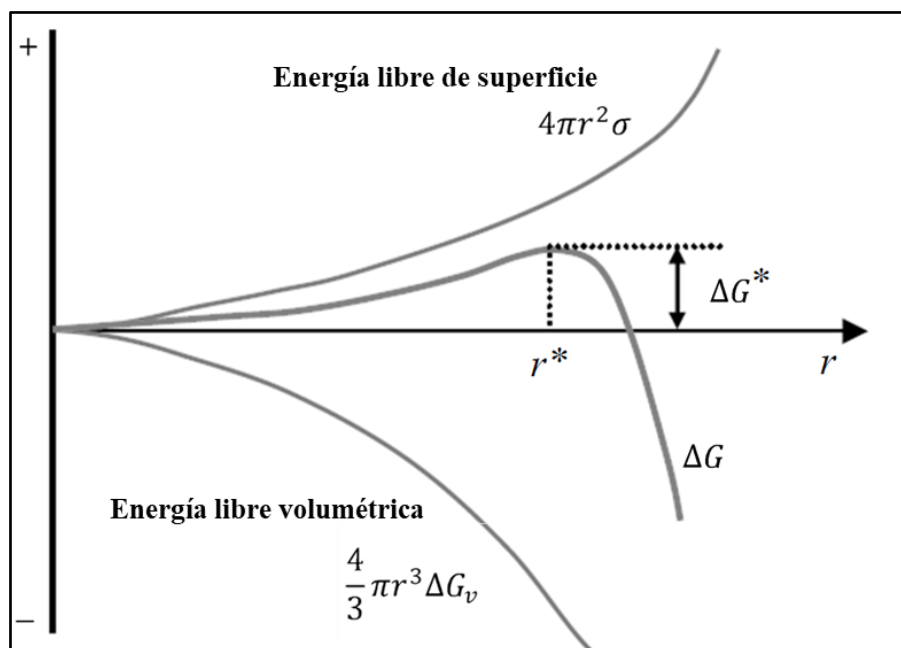


**Figura 2.7.** Representación gráfica del cambio de energía libre volumétrica, energía libre superficial y energía libre total, como función del radio del núcleo.

El núcleo de radio crítico se encuentra en un estado metaestable de equilibrio con el vapor, y la adición de moléculas disminuye la energía libre propiciando la formación de más núcleos. La velocidad de nucleación  $J$ , que representa el número de núcleos en un volumen por unidad de tiempo, puede ser expresada mediante la ecuación de Arrhenius de la siguiente forma:

$$J = Ae^{-\frac{\Delta G^*}{kT}} \quad (2.4)$$



Donde A es un factor determinado por consideraciones cinéticas, k es la constante de Boltzmann y T es la temperatura. Al sustituir  $\Delta G^*$  de la ecuación 2.3 se obtiene la expresión final de la tasa de nucleación:

$$J = Ae^{-\frac{16\pi\sigma^3}{3kT\Delta G_v^2}} \quad (2.5)$$

La energía libre de formación de un agregado, la velocidad de nucleación y el tamaño son parámetros clave en la mayoría de las investigaciones enfocadas a la nucleación homogénea.

En general, existen algunas aseveraciones de la teoría clásica de la nucleación que ayudan a comprender claramente el fenómeno de nucleación homogénea. Una de ellas es que el núcleo puede describirse en base a las propiedades macroscópicas, tales como densidad y estructura, de la fase estable. Por otro lado, se considera el núcleo como un individuo esférico que posee una interfase marcada entre estados físicos, la interfase líquida se aproxima a un plano independientemente del tamaño crítico del núcleo. Lo anterior es conocido como aproximación capilar y puede ser acertado para núcleos relativamente grandes, no obstante, la curvatura de la superficie de núcleos muy pequeños es muy pronunciada provocando notables discrepancias, además, la aseveración de que los núcleos son esféricos es discutible debido a que hay compuestos que cristalizan de forma cúbica a muy pequeña escala, tal como el NaCl. Sin embargo, a pesar de sus limitaciones, la teoría clásica de nucleación actualmente sirve como una plataforma muy útil para describir y predecir la nucleación, ya que se basa en información experimentalmente accesible.

Como se mencionó anteriormente, la formación de nanopartículas en solución se origina a partir de un sistema en sobresaturación, la cual disminuye conforme ocurre el proceso de nucleación y crecimiento, de este modo, dado que el radio crítico depende directamente del grado de sobresaturación, los núcleos se vuelven estables conforme transcurre el tiempo hasta formarse pequeñas partículas cristalinas.

En 1950, LaMer y Dinegar [101] realizaron un estudio explicando cómo el grado de sobresaturación cambia respecto al tiempo durante la precipitación de partículas en un coloide y con ello propusieron el modelo de LaMer, en el cual se describe las diferentes etapas de formación de nanopartículas conforme transcurre el tiempo (Figura 2.8). La primera etapa se

denomina etapa de prenucleación o de inducción, y consiste en la disolución de los compuestos precursores, los cuales reaccionan químicamente produciéndose la formación de las especies que conformarán los núcleos, por lo tanto, la concentración aumenta conforme se van generando estas especies hasta alcanzar un valor crítico de concentración necesario para que se supere el valor de radio crítico que conllevará al crecimiento de las nanopartículas. En este punto, el sistema pasa de un estado metaestable a inestable en donde se inicia el proceso de nucleación [102]. Durante esta etapa, la concentración decrece hasta un valor en donde las especies en solución comienzan a precipitarse sobre la superficie de los núcleos formados hasta que la concentración alcanza valores cercanos al valor crítico de solubilidad. Durante esta etapa, denominada etapa de crecimiento, pueden formarse partículas nanométricas o partículas de mayor tamaño; el aumento de tamaño no solo puede ocurrir por medio de difusión de especies primarias, sino que también mediante procesos de agregación y coalescencia que dan lugar a formaciones no consideradas por el modelo de LaMer.

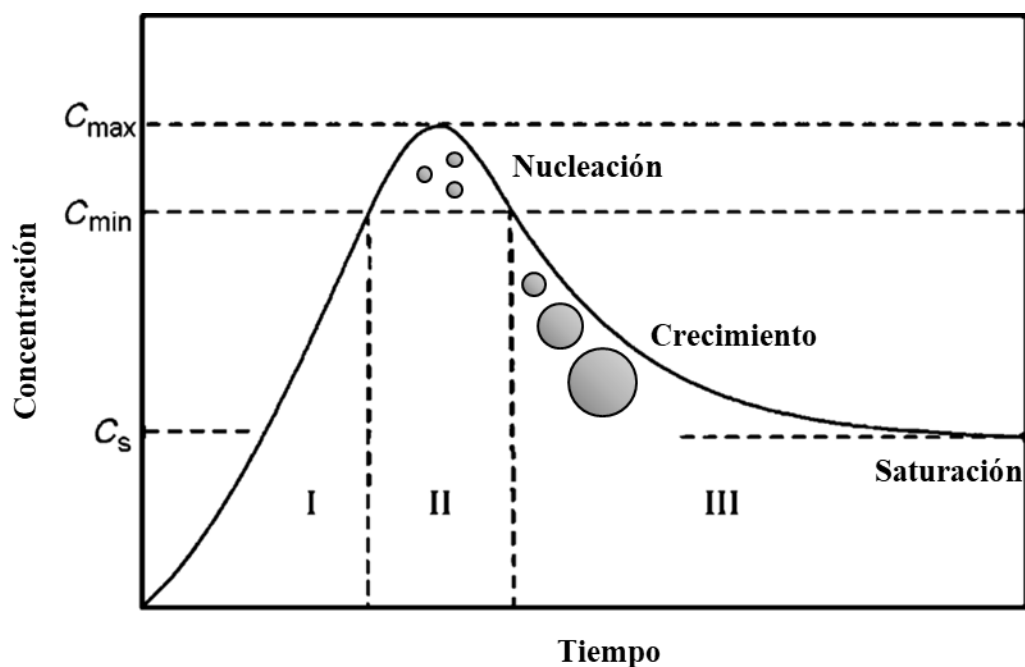


**Figura 2.8.** Modelo de LaMer y sus diferentes etapas: (I) prenucleación, (II) nucleación y (III) crecimiento por difusión [103].



Con base en lo descrito anteriormente, se puede concluir que la formación de soluciones coloidales en condiciones de sobresaturación consiste en una secuencia de eventos interdependientes, sin embargo, en ocasiones estos eventos no suceden en sucesión, sino que pueden ocurrir de manera simultánea, por ejemplo, pueden ocurrir eventos de nucleación en donde ya estén ocurriendo eventos de crecimiento, ya sea por difusión o por agregación y coalescencia.

Por lo general, es de suma importancia que los procesos de nucleación y crecimiento se den por separado para que las nanopartículas producidas tengan características morfológicas uniformes [101]. La separación entre estas etapas se puede lograr si la tasa de formación de núcleos es muy elevada, en estas circunstancias la nucleación súbita disminuye rápidamente la concentración de las especies primarias por debajo de la concentración mínima, por lo tanto, es una etapa que se lleva a cabo en muy poco tiempo que antecede al proceso de crecimiento. La interdependencia entre estas dos etapas puede utilizarse para modificar controladamente el tamaño, la uniformidad y la estructura cristalina de las nanopartículas, por ejemplo, un tiempo muy reducido de nucleación propicia la formación de un gran número de núcleos y una caída súbita de la concentración, lo cual resulta en un proceso de crecimiento muy limitado, en cambio, si el tiempo de generación de núcleos es muy prolongado, se obtendrá un número reducido y la concentración disminuirá muy lentamente, lo cual lleva a un proceso de crecimiento de mayor tiempo y, por lo tanto, se obtendrán partículas de mayor tamaño. Por otra parte, si la tasa de nucleación es excesiva, el número de núcleos es muy grande, lo cual puede resultar en procesos secundarios de crecimiento como la agregación irreversible o coalescencia, sin embargo, lo anterior puede modularse mediante la adición o modificación de agentes estabilizantes en la solución.

El fenómeno de la cristalización en soluciones sobresaturadas es complejo y en muchas ocasiones los efectos cinéticos predominan sobre los efectos termodinámicos. Lo anterior se puede describir por medio de la regla de Ostwald [104], la cual establece que un sistema inestable no necesariamente cambia directamente a un estado de mayor estabilidad, sino que puede pasar previamente por uno o varios estados intermedios, produciendo la menor cantidad posible de pérdida de energía libre. La regla de Ostwald no aplica para todos los sistemas sobresaturados y no se puede explicar empleando solamente argumentos termodinámicos, sino que llega a



entenderse solamente mediante los efectos cinéticos de la precipitación en soluciones homogéneas [105].

Dado que la energía asociada a los átomos de la superficie de una nanopartícula es mayor que la de los átomos de su interior, los núcleos de mayor tamaño presentan mayor estabilidad en solución que los de menor tamaño debido a la diferencia entre las proporciones entre área superficial y volumen, por lo tanto, los núcleos de mayor tamaño tienden a crecer a expensas de los de menor tamaño, los cuales se disuelven. El fenómeno anterior se le denomina maduración de Ostwald y es un fenómeno asociado a la regla de Ostwald [106].

Como se ha mencionado anteriormente, un factor de alta importancia que determina la formación de nanopartículas en soluciones sobresaturadas es la estabilización en el medio solvente, dentro de este existen diversas interacciones entre partículas, entre ellas las fuerzas de Van der Waals e interacciones magnetostáticas, que pueden ser contrarrestadas mediante otras fuerzas de repulsión para evitar el crecimiento excesivo o los procesos secundarios como la agregación irreversible o coalescencia. En general, la estabilización de nanopartículas en un coloide se logra mediante el recubrimiento o encapsulado de cada nanopartícula por medio de la adsorción de moléculas estabilizadoras [107].

Las nanopartículas en suspensión coloidal son consideradas liofóbicas, es decir, que en la superficie no tienen afinidad por el medio dispersante, lo que puede producir atracción entre ellas formando partículas de mayor tamaño, para evitar esto, se pueden añadir sustancias cuyas moléculas sean anfifílicas (una parte liofílica y otra liofóbica), la parte liofóbica se adsorbe en la superficie de las nanopartículas y la parte liofílica queda expuesta interactuando con el medio dispersante, adquiriendo una carga eléctrica que repele las nanopartículas unas de otras (Figura 2.9(a)). Además, estos estabilizadores reducen la alta tensión superficial y proveen de una barrera estérica permitiendo la obtención de partículas de pocos nanómetros de diámetro. Por otro lado, también existen sustancias que proveen iones que se adsorben en la superficie de las nanopartículas produciendo una capa eléctrica en la superficie que atrae las cargas opuestas del medio dispersor generando un potencial de Coulomb suficiente para evitar la agregación entre partículas (Figura 2.9(b)).

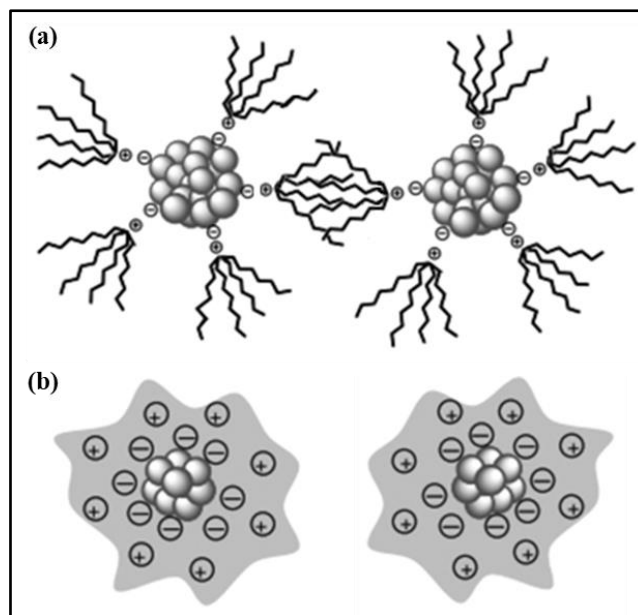


**Figura 2.9.** Tipos de estabilización en coloides: (a) estabilización estérica y (b) estabilización electrostática [107].

Al existir una gran variedad de estabilizadores que interactúan con las nanopartículas metálicas, es posible manipular las interacciones que ocurren dentro del coloide, modulando el grado de agregación entre nanopartículas o características como tamaño y forma, variando la naturaleza o tipo de agente estabilizante. Es posible añadir un surfactante adecuado para la agregación espontánea controlada de nanopartículas para la obtención de materiales autoensamblados, los cuales pueden formarse dentro de la solución [108] o durante la evaporación del medio solvente depositado sobre un sustrato [109]. Estas estructuras tienen la característica principal de que están conformadas de nanopartículas obtenidas previamente que fueron empleadas como ladrillos de construcción, y pueden generar una gran variedad de arquitecturas, como pueden ser anillos, esferas, elipsoides o redes.

Además de controlar el grado de agregación o estabilización, es posible elegir agentes estabilizantes que solo se adsorben en algunos planos cristalinos, lo cual puede inhibir el crecimiento de las nanopartículas solamente en estas superficies generando un crecimiento anisotrópico diferente al característico del material dando lugar a la formación de nuevas morfologías que serían inestables en otras condiciones [110].



Una variante de gran importancia de la síntesis por reducción química es la denominada síntesis verde, la cual ha sido un método emergente y extensivamente estudiado en las últimas dos décadas que se basa en los principios de la química verde. La síntesis verde es el tema principal de esta investigación doctoral y, por lo tanto, se abordará como un tema aparte.

### 2.3. Química verde

El desarrollo y la implementación de nuevas tecnologías y metodologías enfocadas a la reducción de impacto ambiental pernicioso son de gran importancia en la actualidad debido al alarmante incremento en la contaminación ambiental. Por lo anterior, es importante encontrar una relación estrecha entre los aspectos químicos y ambientales.

La síntesis por reducción química convencional ha destacado debido a que es un método de elevada eficiencia para la obtención de nanopartículas de características aptas para sus diversas aplicaciones, sin embargo, muchas de las sustancias empleadas pueden ser nocivas para los seres vivos, provocando que la disposición final de los residuos de síntesis sea relativamente complicada y limitando las aplicaciones biológicas de las nanopartículas obtenidas [111]. Por ejemplo, el  $\text{NaBH}_4$  es un agente reductor ampliamente empleado para la síntesis de AgNPs, sin embargo, es un compuesto que puede producir severa irritación y quemaduras a la piel, nariz, garganta y ojos y, en casos extremos, una afección del sistema nervioso (PubChem CID: 4311764). Además, es un compuesto altamente reactivo que en presencia de agua o humedad genera hidrógeno, y en presencia de algunos ácidos fuertes produce gases venenosos como el diborano. Por lo anterior, es importante realizar modificaciones al método con el fin de disminuir al máximo el riesgo a los seres vivos y lograr la obtención de nanomateriales aptos para aplicaciones biológicas.

Con base en lo anterior, fue implementada una rama de la química llamada química verde [112], la cual se define como la utilización de un conjunto de principios que reducen o eliminan el empleo o la producción de sustancias dañinas durante el diseño, manufactura y aplicación de los productos de reacción. Estos principios consisten en un conjunto de aseveraciones, las cuales son:



1. Es preferible evitar la generación de residuos que darles una disposición final después de generarlos.
2. Los métodos de síntesis deben diseñarse de tal modo que se aprovechen al máximo los reactivos iniciales para minimizar al máximo los subproductos.
3. Siempre que sea posible, los métodos de síntesis deben ser diseñados de tal manera que las sustancias empleadas y los desechos generados tengan nula o muy poca toxicidad.
4. Los productos de síntesis deben ser diseñados de tal manera que mantengan sus propiedades o eficacia mientras que a la vez reduzcan su toxicidad.
5. Si es posible, se debe evitar el uso de sustancias que no sean imprescindibles, pero si es necesario emplear alguna, debe ser inocua.
6. Los requerimientos energéticos son catalogados por su impacto ambiental, por lo que deberá emplearse la menor cantidad de energía posible y, si es permitido, emplear métodos que puedan llevarse a cabo a temperatura y presión ambiental.
7. De ser posible, las materias primas deben ser renovables en vez de agotables.
8. Se evitará en lo posible la generación de derivados.
9. Es preferible la utilización de catalizadores reutilizables para disminuir el consumo de reactivos.
10. Los productos de reacción deben ser diseñados de modo que al final de su vida útil no persistan en el ambiente o que logren transformarse en productos inocuos.
11. Se deben implementar métodos de análisis para permitir el monitoreo y control en tiempo real de los procesos, previo a la formación de sustancias perjudiciales.
12. Se deben elegir sustancias que minimicen el riesgo de accidentes, incluidas las emanaciones, explosiones e incendios.

Como puede observarse, escalar estos principios a nivel industrial y de investigación es todo un desafío que conlleva un análisis muy metódico de todo el proceso, sin embargo, los resultados no solo pueden reflejarse en una reducción considerable de residuos perjudiciales al ambiente, sino que también pueden reflejarse en una reducción energética o el empleo de sustancias de origen natural que pueden obtenerse a un costo muy reducido.



### 2.3.1. Síntesis verde

En la actualidad, la utilización de nanopartículas metálicas ha recibido mucha atención debido a sus propiedades únicas y atractivas debidas al reducido tamaño, por lo tanto, es importante que su producción sea económicamente viable y sustentable [113]. En las últimas décadas se ha llevado a cabo una enorme cantidad de investigaciones que aprovechan diversos sistemas biológicos, tales como bacterias, hongos, levaduras y plantas, para la transformación de iones metálicos a nanopartículas. Lo anterior es resultado de la necesidad actual de reducir los problemas a escala global derivados de la contaminación desmedida.

La obtención de productos de reacción que sean respetuosos al medio ambiente mediante un proceso sustentable es el principal aspecto que debe cumplirse de la síntesis verde, con base en los principios de la química verde. Para solventar las desventajas de la síntesis por reducción química convencional se sustituyen los agentes reductores y estabilizantes por materia natural y biodegradable. La producción de nanopartículas metálicas puede llevarse a cabo mediante el empleo de algunas partes de plantas, microorganismos, hongos, algas o enzimas, los cuales mediante distintos mecanismos de reducción y estabilización, son capaces de producir nanopartículas metálicas de características aceptables sin la adición de algún otro compuesto.

La síntesis de nanopartículas por medio de microorganismos se lleva a cabo mediante su propio mecanismo de defensa, en el cual la resistencia de sus células ante los iones precursores es la principal responsable. Una elevada concentración de iones metálicos es generalmente tóxica para las células de los microorganismos, para evitar la muerte celular, las mismas células convierten los iones en átomos estables que posteriormente conformarán las nanopartículas, sin embargo, si se produce una cantidad excesivamente concentrada de nanopartículas, los microorganismos pueden morir. La mayoría de los microorganismos pueden resistir algunas variaciones de las condiciones ambientales, tales como el pH, temperatura y presión, sin embargo, su empleo es muy limitado debido a que existe un tiempo en donde las células están en contacto directo con las nanopartículas, lo cual puede llevar a la muerte de la estructura celular [114]. Uno de los primeros reportes de síntesis de nanopartículas mediante el uso de microorganismos fue desarrollado el 1999 por Klaus y col. [115], en donde cultivaron *Pseudomonas stutzeri* en un sustrato de agar que contenía una cantidad controlada de 50 mM de  $\text{AgNO}_3$  durante 48 h a 30 °C. Mediante estudios de microscopía electrónica se dieron cuenta que estas bacterias poseen un



mecanismo de defensa ante los iones de plata que consiste en la reducción y acumulación de plata en su interior en grandes cantidades, las cuales consisten en AgNPs cristalinas de diversas morfologías y tamaños.

La gran abundancia de especies de algas y su fácil obtención las hace apropiadas para ser incluidas en la investigación de obtención de nanopartículas metálicas [116]. La síntesis de nanopartículas puede llevarse a cabo generalmente en tres etapas: la preparación del extracto de alga en agua o en algún solvente orgánico empleando temperatura, la preparación de soluciones de sales precursoras y la incubación de la mezcla del extracto con la sal precursora bajo condiciones específicas [117]. La obtención de nanopartículas depende directamente de la relación entre la concentración del extracto de alga y de la solución del precursor, así como también depende del tipo de alga empleado. Existe una variedad de biomoléculas responsables de la reducción de los iones precursores, tales como polisacáridos, péptidos y pigmentos, por otra parte, la estabilización de las nanopartículas se lleva a cabo mediante la acción de proteínas, mediante grupos amino y polisacáridos sulfatados [116]. Una de las primeras investigaciones reportadas empleando algas fue publicada en 2007 por Singaravelu y col. [118], en donde mezclaron 1 g de polvo seco de *Sargassum wightii* con 100 ml de 1 mM de  $\text{HAuCl}_4$ , la mezcla la mantuvieron en agitación constante durante 15 h, hasta observarse un cambio de coloración de amarillo a rojo rubí.

La síntesis de nanopartículas mediante el uso de hongos es muy empleada debido a la facilidad de manipulación de la materia orgánica, el reducido costo y la gran capacidad de reproducción, además, muestran elevada tolerancia a los metales y pueden secretar grandes cantidades de proteínas y enzimas extracelulares que contribuyen a la estabilidad de las nanopartículas [119]. El mecanismo de síntesis de nanopartículas empleando hongos puede darse de manera intracelular o extracelular. En el caso de la síntesis intracelular, el precursor se deposita en el micelio de los hongos para que se internalice en la biomasa por medio de las hifas, por lo tanto, la extracción de las nanopartículas es requerida después de la síntesis empleando un tratamiento químico, centrifugación y filtración [120]. Por otra parte, la síntesis extracelular consiste en la adición del precursor en un extracto filtrado de hongos, resultando en la formación de un coloide en la mezcla [121]. Uno de los primeros reportes de la síntesis de nanopartículas empleando hongos fue publicado en 2001 por Mukherjee y col. [122], este trabajo consistió en la adición de  $\text{HAuCl}_4$

sobre células de *Verticillium sp.* mediante inmersión durante 72 h, hasta obtenerse un cambio de coloración de amarillo a morado, obteniendo AuNPs de alrededor de 20 nm en la pared celular, así como en la membrana citoplasmática.

### 2.3.2. Síntesis verde mediante el uso de plantas

Las variantes de la síntesis por reducción química mediante un enfoque sustentable representan una ventaja debido a su simplicidad, costo, reproducibilidad y reducido impacto ambiental, además, generalmente no se requiere condiciones especiales de presión, energía, temperatura o la adición de compuestos tóxicos. La producción de nanopartículas empleando diversas partes de plantas es la variante más empleada de la síntesis verde de nanopartículas debido a que, comparada con las anteriores, es más simple, económica y segura para los seres vivos.

Las plantas son seres que han demostrado la habilidad de absorber y degradar iones metálicos por sí mismas en su entorno natural, debido a que en su interior las plantas producen una gran cantidad de compuestos orgánicos que ayudan a la remoción y degradación de contaminantes ambientales [123]. Los extractos pueden obtenerse de varias partes de las plantas, tales como flores, tallos, resinas, hojas, semillas y frutos, los cuales poseen características únicas entre ellas (Figura 2.10).



**Figura 2.10.** Diferentes partes de las plantas.



Un factor de gran importancia en las características finales de las nanopartículas es la naturaleza de la planta, ya que cada una contiene una mezcla diferente de compuestos reductores y estabilizantes de diversas características. La reducción y estabilización de las nanopartículas es un fenómeno muy complejo debido a que se encuentra involucrada una gran variedad de compuestos, los cuales algunos de ellos se pueden catalogar como alcaloides, taninos, saponinas, terpenoides y compuestos fenólicos [124].

En resumen, el desarrollo de métodos eficientes de síntesis verde mediante el uso de plantas, teniendo en cuenta la producción de nanopartículas de tamaño, forma y estabilidad bien definidos, es de gran importancia debido a las siguientes razones:

- La síntesis por reducción química convencional emplea sustancias sintéticas, tales como  $\text{NaBH}_4$  y etilenglicol, que son peligrosas para el ambiente y se adsorben en la superficie de las nanopartículas, haciendo que su remoción sea muy complicada, en cambio, la síntesis verde emplea sustancias naturales, las cuales no son dañinas para el medio ambiente.
- La adquisición de plantas es muy sencilla debido a la inmensa cantidad de especies aptas para la síntesis, disponibles en casi cualquier parte del mundo.
- Las nanopartículas producidas mediante este método son más estables y su velocidad de obtención es mayor que empleando microorganismos u hongos.
- La producción de nanopartículas es económica en comparación a la síntesis química convencional debido a la gran diferencia de precios entre las plantas y los reactivos sintéticos para la síntesis.
- Los extractos de plantas tienen una inmensa variedad de compuestos que pueden actuar tanto como agentes reductores como agentes estabilizantes.
- La presencia de una enorme variedad de biomoléculas en los extractos de plantas incrementa la velocidad de obtención de nanopartículas.
- Durante la síntesis no se requiere alta temperatura, presión u otro tipo de energía adicional.

- El medio dispersante mayormente empleado es el agua, sin la adición de otros solventes contaminantes.
- La síntesis verde empleando plantas no requiere de equipos o instrumentación sofisticada y costosa.

### 2.3.3. Síntesis verde de nanopartículas de Au mediante el uso de plantas

Shankar y col. [125] publicaron en 2003 uno de los primeros reportes de síntesis de AuNPs empleando plantas mediante la reducción de  $\text{HAuCl}_4$  propiciada por el extracto acuoso de hojas de *Pelargonium graveolens*. Mezclaron 20 g de hojas finamente segmentadas con 100 ml de agua destilada y la llevaron a punto de ebullición durante 1 min, la solución fue decantada, filtrada y 5 ml del extracto fue añadido a 100 ml de 1 mM de  $\text{HAuCl}_4$  y la reacción se mantuvo durante 48 h a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, la solución experimentó un cambio de coloración de amarillo a rojizo. Mediante MET pudieron observar que se produjeron AuNPs de diferentes formas (Figura 2.11), predominantemente decaedrales e icosaédricos, y de diferentes tamaños desde 20-40 nm, además mostraron una variación de contraste que sugiere que las AuNPs son de múltiple maclado.

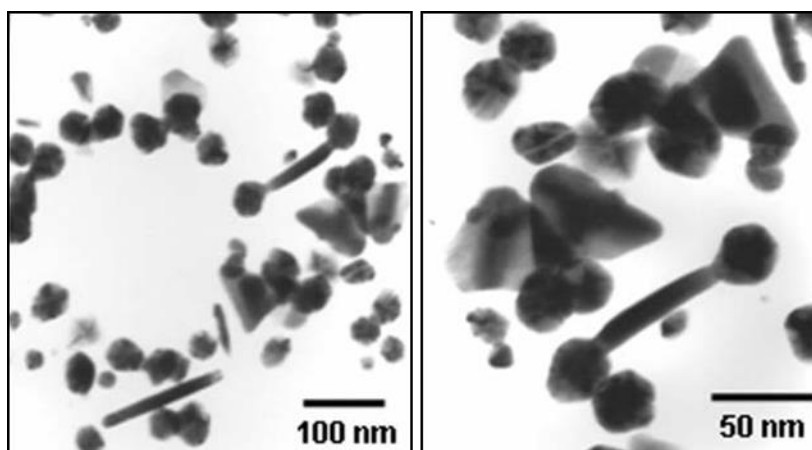


**Figura 2.11.** Imágenes de MET de AuNPs obtenidas mediante el extracto acuoso de hojas de *Pelargonium graveolens* [125].

Cuando la reacción entre la sal precursora de oro y las sustancias de las plantas se lleva a cabo, debe ocurrir un cambio de coloración, el cual dependerá de las características finales de las AuNPs, tales como el tamaño y la morfología. El tamaño de las AuNPs influye directamente en la posición del pico de absorción de UV-Vis, el cual debe estar entre 500-600 nm para morfologías esféricas, por ejemplo, Njoki y col. [126] esquematizaron con claridad que cuando el tamaño promedio de las AuNPs se incrementa, se produce un desplazamiento del máximo de la banda hacia valores mayores de longitud de onda (Figura 2.12).

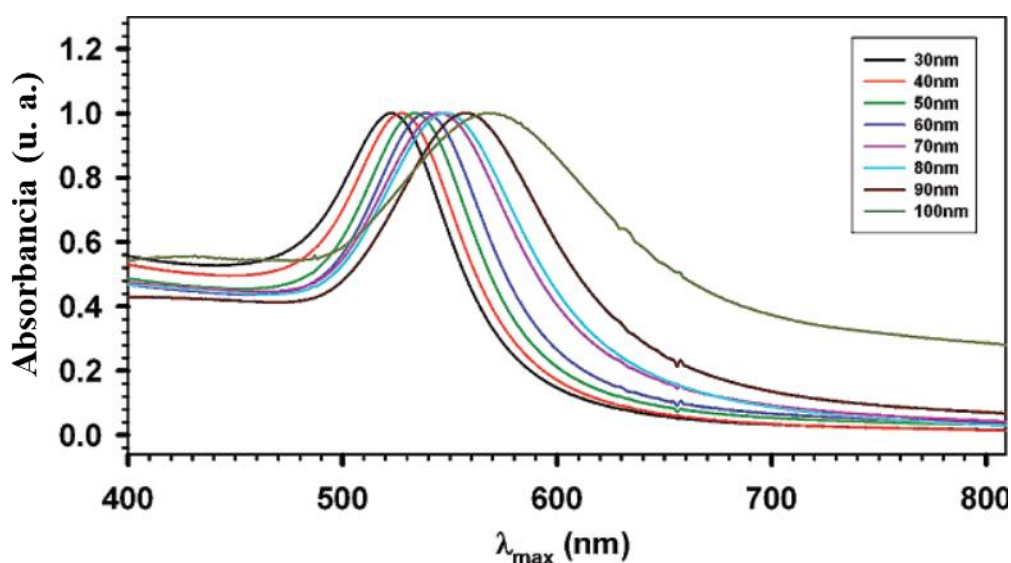


**Figura 2.12.** Espectro de UV-Vis de AuNPs de diferentes tamaños [126].

Por otro lado, existen reportes que indican que la morfología de las AuNPs también influye en la posición de la banda de absorción, por ejemplo, Klekotko y col. [127] obtuvieron una mezcla de morfologías esféricas y triangulares de AuNPs mediante el uso de extracto de *Mentha piperita*. El espectro de UV-Vis (Figura 2.13) muestra la presencia de dos bandas de absorción, la primera está situada en 540 nm y corresponde a AuNPs esféricas, mientras que la segunda, situada a 840 nm, indica la presencia de AuNPs con crecimientos anisotrópicos.

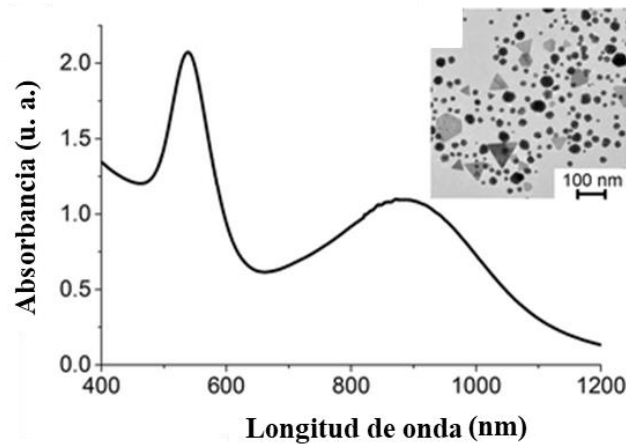


**Figura 2.13.** Espectro de UV-Vis de AuNPs de diferentes morfologías [127].

Para entender la correlación entre la posición del pico de absorción y el tamaño y la forma de las AuNPs se puede realizar un análisis basado en la teoría de Mie ajustada para partículas de tamaño menor que la longitud de onda de la luz incidente, en donde la absorción es causada principalmente por la oscilación de dipolo eléctrico [128], y es representada en la ecuación 2.6:

$$\frac{\gamma}{NV} = \frac{18\pi e_{\alpha}^{3/2}}{\lambda} \left( \frac{\epsilon_2}{(\epsilon_1 + 2\epsilon_{\alpha})^2 + \epsilon_2^2} \right) \quad (2.6)$$

En donde  $\gamma$  es el coeficiente de extinción, N es el número de esferas por unidad de volumen, V es el volumen de cada esfera,  $\epsilon_{\alpha}$  es la constante dieléctrica del medio, y  $\epsilon_1$  y  $\epsilon_2$  son la parte real e imaginaria del oro, de acuerdo a la teoría de Mie. Mientras la constante dieléctrica del medio es relacionada con el índice de refracción, la dependencia de la banda de absorción de las AuNPs de diferentes tamaños o espesores puede ser considerada como un resultado del incremento del índice de refracción efectivo de las AuNPs [129].

Mediante el empleo de plantas, muchos investigadores han logrado obtener AuNPs de diversas formas y tamaños empleando una gran variedad de plantas endémicas de diversos sitios del mundo. En la Tabla 2.3 se presenta una revisión bibliográfica correspondiente a artículos de síntesis verde empleando plantas para la obtención de AuNPs.



**Tabla 2.3.** Ejemplos de reportes de síntesis de AuNPs empleando diversas plantas.

| Planta                        | Parte empleada              | Tamaño (nm) | Morfología             | Referencia |
|-------------------------------|-----------------------------|-------------|------------------------|------------|
| <i>Curcuma pseudomontana</i>  | Aceite                      | 20          | Esferas                | [130]      |
| <i>Mangifera indica</i>       | Hojas                       | 17-20       | Esferas                | [131]      |
| <i>Solanum nigrum</i>         | Hojas                       | 50          | Esferas                | [132]      |
| <i>Eucommia ulmoides</i>      | Corteza                     | 16          | Esferas                | [133]      |
| <i>Hovenia dulcis</i>         | Fruto                       | 15-20       | Esferas y hexágonos    | [134]      |
| <i>Bischofia javanica</i>     | Hojas                       | 10-30       | Esferas                | [135]      |
| <i>Abelmoschus esculentus</i> | Semillas                    | 45-75       | Esferas                | [136]      |
| <i>Lansium domesticum</i>     | Piel del fruto              | 20-40       | Triángulos y hexágonos | [137]      |
| <i>Geranium</i>               | Hojas                       | 8-20        | Variado                | [138]      |
| <i>Pistacia integerrima</i>   | Protuberancias de las hojas | 20-200      | Esferas                | [139]      |
| <i>Vitis</i>                  | Semillas                    | 20-25       | Esferas                | [140]      |
| <i>Aerva lanata</i>           | Hojas                       | 18          | Esferas                | [141]      |
| <i>Croton Caudatus Geisel</i> | Hojas                       | 20-50       | Esferas                | [142]      |
| <i>Morinda citrifolia</i>     | Raíz                        | 12-38       | Esferas                | [143]      |
| <i>Cinnamomum zeylanicum</i>  | Hojas                       | 25          | Nanoprismas y esferas  | [144]      |
| <i>Terminalia arjuna</i>      | Hojas                       | 20-50       | Esferas                | [145]      |
| <i>Phoenix dactylifera</i>    | Hojas                       | 35-45       | Esferas                | [146]      |
| <i>Krishna Tulsi</i>          | Hojas                       | 30          | Esferas                | [147]      |
| <i>Murraya koenigii</i>       | Hojas                       | 20          | Esferas                | [148]      |
| <i>Hibiscus rosasinensis</i>  | Hojas                       | Variable    | Variado                | [149]      |

#### 2.3.4. Síntesis verde de nanopartículas de Ag mediante el uso de plantas

Una de las primeras investigaciones de síntesis verde mediante el uso de plantas fue realizada en 2003 por Gardea y col. [150] empleando *Medicago sativa*, la cual es la primera investigación reportada referente a la producción de AgNPs en plantas vivas. Las raíces de *M. sativa* tienen la

capacidad de absorber plata proveniente de un medio de agar y transferirla a la parte superior de la planta en el mismo estado de oxidación, en donde los átomos de plata se unen unos con otros para formar las AgNPs. Mediante MET (Figura 2.14) pudieron observar que las AgNPs obtenidas dentro de la planta viva tienen un tamaño entre 2-4 nm.

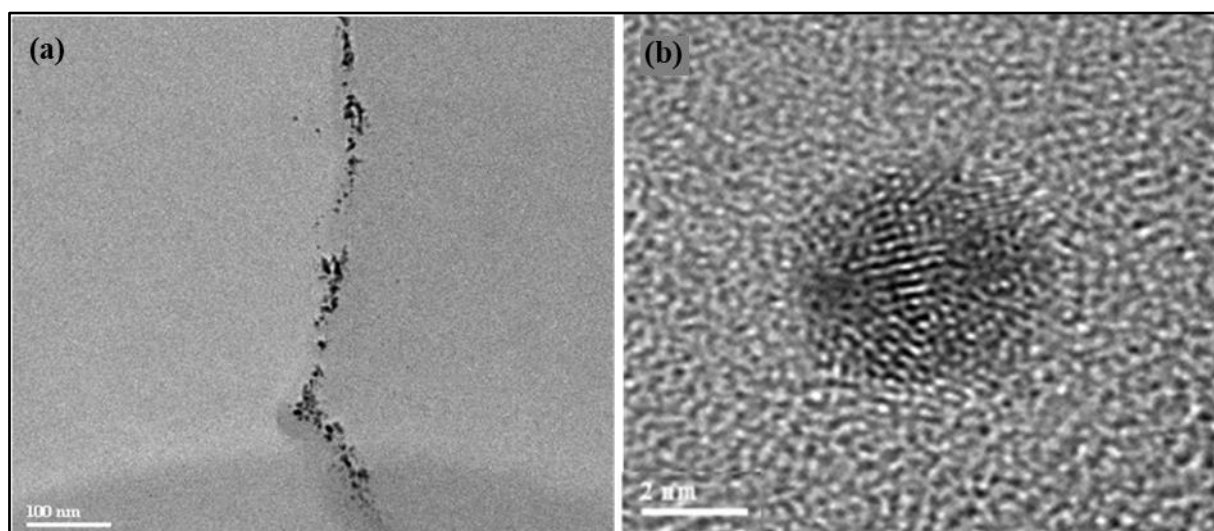


**Figura 2.14.** Imágenes de MET de AgNPs obtenidas en *Medicago sativa*: (a) imagen AgNPs en el interior del tallo, (b) imagen de alta resolución de una nanopartícula [150].

Uno de los primeros indicativos de la obtención de AgNPs es el cambio de coloración en la reacción, en ocasiones el cambio de la concentración final de las AgNPs puede atenuar la coloración del coloide, mostrándose colores marrones o cobrizos [151]. Sin embargo, la morfología de las AgNPs es un factor importante que influyen en la coloración final, por ejemplo, se ha reportado que las AgNPs de morfologías planas exhiben un color azulado en el coloide [152].

Con base en estas características ópticas, es posible caracterizar los coloides de AgNPs mediante espectroscopía UV-Vis. La posición y la intensidad de las bandas de absorbancia dependen principalmente de los mismos factores que influyen en la coloración del coloide. Se ha reportado que un aumento en el tamaño de las AgNPs provoca un corrimiento de la banda hacia longitudes

de onda mayores (Figura 2.15) dentro del rango característico de aparición de las AgNPs, que consta de 400-500 nm. Paramelle y col. [153] realizaron una investigación sistemática que provee una clara relación entre el tamaño promedio de las AgNPs y la posición de la banda de absorción (Tabla 2.4).

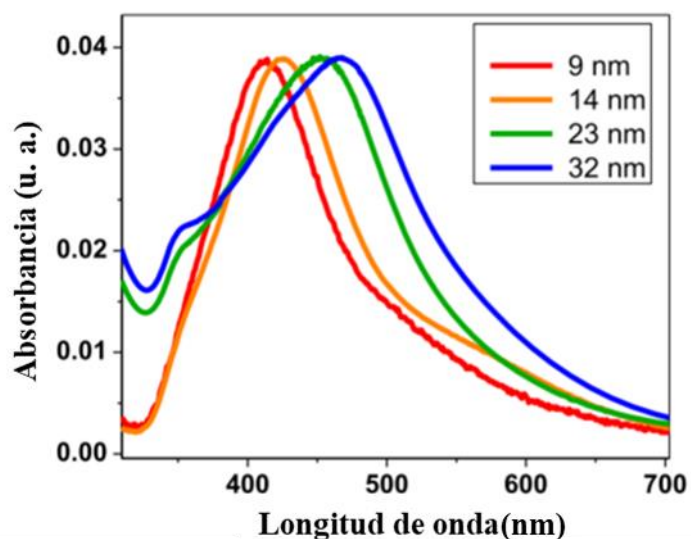


**Figura 2.15.** Espectro de UV-Vis de AgNPs de diferentes tamaños [154].

**Tabla 2.4.** Longitud de onda respecto al tamaño promedio de AgNPs [153].

| Diámetro (nm) | Longitud de onda (nm) |
|---------------|-----------------------|
| 10            | 392.1                 |
| 20            | 400.8                 |
| 30            | 405.6                 |
| 40            | 412.3                 |
| 50            | 420.9                 |
| 60            | 431.5                 |
| 70            | 443.8                 |
| 80            | 458.3                 |
| 90            | 474.6                 |
| 100           | 492.8                 |

Además del tamaño, la morfología de las AgNPs influye en la posición del pico de absorción, a diferencia de la influencia del tamaño, este corrimiento puede ser más amplio. Por ejemplo, Xie y col. [155] lograron obtener AgNPs de morfologías esféricas y de morfologías planas mediante la variación de la intensidad de una luz inducida. Mediante espectroscopía UV-Vis y MET (Figura 2.16) lograron observar la influencia directa de la morfología en la posición de las bandas de absorción, el espectro de UV-Vis (Figura 2.16(a)) muestra que ocurrió una transformación morfológica de esfera a plano respecto al tiempo, obteniéndose un incremento paulatino de la banda situada en 748 nm, correspondiente a las AgNPs planas. Mediante MET se puede apreciar que las AgNPs tenían morfología esférica antes de la inducción de luz (Figura 2.16(b)), después de 18 h las AgNPs se convirtieron casi en su totalidad en planos triangulares (Figura 2.16(c)).

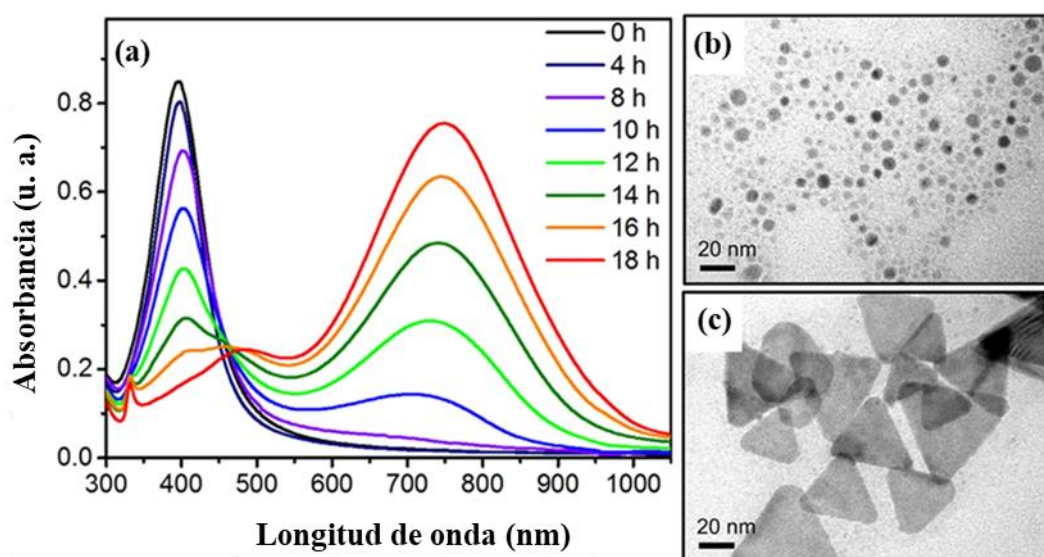


**Figura 2.16.** (a) Espectro de UV-Vis, imágenes de MET de (b) AgNPs antes de la irradiación y (c) después de 18 h de irradiación [155].

En la Tabla 2.5 se muestra un resumen de la revisión bibliográfica de diversas publicaciones de síntesis verde empleando plantas para la obtención de AgNPs de diferentes tamaños y formas empleando una gran variedad de plantas.



**Tabla 2.5.** Ejemplos de reportes de síntesis de AgNPs empleando diversas plantas.

| Planta                          | Parte empleada | Tamaño (nm) | Morfología | Referencia |
|---------------------------------|----------------|-------------|------------|------------|
| <i>Ocimum basilicum</i>         | Raíz           | 10          | Esferas    | [156]      |
| <i>Carica papaya</i>            | Hojas          | 50-250      | Esferas    | [157]      |
| <i>Caesalpinia coriaria</i>     | Hojas          | 40-52       | Triángulos | [158]      |
| <i>Aerva lanata</i>             | Hojas          | 18          | Esferas    | [141]      |
| <i>Beta vulgaris</i>            | Raíz           | 15          | Esferas    | [159]      |
| <i>Boerhavia diffusa</i>        | Toda la planta | 25          | Esferas    | [160]      |
| <i>Artocarpus heterophyllus</i> | Semillas       | 10          | Irregular  | [161]      |
| <i>Parkia speciosa</i> Hassk.   | Vaina          | 20-50       | Esferas    | [162]      |
| <i>Musa</i>                     | Piel de fruto  | 23          | Esferas    | [163]      |
| <i>Emblica officinalis</i>      | Fruto          | 15          | Esferas    | [164]      |
| <i>Biophytum sensitivum</i>     | Hojas          | 19          | Esferas    | [21]       |
| <i>Ananas comosus</i>           | Hojas          | 12          | Esferas    | [165]      |
| <i>Lakshmi Tulasi</i>           | Hojas          | 42          | Triángulos | [166]      |
| <i>Crataegus douglasii</i>      | Fruto          | 29          | Esferas    | [167]      |
| <i>Annona squamosa</i>          | Hojas          | 20-100      | Esferas    | [168]      |
| <i>Eucalyptus oleosa</i>        | Hojas          | 21          | Esferas    | [169]      |
| <i>Delonix elata</i>            | Hojas          | 35-45       | Esferas    | [170]      |
| <i>Coriandrum sativum</i>       | Semillas       | 13          | Esferas    | [171]      |
| <i>Catharanthus roseus</i>      | Hojas          | 27-30       | Esferas    | [172]      |
| <i>Artemesia nilagirica</i>     | Hojas          | 70-90       | Cubos      | [173]      |

### 2.3.5. Mecanismo de síntesis de nanopartículas de Au y Ag

Para que pueda llevarse a cabo la reacción y obtención de las nanopartículas es necesario que ocurra una reacción química entre los metabolitos del extracto de planta y los iones metálicos.



Algunos parámetros importantes que determinan las características finales de las nanopartículas son el tipo de metabolitos, concentración del extracto de planta, concentración de los iones precursores, pH y temperatura. Se ha demostrado que los metabolitos de las plantas poseen un potencial para la reducción de iones metálicos en comparación a los hongos y microorganismos, los cuales requieren de mayor tiempo de síntesis.

La composición de la planta es un factor de gran importancia debido a que puede variar en gran medida entre especies, sin embargo, los principales componentes de las plantas que pueden participar en la reducción de los iones metálicos son las flavonas, terpenoides, azúcares, cetonas, aldehídos, ácidos carboxílicos y amidas [174]. Los flavonoides contienen diversos grupos funcionales con una elevada capacidad de reducción de iones metálicos; un átomo de hidrógeno se libera de los grupos funcionales durante la reacción provocando un cambio de la forma enol a ceto, la cual es un proceso clave en la formación de AgNPs [156]. Los azúcares, tales como la glucosa y fructosa, también son compuestos reductores de las plantas; la glucosa es capaz de participar en la formación de nanopartículas de diferentes tamaños y formas, mientras que la fructosa propicia la formación de nanopartículas monodispersas [175]. Por otro lado, los aminoácidos, tales como la cisteína y la arginina, son compuestos que puede participar como reductores y estabilizadores a la vez. Tan y col. [176] realizaron una investigación en donde obtuvieron AuNPs mediante la reacción de los 20  $\alpha$ -aminoácidos naturales con solución de  $\text{HAuCl}_4$ , concluyendo que el uso de estos compuestos derivan en un mayor control en la cinética de reacción y, en consecuencia, en el tamaño y forma de las AuNPs. Con base en estudios de FTIR, se confirmó que los grupos funcionales éter, carbonilo, alqueno y cetona, presentes en flavonoides, alcaloides y fenoles, pueden actuar como agentes estabilizadores de nanopartículas [177].

Existen miles de compuestos diferentes presentes en las plantas que pueden actuar como agentes reductores y estabilizantes durante la síntesis de AuNPs y AgNPs, por lo tanto, el mecanismo se explicará mediante ejemplos. Singh y col. [178] realizaron la publicación de una investigación referente a la síntesis de AuNPs y AgNPs mediante el uso de extracto de *Szygyium aromaticum*, en la cual proponen un mecanismo de síntesis. Inicialmente, identificaron un total de 23 componentes, siendo el eugenol el de mayor proporción (77 %), seguido del  $\beta$ -cariofileno (17 %),  $\alpha$ -cariofileno (2 %) y acetato de eugenol (1 %). Para poder proponer un mecanismo de síntesis,

analizaron mediante FTIR el extracto de *S. aromaticum* y el sobrenadante resultante de la centrifugación del coloide obtenido después de la síntesis, obteniendo un espectro de FTIR que proporciona información de los cambios químicos de los grupos funcionales que exclusivamente participaron en la reacción, los cuales sirvieron para la deducción del mecanismo. En el espectro de FTIR (Figura 2.17) se puede apreciar una banda de alta intensidad en  $\sim 3200\text{ cm}^{-1}$  antes de la reducción, sin embargo, desapareció después de completarse la síntesis. Esto es debido a que el grupo funcional hidroxilo reaccionó y se transformó generando cambios estructurales en la molécula del eugenol, como resultado de esto, se apreció la formación de bandas situadas en  $\sim 1600$  y  $\sim 2915\text{ cm}^{-1}$ , correspondientes a grupos carbonilo y alqueno, respectivamente.

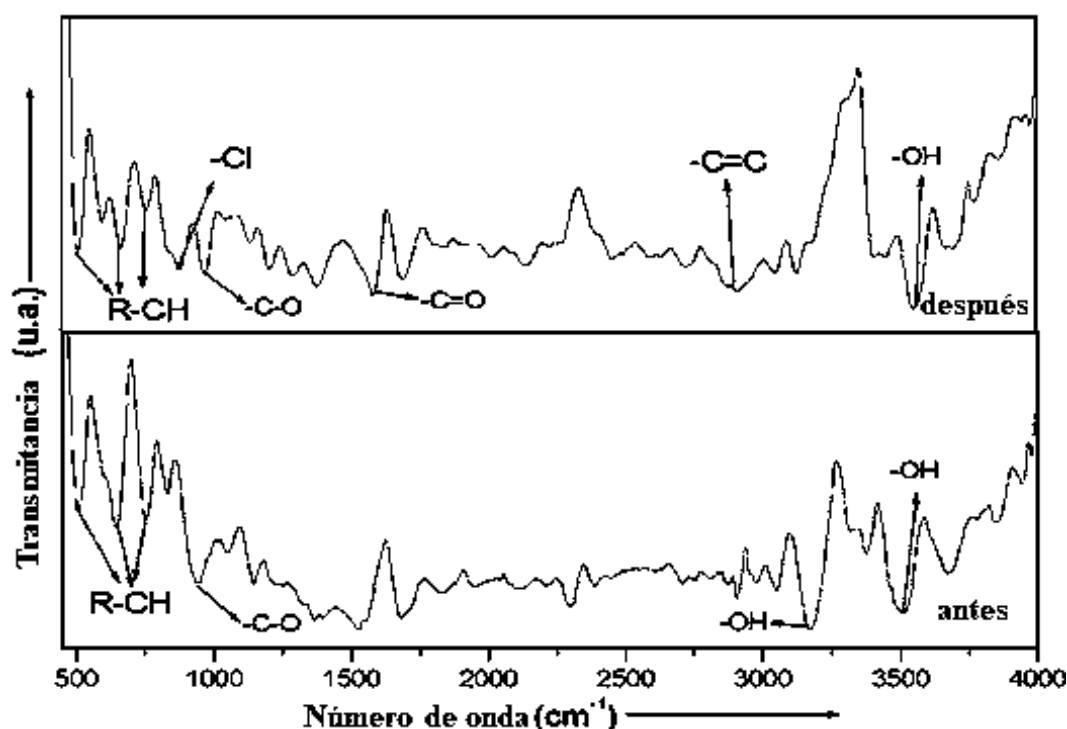


**Figura 2.17.** Espectro de FTIR del extracto de *Szygyium aromaticum* antes y después de la síntesis de AuNPs [178].

El análisis de FTIR indicó la presencia de bandas en  $\sim 500$ ,  $\sim 750$  y  $\sim 3200\text{ cm}^{-1}$ , confirmando la presencia de grupos metoxilo, alilo e hidroxilo del eugenol, respectivamente. En base a los

resultados de FTIR, Singh y col. pudieron deducir un mecanismo de reacción (Figura 2.18), en el cual se esquematiza que debido a la presencia de los grupos metoxilo y alilo en las posiciones orto y para en el anillo de benceno, respectivamente, el poder reductor se incrementa debido a que el grupo hidroxilo se convierte en un grupo activante fuerte (dirigente orto-para) que activan el anillo bencénico mediante un efecto resonante (I) [179]. Posteriormente, la presencia del grupo hidroxilo promueve la liberación de un protón y el eugenol cambia a su forma aniónica (II). Por lo anterior, el eugenol es capaz de liberar dos electrones simultáneamente, para después estabilizarse en las formas III y IV. Un electrón existente en la estructura IV se libera y es seguido por otro electrón debido a la nube electrónica del grupo  $\text{CH}_2$  adyacente a los dobles enlaces, estos dos electrones son cedidos a los iones de oro o plata para reducirlos a sus formas cerovalentes. Finalmente, la forma V se convierte a la forma VI al desprenderse un protón.

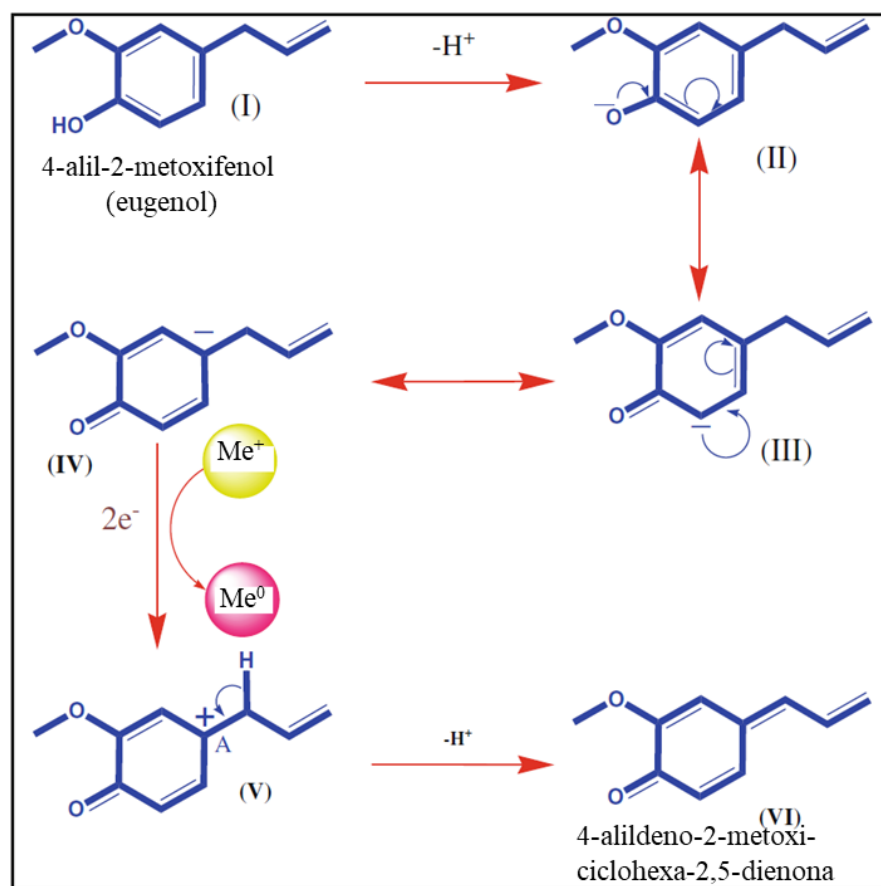


**Figura 2.18.** Mecanismo de reducción de iones metálicos mediante el uso de eugenol [178].

Otros autores que propusieron un mecanismo de síntesis fueron Castillo y Pal [180], quienes sintetizaron AuNPs empleando el extracto acuoso de la raíz de *Solanum tuberosum*. Esta raíz contiene D-glucosa, que es una aldohexosa que consta de seis átomos de carbono (hexosa) y un grupo funcional aldehído en un extremo. Durante la síntesis, se llevaron a cabo varias reacciones entre la aldohexosa y los iones de  $\text{Au}^{3+}$ , cuyo proceso se esquematizó en la Figura 2.19. En la Figura 2.19(a) se puede apreciar que estos iones se atrajeron al oxígeno de los grupos funcionales aldehídos debido a sus electrones libres, resultando en la reducción a iones  $\text{Au}^{2+}$  (I), luego ocurre una sustitución nucleofílica, en donde el radical hidroxilo queda unido a la cadena de seis carbonos (II). Debido a la inestabilidad del átomo de carbono en la presencia del ion hidroxilo, el hidrógeno se separa y transfiere su electrón al ion  $\text{Au}^{2+}$ , reduciéndolo a  $\text{Au}^+$  y provocando que el oxígeno del grupo carbonilo vuelva a obtener su doble enlace, de este modo la aldohexosa se convierte en ácido glucónico (III). Finalmente, el ion  $\text{Au}^+$  se reduce a su forma cerovalente mediante un proceso similar (Figura 2.19(b)).

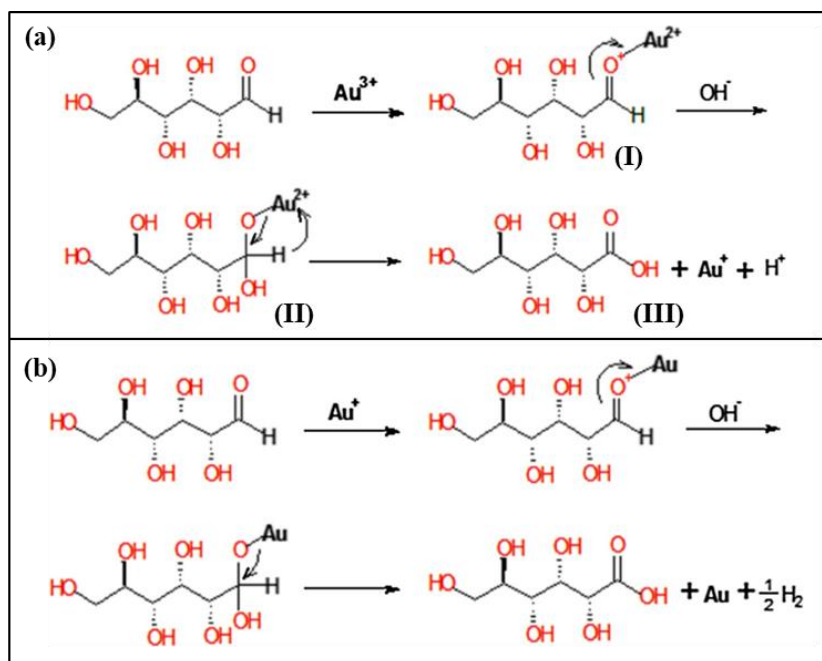


**Figura 2.19.** Mecanismo de reducción de los iones (a)  $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^+$  y (b)  $\text{Au}^+ \rightarrow \text{Au}^0$  [180].

El comportamiento reductor del grupo funcional aldehído ha sido estudiado a través de pruebas de Tollens mediante la reducción de iones de plata [181], además también se ha estudiado el potencial reductor de la aldohexosa mediante la variación de condiciones [182].

El extracto de *S. tuberosum* empleado, además de contener aldohexosa, contiene cadenas cortas de amilosa y amilopectina, estas tienen una unidad de D-glucosa en uno de los extremos que no contiene carbono anomérico formando un enlace glucosídico. Este extremo tiene características reductoras y se oxida en la presencia de iones de oro, transformándose en un extremo de ácido glucónico (Figura 2.20(a)). La carga negativa del oxígeno del grupo hidroxilo del ácido glucónico interactúa con la carga de la superficie de las AuNPs por medio de una interacción electrostática, provocando su unión. Por otro lado, los grupos hidroxilo de las cadenas de amilopectinas y los grupos hidroxilo externos de la amilosa se unen a la superficie de las AuNPs mediante una interacción electrostática, de este modo se propicia la estabilización de las AuNPs (Figura 2.20(b)).

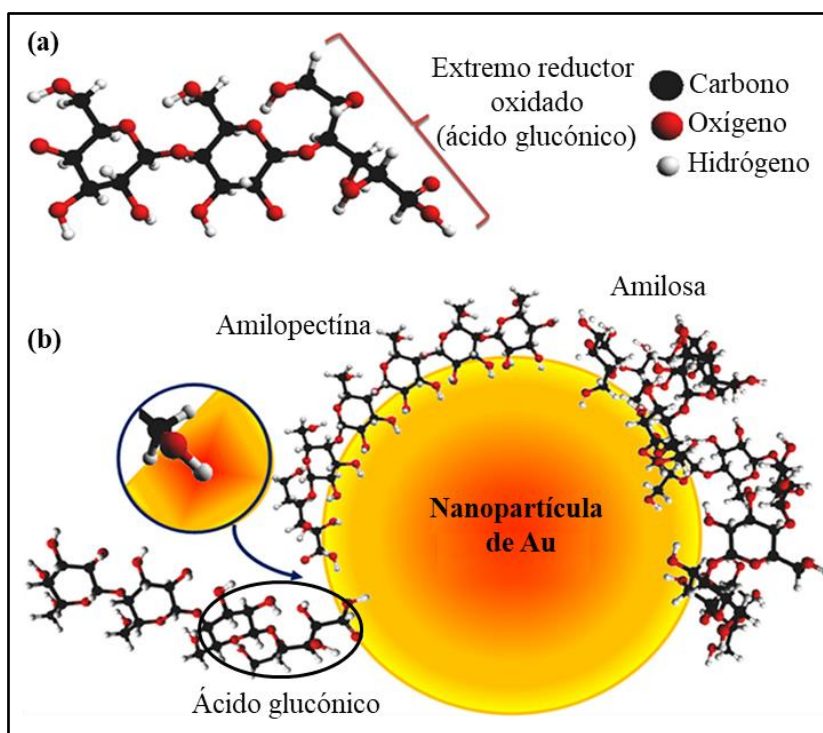


**Figura 2.20.** (a) Polisacárido con un extremo reductor oxidado y (b) modelo de estabilización de AuNPs [180].



### 2.3.6. Síntesis verde de nanomateriales autoensamblados mediante el uso de plantas

Existen numerosos reportes basados en el autoensamblado de nanoestructuras modulando las interacciones internas, externas o mediante el uso de plantillas para la obtención de materiales autoensamblados de una variedad de nanopartículas, incluidas las de oro, plata, platino, poliestireno, sílice, entre otras. Sin embargo, los reportes de materiales autoensamblados de oro y/o plata mediante el empleo y modulación de los compuestos presentes en extractos de plantas son muy limitados. Por lo tanto, en esta sección se abordarán algunos de los trabajos más relevantes reportados que sirvieron como base de esta tesis.

Raliya y Biswas [183] sintetizaron AuNPs empleando un extracto proteínico de hojas de *Solanum lycopersicum L.*, y favorecieron el autoensamblaje de las AuNPs mediante el uso de L-cisteína. Para la extracción de las proteínas de las hojas, mezclaron 1 g de hojas frescas en 10 ml de ácido tricloroacético al 10% en acetona a baja temperatura. Esta mezcla la mantuvieron a -2°C hasta que se generó un precipitado de proteínas. Posteriormente, las AuNPs las obtuvieron mezclando solución de  $\text{HAuCl}_4$  con el extracto de proteínas en proporción 1:1 a temperatura ambiente, sin agitación y en ausencia de cualquier tipo de luz durante 72 h. Una vez obtenidas las AuNPs, se mezclaron con una solución de L-cisteína en relación 1:1 y realizaron un monitoreo mediante dispersión dinámica de luz (DLS) en intervalos de tiempo y con diferentes concentraciones de L-cisteína (Figura 2.21), en donde pudieron apreciar que el diámetro hidrodinámico crece proporcionalmente con el aumento de la concentración de L-cisteína, la cual funcionaliza las AuNPs y las une unas con otras.

Korbekandi y col. [184] obtuvieron cadenas cortas de AgNPs empleando extracto alcohólico de hojas de *Quercus brantii* (Figura 2.22). Mezclaron 200 g de polvo de hoja con 500 ml de alcohol al 70% y filtraron la mezcla mediante percolación, para después ser secado mediante liofilización. Para la obtención de AgNPs realizaron la mezcla de 1 mM de  $\text{AgNO}_3$  con el extracto en polvo y dejaron reaccionar durante 24 h sin especificar proporciones o condiciones de agitación. Mediante análisis de MET, los autores lograron apreciar la formación de AgNPs esféricas ensambladas en cadenas cortas.

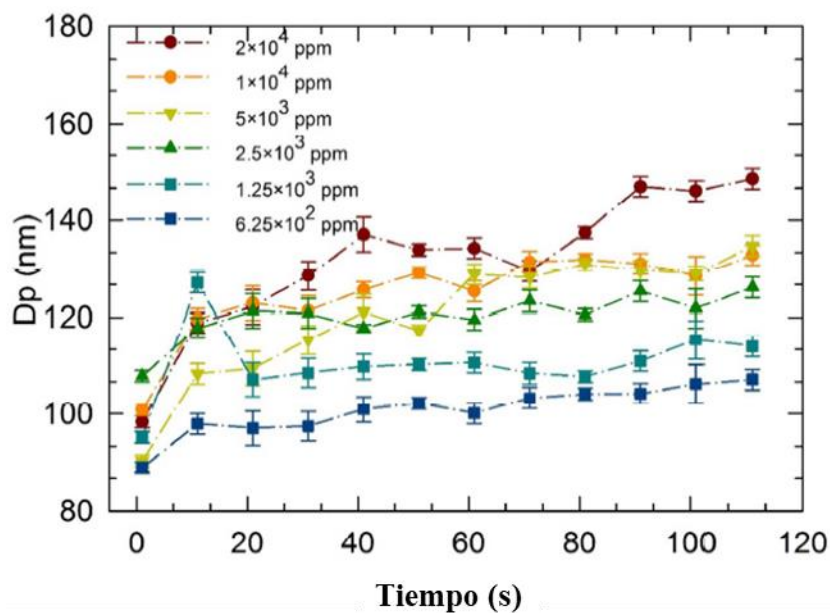


**Figura 2.21.** Gráfica de DLS del diámetro hidrodinámico en función de la concentración de L-cisteína [183].

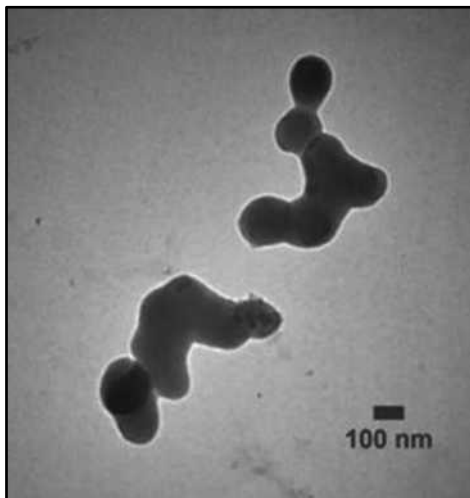


**Figura 2.22.** Imagen de MET de una cadena de AgNPs obtenida con *Quercus brantii* [184].

Otro ejemplo destacado de síntesis de autoensambles mediante el uso de plantas es el trabajo publicado por Zamora y col. [185], en el cual reportaron la formación de ensambles conformados por AuNPs y AgNPs mediante el uso de extracto acuoso de *Aloysia triphylla*. El extracto de hoja

lo realizaron mezclando 3 g de polvo de hoja con 100 ml de agua desionizada mediante agitación magnética, a 60 °C durante 30 min. La síntesis la efectuaron mezclando 5 ml de extracto con 2 ml de 12 mM de  $\text{AgNO}_3$  y 5 ml de 5 mM de  $\text{HAuCl}_4$ , después de unos minutos, la solución cambio de color amarillo a violeta oscuro. Mediante MEB lograron observar que los ensambles obtenidos tenían dimensiones macroscópicas entre 0.5-2.5  $\mu\text{m}$  y estuvieron compuestos de AuNPs y AgNPs de tamaño entre 20-35 nm. Mediante un mapeo elemental de MEB (Figura 2.23), pudieron observar que los ensambles obtenidos contienen los elementos Ag, Au y Cl, lo cual indica que estos ensambles contienen AuNPs, AgNPs y Cl, muy probablemente en forma de  $\text{AgCl}$ .

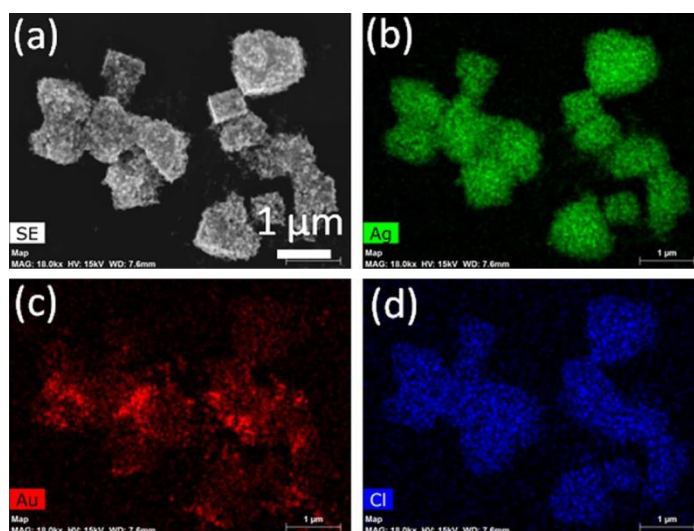


**Figura 2.23.** (a) Imagen de MEB de ensambles de Au/Ag obtenidos mediante el uso de *Aloisia triphylla* y mapeo químico de elementos (b) Ag, (c) Au y (d) Cl [185].

### 2.3.7. Mecanismo de síntesis de nanomateriales autoensamblados

Diversos mecanismos de obtención de nanomateriales autoensamblados pueden llevarse a cabo, los cuales involucran la manipulación de interacciones moleculares, fuerzas de van der Waals, interacciones electrostáticas, enlace de hidrógeno, enlaces de coordinación, fuerzas capilares, campos magnéticos o eléctricos, entre otros [186]. El autoensamblaje de nanopartículas empleando extracto de plantas puede deberse a la presencia de biomoléculas que actúan como ligandos o la baja concentración de biomoléculas estabilizantes.

Tomando como referencia la sección anterior, se explicarán algunos mecanismos de síntesis propuestos de trabajos realizados con el fin de explicar la formación de nanomateriales autoensamblados mediante síntesis verde empleando plantas.

Zamora y col. [185] obtuvieron ensambles macroscópicos conformados de AuNPs y AgNPs mediante el uso de extracto de *A. triphylla*. Para poder proponer el mecanismo de obtención realizaron un análisis de FTIR del extracto acuoso de la planta y el sobrenadante resultante de la síntesis (Figura 2.24). El espectro de FTIR muestra bandas intensas correspondientes a grupos funcionales OH, C=C y C-OH, los cuales corresponden a compuestos fenólicos, flavonoides y terpenoides, los cuales liberaron un hidrógeno de los grupos hidroxilo transfiriendo un electrón a los iones metálicos propiciando su reducción. Además, estos compuestos pueden propiciar la unión de varias nanopartículas actuando como ligandos al existir la presencia de grupos OH y C-OH en una misma molécula.

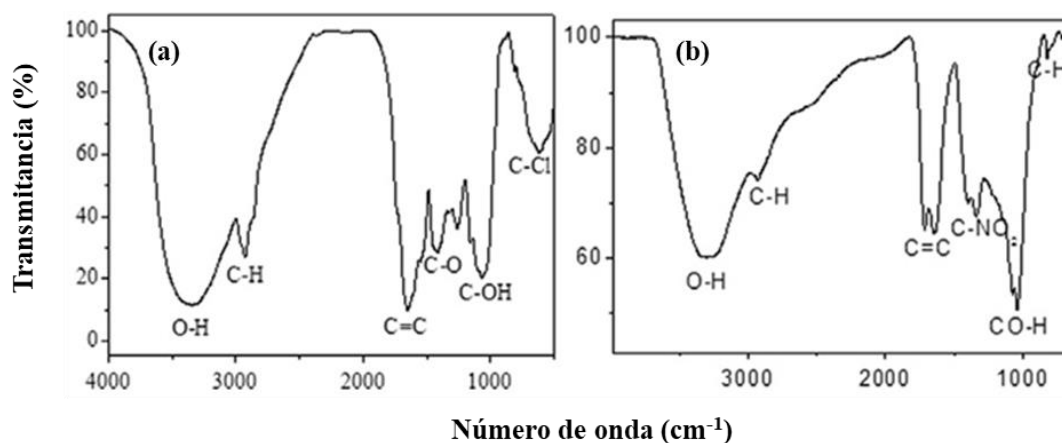


**Figura 2.24.** Espectros de FTIR de (a) extracto de *Aloysia triphylla* y (b) sobrenadante de la reacción [185].

Por otro lado, Raliya y Biswas [183] obtuvieron AuNPs empleando proteínas extraídas de hojas de *S. lycopersicum L.*, y realizaron el autoensamblaje de las AuNPs empleando L-cisteína. Los aminoácidos son considerados como agentes aptos para la funcionalización de AuNPs debido a la presencia de grupos  $\text{NH}_2$  y  $\text{SH}$ , los cuales tienen una gran afinidad por la superficie de las



AuNPs. La L-cisteína contiene ambos grupos funcionales, propiciando una asociación anisotrópica de los grupos SH permitiendo la formación de ensambles, mientras que los grupos OH ayudan a la estabilidad de las propias AuNPs.

## **2.4. Aplicaciones de las nanopartículas**

### **2.4.1. Degradación de colorantes orgánicos**

Una de las aplicaciones más importantes de la nanotecnología es la degradación y remoción de contaminantes en efluentes y cuerpos de agua, estos contaminantes provocan un elevado riesgo sanitario y ambiental, por lo que es necesario implementar nuevas tecnologías para su saneamiento. Las nanopartículas metálicas poseen excelentes propiedades derivadas de su elevada superficie específica y una gran reactividad química, lo que las hace aptas para la remoción y degradación de colorantes.

El mecanismo general de saneamiento de aguas residuales empleando nanopartículas consiste en la adsorción en la superficie de las nanopartículas, degradación fotocatalítica o la combinación de ambas. En el caso de la absorción, existen diversos estudios que funcionalizan las nanopartículas con carbón activado [187] o las soportan en sílice [188], los cuales son materiales adsorbentes muy empleados. Por otro lado, la fotocátalisis es el mecanismo principal, en donde los electrones excitados de la banda de valencia a la banda de conducción generan un par electrón-hueco, que a la vez generan un radical hidroxilo el cual actúa como un fuerte agente oxidante que degrada algunos colorantes a productos inocuos.

La oscilación colectiva de electrones debida a la resonancia del plasmón superficial desde la banda más externa hacia un estado de mayor energía resulta en una interacción con el oxígeno molecular del agua y la generación de radicales libres, mientras que los huecos positivos generados por la excitación electrónica aceptan un electrón del colorante adsorbido, para posteriormente reducirlo. Finalmente, el colorante se oxida por la acción de los radicales libres generados por la oxidación de los iones  $H^+$  formados por la partición de la molécula de agua (Figura 2.25) [189].

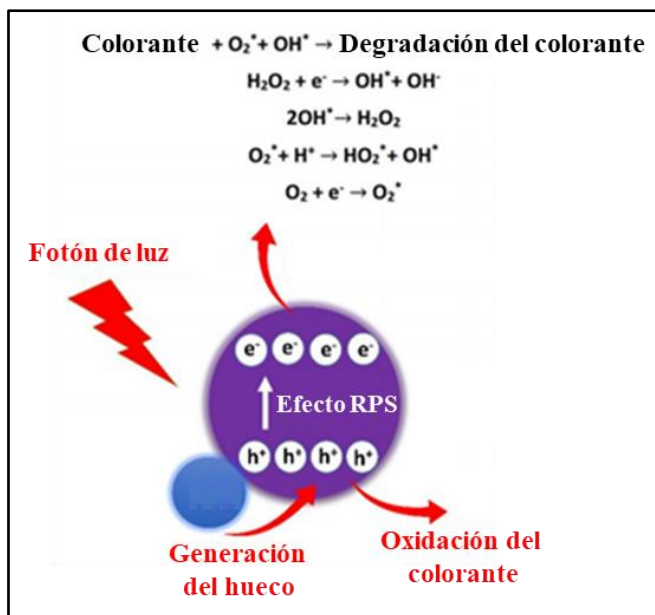


**Figura 2.25.** Mecanismo de degradación de colorantes [189].

Existen numerosos trabajos reportados en los que presenta la obtención de AuNPs y AgNPs mediante síntesis verde empleando una gran variedad de extractos de especies vegetales, tal como se puede apreciar en la Tabla 2.6 y la Tabla 2.7. Es permitido ratificar que las diferentes nanoestructuras de Au y Ag reportadas poseen una aceptable capacidad de degradación de colorantes en medio acuoso, sin embargo, muchos de estos trabajos reportan el empleo de  $NaBH_4$  para incrementar en gran medida el flujo electrónico que propició la degradación de las moléculas orgánicas. Esto resulta un tanto controversial dado que el  $NaBH_4$  es un compuesto corrosivo, tóxico e irritante, sin embargo, ampliamente utilizado en conjunto con las nanoestructuras para la remoción de contaminantes orgánicos, sin verificar la toxicidad final del medio analizado.

Mediante lo expuesto en la Tabla 2.6 y la Tabla 2.7, resulta poco práctico realizar una comparación directa entre los trabajos mencionados dado que cada autor empleó condiciones diferentes de análisis, tales como la relación de concentración entre nanopartículas y colorantes, la distinta naturaleza de los colorantes y de las nanoestructuras, la intensidad luminosa y la adición de otras sustancias. No obstante, es posible realizar un análisis del efecto del cambio de tamaño de partícula y de morfología, dado que la degradación de colorantes es un fenómeno que



se lleva a cabo en la superficie de las nanoestructuras, por lo tanto, es de esperarse que un menor tamaño o una diferencia en morfología resulte en una mayor eficiencia del proceso [190].

**Tabla 2.6.** Ejemplos de reportes de síntesis verde de AuNPs y aplicación en degradación de colorantes.

| Planta                          | Morfología             | Tamaño (nm) | Colorante                                   | Eficiencia de degradación (%/min) | Referencia |
|---------------------------------|------------------------|-------------|---------------------------------------------|-----------------------------------|------------|
| <i>Dalbergia coromandeliana</i> | Esferas                | 10          | Rojo congo y naranja de metilo              | 99/10 y 99/8                      | [191]      |
| <i>Plumeria alba</i>            | Esferas                | 15-28       | Azul de metileno, 4-nitrofenol y rojo congo | 92/70, 97/10 y 98/60              | [46]       |
| <i>Pogestemon benghalensis</i>  | Esferas y triángulos   | 10-50       | Azul de metileno                            | 99/8                              | [192]      |
| <i>Mussaenda glabrata</i>       | Esferas y triángulos   | 11          | Rodamina B y naranja de metilo              | 99/5 y 97/4                       | [193]      |
| <i>Alpinia nigra</i>            | Hexágonos y triángulos | 21          | Naranja de metilo y rodamina B              | 83/120 y 88/120                   | [194]      |
| <i>Salmaalial malabarica</i>    | Esferas                | 5-20        | Azul de metileno y rojo congo               | 99/9 y 97/10                      | [195]      |
| <i>Sterculia acuminata</i>      | Esferas                | 9-38        | 4-nitrofenol y azul de metileno             | 98/36 y 99/12                     | [196]      |



|                             |                        |      |                                                  |                       |       |
|-----------------------------|------------------------|------|--------------------------------------------------|-----------------------|-------|
| <i>Piper longum</i>         | Esferas                | 56   | Azul de metileno y rojo de metilo                | 64/1680 y 28/1680     | [197] |
| <i>Brassica rapa L.</i>     | Esferas                | 3-58 | Azul de metileno                                 | 99/18                 | [198] |
| <i>Hippophae rhamnoides</i> | Hexágonos y triángulos | 55   | Rojo congo, azul de metileno y naranja de metilo | 99/3.5, 99/3 y 99/2.5 | [199] |

**Tabla 2.7.** Ejemplos de reportes de síntesis verde de AgNPs y aplicación en degradación de colorantes.

| Planta                        | Morfología | Tamaño (nm) | Colorante                                   | Eficiencia de degradación (%/min) | Referencia |
|-------------------------------|------------|-------------|---------------------------------------------|-----------------------------------|------------|
| <i>Terminalia chebula</i>     | Esferas    | 25          | Azul de metileno                            | 56/60                             | [200]      |
| <i>Azadirachta indica</i>     | Esferas    | 38-42       | Violeta de genciana                         | 97.2/60                           | [201]      |
| <i>Salvadora persica</i>      | Esferas    | 20-40       | Azul de metileno                            | 63/50                             | [202]      |
| <i>Anacardium occidentale</i> | Esferas    | 25          | Rojo congo y naranja de metilo              | 93/25 y 82/15                     | [203]      |
| <i>Thymra spicata</i>         | Esferas    | 7           | 4-nitrofenol, rodamina B y azul de metileno | 98/60 y 99/50                     | [204]      |
| <i>Carissa carandas</i>       | Esferas    | 21-25       | Violeta de genciana                         | 89/150                            | [205]      |



|                         |         |       |                                                    |                     |       |
|-------------------------|---------|-------|----------------------------------------------------|---------------------|-------|
| <i>Abutilon hirtum</i>  | Esferas | 45    | 4-nitrofenol y rodamina B                          | 99/19 y 99/4        | [206] |
| <i>Ulva lactuca</i>     | Esferas | 50    | Naranja de metilo                                  | 80/720              | [207] |
| <i>Gmelina arborea</i>  | Esferas | 8-32  | Azul de metileno                                   | 98/30               | [208] |
| <i>Durio zibethinus</i> | Esferas | 10-50 | Azul de metileno, rodamina B y violeta de genciana | 99/2, 99/7 y 99/2.5 | [209] |

#### 2.4.2. Espectroscopía Raman amplificada en la superficie (SERS)

SERS es una técnica mejorada que ofrece incrementos en la señal de Raman mediante el uso de sustratos fabricados con nanoestructuras de metales nobles, principalmente Au y Ag, superando la inherente debilidad de las señales de la dispersión Raman. Los factores de incremento pueden ser de hasta  $10^{15}$ , suficiente para permitir incluso la detección de una sola molécula. Esta técnica es de especial interés para el análisis de trazas a muy bajas concentraciones.

El fenómeno que ocurre durante la dispersión Raman fue teóricamente planteado por Adolf Gustav Stephan Smekal en 1923, y posteriormente fue descubierto experimentalmente por Chandrasekhara Venkata Raman en 1928 [210]. Originalmente, el fenómeno era visible a la vista humana y generaba mediciones en muestras de solventes orgánicos puros de elevada concentración, sin embargo, en muestras sólidas o de menor concentración, el efecto era imperceptible, por lo tanto, las aplicaciones de la dispersión Raman fueron muy limitadas hasta el descubrimiento del láser, lo que conllevó al desarrollo de mejores equipos de detección, haciendo que en la actualidad sea posible realizar espectros Raman de materiales que eran imposibles de analizar décadas atrás.

La dispersión Raman consiste en la generación de un espectro de vibración tipo huella dactilar, mediante una dispersión elástica de luz, sin embargo, una pequeña fracción de luz ( $1$  en  $10^7$



fotones) se dispersa a frecuencias distintas respecto a los fotones incidentes. El proceso que conduce a esta dispersión inelástica se denomina efecto Raman [211]. La diferencia en energía entre el fotón incidente y los dispersados es igual a la energía vibracional de una molécula, por lo tanto, cada molécula tiene un espectro Raman único.

Al incidir un haz monocromático a una muestra orgánica se produce una dispersión elástica (dispersión de Rayleigh) e inelástica (dispersión Raman). Gran parte de la radiación dispersada es elástica, es decir, que posee la misma energía con la que fue incidida, mientras que una pequeña parte de la radiación dispersada presenta mayor o menor energía respecto a la energía inicial debido a la interacción del haz con la muestra, la cual cedió o absorbió energía del haz incidente [212].

De acuerdo a la ley de la conservación de la energía, se plantea la ecuación del proceso de dispersión:

$$h\nu + E = h\nu' + E' \quad (2.7)$$

Donde  $\nu$  y  $\nu'$  son la frecuencia de la radiación incidente y dispersada, respectivamente, y  $E$  y  $E'$  son la energía inicial y final. Por lo tanto, con base en los distintos tipos de dispersión, se puede realizar la siguiente clasificación de acuerdo a la ecuación 2.7:

- $\Delta E = 0$ ,  $\nu = \nu'$  corresponde a dispersión de Rayleigh
- $\Delta E < 0$ ,  $\nu > \nu'$  corresponde a dispersión Stokes
- $\Delta E > 0$ ,  $\nu < \nu'$  corresponde a dispersión anti-Stokes.

Cuando una molécula interactúa con el campo eléctrico de una radiación electromagnética, los electrones y el núcleo presentan un movimiento, lo que resulta en la generación de un momento dipolar en la molécula [213]. Si  $E$  es la fuerza del campo eléctrico,  $\mu$  es la magnitud del momento dipolar y  $\alpha$  es la polarizabilidad de la molécula, se tiene la siguiente expresión:

$$\mu = \alpha E \quad (2.8)$$

La fuerza del campo eléctrico de una onda electromagnética de una frecuencia  $\nu$  y una amplitud  $E_0$  está dada por la siguiente ecuación:

$$E = E_0 \cos 2\pi \nu t \quad (2.9)$$



Por lo tanto, al realizar la sustitución de la ecuación 2.9 en 2.8, se tiene la siguiente expresión:

$$\mu = \alpha E_0 \cos 2\pi \nu t \quad (2.10)$$

La ecuación 2.10 indica que la interacción de una radiación electromagnética de frecuencia  $\nu$  induce un momento dipolar en la molécula que oscila en la misma frecuencia, sin embargo, la polarizabilidad cambia cuando surgen pequeños desplazamientos de la posición de equilibrio, generalmente debido a vibraciones moleculares. Lo anterior se expresa de la siguiente forma:

$$\alpha = \alpha_0 + (r - r_{eq}) \frac{\delta \alpha}{\delta r} \quad (2.11)$$

Donde  $\alpha_0$  es la polarizabilidad de equilibrio,  $r_{eq}$  es la longitud de los enlaces en posición de equilibrio y  $r$  es la longitud de los enlaces en un instante determinado. No obstante, si una molécula presenta un movimiento armónico simple, el desplazamiento puede expresarse de la siguiente manera:

$$r - r_{eq} = r_{max} \cos 2\pi \nu_j t \quad (2.12)$$

Donde  $\nu_j$  es la frecuencia vibracional de una molécula y  $r_{max}$  es la máxima distancia de separación entre átomos en relación con la posición de equilibrio. Al sustituir la ecuación 2.12 en 2.11 se obtiene la siguiente ecuación:

$$\alpha = \alpha_0 + \left( \frac{\delta \alpha}{\delta r} \right) r_{max} \cos 2\pi \nu_j t \quad (2.13)$$

Resultando en la expresión más aproximada de la polarizabilidad de una molécula, la cual puede sustituirse en la ecuación 2.10, obteniéndose en la siguiente ecuación:

$$\mu = \alpha_0 E_0 \cos 2\pi \nu t + \frac{E_0}{2} r_{max} \left( \frac{\delta \alpha}{\delta r} \right) \cos [2\pi (\nu - \nu_j) t] + \frac{E_0}{2} r_{max} \left( \frac{\delta \alpha}{\delta r} \right) \cos [2\pi (\nu + \nu_j) t] \quad (2.14)$$

En donde el primer término representa a la dispersión elástica que ocurre a una frecuencia  $\nu$ , mientras que el segundo y tercer término corresponden a la dispersión inelástica Stokes ( $\nu - \nu_j$ ) y anti-Stokes ( $\nu + \nu_j$ ), respectivamente, cuya frecuencia de excitación es modulada por la frecuencia vibracional del enlace [214]. Por lo regular se emplean los espectros generados por la dispersión Stokes para realizar la identificación de moléculas, sin embargo, cuando se presenta fluorescencia en la muestra, se puede emplear la dispersión anti-Stokes (Figura 2.26).

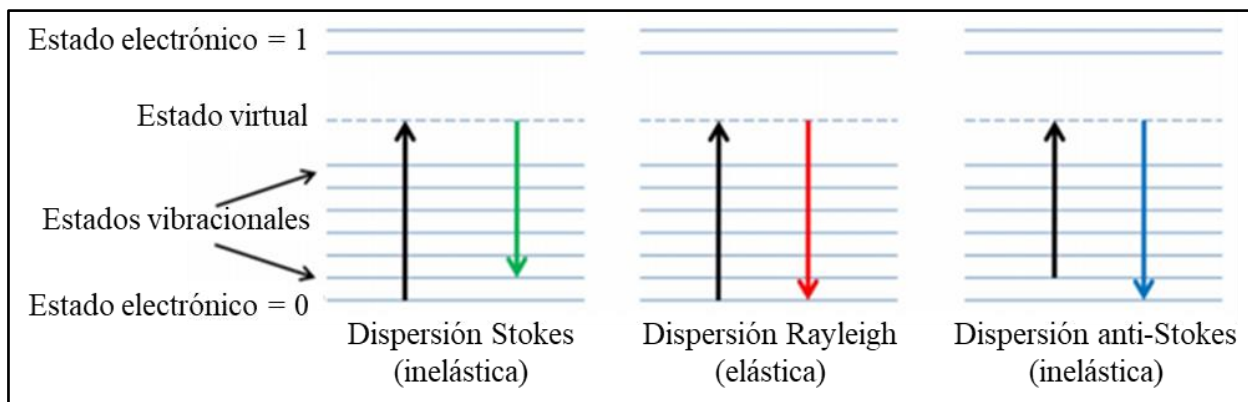


**Figura 2.26.** Tipos de dispersión de luz en espectroscopía Raman [215].

Dado que la intensidad de la radiación inelástica es muy débil, se requiere de una fuente de radiación extremadamente intensa. Con los avances actuales en la tecnología de los componentes de los espectrómetros Raman, es posible utilizar fuentes de irradiación láser de suficiente energía para poder realizar los análisis, algunos ejemplos de fuentes empleadas son de ion argón (488 nm), ion kriptón (647 nm) y Nd:YAG (1064 nm) [216]. Sin embargo, en ocasiones la naturaleza de la muestra o su concentración limita en gran medida el uso de esta técnica, por lo que se han hecho investigaciones relacionadas al incremento de la sensibilidad de la señal Raman sin tener que aumentar la intensidad del láser.

La espectroscopía Raman amplificada en la superficie (SERS) es una modificación de la técnica que consiste en el uso de un sustrato de rugosidad nanométrica que interactúa con el analito con el fin de aumentar la señal del espectro Raman en un orden considerable de magnitud (Figura 2.27). Este aumento en la señal se debe a la interacción electromagnética del láser con la rugosidad nanométrica, generalmente nanopartículas de metales nobles, la cual produce campos eléctricos localizados alrededor de las nanopartículas, generados por la resonancia de los plasmones de superficie [217]. Las moléculas del analito interactúan con los campos eléctricos generados, resultando en una señal amplificada.

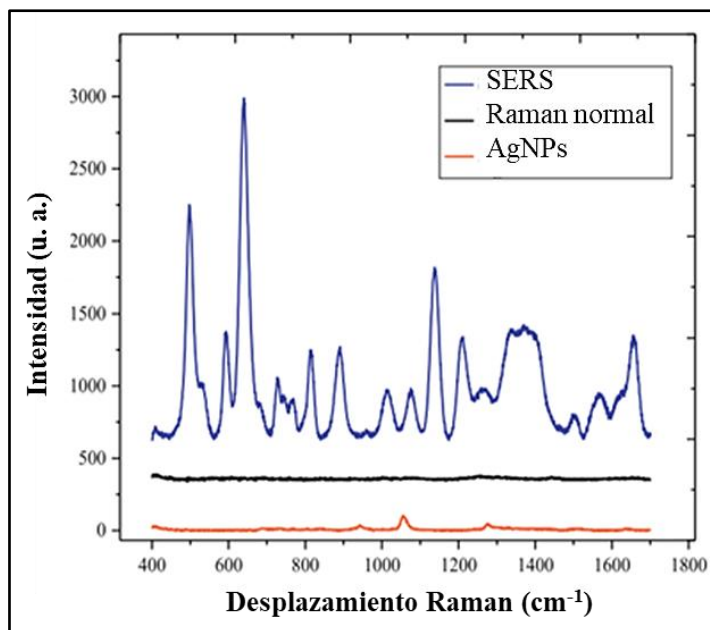


**Figura 2.27.** Ejemplo de espectro SERS en la identificación de una muestra médica [218].

La primera vez que se observó este fenómeno fue en 1974, por Martin Fleischmann y col., cuando observaron un espectro anormalmente intenso de piridina depositada en un electrodo rugoso de plata. Los autores interpretaron que la rugosidad del electrodo fue la causante de este incremento en la señal. Después del surgimiento de una serie de hipótesis propuestas con base en este fenómeno, actualmente existen dos mecanismos que son aceptados: electromagnético y químico [219]. El mecanismo electromagnético es el más aceptado en la actualidad, está basado en la interacción del campo eléctrico de los plasmones superficiales con el momento de transición de una molécula adsorbida, mientras que el mecanismo químico se basa en la existencia de un estado de transferencia de carga entre el metal y las moléculas adsorbidas. No obstante, en la mayoría de los reportes de SERS atribuyen a la rugosidad nanométrica de los sustratos como consecuencia del incremento de las señales, mediante el mecanismo electromagnético.

Para comprender este mecanismo, es de importancia definir el fundamento del mismo. Cuando una radiación monocromática, de una determinada frecuencia y campo eléctrico, interactúa con una molécula, se induce un momento dipolar oscilando a la misma frecuencia (ecuación 2.8). Sin embargo, la presencia de un sustrato rugoso provoca que el campo eléctrico de la superficie



metálica se incrementa sustancialmente, además, de que el momento dipolar se altera, resultando en un posible aumento de la radiación dispersada.

SERS es una técnica influenciada por la resonancia de los plasmones y del campo local de las nanopartículas, por lo tanto, la ecuación de la magnitud del momento dipolar de Raman (ecuación 2.8) se modifica, resultando en la siguiente expresión:

$$\mu_R = \alpha_R E_L(\nu_L) \quad (2.15)$$

En donde  $E_L$  es un campo eléctrico mayor con respecto al incidente con una frecuencia determinada  $\nu_L$ , por lo cual se tiene un factor de incremento del momento dipolar de  $|E_L(\nu_L)|/|E|$ . Si este dipolo Raman se presenta en ausencia de un ambiente metálico, la energía radiada (proporcional a  $\mu^2$ ) se incrementa de la siguiente manera:

$$M_L(\nu_L) = \frac{|E_L(\nu_L)|^2}{|E|^2} \quad (2.16)$$

Donde  $M_L(\nu_L)$  es el factor que caracteriza al incremento de la intensidad del campo eléctrico localizado. Sin embargo, en presencia de un ambiente metálico, la magnitud del dipolo se modifica significativamente. La magnitud de la radiación del dipolo  $P_{rad}$  puede incrementar o disminuir en relación con la magnitud en ausencia del sustrato ( $P_0$ ) dependiendo de la función dieléctrica del objeto, la geometría y la posición del dipolo. Por lo tanto, el factor de incremento de la radiación, debido a la resonancia de los plasmones de las nanopartículas metálicas, está dado por la siguiente expresión:

$$M_{rad} = \frac{P_{rad}}{P_0} \quad (2.17)$$

Al considerarse el incremento del campo eléctrico localizado (ecuación 2.16) y el incremento de la radiación (ecuación 2.17), el factor de incremento EF de una sola molécula en SERS puede expresarse de la siguiente forma:

$$EF = M_L(\nu_L) M_{rad}(\nu_R) \quad (2.18)$$

$M_L(\nu_L)$  puede ser calculado bajo una excitación externa mediante un campo eléctrico incidente  $E$ , produciendo un campo eléctrico localizado. Por otro lado, para la estimación de  $M_{rad}(\nu_R)$  se requiere calcular la emisión del dipolo, lo cual resulta muy complicado. Para evitar esta

complicación, a menudo se asume que el incremento del campo eléctrico localizado y el incremento de la radiación son aproximadamente iguales [220], por lo tanto, el factor de incremento en SERS se puede expresar de la siguiente forma:

$$EF \sim \left[ \frac{|E_L(v_L)|^2}{|E|^2} \right] \left[ \frac{|E_L(v_R)|^2}{|E|^2} \right] = \frac{|E_L(v_L)|^4}{|E|^4} \quad (2.19)$$

Debido a que es difícil identificar el origen exacto de los factores de incremento en la mayoría de los experimentos de SERS, los investigadores a menudo emplean la fórmula del factor de incremento analítico FIA [221], expresada de la siguiente manera:

$$FIA = \frac{I_{SERS}/C_{SERS}}{I_{SR}/C_{SR}} \quad (2.20)$$

Donde  $I_{SR}$  es la intensidad de la señal Raman de un analito de concentración  $C_{SR}$ , mientras que  $I_{SERS}$  es la señal amplificada del mismo analito a una concentración  $C_{SERS}$ .

Un aspecto fundamental de esta técnica es la naturaleza de los sustratos SERS. Un sustrato SERS es cualquier plataforma de nanoestructuras metálicas que presenta resonancia del plasmón de superficie y amplifica la señal de Raman. Estos sustratos pueden clasificarse en morfología aleatoria y morfología periódica o uniforme. Los primeros incluyen electrodos rugosos y sustratos fabricados con coloides, mientras que los segundos incluyen arreglos nanoestructurados fabricados principalmente mediante nanolitografía. Aunque los sustratos obtenidos mediante nanolitografía presentan un mayor incremento de la señal Raman, son muy costosos y laboriosos, mientras que los sustratos realizados mediante coloides son relativamente económicos y fáciles de obtener.

A menudo, los sustratos SERS son fabricados con Au, Ag y Cu, sin embargo, el uso de sustratos de Cu cada vez es menor debido a su elevada reactividad química. Los sustratos obtenidos con Au y Ag son ampliamente utilizados debido a la facilidad de obtención de los coloides, la pureza de las nanoestructuras obtenidas y su estabilidad química en condiciones ambientales, además de que estos metales presentan resonancia del plasmón superficial en la mayor parte del rango de la región visible e infrarrojo cercano, donde la mayor parte de las mediciones de Raman ocurren [22].



Una de las principales características que debe presentarse en un sustrato SERS es la presencia de campos eléctricos confinados, comúnmente llamados puntos calientes o “*hot spots*”. Estos puntos son regiones localizadas en el sustrato en donde se presenta la mayor energía de campo eléctrico. Los puntos calientes se encuentran generalmente entre el espacio entre dos o varias nanoestructuras, en donde se presenta la interacción entre sus campos eléctricos durante el análisis. Debe presentarse una separación suficiente para que los campos eléctricos interactúen, no obstante, se debe tener cuidado evitando coalescencia entre las nanoestructuras, ya que puede presentarse un efecto túnel, provocando que estas nanoestructuras se comporten como una sola. En nanoestructuras con anisotropía, los puntos calientes se localizan de forma más concentrada en las asperezas, vértices y esquinas, principalmente de morfologías triangulares, cúbicas, erizos, entre otras [222].

Los potenciales campos de aplicación de SERS están situados en la química analítica, bioquímica, ciencias forenses, ciencias ambientales, entre otras. En general, esta técnica ha sido empleada ampliamente para la detección de trazas de compuestos químicos y para la detección y monitoreo de biofluidos de altas concentraciones.

En los últimos años, se ha realizado una extensiva investigación relativa a la obtención de nuevos sustratos SERS y el efecto de sus nuevas características. Por ejemplo, Huang y col. [223] presentaron una metodología para el control del tiempo de residencia de las moléculas del analito en los puntos calientes mediante un efecto de atrapamiento electro-plasmónico. Esto lo realizaron al adsorber directamente moléculas en una nanoestructura de Au, posteriormente la nanoestructura se atrapó en un nanoagujero plasmónico durante varios minutos, demostrando la detección de una sola molécula de ADN. Por otro lado, Rickard y col. [224] reportaron la detección de biomarcadores a concentración picomolar para el diagnóstico de daño por trauma cerebral empleando sustratos conformados de pilares submicrónicos, fabricados electrohidrodinámicamente cubiertos de una capa nanométrica de Au, logrando una detección exitosa del biomarcador mediante SERS.

Lee y col. [225] realizaron una investigación acerca del efecto de la rugosidad y espesor de películas de Ag depositadas en placas de vidrio mediante pulverización catódica, obteniendo sustratos de diferente rugosidad. Los autores observaron que tanto la rugosidad, como el espesor de la película afectan a la intensidad de la señal Raman, no obstante, cuando se presentan



espesores muy pequeños (10-20 nm), el efecto del espesor es mucho menor, mientras que la rugosidad es el factor principal. Por otra parte, Suzuki y Yoshimura [226] fabricaron un sustrato de Ag en combinación con cristales de grafeno con el fin de crear un sustrato SERS que posea las mismas propiedades ópticas, pero que pueda emplearse en medios ácidos y de alta temperatura. Los autores realizaron análisis de SERS, logrando resultados favorables en ácido clorhídrico (35-37%) y a 400 °C, condiciones que son muy agresivas para sustratos de Ag convencionales.

Por último, es oportuno denotar la gran importancia de las nanoestructuras de metales nobles (Au y Ag) debido a sus ya descritas propiedades y aplicaciones en todas las áreas mencionadas y disciplinas relacionadas. La nanotecnología es una ciencia emergente y relativamente nueva, en donde constantemente se están realizando nuevos descubrimientos, se están creando nuevos métodos de obtención y una mayor diversidad de aplicaciones en la mayoría de las ramas de la ciencia e ingeniería en materiales. Por lo tanto, el estudio relacionado a la obtención de nanomateriales de diferentes configuraciones y de diferente naturaleza química mediante el empleo de diversas especies vegetales, mismas que abundan en diversidad en nuestro país o región geográfica, resulta de gran interés debido a las ventajas que ofrece respecto a los métodos tradicionales.

### CAPÍTULO III: DESARROLLO EXPERIMENTAL

El presente capítulo contiene los métodos y los materiales empleados para la ejecución del trabajo de investigación reportado en esta tesis doctoral. Las actividades relacionadas con el trabajo de laboratorio se resumen en la Figura 3.1. En general, se realizó la selección de plantas teniendo en cuenta algunos aspectos importantes, luego se realizó la preparación de extractos acuosos y se procedió a la síntesis de los nanomateriales. Habiendo preparado apropiadamente las muestras, se procedió a la determinación de sus características físicas y químicas. Finalmente, se realizaron diversos estudios que permitieron establecer su eficiencia en diversas aplicaciones.

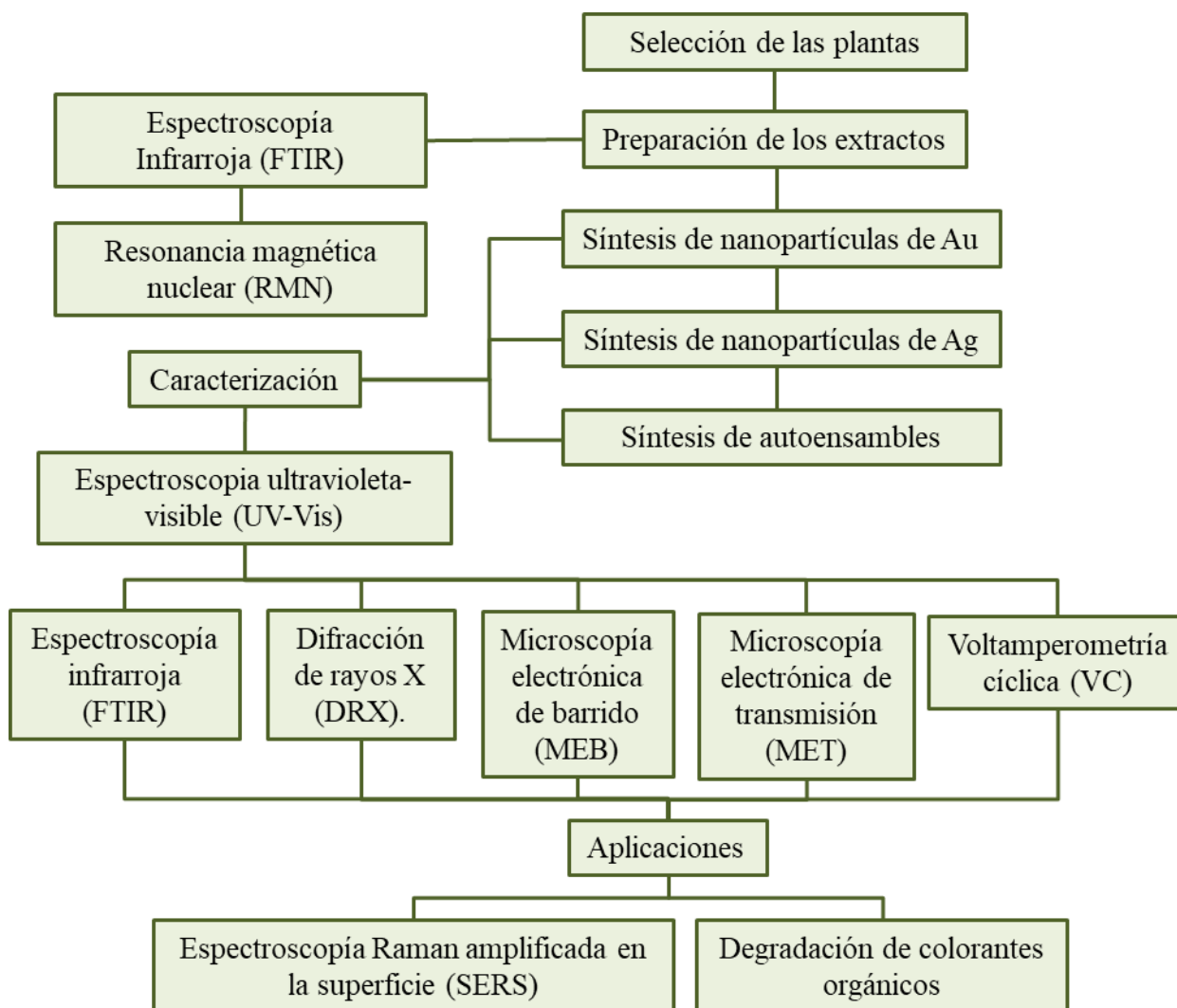


**Figura 3.1.** Diagrama de flujo de la metodología experimental de la presente tesis.



### 3.1. Selección de las plantas

En los Estados Unidos Mexicanos existen más de 25,000 especies de plantas vasculares, lo equivalente al 9.1% de las especies vegetales del mundo, y entre ellas más de 3500 especies de plantas medicinales han sido registradas en nuestro país [227]. El estado de Michoacán de Ocampo figura en el sexto lugar de diversidad vegetal en el país y cuenta con más de 5300 especies de plantas [228].

Para la selección de las plantas empleadas en este trabajo se tomaron como referencia cuatro criterios:

- 1) El primero de ellos consiste en la innovación y originalidad del trabajo, seleccionando plantas que no se hayan estudiado previamente para la síntesis de los nanomateriales correspondientes a esta investigación.
- 2) El segundo criterio se refiere a las características fitoquímicas de las plantas, ya que el uso de plantas terapéuticas facilita la aplicación médica y biológica de los nanomateriales obtenidos.
- 3) El tercer criterio se basa en la disponibilidad regional de las plantas que se relaciona directamente con el costo de ellas.
- 4) Por último, el cuarto criterio se refiere al estado de conservación de las plantas, por lo tanto, no es viable utilizar plantas que estén amenazadas.

Con base en los criterios anteriores, se seleccionaron dos especies de plantas: *Loeselia mexicana* y *Eysenhardtia polystachya*. La *L. mexicana* es una planta arbustiva de hasta 2 m de alto, sus hojas son generalmente elípticas de hasta 6 cm de largo y 2 cm de ancho, con márgenes aserrados, agudas o en ocasiones obtusas en el ápice, abundante en la vegetación secundaria en pinares, encinares, matorrales xerófilos y bosques tropicales caducifolios. Es una planta que produce flor preferencialmente en el rango de octubre a febrero, es ampliamente encontrada en el estado de Michoacán de Ocampo y es una especie sin problemas de supervivencia hasta el presente [229].

Por otra parte, *E. polystachya* es una planta arbustiva de entre 3-8 m de altura, con tronco de 10-30 cm de diámetro, corteza delgada, hojas de 3-10 cm de largo, ápice redondeado, margen entero con base redondeada, flores en racimos, ampliamente distribuida en regiones cercanas al golfo de



México y en la zona central del país. Se presenta entre la vegetación secundaria de bosques tropicales caducifolios, es abundante en regiones semiáridas y no presenta riesgo de extinción hasta el presente [230]. Las características generales de las plantas empleadas para este proyecto se resumen en la Tabla 3.1.

**Tabla 3.1.** Características de las plantas empleadas.

| Nombre científico               | Nombre común | Usos tradicionales                                                                             | Parte empleada   | Costo (cts./g) | Estatus    |
|---------------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|----------------|------------|
| <i>Loeselia mexicana</i>        | Espinosilla  | Tratamiento de trastorno de ansiedad, falta de apetito, insomnio, náuseas y fatiga [231].      | Hojas            | 29             | Sin riesgo |
| <i>Eysenhardtia polystachya</i> | Palo dulce   | Agente depurativo, antitusivo, analgésico, antiinflamatorio, febrífugo y antirreumático [232]. | Tronco y corteza | 11             | Sin riesgo |

### 3.2. Selección de los materiales

La Tabla 3.2 muestra un resumen de los materiales consumibles empleados en esta investigación, las características que tienen al momento de su adquisición y la preparación que se les realizó para el trabajo experimental.

Los precursores de los nanomateriales obtenidos fueron  $\text{HAuCl}_4$  y  $\text{AgNO}_3$ , los agentes reductores y estabilizantes se extrajeron de las plantas *L. mexicana* y *E. polystachya*, el  $\text{NaOH}$  se empleó como un modificador del pH de algunas reacciones complementarias. Para la caracterización electroquímica se emplearon carbono Vulcan XC72 y Nafion para la preparación de la muestra, y se utilizaron  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y  $\text{KOH}$  para la modificación del pH de los medios acuosos de las celdas electroquímicas. Por último, los colorantes azul de metileno, rodamina B y violeta de genciana se emplearon para la prueba de degradación mediante el uso de los nanomateriales obtenidos.



**Tabla 3.2.** Materiales consumibles empleados en el trabajo experimental.

| Materiales consumibles          | Características                                                 | Preparación                         |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| HAuCl <sub>4</sub>              | Polvo pentahidratado, marca Sigma Aldrich, pureza $\geq 99.9\%$ | Solución 10 mM en agua desionizada  |
| AgNO <sub>3</sub>               | Hojuelas pequeñas, marca Meyer, pureza $\geq 98\%$              | Solución 10 mM en agua desionizada  |
| <i>Loeselia mexicana</i>        | Hojas enteras y secas                                           | Lavado, secado y pulverizado        |
| <i>Eysenhardtia polystachya</i> | Segmentos de tronco y corteza                                   | Lavado, secado y pulverizado        |
| NaOH                            | Esferas pequeñas, marca Meyer $\geq 97\%$                       | Solución 0.1 M en agua desionizada  |
| Carbono Vulcan XC72             | Polvo, marca Cabot                                              | Ninguna                             |
| Nafion 117                      | Solución al $\sim 5\%$ , marca Sigma Aldrich                    | Ninguna                             |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>  | Solución al $\sim 30\%$ , marca Sigma Aldrich                   | Solución 0.5 M en agua desionizada  |
| KOH                             | Esferas pequeñas, marca Sigma Aldrich $\geq 85\%$               | Solución 0.3 M en agua desionizada  |
| Azul de metileno                | Polvo, marca Golden Bell Reactivos                              | Solución 0.1 mM en agua desionizada |
| Rodamina B                      | Polvo, marca Golden Bell Reactivos                              | Solución 0.1 mM en agua desionizada |
| Violeta de genciana             | Polvo, marca Golden Bell Reactivos                              | Solución 0.1 mM en agua desionizada |

Por otro lado, los materiales de uso común empleados consistieron en vasos de precipitado de 100 ml, pipetas graduadas de 1 y 10 ml, probeta graduada de 10 ml, balanza de precisión, parrilla agitadora, espátulas de acero inoxidable y plástico, termómetro de vidrio, bureta de 50 ml, tubos de ensayo de 20 ml y celdas de UV-Vis de polimetilmetacrilato.



### 3.3. Preparación de los extractos de las plantas

Las plantas seleccionadas *L. mexicana* y *E. polystachya* se adquirieron en un mercado local en forma de hojas secas y tramos de madera, respectivamente. Las plantas se tuvieron que lavar meticulosamente con agua desionizada y se secaron en un lugar seco y oscuro a temperatura ambiente, vigilando que no ocurra la formación de algún tipo de hongo. Una vez secas, se sometieron a un proceso de molienda hasta obtener un polvo fino para aumentar la eficiencia de extracción de biomoléculas.

Existen diversos factores que se deben considerar para la preparación de un extracto de planta, entre los más importantes se encuentra la temperatura del medio dispersante, el tiempo a una temperatura constante y la cantidad de polvo de planta. En la Tabla 3.3 se enlistan los valores de temperatura, tiempo y concentración que se propusieron al inicio de la experimentación, los cuales son cercanos a los habitualmente reportados en los artículos revisados. Para poder elegir las condiciones óptimas de temperatura, tiempo y concentración, se realizaron pruebas con soluciones de  $\text{HAuCl}_4$  y  $\text{AgNO}_3$  a una concentración fija de 2 mM, monitoreando el máximo en absorbancia mediante espectroscopía UV-Vis. Posteriormente, se eligió una temperatura y un tiempo fijos para la variación de la concentración de los extractos.

**Tabla 3.3.** Factores para la preparación de los extractos de plantas.

| Temperatura<br>(°C) | Tiempo<br>(min) | Concentración<br>(mg/ml) |
|---------------------|-----------------|--------------------------|
| 60                  | 5               | 1.25                     |
| 70                  | 7.5             | 2.5                      |
| 80                  | 10              | 5                        |
| 90                  | 12.5            | 10                       |
| 100                 | 15              | 15                       |

El procedimiento para la elaboración de los extractos se ilustra en la Figura 3.2. El polvo de planta se pesó en una balanza de precisión, mientras tanto se agregaron 100 ml de agua desionizada en un vaso de precipitado y se calentó sobre una parrilla de agitación. Una vez alcanzada la temperatura deseada, se agregó el polvo de hoja y se mantuvo bajo agitación

magnética durante el tiempo correspondiente. Finalmente, se retiró el vaso de la parrilla, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró empleando papel filtro.

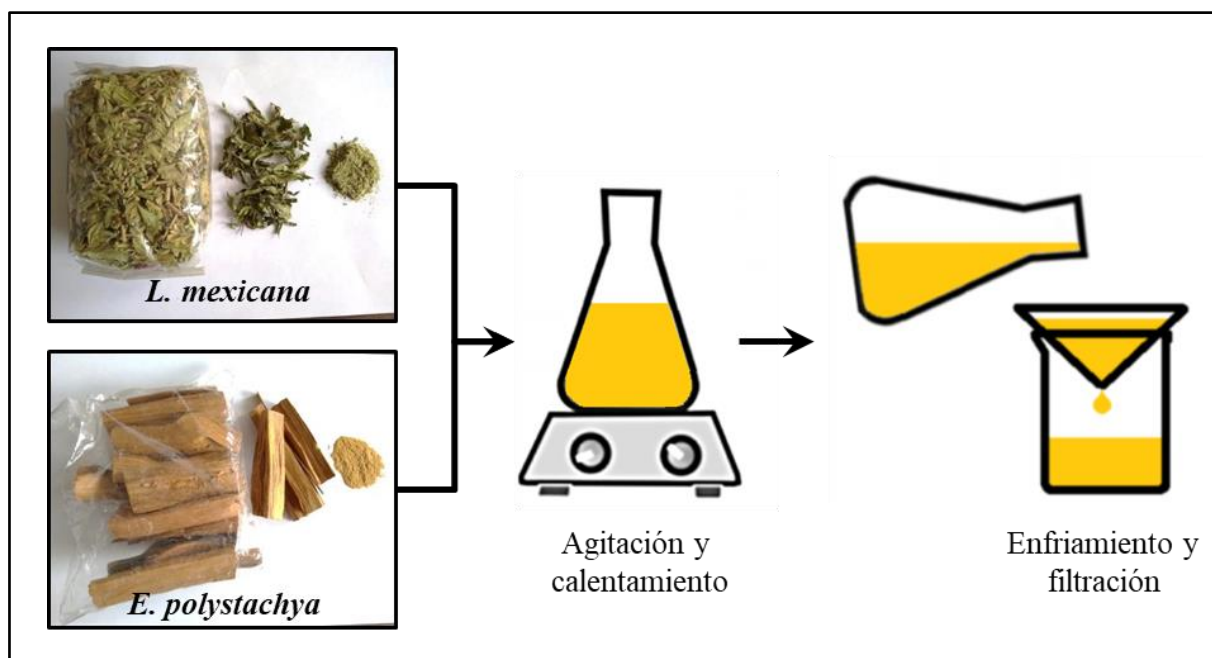


**Figura 3.2.** Preparación de los extractos.

### 3.4. Preparación de los precursores

La preparación de los precursores se realizó mezclando una cantidad calculada de  $\text{AgNO}_3$  y  $\text{HAuCl}_4$  con un volumen definido de agua desionizada en frascos ámbar, manteniéndose en un lugar a temperatura ambiente.

En la Tabla 3.4 se muestran los valores de masa calculados de ambos precursores para 100 ml de agua para obtener concentraciones de 1-10 mM. Sin embargo, por motivos prácticos, se prepararon únicamente soluciones de 10 mM, las cuales fueron las máximas concentraciones empleadas, y las reacciones que requirieron menor concentración fueron obtenidas mediante dilución.



**Tabla 3.4.** Masas calculadas de los precursores para la preparación de 100 ml de solución.

|                    | HAuCl <sub>4</sub> | AgNO <sub>3</sub> |
|--------------------|--------------------|-------------------|
| Concentración (mM) | Peso (g)           |                   |
| 1                  | 0.0340             | 0.0170            |
| 2                  | 0.0680             | 0.0340            |
| 3                  | 0.1019             | 0.0510            |
| 4                  | 0.1359             | 0.0679            |
| 5                  | 0.1699             | 0.0849            |
| 6                  | 0.2039             | 0.1019            |
| 7                  | 0.2378             | 0.1189            |
| 8                  | 0.2718             | 0.1359            |
| 9                  | 0.3058             | 0.1529            |
| 10                 | 0.3398             | 0.1699            |

### 3.5. Síntesis de nanopartículas de Au y Ag

La obtención de AuNPs se llevó a cabo mediante la reducción de los iones Au<sup>3+</sup> del HAuCl<sub>4</sub> y estabilización de las AuNPs propiciada por los extractos acuosos de *L. mexicana* y *E. polystachya* en relación volumétrica 1:1. Una vez elegidas las condiciones de temperatura y tiempo para la preparación de los extractos, se realizó una serie de síntesis fijando la concentración de la solución de HAuCl<sub>4</sub> a 2 mM y variando la concentración de los extractos como indica la Tabla 3.3. Posteriormente, se fijó la concentración de los extractos a 5 mg/ml y se realizaron experimentos empleando concentraciones de HAuCl<sub>4</sub> de 2, 4, 6, 8 y 10 mM. Es oportuno mencionar que los valores fijados fueron establecidos con base en la revisión bibliográfica.

Por otro lado, el procedimiento para la obtención de AgNPs se realizó mediante la reducción de iones Ag<sup>+</sup> del AgNO<sub>3</sub>, siguiendo el mismo procedimiento anterior, con la diferencia de que las reacciones se realizaron mediante irradiación solar.

### 3.6. Síntesis de nanomateriales autoensamblados

Los autoensambles fueron obtenidos con base en los resultados conseguidos mediante la metodología de la sección 3.5, por lo tanto, se mencionan las condiciones de obtención y los



procedimientos que se llevaron a cabo. Se mezcló el extracto de *L. mexicana* en concentración de 5 mg/ml con 2 mM de  $\text{AgNO}_3$  en relación 1:1, y se mantuvo durante 30 minutos bajo radiación solar. Por otra parte, se realizó una mezcla con el extracto de *E. polystachya* a concentración de 5 mg/ml con 2 mM de  $\text{AgNO}_3$  en relación 1:1, para luego ser expuesta a radiación solar durante diversos tiempos.

### **3.7. Caracterización de los nanomateriales**

#### **3.7.1. Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis)**

Esta técnica mide la dispersión y la absorción de un haz de luz al incidir sobre una muestra coloidal de nanopartículas metálicas. El fenómeno de absorción es causado por la excitación de un electrón en la superficie de la nanopartícula, el cual tiende a alinearse con el campo eléctrico oscilatorio, generando una oscilación colectiva de electrones. Es una técnica muy utilizada debido a que la longitud de onda del máximo de la banda y el ancho genera una huella espectral para el oro, la plata y otros metales, que varía dependiendo de la forma y tamaño de nanopartícula, así como también el grado de estabilización del coloide. La muestra en forma de coloide se colocó dentro de una celda de UV-Vis de 3.5 ml, a la muestra se le realizó una dilución con agua dependiendo del ruido del espectro generado. El equipo empleado fue un espectroscopio UV-Vis Ocean Optics USB 4000 en el rango de 200-900 nm.

#### **3.7.2. Difracción de rayos X (DRX)**

Es una técnica experimental que se emplea ampliamente para el estudio y análisis de materiales, la cual se basa en el fenómeno de difracción de los rayos X por materiales sólidos cristalinos. Los rayos X provenientes de una fuente, generalmente filamento de Cu ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ), son difractados por los electrones de la superficie de los átomos al ser la longitud de onda del mismo orden que el radio atómico. El haz difractado contiene información sobre la naturaleza de los átomos y su ordenamiento. Cuando una muestra es cristalina, los haces se dispersan elásticamente gracias a su ordenamiento a largo alcance, amplificándose por medio de interferencias constructivas, generándose un patrón de difracción. Los nanomateriales obtenidos están



constituidos de uno o varios cristales, por lo tanto esta técnica es muy útil para la identificación de nanomateriales metálicos cristalinos. Para evitar la interferencia por las sustancias orgánicas, las muestras se lavaron en tres ocasiones mediante centrifugación a 12,000 rpm, para luego secarse y convertirse en polvo. El equipo empleado fue un difractómetro Bruker D8 Advance, empleando un rango  $2\theta$  de  $20^\circ$  a  $90^\circ$  y un tiempo de adquisición de 35 min ( $0.02^\circ/0.6$  s).

### **3.7.3. Microscopía electrónica de barrido (MEB)**

Es un instrumento que crea imágenes magnificadas que revelan información del tamaño, morfología, cristalografía, composición química, entre otras. Esta técnica consiste en la emisión de un haz de electrones de energía controlada que genera una imagen mediante un barrido del haz sobre la superficie de la muestra. La interacción del haz de electrones produce dos tipos de fenómenos; retrodispersión de electrones y electrones secundarios. La retrodispersión se refiere a los electrones que emergen de la muestra con una gran fracción de la energía incidente debido a la desviación provocada por los campos eléctricos de los átomos, generando una imagen de varios contrastes, los cuales dependen directamente del número atómico de los elementos de la muestra. Por otro lado, los electrones secundarios son electrones que escapan de la superficie de la muestra con muy baja energía cinética, estos electrones generan una imagen de la superficie de la muestra, apropiada para análisis de relieve. Además, el haz de electrones produce rayos X característicos de la muestra, cuya energía provee información específica de cada elemento, con excepción del H y He, los cuales no emiten rayos X. Esta técnica puede realizar ampliaciones tales que pueden generar imágenes donde se pueden apreciar: tamaño, morfología y composición química de nanopartículas metálicas, haciendo esta técnica muy útil para motivos de este trabajo. En un portamuestras de Cu se depositó una fina capa de C, sobre esta se dejó caer una gota de la muestra en líquido y se dejó secar a temperatura ambiente. El equipo empleado fue un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-7600F, con un detector de energía dispersiva por rayos X (EDS) Bruker modelo XFlash 6|30, para análisis químico.



#### **3.7.4. Microscopía electrónica de transmisión (MET)**

Es una técnica que permite realizar ampliaciones que pueden revelar información sobre la estructura interna con resolución de hasta 0.1 nm, además de revelar tamaño, morfología y composición química de diversos materiales. Este microscopio genera un haz de electrones muy acelerado que pasa por un condensador en un ambiente de alto vacío para lograr una aceleración máxima del haz, este haz incide y atraviesa una muestra extremadamente delgada, logrando obtener imágenes de hasta 2 millones de ampliaciones que pueden revelar información detallada de la estructura y morfología del material. Al ser las nanopartículas objetos extremadamente pequeños, esta técnica es imprescindible para poder estudiar los nanomateriales obtenidos en esta investigación. Una gota de la muestra coloidal se depositó encima de una rejilla de Cu de 3 mm recubierta de C amorfo, y se dejó secar a temperatura ambiente. El equipo utilizado fue un microscopio electrónico de transmisión Philips Tecnai F20.

#### **3.7.5. Voltamperometría cíclica (VC)**

La VC es empleada para el estudio de mecanismos de reacción y propiedades electrocatalíticas, la cual aporta información rápida de los procesos de óxido-reducción. Esta técnica se basa en la aplicación de un barrido triangular de potencial a un electrodo, es decir, realizando un barrido lineal de potencial, tanto en sentido directo como inverso. Cuando el barrido de potencial incrementa se produce una corriente anódica, en donde se aprecia un aumento de corriente al iniciarse el proceso de oxidación, cuando la especie que reacciona es consumida en la superficie del electrodo, la corriente anódica cae conforme el potencial sigue aumentando. Por otro lado, una vez alcanzado el potencial máximo fijado, el barrido es invertido y se empieza a obtener un aumento en la corriente catódica correspondiente a la reacción de reducción. Para la presente tesis, se realizó una serie de análisis de los nanomateriales obtenidos para estudiar y comparar entre ellos su comportamiento en VC. Sobre el centro del extremo de un electrodo de trabajo de carbono vítreo se depositaron 15  $\mu\text{m}$  de una mezcla de la muestra coloidal, carbono Vulcan XC72 y Nafion, dejándose secar a temperatura ambiente. El estudio se realizó empleando un



potenciostato BioLogic VSP, un electrodo de referencia de calomelano y un contraelectrodo de grafito, en medio ácido de 0.5 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y medio alcalino de 0.3 M de KOH.

### ***3.7.6. Espectroscopía infrarroja con transformadas de Fourier (FTIR)***

Este método se fundamenta en el estudio de la absorción o emisión de energía originada por la interacción entre un haz de radiación infrarroja y la muestra. Esta técnica se basa en la capacidad de algunas moléculas de rotar y vibrar a distintas frecuencias del rango de infrarrojo. Una molécula puede absorber energía en el caso de que exista una diferencia en el momento dipolar de la molécula mientras ocurre un movimiento vibracional y de rotación. Es una técnica muy efectiva para la identificación de grupos funcionales de compuestos orgánicos, por lo tanto, se empleó para la identificación de tipos de compuestos dentro del extracto de las plantas, así como también para la identificación de grupos funcionales y para la obtención de un mecanismo de síntesis. Las muestras se secaron completamente y se convirtieron en polvo fino, para posteriormente realizarse una pastilla compacta con KBr. El equipo utilizado fue un espectrofotómetro Bruker Tensor 27, en el rango de  $750$  a  $4000\text{ cm}^{-1}$ .

### ***3.7.7. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN)***

Esta técnica es considerada como una de las técnicas más importantes para la determinación de la estructura de moléculas o compuestos orgánicos. La RMN se basa en la interacción del momento magnético de núcleos atómicos con un campo magnético externo, que conlleva a la generación de diversos niveles energéticos. No todos los núcleos interactúan con el campo magnético, se necesita que existan núcleos con un momento magnético diferente a cero o con número atómico par. Antes de realizar la prueba, los núcleos se encuentran en un estado en donde están orientados al azar, al incidirse un campo magnético, una parte de estos núcleos se orientan a favor del campo magnético y el resto se orientan en contra de este. Los núcleos que están orientados a favor del campo magnético poseen un nivel de energía más bajo, para que se orienten en contra del campo, requieren pasar a un nivel de energía mayor, y esto se logra al incidirse una radiofrecuencia de energía tal que genere la resonancia. Al haber una densidad electrónica alrededor de los núcleos, única dependiendo de la naturaleza del átomo, esta genera campos magnéticos de una



determinada fuerza, en consecuencia, la posición de las bandas del espectro dependen del desplazamiento químico, es decir, de las variaciones finales de los niveles energéticos producidas por un campo magnético externo. Esta técnica sirvió para la caracterización de los compuestos orgánicos presentes en las plantas empleadas y, con apoyo de los resultados de FTIR, fue posible elucidar un mecanismo de reacción. La muestra se dejó secar y se convirtió en polvo fino, este polvo se dispersó en agua deuterada y se introdujo en un tubo para RMN. El equipo empleado fue un espectrómetro RMN Varian Mercury 400.

### **3.8. Aplicaciones**

#### ***3.8.1. Degradación de colorantes orgánicos***

Existe una gran variedad de colorantes orgánicos que se encuentran en los efluentes de gran parte de las fábricas textiles del país, algunos de estos colorantes son perjudiciales para la salud, mientras que otros, aunque no sean tóxicos, pueden interferir en el proceso fotosintético de algunos organismos. Por lo tanto, es importante el estudio de las propiedades catalíticas de los nanomateriales obtenidos mediante estudios de degradación de algunos colorantes orgánicos. En el presente trabajo, se analizó la eficiencia de degradación de los colorantes azul de metileno, rodamina B y violeta de genciana utilizando los nanomateriales obtenidos.

Las nanopartículas obtenidas se separaron de los compuestos orgánicos del extracto mediante centrifugación a 12,000 rpm, posteriormente se secaron en una estufa a 50 °C durante 24 h. Mientras tanto, los colorantes azul de metileno, rodamina B y violeta de genciana se diluyeron con agua desionizada por separado ( $\sim 0.02$  mM), de tal forma que la absorbancia registrada en espectroscopía UV-Vis fuera aproximadamente 1 u. a. Finalmente, se mezcló 2 mg de cada muestra de nanoestructuras en polvo con los colorantes y se monitoreó la degradación en función del tiempo mediante la técnica de espectroscopía UV-Vis en presencia de luz visible y sin agitación (Figura 3.3).

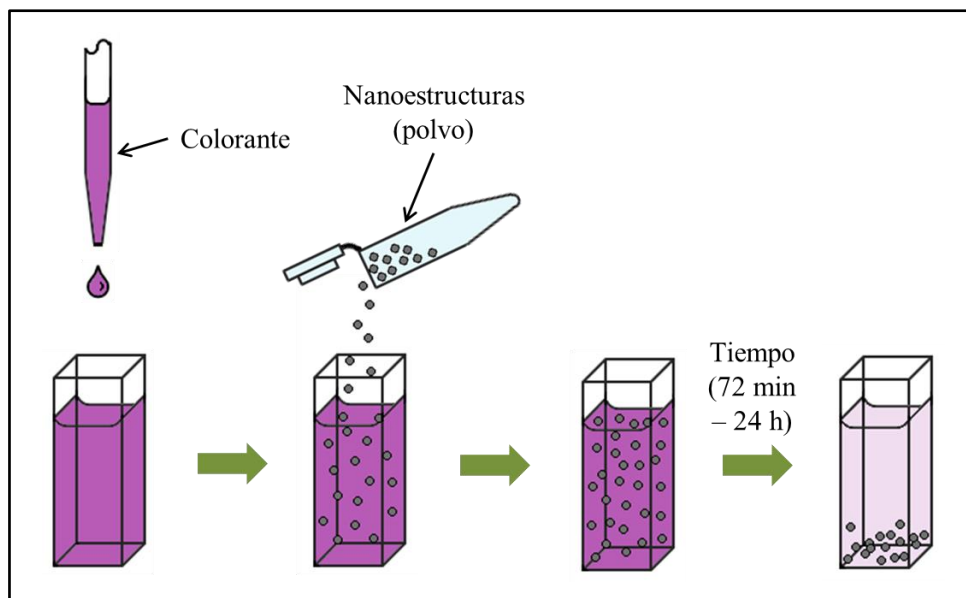


**Figura 3.3.** Esquema de la metodología de la degradación de colorantes mediante el uso de nanoestructuras.

### **3.8.2. Espectroscopía Raman amplificada en la superficie (SERS)**

SERS es una de las técnicas de detección óptica más eficientes, debido a que ofrece una elevada sensibilidad y altos niveles de multiplexación debido a las propiedades cuánticas de las nanopartículas del sustrato. Esta técnica es muy utilizada para la detección de sustancias que se encuentran a muy bajas concentraciones y que son altamente sensibles al láser. Por lo tanto, es de importancia el avance en la investigación de nuevos sustratos SERS empleando los nanomateriales obtenidos durante este proyecto, con el fin de aportar nuevos resultados que puedan aplicarse en diversas áreas. Los sustratos fueron realizados mediante la formación de una capa delgada de nanopartículas lavadas y concentradas sobre una lámina de vidrio mediante goteo. Durante el proceso, el goteo se realizó intermitentemente dejando secar la gota sobre el sustrato a temperatura ambiente antes de agregarse la siguiente gota. Los sustratos se utilizaron para evaluar su desempeño utilizando colorante rodamina B como analito de referencia (Figura 3.4). El equipo empleado fue un espectrómetro Raman Ocean Optics QE6500, utilizando un láser de 785 nm.

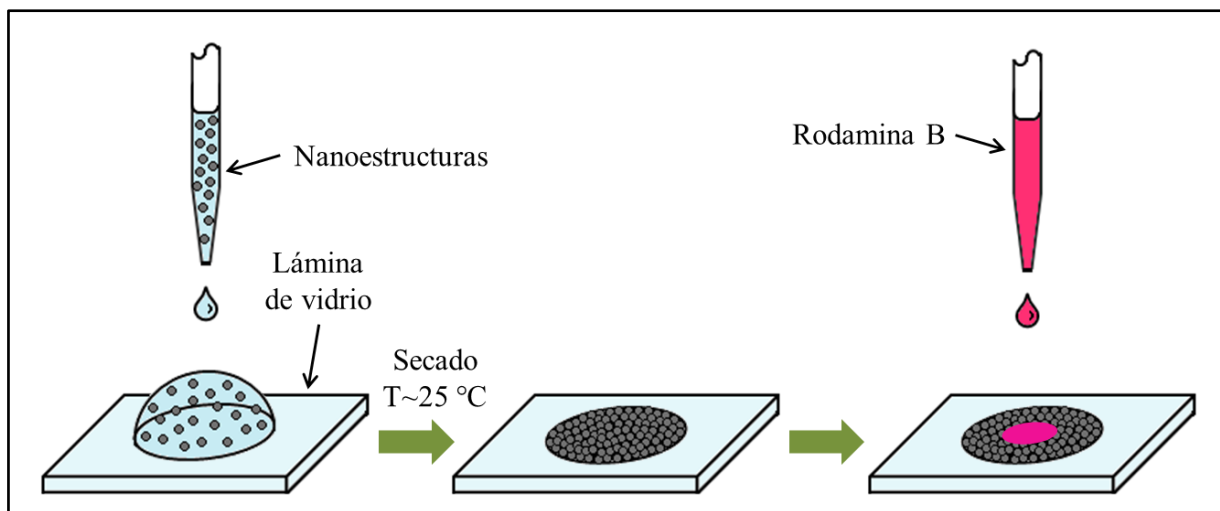


**Figura 3.4.** Esquema de la metodología de la preparación de los sustratos SERS.



## CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se describen y discuten los resultados correspondientes a la investigación y desarrollo experimental de las nanopartículas monometálicas y autoensambles mediante síntesis verde empleando extractos acuosos de *L. mexicana* y *E. polystachya*. Los resultados se presentan con base en la comparación de los procesos observados con los fundamentos teóricos descritos en la literatura.

### 4.1. Síntesis de nanopartículas de Au

#### 4.1.1. Síntesis de nanopartículas de Au mediante el uso de extracto de *L. mexicana*

Para establecer las condiciones apropiadas para la obtención del extracto acuoso de *L. mexicana*, se realizó una serie de reacciones estableciendo la concentración del extracto en 5 mg/ml, variando la temperatura y el tiempo. Posteriormente, se realizaron reacciones en relación volumétrica 1:1 de cada extracto con 2 mM de  $\text{HAuCl}_4$ , con un reposo de 1 h, observándose un cambio de color de amarillo a púrpura después de ~30 min. En la Tabla 4.1 se aprecian los valores de absorbancia de UV-Vis de la banda característica de las AuNPs (500-600 nm).

**Tabla 4.1.** Valores de absorbancia en UV-Vis de la reacción de extracto de *L. mexicana* a diferentes condiciones de temperatura y tiempo con 2 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

| $\begin{matrix} t \text{ (min)} \\ T(^{\circ}\text{C}) \end{matrix}$ | 5    | 7.5  | 10   | 12.5 | 15   |
|----------------------------------------------------------------------|------|------|------|------|------|
| 60                                                                   | 0.22 | 0.28 | 0.3  | 0.32 | 0.33 |
| 70                                                                   | 0.25 | 0.44 | 0.46 | 0.47 | 0.5  |
| 80                                                                   | 0.32 | 0.51 | 0.57 | 0.57 | 0.58 |
| 90                                                                   | 0.36 | 0.52 | 0.58 | 0.58 | 0.58 |
| 100                                                                  | 0.37 | 0.52 | 0.58 | 0.57 | 0.58 |

Con base en los resultados de la Tabla 4.1, se realizó un gráfico de superficie para poder apreciar esquemáticamente el grado de variación de los valores de absorbancia, el cual se presenta en la Figura 4.1. En este gráfico, se puede observar una influencia de la temperatura y del tiempo de calentamiento en la producción de AuNPs. Sin embargo, las tendencias no son lineales,

estabilizándose en valores cercanos a 80 °C y 10 min. Aunque a mayor temperatura y tiempo se logró mayor valor de absorbancia, este crecimiento no es significativo respecto al incremento térmico y del tiempo, por lo tanto, se eligieron los valores de 80 °C y 10 min como condiciones para la preparación de extracto de *L. mexicana* para los experimentos de AuNPs posteriores. Resultados similares se obtuvieron al medir la capacidad antioxidante de extracto de *Gynura divaricata* a diferentes temperaturas [233], observándose una significativa reducción de la actividad antioxidante a temperaturas menores a 80 °C, comparado con los extractos obtenidos a 90 y 100 °C, no obstante, se hizo énfasis en que la extracción a elevadas temperaturas pueden conllevar a la degradación de algunas sustancias bioactivas.

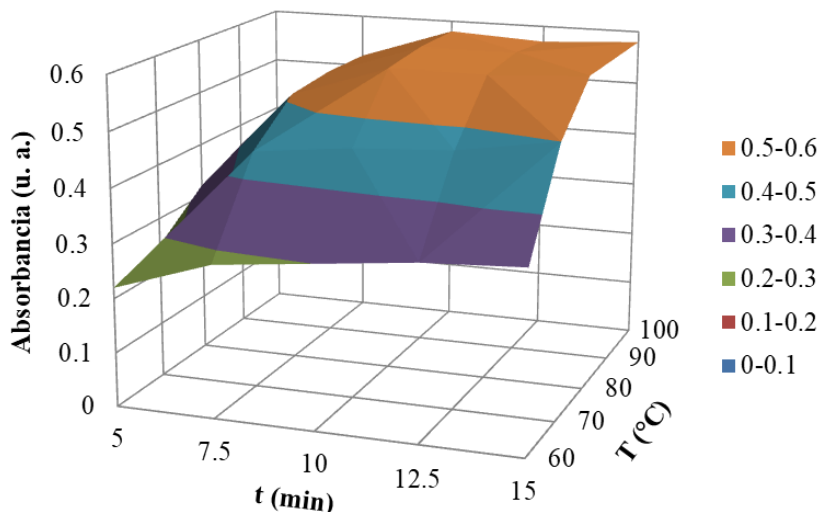


**Figura 4.1.** Gráfico de la influencia de la temperatura y el tiempo de elaboración del extracto de *L. mexicana* en la absorbancia de UV-Vis de la reacción con 2 mM de HAuCl<sub>4</sub>.

Una vez establecidas las condiciones de elaboración del extracto de *L. mexicana*, se procedió a la variación de la concentración empleando 2 mM de HAuCl<sub>4</sub> para la reacción. La Figura 4.2(a) muestra los espectros de UV-Vis de los coloides resultantes, en donde se aprecian bandas situadas en ~540 nm, lo cual indicó la obtención de AuNPs esféricas [126], además se aprecia una clara influencia en la eficiencia de formación de las AuNPs respecto al incremento de la concentración del extracto. La gráfica de 5 mg/ml mostró un cambio en la pendiente desde ~730

nm, la cual se aprecia en mayor magnitud conforme se incrementó la concentración hasta formarse otra banda a mayores longitudes de onda, las cuales están situadas en  $\sim 865$  y  $\sim 764$  nm para las muestras de 10 y 15 mg/ml, respectivamente. Lo anterior indicó la formación de nanoestructuras de diferente morfología y tamaño conforme se varió la concentración del extracto, además, el desplazamiento de la banda se derivó de un cambio en las propiedades ópticas de las nanoestructuras [126, 127].

Concretamente, se incrementó la concentración del extracto para observar el comportamiento de la banda secundaria. La Figura 4.2(b) muestra los espectros resultantes, en donde se aprecia que la muestra con concentración de extracto de 30 mg/ml tiene la banda secundaria posicionada en  $\sim 757$  nm, similar a la muestra de 15 mg/ml ( $\sim 764$  nm). Sin embargo, a partir de esta concentración se observó un decrecimiento y un desplazamiento del pico hacia longitudes de onda menores hasta su desaparición a partir de concentraciones mayores de 60 mg/ml.

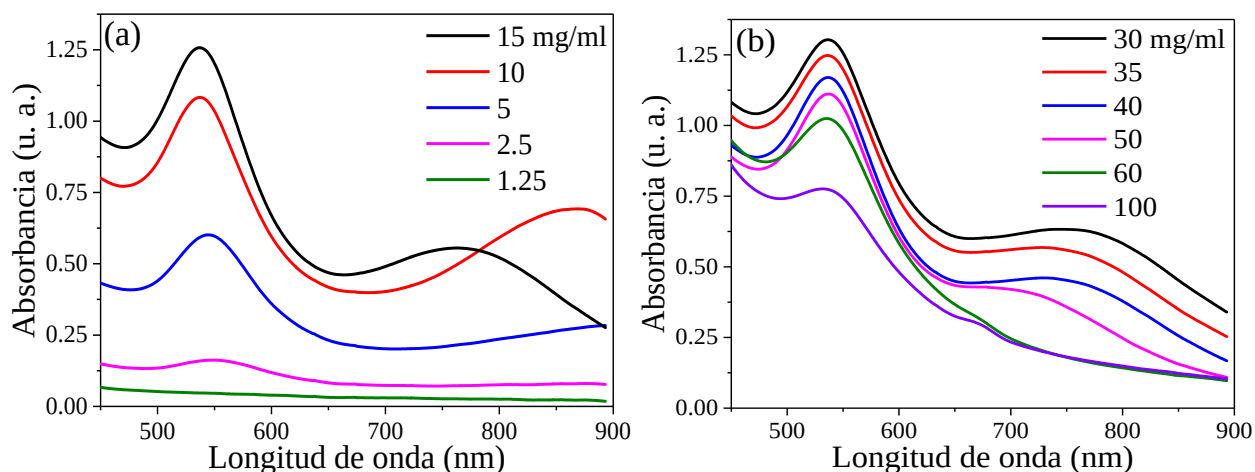


**Figura 4.2.** Espectros de UV-Vis de la formación de AuNPs variando la concentración de extracto de *L. mexicana* en los rangos (a) 1.25-15 mg/ml y (b) 30-100 mg/ml, empleando 2 mM de  $\text{HAuCl}_4$ .

Con base en los resultados, se procedió a la evaluación del efecto de la variación de la concentración del  $\text{HAuCl}_4$  estableciendo el valor de concentración del extracto a 5 mg/ml. La

Figura 4.3(a) corresponde a los espectros de UV-Vis, en donde se aprecia que un exceso entre la relación de la concentración de la sal precursora y la concentración del extracto impidió la reducción de los iones  $\text{Au}^{3+}$ . El espectro de 2 mM posee una banda bien definida y una pendiente positiva a longitudes de onda mayores, además concuerda con el espectro de 5 mg/ml de la Figura 4.2(a) debido a que coinciden en condiciones.

Se realizaron nuevos experimentos reduciendo la concentración del  $\text{HAuCl}_4$  para continuar evaluando el comportamiento de la absorbancia en estas muestras. En la Figura 4.3(b) se pueden observar los espectros de UV-Vis, los cuales muestran una reducción proporcional de la absorbancia respecto a la reducción de la concentración de  $\text{HAuCl}_4$ . Al reducirse la concentración a 0.8 mM, la banda de absorbancia ubicada en  $\sim 540$  nm disminuyó, mientras que la banda secundaria creció y se desplazó hacia longitudes de onda menores. Cuando se empleó 0.6 mM, la absorbancia continuó disminuyendo, mientras que la banda secundaria siguió desplazándose a la izquierda, sin embargo, su absorbancia también disminuyó. Para las concentraciones de 0.4 y 0.2 mM, se apreciaron bandas muy disminuidas de AuNPs y ausencia de la banda secundaria. Finalmente, a concentraciones menores no hubo formación de AuNPs.

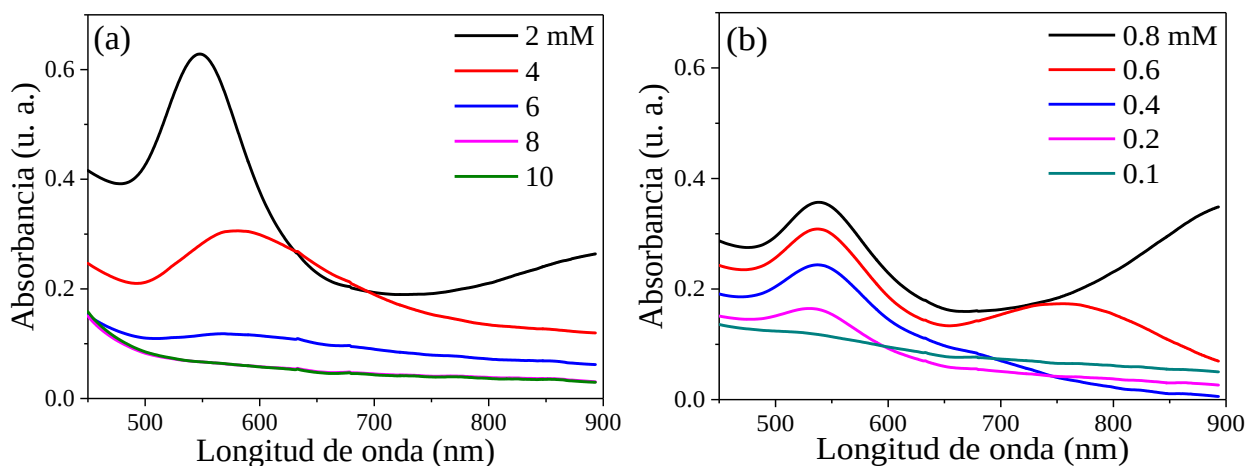


**Figura 4.3.** Espectros de UV-Vis de formación de las AuNPs variando la concentración de la solución de  $\text{HAuCl}_4$  en los rangos (a) 2-10 mM y (b) 0.1-0.8 mM, empleando 5 mg/ml de extracto de *L. mexicana*.

La concentración del extracto y del  $\text{HAuCl}_4$  son factores que influyen directamente en la eficiencia de producción de AuNPs y en la morfología, es decir, la relación entre iones de  $\text{Au}^{3+}$  y las biomoléculas del extracto proporcionan una alternativa de control en la proporción de nanoestructuras esféricas y otras morfologías. Han sido reportados diversos estudios que atribuyen a las nanoestructuras 1D y 2D la formación de otras bandas posicionadas a mayor longitud de onda debido a la variación de la relación de aspecto [234].

La técnica de espectroscopía UV-Vis proporciona importante información morfológica gracias a la resonancia del plasmón de la superficie (RPS). El plasmón superficial resulta de la oscilación colectiva de los electrones de conducción en la superficie de una partícula metálica al interactuar con el campo eléctrico de una fuente de luz, de este modo, la oscilación se produce en todos los electrones de conducción que se encuentran confinados dentro de una nanopartícula [235]. Al incidir una radiación electromagnética sobre una nanopartícula metálica, el campo eléctrico de la radiación interactúa con ella provocando que los electrones dentro de la nanopartícula se muevan en dirección contraria al campo eléctrico en función de la permitividad eléctrica del material, formando un campo eléctrico restaurador, que es contrario al campo eléctrico incidente (Figura 4.4 (a)), provocando que los electrones intenten mantenerse en equilibrio, generándose una oscilación electrónica (Figura 4.4 (b)).

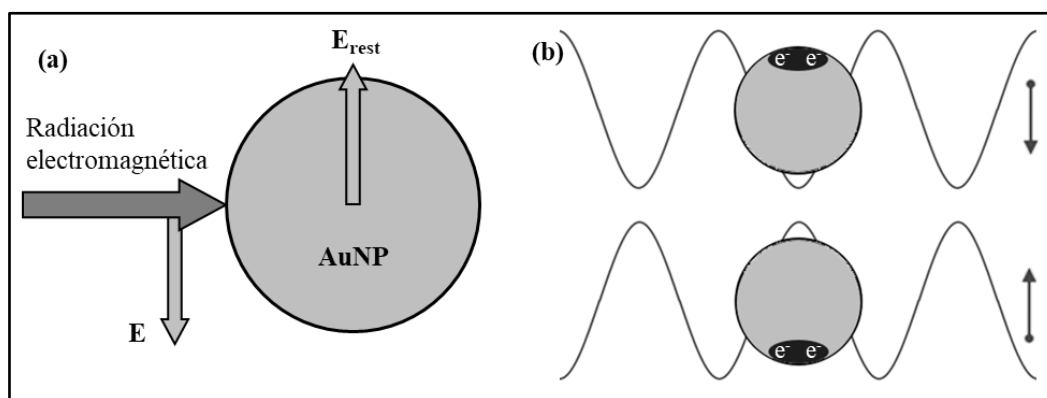


**Figura 4.4.** (a) Esquema de la interacción de la radiación electromagnética con las AuNPs y (b) esquema de la oscilación electrónica.



La fuerza del campo eléctrico generado en las AuNPs depende de la distancia de desplazamiento de los electrones, es decir, del tamaño de las AuNPs, lo que provocó el desplazamiento de las bandas de absorción. Además, el campo eléctrico generado también depende de la forma, debido a la presencia de morfologías alargadas o planas, produciéndose oscilaciones electrónicas adicionales a lo largo de las diferentes dimensiones de las AuNPs, apareciendo otras bandas de absorción a mayor longitud de onda dependiendo de la superficie de acumulación de carga y de la relación de aspecto [236].

Por lo tanto, la variación de la concentración del extracto, así como del  $\text{HAuCl}_4$ , no influyó en el tamaño de las AuNPs, sin embargo, propician la formación de morfologías de diferente relación de aspecto. La obtención de morfologías secundarias de mayor relación de aspecto se produjo a concentraciones de 10 mg/ml de extracto y 2 mM de  $\text{HAuCl}_4$ , la cual se fue reduciendo conforme se aumentó la concentración del extracto. Por otro lado, a 0.6 mM de  $\text{HAuCl}_4$  y 5 mg/ml de extracto se generó una banda definida de morfologías secundarias, no obstante, las intensidades de las bandas fueron muy bajas, indicando una reducida eficiencia de formación.

Para los siguientes análisis se eligieron dos muestras de AuNPs; una en donde solamente se observó la banda característica de UV-Vis en  $\sim 540$  nm, obtenida con 60 mg/ml de extracto y 2 mM de  $\text{HAuCl}_4$  (Au-M1), y otra donde se observó una banda secundaria bien definida a  $\sim 764$  nm, obtenida con 15 mg/ml de extracto y 2 mM de  $\text{HAuCl}_4$  (Au-M2).

Se realizó el análisis de DRX para determinar la estructura cristalina del material, verificar la composición química y calcular el tamaño promedio de cristalito. En la Figura 4.5 se aprecian los difractogramas correspondientes a las muestras Au-M1 y Au-M2, en donde se observan patrones de difracción apilados (Figura 4.5(a)) que fueron comparados con el patrón de referencia correspondiente a la fase Au fcc (JCPDS No. 00-004-0784), indicando que ambas muestras poseen los mismos picos indexados como (111), (200), (220), (311) y (222), sin la presencia de otras fases secundarias. Por otra parte, se realizó un análisis del porcentaje de deformación de la red cristalina, obteniéndose  $0.1809 \pm 0.0143$  % y  $0.1619 \pm 0.0306$  %, para Au-M1 y Au-M2, respectivamente, indicando que los parámetros de red no sufrieron una deformación considerable.

En la Figura 4.5(b) se observan los difractogramas superpuestos en el rango de posición angular de  $36$ – $46^\circ$ , en donde se aprecia claramente una diferencia de ancho de los picos (111) y (200),

siendo mayor en la muestra Au-M1. Con base en los resultados de UV-Vis, se tiene evidencia de partículas nanométricas, por lo tanto fue posible calcular el tamaño promedio de cristalito o de nanopartícula mediante la ecuación de Scherrer utilizando el ancho a la mitad de los picos (111) de ambas muestras, dando como resultado  $\sim 28$  nm para Au-M1, y  $\sim 37$  nm para Au-M2.

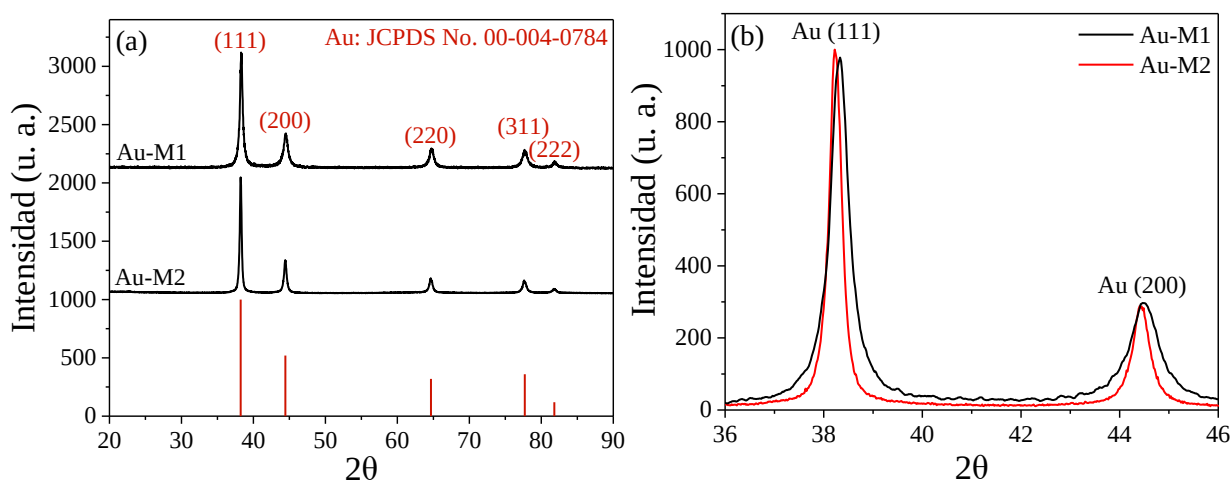


**Figura 4.5.** Difractogramas de rayos X de las muestras Au-M1 y Au-M2 (a) apilados en el rango de 20-90° y (b) superpuestos en el rango de 36-46°.

Los resultados del análisis por DRX señalan que las muestras Au-M1 y Au-M2 fueron conformadas de polvos de nanopartículas de la fase cristalina Au fcc, sin la presencia de impurezas o compuestos orgánicos. Los valores resultantes de la ecuación de Scherrer indicaron que el ancho de los picos de difracción reveló información acerca de la relación inversa entre el ancho de pico y el tamaño de las AuNPs. No obstante, el valor calculado por medio de esta ecuación es un valor promedio de todas las dimensiones de las AuNPs, por lo tanto, para morfologías esféricas es un valor muy aproximado, en cambio, para morfologías planas y alargadas es importante realizar un estudio de microscopía electrónica para obtener dimensiones más certeras, así como la morfología real. Por otro lado, las posiciones angulares de los picos de difracción variaron ligeramente debido a deformaciones en el parámetro reticular de la celda fcc, posiblemente causadas durante la preparación de la muestra en sólido.

Con el fin de observar la morfología real y confirmar la composición elemental de las AuNPs se realizó un análisis mediante MEB. Se analizaron las muestras Au-M1, Au-M2 y una muestra

adicional obtenida con 10 mg/ml de extracto y 2 mM de  $\text{HAuCl}_4$  (Au-M3) (Figura 4.6). En la Figura 4.6(a) se aprecia la imagen de MEB de la muestra Au-M1, en donde se observa la presencia de AuNPs de morfologías esférica con un tamaño promedio de  $\sim 42$  nm y una pequeña cantidad de aglomerados de AuNPs. La Figura 4.6(b) corresponde a la imagen de MEB de la muestra Au-M2, en donde se observa la formación de morfologías triangulares (algunas truncadas en los vértices) de  $\sim 136$  nm de arista entre AuNPs de misma morfología y tamaño que la muestra Au-M1. Por otra parte, en la Figura 4.6(c) se puede apreciar que las morfologías triangulares crecieron hasta un tamaño aproximado de  $\sim 420$  nm de arista debido a la disminuida concentración de agentes estabilizantes del extracto, mientras que las AuNPs que las acompañan poseían la misma morfología y tamaño. Finalmente, el análisis químico elemental por EDS (Figura 4.6(d)) indica que tanto las AuNPs y las partículas triangulares están compuestas de Au, las señales de los elementos C y Cu son derivadas del portamuestras del equipo.

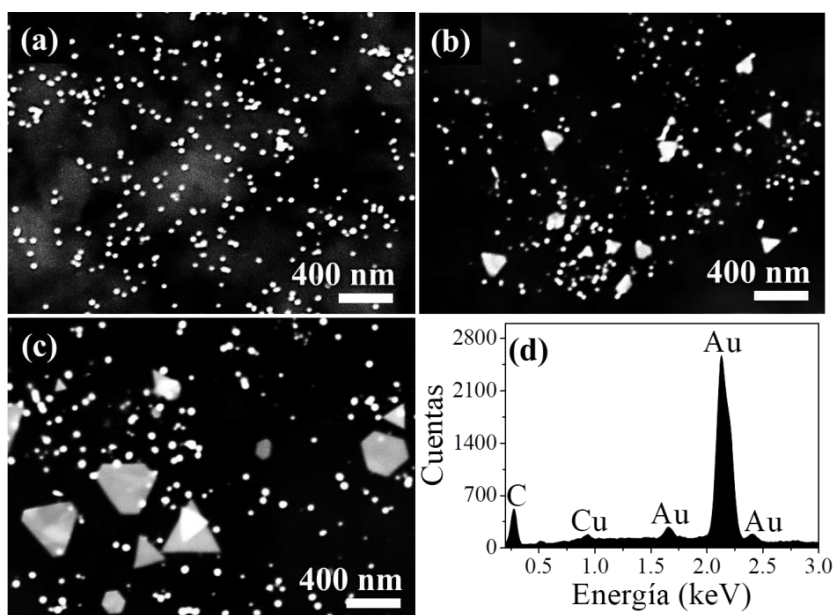


**Figura 4.6.** Imágenes de MEB de las muestras (a) Au-M1, (b) Au-M2 y (c) Au-M3. (d) Análisis químico elemental por EDS.

Como complemento y refuerzo del análisis estructural y de microscopía, se analizaron las muestras Au-M1 y Au-M2 mediante MET (Figura 4.7). En la Figura 4.7(a) se observa la imagen

de campo oscuro anular de alto ángulo (HAADF) en la cual se puede observar un contraste por número atómico, lo que resultó en una imagen de diferentes contrastes debido a la variación de los espesores de las AuNPs. La Figura 4.7(b) corresponde a la imagen de campo claro de AuNPs de morfologías cuasi-esféricas de tamaños entre 10-30 nm. Por otro lado, la Figura 4.7(c) muestra la imagen de alta resolución de una nanopartícula, en donde se observan franjas que tienen una separación de 0.23 nm, que corresponde al plano (111) de la fase cristalina Au fcc (JCPDS No. 00-004-0784), no obstante, se observan conjuntos de planos de diferente orientación no especular con otras, indicando la presencia de nucleación secundaria durante la formación de estas nanopartículas. En la Figura 4.7(d) se observa la imagen de HAADF de la muestra Au-M2, en donde se aprecia la presencia de AuNPs y morfologías triangulares, estas últimas muestran un contraste elevado respecto a las AuNPs, indicando la presencia de morfologías triangulares completamente planas de muy bajo espesor. En la Figura 4.7(e) se muestra una imagen de campo claro de algunas partículas triangulares que tienen un tamaño promedio de arista entre 60-80 nm. Finalmente, la Figura 4.7(f) corresponde a la imagen de alta resolución de una partícula triangular, en donde se aprecian franjas que poseen una separación de 0.23 nm, correspondiente al plano (111) de la fase cristalina Au fcc (JCPDS No. 00-004-0784), indicando que los planos de la nanopartícula tienen una orientación predominante a lo largo de la dirección [111].

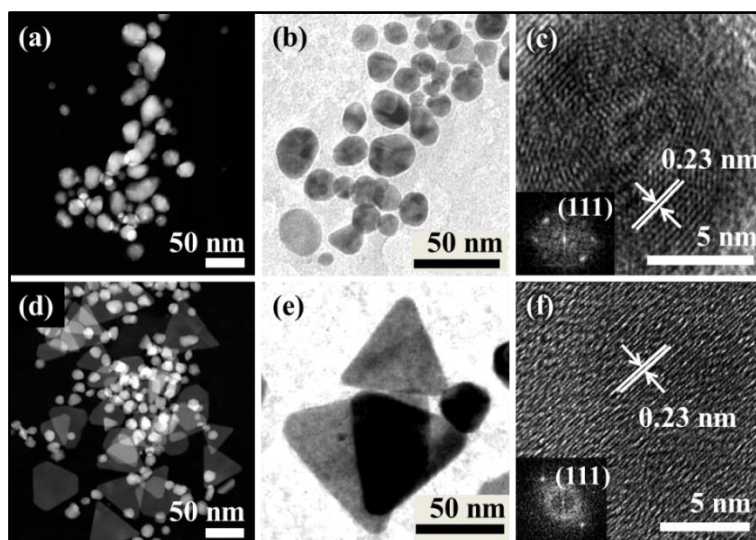


**Figura 4.7.** Imágenes de MET de la muestra Au-M1: (a) HAADF, (b) campo claro y (c) alta resolución, y de la muestra Au-M2: (d) HAADF, (e) campo claro y (f) alta resolución.

Los resultados de microscopía electrónica indicaron que las AuNPs poseen morfologías cuasi-esféricas de baja relación de aspecto, mientras que las morfologías que generaron una banda de RPS situada a longitudes de onda mayores en los espectros de UV-Vis fueron las nanopartículas de morfología triangular, las cuales poseen una elevada relación de aspecto, tamaños de arista muy variados (60-136 nm) y espesores muy reducidos no calculados. Las técnicas de microscopía electrónica son de gran importancia para el análisis de morfología y dimensiones, y son complementarias a los resultados de las técnicas de UV-Vis y DRX. La diferencia entre morfologías puede relacionarse con la naturaleza de los agentes estabilizadores del extracto de *L. mexicana* y su proporción con los iones de  $\text{Au}^{3+}$ . Aunque la preferencia en la formación de crecimientos bidimensionales radica en que la familia de planos  $\{111\}$  es conocida por ser la más estable en cristales fcc, la formación de triángulos planos de Au con caras extendidas en el plano (111) (Figura 4.8(a)) indica la inhibición del crecimiento de las partículas a lo largo de la dirección  $[111]$  [237]. Lo anterior puede ser debido a que dentro del extracto hubo biomoléculas estabilizadoras cuyas partes liofóbicas se adsorbieron preferencialmente en los planos (111) expuestos del Au fcc [238]. Sin embargo, al incrementarse la relación de biomoléculas respecto a los iones de  $\text{Au}^{3+}$ , la cantidad de estabilizantes fue mayor, lo que promueve la completa estabilización de las AuNPs en todos sus planos expuestos (Figura 4.8(b)), esto explica la formación de triángulos a concentraciones reducidas de extracto de *L. mexicana*.

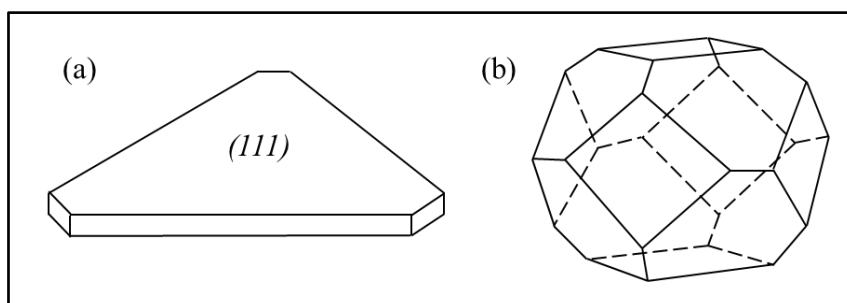


**Figura 4.8.** Esquema geométrico de las (a) partículas triangulares de Au y (b) AuNPs cuasi-esféricas.

Al haberse realizado la caracterización química y estructural de las AuNPs, se evaluó mediante la técnica de voltamperometría cíclica (VC) la sensibilidad de las señales electroquímicas y la electroactividad de las AuNPs depositadas en un electrodo de trabajo, así como el comportamiento electroquímico en condiciones de elevado o bajo pH. La Figura 4.9 corresponde a los perfiles de VC del electrodo de trabajo modificado con la muestra Au-M1 vs un electrodo de referencia de calomelano ( $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ ) saturado con KCl (ESC), generados a distintas velocidades de barrido de potencial en medio ácido y alcalino. Para medio ácido (Figura 4.9(a)) se empleó una solución a 0.5 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , donde en principio se utilizó el electrodo de trabajo sin modificarse a una velocidad de barrido de potencial de 25 mV/s para fines comparativos (inserto), observándose una señal de reducción muy débil situada en  $\sim -0.4$  V con una intensidad de corriente catódica de  $\sim -0.006$  mA. No obstante, al modificarse el electrodo, las señales de corriente se incrementaron, observándose además la aparición de una señal de corriente catódica en  $\sim 0.04$  V típica de los planos de Au (111) [239]. Similarmente, el análisis de VC en medio alcalino de 0.3 M de KOH (Figura 4.9(b)) generó voltamperogramas muy parecidos con las señales correspondiente al carbono vítreo y el Au (111), indicando que para este tipo de AuNPs no ocurrió una influencia notable del pH en las señales electroquímicas.

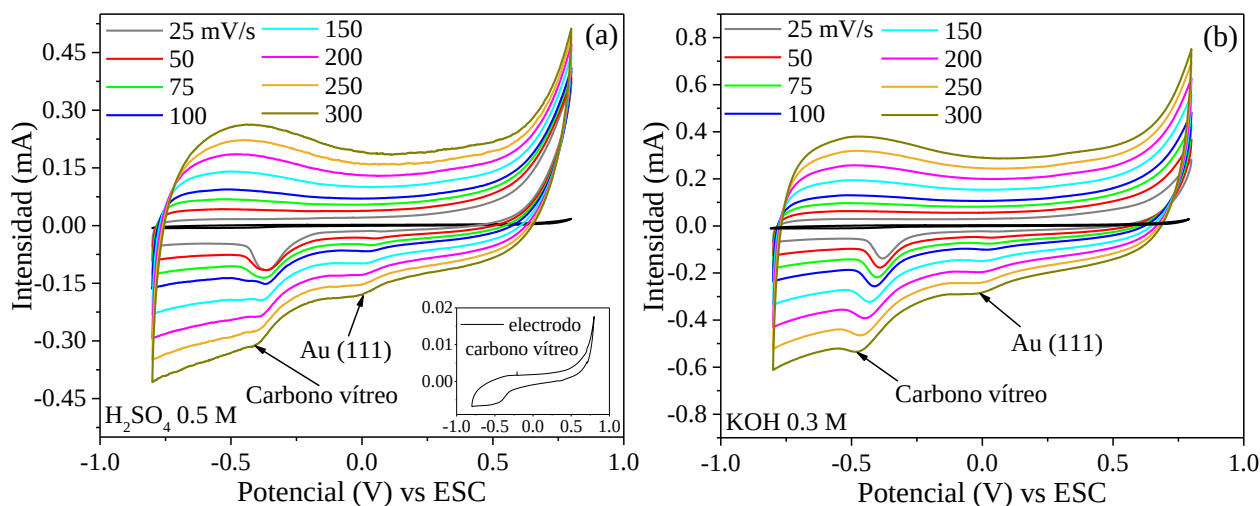


**Figura 4.9.** Voltamperogramas cíclicos efectuados a 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, y 300 mV/s de la muestra Au-M1 vs ESC en (a) 0.5 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y (b) 0.3 M de KOH.

Para evaluar la estabilidad de las especies electroactivas y el grado de reversibilidad de las AuNPs de la muestra Au-M1 en el electrodo de trabajo, se realizaron 10 ciclos efectuados a 50 mV/s en medio ácido y alcalino. La Figura 4.10 muestra los voltamperogramas correspondientes a la muestra Au-M1, en donde se observa que para el medio ácido (Figura 4.10(a)) ocurrió una pequeña variación gradual de la intensidad de los picos característicos al realizarse los 10 ciclos. Igualmente, el análisis realizado para medio alcalino (Figura 4.10(b)) mostró una variación muy pequeña de la intensidad de las señales, indicando una buena estabilidad de las especies electroquímicas correspondientes al carbono vítreo y las AuNPs.

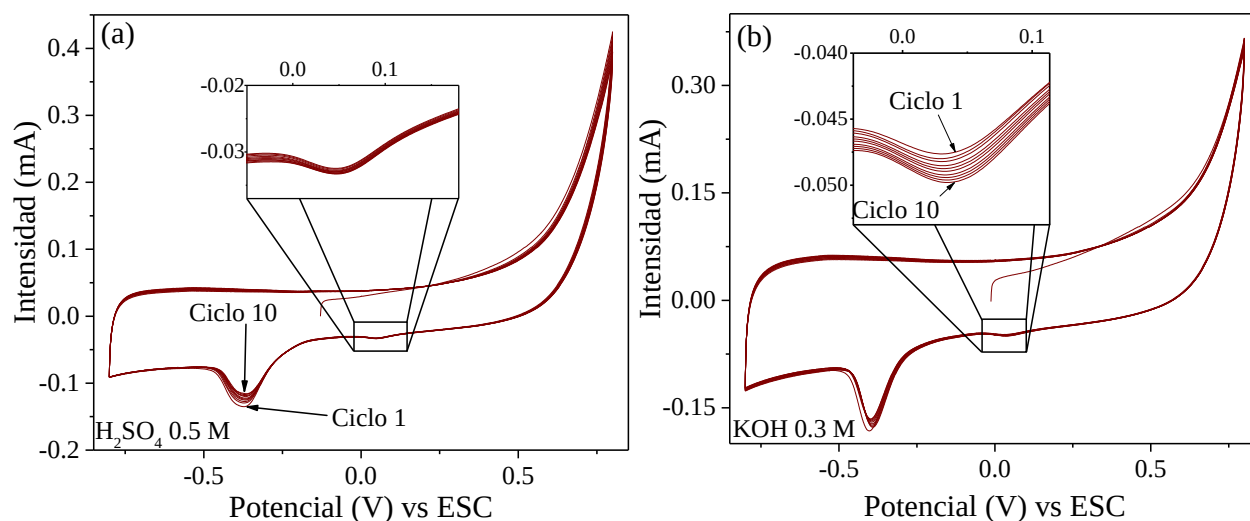


**Figura 4.10.** Voltamperogramas cíclicos efectuados a 50 mV/s de la muestra Au-M1 vs ESC en (a) 0.5 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH.

Por otro lado, mediante la técnica de VC se realizó la evaluación de la sensibilidad de las señales electroquímicas y la electroactividad de las AuNPs de la muestra Au-M2 en el electrodo de trabajo. La Figura 4.11 corresponde a los perfiles de VC del electrodo de trabajo modificado con la muestra Au-M2 vs ESC obtenidos a diferentes velocidades de barrido de potencial en medio ácido y alcalino. Para medio ácido (Figura 4.11(a)) se observa la ausencia de la señal catódica del carbono vítreo, presente en los voltamperogramas de la muestra Au-M1 (Figura 4.9), por otro lado, se generaron tres picos de oxidación y tres picos de reducción, lo cual indica una variedad

de señales de óxido-reducción de diversas morfologías y de diferentes planos correspondientes a Au (100), (110) y (111) [240]. Para medio alcalino (Figura 4.11(b)), se observan las señales de corriente catódica características del carbono vítreo y del Au (111), situadas en  $\sim -0.4$  y  $\sim 0.04$  V, respectivamente, además, se presenta una señal anódica correspondiente a Au (111).

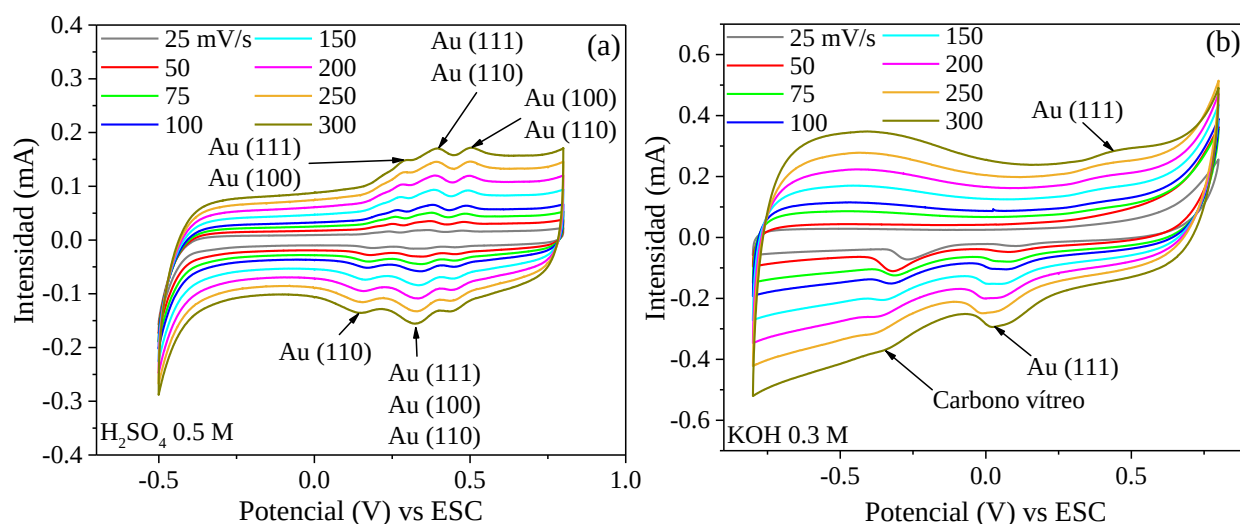


**Figura 4.11.** Voltamperogramas cíclicos efectuados a 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, y 300 mV/s de la muestra Au-M2 vs ESC en (a) 0.5 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y (b) 0.3 M de KOH.

Similarmente, se generaron 10 ciclos de VC realizados a 50 mV/s en medio ácido y alcalino para evaluar la estabilidad de las especies electroactivas y el grado de reversibilidad de las AuNPs de la muestra Au-M2 depositadas en el electrodo de trabajo. En la Figura 4.12 se aprecian los voltamperogramas correspondientes, observándose que en medio ácido (Figura 4.12(a)) ocurrió una variación de intensidad casi nula en los 10 ciclos, indicando una buena estabilidad de las AuNPs de la muestra Au-M2. Por otro lado, el estudio realizado en medio alcalino (Figura 4.12(b)) mostró una variación muy baja en la intensidad de la señal del Au (111), sin embargo, la señal de oxidación de Au (111) desapareció conforme los ciclos se fueron realizando, indicando la dificultad del oro para oxidarse en medio alcalino. Por otra parte, el pico de la señal del carbono vítreo mostró una variación de corriente significativa debido a que el carbono vítreo no

es completamente inerte en los estudios de electroanálisis, formándose delgadas capas de carbono oxidado hidrofílico que se incorpora al medio [241].

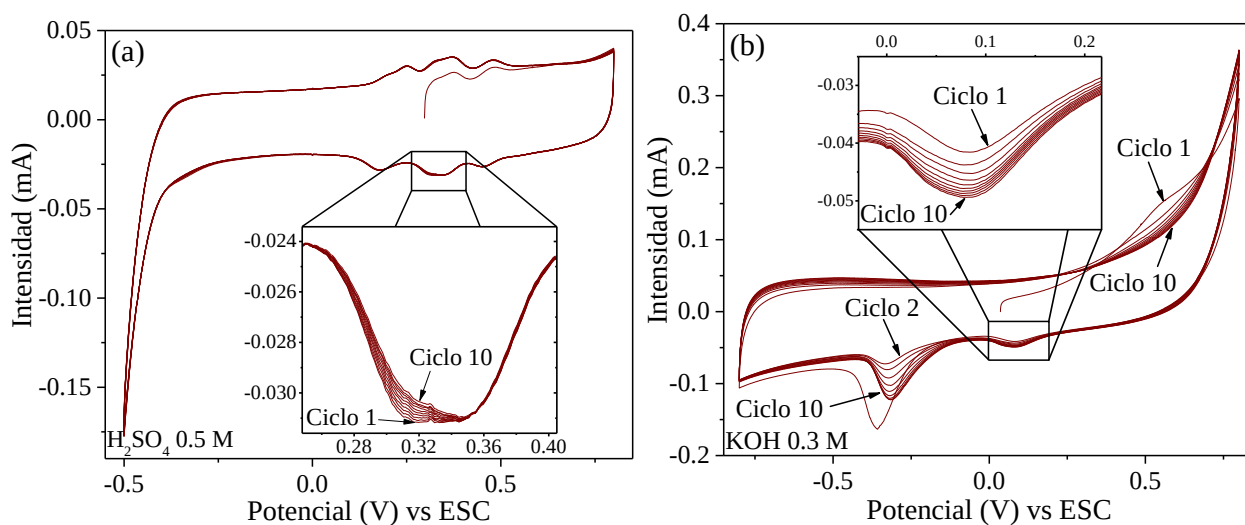


**Figura 4.12.** Voltamperogramas cíclicos efectuados a 50 mV/s de la muestra Au-M2 vs ESC en (a) 0.5 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y (b) 0.3 M de KOH.

Las AuNPs obtenidas con extracto de *L. mexicana* demostraron ser especies electroactivas que elevaron la sensibilidad del electrodo de trabajo de carbono vítreo. El análisis electroquímico mostró señales características de diferentes orientaciones cristalográficas del Au, las cuales han sido reportadas empleando nanoplatos y nanotriángulos de Au [242, 243], sin embargo, en medio ácido la muestra Au-M2 mostró una variedad de señales electroquímicas no encontradas en la muestra Au-M1, indicando que la presencia de las nanopartículas triangulares incrementan la sensibilidad de señal de corriente. El efecto del pH fue importante, debido a que en el medio ácido pudo llevarse a cabo los procesos de óxido-reducción reversibles del Au por la presencia de protones  $\text{H}^+$ , los cuales se caracterizan por ser altamente oxidantes. Además, en conjunto con la variación de potencial, los protones  $\text{H}^+$  fueron capaces de oxidar el Au, mientras que en medio alcalino, la obtención de hidróxido de Au es más complicada debido a que se requiere que el Au se encuentre en un estado iónico para poder reaccionar con el medio alcalino [244], por lo tanto, solamente se obtuvieron señales de reducción estables en los voltamperogramas.

#### 4.1.2. Síntesis de nanopartículas de Au mediante el uso de extracto de *E. polystachya*

De forma similar a la sección anterior, se realizó una serie de extractos acuosos de tronco y corteza de *E. polystachya* como indica la Tabla 3.3 para poder establecer las condiciones adecuadas de elaboración del extracto en función de la absorbancia del pico característico correspondiente a las AuNPs, sin embargo, ninguna de las pruebas mostró el cambio de color característico, ni la formación de alguna banda RPS en UV-Vis. Por lo anterior, se procedió a realizar experimentos estableciendo la concentración de la solución de  $\text{HAuCl}_4$  a 2 mM y variando la concentración del extracto, por otra parte, se efectuó una serie de pruebas mediante la variación de la concentración de la solución de  $\text{HAuCl}_4$ , fijando la concentración de extracto en 5 mg/ml. Los espectros de UV-Vis se muestran en la Figura 4.13, en donde se puede observar que la variación de la concentración del extracto de *E. polystachya* (Figura 4.13(a)) no produjo ninguna banda de absorción, asimismo, la variación de la concentración del  $\text{HAuCl}_4$  (Figura 4.13(b)) tampoco provocó la formación de alguna banda de absorción. Por otro lado, durante la experimentación se observó un cambio de coloración de amarillento a negro y una posterior precipitación (inserto).

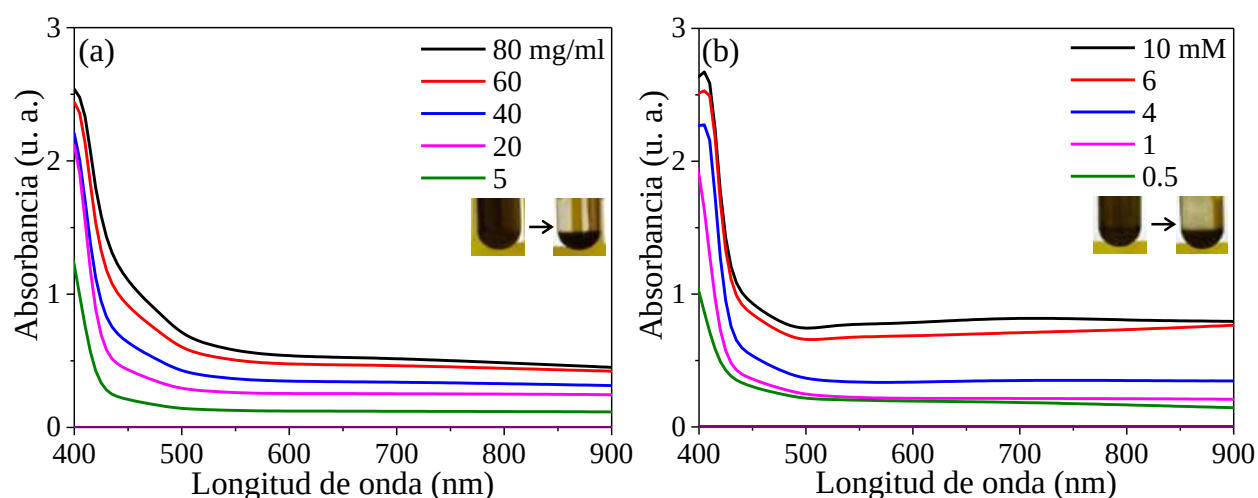


**Figura 4.13.** Espectros de UV-Vis de (a) la variación de la concentración de extracto de *E. polystachya* de 5-80 mg/ml, empleando 2 mM de  $\text{HAuCl}_4$ , y de (b) la variación de la concentración de  $\text{HAuCl}_4$  de 0.5-10 mM, empleando 5 mg/ml de extracto de *E. polystachya*.



Los resultados indican que los agentes reductores del extracto pudieron descomponerse o carbonizarse mediante la acción propia del  $\text{HAuCl}_4$ . El  $\text{HAuCl}_4$  es un ácido monoprótico que posee un pH que oscila entre 2 y 3.4 a concentraciones entre 10 y 0.5 mM, mientras que el pH del extracto de *E. polystachya* se encuentra entre 5 y 6 de pH. Los recursos maderables son aquellos que están compuestos por fibras de celulosa unidas con lignina, estas son degradadas por medio de la acción de un agente ácido mediante una reacción de hidrólisis [245]. Por lo tanto, el extracto acuoso de tronco y corteza de *E. polystachya* no fue capaz de reducir los iones  $\text{Au}^{3+}$  en un medio de bajo pH.

Con base en los resultados anteriores, se determinó el efecto de la variación del pH en la reacción, ajustándose a 5, 7 y 9 mediante la adición de una cantidad calculada de solución acuosa a 0.1 M de NaOH. La muestra de pH 5 no mostró cambios respecto a las pruebas anteriores, no obstante, las muestras de pH 7 y 9 exhibieron un cambio de coloración en pocos segundos de amarillento a púrpura oscuro. Las tres muestras se analizaron mediante MEB (Figura 4.14), sin embargo, la muestra de pH 5 no presentó la formación de ningún tipo de partículas, lo que coincide con los resultados del cambio de coloración.

Por otro lado, la muestra de pH 7 (Figura 4.14(a)) presentó la formación de partículas de Au de morfología esférica y tamaños promedio entre 104-116 nm, y algunas AuNPs de tamaños entre 63-82 nm. Es importante hacer notar que estas partículas esféricas en realidad se componen de numerosas partículas de menor tamaño, lo que sugiere la autoformación de un ensamble de AuNPs.

Al incrementarse el pH a 9 (Figura 4.14 (b)), se logró observar que el tamaño de las partículas esféricas disminuyó hasta lograr una cierta uniformidad en los ensambles, los cuales presentaron un tamaño promedio entre 30-48 nm. Por otro lado, se realizó un análisis químico por EDS (Figura 4.14(c)) en donde se muestra que las partículas de Au y las AuNPs están compuestas de Au, mientras que las señales de Na y Cl provienen del NaOH y del  $\text{HAuCl}_4$ , respectivamente, los cuales muy posiblemente reaccionaron para formarse NaCl. Este cloruro es muy importante en la formación de ensambles de AuNPs debido a que genera un electrolito que modifica la carga

electrostática de las AuNPs, propiciando que las AuNPs interactúen entre ellas con mayor facilidad [246].

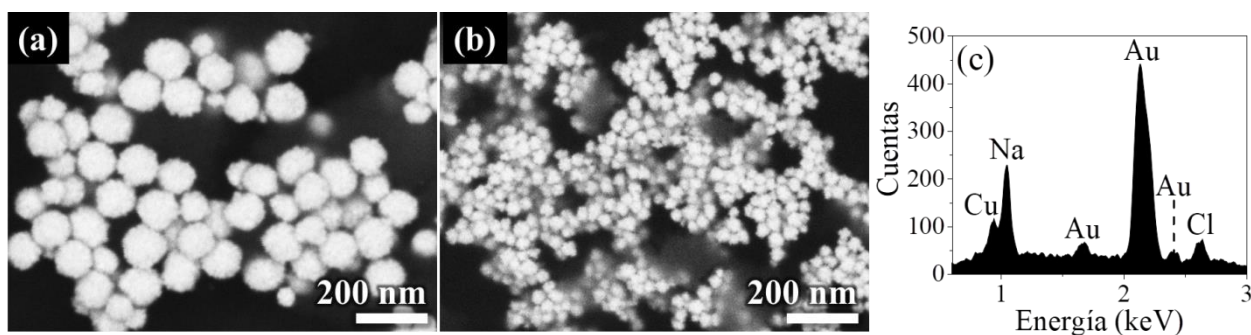


**Figura 4.14.** Imágenes de MEB de AuNPs obtenidas empleando extracto de *E. polystachya*, ajustando el pH de reacción a (a) 7 y (b) 9. (c) Análisis químico elemental por EDS.

La influencia del pH en la síntesis de AuNPs es un factor de gran importancia, esta aseveración pudo comprobarse al aumentarse el pH de la reacción de 2 a 9, obteniéndose una producción aceptable de ensambles de AuNPs de morfología y tamaño homogéneo. La influencia del pH se debe a la cantidad de iones  $\text{OH}^-$  presentes en la reacción, los cuales causan que los grupos funcionales hidroxilo de los agentes reductores pierdan más fácilmente los protones  $\text{H}^+$  al interactuar con los iones  $\text{Au}^{3+}$ , provocando su reducción a mayor velocidad a pH 9, observándose la disminución del tamaño de los ensambles de AuNPs [247]. Además, el pH tuvo gran impacto en las propiedades electrostáticas de las capas eléctricas de la superficie de las AuNPs, debido a que el exceso de iones  $\text{OH}^-$  en la reacción propició que en la superficie se pudiera modular la carga superficial y, por lo tanto, la barrera electrostática que evita la interacción con otras AuNPs [248].

Es importante mencionar que estas AuNPs no fueron contempladas para el resto de estudios, debido a que al adicionar una base fuerte a la síntesis verde, se están omitiendo algunos principios de la química verde (sección 2.3), resultando en una síntesis híbrida por reducción química.



## 4.2. Síntesis de nanopartículas de Ag

### 4.2.1. Síntesis de nanopartículas de Ag mediante el uso de extracto de *L. mexicana*

Al realizar el procedimiento para establecer las condiciones apropiadas para la obtención del extracto acuoso de *L. mexicana*, ningún extracto fue capaz de reaccionar con la solución de  $\text{AgNO}_3$  hasta después de varias horas, indicando que el extracto por sí mismo no contiene la capacidad de reducción adecuada para obtenerse AgNPs en un tiempo viable. No obstante, existen trabajos de investigación que reportan la síntesis de AgNPs empleando la radiación solar como una energía que intensifica la capacidad reductora de las biomoléculas del extracto, propiciando que los iones de  $\text{Ag}^+$  sean más fáciles de reducir [249]. Por lo tanto, se realizó una serie de experimentos estableciendo la concentración del extracto en 5 mg/ml y modificando la temperatura y el tiempo. Posteriormente, se efectuaron las reacciones en relación volumétrica 1:1 de cada extracto con 2 mM de  $\text{AgNO}_3$ , expuestas a una radiación solar de  $850 \text{ W/m}^2$  [250] durante 30 min, y se dejaron reposar durante 1 h. En la Tabla 4.2 se aprecian los valores de absorbancia en UV-Vis resultantes del máximo de la banda característica de AgNPs de cada reacción (400-500 nm).

**Tabla 4.2.** Valores de absorbancia en UV-Vis (u. a.) de la reacción de extracto de *L. mexicana* con 2 mM de  $\text{AgNO}_3$ , después de 30 min de exposición a  $850 \text{ W/m}^2$  de irradiancia solar a diferentes condiciones de temperatura y tiempo.

| $t \text{ (min)}$<br>$T(^{\circ}\text{C})$ | 5    | 7.5  | 10   | 12.5 | 15   |
|--------------------------------------------|------|------|------|------|------|
| 60                                         | 0.24 | 0.28 | 0.3  | 0.32 | 0.32 |
| 70                                         | 0.28 | 0.32 | 0.34 | 0.35 | 0.38 |
| 80                                         | 0.3  | 0.37 | 0.45 | 0.45 | 0.46 |
| 90                                         | 0.33 | 0.4  | 0.46 | 0.46 | 0.47 |
| 100                                        | 0.34 | 0.42 | 0.46 | 0.47 | 0.48 |

Mediante el uso de los datos de la Tabla 4.2, se realizó el gráfico de superficie mostrado en la Figura 4.15, en donde se aprecia esquemáticamente la variación de los valores de absorbancia, observándose una influencia de la temperatura y del tiempo en la producción de las AgNPs. De manera similar a la sección 4.1.1, la variación no es lineal, estabilizándose en condiciones cercanas a 80 °C y 10 min. Las condiciones de mayor temperatura y tiempo fueron las de mejor resultado, no obstante, los valores de absorbancia difieren en centésimas, haciendo inviable el incremento de tiempo y temperatura, por lo tanto, se optó por elaborar el extracto de *L. mexicana* para la obtención de AgNPs a 80 °C de temperatura y 10 min de permanencia.

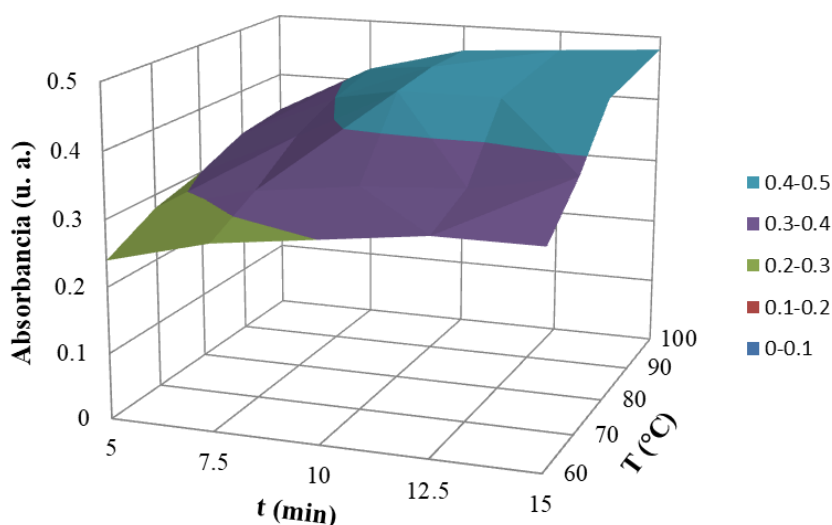


**Figura 4.15.** Gráfico de la influencia de la temperatura y el tiempo de elaboración del extracto de *L. mexicana* en la absorbancia de UV-Vis de la reacción con 2 mM de  $\text{AgNO}_3$ , después de 30 min de exposición a  $850 \text{ W/m}^2$  de irradiancia solar.

Se procedió a la experimentación mediante la variación de la concentración del extracto utilizando una concentración establecida de 2 mM de  $\text{AgNO}_3$  y una exposición a radiación solar de  $835 \text{ W/m}^2$  [250]. La Figura 4.16 muestra los espectros de UV-Vis, en donde se aprecia que ocurrió la formación de bandas RPS en longitud de onda de  $\sim 455 \text{ nm}$ , el cual es un valor que se encuentra dentro del rango característico de las AgNPs esféricas [251]. Utilizando extracto de 5 mg/ml (Figura 4.16(a)) se obtuvo una banda definida, sin embargo, la banda varía mínimamente

en absorbancia al incrementarse la concentración, ensanchándose de tal manera que la banda perdió definición a partir de una concentración de 15 mg/ml.

Al haber obtenido un mejor resultado a la menor concentración (5 mg/ml), se procedió a realizar una serie de experimentos empleando menores concentraciones de extracto. En la Figura 4.16(b) se muestran los espectros correspondientes, en donde se puede apreciar la influencia directa entre la concentración del extracto y la absorbancia a valores menores de concentración de 5 mg/ml, observándose que a concentraciones muy pequeñas aún fue posible la reducción de los iones  $\text{Ag}^+$  mediante la acción energética de la radiación solar.

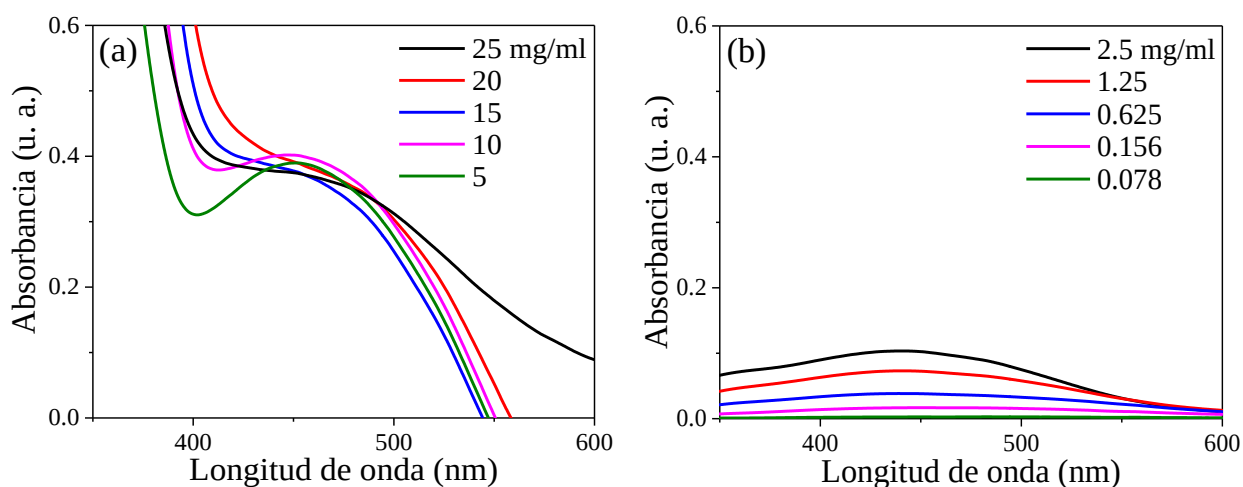


**Figura 4.16.** Espectros de UV-Vis de la formación de AgNPs después de 30 min de exposición a  $835 \text{ W/m}^2$  de irradiancia solar, variando la concentración de extracto de *L. mexicana* entre los rangos (a) 5-25 mg/ml y (b) 0.078-2.5 mg/ml, empleando 2 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

Por otro lado, se analizó la influencia de la variación de la concentración de la solución de  $\text{AgNO}_3$  en la formación de las AgNPs, empleando una concentración fija de extracto de 5 mg/ml y  $862 \text{ W/m}^2$  [250] de irradiancia solar. La Figura 4.17 corresponde a los espectros de UV-Vis de las AgNPs, en donde se puede apreciar un gran incremento de producción de 1 a 2 mM de  $\text{AgNO}_3$ , mientras que a mayores concentraciones la producción fue mayor, sin embargo, esta relación no es lineal, estabilizándose la absorbancia a partir de 6 mM, esto significa que la

eficiencia de formación de AgNPs se redujo tomando como referencia la cantidad de iones  $\text{Ag}^+$  en la solución y los valores de absorbancia. Por lo tanto, la concentración de 2 mM fue la que mostró mayor eficiencia de síntesis respecto a 1 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

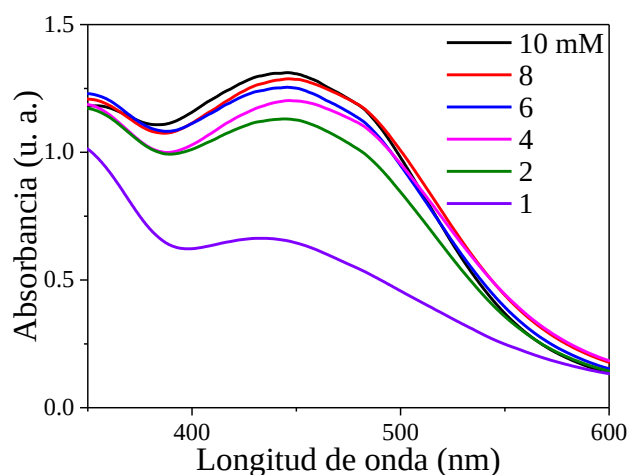


**Figura 4.17.** Espectros de UV-Vis de formación de AgNPs después de 30 min de exposición a  $862 \text{ W/m}^2$  de irradiancia solar, variando la concentración del  $\text{AgNO}_3$  de 1-10 mM, y empleando 5 mg/ml de extracto de *L. mexicana*.

Con base en los resultados obtenidos, se realizó una serie de experimentos fijando la concentración del extracto y de la solución de  $\text{AgNO}_3$  en 5 mg/ml y 2 mM, respectivamente, variando el tiempo de exposición a una irradiancia solar reportada de  $842 \text{ W/m}^2$  [250], dejando reposar las muestras durante 3 h. En la Figura 4.18 se observan los espectros de UV-Vis, en donde se puede apreciar una influencia directa de la radiación solar en la absorbancia. Como se mencionó anteriormente, la radiación solar es un factor esencial en este proceso debido a que la curva de 0 min de irradiancia (Figura 4.18(a)) no muestra bandas de absorción correspondiente a las AgNPs, no obstante, transcurridos 10 min se observó la formación de la banda característica, creciendo gradualmente conforme se incrementó el tiempo de exposición. Al incrementarse el tiempo de exposición hasta 60 min (Figura 4.18(b)), la absorbancia continuó creciendo, indicando una continua formación de nuevas AgNPs, sin embargo, la banda correspondiente a 60 min de

exposición presentó un desplazamiento a de  $\sim 455$  nm a  $\sim 432$  nm, además de una deformación y un ensanchamiento de la banda.

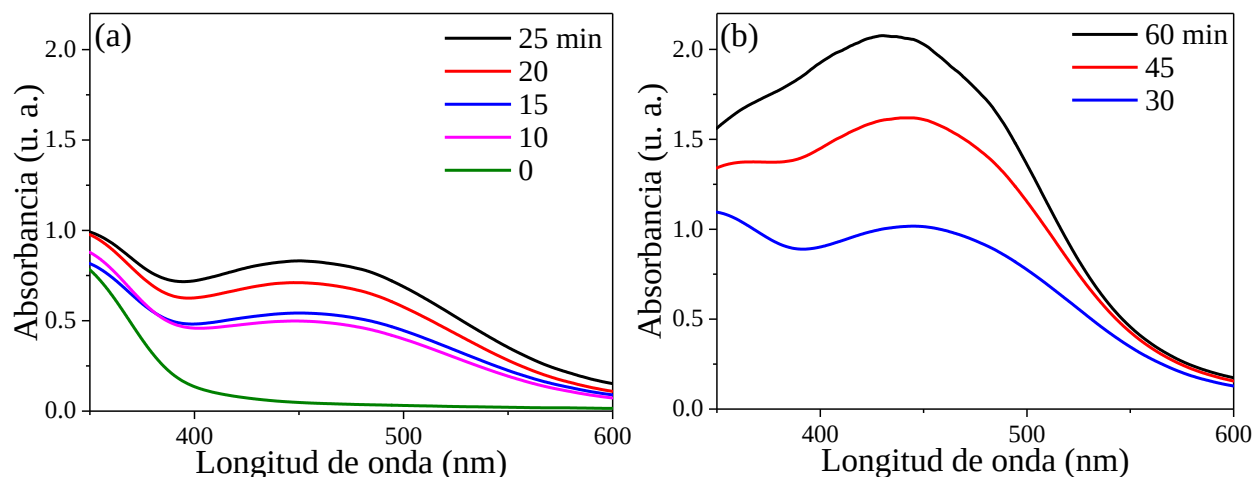


**Figura 4.18.** Espectros de UV-Vis de la formación de AgNPs después de la exposición a  $842 \text{ W/m}^2$  de irradiancia solar, variando el tiempo de exposición en los rangos (a) 0-25 min y (b) 30-60 min, empleando 2 mM de  $\text{AgNO}_3$  y 5 mg/ml de extracto de *L. mexicana*.

Los resultados de la técnica de UV-Vis correspondiente a la formación de AgNPs indican que la concentración del extracto de *L. mexicana*, la concentración de la solución de  $\text{AgNO}_3$  y el tiempo de exposición a la radiación solar, son factores importantes en la producción de AgNPs. El extracto contiene biomoléculas reductoras y estabilizadoras, sin embargo, por sí mismas no fueron capaces de reducir los iones de  $\text{Ag}^+$  a corto plazo, para lo cual se requirió de una energía de activación, es decir, radiación solar, la cual es un tipo de energía limpia y renovable.

A diferencia de los resultados de la sección 4.1.1, todos los espectros relacionados con la formación de AgNPs mostraron una única banda de absorción característica de AgNPs esféricas, descartando la formación de otras nanoestructuras, indicando que las biomoléculas de *L. mexicana* interactuaron de manera que los extremos liofóbicos fueron afines en todos los planos expuestos de las AgNPs, generando una estabilización estérica total en la superficie, sin embargo, un exceso de biomoléculas disminuyó o interrumpió completamente la difusión de los iones de



$\text{Ag}^+$  en la solución de tal manera que también se limita el crecimiento de los núcleos que no alcanzaron el radio crítico. Por otro lado, un exceso de iones  $\text{Ag}^+$  respecto a la cantidad de biomoléculas reductoras provoca una cantidad excesiva de iones  $\text{Ag}^+$  remanentes debido a que las biomoléculas tienen un determinado límite de capacidad reductora de iones.

Con base en los resultados, se eligieron las muestras que mostraron un mayor valor de absorbancia para los estudios posteriores. Las muestras elegidas fueron aquellas cuyas condiciones de síntesis consistieron en la reacción de relación volumétrica 1:1 del extracto de *L. mexicana* a concentración de 5 mg/ml con 2 mM de solución de  $\text{AgNO}_3$  y tiempos de exposición a la radiación solar de 45 min (Ag-M1) y 60 min (Ag-M2).

Para la determinación de la estructura cristalina, composición química y el tamaño promedio de cristalito de las AgNPs obtenidas, se realizó un análisis de DRX. En la Figura 4.19 se pueden apreciar los difractogramas correspondientes a las muestras Ag-M1 y Ag-M2. La Figura 4.19(a) muestra los dos difractogramas apilados y comparados con las tarjetas correspondientes a AgCl fcc (JCPDS 00-031-1238) y Ag fcc (JCPDS 01-089-3722), lo que indica la formación de AgNPs y partículas de AgCl, sin la presencia de alguna otra fase. Por otro lado, realizando el análisis del porcentaje de deformación de la red cristalina, se obtuvo  $0.2997 \pm 0.5138$  % para Ag-M1 y  $0.3009 \pm 0.6981$  % para Ag-M2. Estos porcentajes fueron mayores a los de las AuNPs obtenidas, sin embargo, siguen siendo valores muy reducidos ( $<1$  %), resultando en una muy baja variación del parámetro de la red fcc.

En la Figura 4.19(b) se aprecia claramente que los picos de difracción de la fase AgCl son más estrechos que los de la fase Ag, indicando que las partículas de AgCl son de mayor tamaño, incluso mayor que 100 nm, lo cual se puede verificar mediante un estudio de microscopía electrónica, posteriormente ilustrado. Al ser más anchos, los picos de Ag pueden emplearse para calcular el tamaño promedio de cristalito mediante la ecuación de Scherrer, obteniéndose un valor de  $\sim 14$  y  $\sim 16$  nm para los picos de difracción (111) de las muestras Ag-M1 y Ag-M2, respectivamente.

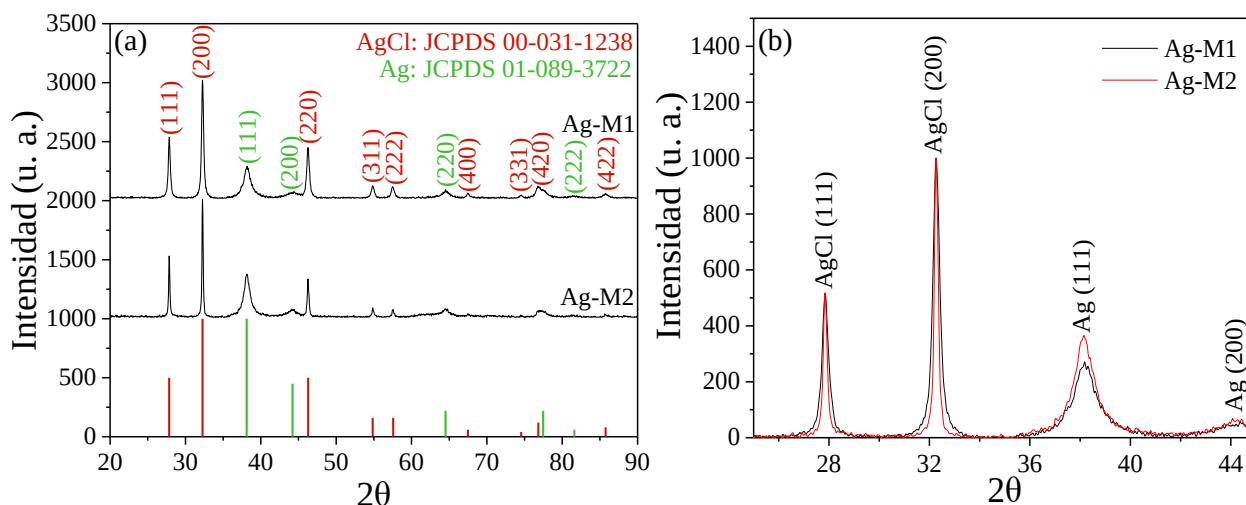


**Figura 4.19.** Difractogramas de rayos X de las muestras Ag-M1 y Ag-M2 (a) apilados en el rango de 20-90° y (b) superpuestos en el rango de 25-45°.

En los difractogramas de DRX se puede apreciar que la síntesis de AgNPs mediante irradiación solar empleando extracto de *L. mexicana* dio como resultado un coloide de AgNPs y partículas de AgCl. Al realizar el análisis de los resultados se pudo especular que la planta por sí misma contiene en su estructura compuestos de Cl, para confirmar lo anterior se realizó un análisis del polvo de la planta mediante la técnica de fluorescencia de rayos X, obteniéndose un porcentaje en peso de 4.29% de Cl.

Es importante mencionar que las hojas secas sin pulverizar recién adquiridas se lavaron enérgicamente con agua desionizada para eliminar toda impureza de la superficie antes de volverse a secar y pulverizar. Por lo tanto, la formación de AgCl fue debida a la presencia de biomoléculas que contienen Cl en su estructura, además, la fase AgCl es termodinámicamente estable en comparación con AgO o Ag<sub>2</sub>O [252], y su formación es espontánea ( $\Delta G = -110 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) cuando los iones  $\text{Ag}^+$  interactúan con los iones  $\text{Cl}^-$  [253].

El ancho de los picos de difracción indica el grado de cristalinidad de un material, siendo de mayor cristalinidad cuando los picos son más estrechos, sin embargo, los picos se vuelven más anchos a medida que exista la presencia de cristales cada vez más pequeños, debido a que el detector determina que entre mayor sea el alcance del ordenamiento atómico, mayor será el grado

de cristalinidad del material, no obstante, aunque las nanopartículas sean completamente cristalinas, el ordenamiento es a menor alcance debido a su tamaño, por lo tanto, el detector interpreta que es un material de baja cristalinidad.

Al conocer las fases cristalinas presentes en las muestras, se realizó un análisis de MEB para observar el tamaño y morfología real de las AgNPs. La Figura 4.20 corresponde a las imágenes representativas de las muestras Ag-M1 y Ag-M2, en donde se aprecia que la muestra Ag-M1 (Figura 4.20(a)) contiene AgNPs de morfología esféricas y tamaño promedio entre  $\sim 20$ -40 nm. A lo largo del análisis se encontró una pequeña cantidad de nanopartículas cúbicas (inserto) de tamaño promedio entre  $\sim 85$ -97 nm que corresponden a cristales de AgCl. En la Figura 4.20(b) se puede apreciar que las AgNPs son de tamaño promedio entre  $\sim 15$ -20 nm, observándose la presencia de cristales de AgCl de mayor tamaño ( $\sim 95$ -125 nm) y mayor cantidad.

Por otro lado, el análisis químico elemental por EDS (Figura 4.20(c)) confirmó que las partículas que se encuentran en el coloide son de Ag, y la presencia de la señal de Cl confirma que algunos cristales analizados están conformados de AgCl.

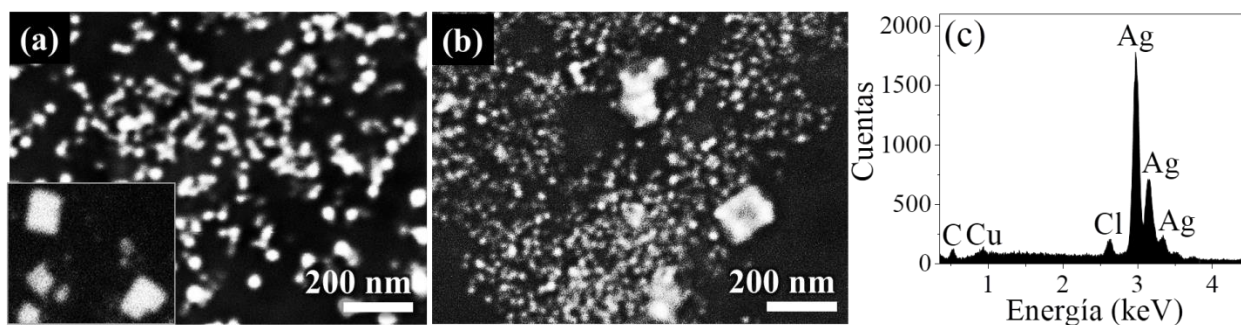


**Figura 4.20.** Imágenes de MEB de las muestras (a) Ag-M1 y (b) Ag-M2. (c) Análisis químico elemental por EDS.

Para reforzar el análisis estructural y de microscopía de las AgNPs, se realizó un estudio mediante MET de las muestras Ag-M1 y Ag-M2 (Figura 4.21). La Figura 4.21(a) corresponde a la imagen en campo claro de la muestra Ag-M1, en donde se aprecia la presencia de AgNPs de

morfología cuasi-esférica con tamaños entre  $\sim 16$ -30 nm. La imagen de alta resolución de una AgNP se muestra en la Figura 4.21(b), en donde se observa una serie de franjas que tienen una separación entre ellas de 0.23 nm, lo que corresponde al valor de la distancia interplanar mostrada en la ficha de difracción de la fase Ag fcc (JCPDS 01-089-3722), indicando que los planos de la nanopartícula tienen una orientación preferencial a lo largo de la dirección [111].

Por otro lado, en la Figura 4.21(c) se presenta la imagen de campo claro de la muestra Ag-M2, revelando que las AgNPs tienen una morfología cuasi-esférica y un tamaño promedio entre  $\sim 7$ -15 nm. En la Figura 4.21(d) se muestra la imagen de alta resolución de una AgNP, en donde se pueden observar franjas paralelas que poseen una separación de 0.24 nm entre ellas, la cual es correspondiente a la distancia interplanar de la fase Ag fcc (JCPDS 01-089-3722), lo que indica que los planos mostrados de la nanopartícula poseen una orientación preferente a lo largo de la dirección [111].

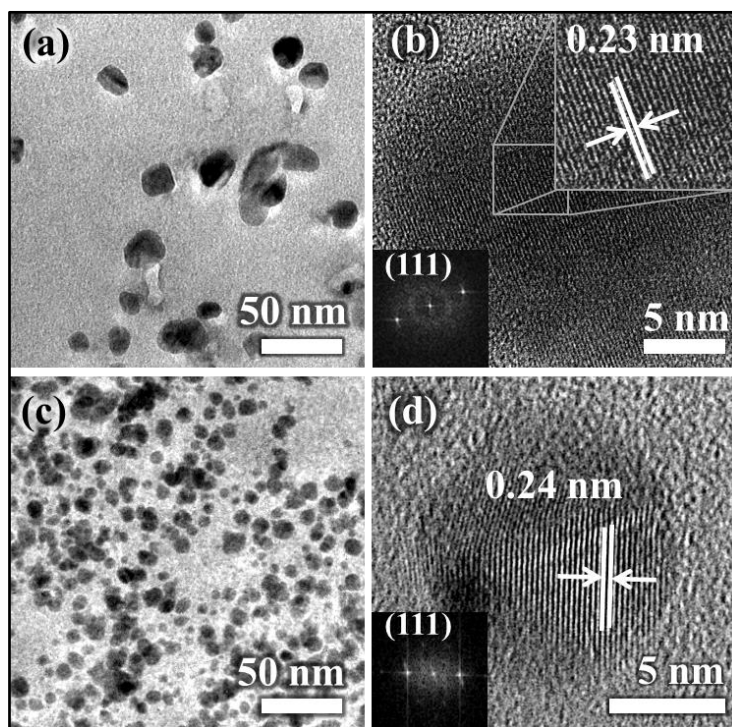


**Figura 4.21.** Imágenes de MET de la muestra Ag-M1: (a) campo claro y (b) alta resolución, y de la muestra Ag-M2: (c) campo claro y (d) alta resolución.



Al analizar los resultados de microscopía electrónica se logró apreciar que las fases Ag y AgCl, que fueron reveladas mediante DRX, se encuentran por separado en distintas zonas de las muestras, además la fase Ag pudo encontrarse en forma de AgNPs cuasi-esféricas, mientras que la fase AgCl se encontró en forma de cristales de mayor tamaño de morfología cúbica. Lo anterior indica que los extremos liofóbicos de las biomoléculas estabilizantes del extracto de *L. mexicana* tienen mayor afinidad por las caras de la fase Ag, mientras que la fase AgCl creció libremente, no obstante, se han reportado cristales de AgCl modificados de tamaños menores y diversas morfologías [254].

La muestra Ag-M1 contuvo una menor cantidad de cristales de AgCl y una aceptable cantidad de AgNPs de morfología y tamaño homogéneos, mientras que la muestra Ag-M2 presentó una mayor cantidad de cristales de AgCl de mayor tamaño, además de una cantidad aceptable de AgNPs de menor tamaño. Lo anterior es debido al fenómeno de maduración de Ostwald, el cual es el mecanismo que se lleva a cabo cuando el tiempo de síntesis de nanopartículas es prologado de tal manera que la condición de sobresaturación se acerca a la condición de saturación de equilibrio, lo que provoca la disolución de las partículas de menor tamaño y el crecimiento de las partículas más estables y de mayor superficie, es decir, los cristales macroscópicos cúbicos de AgCl [255].

La muestra Ag-M2 fue descartada para los análisis posteriores debido a que la limpieza mediante centrifugación es muy compleja dado que las AgNPs son demasiado pequeñas y muy estables, lográndose recuperar una cantidad insuficiente de material. Por otro lado, la muestra Ag-M1 no presentó problemas durante su limpieza, por lo cual fue elegida para los estudios posteriores de la presente tesis. Es importante mencionar que la presencia de cristales de AgCl no es perjudicial para los objetivos planteados, debido a que la cantidad de cristales de AgCl es muy reducida, además, se han encontrado investigaciones que reportan buen desempeño en pruebas en fotocátalisis [256].

Posterior a la caracterización química y estructural de la muestra Ag-M1, se procedió a la evaluación de la sensibilidad electroquímica y la electroactividad de las AgNPs mediante la técnica de VC. El comportamiento electroquímico fue evaluado depositando las AgNPs en el

extremo de un electrodo de trabajo de carbono vítreo en un medio ácido de 0.5 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y alcalino de 0.3 M de KOH.

La Figura 4.22 corresponde a los perfiles de VC del electrodo de trabajo modificado con la muestra Ag-M1 vs ESC, generados a distintas velocidades de barrido de potencial en los medios ácido y alcalino. La Figura 4.22(a) corresponde a los voltamperogramas generados en 0.5 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , en donde se aprecia dos señales débiles de oxidación estables en aproximadamente  $\sim 0.23$  y  $\sim 0.38$  V y una señal de reducción que fue desplazándose de  $\sim 0.32$  hasta  $\sim 0.20$  V, indicando que la señal de reducción no logró estabilizarse durante la generación de los 10 ciclos. Por otro lado, en medio de 0.3 M de KOH (Figura 4.22(b)) se generó una señal estable de oxidación en  $\sim 0.30$  V y un hombro en  $\sim 0.16$  V, además se aprecia la formación de una señal de mayor intensidad de corriente catódica en  $\sim -0.02$  V.

Las señales obtenidas fueron características de algunos electrodos modificados con AgNPs reportados en la literatura, y resultan de la formación de  $\text{Ag}_2\text{O}$  para el caso del medio ácido, y AgOH en el medio alcalino [257].

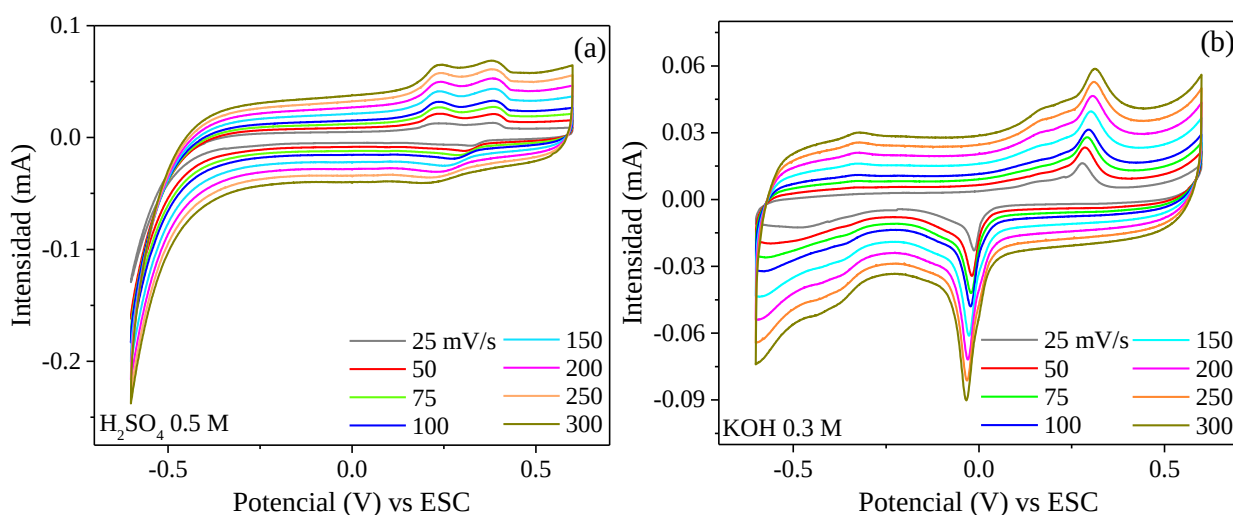


**Figura 4.22.** Voltamperogramas cíclicos efectuados a 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, y 300 mV/s de la muestra Ag-M1 vs ESC en (a) 0.5 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y (b) 0.3 M de KOH.

Se realizó una evaluación de la estabilidad de las señales electroquímicas de las especies electroactivas y la reversibilidad de los procesos de óxido-reducción del electrodo modificado con las AgNPs de la muestra Ag-M1. En la Figura 4.23(a) se puede apreciar el voltamperograma efectuado en 10 ciclos en medio ácido, en donde se presentó una buena estabilidad de las señales electroquímicas de las especies electroactivas. Similarmente, en la Figura 4.23(b) se presenta el voltamperograma realizado en 10 ciclos en medio alcalino, en donde tanto el pico de oxidación, como el de reducción, presentaron un cambio de intensidad muy bajo, indicando una aceptable estabilidad de las especies de Ag depositadas en el electrodo de trabajo.

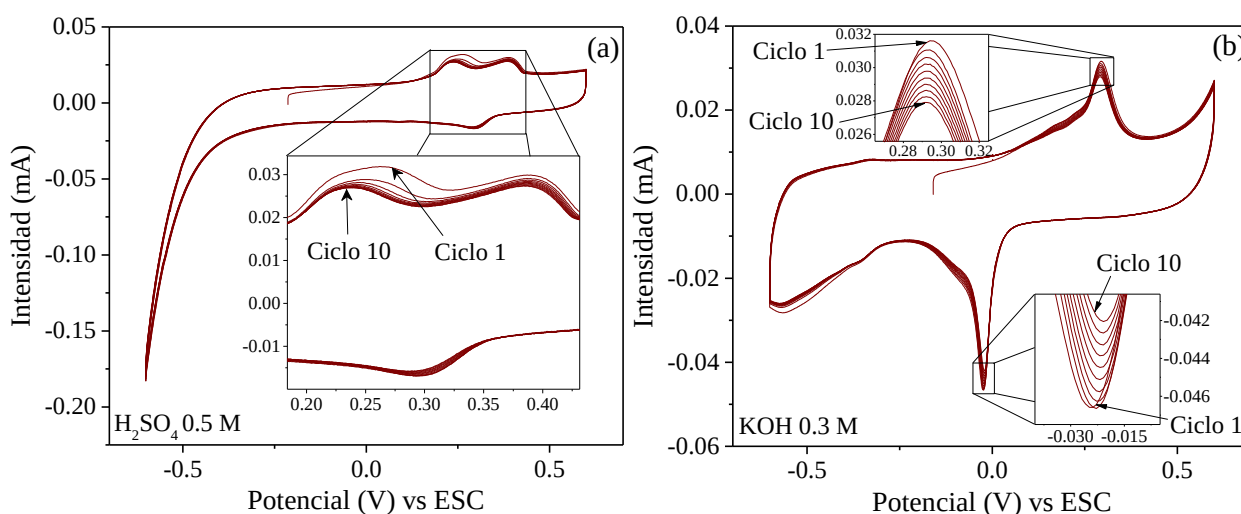


**Figura 4.23.** Voltamperogramas cíclicos efectuados a 50 mV/s de la muestra Ag-M1 vs ESC en (a) 0.5 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH.

Con base en los resultados, se demostró que las AgNPs obtenidas empleando extracto de hoja de *L. mexicana* son adecuadas para el incremento de la sensibilidad del electrodo de carbono vítreo. Las señales electroquímicas del electrodo modificado son similares a las reportadas por diversos autores y son correspondientes a la formación de Ag<sub>2</sub>O y AgOH [257, 258]. Este tipo de electrodo es apto para realizar un estudio más a fondo para la detección de algunas sustancias como la glucosa [259] y metales pesados [260] en un medio acuoso. A diferencia de los estudios electroquímicos efectuados para AuNPs (sección 4.1.1), las señales electroquímicas de las



AgNPs fueron más definidas al ser el Ag más fácil de oxidar, propiciando no solo una señal definida de oxidación, sino también de reducción. El Au es un elemento que posee una configuración electrónica de sus electrones más alejados correspondiente a  $5d^{10}6s^1$ , lo que indica que únicamente los electrones del orbital 6s pueden interactuar para reaccionar con otro elemento, no obstante, al incrementarse la carga nuclear efectiva de un átomo, los electrones de los orbitales 6s son sujetos a efectos relativistas, es decir, estos electrones experimentan una mayor atracción del núcleo, provocando un aceleramiento de los electrones a velocidades cercanas a la luz, moviéndose en un espacio más confinado, lo cual hace que los electrones del orbital 6s sean especialmente de difícil acceso en una reacción química [261].

Por otro lado, el átomo de Ag, cuya configuración de los electrones más externos es  $4d^{10}5s^1$ , es similar al de Au, sin embargo, los efectos relativistas de los electrones del orbital 5s son menores debido a que su número atómico es menor. Lo anterior explica por qué la síntesis de AgNPs tuvo como subproducto cristales de AgCl, los cuales pudieron también menguar la sensibilidad electroquímica, mientras que la síntesis de AuNPs no generó ningún subproducto de reacción.

#### **4.2.2. Síntesis de nanopartículas de Ag mediante el uso de extracto de *E. polystachya***

Similar a la sección anterior, el extracto de *E. polystachya* no posee por sí mismo la capacidad para llevar a cabo la reducción de los iones  $Ag^+$  en un tiempo viable para la obtención de AgNPs, sin embargo, se mencionó anteriormente acerca de la existencia de numerosos trabajos en donde los autores emplearon radiación solar como energía de aceleración de la reducción de los iones de  $Ag^+$  [249]. Por lo tanto, se realizó una serie de muestras utilizando una variedad de extractos obtenidos a diferentes temperaturas y tiempos a una concentración establecida de 5 mg/ml con 2 mM de solución de  $AgNO_3$ , verificando que las reacciones se realizaran empleando una irradiancia solar similar a los experimentos de la sección anterior, la cual fue de  $855 \text{ W/m}^2$  [250]. La Tabla 4.3 corresponde a los valores de absorbancia de UV-Vis de las curvas características de las AgNPs (400-500 nm) de cada experimento.



**Tabla 4.3.** Valores de absorbancia en UV-Vis (u. a.) de la reacción de extracto de *E. polystachya* con 2 mM de  $\text{AgNO}_3$ , después de 30 min de exposición a  $855 \text{ W/m}^2$  de irradiancia solar a diferentes condiciones de temperatura y tiempo.

| $t \text{ (min)}$<br>$T(^{\circ}\text{C})$ | 5    | 7.5  | 10   | 12.5 | 15   |
|--------------------------------------------|------|------|------|------|------|
| 60                                         | 0.2  | 0.22 | 0.22 | 0.24 | 0.3  |
| 70                                         | 0.34 | 0.36 | 0.38 | 0.39 | 0.43 |
| 80                                         | 0.38 | 0.43 | 0.49 | 0.49 | 0.52 |
| 90                                         | 0.42 | 0.44 | 0.5  | 0.5  | 0.51 |
| 100                                        | 0.46 | 0.46 | 0.5  | 0.52 | 0.51 |

Se obtuvo el gráfico de superficie mostrado en la Figura 4.24 con base en los datos obtenidos, el cual despliega una representación de la variación de los valores de absorbancia en función del tiempo y temperatura de elaboración del extracto. Se puede apreciar que la temperatura produjo una variación más significativa en los valores de absorbancia, por otro lado, el tiempo provocó un menor cambio. Durante la inspección visual, llevada a cabo durante la elaboración de los extractos, se pudo apreciar que la coloración del extracto fue casi inmediata al incorporarse el polvo de madera de *E. polystachya* con agua a la temperatura determinada, lo cual tiene relación con la baja influencia del tiempo de obtención de los extractos. No obstante, se eligió las condiciones de  $80^{\circ}\text{C}$  y 10 min para los experimentos correspondientes con el fin de asegurar una elevada extracción de biomoléculas de la planta.

Una vez establecidas las condiciones de elaboración del extracto, se realizó una serie de experimentos variando la concentración del extracto en la reacción con 2 mM de  $\text{AgNO}_3$  bajo radiación solar reportada de  $862 \text{ W/m}^2$  [250] durante 30 min. La Figura 4.25 corresponde a los espectros de UV-Vis, en donde se aprecia una relación proporcional entre la concentración del extracto y la absorbancia. Particularmente, en la Figura 4.25(a) se observa la aparición de una banda en  $\sim 385 \text{ nm}$  utilizando 5 mg/ml, la cual se fue desvaneciendo a medida que se incrementó la concentración del extracto hasta 25 mg/ml. Por otro lado, en la Figura 4.25(b) se aprecia que la banda perdió definición por debajo de 2.5 mg/ml de concentración. La posición de las bandas generadas no se ubica en el rango característico de las AgNPs, no obstante, es muy cercano a 400 nm, indicando que posiblemente las AgNPs obtenidas fueron de tamaño muy reducido.

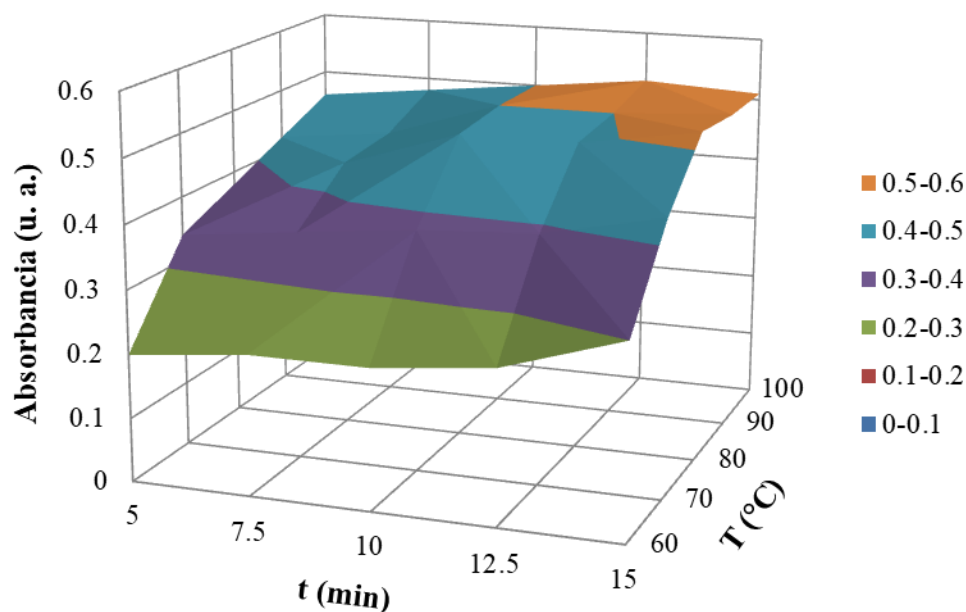


**Figura 4.24.** Gráfico de la influencia de la temperatura y el tiempo de elaboración del extracto de *E. polystachya* en la absorbancia de UV-Vis de la reacción con 2 mM de  $\text{AgNO}_3$ , después de 30 min de exposición a  $855 \text{ W/m}^2$  de irradiancia solar.

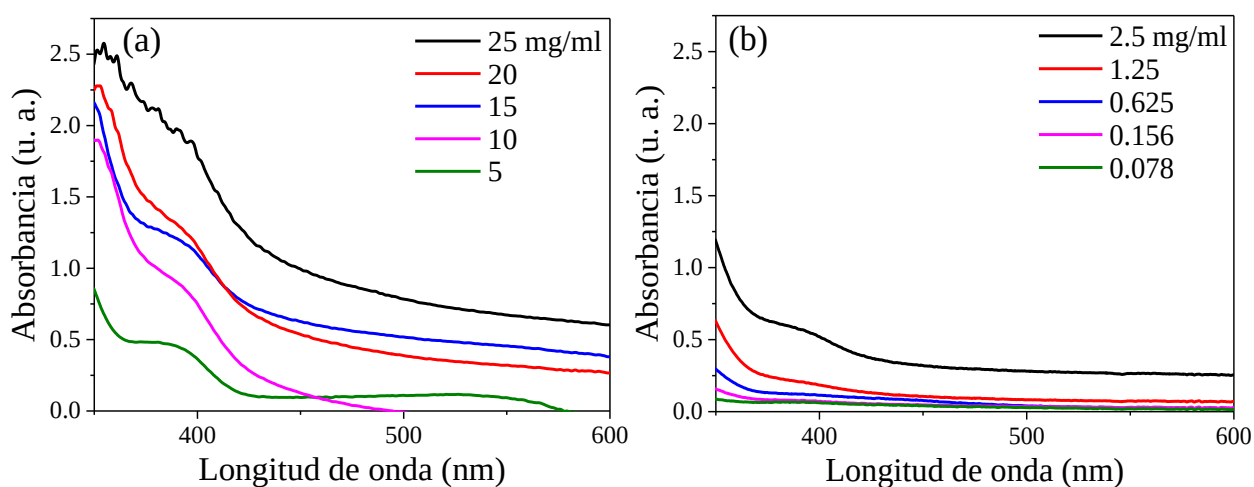


**Figura 4.25.** Espectros de UV-Vis de la formación de AgNPs después de 30 min de exposición a  $862 \text{ W/m}^2$  de irradiancia solar, variando la concentración de extracto de *E. polystachya* entre los rangos (a) 5-25 mg/ml y (b) 0.078-2.5 mg/ml, empleando 2 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

La banda observada de mejor definición fue la obtenida utilizando una concentración de 5 mg/ml, por lo tanto, esta concentración de extracto se eligió para realizar experimentos variando la concentración de la solución precursora de  $\text{AgNO}_3$ . La Figura 4.26 corresponde a los espectros de UV-Vis de la variación de la concentración de  $\text{AgNO}_3$ , después de 30 min de exposición a  $859 \text{ W/m}^2$  de irradiancia solar [250], en donde se observa que la concentración de 1 mM no presentó la formación de bandas RPS, mientras que la concentración de 2 mM (misma de la Figura 4.25(a)) presentó una banda que fue desvaneciéndose conforme se aumentó la concentración hasta 5 mM, indicando que la concentración de  $\text{AgNO}_3$  adecuada para esta concentración de extracto fue de 2 mM.

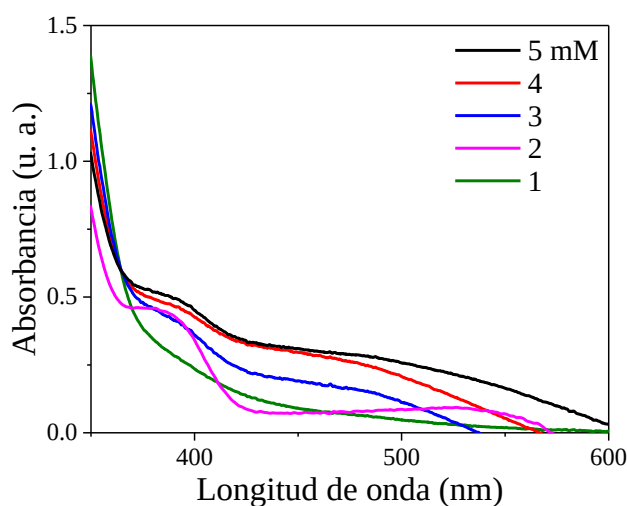


**Figura 4.26.** Espectros de UV-Vis de formación de AgNPs después de 30 min de exposición a  $859 \text{ W/m}^2$  de irradiancia solar, variando la concentración del  $\text{AgNO}_3$  de 1-5 mM, y empleando 5 mg/ml de extracto de *E. polystachya*.

Similarmente a la sección 4.2.1, los espectros de UV-Vis mostraron que la concentración del extracto de *E. polystachya*, la concentración de  $\text{AgNO}_3$  y el tiempo de exposición a la radiación solar afectan a la formación de AgNPs. No obstante, la banda RPS obtenida se encuentra a valores muy cercanos al límite inferior del rango característico de las AgNPs, lo que indica que las AgNPs obtenidas podrían ser de tamaño muy pequeño, por otro lado, la formación de una



única banda indicó la formación de morfologías esféricas de las AgNPs. Para poder determinar con precisión el tamaño y la morfología de las AgNPs, fue necesario realizar estudios mediante las técnicas de microscopía electrónica. El extracto de *E. polystachya*, al igual que *L. mexicana*, contiene biomoléculas que por sí mismas no fueron capaces de producir la reducción de los iones  $\text{Ag}^+$  en un tiempo reducido, para lo cual fue necesaria la irradiación solar para incrementar la velocidad de reacción. Al aumentarse la concentración del extracto, la difusión de los iones  $\text{Ag}^+$  se obstaculizó debido a la cantidad excesiva de biomoléculas en la solución, limitando la formación y el crecimiento de las AgNPs. Por otra parte, una cantidad excesiva de iones  $\text{Ag}^+$  respecto a la cantidad de biomoléculas presentes provocó que las biomoléculas reductoras fueran insuficientes para la reducción de los iones  $\text{Ag}^+$ , resultando en una escasez de iones reducidos que impidió el crecimiento de los núcleos.

Para observar las características de las AgNPs obtenidas, se realizó un análisis mediante MEB de la muestra preparada mediante el uso de 2 mM de  $\text{AgNO}_3$  y del extracto de *E. polystachya* a concentración de 5 mg/ml, la cual corresponde a la banda RPS de mayor definición, cercana al rango característico de las AgNPs. Las Figuras 4.27(a)-(c) corresponden a imágenes de MEB a distintas ampliaciones, en donde se observa que las AgNPs tienen una morfología esférica y tamaños entre  $\sim 9\text{-}15$  nm, además, estas nanopartículas mostraron una tendencia a autoensamblarse entre ellas para formar conjuntos de hasta  $\sim 10$   $\mu\text{m}$ . En la Figura 4.27(d) se muestra el análisis químico elemental por EDS del área mostrada en la Figura 4.27(c), el cual reveló que las AgNPs autoensambladas están compuestas de Ag, y la presencia de una señal débil de Cl puede ser atribuida a la formación de cristales de AgCl.

La formación de estos ensambles puede deberse a la baja cantidad de agentes estabilizadores de la planta, por lo tanto, al igual que en la sección 4.1.2, se realizó un estudio de la estabilidad de las AgNPs a valores diferentes de pH. Se realizó el ajuste de pH mediante la adición de NaOH a 0.1 M, lográndose obtener muestras a pH 7, 9 y 11. Al añadirse el NaOH a la reacción, se pudo observar que la reacción se inició en unos segundos sin la necesidad de energía solar, mostrándose un cambio de coloración de amarillento a café oscuro. Las muestras obtenidas se analizaron mediante MEB (Figura 4.28), en donde se observa que la muestra ajustada a pH 7 (Figura 4.28(a)) formó ensambles de longitud promedio de  $\sim 2$   $\mu\text{m}$  compuestos de AgNPs de tamaño promedio entre  $\sim 14\text{-}20$  nm. La Figura 4.28(b) corresponde a la imagen de la muestra de

pH 9, la cual muestra ensambles de longitud promedio entre  $\sim 700$ - $900$  nm y fragmentos más pequeños de  $\sim 300$ - $500$  nm, conformados de AgNPs de tamaños entre  $\sim 13$ - $22$  nm. Por otro lado, en la Figura 4.28(c) se aprecia la imagen de MEB de la muestra de pH 11, donde se observan ensambles de  $\sim 125$ - $270$  nm compuestos de AgNPs de tamaños entre  $\sim 10$ - $16$  nm.

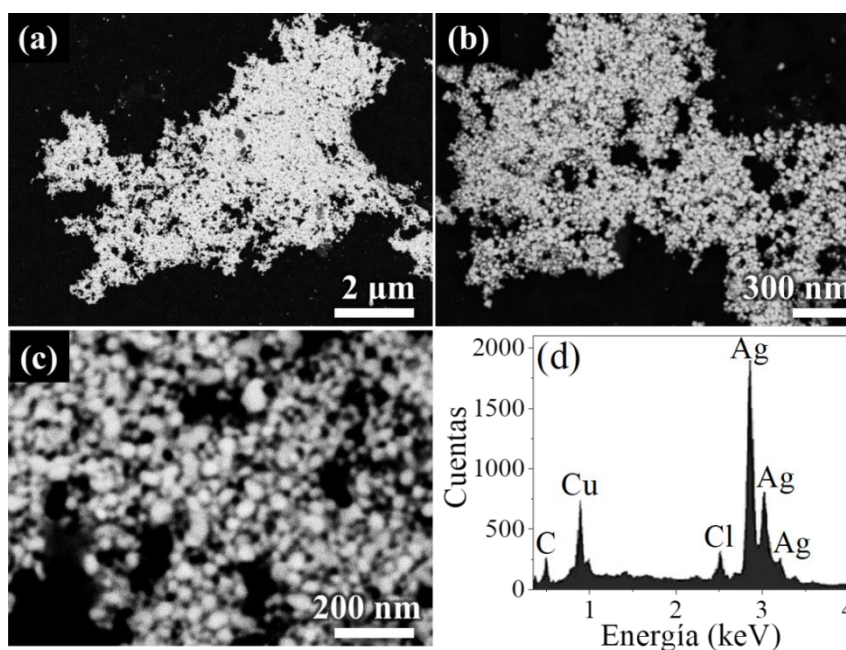


**Figura 4.27.** Imágenes de MEB capturadas a (a) 10,000, (b) 40,000, y (c) 100,000 ampliificaciones de la muestra de AgNPs obtenida con 2 mM de  $\text{AgNO}_3$  y 5 mg/ml de extracto de *E. polystachya*. (d) Análisis químico elemental por EDS.

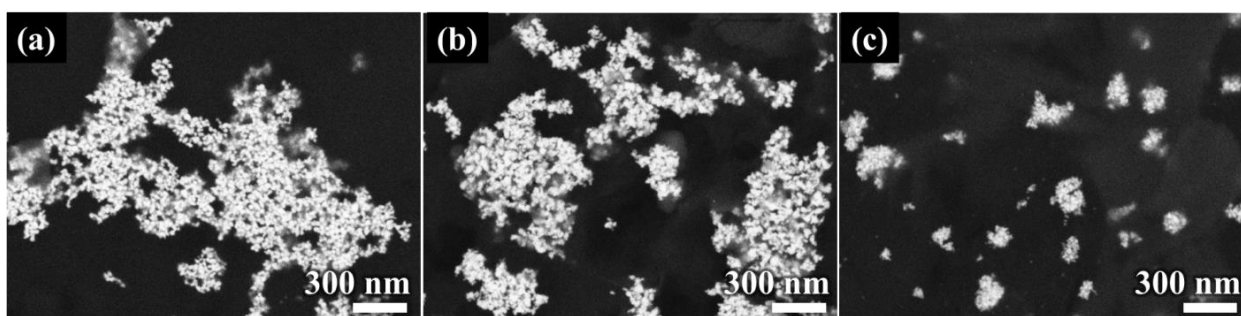


**Figura 4.28.** Imágenes de MEB de la muestra de AgNPs obtenidas empleando extracto de *E. polystachya*, ajustando el pH de reacción a (a) 7, (b) 9, y (c) 11.



La muestra sin NaOH registró un pH de 5, al incrementarse el pH hasta 11, el tamaño de los ensambles se redujo de  $\sim 10\ \mu\text{m}$  hasta  $\sim 125\ \text{nm}$ . La influencia del pH consiste en que, además de incrementar la tasa de reducción considerablemente por la presencia y acción de iones  $\text{OH}^-$  [247], se moduló la estabilización de las AgNPs gracias a los cambios de las cargas superficiales, lográndose formar ensambles de tamaños cada vez menores al aumentarse el pH [248]. Sin embargo, debido a la escasez de biomoléculas estabilizadoras, a altos valores de pH no fue posible obtener AgNPs individuales.

Los estudios subsecuentes de los ensambles obtenidos sin modular el pH se muestran en un apartado especial para los nanomateriales autoensamblados obtenidos (sección 4.3.2).

### **4.3. Síntesis de nanomateriales autoensamblados**

#### **4.3.1. Síntesis de nanomateriales autoensamblados de Ag/AgCl mediante el uso de extracto de *L. mexicana***

En la sección 4.2.1, correspondiente a la síntesis de AgNPs utilizando extracto de *L. mexicana*, se obtuvieron AgNPs individuales variando las condiciones de concentración del extracto, concentración de la solución de  $\text{AgNO}_3$  y el tiempo de exposición a la radiación solar. En algunos casos se pudo observar la formación de cristales cúbicos de AgCl aislados de las AgNPs, sin embargo, hubo algunas condiciones en donde se produjo la formación de cristales de AgCl con AgNPs en el interior (extracto de *L. mexicana* en concentración de 5 mg/ml, 2 mM de  $\text{AgNO}_3$  en relación 1:1, y 30 minutos bajo  $861\ \text{W/m}^2$  de irradiancia solar [250]), lo cual indicó la formación de un nanomaterial autoensamblado de AgNPs en una matriz o templete de AgCl. Para lo cual se realizó los estudios de caracterización correspondientes.

Para confirmar que los nanomateriales autoensamblados de Ag/AgCl poseen propiedades nanométricas correspondientes a los AgNPs, se realizó un análisis mediante UV-Vis (Figura 4.29) mostrándose una banda RPS en  $\sim 437\ \text{nm}$ , dentro del rango característico de las AgNPs. Adicionalmente, se puede observar la presencia de un hombro en la banda localizado en  $\sim 482\ \text{nm}$ , lo cual puede ser resultado del confinamiento de las AgNPs en el interior de los cristales de

AgCl, lo que pudo causar que el detector interpretara a los ensambles como agregados de nanopartículas, los cuales llegaron a precipitar en alrededor de 2 h después de la reacción (inserto).

Se realizó un análisis por medio de DRX para determinar la estructura cristalina, composición química y el tamaño promedio de los cristales nanométricos de Ag. En la Figura 4.30(a) se muestra el difractograma correspondiente a los autoensambles Ag/AgCl, en donde se puede observar que la muestra está compuesta de la fase AgCl fcc (JCPDS 00-031-1238) y Ag fcc (JCPDS 01-089-3722), sin apreciarse la formación de picos de difracción residuales, correspondientes a impurezas. Además, el análisis de deformación de la red cristalina indicó que se presentó  $1.2550 \pm 0.0153$  %, indicando que se presentó una mayor deformación de la red cúbica provocada por la incrustación de AgNPs en la matriz de AgCl.

Al reducirse el rango angular (Figura 4.30(b)) se aprecia claramente una diferencia entre el ancho de los picos de cada fase, demostrándose que los cristales de AgCl fueron de mayor tamaño que las AgNPs. Debido a que no se conocía si la fase AgCl era nanométrica o microscópica, se realizó un cálculo de tamaño de cristalito mediante la ecuación de Scherrer del pico de difracción Ag (111), obteniéndose un valor de  $\sim 16$  nm.

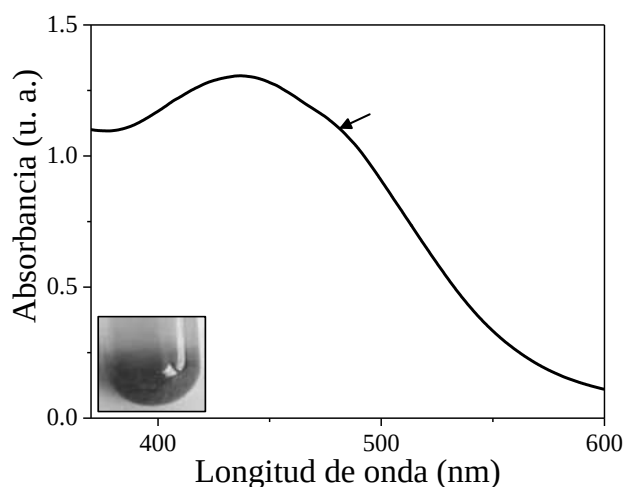


**Figura 4.29.** Espectro de UV-Vis de la formación de nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de *L. mexicana*, después de 30 min de exposición a 861 W/m<sup>2</sup> de irradiancia solar.

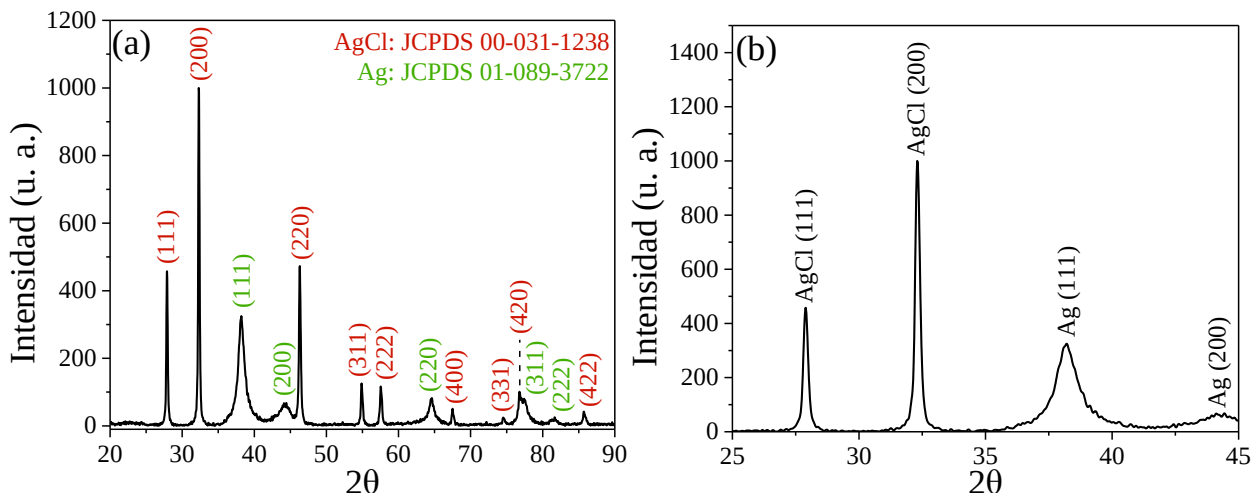


**Figura 4.30.** Difractogramas de rayos X de los materiales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de *L. mexicana* (a) en el rango de 20-90° y (b) en el rango de 25-45°.

Como se mencionó anteriormente en la sección 4.2.1, la planta *L. mexicana* contiene moléculas que contienen Cl, el cual compone el 4.29% en peso de la planta, valor obtenido mediante fluorescencia de rayos X. Además, la plata es químicamente compatible con el Cl, produciéndose una formación espontánea de cristales de AgCl ( $\Delta G = -110 \text{ kJ mol}^{-1}$ ), cuya constante de producto de solubilidad ( $K_{sp}$ ) es  $1.77 \times 10^{-10}$  a temperatura ambiente, lo que indica que solamente 1.9 mg de AgCl puede disolverse en 1,000 ml de agua [262]. Lo anterior puede ser ventajoso para el uso de estos ensambles en aplicaciones en donde se involucren medios acuosos, tales como tratamientos de efluentes.

La morfología, el tamaño de los autoensambles y su composición química elemental se pudo observar mediante MEB (Figura 4.31). Las Figuras 4.31(a)-(b) corresponden a imágenes a bajas ampliaciones donde se puede observar una cantidad grande de morfologías cúbicas de tamaño promedio entre ~240-447 nm y AgNPs en baja cantidad alrededor de los cubos. La Figura 4.31(c) corresponde a la imagen de un cubo representativo de gran tamaño (~780 nm) en donde se puede apreciar bordes bien definidos y la presencia de AgNPs de tamaños entre ~31-65 nm en la superficie y en el interior del cubo, demostrando la formación de un material autoensamblado

Ag/AgCl. Por otra parte, la Figura 4.31(d) muestra mediante un análisis químico elemental por EDS que los cubos están compuestos de los elementos Ag y Cl.

Para complementar el análisis de microscopía y DRX, se analizaron los autoensambles Ag/AgCl mediante MET (Figura 4.32). El patrón de difracción de electrones de área selecta (SAED) se muestra en la Figura 4.32(a), en donde se observa un conjunto de anillos que, al compararse la proporción de la posición angular de DRX con las distancias entre los anillos, corresponden a las fases Ag y AgCl, indicando además la naturaleza policristalina de los autoensambles [263]. La Figura 4.32(b) corresponde a la imagen de campo claro de un cubo de  $\sim 246$  nm, observándose que en el interior de la partícula existen AgNPs de diferentes tamaños. La Figura 4.32(c) muestra la imagen de campo oscuro con la reflexión (111) de Ag, en donde se observan regiones resaltadas en el interior y en los bordes del cubo de AgCl.

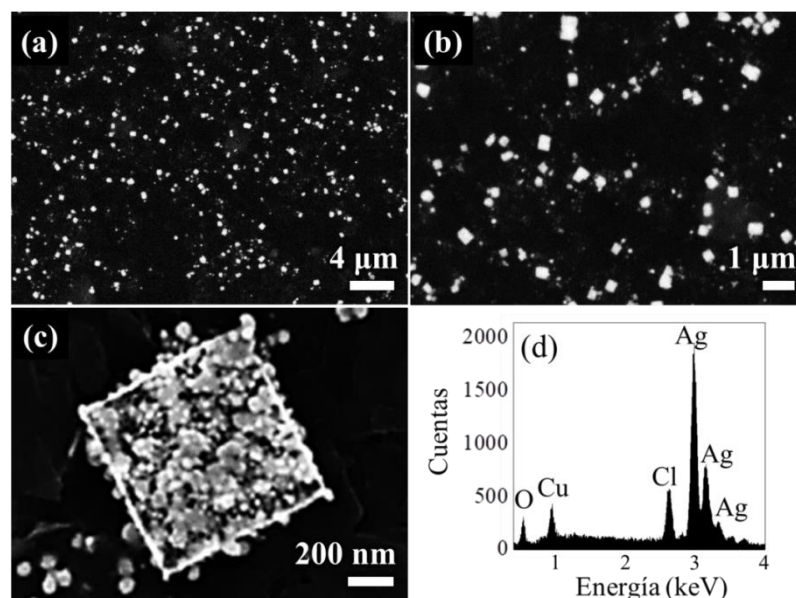


**Figura 4.31.** Imágenes de MEB capturadas a (a) 5,000, (b) 10,000, y (c) 60,000 ampliaciones de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de *L. mexicana*.

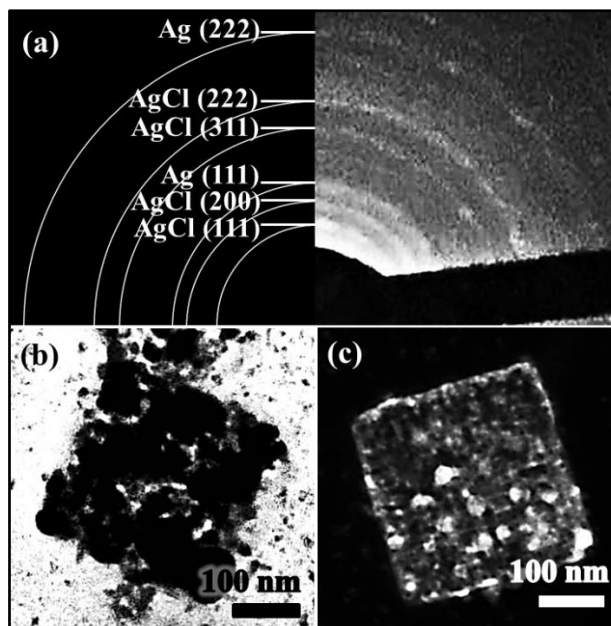


**Figura 4.32.** Análisis de MET de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de *L. mexicana*: (a) patrón de difracción de electrones de área selecta (SAED), (b) imagen de campo claro, e (c) imagen de campo oscuro.

La Figura 4.33 muestra la imagen de alta resolución de MET obtenida de un borde de un cubo, en donde aprecia que en la zona más clara se encuentra una serie de franjas que tienen una separación de 0.27 nm, correspondiente a los planos cristalográficos (200) de la fase AgCl fcc. Dentro del cubo se alcanzan a apreciar nanopartículas que poseen franjas con una separación de 0.23 nm entre ellas, que pertenecen a los planos (111) de la fase Ag fcc. Por lo tanto, se demuestra que en el interior de los cristales cúbicos de AgCl existen AgNPs, los cuales poseen propiedades nanométricas, como se observó mediante UV-Vis. Como la fase AgCl tiene una formación espontánea debido a la elevada afinidad del Ag con el Cl, se puede deducir que al terminarse la formación de una gran porción de AgNPs, la fase AgCl comenzó a formarse y crecer, atrapando una gran cantidad de AgNPs en su interior debido a la alta densidad de AgNPs en el coloide. Anteriormente, se reportó la formación de partículas poliédricas conformadas de nanoaleaciones de Au/Ag mediante el uso de extracto de *Aloysia triphylla* [185], lo que sugiere que existen muchas especies de plantas que contienen Cl en su composición y que en

determinadas concentraciones son capaces de generar este tipo de crecimiento favoreciendo la formación de nanoestructuras autoensambladas en una matriz o template.

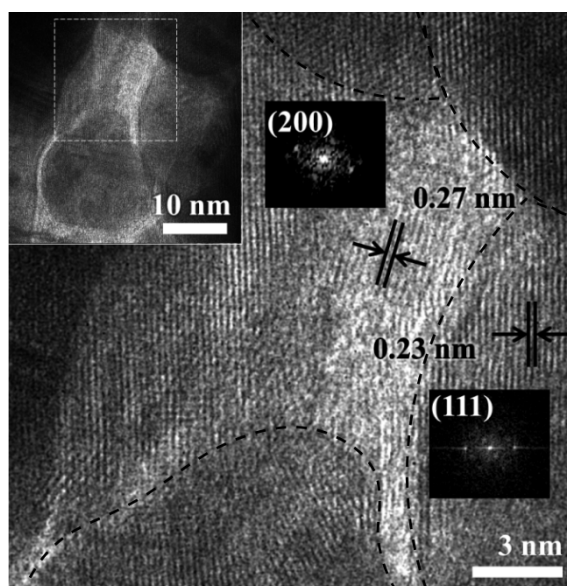


**Figura 4.33.** Imagen de alta resolución de MET de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de *L. mexicana*.

Se realizó la evaluación de la electroactividad y la sensibilidad electroquímica de estos materiales mediante la técnica de VC. El electrodo de trabajo de carbono vítreo fue modificado depositando los autoensambles en el extremo mediante goteo, para su posterior análisis en medio ácido y alcalino.

En la Figura 4.34 se aprecian los voltamperogramas efectuados a diferentes velocidades de escaneo de potencial del electrodo de trabajo modificado vs ESC. La Figura 4.34(a) corresponde a los análisis realizados en medio de 0.5 M de  $H_2SO_4$ , donde se aprecia la formación de una señal de oxidación en  $\sim 0.1$  V que fue desplazándose hasta  $\sim 0.24$  V conforme la velocidad de barrido de potencial se incrementó, además se presentó la formación de un pico de reducción situado inicialmente a  $\sim 0.41$  V que asimismo se desplazó hasta  $\sim 0.3$  V.

Por otra parte, en la Figura 4.34(b) se muestran los voltamperogramas efectuados en un medio de 0.3 M de KOH, donde se puede apreciar la formación de dos picos de oxidación en  $\sim 0.21$  y  $\sim 0.3$  V, además de la formación de un intenso pico de reducción situado en  $\sim -0.02$  V. En medio ácido, las especies de Ag no son completamente estables, siendo muy susceptibles a transformaciones químicas durante el electroanálisis, obteniéndose señales en diferentes valores de potencial a diferentes velocidades de barrido, en cambio, al efectuarse el procedimiento en medio alcalino, las especies mostraron estabilidad y solamente una susceptibilidad al cambio de potencial, obteniéndose dos picos de corriente anódica correspondientes a la formación de AgCl y Ag<sub>2</sub>O [257, 264] y un pico de corriente catódica intenso y estable.

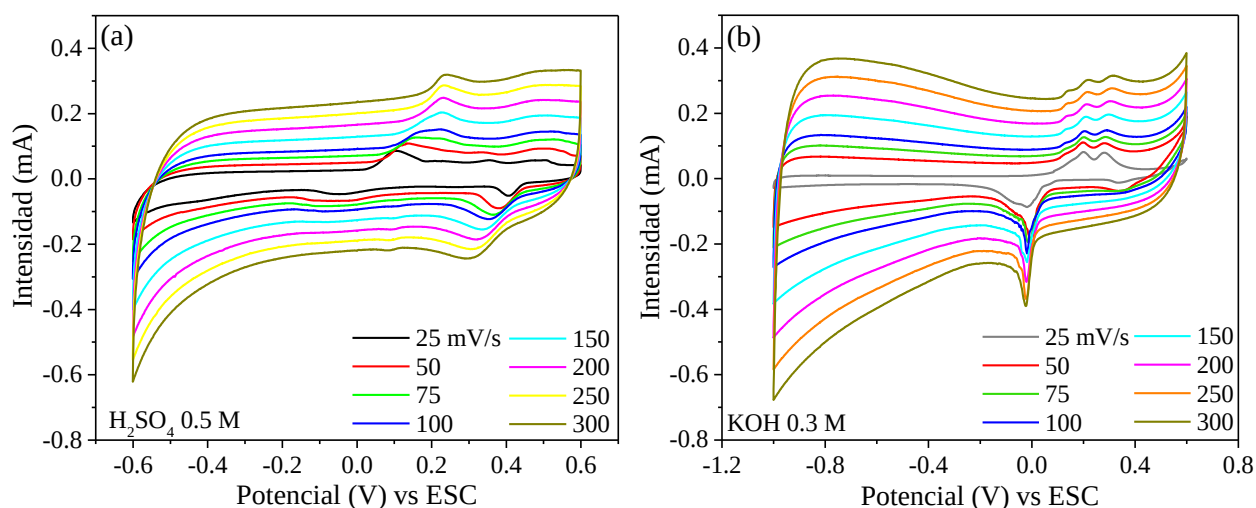


**Figura 4.34.** Voltamperogramas cíclicos efectuados a 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, y 300 mV/s de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de *L. mexicana* vs ESC en (a) 0.5 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH.

Para evaluar la estabilidad de las especies electroactivas y la reversibilidad de los procesos electroquímicos del electrodo de trabajo modificado con los autoensambles Ag/AgCl, se realizó una serie de 10 ciclos de barrido de potencial a una velocidad de 50 mV/s en ambos medios (Figura 4.35).

La Figura 4.35(a) corresponde a los 10 ciclos realizados en medio de 0.5 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , donde es apreciable la disminución de la intensidad de los picos de corriente anódica y catódica. Similarmente, en la Figura 4.35(b) se puede apreciar la disminución de intensidad de los picos de oxidación y reducción en medio de 0.3 M de KOH.

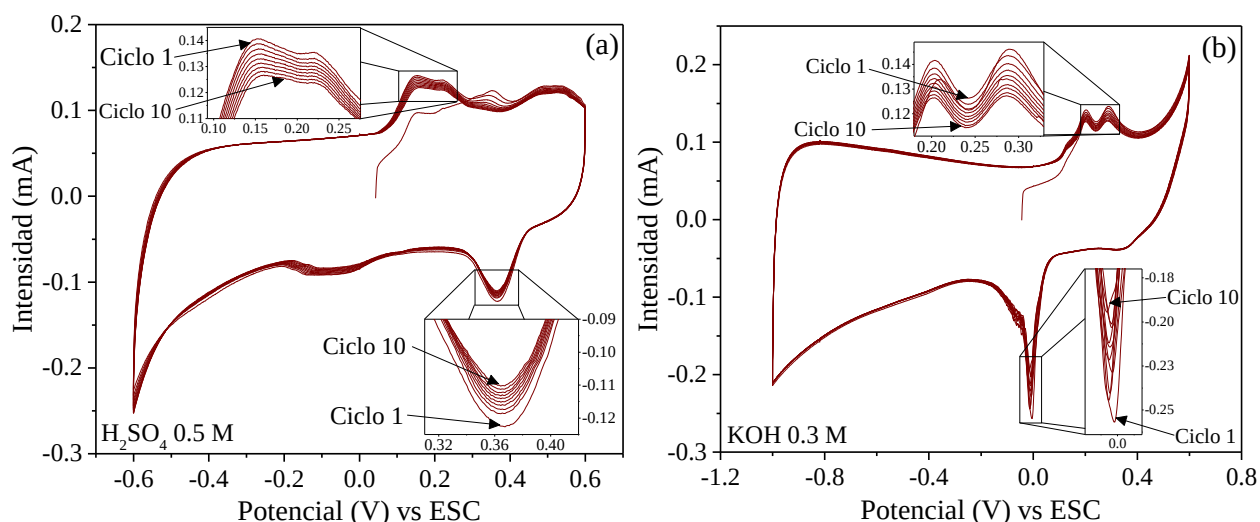


**Figura 4.35.** Voltamperogramas cíclicos efectuados a 50 mV/s de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de *L. mexicana* vs ESC en (a) 0.5 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y (b) 0.3 M de KOH.

La señales electroquímicas presentadas por el electrodo de trabajo modificado con autoensambles de Ag/AgCl correspondieron a la formación y reducción de especies  $\text{Ag}_2\text{O}$ , mientras que el AgCl de los ensambles se redujo y una pequeña porción del Cl se perdió mediante difusión, razón por la cual las intensidades de los picos son más prominentes que los electroanálisis de los demás materiales analizados en esta tesis.

Con base en lo anterior, fue de suma importancia mantener estático el sistema electroquímico para evitar pérdidas de especies mediante convección y evitar la irreversibilidad de los procesos de óxido-reducción. Para evitar la pérdida de iones por migración, se empleó un electrodo de referencia que, al estar en condiciones de saturación, el potencial es mayor en este electrodo que el de trabajo, propiciando la migración en el electrodo de referencia.

#### **4.3.2. Síntesis de nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl mediante el uso de extracto de *E. polystachya***

En la sección 4.2.2 se muestran los resultados de UV-Vis, MEB y EDS de los productos de la síntesis utilizando extracto de madera de *E. polystachya*, obteniéndose como resultado la presencia de nanopartículas que mostraron una tendencia a unirse unas con otras generando una estructura macroscópica debido a la escasez de sustancias estabilizantes. Una vez observada la obtención de autoensambles de Ag empleando esta planta, se continuó la caracterización de estos materiales en esta sección.

Para verificar la composición química de estos materiales, se realizó un mapeo elemental por EDS a la muestra obtenida con 2 mM de  $\text{AgNO}_3$  y 5 mg/ml de extracto de *E. polystachya* después de 30 min de exposición a  $859 \text{ W/m}^2$  de irradiancia solar [250] (Figura 4.36). Con base en una imagen de referencia (Figura 4.36(a)), se obtuvo la presencia del elemento Ag (Figura 4.36(b)) y señales del elemento Cl (Figura 4.36(c)). Lo anterior indicó que los ensambles estuvieron compuestos tanto de Ag como de Cl, sin embargo, al no apreciarse la formación de cristales grandes, se puede deducir que el ensamble fue compuesto de AgNPs y nanopartículas de AgCl (AgClNPs).

Se realizó un estudio de DRX para determinar la estructura cristalina de las fases presentes, así como la composición química y el tamaño promedio de los cristales. La Figura 4.37(a) corresponde al difractograma de los autoensambles Ag/AgCl, en donde se observa la aparición de la fase AgCl fcc (JCPDS 00-031-1238) y picos de mayor intensidad de la fase Ag fcc (JCPDS 01-089-3722), sin la formación y presencia de subproductos adicionales. Por otra parte, se presentó una deformación promedio de la red cristalina de  $0.3119 \pm 0.2540 \%$ , indicando que las nanopartículas de esta muestra no presentaron una variación considerable del parámetro de la red fcc.

Para apreciar la diferencia entre los anchos de los picos de difracción de las dos fases, se presentó el mismo difractograma en el rango  $2\theta$  de  $25\text{-}45^\circ$  (Figura 4.37(b)), en donde se observa que no existe una diferencia significativa de los anchos de pico de ambas fases, indicando que las partículas o cristales de Ag y AgCl son de tamaños similares. Conociendo que los autoensambles

están compuestos de partículas nanométricas, se realizó el cálculo de tamaño de cristalito empleando la ecuación de Scherrer de los picos de difracción (111) de las fases Ag y AgCl, obteniéndose los valores de ~32 y ~55 nm, respectivamente.

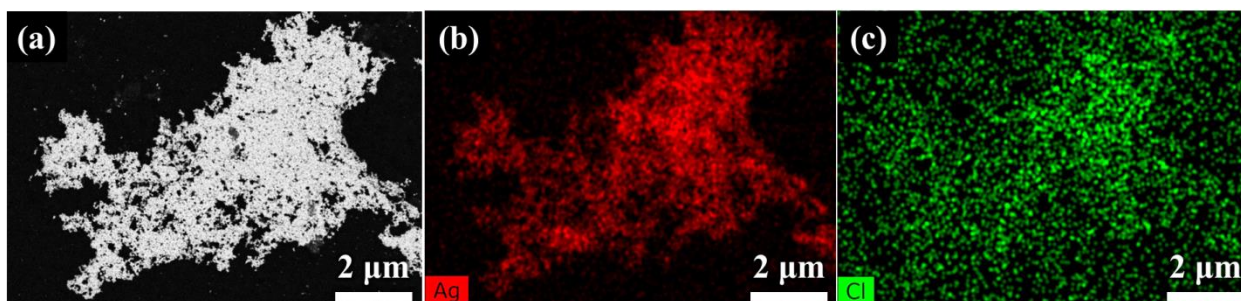


**Figura 4.36.** Mapeo elemental por EDS de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de *E. polystachya*: (a) imagen de referencia, (b) Ag, y (c) Cl.

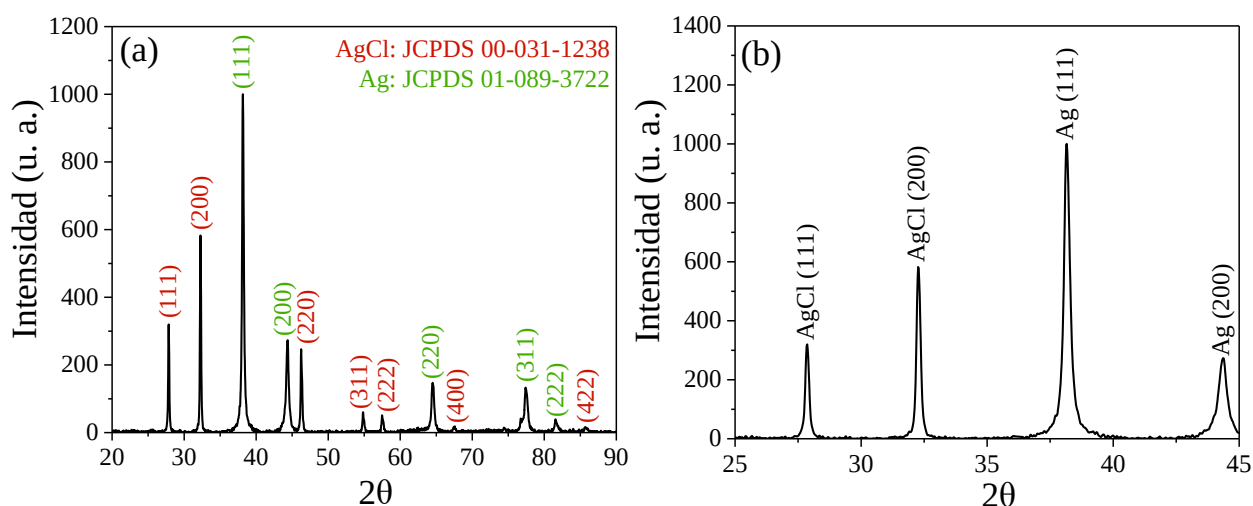


**Figura 4.37.** Difractogramas de rayos X de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de *E. polystachya* en el rango de: (a) 20-90° y (b) 25-45°.

Los valores obtenidos de la ecuación de Scherrer son significativamente mayores a los observados en las imágenes de MEB, lo cual puede ser debido a la coalescencia o agregación de nanopartículas al haberse realizado el lavado mediante la centrifugación del colide, retirándose



los pocos compuestos estabilizantes pertenecientes al extracto. La formación de AgClNPs posiblemente fue debida a una baja cantidad de Cl presente en el extracto de *E. polystachya*, cuyo valor (1.64%) fue obtenido mediante fluorescencia de rayos X. Además, la velocidad de nucleación fue rápida, obteniéndose un cambio de coloración en pocos segundos bajo irradiación solar, lo que propició la formación de una gran cantidad de núcleos y un crecimiento lento de las AgNPs y AgClNPs.

Para complementar el análisis estructural de los ensambles Ag/AgCl, se efectuó un estudio de MET (Figura 4.38). En la Figura 4.38(a) se aprecia la imagen de HAADF, en la cual es posible observar dos tipos de nanopartículas que contrastan claramente entre sí, las nanopartículas que tienen una tonalidad más oscura corresponden a las AgClNPs, mientras que las AgNPs presentaron una tonalidad más clara. La Figura 4.38(b) corresponde a la imagen en campo claro, la cual presenta una alta densidad de nanopartículas de tamaño homogéneo promedio entre ~10-16 nm y de morfología esférica, las cuales presentaron atracción entre ellas sin presentarse coalescencia.

En la Figura 4.38(c) se observa la imagen de alta resolución de una nanopartícula cristalina que presentó una serie de franjas con una separación de 0.19 nm entre ellas, esta distancia concuerda con la distancia interplanar del patrón de referencia de DRX de la fase AgCl fcc (JCPDS 00-031-1238) de los planos (220), indicando que esta AgClNP está orientada en la dirección [220]. Por otro lado, en la Figura 4.38(d) se muestra la imagen de alta resolución de una nanopartícula que presentó una serie de franjas que tienen una separación de 0.23 nm, lo que corresponde a la distancia interplanar indicada por el patrón de referencia de DRX de la fase Ag fcc (JCPDS 01-089-3722) de los planos (111), lo que señala que esta AgNP tuvo una orientación en la dirección [111].

Con base en los resultados conseguidos, es posible deducir que los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl fueron obtenidos dada una baja cantidad de agentes estabilizantes en el extracto de *E. polystachya*. Al realizarse la síntesis, el cambio de coloración fue casi inmediato hasta formarse un coloide de color café oscuro que presentó una precipitación al pasar aproximadamente 3 h, indicando que lentamente las AgNPs presentaron atracción formándose una agregación débil entre ellas.

Lo anterior es demostrado en los resultados de UV-Vis; al incrementarse la fracción de nanopartículas estrechamente espaciadas, la banda debió haberse trasladado a valores mayores de longitud de onda [265], sin embargo, el coloide se agitó al realizarse las mediciones, provocando que los ensambles se disgregaran y la lectura fuera correspondiente a nanopartículas individuales suspendidas en el medio. Por lo tanto, este tipo de ensambles se consolidan una vez se volatiliza el medio dispersante, dejando una capa densificada de nanopartículas, haciéndolas aptas para investigaciones en recubrimientos o películas autoensambladas [93]. El bajo contenido de Cl del extracto propició la formación de AgClINPs, evitándose el crecimiento de cristales de mayor tamaño.

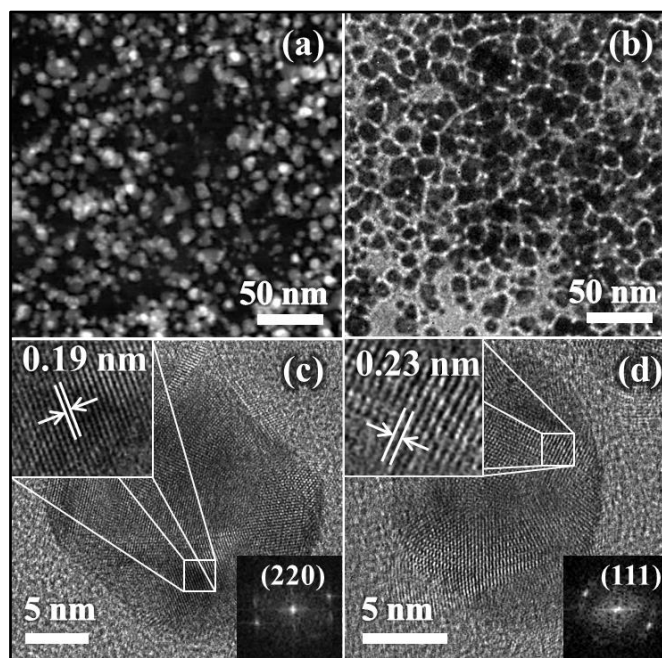


**Figura 4.38.** Imágenes de MET de los materiales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de *E. polystachya*: (a) HAADF, (b) campo claro, (c) alta resolución de una AgClNP, y (d) alta resolución de una AgNP.

Se realizó un estudio de la sensibilidad electroquímica y la electroactividad de los autoensambles Ag/AgCl, los cuales fueron depositados mediante goteo sobre el área expuesta del electrodo de trabajo, para su posterior electroanálisis en medio ácido y alcalino. La Figura 4.39 corresponde a

los voltamperogramas realizados a diferentes velocidades de barrido de potencial del electrodo modificado vs ESC. En la Figura 4.39(a) se aprecia el electroanálisis en medio de 0.5 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , mostrándose la aparición de una señal débil de corriente anódica en aproximadamente  $\sim 0.37$  V, la cual fue desplazándose hasta  $\sim 0.31$  V al aumentar la velocidad de escaneo, por otro lado, se presentó una señal de corriente catódica en  $\sim 0.4$  V que se trasladó hasta  $\sim 0.27$  V al aumentar la velocidad de escaneo. La Figura 4.39(b) muestra los electroanálisis efectuados en medio de 0.3 M de KOH, observándose la aparición de señales estables características de oxidación en  $\sim 0.21$  y  $\sim 0.31$  V, además se muestra la presencia de un pico de reducción en  $\sim -0.03$  V, el cual tiende a dividirse en dos conforme se eleva la velocidad de escaneo. Lo anterior puede ser debido a que al utilizarse una velocidad de barrido muy elevada, las señales electroquímicas no alcanzan a generar una definición adecuada, sin embargo, es útil para analizar la estabilidad de las señales, por ejemplo, las señales de oxidación no se desplazaron y la señal de reducción se mantuvo estable, a diferencia del electroanálisis de la Figura 4.39(a), donde se presentan señales débiles e inestables.

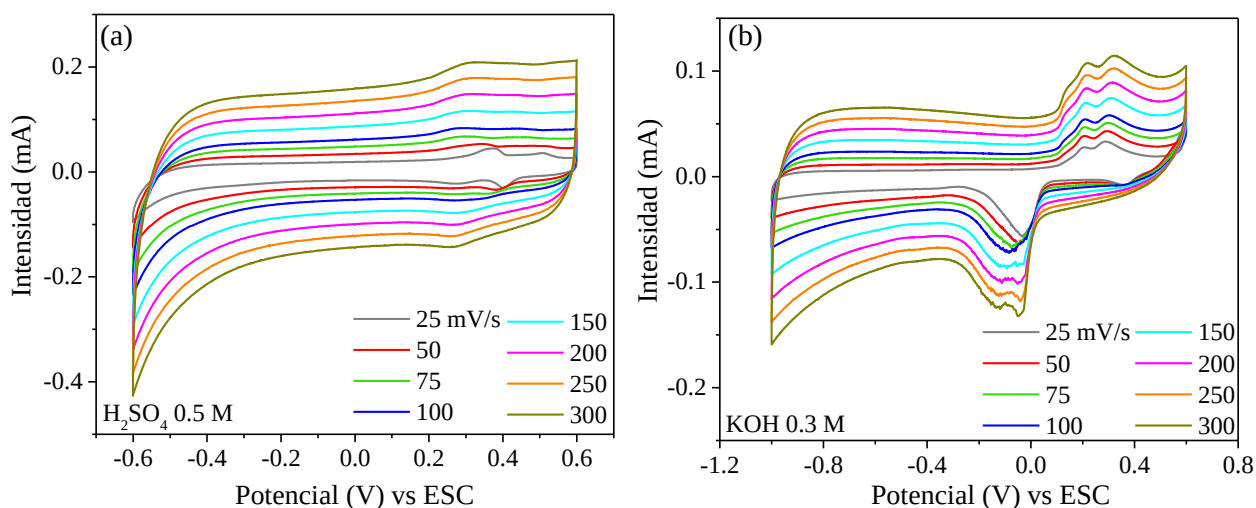


**Figura 4.39.** Voltamperogramas cíclicos efectuados a 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, y 300 mV/s de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de *E. polystachya* vs ESC en (a) 0.5 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y (b) 0.3 M de KOH.

La estabilidad de las señales electroquímicas del electrodo de trabajo modificado fue analizada puntualmente mediante la realización de 10 ciclos a una velocidad constante de 50 mV/s en medio ácido y alcalino (Figura 4.40). El electroanálisis efectuado en medio ácido (Figura 4.40(a)) muestra un cambio de intensidad muy reducido, mientras que las señales de reducción presentaron una variación de corriente poco apreciable. Por otro lado, en la Figura 4.40(b) se observa que las señales de oxidación fueron estables a los largo del análisis, mientras que la señal de reducción exhibió ruido electroquímico, el cual es presentado debido a la cinética de los procesos de óxido-reducción [266]. Las señales presentadas en medio alcalino son muy parecidas a las presentadas en la sección 4.3.1 debido a la similitud en las fases presentes (Ag y AgCl), no obstante es apreciable alguna diferencia en el pico de reducción, indicando una influencia directa de la morfología, tamaño y configuración de las muestras en los procesos de óxido-reducción.

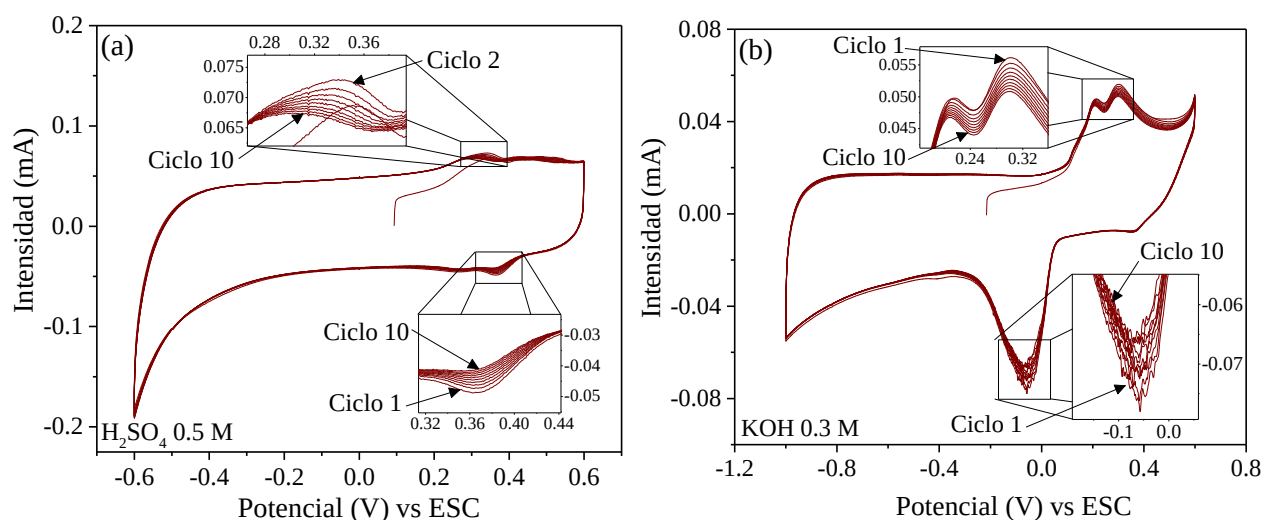


**Figura 4.40.** Voltamperogramas cíclicos efectuados a 50 mV/s de los nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos usando extracto de *E. polystachya* vs ESC en (a) 0.5 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y (b) 0.3 M de KOH.



#### 4.4. Mecanismo de síntesis

Los extractos obtenidos de distintas partes de las plantas contienen una variedad muy grande de compuestos orgánicos e inorgánicos, una porción de estos sirven como agentes reductores y estabilizantes para la obtención de diversas nanoestructuras. Sin embargo, la composición y proporción de compuestos difiere en gran medida dependiendo de la especie estudiada y de la parte empleada, por lo tanto, ordinariamente los extractos de diferentes plantas producen nanoestructuras de diversas características. Por lo anterior, es importante definir el mecanismo de la reducción y crecimiento de las nanopartículas obtenidas a partir de la identificación y análisis de los fitoquímicos presentes en los extractos de *L. mexicana* y *E. polystachya* que fueron capaces de reaccionar con los iones  $\text{Ag}^+$  y  $\text{Au}^{3+}$  para la obtención de nanoestructuras.

Para poder identificar los compuestos que provocaron la reducción de los iones  $\text{Ag}^+$  y  $\text{Au}^{3+}$  mediante el uso de extracto de *L. mexicana*, se empleó la técnica de espectroscopía de resonancia magnética nuclear con comparación con núcleos  $^1\text{H}$  (RMN- $^1\text{H}$ ). La Figura 4.41 muestra los espectros de RMN del extracto acuoso de *L. mexicana* y de la fase líquida de los coloides de AgNPs y AuNPs, en donde se observa una notoria similitud entre los espectros, conteniendo señales características de monosacáridos. El espectro del extracto presenta dos señales débiles en  $\sim 5.24$  y  $\sim 4.69$  ppm, correspondientes a  $\alpha\text{-H1}$  y  $\beta\text{-H1}$ , respectivamente, indicando la presencia de  $\alpha\text{-glucosa}$  y  $\beta\text{-glucosa}$  en el extracto [267]. Por otro lado, en los espectros del extracto después de la reacción con  $\text{AgNO}_3$  y  $\text{HAuCl}_4$  se observa la desaparición de la señal de  $\beta\text{-H1}$ , indicando la transformación del compuesto  $\beta\text{-glucosa}$  durante la síntesis.

Se realizó un análisis de FTIR para determinar los grupos funcionales de los compuestos del extracto de *L. mexicana* que participaron en la reducción de los iones  $\text{Ag}^+$  y  $\text{Au}^{3+}$  (Figura 4.42). En la Figura 4.42(a) se presentan los espectros del extracto y de la fase acuosa del coloide de AgNPs, en donde se observa la presencia de dos bandas importantes en  $\sim 1054$  y  $\sim 1634\text{ cm}^{-1}$ , correspondientes a los grupos funcionales carboxilo y carbonilo, respectivamente, apreciándose la disminución de la banda del carbonilo y el aumento de la banda del carboxilo, indicando que compuestos que contienen el grupo funcional carbonilo se transformaron en ácidos carboxílicos durante la síntesis. Similarmente, en la Figura 4.42(b) se aprecia el mismo comportamiento de las bandas de los grupos carbonilo y carboxilo, señalando que el mecanismo de síntesis de AgNPs y AuNPs mediante el uso de extracto de *L. mexicana* es similar.

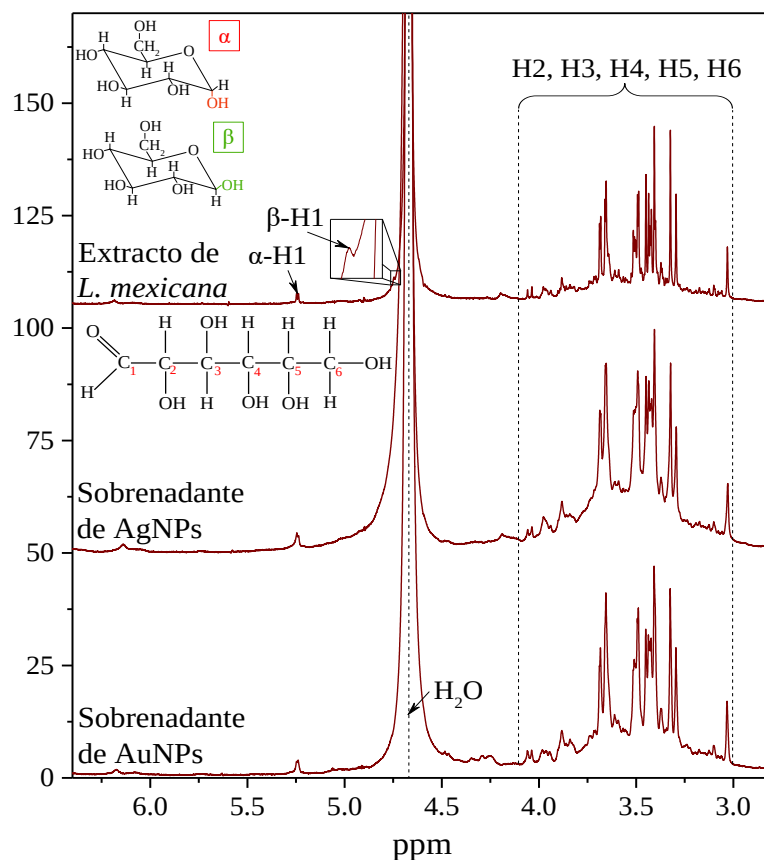


**Figura 4.41.** Espectros de RMN del extracto de *L. mexicana* antes y después de la reacción con la solución de  $\text{AgNO}_3$  y  $\text{HAuCl}_4$ .

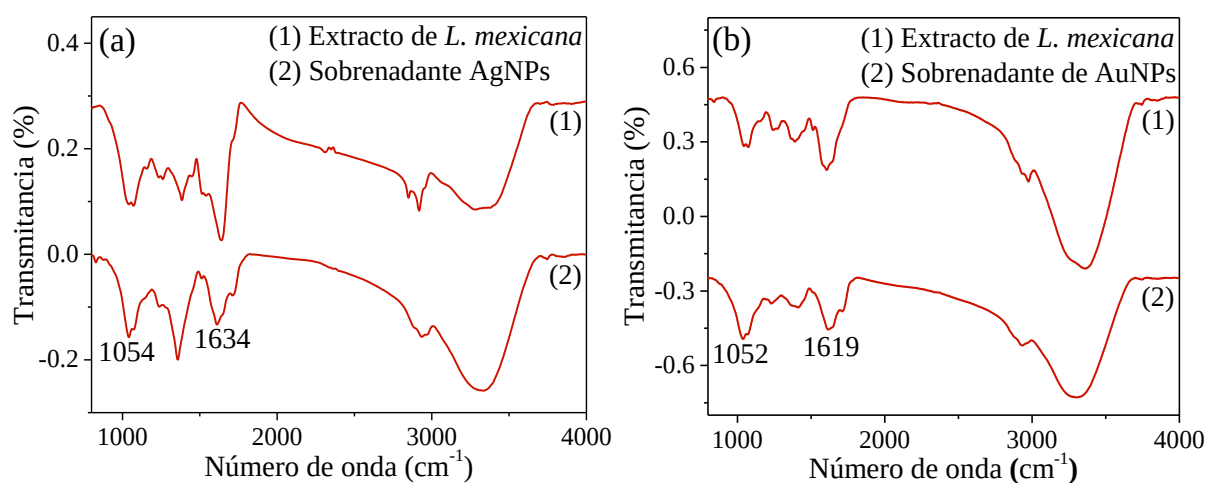


**Figura 4.42.** Espectros de FTIR del extracto de *L. mexicana* antes y después de la reacción con (a)  $\text{AgNO}_3$  y (b)  $\text{HAuCl}_4$ .

Por otra parte, se realizó un análisis mediante RMN- $^1\text{H}$  para identificar los compuestos provenientes del extracto de *E. polystachya* que participaron en la reducción de los iones de  $\text{Ag}^+$ . En la Figura 4.43 se aprecian los espectros de RMN del extracto de *E. polystachya* y de la parte líquida del coloide, los cuales presentan similitud en las señales obtenidas de los monosacáridos. Similarmente, se presentan señales posicionadas en  $\sim 5.08$  y  $\sim 4.42$  ppm, características de las señales de  $\alpha\text{-H1}$  y  $\beta\text{-H1}$ , pertenecientes a la  $\alpha$ -glucosa y  $\beta$ -glucosa, respectivamente.

A diferencia del estudio anterior, existe una notable diferenciación entre las señales de  $\alpha\text{-H1}$  y  $\beta\text{-H1}$  de la glucosa, siendo que la señal  $\beta\text{-H1}$  se redujo considerablemente en  $\sim 9.8$  u respecto a la señal de  $\alpha\text{-H1}$ , señalando claramente la transformación de la  $\beta$ -glucosa durante la reducción y obtención de las nanopartículas.

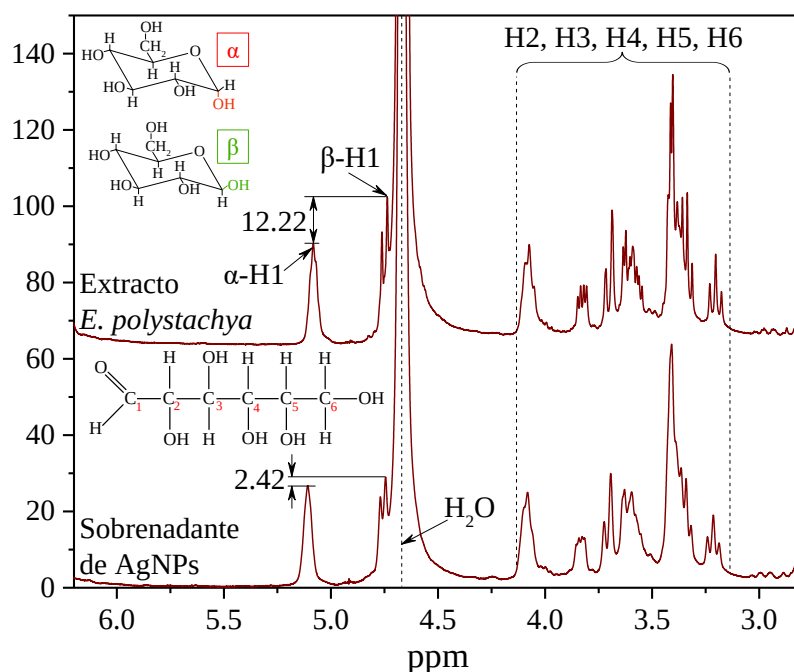


**Figura 4.43.** Espectros de RMN del extracto de *E. polystachya* antes y después de la reacción con la solución de  $\text{AgNO}_3$ .

Para reforzar el análisis de RMN, se obtuvieron los espectros de FTIR del extracto de *E. polystachya* para identificar los grupos funcionales de los compuestos que propiciaron la síntesis

del coloide. La Figura 4.44 presenta los espectros FTIR, en los cuales se ubican bandas de interés en  $\sim 1046$ ,  $\sim 1633$  y  $\sim 1747$   $\text{cm}^{-1}$ . La banda situada en  $\sim 1046$   $\text{cm}^{-1}$  corresponde al grupo funcional carboxilo, el cual pertenece a un producto de la oxidación de la glucosa, no obstante no se aprecia un cambio considerable en los espectros. Por otro lado, las bandas situadas en  $\sim 1633$  y  $\sim 1747$   $\text{cm}^{-1}$  pertenecen a los grupos funcionales carbonilo y carboxilo, respectivamente, apreciándose una reducción de la banda de carbonilo y un incremento de la banda de carboxilo, lo que indica que ocurrió una transformación del grupo funcional correspondiente a la  $\beta$ -glucosa, produciéndose un ácido carboxílico.

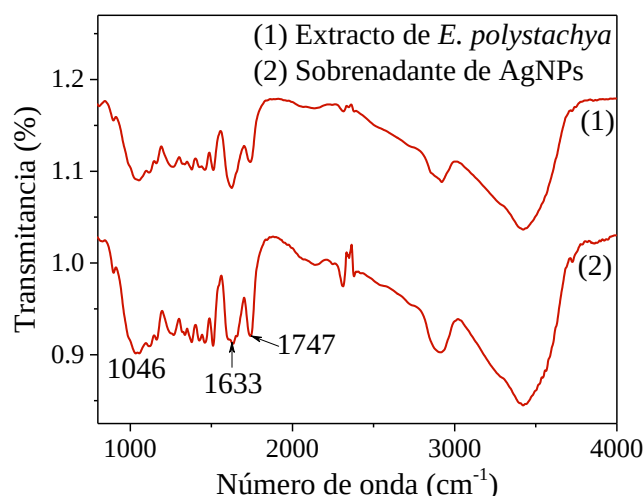


**Figura 4.44.** Espectros de FTIR del extracto de *E. polystachya* antes y después de la reacción con  $\text{AgNO}_3$ .

Los análisis de RMN y FTIR lograron determinar en conjunto los compuestos que propiciaron la reducción de los iones  $\text{Ag}^+$  y  $\text{Au}^{3+}$ . El compuesto principal identificado fue la glucosa, la cual posee dos isómeros;  $\alpha$ -glucosa y  $\beta$ -glucosa, de estos la  $\beta$ -glucosa tuvo una disminución o desaparición de la señal característica de RMN, mientras que la señal de  $\alpha$ -glucosa no sufrió cambio aparente, demostrando que la  $\beta$ -glucosa es el compuesto principal capaz de realizar la reducción de los iones metálicos.

El mecanismo propuesto con base en los resultados se muestra en la Figura 4.45, el cual consiste en la reducción de los iones metálicos mediante la acción del grupo funcional carbonilo

(aldehído), cediendo un electrón al ion metálico para reducirlo. Posteriormente, ocurre una interacción con el ion hidroxilo del agua, uniéndose a la cadena de carbonos, haciendo que el oxígeno pierda su doble enlace. Esta forma de baja estabilidad interactúa con los iones metálicos, provocando la separación del hidrógeno, el cual cede un electrón para reducir el ion metálico, resultando en la formación de un grupo funcional carboxilo. Diversos autores han reportado mecanismos parecidos en donde afirman que el ácido glucónico (ácido carboxílico) es el compuesto resultante de la reacción [180, 268].

El ácido glucónico, entre otros ácidos carboxílicos, es capaz de interactuar con la carga superficial de las nanopartículas obtenidas a través de la carga negativa del grupo funcional hidroxilo, lográndose su unión por medio de una interacción electrostática, propiciando la estabilización de las nanopartículas [180, 269]. Sin embargo, no en todos los sistemas obtenidos se observó la misma estabilidad, debido a que los ensambles de Ag/AgCl preparados con *L. mexicana* fueron de tamaños submicrónicos debido a la mayor cantidad de Cl en el extracto, por otro lado, los ensambles Ag/AgCl conseguidos con *E. polystachya* fueron un conjunto de un gran número de nanopartículas de Ag y AgCl, haciendo que los estabilizantes (ácido glucónico) sean insuficientes para que se formara un coloide estable.

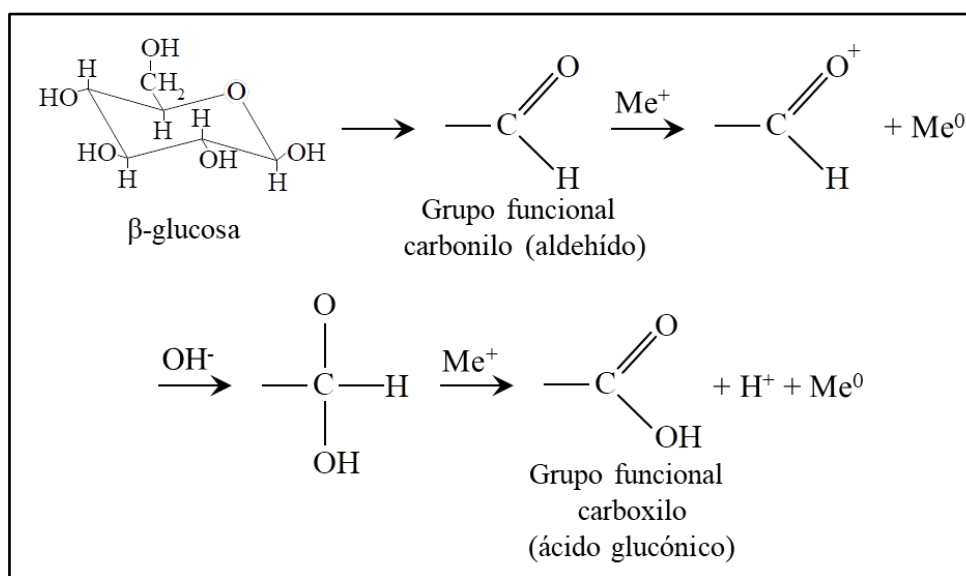


**Figura 4.45.** Mecanismo propuesto de síntesis.



Se obtuvieron señales débiles en RMN del extracto de *L. mexicana*, indicando que esta planta posee una cantidad baja de glucosa, mientras que la planta *E. polystachya* mostró una cantidad más elevada, lo cual propició una velocidad de reducción mayor de los iones  $\text{Ag}^+$ , lográndose una cantidad más elevada de núcleos y un crecimiento más lento, resultando en una gran cantidad de nanopartículas de menor tamaño. Por otro lado, el extracto de *E. polystachya* no fue capaz de reducir los iones  $\text{Au}^{3+}$  debido a la interacción de compuestos maderables, tales como celulosa y lignina, los cuales son sensibles a bajos valores de pH, provocándose una hidrólisis y una interferencia en el proceso de síntesis (sección 4.1.2). La reducción de los iones de  $\text{Ag}^+$  mediante extracto de *L. mexicana* fue lenta debido a la baja cantidad de glucosa, obteniéndose AgNPs de mayor tamaño, mejor estabilidad y menor cantidad en alrededor de 30 min, no obstante, la obtención de las AuNPs se logró debido a que el extracto se realizó de una parte no maderable de la planta, obteniéndose AuNPs lentamente hasta aproximadamente 50 min de reacción. Debido a la baja cantidad de agente reductor en los extractos de ambas plantas, fue necesaria la exposición a la radiación solar, la cual introdujo una energía que disminuyó el tiempo de síntesis de los materiales obtenidos en este trabajo de investigación, sin la acción de la radiación solar, la reducción de los iones metálicos puede prologarse hasta 14 h.

## 4.5. Aplicaciones

### 4.5.1. Degradación de colorantes orgánicos

Los colorantes se emplean para una amplia gama de productos en las industrias textiles y de muebles, sin embargo, se desperdicia hasta un 12 % de los colorantes durante el proceso de fabricación y aproximadamente el 20 % de este desperdicio se desecha a los ríos y lagos [270]. Las moléculas de algunos colorantes no son reactivas a la luz, ácidos, bases, entre otros agentes presentes en la naturaleza, por lo cual algunos colorantes se mantienen intactos produciendo un daño a los seres vivos de un ecosistema. La degradación de los colorantes consiste en la descomposición química de las moléculas del colorante a moléculas de menor tamaño, en algunos casos hasta llegar a la completa mineralización del colorante, es decir, a la obtención de moléculas de dióxido de carbono, ácidos orgánicos de cadena corta, oxalatos e iones inorgánicos

[271]. Entre los métodos para la degradación de colorantes, se encuentra la degradación fotocatalítica empleando nanoestructuras metálicas, por lo cual, en este apartado se realizó un estudio de la capacidad de degradación de colorantes azul de metileno, rodamina B y violeta de genciana mediante el uso de las nanoestructuras obtenidas a lo largo de esta investigación doctoral.

En la Figura 4.46, se puede observar la estructura molecular de los colorantes estudiados, notándose que son compuestos orgánicos conformados de diversos anillos aromáticos y numerosos grupos funcionales  $\text{CH}_3$ , además se presentan en forma ionizada cuando están en solución acuosa. El azul de metileno (Figura 4.46(a)), se emplea normalmente en la industria textil y en aplicaciones clínicas, sin embargo, en dosis elevadas (2-80 mg/kg) pueden presentarse problemas de salud, tales como náuseas, vómito y daños en la piel [272]. La rodamina B (Figura 4.46(b)) es un colorante empleado en la industria textil y como indicador fluorescente, no obstante, puede llegar a causar irritación en piel, ojos y sistema respiratorio, además que es un compuesto carcinógeno [273]. Por otro lado, la violeta de genciana (Figura 4.46(c)) es empleada como un indicador de pH, desinfectante y tinte para la industria textil, sin embargo, puede causar irritación ocular y, en casos extremos, puede producir fallo renal y ceguera permanente [274]. Por lo anterior, es de gran importancia el aporte científico de nuevas alternativas para la degradación y remoción de estos colorantes orgánicos.

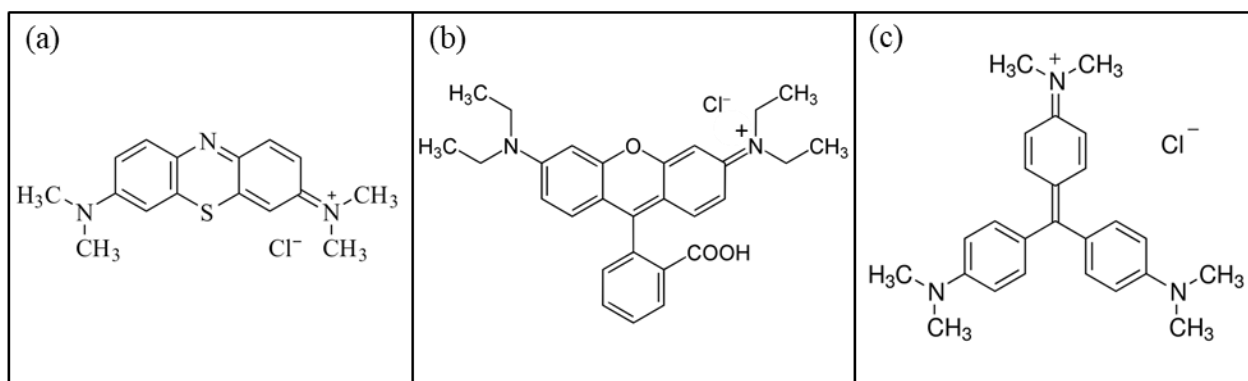


**Figura 4.46.** Estructura molecular de los colorantes (a) azul de metileno, (b) rodamina B, y (c) violeta de genciana.



Los estudios de degradación de colorantes se realizaron mezclando enérgicamente 2 mg de cada muestra de nanoestructuras en 3.5 ml de colorante disuelto en agua desionizada, la concentración inicial de los colorantes se ajustó con base en la absorbancia registrada en el equipo de UV-Vis, la cual se estableció en  $\sim 1$  u. a, obteniéndose una concentración aproximada de  $\sim 0.02$  mM. Inmediatamente después de incorporar las nanoestructuras en los colorantes, se registraron los espectros de UV-Vis después de un tiempo determinado, procurando que las muestras estuvieran bajo luz visible y sin agitación entre cada lectura.

En la Figura 4.47 se aprecian los espectros de UV-Vis de la degradación de azul de metileno después de 24 h, este colorante presenta varias bandas RPS, siendo la de mayor absorbancia la situada en  $\sim 663$  nm. Al prepararse la solución de este colorante, parte se degrada a condiciones estándar, observándose un 5.9 % después de 70 min y 6.5 % al pasar 24 h (Figura 4.47(a)). Al añadirse la muestra Au-M1 (Figura 4.47(b)) se apreció una disminución en la absorbancia de 57.6 % transcurridos 70 min y 92.7 % al pasar 24 h. En la Figura 4.47(c) se observa la degradación mediante el uso de la muestra Au-M2, lográndose una disminución de la banda de 70.2 % al transcurrir 70 min, y 97.8 % después de 24 h. Posteriormente, se muestra la degradación mediante el uso del polvo de la muestra Ag-M1 (Figura 4.47(d)), obteniéndose 42.8 % de disminución de la banda después de 70 min, y 93.9 % al pasar 24 h. Por otro lado, mediante el uso de los autoensambles Ag/AgCl, obtenidos con extracto de *E. polystachya* (Figura 4.47(e)), se logró la disminución de la banda en 70.1 % después de 70 min, y 95.8 % posterior a 24 h. Finalmente, mediante el empleo de los autoensambles Ag/AgCl sintetizados con extracto de *L. mexicana* (Figura 4.47(f)) se obtuvo una degradación de 75 % al transcurrir 70 min, y 95.8 % después de 24 h.

Los valores de la disminución de la absorbancia del azul de metileno se pueden apreciar con mayor claridad en la Tabla 4.4. Se observó que se degrada por sí mismo una pequeña parte a condiciones estándar, no obstante, es relativamente sencilla su degradación mediante el empleo de nanoestructuras metálicas, lográndose entre 92.7-97.8 % en el transcurso de 24 h, siendo las nanopartículas de Au con morfologías triangulares (Au-M2) la muestra que logró un mayor porcentaje de degradación.

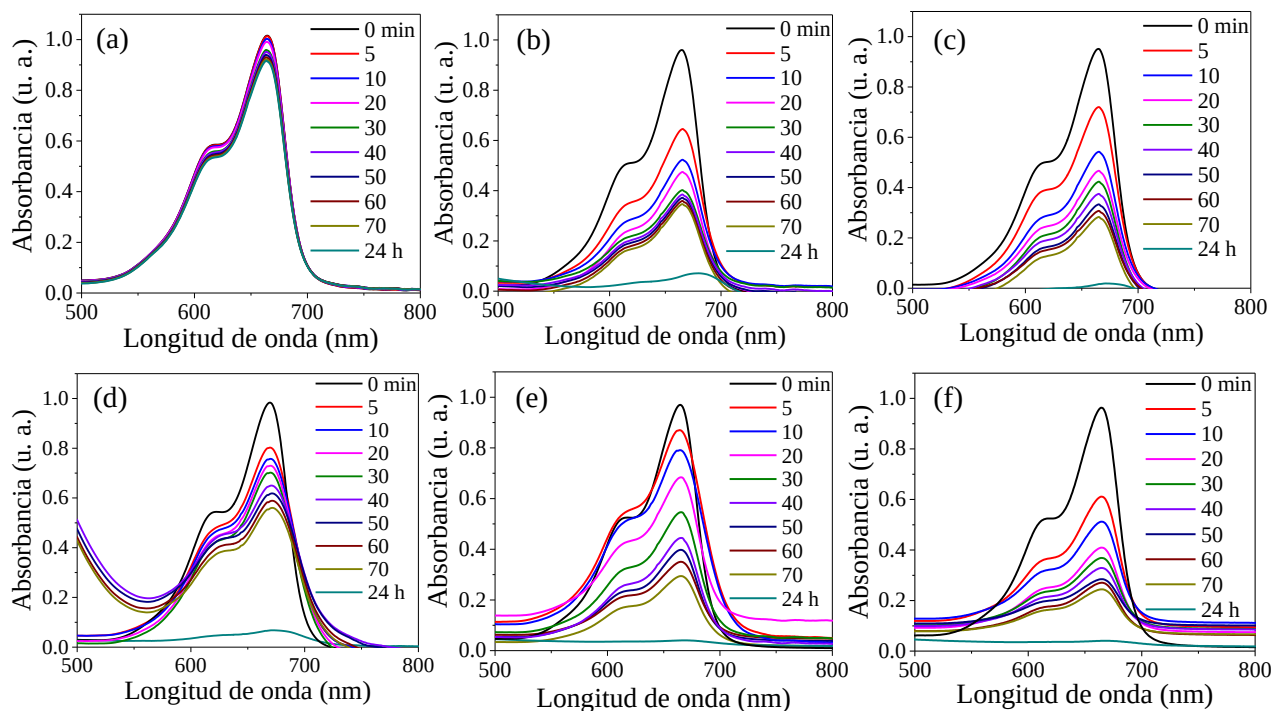


**Figura 4.47.** Espectros de UV-Vis de degradación de azul de metileno: (a) muestra control, (b) Au-M1, (c) Au-M2, (d) Ag-M1, (e) autoensambles Ag/AgCl obtenidos con extracto de *E. polystachya*, y (f) autoensambles Ag/AgCl obtenidos con extracto de *L. mexicana*.

Los espectros de UV-Vis pertenecientes a la degradación de colorante rodamina B son mostrados en la Figura 4.48. La rodamina B es un compuesto que presenta una banda RPS principal en ~553 nm, el cual en condiciones estándar presentó una degradación de 4.7 % después de 70 min, y 5.9 % al pasar 24 h (Figura 4.48(a)). Al añadirse las nanopartículas en polvo de la muestra Au-M1 (Figura 4.48(b)), se observó una degradación de 30.2 % transcurridos 70 min, y 77.3 % al pasar 24 h. Mediante el uso de la muestra Au-M2 (Figura 4.48(c)) se logró obtener una disminución de la banda en 36.5 % y 84.9 % al transcurrir 70 min y 24 h, respectivamente. La Figura 4.48(d) corresponde a la degradación empleando la muestra Ag-M1, donde se obtuvo 35.8 % de disminución de absorbancia después de 70 min, y 52.8 % al pasar 24 h. Por otra parte, se utilizó el polvo de los autoensambles Ag/AgCl obtenidos mediante el uso de *E. polystachya* (Figura 4.48(e)), lográndose una degradación de 55.2 % transcurridos 70 min, y 85.4 % después de 24 h. Por último, mediante el empleo de los autoensambles Ag/AgCl sintetizados mediante el uso de *L.*

mexicana (Figura 4.48(f)), se logró la degradación de 12.1 y 29.3 % después de 70 min y 24 h, respectivamente.

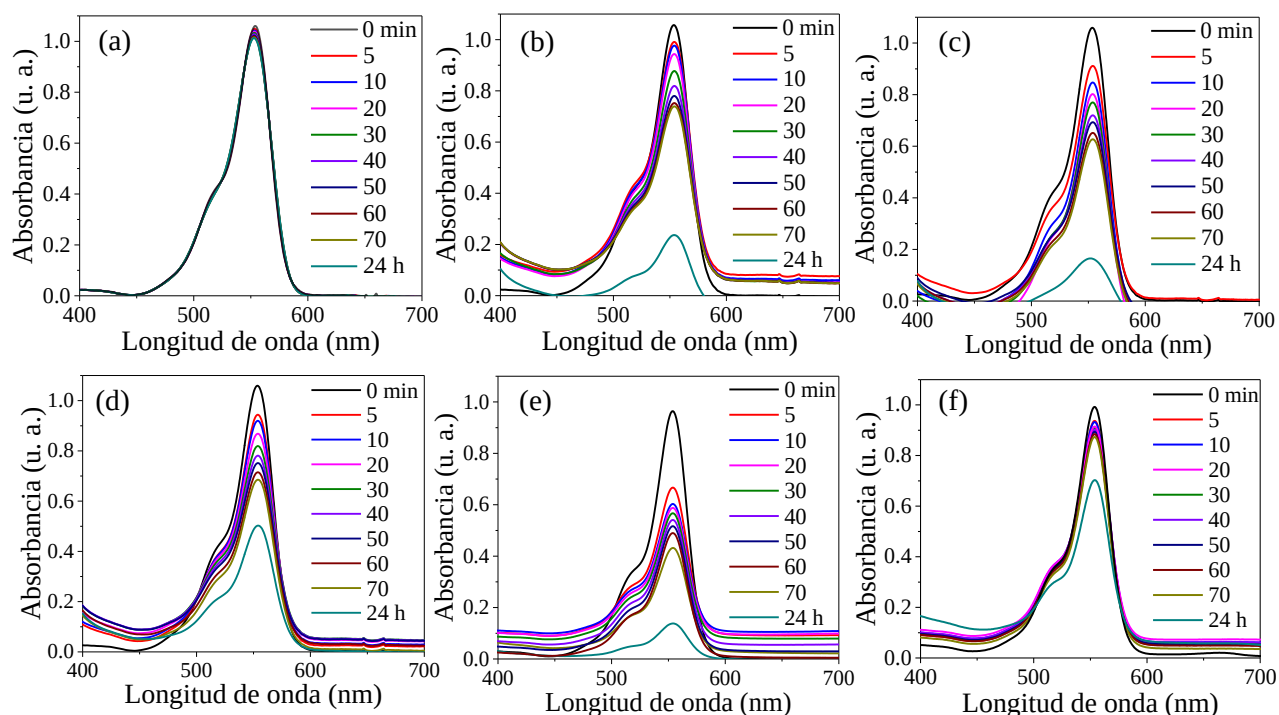


**Figura 4.48.** Espectros de UV-Vis de degradación de rodamina B: (a) muestra control, (b) Au-M1, (c) Au-M2, (d) Ag-M1, (e) autoensambles Ag/AgCl obtenidos con extracto de *E. polystachya*, y (f) autoensambles Ag/AgCl obtenidos con extracto de *L. mexicana*.

La degradación catalítica del colorante rodamina B fue realizada con menor eficiencia de degradación, lográndose un máximo de disminución de absorbancia de 85.4 % mediante el uso de los autoensambles de Ag/AgCl obtenidos con extracto de *E. polystachya*, seguido de la muestra Au-M2, la cual tuvo una degradación muy similar de 84.9 %. Los valores de degradación de rodamina se exponen en la Tabla 4.4.

Por otro lado, en la Figura 4.49 se muestran los espectros de UV-Vis de la degradación de colorante violeta de genciana. El colorante mostró una degradación en condiciones estándar y con exposición a la luz visible de 6.1 % después de 70 min, y 6.7 % al pasar 24 h (Figura 4.49(a)). Mediante el uso de la muestra Au-M1 (Figura 4.49(b)), se logró la disminución de la banda RPS

en 59.5 % al transcurrir 70 min, y 81.8 % después de 24 h. Al añadirse el polvo de la muestra Au-M2 (Figura 4.49(c)), se observó la degradación en 69.3 % después de 70 min, y 90.7 % al transcurrir 24 h. En la Figura 4.49(d) se observa la degradación propiciada por el polvo de la muestra Ag-M1 donde se obtuvo 67.1 % de degradación al parar 70 min y 82 % después de 24 h. Por otra parte, mediante el uso de autoensambles Ag/AgCl obtenidos con *E. polystachya* (Figura 4.49(e)), se logró una degradación de 76.7 % al transcurrir 70 min, y 84.8 % pasadas 24 h. Por último, al emplear autoensambles Ag/AgCl obtenidos con *L. mexicana* se consiguió una degradación de 53 % después de 70 min, y 66.3 % al pasar 24 h (Figura 4.49(f)).

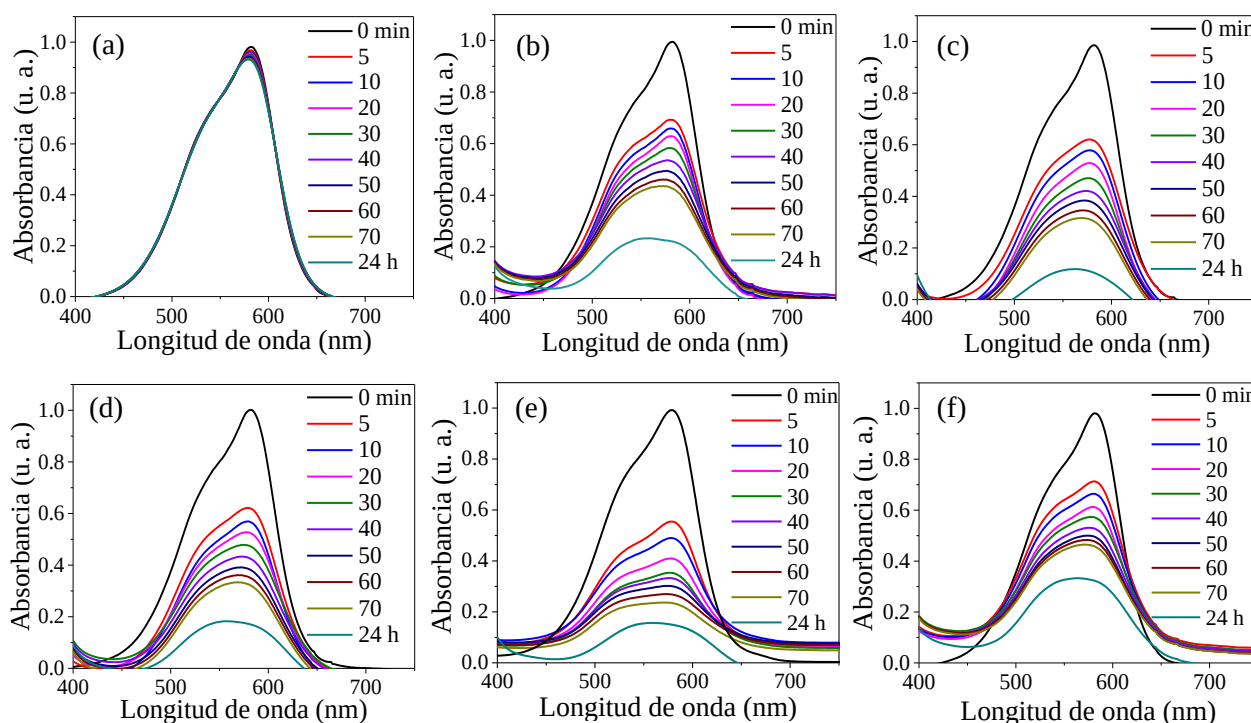


**Figura 4.49.** Espectros de UV-Vis de degradación de violeta de genciana: (a) muestra control, (b) Au-M1, (c) Au-M2, (d) Ag-M1, (e) autoensambles Ag/AgCl obtenidos con extracto de *E. polystachya*, y (f) autoensambles Ag/AgCl obtenidos con extracto de *L. mexicana*.

El colorante violeta de genciana, al igual que la rodamina B, mostró dificultad en su degradación, no obstante, se obtuvo una degradación aceptable mediante el uso de la muestra Au-M2,



lográndose un valor de 90.7 %, seguido de los autoensambles Ag/AgCl obtenidos con *E. polystachya*, los cuales consiguieron una degradación de 84.8 %. Los valores de los porcentajes de degradación se pueden encontrar en la Tabla 4.4.

**Tabla 4.4.** Degradación catalítica de los colorantes orgánicos azul de metileno, rodamina B y violeta de genciana.

|                            | Disminución de absorbancia (%) |         |       |       |       |                                           |                                        |
|----------------------------|--------------------------------|---------|-------|-------|-------|-------------------------------------------|----------------------------------------|
|                            | Tiempo                         | Control | Au-M1 | Au-M2 | Ag-M1 | Ensamblados Ag/AgCl <i>E. polystachya</i> | Ensamblados Ag/AgCl <i>L. mexicana</i> |
| <b>Azul de metileno</b>    | 70 min                         | 5.9     | 57.6  | 70.2  | 42.8  | 70.1                                      | 75                                     |
|                            | 24 h                           | 6.5     | 92.7  | 97.8  | 93.9  | 95.8                                      | 95.8                                   |
| <b>Rodamina B</b>          | 70 min                         | 4.7     | 30.2  | 36.5  | 35.8  | 55.2                                      | 12.1                                   |
|                            | 24 h                           | 5.9     | 77.3  | 84.9  | 52.8  | 85.4                                      | 29.3                                   |
| <b>Violeta de genciana</b> | 70 min                         | 6.1     | 59.5  | 69.3  | 67.1  | 76.7                                      | 53                                     |
|                            | 24 h                           | 6.7     | 81.8  | 90.7  | 82    | 84.8                                      | 66.3                                   |

Para poder elucidar y comprender el mecanismo de degradación de los colorantes mediante el uso de nanoestructuras metálicas, se realizó un análisis de FTIR de los colorantes puros y de las nanoestructuras secas y sin lavar después de la degradación catalítica. La Figura 4.50 presenta los espectros de los colorantes azul de metileno, rodamina B y violeta de genciana, acompañados de los espectros de la muestra Au-M2 después de 24 h de degradación, la cual mostró la mayor degradación en general de los tres colorantes. En los tres espectros de degradación se puede apreciar una notable similitud, observándose bandas situadas en la misma posición en la región del infrarrojo cercano. Las bandas de mayor importancia son las bandas situadas en  $\sim 800$ , 1040, 1380 y  $1620\text{ cm}^{-1}$ . La banda situada en  $\sim 800\text{ cm}^{-1}$  corresponde al anillo aromático, mientras que la banda localizada en  $1040\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a la vibración del grupo funcional  $\text{NH}_2$  o  $\text{COOH}$  [275]. Por otro lado, las bandas situadas en  $\sim 1380$  y  $1620\text{ cm}^{-1}$  corresponden a los grupos funcionales  $\text{CH}_3$  y  $\text{C=O}$ , respectivamente [276].

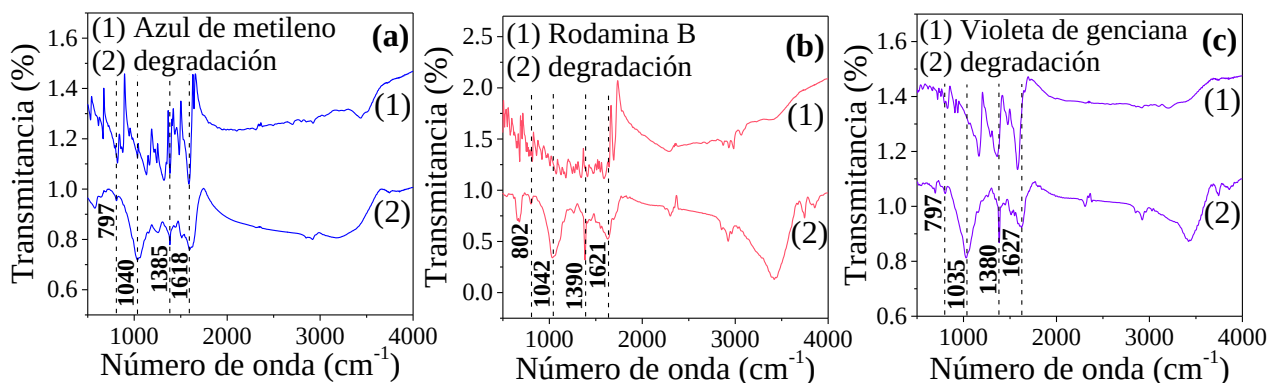


**Figura 4.50.** Espectros de FTIR de los colorantes orgánicos (a) azul de metileno, (b) rodamina B, y (c) violeta de genciana, y los espectros correspondientes a la degradación empleando la muestra Au-M2.

El mecanismo de degradación propuesto se puede observar en la Figura 4.51. El proceso inicia con una fotoexcitación de las nanoestructuras mediante una longitud de onda ( $h\nu$ ), provocando que un electrón salte de la banda de valencia a la banda de conducción. El fotón absorbido tiene una energía igual o mayor al valor de la banda prohibida del semiconductor. Posteriormente, se genera un par electrón-hueco, fenómeno presentado en aislantes y semiconductores. Las partículas de Au y Ag en el rango nanométrico presentan propiedades semiconductoras, cuyas mediciones experimentales de banda prohibida fueron de  $\sim 1.5$  y  $\sim 2.3$  eV, respectivamente.

El potencial oxidativo del hueco de la banda de valencia permite la oxidación directa de la materia orgánica en reactivos intermediarios. Paralelamente, la molécula del agua reacciona con el hueco de la banda de valencia, descomponiéndose en radicales hidroxilo ( $\text{OH}^\bullet$ ), los cuales son un agente no selectivo fuertemente oxidante. Los electrones de la banda de conducción reaccionan con el oxígeno para formar iones superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), los cuales reaccionan con el  $\text{H}^+$  formando radicales hidroperoxilo ( $\text{HOO}^\bullet$ ) que subsecuentemente forma peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), para finalmente disociarse en radicales hidroxilo que oxidan y degradan a la molécula del colorante [277].

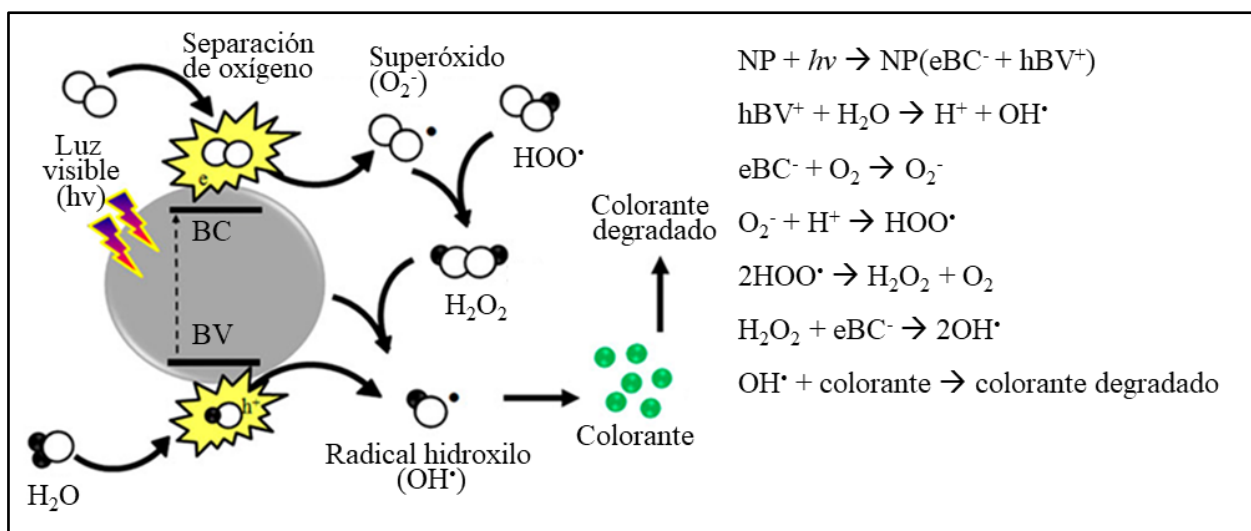


**Figura 4.51.** Mecanismo propuesto de la degradación fotocatalítica.

La degradación de los colorantes se llevó a cabo mediante una oxidación y descomposición de las moléculas orgánicas. En la degradación de los tres colorantes, se visualizó que el color no se eliminó por completo, indicando que algunas moléculas no se degradaron. El azul de metileno fue el colorante que se degradó con mayor facilidad, obteniéndose un valor máximo de degradación de 97.8 %, cuyos intermediarios de degradación pudieron ser compuestos de grupos funcionales  $NH_2$  y  $CH_3$  derivados de la separación de los tres anillos aromáticos, además de azul de metileno residual que no fue degradado (anexo A.1). Por otro lado, la rodamina B fue un colorante que claramente no se degradó por completo, lográndose un máximo de 85.4 % de degradación, por lo cual se tiene la presencia de grupos funcionales  $CH_3$  y  $COOH$  del mismo colorante, además de la formación de productos resultantes de la remoción de etilenos de la molécula (anexo A.2). Finalmente, el colorante violeta de genciana se descompuso un máximo de 90.7 %, dejando los grupos funcionales  $CH_3$  del colorante residual, mientras que el resto se degradó a compuestos con grupo funcional carbonilo y, posteriormente una remoción de metilenos de los grupos funcionales del colorante, obteniendo grupos  $NH_2$  (anexo A.3).

Con base en los resultados, se puede deducir que la reducción de colorantes empleando nanoestructuras metálicas puede generar un cambio total en composición química de los colorantes, descomponiéndolos en otras sustancias menos tóxicas e incoloras. La energía



superficial de las nanopartículas depende principalmente de su tamaño y forma, esta energía disminuye con el aumento del diámetro de las nanopartículas. Esto es contrario a lo que predicen los modelos teóricos existentes, pero es consistente con algunos modelos de simulaciones atomísticas o con cálculos realizados basados en la teoría del funcional de la densidad [278]. De igual manera, la forma o el facetamiento de las partículas influye directamente en la energía superficial de las nanopartículas, así como el número de átomos que forma la nanopartícula, el cual está relacionado con un número de coordinación reducido de la superficie [279]. Por lo tanto, las nanopartículas de formas más variadas (Au-M2) y de mayor abundancia y menor tamaño (autoensambles Ag/AgCl mediante *E. polystachya*) fueron las que tuvieron mejor interacción con las moléculas de los colorantes orgánicos.

#### **4.5.2. Espectroscopía Raman amplificada en la superficie (SERS)**

La espectroscopía Raman es una técnica no destructiva de caracterización de moléculas, basada en la observación de vibraciones moleculares, que provee de información de materiales en los diferentes estados de la materia, tal como la descripción de la composición química y su estructura. Sin embargo, esta técnica posee una sección transversal muy débil, es decir, que solamente una parte débil de la energía incidente se dispersará efectivamente de forma inelástica por la muestra observada. Por lo tanto, se requiere de una cantidad de muestra relativamente elevada ( $>10^{-4}$  M) para lograr obtener una señal aceptable [280].

La técnica de SERS es una modificación de la espectroscopía Raman que incrementa la señal de cualquier molécula que interactúa con un sustrato modificado al incidir una longitud de onda. Este proceso puede ocurrir en superficies metálicas modificadas de rugosidad nanométrica o nanopartículas depositadas en el sustrato. Debido a las limitaciones de la espectroscopía Raman, el estudio y empleo de nuevos sustratos que incrementen la señal de Raman es de gran importancia, debido a que puede tener potenciales aplicaciones en el campo de la detección y análisis de trazas, diagnósticos bioquímicos, detección de patógenos y monitoreo de contaminación ambiental [281].

Para el estudio realizado en esta investigación, los sustratos fabricados con nanoestructuras de Au fueron empleados para evaluar el grado de amplificación de la señal Raman de rodamina B



(Figura 4.52), de igual manera, se realizó la evaluación los sustratos obtenidos con nanoestructuras de Ag (Figura 4.53). Para comparar las posiciones de las señales amplificadas mediante SERS, se obtuvo un espectro Raman a concentración de  $10^{-2}$  M sin sustrato, en donde se observa un espectro con señales intensas bien definidas.

Los espectros de las Figuras 4.52(b)-(c) corresponden a la medición de  $10^{-5}$  M de rodamina B obtenida mediante el uso de los sustratos SERS de Au, empleando la muestra de morfologías triangulares (Au-M2) y de morfologías esféricas (Au-M1), en donde se puede apreciar que el sustrato de la muestra Au-M2 presentó una mayor amplificación de la señal Raman respecto a la muestra Au-M1. Por otro lado, los espectros de las Figuras 4.53(b)-(c) corresponden a los espectros SERS de los sustratos fabricados con la muestra de autoensambles Ag/AgCl obtenidas con *E. polystachya* y de la muestra de AgNPs obtenidas con *L. mexicana* (Ag-M1), para la medición de  $10^{-5}$  M de rodamina B, apreciándose que la muestra de autoensambles Ag/AgCl obtenidas con *E. polystachya* presentó una mayor amplificación de las señales Raman, a diferencia del sustrato obtenido con la muestra Ag-M1, la cual, junto con el sustrato de Au-M1 (Figura 4.52), no presentaron un incremento aceptable respecto al espectro Raman de la rodamina a  $10^{-5}$  M sin sustrato. Es oportuno mencionar que la muestra de autoensambles Ag/AgCl obtenidos con *L. mexicana* no presentó la adherencia adecuada en el sustrato, por lo cual fue descartada para el análisis.

Mediante la fórmula del factor de incremento analítico [221], se pudo verificar el incremento de las señales Raman de cada sustrato tomando como referencia la señal de mayor intensidad de la rodamina B a  $10^{-2}$  M sin sustrato. Esta fórmula (ecuación 4.1) indicó cuánto se incrementa la señal de SERS respecto a un análisis de Raman normal, en donde se considera la relación de la intensidad de la señal Raman normal ( $I_{SR}$ ) de un analito a una concentración conocida ( $C_{SR}$ ) y la intensidad de la señal incrementada mediante el uso de un sustrato SERS ( $I_{SERS}$ ) de un analito con una determinada concentración ( $C_{SERS}$ ) a las mismas condiciones experimentales del equipo. La fórmula del factor de incremento analítico es la siguiente:

$$FIA = \frac{I_{SERS}/C_{SERS}}{I_{SR}/C_{SR}} \quad (4.1)$$

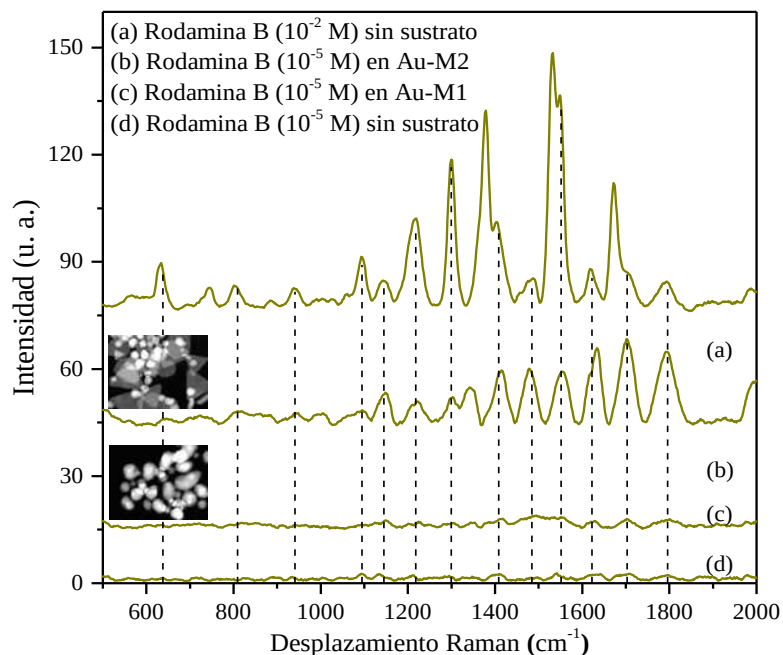


**Figura 4.52.** Espectros Raman de (a)  $10^{-2}$  M de rodamina B sin sustrato,  $10^{-5}$  M de rodamina B en sustrato de (b) Au-M2, (c) Au-M1, y (d) sin sustrato.

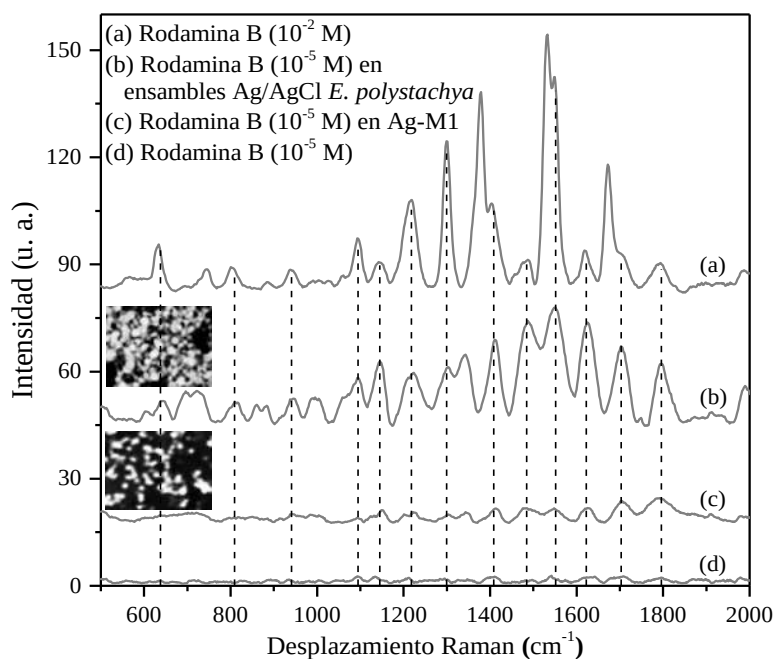


**Figura 4.53.** Espectros Raman de (a)  $10^{-2}$  M de rodamina B sin sustrato,  $10^{-5}$  M de rodamina B en sustrato de (b) ensambles Ag/AgCl obtenidos con *E. polystachya*, (c) Ag-M1, y (d) sin sustrato.



Se obtuvieron los factores de incremento analíticos de los sustratos modificados con los ensambles Ag/AgCl, Au-M2, Ag-M1 y Au-M1, los cuales fueron 417, 293, 60 y 49 (u. a), respectivamente. Claramente, se puede observar que el sustrato de mayor amplificación de señal fue logrado mediante la modificación con los ensambles Ag/AgCl obtenidos del extracto de *E. polystachya*.

Se realizó un análisis de MEB de los sustratos empleados para verificar la causa de la variación de los factores de incremento analíticos obtenidos (Figura 4.54). La Figura 4.54(a) corresponde al sustrato realizado con autoensambles Ag/AgCl obtenidos con *E. polystachya*, en la cual la saturación de nanopartículas es apreciable, lográndose una formación uniforme de una capa saturada de morfologías de tamaños nanométricos, además, se resaltan algunos puntos calientes (inserto) derivados del distanciamiento nanométrico de las nanopartículas, donde se genera la amplificación de la señal SERS. En la Figura 4.54(b) se presenta el sustrato obtenido con la muestra de nanopartículas de Au esféricas y triangulares (Au-M2), observándose una saturación de AuNPs y morfologías triangulares en distintas regiones del sustrato, resaltándose la ubicación de los puntos calientes (inserto) situados en los vértices de las morfologías triangulares. Por otro lado, la Figura 4.54(c) corresponde al sustrato modificado con la muestra de nanopartículas de Ag obtenidas con *L. mexicana* (Ag-M1), donde se aprecian regiones pequeñas aisladas de conformadas por cúmulos de AgNPs con una cantidad considerable de espacios vacíos de tamaño considerable. Por último, en la Figura 4.54(d) se observa un sustrato modificado con la muestra de nanopartículas de Au esféricas (Au-M1), apreciándose una reducida saturación de AuNPs y una cantidad mínima de morfologías triangulares, mismas que se encuentran con mayor separación respecto a la Figura 4.54(b).

El fenómeno del incremento de las señales Raman fue generado por una interacción entre la superficie de los sustratos SERS y las moléculas del analito en presencia de una longitud de onda, la cual se puede explicar mediante dos procesos principales. El primer proceso resultó de la interacción entre la longitud de onda y las nanopartículas del sustrato, produciendo un incremento del campo eléctrico propiciado por la resonancia del plasmón superficial de las nanopartículas. El segundo proceso se refiere a la amplificación de la señal Raman dispersada por el analito,

resultado de la amplificación del campo electromagnético de la luz debido a la excitación electrónica del fenómeno de RPS.

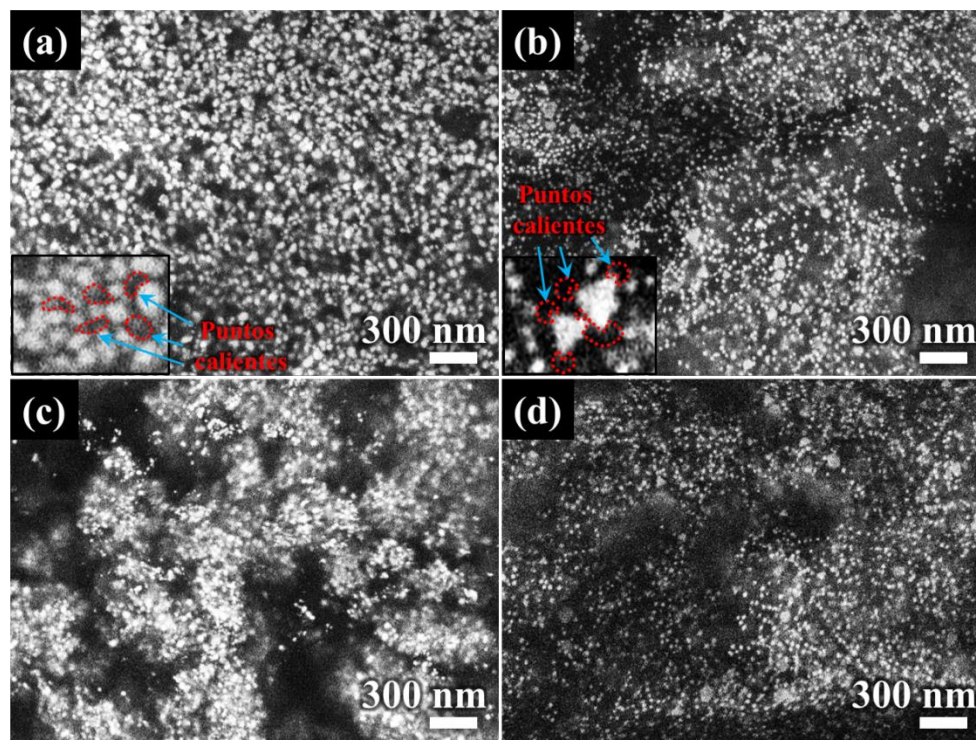


**Figura 4.54.** Imágenes de MEB y la identificación de algunos puntos calientes de los sustratos SERS fabricados con (a) nanomateriales autoensamblados Ag/AgCl obtenidos con *E. polystachya*, (b) Au-M2, (c) Ag-M1, y (d) Au-M1.

Para lograr una amplificación de las señales, las nanopartículas deben estar a distancias nanométricas, de tal modo que exista una interferencia constructiva de los campos electromagnéticos. Por lo tanto, las nanopartículas que conformaron los autoensambles Ag/AgCl, obtenidos con *E. polystachya*, se encontraron saturando el área del sustrato, generándose una mayor cantidad de puntos calientes de amplificación, propiciando que los campos electromagnéticos generados tengan la mayor energía para la amplificación de la señal respecto al resto de los sustratos, logrando un factor de incremento de 417. La muestra Au-M2 no mostró una saturación completa debido a la escasez de AuNPs resultantes de la reacción de síntesis, sin



embargo, las nanopartículas triangulares presentaron en ellas un campo electromagnético confinado de mayor intensidad que en la superficie de las nanopartículas esféricas, debido a la presencia de vértices y filos en donde se ubicaron puntos calientes en los cuales se concentró la mayor parte de la energía (Anexo B.1) [222]. Por otro lado, el sustrato de la muestra Ag-M1 presentó un incremento muy reducido al no haberse presentado AgNPs de diferentes morfologías, además de encontrarse una gran cantidad de áreas vacías. Por último, la muestra Au-M1 presentó la menor intensificación de señales Raman debido a la saturación incompleta por causa de la escasez de AuNPs y a la ausencia de morfologías adicionales, además de que esta muestra fue preparada con una cantidad abundante de material orgánico (60 mg/ml de extracto de *L. mexicana*), lo que dificultó la remoción de las biomoléculas residuales mediante centrifugación y, por consecuencia, la presencia de mayor cantidad de material orgánico, inhibiendo la adsorción o interacción de las moléculas del analito con el sustrato.



## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

El extracto acuoso de hojas de *L. mexicana* fue capaz de realizar la reducción de los iones  $\text{Au}^{3+}$  y  $\text{Ag}^+$ , obteniéndose AuNPs en  $\sim 30$  min, sin embargo, la reacción con los iones  $\text{Ag}^+$  fue bastante lenta, lográndose una reducción en aproximadamente 14 h. La síntesis pudo llevarse a cabo rápidamente mediante la exposición a la radiación solar, la cual actuó como una energía que aceleró la reducción de los iones  $\text{Ag}^+$ , y el tiempo de exposición tiene una influencia directa en el tamaño final de las AgNPs, encontrándose un tiempo óptimo de 45 min de interacción con una irradiancia de aproximadamente  $850 \text{ W/m}^2$ .

El extracto acuoso de madera de *E. polystachya* fue muy sensible a los cambios de pH. La acidez de la solución produjo una descomposición de compuestos comúnmente encontrados en recursos maderables, por lo cual se impidió la reducción y crecimiento de AuNPs. Al incrementarse el pH, se llevó a cabo la reducción de los iones  $\text{Au}^{3+}$  debido a la cantidad de iones  $\text{OH}^-$  presentes en la reacción, los cuales causaron que los grupos funcionales hidroxilo de los agentes reductores perdieran más fácilmente los protones  $\text{H}^+$  al interactuar los iones  $\text{Au}^{3+}$  con ellos, propiciándose un cambio de coloración característico de amarillento a púrpura. Al igual que *L. mexicana*, el extracto de *E. polystachya* presentó una reducción muy lenta de los iones  $\text{Ag}^+$ , por lo que se empleó una irradiancia de aproximadamente  $850 \text{ W/m}^2$  para la obtención de nanoestructuras en 30 min.

Las nanoestructuras obtenidas fueron estudiadas mediante espectroscopía UV-Vis. Las AuNPs y AgNPs sintetizadas mediante el uso de extracto de *L. mexicana* mostraron bandas características en  $\sim 540$  y  $\sim 455$  nm, respectivamente. No obstante, mediante el empleo de esta planta, se obtuvieron morfologías triangulares de Au, las cuales exhibieron una banda RPS entre 757-764 nm debido a la diferencia de oscilación electrónica causada por la modificación de dimensiones de las partículas. Por otro lado, mediante el empleo de extracto de *E. polystachya*, se logró obtener ensambles de Ag/AgCl, los cuales mostraron una banda RPS en  $\sim 385$  nm, indicando que estos ensambles estuvieron compuestos de nanoestructuras de Ag de tamaño muy reducido.

Mediante DRX fue posible observar que las AuNPs obtenidas empleando extracto de *L. mexicana* no presentaron ningún subproducto de reacción, mientras que la diferencia de los anchos de picos entre muestras revelaron la presencia de morfologías adicionales a la esférica.



Las AgNPs y los ensambles de Ag/AgCl, obtenidos con ambas plantas, presentaron las fases Ag y AgCl fcc, debido a la presencia del elemento Cl en los extractos y su afinidad con el elemento Ag para la formación espontánea de cristales de AgCl, los cuales se caracterizan por ser altamente insolubles en agua. La diferencia de ancho de los picos de difracción indicó la presencia de cristales submicrónicos de AgCl y AgNPs en la síntesis mediante el uso de extracto de *L. mexicana*, mientras que para el caso de *E. polystachya*, los ensambles obtenidos fueron conformados de cristales nanométricos de Ag y AgCl.

Se logró observar mediante MEB y MET la morfología, tamaño, composición y configuración de las nanoestructuras sintetizadas. Se obtuvieron AuNPs esféricas de ~42 nm mediante síntesis verde empleando extracto acuoso de *L. mexicana*. El extracto aportó la cantidad de sustancias adecuadas para la reducción de los iones  $\text{Au}^{3+}$ , y estabilización de las AuNPs para evitar un crecimiento excesivo. Al modificarse la concentración del extracto, se modificó igualmente la cantidad de sustancias reductoras y estabilizantes, propiciando una disminución en la cantidad de núcleos, no obstante, al haber escasez de estabilizantes, algunas AuNPs crecieron irregularmente produciéndose morfologías planas y triangulares muy delgadas de ~136 nm de arista, produciéndose un cambio en las propiedades ópticas, catalíticas y electroquímicas, respecto a las AuNPs esféricas. Por otro lado, al incrementar el pH para la reducción de los iones  $\text{Au}^{3+}$  mediante el uso de extracto de *E. polystachya*, se propició la formación de AuNPs a pH 7 y 9 de tamaños entre 63-82 nm y 30-48 nm, respectivamente. La modificación del pH consistió en la adición de una sustancia ajena, lo cual es contradictorio a los principios de la química verde, por lo tanto, estas AuNPs no fueron consideradas para estudios posteriores.

Se obtuvieron AgNPs de morfología esférica de tamaños entre ~20-40 nm mediante el empleo de extracto de *L. mexicana*, el subproducto obtenido en todas las síntesis fueron partículas submicrónicas de AgCl de diferentes tamaños debido al Cl presente de manera natural en la planta. Debido al contenido de Cl en el extracto de *L. mexicana*, al realizarse la modificación de la concentración a 5 mg/ml y con una exposición de 30 min a la radiación solar, se sintetizaron cristales submicrónicos de tamaños entre ~240-447 nm con AgNPs incrustadas en su interior y sobre la superficie, lo cual resultó en nanoestructuras ensambladas en una matriz. Al exponerse los compuestos a la radiación solar, la formación de los núcleos de Ag fue más veloz que la formación de los cristales de AgCl, los cuales durante su crecimiento atraparon las AgNPs en su



interior y, al ser fotosensible, un mayor tiempo de exposición provocaría la desintegración de estos nanomateriales. Por otro lado, se observó que los ensambles de Ag/AgCl sintetizados con extracto de *E. polystachya* fueron conformados de AgNPs y AgClNPs de tamaños entre ~9-15 nm y morfología esférica. Al mantenerse en reposo las muestras, se observó una precipitación de los productos después de ~3 h. Se reveló que las nanopartículas no presentaban la estabilidad de un coloide, tendiendo a la formación de autoensambles, por lo tanto, el extracto de *E. polystachya* no presentó la cantidad adecuada de sustancias estabilizantes para la obtención de un coloide, sin embargo, poseyó la cantidad necesaria para evitar la coalescencia y formación de partículas fuera de la nanoescala.

El análisis electroquímico mediante VC reveló señales características de las AuNPs y AgNPs, además de obtenerse un aumento de la sensibilidad electroquímica del electrodo modificado. La sensibilidad de las señales electroquímicas se debió a la naturaleza, el área de superficie y la forma de las nanoestructuras, haciendo estos materiales de interés para el posterior análisis de eficiencia de detección de un analito mediante VC.

Mediante los resultados de RMN y FTIR, fue posible elucidar el mecanismo de reacción entre los extractos y los iones  $\text{Au}^{3+}$  y  $\text{Ag}^+$ . El compuesto principal responsable de la síntesis fue la glucosa, la cual durante la reacción se convirtió en un ácido carboxílico, el cual pudo interactuar con las nanopartículas como agente estabilizante. El extracto de *L. mexicana* posee una cantidad muy reducida de glucosa, por lo cual la cantidad de AgNPs fue relativamente baja, no obstante se presentó una estabilidad aceptable del coloide. Por otro lado, el extracto de *E. polystachya*, presentó una mayor cantidad de glucosa, por lo cual, la cantidad de AgNPs y AgClNPs fue mayor, por lo que la cantidad de estabilizantes fue insuficiente, produciéndose una precipitación de los productos.

Los nanomateriales obtenidos en esta investigación presentaron diferente capacidad de degradación fotocatalítica de los colorantes azul de metileno, rodamina B y violeta de genciana. Existen diversos factores para la eficiencia de degradación, los cuales son la naturaleza del colorante, la composición química de las nanoestructuras, la morfología, el tamaño y la relación entre concentración del colorante y de las nanoestructuras. Los resultados arrojaron que las nanoestructuras que presentaron mayor eficiencia de degradación fueron las de mayor área de contacto, las cuales fueron la muestra Au-M2, al poseer morfologías triangulares planas, y los



autoensambles Ag/AgCl obtenidos con *E. polystachya*, al presentarse una concentración mayor de nanopartículas esféricas. No obstante, la degradación no fue total hasta llegarse a la mineralización ( $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{CO}_2$ ), obteniéndose compuestos de degradación intermediarios incoloros de estructura más simple.

Las nanoestructuras obtenidas en este trabajo presentaron diversos factores de incremento analítico al emplearse como sustratos SERS para la detección de  $10^{-5}$  M de rodamina B. Se verificó que los factores para el incremento de la intensidad de las señales Raman son la separación entre nanoestructuras, área superficial, naturaleza y la morfología de las nanoestructuras. El sustrato de mayor incremento fue el que contenía autoensambles Ag/AgCl obtenidos con *E. polystachya* debido a la baja estabilidad del coloide, permitiendo que durante el secado las nanopartículas se depositaran saturando la superficie del sustrato, haciendo estas nanoestructuras adecuadas para posteriores investigaciones para aplicaciones en películas nanoestructuradas.

La síntesis verde es una variante de la síntesis química convencional que dio como resultado la obtención de diversos tipos de nanoestructuras con diferentes propiedades ópticas, electroquímicas y catalíticas, empleándose extractos de plantas medicinales de fácil adquisición y bajo costo, resultando en un gasto energético reducido y un menor impacto ambiental.



---

## RECOMENDACIONES Y TRABAJO FUTURO

- 1) Mejorar la eficiencia de síntesis de las AgNPs empleando extracto de *L. mexicana* y evaluar el efecto directo de los cristales AgCl en las propiedades fotocatalíticas y ópticas.
- 2) Establecer una modificación de las condiciones de síntesis para la obtención de nanoestructuras de Au mediante el empleo de *E. polystachya* cumpliendo con los principios de la química verde.
- 3) Realizar un estudio más a profundidad del efecto del pH y realizar la medición del potencial zeta.
- 4) Obtener el área superficial específica de todas las nanoestructuras obtenidas.
- 5) Utilizar las nanoestructuras para analizar la eficiencia de detección de un analito mediante voltamperometría cíclica.
- 6) Optimizar la fabricación de un sustrato SERS empleando los autoensambles Ag/AgCl obtenidos con *E. polystachya*.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Patil, M.P., *et al.*, *Antibacterial potential of silver nanoparticles synthesized using Madhuca longifolia flower extract as a green resource*. Microbial pathogenesis, 2018.
2. Tedesco, S., *et al.*, *Gold nanoparticles and oxidative stress in Mytilus edulis*. Marine environmental research, 2008. **66**(1): p. 131-133.
3. Morones, J.R., *et al.*, *The bactericidal effect of silver nanoparticles*. Nanotechnology, 2005. **16**(10): p. 2346.
4. Ahmed, S., *et al.*, *A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise*. Journal of advanced research, 2016. **7**(1): p. 17-28.
5. Singh, P., *et al.*, *Weissella oryzae DC6-facilitated green synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial potential*. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology, 2016. **44**(6): p. 1569-1575.
6. Choudhary, B.C., *et al.*, *Photocatalytic reduction of organic pollutant under visible light by green route synthesized gold nanoparticles*. Journal of Environmental Sciences, 2017. **55**: p. 236-246.
7. Keshavamurthy, M., B. Srinath, and V.R. Rai, *Phytochemicals-mediated green synthesis of gold nanoparticles using Pterocarpus santalinus L.(Red Sanders) bark extract and their antimicrobial properties*. Particulate Science and Technology, 2018. **36**(7): p. 785-790.
8. Elahi, N., M. Kamali, and M.H. Baghersad, *Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review*. Talanta, 2018.
9. Nayan, V., S.K. Onteru, and D. Singh, *Mangifera indica flower extract mediated biogenic green gold nanoparticles: Efficient nanocatalyst for reduction of 4-nitrophenol*. Environmental Progress & Sustainable Energy, 2018. **37**(1): p. 283-294.
10. Castro, J.R., *et al.*, *Green Synthesis of Gold Nanoparticles (AuNPs) by Cupressus Goveniana Extract*. ECS Transactions, 2018. **84**(1): p. 207-215.
11. Song, J.Y. and B.S. Kim, *Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts*. Bioprocess and biosystems engineering, 2009. **32**(1): p. 79.
12. Raj, S., S.C. Mali, and R. Trivedi, *Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Enicostemma axillare (Lam.) leaf extract*. Biochemical and biophysical research communications, 2018. **503**(4): p. 2814-2819.



13. Paul, B., et al., *One-pot green synthesis of gold nanoparticles and studies of their anticoagulative and photocatalytic activities*. Materials Letters, 2016. **185**: p. 143-147.
14. Huo, Y., et al., *Biological synthesis of gold and silver chloride nanoparticles by Glycyrrhiza uralensis and in vitro applications*. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology, 2018. **46**(2): p. 303-312.
15. Latha, D., et al., *Biosynthesis and characterization of gold nanoparticle from Justicia adhatoda and its catalytic activity*. Materials Today: Proceedings, 2018. **5**(2): p. 8968-8972.
16. Chandirika, J.U. and G. Annadurai, *Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using leaf extract Abutilon indicum*. Global Journal of Biotechnology & Biochemistry, 2018. **13**(1): p. 07-11.
17. Nadagouda, M.N., T.F. Speth, and R.S. Varma, *Microwave-assisted green synthesis of silver nanostructures*. Accounts of Chemical Research, 2011. **44**(7): p. 469-478.
18. Thanh, N.T., N. Maclean, and S. Mahiddine, *Mechanisms of nucleation and growth of nanoparticles in solution*. Chemical reviews, 2014. **114**(15): p. 7610-7630.
19. Zhou, Y., et al., *A novel ultraviolet irradiation technique for shape-controlled synthesis of gold nanoparticles at room temperature*. Chemistry of materials, 1999. **11**(9): p. 2310-2312.
20. Grzelczak, M., et al., *Directed self-assembly of nanoparticles*. ACS nano, 2010. **4**(7): p. 3591-3605.
21. Joseph, S. and B. Mathew, *Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles and the study on catalytic activity in the degradation of dyes*. Journal of Molecular Liquids, 2015. **204**: p. 184-191.
22. Sharma, B., et al., *SERS: Materials, applications, and the future*. Materials today, 2012. **15**(1-2): p. 16-25.
23. Feynman, R.P., *There's plenty of room at the bottom [data storage]*. Journal of microelectromechanical systems, 1992. **1**(1): p. 60-66.
24. Eigler, D.M. and E.K. Schweizer, *Positioning single atoms with a scanning tunnelling microscope*. Nature, 1990. **344**(6266): p. 524-526.
25. Whitesides, G.M., *Nanoscience, nanotechnology, and chemistry*. Small, 2005. **1**(2): p. 172-179.



26. Thakkar, K.N., S.S. Mhatre, and R.Y. Parikh, *Biological synthesis of metallic nanoparticles*. Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine, 2010. **6**(2): p. 257-262.
27. Gao, P., et al., *A simple recycling and reuse hydrothermal route to ZnO nanorod arrays, nanoribbon bundles, nanosheets, nanocubes and nanoparticles*. Chemical Communications, 2009(19): p. 2762-2764.
28. Hussain, I., et al., *Green synthesis of nanoparticles and its potential application*. Biotechnology letters, 2016. **38**(4): p. 545-560.
29. Maekawa, K., et al., *Drop-on-demand laser sintering with silver nanoparticles for electronics packaging*. IEEE Transactions on components, packaging and manufacturing technology, 2012. **2**(5): p. 868-877.
30. Azzazy, H.M., et al., *Gold nanoparticles in the clinical laboratory: principles of preparation and applications*. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), 2012. **50**(2): p. 193-209.
31. Virkutyte, J. and R.S. Varma, *Green synthesis of metal nanoparticles: biodegradable polymers and enzymes in stabilization and surface functionalization*. Chemical Science, 2011. **2**(5): p. 837-846.
32. Sanguansri, P. and M.A. Augustin, *Nanoscale materials development—a food industry perspective*. Trends in Food Science & Technology, 2006. **17**(10): p. 547-556.
33. Muroski, M.E., J.M. Kogot, and G.F. Strouse, *Bimodal gold nanoparticle therapeutics for manipulating exogenous and endogenous protein levels in mammalian cells*. Journal of the American Chemical Society, 2012. **134**(48): p. 19722-19730.
34. Ray, P.C., *Size and shape dependent second order nonlinear optical properties of nanomaterials and their application in biological and chemical sensing*. Chemical reviews, 2010. **110**(9): p. 5332-5365.
35. Daniel, M.-C. and D. Astruc, *Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology*. Chemical reviews, 2004. **104**(1): p. 293-346.
36. Brust, M. and C.J. Kiely, *Some recent advances in nanostructure preparation from gold and silver particles: a short topical review*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2002. **202**(2-3): p. 175-186.
37. El-Sayed, M.A., *Some interesting properties of metals confined in time and nanometer space of different shapes*. Accounts of chemical research, 2001. **34**(4): p. 257-264.



38. Schaefer, D., *et al.*, *Elastic properties of individual nanometer-size supported gold clusters*. Physical Review B, 1995. **51**(8): p. 5322.
39. Inasawa, S., M. Sugiyama, and Y. Yamaguchi, *Laser-induced shape transformation of gold nanoparticles below the melting point: the effect of surface melting*. The Journal of Physical Chemistry B, 2005. **109**(8): p. 3104-3111.
40. Durán-Álvarez, J.C., R. Zanella, and O.-R. Socorro, *Superficial modification of semiconductors with gold nanoparticles for photocatalytic applications*, in *Heterogeneous Gold Catalysts and Catalysis*. 2014, Royal Society of Chemistry. p. 155-228.
41. Haruta, M. and M. Daté, *Advances in the catalysis of Au nanoparticles*. Applied Catalysis A: General, 2001. **222**(1-2): p. 427-437.
42. Haruta, M., *et al.*, *Low-temperature oxidation of CO over gold supported on TiO<sub>2</sub>,  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, and Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>*. Journal of Catalysis, 1993. **144**(1): p. 175-192.
43. Huang, J., *et al.*, *Propene epoxidation with dioxygen catalyzed by gold clusters*. Angewandte Chemie International Edition, 2009. **48**(42): p. 7862-7866.
44. Abad, A., *et al.*, *Unique gold chemoselectivity for the aerobic oxidation of allylic alcohols*. Chemical communications, 2006(30): p. 3178-3180.
45. Ishida, T., *et al.*, *Aerobic oxidation of glucose over gold nanoparticles deposited on cellulose*. Applied Catalysis A: General, 2010. **377**(1-2): p. 42-46.
46. Mata, R., A. Bhaskaran, and S.R. Sadras, *Green-synthesized gold nanoparticles from Plumeria alba flower extract to augment catalytic degradation of organic dyes and inhibit bacterial growth*. Particuology, 2016. **24**: p. 78-86.
47. Nadaf, N.Y. and S.S. Kanase, *Biosynthesis of gold nanoparticles by Bacillus marisflavi and its potential in catalytic dye degradation*. Arabian Journal of Chemistry, 2019. **12**(8): p. 4806-4814.
48. Shuford, K.L., M.A. Ratner, and G.C. Schatz, *Multipolar excitation in triangular nanoprisms*. The Journal of chemical physics, 2005. **123**(11): p. 114713.
49. Busbee, B.D., S.O. Obare, and C.J. Murphy, *An improved synthesis of high-aspect-ratio gold nanorods*. Advanced Materials, 2003. **15**(5): p. 414-416.
50. Lu, X., *et al.*, *Ultrathin gold nanowires can be obtained by reducing polymeric strands of oleylamine– AuCl complexes formed via aurophilic interaction*. Journal of the American Chemical Society, 2008. **130**(28): p. 8900-8901.



51. Zhang, J., et al., *Sonochemical formation of single-crystalline gold nanobelts*. Angewandte Chemie International Edition, 2006. **45**(7): p. 1116-1119.
52. Miranda, A., et al., *One-pot synthesis of triangular gold nanoplates allowing broad and fine tuning of edge length*. Nanoscale, 2010. **2**(10): p. 2209-2216.
53. Yavuz, M.S., W. Li, and Y. Xia, *Facile Synthesis of Gold Icosahedra in an Aqueous Solution by Reacting H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> with N-Vinyl Pyrrolidone*. Chemistry—A European Journal, 2009. **15**(47): p. 13181-13187.
54. Wang, Z., et al., *DNA-mediated control of metal nanoparticle shape: one-pot synthesis and cellular uptake of highly stable and functional gold nanoflowers*. Nano letters, 2010. **10**(5): p. 1886-1891.
55. Huang, T., F. Meng, and L. Qi, *Controlled synthesis of dendritic gold nanostructures assisted by supramolecular complexes of surfactant with cyclodextrin*. Langmuir, 2010. **26**(10): p. 7582-7589.
56. Panáček, A., et al., *Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity*. The Journal of Physical Chemistry B, 2006. **110**(33): p. 16248-16253.
57. Chaloupka, K., Y. Malam, and A.M. Seifalian, *Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications*. Trends in biotechnology, 2010. **28**(11): p. 580-588.
58. Dankovich, T.A. and D.G. Gray, *Bactericidal paper impregnated with silver nanoparticles for point-of-use water treatment*. Environmental science & technology, 2011. **45**(5): p. 1992-1998.
59. Sharma, V.K., R.A. Yngard, and Y. Lin, *Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities*. Advances in colloid and interface science, 2009. **145**(1-2): p. 83-96.
60. Park, K., D. Seo, and J. Lee, *Conductivity of silver paste prepared from nanoparticles*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2008. **313**: p. 351-354.
61. Laban, B., et al., *Mechanism and kinetics of J-aggregation of thiocyanine dye in the presence of silver nanoparticles*. The Journal of Physical Chemistry C, 2014. **118**(40): p. 23393-23401.
62. Feng, W., D. Nansheng, and H. Helin, *Degradation mechanism of azo dye CI reactive red 2 by iron powder reduction and photooxidation in aqueous solutions*. Chemosphere, 2000. **41**(8): p. 1233-1238.



63. Yen, H.J., S.h. Hsu, and C.L. Tsai, *Cytotoxicity and immunological response of gold and silver nanoparticles of different sizes*. Small, 2009. **5**(13): p. 1553-1561.
64. Powers, C.M., et al., *Silver nanoparticles compromise neurodevelopment in PC12 cells: critical contributions of silver ion, particle size, coating, and composition*. Environmental health perspectives, 2011. **119**(1): p. 37-44.
65. Yang, X., et al., *Mechanism of silver nanoparticle toxicity is dependent on dissolved silver and surface coating in Caenorhabditis elegans*. Environmental science & technology, 2012. **46**(2): p. 1119-1127.
66. Grzybowski, B.A., et al., *Self-assembly: from crystals to cells*. Soft Matter, 2009. **5**(6): p. 1110-1128.
67. Whitesides, G.M. and B. Grzybowski, *Self-assembly at all scales*. Science, 2002. **295**(5564): p. 2418-2421.
68. Zhu, Z.-Z., Z. Wang, and H.-L. Li, *Self-assembly of palladium nanoparticles on functional multi-walled carbon nanotubes for formaldehyde oxidation*. Journal of Power Sources, 2009. **186**(2): p. 339-343.
69. Boles, M.A. and D.V. Talapin, *Self-assembly of tetrahedral CdSe nanocrystals: Effective "patchiness" via anisotropic steric interaction*. Journal of the American Chemical Society, 2014. **136**(16): p. 5868-5871.
70. Kalsin, A.M., et al., *Electrostatic self-assembly of binary nanoparticle crystals with a diamond-like lattice*. science, 2006. **312**(5772): p. 420-424.
71. Fialkowski, M., et al., *Principles and implementations of dissipative (dynamic) self-assembly*. 2006, ACS Publications.
72. Jha, P.K., et al., *Dynamic self-assembly of photo-switchable nanoparticles*. Soft Matter, 2012. **8**(1): p. 227-234.
73. Pareek, V., et al., *Synthesis and applications of noble metal nanoparticles: a review*. Advanced Science, Engineering and Medicine, 2017. **9**(7): p. 527-544.
74. Xu, C., et al., *Mechanochemical synthesis of advanced nanomaterials for catalytic applications*. Chemical Communications, 2015. **51**(31): p. 6698-6713.
75. Zhong, W., et al., *Preparation and magnetic properties of barium hexaferrite nanoparticles produced by the citrate process*. Journal of the American Ceramic Society, 1997. **80**(12): p. 3258-3262.



76. Rosarin, F.S. and S. Mirunalini, *Nobel metallic nanoparticles with novel biomedical properties*. J Bioanal Biomed, 2011. **3**(4): p. 085-091.
77. Song, K.C., et al., *Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method*. Korean Journal of Chemical Engineering, 2009. **26**(1): p. 153-155.
78. Turkevich, J., P.C. Stevenson, and J. Hillier, *A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold*. Discussions of the Faraday Society, 1951. **11**: p. 55-75.
79. Frens, G., *Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions*. Nature physical science, 1973. **241**(105): p. 20-22.
80. Liu, N., et al., *Tartrate as a substitute of citrate to prepare gold colloids from chloroauric acid*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2017. **535**: p. 251-256.
81. Iqbal, M., et al., *Preparation of gold nanoparticles and determination of their particles size via different methods*. Materials Research Bulletin, 2016. **79**: p. 97-104.
82. Abdullah, A., et al., *Facile room temperature synthesis of multifunctional CTAB coated gold nanoparticles*. Chemical Physics, 2018. **510**: p. 30-36.
83. Lea, M.C., ART. L.--*On Allotropic Forms of Silver*. American Journal of Science (1880-1910), 1889. **37**(222): p. 476.
84. Frens, G. and J.T.G. Overbeek, *Carey Lea's colloidal silver*. Kolloid-Zeitschrift und Zeitschrift für Polymere, 1969. **233**(1-2): p. 922-929.
85. Gakiya-Teruya, M., L. Palomino-Marcelo, and J.C.F. Rodriguez-Reyes, *Synthesis of highly concentrated suspensions of silver nanoparticles by two versions of the chemical reduction method*. Methods and protocols, 2019. **2**(1): p. 3.
86. Sun, Y. and Y. Xia, *Shape-controlled synthesis of gold and silver nanoparticles*. science, 2002. **298**(5601): p. 2176-2179.
87. Fievet, F., et al., *Homogeneous and heterogeneous nucleations in the polyol process for the preparation of micron and submicron size metal particles*. Solid State Ionics, 1989. **32**: p. 198-205.
88. Patel, K., et al., *Role of stabilizing agents in the formation of stable silver nanoparticles in aqueous solution: Characterization and stability study*. Journal of Dispersion Science and Technology, 2017. **38**(5): p. 626-631.



89. Mirkin, C.A., *et al.*, *A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials*. Nature, 1996. **382**(6592): p. 607-609.
90. Crespo-Biel, O., *et al.*, *Noncovalent nanoarchitectures on surfaces: from 2D to 3D nanostructures*. Journal of materials chemistry, 2006. **16**(41): p. 3997-4021.
91. Zhou, H., L. Zheng, and H. Jia, *Facile control of the self-assembly of gold nanoparticles by changing the capping agent structures*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2014. **450**: p. 9-14.
92. Lee, M.-J., *et al.*, *Green synthesis of high-purity mesoporous gold sponges using self-assembly of gold nanoparticles induced by thiolated poly (ethylene glycol)*. Langmuir, 2016. **32**(23): p. 5937-5945.
93. Zhao, S., *et al.*, *Synthesis and layer-by-layer self-assembly of silver nanoparticles capped by mercaptosulfonic acid*. Materials Letters, 2006. **60**(9-10): p. 1215-1218.
94. Wagner, P. and R. Strey, *Measurements of homogeneous nucleation rates for n-nonane vapor using a two-piston expansion chamber*. The Journal of chemical physics, 1984. **80**(10): p. 5266-5275.
95. Dobretsov, V.Y. and V. Vaks, *The microscopical theory of homogeneous nucleation in alloys: I. General relations*. Journal of Physics: Condensed Matter, 1998. **10**(10): p. 2261.
96. Katz, J.L. and M.D. Donohue, *A kinetic approach to homogeneous nucleation theory*. Advances in Chemical Physics, 1979. **40**: p. 137-155.
97. Anwar, J. and D. Zahn, *Uncovering molecular processes in crystal nucleation and growth by using molecular simulation*. Angewandte Chemie International Edition, 2011. **50**(9): p. 1996-2013.
98. Volmer, M. and A. Weber, *Keimbildung in übersättigten Gebilden*. Zeitschrift für physikalische Chemie, 1926. **119**(1): p. 277-301.
99. Becker, R. and W. Döring, *Kinetische behandlung der keimbildung in übersättigten dämpfen*. Annalen der Physik, 1935. **416**(8): p. 719-752.
100. Frenkel, J., *A general theory of heterophase fluctuations and pretransition phenomena*. The Journal of Chemical Physics, 1939. **7**(7): p. 538-547.
101. LaMer, V.K. and R.H. Dinegar, *Theory, production and mechanism of formation of monodispersed hydrosols*. Journal of the American Chemical Society, 1950. **72**(11): p. 4847-4854.



102. Arshadi, S., J. Moghaddam, and M. Eskandarian, *LaMer diagram approach to study the nucleation and growth of Cu<sub>2</sub>O nanoparticles using supersaturation theory*. Korean Journal of Chemical Engineering, 2014. **31**(11): p. 2020-2026.
103. Goesmann, H. and C. Feldmann, *Nanoparticulate functional materials*. Angewandte Chemie International Edition, 2010. **49**(8): p. 1362-1395.
104. Ostwald, W., *Studien über die Bildung und Umwandlung fester Körper*. Zeitschrift für physikalische Chemie, 1897. **22**(1): p. 289-330.
105. Cardew, P. and R. Davey. *Kinetic factors in the appearance and transformation of metastable phases*. in *Symposium on the Tailoring of Crystal Growth*". Institution of Chemical Engineers, London. 1982.
106. Ostwald, W., *Lehrbuch der allgemeinen Chemie*, vol. 2. Part, 1896. **1**: p. 1079.
107. Wang, Y.-J., et al., *Carbon-supported Pt-based alloy electrocatalysts for the oxygen reduction reaction in polymer electrolyte membrane fuel cells: particle size, shape, and composition manipulation and their impact to activity*. Chemical reviews, 2015. **115**(9): p. 3433-3467.
108. Luna, C., et al., *Effects of surfactants on the particle morphology and self-organization of Co nanocrystals*. Materials Science and Engineering: C, 2003. **23**(6-8): p. 1129-1132.
109. Puentes, V.F., K.M. Krishnan, and A.P. Alivisatos, *Colloidal nanocrystal shape and size control: the case of cobalt*. Science, 2001. **291**(5511): p. 2115-2117.
110. Vivek, J. and I.J. Burgess, *Quaternary ammonium bromide surfactant adsorption on low-index surfaces of gold. 2. Au (100) and the role of crystallographic-dependent adsorption in the formation of anisotropic nanoparticles*. Langmuir, 2012. **28**(11): p. 5040-5047.
111. Narayanan, K.B. and N. Sakthivel, *Green synthesis of biogenic metal nanoparticles by terrestrial and aquatic phototrophic and heterotrophic eukaryotes and biocompatible agents*. Advances in colloid and interface science, 2011. **169**(2): p. 59-79.
112. Anastas, P. and J. Warner, *Oxford University Press, Oxford, 1998 160 pp. ISBN 0-19-850234-6 Price£ 45*. Green Chemistry, 1999: p. G21.
113. Saif, S., A. Tahir, and Y. Chen, *Green synthesis of iron nanoparticles and their environmental applications and implications*. Nanomaterials, 2016. **6**(11): p. 209.
114. Ajitha, B., Y.A.K. Reddy, and P.S. Reddy, *Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Lantana camara leaf extract*. Materials science and engineering: C, 2015. **49**: p. 373-381.



115. Klaus, T., *et al.*, *Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1999. **96**(24): p. 13611-13614.
116. Kannan, R., W. Stirk, and J. Van Staden, *Synthesis of silver nanoparticles using the seaweed Codium capitatum PC Silva (Chlorophyceae)*. South African Journal of Botany, 2013. **86**: p. 1-4.
117. Rauwel, P., *et al.*, *A review on the green synthesis of silver nanoparticles and their morphologies studied via TEM*. Advances in Materials Science and Engineering, 2015. **2015**.
118. Singaravelu, G., *et al.*, *A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, Sargassum wightii Greville*. Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 2007. **57**(1): p. 97-101.
119. Balaji, D., *et al.*, *Extracellular biosynthesis of functionalized silver nanoparticles by strains of Cladosporium cladosporioides fungus*. Colloids and surfaces B: biointerfaces, 2009. **68**(1): p. 88-92.
120. Castro-Longoria, E., A.R. Vilchis-Nestor, and M. Avalos-Borja, *Biosynthesis of silver, gold and bimetallic nanoparticles using the filamentous fungus Neurospora crassa*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2011. **83**(1): p. 42-48.
121. Azmath, P., *et al.*, *Mycosynthesis of silver nanoparticles bearing antibacterial activity*. Saudi Pharmaceutical Journal, 2016. **24**(2): p. 140-146.
122. Mukherjee, P., *et al.*, *Bioreduction of AuCl<sub>4</sub><sup>-</sup> ions by the fungus, Verticillium sp. and surface trapping of the gold nanoparticles formed*. Angewandte Chemie International Edition, 2001. **40**(19): p. 3585-3588.
123. Kulkarni, N. and U. Muddapur, *Biosynthesis of metal nanoparticles: a review*. Journal of Nanotechnology, 2014. **2014**.
124. Mariselvam, R., *et al.*, *Green synthesis of silver nanoparticles from the extract of the inflorescence of Cocos nucifera (Family: Arecaceae) for enhanced antibacterial activity*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2014. **129**: p. 537-541.
125. Shankar, S.S., *et al.*, *Bioreduction of chloroaurate ions by geranium leaves and its endophytic fungus yields gold nanoparticles of different shapes*. Journal of Materials Chemistry, 2003. **13**(7): p. 1822-1826.
126. Njoki, P.N., *et al.*, *Size correlation of optical and spectroscopic properties for gold nanoparticles*. The Journal of Physical Chemistry C, 2007. **111**(40): p. 14664-14669.



127. Klekotko, M., J. Olesiak-Banska, and K. Matczyszyn, *Photothermal stability of biologically and chemically synthesized gold nanoprisms*. Journal of Nanoparticle Research, 2017. **19**(10): p. 327.
128. Papavassiliou, G.C., *Optical properties of small inorganic and organic metal particles*. Progress in Solid State Chemistry, 1979. **12**(3-4): p. 185-271.
129. Lim, I.-I.S. and C.-J. Zhong, *Molecularly-mediated assembly of gold nanoparticles*. Gold Bulletin, 2007. **40**(1): p. 59-66.
130. Muniyappan, N. and N. Nagarajan, *Green synthesis of gold nanoparticles using Curcuma pseudomontana essential oil, its biological activity and cytotoxicity against human ductal breast carcinoma cells T47D*. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2014. **2**(4): p. 2037-2044.
131. Philip, D., *Rapid green synthesis of spherical gold nanoparticles using Mangifera indica leaf*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2010. **77**(4): p. 807-810.
132. Muthuvel, A., et al., *Biosynthesis of gold nanoparticles using Solanum nigrum leaf extract and screening their free radical scavenging and antibacterial properties*. Biomedicine & Preventive Nutrition, 2014. **4**(2): p. 325-332.
133. Guo, M., et al., *Controllable biosynthesis of gold nanoparticles from a Eucommia ulmoides bark aqueous extract*. Spectrochimica acta part A: molecular and biomolecular spectroscopy, 2015. **142**: p. 73-79.
134. Basavegowda, N., A. Idhayadhulla, and Y.R. Lee, *Phyto-synthesis of gold nanoparticles using fruit extract of Hovenia dulcis and their biological activities*. Industrial Crops and Products, 2014. **52**: p. 745-751.
135. Karthik, R., et al., *Green synthesized gold nanoparticles decorated graphene oxide for sensitive determination of chloramphenicol in milk, powdered milk, honey and eye drops*. Journal of colloid and interface science, 2016. **475**: p. 46-56.
136. Jayaseelan, C., et al., *Green synthesis of gold nanoparticles using seed aqueous extract of Abelmoschus esculentus and its antifungal activity*. Industrial Crops and Products, 2013. **45**: p. 423-429.
137. Shankar, S., et al., *Synthesis, characterization, in vitro biocompatibility, and antimicrobial activity of gold, silver and gold silver alloy nanoparticles prepared from Lansium domesticum fruit peel extract*. Materials Letters, 2014. **137**: p. 75-78.
138. Franco-Romano, M., et al., *Sonosynthesis of gold nanoparticles from a geranium leaf extract*. Ultrasonics sonochemistry, 2014. **21**(4): p. 1570-1577.



139. Islam, N.U., *et al.*, *Pistacia integerrima* gall extract mediated green synthesis of gold nanoparticles and their biological activities. *Arabian Journal of Chemistry*, 2019. **12**(8): p. 2310-2319.
140. Krishnaswamy, K., H. Vali, and V. Orsat, *Value-adding to grape waste: Green synthesis of gold nanoparticles*. *Journal of Food Engineering*, 2014. **142**: p. 210-220.
141. Joseph, S. and B. Mathew, *Microwave assisted facile green synthesis of silver and gold nanocatalysts using the leaf extract of Aerva lanata*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2015. **136**: p. 1371-1379.
142. Kumar, P.V., S.M.J. Kala, and K. Prakash, *Green synthesis of gold nanoparticles using Croton Caudatus Geisel leaf extract and their biological studies*. *Materials Letters*, 2019. **236**: p. 19-22.
143. Suman, T., *et al.*, *The Green synthesis of gold nanoparticles using an aqueous root extract of Morinda citrifolia L.* *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2014. **118**: p. 11-16.
144. Smitha, S., D. Philip, and K. Gopchandran, *Green synthesis of gold nanoparticles using Cinnamomum zeylanicum leaf broth*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2009. **74**(3): p. 735-739.
145. Gopinath, K., *et al.*, *Green synthesis of gold nanoparticles from leaf extract of Terminalia arjuna, for the enhanced mitotic cell division and pollen germination activity*. *Industrial crops and products*, 2013. **50**: p. 737-742.
146. Zayed, M.F. and W.H. Eisa, *Phoenix dactylifera L. leaf extract phytosynthesized gold nanoparticles; controlled synthesis and catalytic activity*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2014. **121**: p. 238-244.
147. Philip, D. and C. Unni, *Extracellular biosynthesis of gold and silver nanoparticles using Krishna tulsi (Ocimum sanctum) leaf*. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 2011. **43**(7): p. 1318-1322.
148. Philip, D., *et al.*, *Murraya koenigii leaf-assisted rapid green synthesis of silver and gold nanoparticles*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2011. **78**(2): p. 899-904.
149. Philip, D., *Green synthesis of gold and silver nanoparticles using Hibiscus rosa sinensis*. *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, 2010. **42**(5): p. 1417-1424.
150. Gardea-Torresdey, J.L., *et al.*, *Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles*. *Langmuir*, 2003. **19**(4): p. 1357-1361.



151. Milczarek, G., T. Rebis, and J. Fabianska, *One-step synthesis of lignosulfonate-stabilized silver nanoparticles*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2013. **105**: p. 335-341.
152. Dacosta Fernandes, B.t., *et al.*, *Electron–Phonon Scattering in 2D Silver Nanotriangles*. The Journal of Physical Chemistry C, 2013. **117**(42): p. 22041-22045.
153. Paramelle, D., *et al.*, *A rapid method to estimate the concentration of citrate capped silver nanoparticles from UV-visible light spectra*. Analyst, 2014. **139**(19): p. 4855-4861.
154. Kravets, V., *et al.*, *Imaging of biological cells using luminescent silver nanoparticles*. Nanoscale research letters, 2016. **11**(1): p. 1-9.
155. Xie, Y., *et al.*, *Plasmon-assisted site-selective growth of Ag nanotriangles and Ag-Cu 2 O hybrids*. Scientific reports, 2017. **7**: p. 44806.
156. Ahmad, N., *et al.*, *Rapid synthesis of silver nanoparticles using dried medicinal plant of basil*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010. **81**(1): p. 81-86.
157. Banala, R.R., V.B. Nagati, and P.R. Karnati, *Green synthesis and characterization of Carica papaya leaf extract coated silver nanoparticles through X-ray diffraction, electron microscopy and evaluation of bactericidal properties*. Saudi journal of biological sciences, 2015. **22**(5): p. 637-644.
158. Jeeva, K., *et al.*, *Caesalpinia coriaria leaf extracts mediated biosynthesis of metallic silver nanoparticles and their antibacterial activity against clinically isolated pathogens*. Industrial Crops and Products, 2014. **52**: p. 714-720.
159. Bindhu, M. and M. Umadevi, *Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver nanoparticles*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015. **135**: p. 373-378.
160. Kumar, P.V., *et al.*, *Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Boerhaavia diffusa plant extract and their anti bacterial activity*. Industrial Crops and Products, 2014. **52**: p. 562-566.
161. Jagtap, U.B. and V.A. Bapat, *Green synthesis of silver nanoparticles using Artocarpus heterophyllus Lam. seed extract and its antibacterial activity*. Industrial crops and products, 2013. **46**: p. 132-137.
162. Fatimah, I., *Green synthesis of silver nanoparticles using extract of Parkia speciosa Hassk pods assisted by microwave irradiation*. Journal of advanced research, 2016. **7**(6): p. 961-969.



163. Ibrahim, H.M., *Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms*. Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 2015. **8**(3): p. 265-275.
164. Ramesh, P., T. Kokila, and D. Geetha, *Plant mediated green synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using Emblica officinalis fruit extract*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015. **142**: p. 339-343.
165. Emeka, E.E., et al., *Evaluation of antibacterial activities of silver nanoparticles green-synthesized using pineapple leaf (Ananas comosus)*. Micron, 2014. **57**: p. 1-5.
166. Rao, Y.S., et al., *Green synthesis and spectral characterization of silver nanoparticles from Lakshmi tulasi (Ocimum sanctum) leaf extract*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2013. **103**: p. 156-159.
167. Ghaffari-Moghaddam, M. and R. Hadi-Dabanlou, *Plant mediated green synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using Crataegus douglasii fruit extract*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2014. **20**(2): p. 739-744.
168. Vivek, R., et al., *Green biosynthesis of silver nanoparticles from Annona squamosa leaf extract and its in vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells*. Process Biochemistry, 2012. **47**(12): p. 2405-2410.
169. Pourmortazavi, S.M., et al., *Procedure optimization for green synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of Eucalyptus oleosa*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015. **136**: p. 1249-1254.
170. Sathiya, C. and S. Akilandeswari, *Fabrication and characterization of silver nanoparticles using Delonix elata leaf broth*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2014. **128**: p. 337-341.
171. Nazeruddin, G., et al., *Coriandrum sativum seed extract assisted in situ green synthesis of silver nanoparticle and its anti-microbial activity*. Industrial Crops and Products, 2014. **60**: p. 212-216.
172. Kotakadi, V.S., et al., *Simple and rapid biosynthesis of stable silver nanoparticles using dried leaves of Catharanthus roseus. Linn. G. Donn and its anti microbial activity*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2013. **105**: p. 194-198.
173. Vijayakumar, M., et al., *Biosynthesis, characterisation and anti-bacterial effect of plant-mediated silver nanoparticles using Artemisia nilagirica*. Industrial Crops and Products, 2013. **41**: p. 235-240.
174. Prathna, T., et al., *Biomimetic synthesis of nanoparticles: science, technology & applicability*, in *Biomimetics learning from nature*. 2010, Intechopen.



175. Panigrahi, S., *et al.*, *General method of synthesis for metal nanoparticles*. Journal of Nanoparticle Research, 2004. **6**(4): p. 411-414.
176. Tan, Y.N., J.Y. Lee, and D.I. Wang, *Uncovering the design rules for peptide synthesis of metal nanoparticles*. Journal of the American Chemical Society, 2010. **132**(16): p. 5677-5686.
177. Mude, N., *et al.*, *Synthesis of silver nanoparticles using callus extract of Carica papaya—a first report*. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 2009. **18**(1): p. 83-86.
178. Singh, A.K., *et al.*, *Biosynthesis of gold and silver nanoparticles by natural precursor clove and their functionalization with amine group*. Journal of Nanoparticle Research, 2010. **12**(5): p. 1667-1675.
179. Liu, S., *Where does the electron go? The nature of ortho/para and meta group directing in electrophilic aromatic substitution*. The Journal of chemical physics, 2014. **141**(19): p. 194109.
180. Castillo-López, D. and U. Pal, *Green synthesis of Au nanoparticles using potato extract: stability and growth mechanism*. Journal of nanoparticle research, 2014. **16**(8): p. 2571.
181. Benet, W.E., *et al.*, *The mechanism of the reaction of the Tollens reagent*. Journal of Chemical Research, 2011. **35**(12): p. 675-677.
182. Liu, J., *et al.*, *Facile “green” synthesis, characterization, and catalytic function of  $\beta$ -D-glucose-stabilized Au nanocrystals*. Chemistry—A European Journal, 2006. **12**(8): p. 2131-2138.
183. Raliya, R. and P. Biswas, *Environmentally benign bio-inspired synthesis of Au nanoparticles, their self-assembly and agglomeration*. RSC Advances, 2015. **5**(52): p. 42081-42087.
184. Korbekandi, H., *et al.*, *Green biosynthesis of silver nanoparticles using Quercus brantii (oak) leaves hydroalcoholic extract*. Pharmaceutical biology, 2015. **53**(6): p. 807-812.
185. Zamora-Mendoza, M., J.L. López-Miranda, and G. Rosas, *A green approach for self-assembly of Ag-Au nanoparticles into 3-D arrays*. Materials Letters, 2017. **186**: p. 311-313.
186. Upadhyay, A.P., *et al.*, *Self-Directed Assembly of Nanoparticles*. Adv. Theranostic Mater, 2015: p. 297-343.
187. Ghaedi, M., *et al.*, *Comparison of silver and palladium nanoparticles loaded on activated carbon for efficient removal of methylene blue: kinetic and isotherm study of removal process*. Powder Technology, 2012. **228**: p. 18-25.



188. Jiang, Z.-J., C.-Y. Liu, and L.-W. Sun, *Catalytic properties of silver nanoparticles supported on silica spheres*. The Journal of Physical Chemistry B, 2005. **109**(5): p. 1730-1735.
189. Singh, J. and A. Dhaliwal, *Plasmon-induced photocatalytic degradation of methylene blue dye using biosynthesized silver nanoparticles as photocatalyst*. Environmental technology, 2018: p. 1-15.
190. Flores, N.M., et al., *Effects of morphology, surface area, and defect content on the photocatalytic dye degradation performance of ZnO nanostructures*. RSC advances, 2014. **4**(77): p. 41099-41110.
191. Umamaheswari, C., A. Lakshmanan, and N. Nagarajan, *Green synthesis, characterization and catalytic degradation studies of gold nanoparticles against congo red and methyl orange*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2018. **178**: p. 33-39.
192. Paul, B., et al., *Green synthesis of gold nanoparticles using Pogestemon benghalensis (B) O. Ktz. leaf extract and studies of their photocatalytic activity in degradation of methylene blue*. Materials Letters, 2015. **148**: p. 37-40.
193. Francis, S., et al., *Green synthesis and characterization of gold and silver nanoparticles using Mussaenda glabrata leaf extract and their environmental applications to dye degradation*. Environmental Science and Pollution Research, 2017. **24**(21): p. 17347-17357.
194. Baruah, D., et al., *Biogenic synthesis of gold nanoparticles and their application in photocatalytic degradation of toxic dyes*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2018. **186**: p. 51-58.
195. Ganapuram, B.R., et al., *Catalytic reduction of methylene blue and Congo red dyes using green synthesized gold nanoparticles capped by salmalia malabarica gum*. International Nano Letters, 2015. **5**(4): p. 215-222.
196. Bogireddy, N.K.R., K.K.H. Anand, and B.K. Mandal, *Gold nanoparticles—synthesis by Sterculia acuminata extract and its catalytic efficiency in alleviating different organic dyes*. Journal of Molecular Liquids, 2015. **211**: p. 868-875.
197. Nakkala, J.R., R. Mata, and S.R. Sadras, *The antioxidant and catalytic activities of green synthesized gold nanoparticles from Piper longum fruit extract*. Process Safety and Environmental Protection, 2016. **100**: p. 288-294.
198. Narayanan, K.B. and H.H. Park, *Homogeneous catalytic activity of gold nanoparticles synthesized using turnip (Brassica rapa L.) leaf extract in the reductive degradation of cationic azo dye*. Korean Journal of Chemical Engineering, 2015. **32**(7): p. 1273-1277.



199. Sharma, B. and R. Deswal, *Single pot synthesized gold nanoparticles using Hippophae rhamnoides leaf and berry extract showed shape-dependent differential nanobiotechnological applications*. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 2018. **46**(sup2): p. 408-418.
200. Edison, T.J.I. and M. Sethuraman, *Instant green synthesis of silver nanoparticles using Terminalia chebula fruit extract and evaluation of their catalytic activity on reduction of methylene blue*. Process Biochemistry, 2012. **47**(9): p. 1351-1357.
201. Satapathy, M.K., P. Banerjee, and P. Das, *Plant-mediated synthesis of silver-nanocomposite as novel effective azo dye adsorbent*. Applied Nanoscience, 2015. **5**(1): p. 1-9.
202. Tahir, K., et al., *An efficient photo catalytic activity of green synthesized silver nanoparticles using Salvadora persica stem extract*. Separation and Purification Technology, 2015. **150**: p. 316-324.
203. Edison, T.N.J.I., et al., *Reductive-degradation of carcinogenic azo dyes using Anacardium occidentale testa derived silver nanoparticles*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2016. **162**: p. 604-610.
204. Veisi, H., S. Azizi, and P. Mohammadi, *Green synthesis of the silver nanoparticles mediated by Thymbra spicata extract and its application as a heterogeneous and recyclable nanocatalyst for catalytic reduction of a variety of dyes in water*. Journal of cleaner production, 2018. **170**: p. 1536-1543.
205. Anupama, N. and G. Madhumitha, *Green synthesis and catalytic application of silver nanoparticles using Carissa carandas fruits*. Inorganic and Nano-Metal Chemistry, 2017. **47**(1): p. 116-120.
206. Maryami, M., et al., *Preparation of the Ag/RGO nanocomposite by use of Abutilon hirtum leaf extract: a recoverable catalyst for the reduction of organic dyes in aqueous medium at room temperature*. International Journal of Hydrogen Energy, 2016. **41**(46): p. 21236-21245.
207. Kumar, P., et al., *Photocatalytic degradation of methyl orange dye using silver (Ag) nanoparticles synthesized from Ulva lactuca*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2013. **103**: p. 658-661.
208. Saha, J., et al., *A novel green synthesis of silver nanoparticles and their catalytic action in reduction of Methylene Blue dye*. Sustainable Environment Research, 2017. **27**(5): p. 245-250.



209. Sengan, M., D. Veeramuthu, and A. Veerappan, *Photosynthesis of silver nanoparticles using Durio zibethinus aqueous extract and its application in catalytic reduction of nitroaromatics, degradation of hazardous dyes and selective colorimetric sensing of mercury ions*. Materials Research Bulletin, 2018. **100**: p. 386-393.
210. Krishnan, R. and R. Shankar, *Raman effect: History of the discovery*. Journal of Raman Spectroscopy, 1981. **10**(1): p. 1-8.
211. Parab, N. and V. Tomar, *Raman spectroscopy of algae: a review*. J. Nanomed. Nanotechnol, 2012. **3**(131137): p. 24.
212. Perelman, L.T., et al., *Light scattering spectroscopy: from elastic to inelastic*. hcdo, 2013: p. 437.
213. Banwell, C.N., *Fundamentals of molecular spectroscopy*. 1972.
214. Long, D., *Introductory raman spectroscopy*. john r. ferraro, kazuo nakamoto and chris w. brown. academic press, amsterdam, 2003. xiii+ 434. JRS<sub>p</sub>, 2005. **36**(10): p. 1012-1012.
215. Lupoi, J.S., E. Gjersing, and M.F. Davis, *Evaluating lignocellulosic biomass, its derivatives, and downstream products with Raman spectroscopy*. Frontiers in bioengineering and biotechnology, 2015. **3**: p. 50.
216. Pînzaru, S.C., et al., *Double amino functionalized Ag nanoparticles as SERS tags in Raman diagnostic*. Croatica Chemica Acta, 2013. **86**(3): p. 233-244.
217. Laor, U. and G.C. Schatz, *The role of surface roughness in surface enhanced raman spectroscopy (SERS): the importance of multiple plasmon resonances*. Chemical Physics Letters, 1981. **82**(3): p. 566-570.
218. Pérez, A., et al., *Diagnosis of chagas disease from human blood serum using surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectroscopy and chemometric methods*. Sensing and bio-sensing research, 2018. **21**: p. 40-45.
219. Grand, J., et al., *Optimization of SERS-active substrates for near-field Raman spectroscopy*. Synthetic metals, 2003. **139**(3): p. 621-624.
220. Etchegoin, P.G. and E.C. Le Ru, *Basic electromagnetic theory of SERS*. Surface Enhanced Raman Spectroscopy, 2011: p. 1-37.
221. Le Ru, E., et al., *Surface enhanced Raman scattering enhancement factors: a comprehensive study*. The Journal of Physical Chemistry C, 2007. **111**(37): p. 13794-13803.



222. Stoerzinger, K.A., J.Y. Lin, and T.W. Odom, *Nanoparticle SERS substrates with 3D Raman-active volumes*. Chemical science, 2011. **2**(8): p. 1435-1439.
223. Huang, J.-A., et al., *SERS discrimination of single DNA bases in single oligonucleotides by electro-plasmonic trapping*. Nature communications, 2019. **10**.
224. Rickard, J.J., et al., *Rapid optofluidic detection of biomarkers for traumatic brain injury via surface-enhanced Raman spectroscopy*. Nature biomedical engineering, 2020: p. 1-14.
225. Lee, C., et al., *Thickness of a metallic film, in addition to its roughness, plays a significant role in SERS activity*. Scientific reports, 2015. **5**: p. 11644.
226. Suzuki, S. and M. Yoshimura, *Chemical stability of graphene coated silver substrates for surface-enhanced Raman scattering*. Scientific reports, 2017. **7**(1): p. 1-7.
227. Paz, J.E.W., et al., *Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from native plants in the Mexican desert*. Ultrasonics sonochemistry, 2015. **22**: p. 474-481.
228. Arizaga, S., et al., *Monografía de las plantas medicinales de Michoacán*. 2018, Universidad Nacional Autónoma de México.
229. Rzedowski Rotter, J. and G. Calderón de Rzedowski, *Familia Polemoniaceae*. 1995.
230. Encino-Ruiz, L., et al., *Desempeño de tres especies arbóreas del bosque tropical caducifolio en un ensayo de restauración ecológica*. Botanical Sciences, 2013. **91**(1): p. 107-114.
231. Herrera-Ruiz, M., et al., *The standardized extract of Loeselia mexicana possesses anxiolytic activity through the  $\gamma$ -amino butyric acid mechanism*. Journal of ethnopharmacology, 2011. **138**(2): p. 261-267.
232. Meléndez-Camargo, M.E., S.S. Pablo-Pérez, and M.M. Estévez-Carmona, *Diuretic activity of the bark of Eysenhardtia polystachya*. Bangladesh Journal of Pharmacology, 2016. **11**(1): p. 212-217.
233. Wan, C., et al., *Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of Gynura divaricata leaf extracts at different temperatures*. Pharmacognosy magazine, 2011. **7**(25): p. 40.
234. Pérez-Juste, J., et al., *Gold nanorods: synthesis, characterization and applications*. Coordination Chemistry Reviews, 2005. **249**(17-18): p. 1870-1901.
235. Rayalu, S.S., et al., *Photocatalytic water splitting on Au/TiO<sub>2</sub> nanocomposites synthesized through various routes: enhancement in photocatalytic activity due to SPR effect*. Applied Catalysis B: Environmental, 2013. **142**: p. 684-693.



- 
236. Gonzalo, J., *et al.*, *Morphological and interaction effects on the surface plasmon resonance of metal nanoparticles*. Journal of Physics: Condensed Matter, 2003. **15**(42): p. S3001.
237. Shankar, S.S., S. Bhargava, and M. Sastry, *Synthesis of gold nanospheres and nanotriangles by the Turkevich approach*. Journal of nanoscience and nanotechnology, 2005. **5**(10): p. 1721-1727.
238. Burrows, N.D., *et al.*, *Anisotropic nanoparticles and anisotropic surface chemistry*. The journal of physical chemistry letters, 2016. **7**(4): p. 632-641.
239. Rodriguez, P., J.M. Feliu, and M.T. Koper, *Unusual adsorption state of carbon monoxide on single-crystalline gold electrodes in alkaline media*. Electrochemistry communications, 2009. **11**(6): p. 1105-1108.
240. Rodriguez, P., N. Garcia-Araez, and M.T. Koper, *Self-promotion mechanism for CO electrooxidation on gold*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2010. **12**(32): p. 9373-9380.
241. Yi, Y., *et al.*, *Electrochemical corrosion of a glassy carbon electrode*. Catalysis Today, 2017. **295**: p. 32-40.
242. Kirubha, R. and G. Alagumuthu, *INTERNATIONAL JOURNAL OF INSTITUTIONAL PHARMACY AND LIFE SCIENCES*.
243. Sharma, J. and K.P. Vijayamohanan, *Organic dye molecules as reducing agent for the synthesis of electroactive gold nanoplates*. Journal of colloid and interface science, 2006. **298**(2): p. 679-684.
244. Kung, H.H., M. Kung, and C. Costello, *Supported Au catalysts for low temperature CO oxidation*. Journal of catalysis, 2003. **216**(1-2): p. 425-432.
245. Pedersen, M. and A.S. Meyer, *Lignocellulose pretreatment severity-relating pH to biomatrix opening*. New biotechnology, 2010. **27**(6): p. 739-750.
246. Christau, S., *et al.*, *Salt-induced aggregation of negatively charged gold nanoparticles confined in a polymer brush matrix*. Macromolecules, 2017. **50**(18): p. 7333-7343.
247. Annur, S., S.J. Santosa, and N.H. Aprilita, *pH Dependence of Size Control in Gold Nanoparticles Synthesized at Room Temperature*. Oriental Journal of Chemistry, 2018. **34**(5): p. 2305-2312.
248. Hunley, C. and M. Marucho, *Electrical double layer properties of spherical oxide nanoparticles*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2017. **19**(7): p. 5396-5404.
-



249. Rastogi, L. and J. Arunachalam, *Sunlight based irradiation strategy for rapid green synthesis of highly stable silver nanoparticles using aqueous garlic (*Allium sativum*) extract and their antibacterial potential*. Materials Chemistry and Physics, 2011. **129**(1-2): p. 558-563.
250. Sistema Nacional de Información de la Calidad del Aire, S., <https://sinaica.inecc.gob.mx>. (último acceso en agosto de 2020).
251. Mock, J., et al., *Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles*. The Journal of Chemical Physics, 2002. **116**(15): p. 6755-6759.
252. Zhou, Z., et al., *Synthesis and photocatalytic performance of the efficient visible light photocatalyst Ag-AgCl/BiVO<sub>4</sub>*. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 2012. **353**: p. 22-28.
253. Pargar, F., D.A. Koleva, and K. Van Breugel, *Determination of chloride content in cementitious materials: from fundamental aspects to application of Ag/AgCl chloride sensors*. Sensors, 2017. **17**(11): p. 2482.
254. Lou, Z., et al., *One-step synthesis of AgCl concave cubes by preferential overgrowth along < 111 > and < 110 > directions*. Chemical Communications, 2012. **48**(29): p. 3488-3490.
255. Lee, Y. and S.-G. Oh, *Ostwald ripening and control of Ag ion reduction degree by ammonium hydroxide in alcohol reduction process*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2015. **21**: p. 768-771.
256. Yao, X., et al., *Synthesis of cube-like Ag/AgCl plasmonic photocatalyst with enhanced visible light photocatalytic activity*. Catalysis Communications, 2015. **59**: p. 151-155.
257. Bansal, V., et al., *Shape dependent electrocatalytic behaviour of silver nanoparticles*. CrystEngComm, 2010. **12**(12): p. 4280-4286.
258. Giovanni, M. and M. Pumera, *Size dependant electrochemical behavior of silver nanoparticles with sizes of 10, 20, 40, 80 and 107 nm*. Electroanalysis, 2012. **24**(3): p. 615-617.
259. Quan, H., S.-U. Park, and J. Park, *Electrochemical oxidation of glucose on silver nanoparticle-modified composite electrodes*. Electrochimica Acta, 2010. **55**(7): p. 2232-2237.
260. Sivasubramanian, R. and M. Sangaranarayanan, *Detection of lead ions in picomolar concentration range using underpotential deposition on silver nanoparticles-deposited glassy carbon electrodes*. Talanta, 2011. **85**(4): p. 2142-2147.



261. Bartlett, N., *Relativistic effects and the chemistry of gold*. Gold Bulletin, 1998. **31**(1): p. 22-25.
262. Zhu, Y., et al., *Study on the synthesis of Ag/AgCl nanoparticles and their photocatalytic properties*. Materials Research Bulletin, 2012. **47**(11): p. 3452-3458.
263. Lábár, J.L. *ProcessDiffraction: A computer program to process electron diffraction patterns from polycrystalline or amorphous samples*. in Proc. Eurem. 2000.
264. Ting, B.P., et al., *The solid-state Ag/AgCl process as a highly sensitive detection mechanism for an electrochemical immunosensor*. Chemical Communications, 2009(41): p. 6231-6233.
265. Mao, P., et al., *Self-assembled silver nanoparticles: correlation between structural and surface plasmon resonance properties*. Applied Physics A, 2014. **117**(3): p. 1067-1073.
266. Tamayo, J.M. and J.U. Chavarín, *La Técnica de Ruido Electroquímico para el estudio de la Corrosión*. 2002, México: Juan Genescá LLongueras.
267. Kosaka, A., M. Aida, and Y. Katsumoto, *Reconsidering the activation entropy for anomerization of glucose and mannose in water studied by NMR spectroscopy*. Journal of Molecular Structure, 2015. **1093**: p. 195-200.
268. Tan, X., et al., *Carbon nanotube-supported gold nanoparticles as efficient catalysts for selective oxidation of cellobiose into gluconic acid in aqueous medium*. Chemical Communications, 2009(46): p. 7179-7181.
269. Dong, C., X. Zhang, and H. Cai, *Green synthesis of monodisperse silver nanoparticles using hydroxy propyl methyl cellulose*. Journal of alloys and compounds, 2014. **583**: p. 267-271.
270. Rauf, M. and S.S. Ashraf, *Fundamental principles and application of heterogeneous photocatalytic degradation of dyes in solution*. Chemical engineering journal, 2009. **151**(1-3): p. 10-18.
271. Vajnhandl, S. and A.M. Le Marechal, *Ultrasound in textile dyeing and the decolouration/mineralization of textile dyes*. Dyes and Pigments, 2005. **65**(2): p. 89-101.
272. Jack Clifton, I. and J.B. Leikin, *Methylene blue*. American journal of therapeutics, 2003. **10**(4): p. 289-291.
273. Jain, R., et al., *Removal of the hazardous dye rhodamine B through photocatalytic and adsorption treatments*. Journal of Environmental Management, 2007. **85**(4): p. 956-964.



274. Mittal, A., *et al.*, *Adsorption of hazardous dye crystal violet from wastewater by waste materials*. Journal of colloid and interface science, 2010. **343**(2): p. 463-473.
275. Xie, L., *et al.*, *Degradation of disperse blue 2BLN by oleaginous C. sorokiniana XJK*. RSC advances, 2016. **6**(108): p. 106935-106944.
276. Derenne, A., *et al.*, *Infrared spectroscopy of membrane lipids*. Encyclopedia of Biophysics, 2013: p. 1074-1081.
277. Ajmal, A., *et al.*, *Principles and mechanisms of photocatalytic dye degradation on TiO<sub>2</sub> based photocatalysts: a comparative overview*. Rsc Advances, 2014. **4**(70): p. 37003-37026.
278. Yao, Y., Y. Wei, and S. Chen, *Size effect of the surface energy density of nanoparticles*. Surface Science, 2015. **636**: p. 19-24.
279. Holec, D., *et al.*, *Size-dependent surface energies of Au nanoparticles*. arXiv preprint arXiv:1412.7195, 2014.
280. Guillot, N. and M.L. de la Chapelle, *The electromagnetic effect in surface enhanced Raman scattering: Enhancement optimization using precisely controlled nanostructures*. Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer, 2012. **113**(18): p. 2321-2333.
281. Alvarez-Puebla, R.A. and L.M. Liz-Marzan, *Traps and cages for universal SERS detection*. Chemical Society Reviews, 2012. **41**(1): p. 43-51.
282. Houas, A., *et al.*, *Photocatalytic degradation pathway of methylene blue in water*. Applied Catalysis B: Environmental, 2001. **31**(2): p. 145-157.
283. Soltani, T. and M.H. Entezari, *Sono-synthesis of bismuth ferrite nanoparticles with high photocatalytic activity in degradation of Rhodamine B under solar light irradiation*. Chemical Engineering Journal, 2013. **223**: p. 145-154.
284. Liao, Y.-H.B., *et al.*, *Synthesis, photocatalytic activities and degradation mechanism of Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> toward crystal violet dye*. Catalysis today, 2011. **174**(1): p. 148-159.

## Anexo A. Productos de la degradación de colorantes orgánicos

### Anexo A.1. Productos de la degradación de azul de metileno

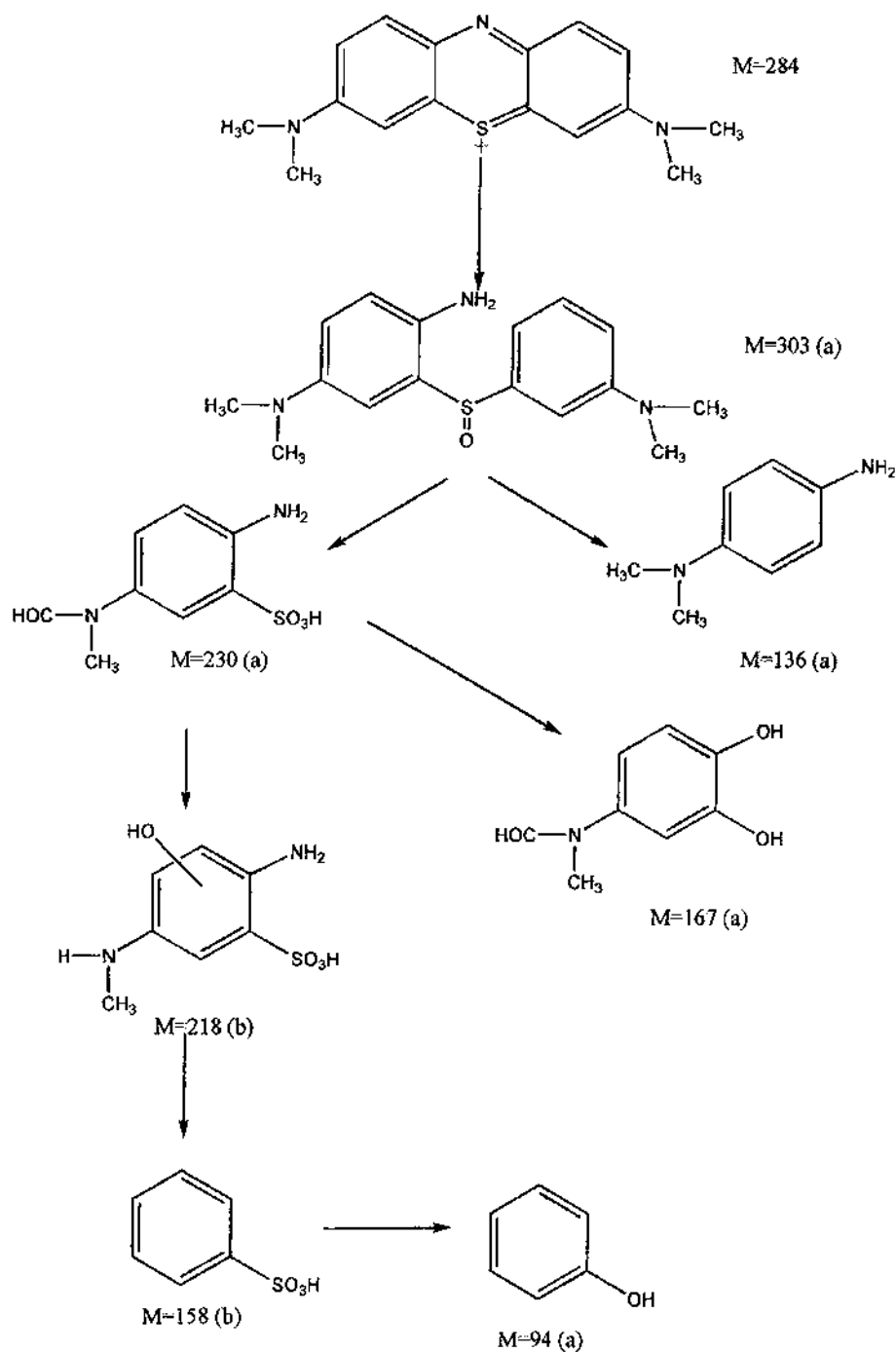


**Figura A.1.** Ruta de degradación fotocatalítica del azul de metileno [282].

## Anexo A.2. Productos de la degradación de rodamina B

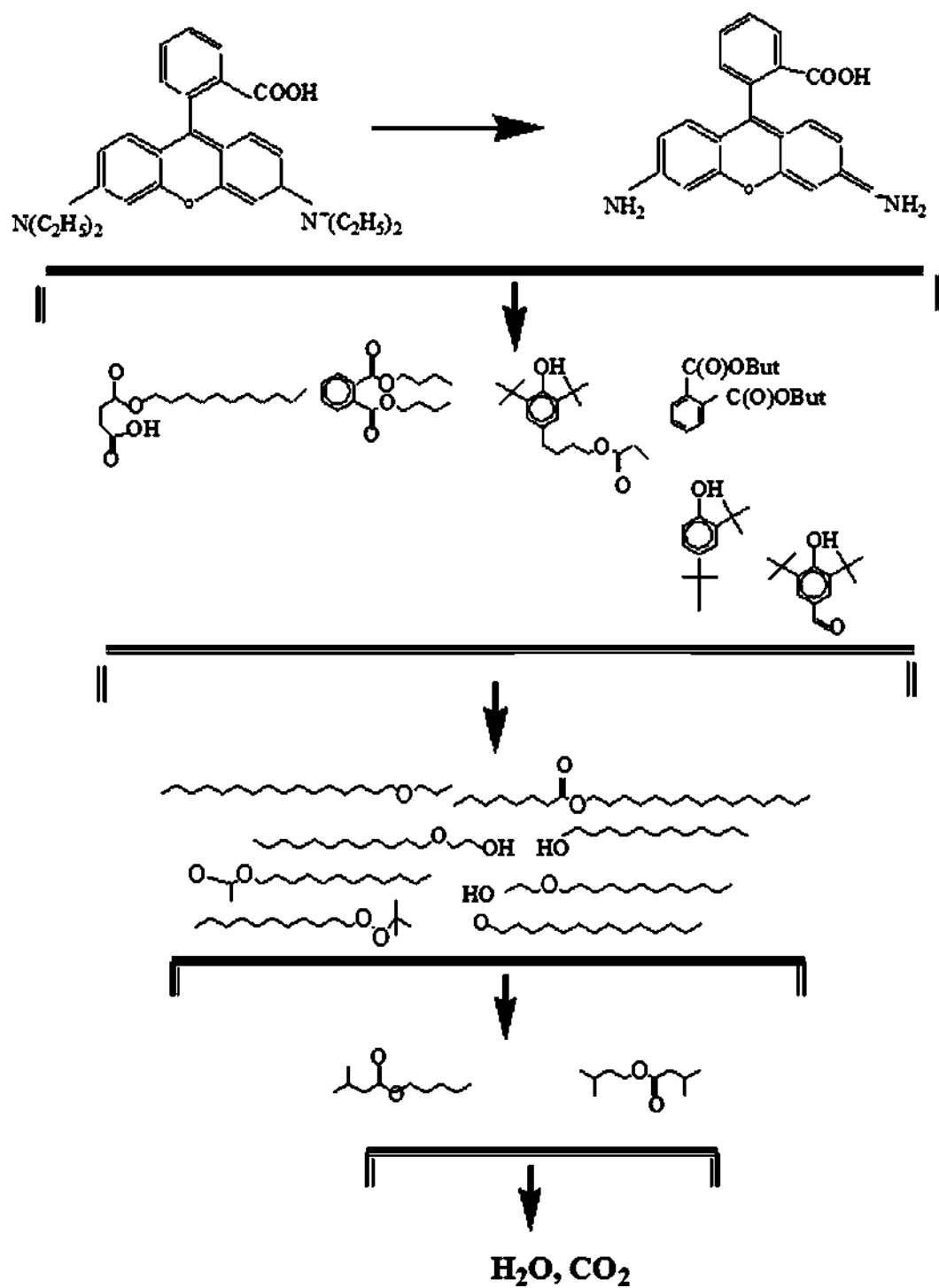


Figura A.2. Ruta de degradación fotocatalítica de la rodamina B [283].

### Anexo A.3. Productos de la degradación de violeta de genciana

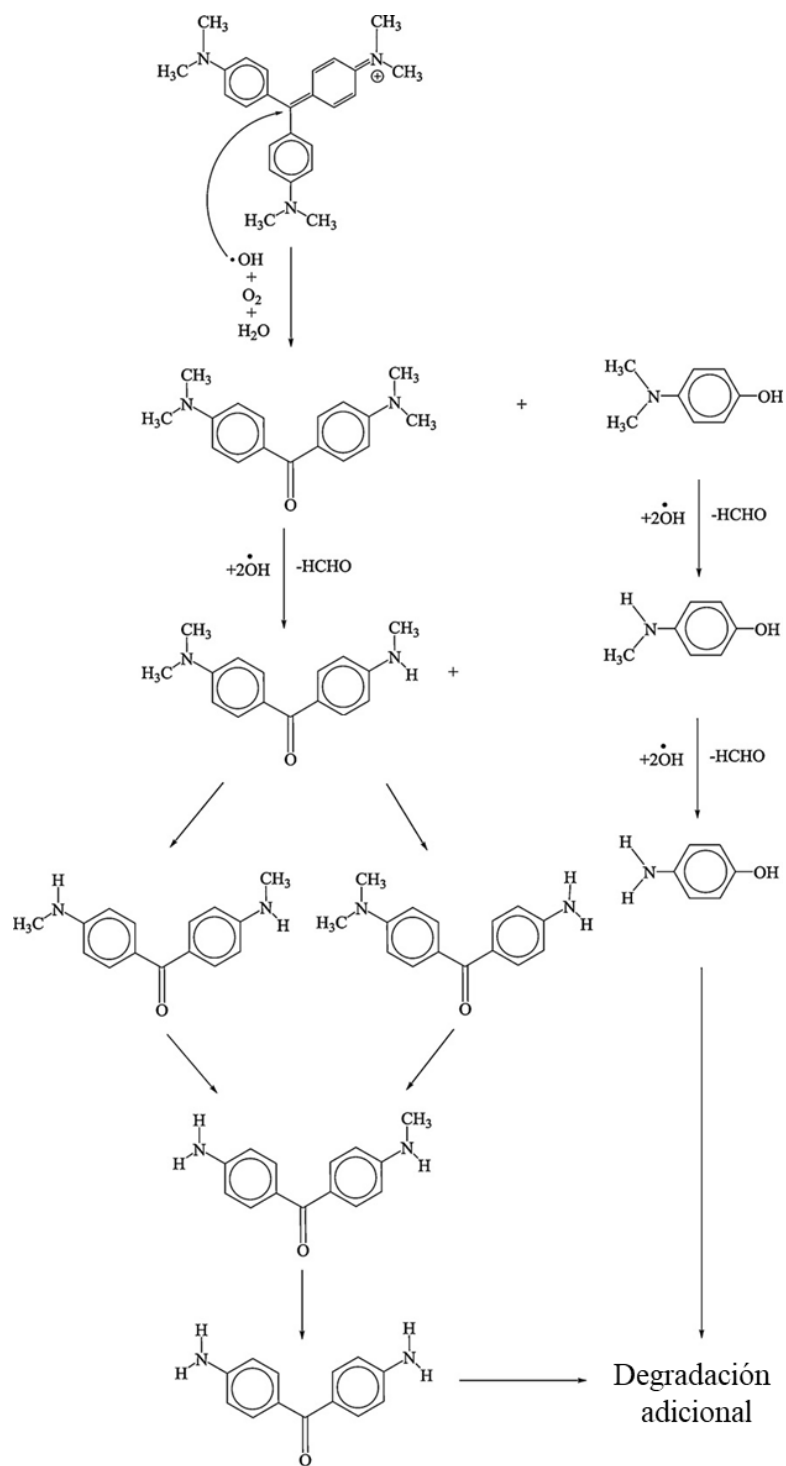


**Figura A.3.** Ruta de degradación fotocatalítica de la violeta de genciana [284].

## Anexo B. Resonancia del plasmón superficial en sustratos SERS

### Anexo B.1. Campos eléctricos confinados en diversas morfologías

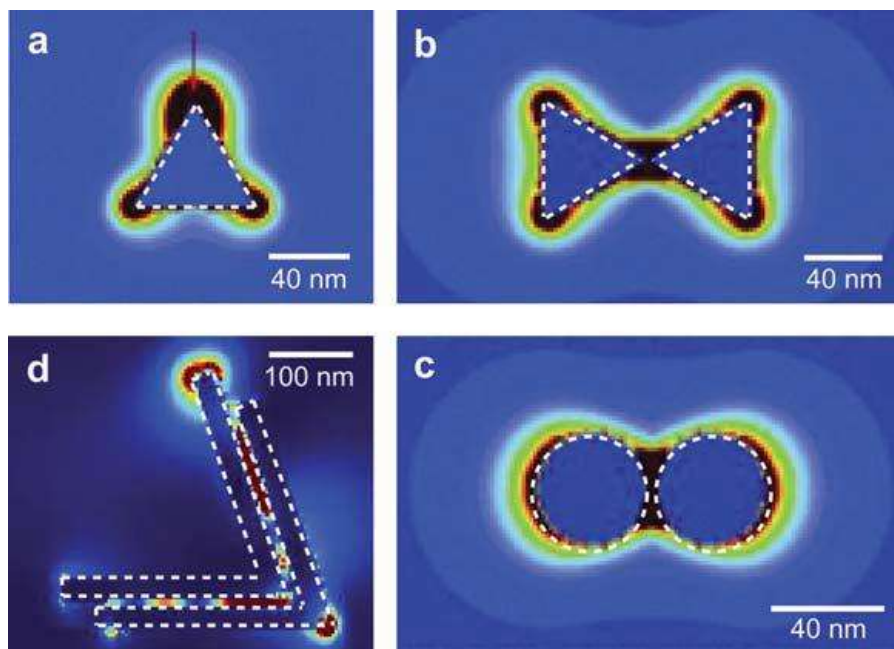


**Figura B.1.** Representación esquemática de las intensidades de los campos eléctricos confinados producidos por la resonancia del plasmón de (a) un nanoprisma, (b) dos nanoprismas en interacción, (c) dos nanoesferas en interacción, y (d) dos nanopirámides apiladas [222].



---

## Anexo C. Trabajos publicados

### Trabajos publicados ordenados por fecha:

- R. Herrero-Calvillo, S. E. Borjas-Garcia, and G. Rosas. "Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using Loeselia Mexicana Extract." *Microscopy and Microanalysis* 24, no. S1 (2018): 1738-1739.  
<https://doi.org/10.1017/S1431927618009170>
- R. Herrero-Calvillo, S. E. Borjas-García, and G. Rosas. "Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Solar Radiation and Loeselia Mexicana Leaf Extract." *Microscopy and Microanalysis* 25, no. S2 (2019): 2376-2377.  
<https://doi.org/10.1017/S1431927619012613>
- R. Herrero-Calvillo, A. Santoveña-Uribe, R. Esparza and G. Rosas. "A photocatalytic and electrochemical study of gold nanoparticles synthesized by a green approach." *Materials Research Express* (2020): 015019.  
<https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab61bd>

## Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using *Loeselia Mexicana* Extract

R. Herrero-Calvillo<sup>1</sup>, S. E. Borjas-García<sup>2</sup> and G. Rosas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales, UMSNH, Morelia, Mexico.

<sup>2</sup> Instituto de Física y Matemáticas, UMSNH, Morelia, Mexico.

In recent years, the notorious importance of the study of nanomaterials has been appreciated. Nanotechnology is a relevant field that studies the synthesis, development and practical implementation of nanoparticles and nanomaterials, whose dimensions fall within the range of 1 to 100 nm. In this size range, the physical and biological properties change entirely concerning the features of the particles above this scale [1]. Among the wide variety of studies carried out in the area of synthesis, gold nanoparticles stand out due to their catalytic properties and their ease of their obtainment by green methods [2]. Green synthesis employs antioxidant and surfactants biomolecules taken from the plant's extracts, which can be used for the nanoparticles synthesis, considering it as a novel and sustainable method. This method has been used mostly to synthesize gold and silver nanoparticles with suitable size and shape control [3].

In this work, *Loeselia Mexicana* (Lam.) Brandege plant extract was used. Fresh *Loeselia Mexicana* leaves were separated from the stems to be dried, milled and washed with distilled water using magnetic stirring. The extraction of biomolecules was carried out by mixing the milled leaves with 100 ml of distilled water at 70°C for 10 minutes using magnetic stirring. The extract was filtered and cooled to room temperature. Gold nanoparticles synthesis was carried out by mixing the leaf extract with 2mM HAuCl<sub>4</sub> in a 1:1 volume ratio. A sample was left under sunlight for 20 minutes, and another one was heated in an oven at 40°C for 20 minutes. Synthesized samples showed a color change from pale yellow to violet, indicating that gold nanoparticles were synthesized. Nanoparticles growth and stabilization were monitored by UV-Vis spectroscopy (OceanOptics USB 4000). The XRD pattern was obtained (Bruker D8 Advance, DAVINCI Lynx eye) using CuK $\alpha$  radiation ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ), angular range from 20° to 90° and 0.02° / second step. SEM images were obtained by backscattered electron technique (JEOL JSM-7600F).

Figure 1 shows the gold nanoparticles UV-Vis spectra, the peak is located between 500-600 nm in both samples, and it is characteristic of the gold nanoparticles [4]. It is noted that the specimen exposed to sunlight has a higher absorbance. However, the peak is broader, which indicates that a greater quantity of nanoparticles was obtained with a more extensive size distribution than the sample heated at 40°C. Thus, the results showed that *Loeselia Mexicana* (Lam.) Brandege biomolecules can reduce the HAuCl<sub>4</sub> solution and stabilize the gold nanoparticles. Figure 2 corresponds to the XRD pattern, wherein the gold crystallographic phase formation can be seen. Figures 3a-b correspond to the sample heated at 40°C, therein an appreciable amount of spherical gold nanoparticles are observed between 50-60 nm accompanied by tetrahedral and icosahedral nanoparticles. Figures 3c-d corresponds to the sample under sunlight showing a reduced formation of nanoparticles around large particles greater than 300 nm. The sunlight presence induced an accelerated bioreduction provoking uncontrolled growth of the Au particles. Therefore, the sample heated at 40°C, show the best results. The heating control and temperature accuracy lead to a better size, morphology and size distribution control [5].

### References:

## Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Solar Radiation and *Loeselia Mexicana* Leaf Extract

R. Herrero-Calvillo<sup>1</sup>, S. E. Borjas-García<sup>2</sup>, G. Rosas<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>. Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales, UMSNH, Morelia Michoacán, Mexico.

<sup>2</sup>. Instituto de Física y Matemáticas, UMSNH, Morelia Michoacán, Mexico.

\* Corresponding author: grtrejo@umich.mx

Currently, nanomaterials have received significant attention from researchers of several disciplines due to the wide variety of technological applications. The noble metal nanoparticles have a wide variety of applications in the area of medicine, electronic devices, catalysis, antibacterial materials, among others [1]. Within the wide variety of nanoparticles, silver ones stand out due to their high catalytic and electronic properties, in addition to being difficult to oxidize, which makes them easier to obtain than other nanoparticles of different nature [2]. One of the synthesis methods that has obtained much relevance is the green synthesis, in which the production of metallic nanoparticles is achieved by taking advantage of the reducing and capping properties of the extracted compounds from biological systems, such as plants, fungi and other natural compounds [3, 4].

In this work, *Loeselia Mexicana* leaf extract was used. Fresh *Loeselia Mexicana* leaves were disjointed from the stems to be dried under room temperature, milled and washed with distilled water using magnetic stirring. Biomolecules extraction was carried out by mixing the leaf powder with 100 ml of distilled water at 70°C for 10 minutes using magnetic stirring. The leaf extract was filtered and cooled at room temperature. Three Ag nanoparticles samples were obtained by mixing the leaf extract with 2 mM AgNO<sub>3</sub> in a 1:1 volume ratio. The three samples were exposed under solar radiation for 0.75, 30 and 60 min. Synthesized samples showed a color change from pale yellow to reddish brown, indicating that silver nanoparticles were obtained. Nanoparticles growth and stabilization were monitored by UV-Vis spectroscopy (OceanOptics USB 4000). The XRD pattern was obtained in a Bruker D8 Advance, DAVINCI Lynx eye diffractometer. Furthermore, SEM images were obtained by backscattered electron technique (JEOL JSM-7600F).

Figure 1 shows the silver nanoparticles UV-Vis spectra, the peaks are located between 400-500 nm in all the samples, and this range is characteristic of the silver nanoparticles. The sample obtained in 0.75 min showed a very faint color change and a low absorbance SPR peak. After 30 min, a defined SPR peak was obtained with greater absorbance value. Besides, the 60 min sample showed a higher absorbance SPR peak; however, the peak widened considerably concerning the previous sample, indicating an increase in the nanoparticles size distribution. Figure 2 shows the XRD diffractogram, in which the formation of Ag nanoparticles, together with AgCl as crystals byproducts of the reaction, is observed. Figure 3 corresponds to the SEM images of the Ag nanoparticles. It can be seen that the 0.75 min sample (Figure 3a) contains a tiny amount of nanometric particles. Figure 3b, corresponding to the 30 min sample, shows that it contains a much larger amount of nanoparticles with a homogeneous size and shape. On the other hand, the 60 min sample (figure 3c), contains a greater quantity of nanoparticles; however, it can be seen that there is a high size distribution. Solar radiation directly affects the Ag nanoparticles formation; nevertheless, an excess of exposure time generates an uncontrolled nanoparticles formation of different size ranges. The exposure time should be around 30 min, in order to obtain homogeneous morphology and size nanoparticles.

## Materials Research Express



### PAPER

#### OPEN ACCESS

RECEIVED  
29 October 2019

REVISED  
5 December 2019

ACCEPTED FOR PUBLICATION  
13 December 2019

PUBLISHED  
6 January 2020

Original content from this work may be used under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 licence.

Any further distribution of this work must maintain attribution to the author(s) and the title of the work, journal citation and DOI.



# A photocatalytic and electrochemical study of gold nanoparticles synthesized by a green approach

R Herrero-Calvillo<sup>1</sup>, A Santoveña-Urbe<sup>2</sup>, R Esparza<sup>2</sup> and G Rosas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales, UMSNH, edificio U, Ciudad Universitaria, C.P. 58030, Morelia, Michoacán, México

<sup>2</sup> Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de México, Santiago de Querétaro, Qro., México

E-mail: [grtrejo@umich.mx](mailto:grtrejo@umich.mx)

**Keywords:** green synthesis, gold nanoparticles, gold nanotriangles, catalytic activity, electrochemistry, structural characterization

### Abstract

Quasi-spherical gold nanoparticles mixed with a controlled amount of gold nano triangles were obtained through a green chemical method using leaf extract of *Loeselia mexicana*. Moreover, the influence of the extract and HAuCl<sub>4</sub> solution concentration in the morphology of the nanoparticles was studied. The nanoparticle preparation was performed by varying the concentration of the extract and precursor salt. The catalytic activity of the as-prepared nanoparticles was studied by the reduction of methylene blue, rhodamine B, and gentian violet organic dyes. Also, cyclic voltammetry profiles were obtained in order to analyze the electrochemical response of the nanoparticles. The morphology and structural characterization were analyzed by UV-vis, SEM, TEM, FTIR, and XRD. The SEM analysis reveals gold nanoparticles with spherical and triangular morphologies. The UV-vis spectra revealed that the extract concentration influenced the morphology and amount of the obtained gold nanoparticles. The XRD and TEM analysis showed that gold nanoparticles presented a face-centered cubic lattice structure. The cyclic voltammetry analysis confirms a high-sensitivity electrochemical response and stability corresponding to the gold nano triangles. Finally, the presence of gold nano triangles shapes influenced the efficiency of the degradation of the dyes due to their high specific surface area.

## 1. Introduction

Nanomaterials have recently become of great interest due to the wide variety of technological applications related to their different properties compared to bulk materials [1–3]. Noble metal nanoparticles, such as gold, silver, palladium, have a wide variety of applications [4, 5]. Among them, gold nanoparticles (AuNPs) stand out due to their attractive chemical and optical properties, which make them suitable for applications in catalysis [6, 7].

Chemical reduction methods are effective ways to obtain metallic nanoparticles with different shapes. They employ reducing reagents and stabilizers, such as sodium borohydride and hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB), respectively [8–11]. However, their reaction byproducts are sometimes considered harmful to the environment and health [12–14]. Therefore, obtaining new synthesis methods with low environmental impact continues to be a challenge for the researchers [15].

In recent years, researchers have used biological systems such as plants and fungi for the production of nanomaterials [16–19]. For example, extracts of medicinal plants can be used as both stabilizing and reducing agents for the preparation of metallic nanoparticles [20]. The green method is simple, economical, and can be used on a large scale [21].

Green synthesis employing extracts of medicinal plants has been used to control the obtained nanoparticles shapes, which determines their optical and catalytic properties [22]. Controlling the morphology during the biosynthesis process is essential to achieve consistent properties. Recently, AuNPs have been widely studied in electrochemistry due to their physic-chemical properties [23–25]. The morphology of the AuNPs directly