



**UNIVERSIDAD MICHOACANA  
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN METALURGIA Y MATERIALES**

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

“Síntesis verde de nanopartículas  $\text{TiO}_2\text{-Ag}$  mediante extractos de *Origanum vulgare* y *Sedum praealtum*”

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

PRESENTA:

**IBQ. JOSÉ LUIS LANDEROS PÁRAMO**

DIRECTOR DE TESIS

**DR. GERARDO ANTONIO ROSAS TREJO**

CODIRECTOR DE TESIS

**DR. FRANCISCO ALFREDO SAAVEDRA MOLINA**

Morelia, Michoacán, México; Junio 2018.

Of. Núm. IIM-ST-042-2018.

Morelia, Mich., Abril 20 del 2018.

**C. ING. JOSE LUIS LANDEROS PARAMO**  
**Presente**

Por medio de la presente, esta dirección del Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, tiene a bien informarle que para presentar su examen de grado de Maestría en Metalurgia y Ciencias de los Materiales, con la tesis titulada **"SINTESIS VERDE DE NANOPARTICULAS  $TiO_2$ -Ag MEDIANTE EXTRACTOS DE ORIGANUM VULGARE Y SEDUM PRAEALTUM"**, le ha sido asignada la siguiente mesa sinodal:


9100252-4	DR. GERARDO ANTONIO ROSAS TREJO	(Presidente)
91002630	DR. FRANCISCO A. SAAVEDRA MOLINA	(Co-Presidente)
9700358-1	DR. JUAN ZARATE MEDINA	(Vocal)
8600380-1	DR. JUAN SERRATO RODRIGUEZ	(Vocal)
9900237-0	DR. RAMIRO ESCUDERO GARCIA	(Vocal)
0100048-9	DR. JORGE ALEJANDRO VERDUZCO MARTINEZ	(Suplente)

Agradeciendo de antemano las atenciones que se sirva prestar a la presente, aprovecho para enviarle un cordial saludo.

Atentamente

U. M. S. N. H.

  
**Dr. Alberto Ruiz Marín**  
**Director**

  
**Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales**  
**Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo**  
Instituto de Investigación  
en Metalurgia y Materiales

ARM/yatc

## DEDICATORIA

*Sin lugar a dudas, a Dios en primer lugar por permitirme llegar hasta este punto de mi vida; al darme sabiduría, entendimiento, fe, confianza y fortaleza. Por no soltarme de su mano en los momentos más difíciles y de mayor penumbra y oscuridad, pues a pesar de todos salí adelante gracias a él.*

*A mis padres, que a pesar de todo me han brindado todo su apoyo de manera incondicional y fielmente. Por ello y más, les puedo decir que todo su esfuerzo valió la pena y está reflejada en este trabajo y quiera Dios en lo que sigue de mi carrera.*

## AGRADECIMIENTO

*Agradezco en primer lugar a CONACYT por el apoyo brindado durante el periodo de estancia dentro del posgrado, permitiéndome concluir en tiempo y forma mi investigación.*

*A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por abrirle las puertas y permitir la posibilidad de crecer profesionalmente.*

*Al Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales, por las facilidades prestadas respecto a las instalaciones, herramientas y recursos para la realización del proyecto.*

*Al Instituto de investigación Químico Biológicas, también por las facilidades prestadas en cuanto a las instalaciones, herramientas y recursos prestados.*

*A mi asesor Dr. Gerardo Antonio Rosas Trejo y coasesor el Dr. Francisco Alfredo Saavedra Molina, por sus asesorías académicas que fueron esenciales para la consecución de los objetivos establecidos en este trabajo.*

*A mi familia en general, por apoyarme cuando lo necesité, aun independientemente de las circunstancias y dificultades que a ellos les pudieron causar.*

*A toda mi mesa sinodal (Dr. Juan Zarate Medina, Dr. Juan Serrato Rodriguez, Dr. Ramiro Escudero Garcia y Dr. Jorge Alejandro Verduzco Martinez) por el apoyo y guía prestada en la revisión del presente trabajo.*

*A mis amigos y novia, que fueron apoyo emocional y académico a lo largo y parte de este lapso de carrera.*

## ÍNDICE

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO .....	iv
ÍNDICE.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT .....	xiii
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Objetivo general.....	2
1.2 Objetivos particulares .....	2
1.3 Justificación .....	3
1.4 Hipótesis .....	4
2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	5
2.1 Nanotecnología .....	6
2.2 Nanopartículas .....	6
2.3 Plantas.....	8
2.4 Antecedentes.....	10
2.4.1 Síntesis de nanopartículas $TiO_2$ .....	10
2.4.2 Síntesis verde de nanopartículas de Ag.....	16
2.4.3 Síntesis de nanopartículas $TiO_2$ -Ag.....	19
2.4.4 Aplicaciones biológicas.....	22
3 METODOLOGÍA .....	24
3.1 Biosíntesis de $TiO_2$ -AgNPs .....	25
3.1.1 Materiales.....	26
3.1.2 Procedimiento.....	26
3.2 Caracterización .....	27
3.3 Capacidad reductora DPPH .....	28
3.4 Cuantificación de polifenoles Folin-Ciocalteu .....	29

4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
4.1	Síntesis de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> .....	32
a)	Biosíntesis por medio del uso de extracto de <i>S. praealtum</i> y <i>O. vulgare</i> .....	32
b)	Variación de sal precursora y concentración de extracto.....	41
c)	TiO <sub>2</sub> NPs sintetizadas adicionando surfactante sintético (PVP).....	45
d)	TiO <sub>2</sub> NPs sintetizadas en condiciones ácidas y básicas .....	48
4.2	Síntesis de nanopartículas de Ag (AgNPs) .....	51
a)	Síntesis de AgNPs al variar la concentración de sal precursora .....	51
b)	Síntesis de AgNPs modificando la preparación del extracto .....	55
c)	Síntesis de AgNPs variando la velocidad de agitación.....	60
4.3	Síntesis de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> -Ag .....	62
4.4	Ensayos en las plantas.....	69
4.4.1	Capacidad antioxidante DPPH.....	69
4.4.2	Cuantificación de polifenoles por Folin-Ciocalteu .....	71
5	CONCLUSIONES .....	74
5.1	Recomendaciones .....	76
5.2	Trabajo futuro .....	77
6	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	78
6.1	Anexos .....	92
6.1.1	Anexo 1 .....	92
6.1.2	Anexo 2 .....	93
6.1.3	Anexo 3 .....	93

ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 2.1</b>	Posibles mecanismos de reducción por la planta: a) reducción por ácido tánico, d) reducción por geraniol y c) reducción por el flavonoide quercetina [1].....	7
<b>Figura 2.2</b>	Patrón de difracción de rayos X de TiO <sub>2</sub> NPs sometidas en tratamiento térmico a temperaturas de 400 a 700 °C [2]. .....	11
<b>Figura 2.3</b>	Patrón de difracción de rayos X de la nanopartículas de TiO <sub>2</sub> . a) 25 °C y b) 80 °C [3].....	13
<b>Figura 2.4</b>	Proceso de síntesis para obtener TiO <sub>2</sub> NPs [8].....	15
<b>Figura 2.5</b>	a) espectro de absorción UV-vis de solución de NPs TiO <sub>2</sub> usando extracto de <i>V. negundo</i> . b) grafica de valores larvicidas y pediculicidas [10].....	15
<b>Figura 2.6</b>	a) espectro de absorción UV-vis. b) Micrográficas de (CLSM) [4].....	17
<b>Figura 2.7</b>	a) patrón de difracción de rayos X, b) citotoxicidad en células cancerígenas.....	18
<b>Figura 2.8</b>	a) espectro de absorción UV-Visible de TiO <sub>2</sub> y Ag-TiO <sub>2</sub> . b) dispersión de TiO <sub>2</sub> (izquierda) y Ag-TiO <sub>2</sub> . c) patrón de rayos-X para (a) TiO <sub>2</sub> puro y (b) Ag-TiO <sub>2</sub> [5].....	20
<b>Figura 2.9</b>	a) espectro de absorción UV-vis de AgNPs. b) espectro de absorción Ag-TiO <sub>2</sub> . c) micrografía FESEM [41].....	21
<b>Figura 2.10</b>	Los valores promedios de log <sub>10</sub> (CFU /mL) a) <i>Candida albicans</i> , b) <i>C. glabrata</i> [43].....	23
<b>Figura 3.1</b>	Procedimiento general a seguir en el proyecto de investigación.....	25
<b>Figura 4.1</b>	Muestras de la coloración de los extractos preparados a) y b) obtenida después de la reacción entre la solución de tetracloruro de titanio (TiCl <sub>4</sub> ) con cada uno de los extractos evaluados: 1) <i>S. praealtum</i> , 2) <i>O. vulgare</i> y 3) Combinado relación 1:1.....	34
<b>Figura 4.2</b>	Espectro UV-vis de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> utilizando el los	

	extractos de <i>S. praealtum</i> , <i>O. vulgare</i> y combinados (a). Espectro correspondiente a los extractos puros después de ser preparados (b).	35
<b>Figura 4.3</b>	Esquema de posible mecanismo de formación de TiO <sub>2</sub> NPs a través de la interacción con grupos (-OH) de los compuestos de las plantas [52].....	36
<b>Figura 4.4</b>	Micrografías electrónicas de barrido en la que se observan las TiO <sub>2</sub> NPs obtenidas a partir del extracto de <i>S. praealtum</i> , a ampliaciones de a) 5000X, b) 20 00X y c) 40 000X. Y d) el análisis químico EDS donde se denota la presencia de Ti y O.....	38
<b>Figura 4.5</b>	Micrografías y EDS de TiO <sub>2</sub> NPs obtenidas por medio del extracto de <i>O. vulgare</i> .....	38
<b>Figura 4.6</b>	Resultados obtenidos mediante la combinación de extractos en relación 1:1, muestran las TiO <sub>2</sub> NPs a diferentes ampliaciones: a) 10 000, b) 40 000, c) 100 000 y d) el análisis químico con la presencia de Ti.....	40
<b>Figura 4.7</b>	Difractograma de rayos X de la muestra con extracto combinado.....	41
<b>Figura 4.8</b>	Espectro infrarrojo FTIR comparativo entre el extracto natural de <i>S. praealtum</i> y TiO <sub>2</sub> NPs preparadas usando <i>S. praealtum</i> .....	42
<b>Figura 4.9</b>	Espectro UV-vis de la mezcla de reacción por medio de extracto combinado variando la concentración de sal y planta: a) a diferentes molaridades, b) variando la molaridad de la sal y usando el remanente del extracto como blanco y c) variando la masa de la planta.....	44
<b>Figura 4.10</b>	Micrografías electrónicas de barrido y EDS.....	46
<b>Figura 4.11</b>	Espectros UV-vis de reacción de síntesis de TiO <sub>2</sub> NPs utilizando y no utilizando PVP, al instante y después de 24 h (a). Comparación de lecturas con diferentes blancos (b).....	47
<b>Figura 4.12</b>	Micrografías de la reacción de TiO <sub>2</sub> NPs con PVP después de ser lavada.....	47

<b>Figura 4.13</b>	Mapeo químico de reacción de nanopartículas con PVP lavada.....	48
<b>Figura 4.14</b>	Espectro de absorción de dos reacciones en las que se les ajusto el pH ácido y básico.....	49
<b>Figura 4.15</b>	Micrografías electrónicas en condiciones ácidas y EDS que muestra la formación de cristales de KCl (cloruro de potasio).....	50
<b>Figura 4.16</b>	Mapeo químico en la que se encuentra el titanio en la muestra.....	50
<b>Figura 4.17</b>	Espectro UV-vis correspondiente a diferentes molaridades con: a) <i>S. praealtum</i> , b) <i>O. vulgare</i> , c) combinado.....	52
<b>Figura 4.18</b>	Micrografías electrónicas de barrido de la muestra de <i>S. praealtum</i> con autoensamble en forma de estambres y flores.....	53
<b>Figura 4.19</b>	Difractograma de rayos X de la muestra de los nanoensambles.....	54
<b>Figura 4.20</b>	Micrografías electrónicas de barrido de la muestra de AgNPs sintetizadas por medio <i>O. vulgare</i> a: a) 5000X, b) 40 000X y c) 40 000X. d) EDS.....	55
<b>Figura 4.21</b>	Micrografías de la muestra reducida por extracto combinado ( <i>S. praealtum</i> y <i>O. vulgare</i> ) y EDS de la misma (d).....	56
<b>Figura 4.22</b>	Difractograma de rayos x de la muestra de síntesis con extractos combinados.....	56
<b>Figura 4.23</b>	Espectros de UV-vis de dos muestras: a) replica a la anterior con <i>S. praealtum</i> ahora preparando el extracto a las misas condiciones pero ahora solo por 5 min bajo temperatura y agitación constante a una concentración mayor, b) Replica de la mezcla de extractos combinados y lavado la planta previamente.....	58
<b>Figura 4.24</b>	Micrografías electrónicas de barrido de la muestra con <i>S. praealtum</i> y con menor tiempo de preparación de extracto. a) AgNPs a 5000X, b) 20 000X, c) microcristales de AgCl y d) EDS.....	59
<b>Figura 4.25</b>	Espectros de infrarrojo correspondientes a los extractos de las plantas comparadas con la solución de lavado de la planta.....	60

<b>Figura 4.26</b>	Espectro de absorción UV-vis a diferente velocidad de agitación.....	61
<b>Figura 4.27</b>	Imágenes obtenidas por el microscopio electrónico de barrido de la muestra a 12 rpm.....	62
<b>Figura 4.28</b>	Espectro de absorbancia de las muestras de TiO <sub>2</sub> -Ag utilizando PVP usando como blanco el extracto y el sobrenadante como blanco a la determinación de la absorbancia.....	64
<b>Figura 4.29</b>	Micrografías electrónicas de barrido de la muestra sin PVP a: a) y b) 10 000X, c) y d) a 100 000X.....	65
<b>Figura 4.30</b>	Mapeo químico de la muestra sin PVP, donde se muestra los mapeos de: b) Ag, c) O, d) Ti.....	66
<b>Figura 4.31</b>	Difractograma de Rayos X, de la muestra sin PVP.....	66
<b>Figura 4.32</b>	Micrografías SEM que muestra lo obtenido de la muestra con PVP a diferentes ampliaciones: a) 10 00X, b) 100 000X, c) 40 000X y d) EDS.....	68
<b>Figura 4.33</b>	Mapeo EDS de la muestra con PVP: a) plata, b) oxígeno, c) titanio....	69
<b>Figura 4.34</b>	Capacidad reductora del radical DPPH de los extractos preparados a diferentes concentraciones (7, 14 y 21 mg/mL) de diferentes plantas comparadas con el control BHT (antioxidante comercial) (a), comparación con los extractos combinados (b).....	70
<b>Figura 4.35</b>	Curva de calibración a partir de ácido gálico, en la que se estima la cantidad en mg de fenoles totales como mg de ácido gálico equivalentes en la muestras de las plantas utilizadas en este trabajo, ajustada a partir de una regresión lineal.....	71
<b>Figura 6.1</b>	Diagrama de Pourbaix potencial vs pH para el sistema titanio-agua a 25 °C y [Ti]=0.2M [62].....	85
<b>Figura 6.2</b>	Reacciones de hidrólisis de titanio de acuerdo a diferentes especies de titanio [62].....	86
<b>Figura 6.3</b>	Diagrama de la distribución de complejos de oxiclорuros de titanio [61].....	86

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2.1</b>	Tabla de los principales metabolitos encontrados en el extracto de hoja de <i>S. praealtum</i> [23].....	8
<b>Tabla 2.2</b>	Principales compuestos encontrados en el extracto de <i>O. vulgare</i> de acuerdo a la clasificación de compuestos volátiles y compuestos fenólicos y flavonoides [26-29].....	9
<b>Tabla 2.3</b>	Tamaños obtenidos de las muestras bajo diferentes condiciones [33]...	14
<b>Tabla 2.4</b>	Actividad insecticida de las AgNPs sintetizadas [38].....	19
<b>Tabla 2.5</b>	Valores de comparación de la toxicidad de las nanopartículas empleadas [42].....	22
<b>Tabla 3.1</b>	Ensayos realizados por el método de Folin-Ciocalteu.....	29
<b>Tabla 3-2</b>	Reactivos para la curva de calibración.....	30
<b>Tabla 4.1</b>	Tabla del contenido total de fenoles en las plantas de <i>O. vulgare</i> , <i>S. praealtum</i> así como combinadas a temperatura ambiente y 60°C.....	73

## RESUMEN

Las nanopartículas de dióxido de titanio-plata ( $\text{TiO}_2\text{-AgNPs}$ ) son materiales particulares con características definidas y amplias aplicaciones en el campo de la biotecnología y la biomedicina. La síntesis verde basada en extractos naturales de plantas se convierte en una buena opción de síntesis, rentable, fácil, amigable con el ambiente y biodegradable, lo que amplía el campo de aplicación.

En este trabajo, se muestran los resultados obtenidos de la síntesis individual de nanopartículas de dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2\text{NPs}$ ), nanopartículas de plata ( $\text{AgNPs}$ ), nanoensambles de Ag y  $\text{TiO}_2\text{-AgNPs}$  por medio de los extractos acuosos de *S. praealtum* y *O. vulgare*, sales precursoras de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) y titanio ( $\text{TiCl}_4$ ) en solución acuosa. La reacción se llevó a cabo, en el caso de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ , con la variación a diferentes concentraciones de sal (1, 2, 3, 4 y 5 mM), la utilización de estabilizador PVP y la variación de pH (2.8 y 9.8). Para  $\text{AgNPs}$ , se varió la concentración de sal, la preparación del extracto y la agitación. En el caso de las  $\text{TiO}_2\text{-AgNPs}$  además, se modificó la cantidad de PVP. Finalmente, la caracterización estructural y química se realizó por medio de UV-vis, MEB, DRX, FTIR y DPPH. Por otro lado, las nanopartículas formadas servirán para ensayos futuros de citotoxicidad.

Los resultados demostraron la formación de  $\text{TiO}_2\text{-AgNPs}$ , además de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  con baja cristalinidad en condiciones de alta acidez. Así mismo, por medio de un estudio de caracterización de UV-vis, MEB, FTIR y DRX, se determinó que la agitación y el uso combinado de los extractos, logran la obtención de nanoestructuras de plata en forma de flores, estambres e hilos. Por último, los estudios de capacidad antioxidante y determinación de fenoles totales en los extractos, comprueban la presencia de agentes reductores y estabilizantes que favorecen las diversas morfologías obtenidas.

Palabras clave: Nanomateriales, hidrólisis, nanoensamble, antioxidante, citotoxicidad

## ABSTRACT

Titanium dioxide-silver nanoparticles (TiO<sub>2</sub>-AgNPs) are materials with a particular interest with broad applications in the field of biotechnology and biomedicine. The green methods based on natural extracts of plants become a good option for synthesis for profitable, facile, friendly with the environment and biodegradable, which extends the field of application.

In this work, we show the results obtained from the synthesis of titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub>NPs), silver nanoparticles (AgNPs), and TiO<sub>2</sub>-AgNPs by using aqueous extracts of *S. praealtum* and *O. vulgare*, precursor salts of silver (AgNO<sub>3</sub>) and titanium (TiCl<sub>4</sub>) in aqueous solution. The reaction was carried out, in the case of TiO<sub>2</sub>NPs, with the variation at different salt concentrations (1, 2, 3, 4 and 5 mM), the use of PVP stabilizer and the modification of pH (2.8 and 9.8). For AgNPs, salt concentration, extract preparation and agitation were varied. In the case of the TiO<sub>2</sub>-AgNPs besides, the amount of PVP was modified. Finally, the structural and chemical characterization was carried out by UV-vis, MEB, DRX, FTIR, and DPPH.

The results showed the formation of TiO<sub>2</sub>-AgNPs, in addition to TiO<sub>2</sub>NPs with low crystallinity under conditions of high acidity. Likewise, through a study of characterization of UV-vis, MEB, FTIR, and DRX, it was determined that the agitation and the combined use of the extracts, achieve the obtaining of silver nanostructures in the form of flowers, stamens, and threads. Finally, the studies of antioxidant capacity and determination of total phenols in the extracts verify the presence of reducing and stabilizing agents that favor the various morphologies obtained.

CAPÍTULO

1

# INTRODUCCIÓN

---

*"Tal vez sea la propia simplicidad del asunto lo que nos conduce al error".*

*-Edgar Allan Poe*

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas de dióxido de titanio-plata (Ag-TiO<sub>2</sub>NPs) son materiales particulares con características definidas y amplias aplicaciones en los campos de la biotecnología, biomédicas, textil, nuevos materiales, que muestran un potencial mercantil y con ello interés de investigadores por encontrar nuevos métodos de síntesis rentables, fáciles y amigables con el ambiente para producirlas [6].

En este trabajo se describe un procedimiento de síntesis de (TiO<sub>2</sub>-AgNPs) con extracto de *Origanum vulgare* como agente reductor y *Sedum praealtum* (siempre viva) como agente estabilizante, que facilita la formación de partículas libres de residuos tóxicos para el ambiente y la salud. Los resultados de TiO<sub>2</sub>-AgNPs se caracterizaron mediante UV-vis, rayos X, infrarrojo y microscopía electrónica de barrido y de transmisión.

#### 1.1 Objetivo general

Realizar la síntesis verde de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>NPs), plata (AgNPs) y dióxido de titanio-plata (TiO<sub>2</sub>-Ag), mediante extractos de *O. vulgare* y *S. praealtum* y su caracterización estructural.

#### 1.2 Objetivos particulares

1. Efectuar la síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs) y nanopartículas de (TiO<sub>2</sub>NPs), por medio de los extractos de *O. vulgare* y *S. praealtum*, cada una ellas de forma separada.
2. Realizar la síntesis de TiO<sub>2</sub>-AgNPs mediante *O. vulgare* y *S. praealtum* como agentes reductores y estabilizantes, variando la relación cantidad de extracto-precursor.

3. Comparar la eficiencia de potencial reductor de los extractos con la literatura por medio del ensayo DPPH.
4. Caracterizar morfológica y estructuralmente las NPs mediante UV-vis, FTIR, DRX y MEB.

### 1.3 Justificación

Las nanopartículas de plata (AgNPs) así como las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>NPs) han adquirido gran importancia de forma individual por sus ya marcadas propiedades. En primer lugar, ya es por muchos conocido el poder antibacterial, fungicida, antiviral y cicatrizante de las AgNPs [7], y en segundo lugar, las TiO<sub>2</sub>NPs se han caracterizado por sus propiedades que las han llevado a introducirlas en dos grandes grupos de aplicaciones: 1) donde se usa la atenuación de la luz ultravioleta (tales como cosméticos, varios plásticos y algunas prendas) y 2) el TiO<sub>2</sub> como catalizadores o semiconductores (productos de limpieza, catalizadores de remediación medioambiental y en celdas solares fotovoltaicas) [8]. Sin embargo, junto a estos constituyentes nanométricos los nanocompuestos traen varias ventajas, entre ellas la estabilidad de la nanoplata (principalmente en nanopartículas núcleo-coraza), habilidad para modificar la banda prohibida (band gap) de la plata [9] y, además, por la modificación superficial del TiO<sub>2</sub> por la plata, las TiO<sub>2</sub>-AgNPs podrían presentar efecto antibacteriano [10].

Ya en algunos estudios se ha demostrado la capacidad antibacteriana de algunos óxidos como ZnO, CuO y precisamente el TiO<sub>2</sub>. Adicionalmente, la combinación con AgNPs, permite una capacidad antibacteriana más amplia en contraste a la forma individual. Una razón del aumento de esta propiedad es que mediante la unión de TiO<sub>2</sub>-Ag el proceso fotocatalítico del TiO<sub>2</sub> (comúnmente en luz ultravioleta) se podría dar incluso bajo luz visible. No obstante, aún se requieren mayor comprensión del rendimiento de estos nanocompuestos en su contribución catalítica, puesto que de forma práctica, el uso de estos como agentes antimicrobianos se limitaría, en el mayor de los casos, en aplicaciones en ausencia de radiación luminosa[11].

De acuerdo a Wickramaratne [12] la presencia de TiO<sub>2</sub>NPs en AgNPs (núcleo-coraza) mejora la monodispersividad (distribución de tamaño de nanopartículas que indica la uniformización hacia solo un tamaño), las reacciones fotocatalíticas y la estabilidad foto-térmica del material. Además, estos tipos de materiales pueden introducir nuevas propiedades y estructuras híbridas, exhibiendo menor citotoxicidad. Aun así, son necesarios más estudios que demuestren la seguridad de las TiO<sub>2</sub>-AgNPs. Aunado a esto, los métodos de síntesis actuales como síntesis química, evaporación térmica, reducción fotoquímica, sol-gel, electrospinning, autoensamble inducido por evaporación y, la combinación de estos para obtener las TiO<sub>2</sub>-AgNPs requieren y generan materiales costosos y tóxicos, lo que limita en gran medida sus aplicaciones en ciertas áreas médicas y de seguridad biológica [13, 14]. Debido a esto, el interés por utilizar nuevos métodos verdes basados en extractos de plantas naturales, es una buena opción de reducir el método de síntesis a uno rentable, rápido, ambiental y seguro por su baja o nula toxicidad y fácil biodegradabilidad [15].

Por todo lo anterior, en el presente trabajo se pretende realizar la obtención de TiO<sub>2</sub>-AgNPs por síntesis verde utilizando extracto de *O. vulgare* como agente reductor y *S. praealtum* como estabilizante.

#### 1.4 Hipótesis

Debido al poder reductor de los compuestos orgánicos (ácido rosmarínico, luteolina, apigenina, carvacrol, timol y limoneno) extraídos del extracto de la planta *O. vulgare* reconocidos como antioxidantes se podrán reducir los metales precursores, y la capacidad de estabilización, previamente conocida [16], por parte de los tensoactivos de la planta medicinal *S. praealtum*, que aunada a las condiciones de sobresaturación creada en la mezcla final por la presencia de estos extractos y las sales precursoras permitirá la nucleación y crecimiento, para ser posible la biosíntesis de TiO<sub>2</sub>-AgNPs bifuncionales, en donde los extractos permitirán una alta biocompatibilidad de las TiO<sub>2</sub>-AgNPs.

CAPÍTULO

2

# REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

---

*"El estudioso es el que lleva a los demás a lo que él ha  
comprendido: la verdad."*

*-Santo Tomas de Aquino*

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN Y DISCUSIÓN DEL ESTADO DEL ARTE

En este capítulo se presentan lo referente al contexto teórico práctico en el que se encuentra el tema aquí presentado, con el objetivo de profundizar en el marco teórico y en aquellos trabajos que comparten un fin similar al buscado en esta tesis y que pudieran servir como base para la discusión de los resultados.

#### 2.1 Nanotecnología

La nanotecnología es la investigación científica y desarrollo tecnológico que trata sobre el estudio de la síntesis, caracterización y explotación de los materiales, dispositivos y sistemas a escala de 1 a 100 nm. Hay dos tipos de nanotecnología según la técnica de aplicación: reducción de tamaño o de arriba hacia abajo (Top-Down) y aumento de tamaño o de abajo hacia arriba (Bottom-Up) [17]. El caso del Top-Down, se basa en el diseño y obtención de estructuras a nanoescala a partir de materiales de mayor tamaño. En el caso contrario, Bottom-Up se ajusta a la construcción de formas más grandes a partir de la manipulación y ensamblaje de átomos o moléculas por medio de reducción química [18].

La clasificación más atinada para los nanomateriales, es en base a las dimensiones que lo conforman, incluye a estas en cuatro categorías: 0D, 1D, 2D y 3D. Esta nomenclatura ayuda a establecer las dimensiones de la nanoestructura que superan la nanoescala [19].

#### 2.2 Nanopartículas

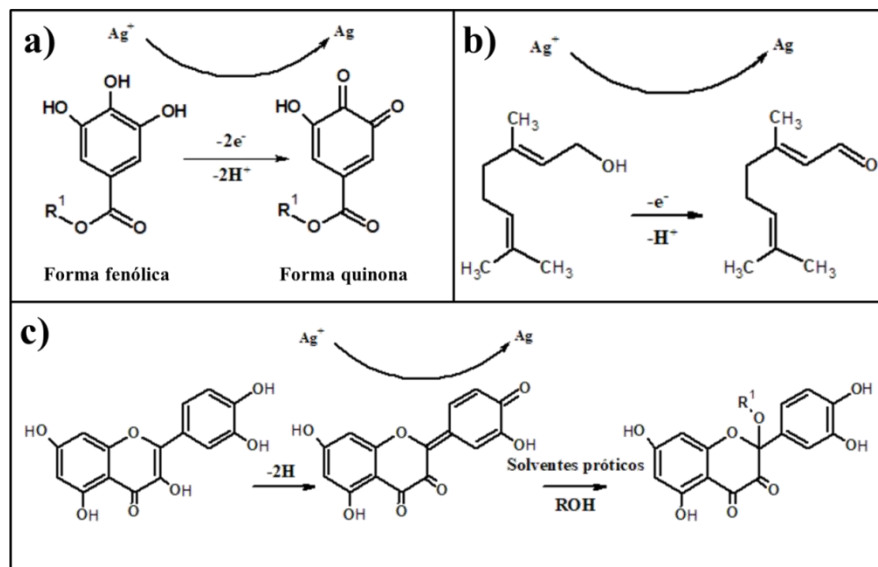
Las nanopartículas son materiales de tamaño nanométrico (1 a 100 nm) que se caracterizan por sus propiedades poco comunes, que son afectadas por parámetros como el tamaño, forma, área superficial, confinamiento cuántico (cuando el espacio con el que cuenta un ente, por ejemplo el electrón, es comparable a la longitud de onda de su onda asociada,

conocida como onda de *de Broglie*), composición, cristalinidad y estructuras de las partículas [20].

Con anterioridad se había hablado de los métodos de síntesis *Top-Down* y *Bottom-Up*, de los cuales, este último es importante en este trabajo. Esta técnica se basa en cuatro formas de síntesis: método en fase gas, fase líquida, en fase sólida y métodos biológicos [21].

Para que se lleve a cabo la síntesis química, se emplean tres elementos generales: (I) el precursor del metal, (II) el agente o agentes reductores y (III) agentes estabilizantes, e implica dos etapas de formación de AgNPs: nucleación y crecimiento. La nucleación se puede controlar por ajuste de parámetros de reacción como son el caso de la temperatura, pH, precursores, agentes de reacción y agitación [22].

La biosíntesis por otro lado, es un método coloidal, aquí los agentes reductores y estabilizantes se reemplazan por moléculas o compuestos producidos por elementos vivos como metabolitos reductores y estabilizantes (Figura 2.1) (bacterias, hongos filamentosos, levaduras, algas o plantas). El mecanismo para la formación de AgNPs consta de una sola etapa, ya que el extracto contiene los agentes reductores y estabilizantes en un solo medio, que involucra los mecanismos de nucleación y crecimiento [23].



**Figura 2.1.** Posibles mecanismos de reducción por la planta: a) reducción por ácido tánico, d) reducción por geraniol y c) reducción por el flavonoide quercetina [1].

### 2.3 Plantas

De las plantas se han comprobado que por medio de sus extractos se producen nanopartículas de plata, cobre, oro y aleaciones cobre-plata y, es debido a los compuestos fitoquímicos reductores, que contienen de manera específica cada planta [24]. Estos compuestos pertenecen en gran medida a los metabolitos secundarios, llamados así al ser sintetizados por rutas biosintéticas no esenciales para las principales funciones de la planta. Sin embargo, estos compuestos vegetales ayudan a la sobrevivencia de la planta al tener funciones importantes como: soporte estructural, brindar colores llamativos, fungir como antioxidante como respuesta al estrés producido por condiciones ambientales externas del medio ambiente [25].

La planta *S. praealtum* es originaria de México, crece en los estados de Hidalgo, Puebla, Tlaxcala, sobre suelos pedregosos y húmedos, está relacionada con la vegetación perturbada de matorral xerófilo, laderas de cerros y bosques, con clima templado entre los 2400 y los 2700 msnm (metros sobre el nivel del mar). Beltrán-Orozco y col. [26] demostraron la presencia de compuestos carboxílicos, flavonoides, alcoholes, cumarinas, azúcares reductores, alcaloides, así como algunos del tipo glucósidos como los principales encontrados en mayor cantidad (kaempferol y quercetina). En torno a estos últimos glucósidos, Estrada y col. Encontraron que eran 4 tipos de flavonoides glicosilados que prevalecían en el extracto de *S. praealtum* (Tabla 2.1). Ellos, además evaluaron su poder espermicida y establecen que esta propiedad se debe a que actúan como aglutinantes del esperma debido a ser inhibidores enzimáticos o agentes tensoactivos o alquilantes, que inhiben la movilidad y metabolismo de espermatozoides [27].

**Tabla 2.1.** Tabla de los principales metabolitos encontrados en el extracto de hoja de *S. praealtum* [27].

Flavonoides glicosilados
kaempferol 3-O- $\beta$ -rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-glucopyranoside-7-O-glucopyranoside
Kaempferol 3-O- $\beta$ -rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -glucopyranoside-7-O- $\beta$ -rhamnopyranoside

kaempferol 3-O-_- rhamnopyranoside-7-O-_-rhamnopyranoside(kaempferitrin)
kaempferol 3-O-_- glucopyranoside-7-O-_-rhamnopyranoside

En cuanto a la planta *O. vulgare*, esta es usada en la cocina tradicional mexicana y para tratamiento en espasmos, antimicrobiana, expectorante, trastornos digestivos y menstruales. Su capacidad medicinal como aspectos positivos se ha atribuido a su actividad antioxidante, tanto del aceite esencial como en las fracciones fenólicas solubles. Esta planta contiene ácido rosmarínico, carnosol y ácido carnósico como principales antioxidantes además de otros de acuerdo a la Tabla 2.2 [28, 29].

**Tabla 2.2.** Principales compuestos encontrados en el extracto de *O. vulgare* de acuerdo a la clasificación de compuestos volátiles y compuestos fenólicos y flavonoides [30-33].

Compuestos volátiles	Compuestos fenólicos y flavonoides
$\alpha$ -Tujeno	Apigenina
$\alpha$ -Pino	Ácido caféico
Sabineno	Quirsoeriol
$\beta$ -Pino	Cosmosido
$\beta$ --Mirceno	Diosmetina
$\alpha$ -Felandreno	Eriodictiol
$\alpha$ -Terpino	Ácido ferúlico
<i>p</i> -Cimeno	Galangina
Limoneno	Genistina
$\gamma$ -Terpino	Ácido gentísico
<i>Cis</i> -sabineno hidrato	Hesperidina
Terpinoleno	Hispidulina
<i>Trans</i> -sabineno	Isovitexina
<i>Cis</i> - $\beta$ -terpineol	Luteolina
Borneol	Naringenina
$\alpha$ -Terpineol	Naringina
Timol metil éter	Ácido

	<i>p</i> -hidroxibenzoico
Timol	Quercetina
Carvacrol	Ácido rosmarínico
Acetato de geranilo	Rutina
$\beta$ -Cariofileno	Taxifolina
$\gamma$ -Elemeno	Ácido vainílico
$\alpha$ -Humeleno	Vicenina-2
Germacreno D	Vitexina
$\beta$ -Bisaboleno	

## 2.4 Antecedentes

### 2.4.1 Síntesis de nanopartículas $TiO_2$

Actualmente, la síntesis química constituye en la industria así como en la investigación el método preferido en manipulación y control de materiales a nivel atómico y molecular, técnica más comúnmente clasificada dentro de la nanotecnología en la categoría de abajo-arriba (bottom-up), por lo que constituye la base de síntesis de materiales cerámicos avanzados, entre ellos el  $TiO_2$  [34].

Con respecto a lo anterior, se han publicado varios trabajos referentes a la síntesis de  $TiO_2$  en escala nanométrica donde utilizan diversas técnicas, nuevas o modificadas basadas en la síntesis química, en busca de obtener resultados en cuanto al tamaño, distribución, fase y evaluación de propiedades. Por ejemplo, Wetchakun y colaboradores [2] realizaron la síntesis de nanopartículas de  $TiO_2$  por medio del proceso de la técnica modificada, basada en el método sol-gel, en la que utilizaron una membrana de celofán para el control de la velocidad de difusión, en la reacción de hidrólisis y condensación en diferentes proporciones, las muestras se calcinaron para obtener cambio de fase de anatasa a rutilo. Los resultados obtenidos en nanopartículas de  $TiO_2$  calcinadas a una temperatura de 400 °C por un tiempo de 3 h, se observaron que poseen la mayor área superficial con un valor de 97 m<sup>2</sup>/g. Mientras que, como se muestra en el patrón de difracción de rayos-X de la Figura 2.2, encontraron que la transformación de anatasa a rutilo, se llevó a cabo entre las

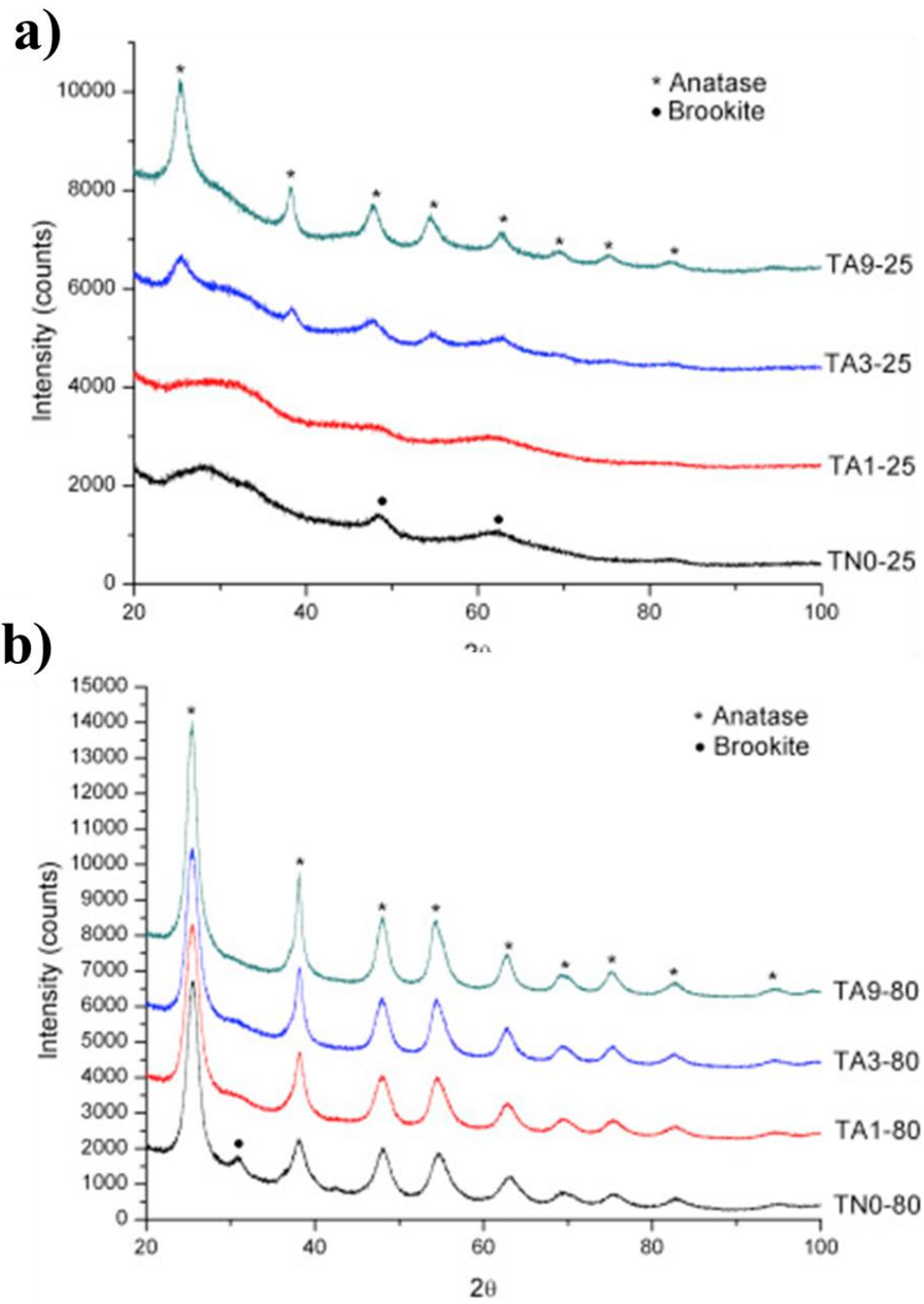


El método sol-gel es uno de los más ampliamente utilizados para este tipo de nanomateriales cerámicos ( $\text{TiO}_2\text{NPs}$ ), en el que se tienen dos vertientes principales: por un lado, el uso de precursores inorgánicos (en forma de sales especialmente) en la síntesis y por otro, el manejo de precursores orgánicos (tratándose regularmente de alcóxidos), siendo esta última la más utilizada. Sin embargo, ambos han mostrado resultados positivos [34].

Este método permite controlar muchos factores tales como: tamaño, cristalinidad, estructura y morfología (tubos, esferas, cubos, rodillos, agujas y formas irregulares). El control de estos parámetros es muy importante para la determinación de las propiedades finales y la aplicación del material, donde finalmente el método de síntesis (condiciones experimentales) es responsable en gran medida de esas propiedades finales [3, 35].

Un ejemplo de esto, lo realizó Leyva-Porras y colaboradores [3]. Ellos sintetizaron nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  usando sol-gel asistido por ácido acético a 25 y 80 °C en lugar de alcohol para la disolución del alcóxido de titanio (Isopropóxido de titanio IV). En los ensayos que realizaron, se hizo una disolución con tres cantidades: 1, 3 y 9 mL de ácido acético bajo agitación constante, para la formación de cada muestra, donde se determinó la composición y estabilidad de la fase usando el método Rietveld y análisis térmico DTA a 600°C, observando la evolución de la fase anatasa en función de la cantidad de ácido acético agregado. Se lograron obtener nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  en fase anatasa, en la que a 25 °C se requirió altas cantidades de ácido para la formación de la fase, mientras que a 80 °C el tamaño del cristal creció (véase la Figura 2.3 y Tabla 2.3).

Por lo que se concluye que este proceso es simple, y cae dentro de la química verde por requerir sólo alcóxido de titanio, agua y ácido acético, lo que lo hace factible para un posible escalamiento industrial.



**Figura 2.3.** Patrón de difracción de rayos X de la nanopartículas de TiO<sub>2</sub>. a) 25 °C y b) 80 °C [3].

**Tabla 2.3.** Tamaños obtenidos de las muestras bajo diferentes condiciones [3].

Muestra	Tamaño de partículas XRD (nm)	Tamaño de partícula TEM (nm)	Desviación estándar (nm)
TN0-25	-	-	-
TA1-25	-	-	-
TA3-25	7.9	4.7	1.3
TA9-25	5.0	3.9	1.2
TN0-80	5.1	4.6	1.2
TA1-80	3.8	4.3	1.0
TA3-80	4.4	4.0	1.0
TA9-80	5.3	3.7	0.9

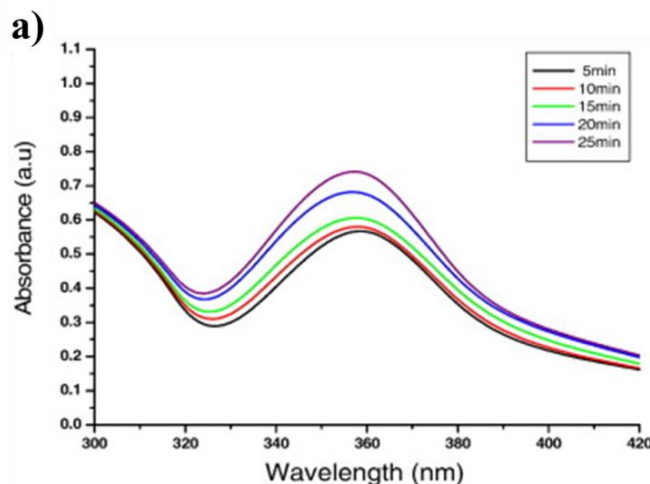
Cachú en 2014 [34] desarrolló TiO<sub>2</sub>NPs por medio de un método alternativo modificado sol-gel y dirigiéndose por una ruta orgánica empleando isopropóxido de titanio (IV) como precursor metálico y alcohol isopropílico. Obteniendo la formación de NPs demostrando que, un medio ácido favorece, por una parte para la eliminación de hidróxidos de titanio y por otra, la cristalización de TiO<sub>2</sub> en fase anatasa.

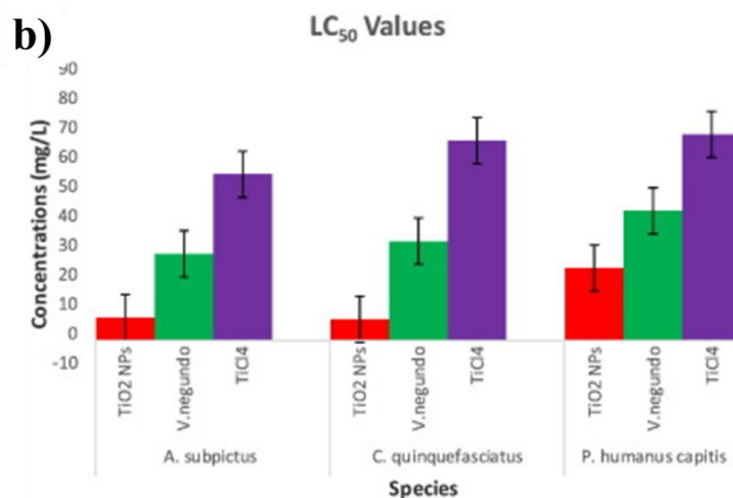
En la iniciativa de promover el desarrollo de materiales y procesos respetuosos al medio ambiente y cuidado de la salud, muchos se han enfocado en la química verde, en procesos donde eliminan el uso y posible residuo final de sustancias con características peligrosas [36]. De aquí que Kashale y colaboradores [13] hayan sintetizado TiO<sub>2</sub>NPs de tamaño y distribución uniforme, para uso como ánodo en baterías ion litio, con extracto de *Cicer arietinum* (gram bean) como reductor, pectina y amoníaco como estabilizador y tetracloruro de titanio TiCl<sub>4</sub> como precursor metálico (Figura 2.4). La estructura cristalina y la composición de fase, área específica y porosidad, fueron determinadas por difracción de rayos-X, espectroscopía Raman, microscopía electrónica de transmisión (TEM), termogravimetría (TGA) y (BET).



Figura 2.4. Proceso de síntesis para obtener TiO<sub>2</sub>NPs [13].

De la misma manera Gandhi en el 2016 [15], sintetizó TiO<sub>2</sub>NPs para su uso en actividad pediculicida y larvicida de 4 vectores de malaria, usando extracto natural de hoja de *Vitex negundo* y tetracloruro de titanio TiCl<sub>4</sub>. Obteniendo la formación de nanopartículas esféricas confirmado por UV-vis bajo observación del pico característico a 360 nm (Figura 2.5a). Las larvas de los mosquitos fueron expuestas a diferentes concentraciones de TiO<sub>2</sub>NPs, extracto de la planta y de TiCl<sub>4</sub> (Véase Figura 2.5b). Al final encontraron que las TiO<sub>2</sub>NPs presentan una actividad significativa larvicida y pediculicida.



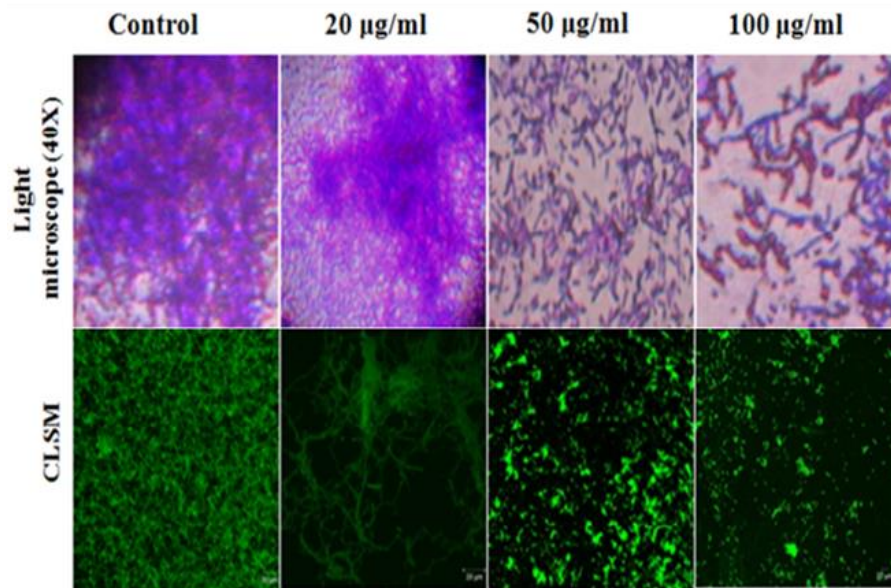
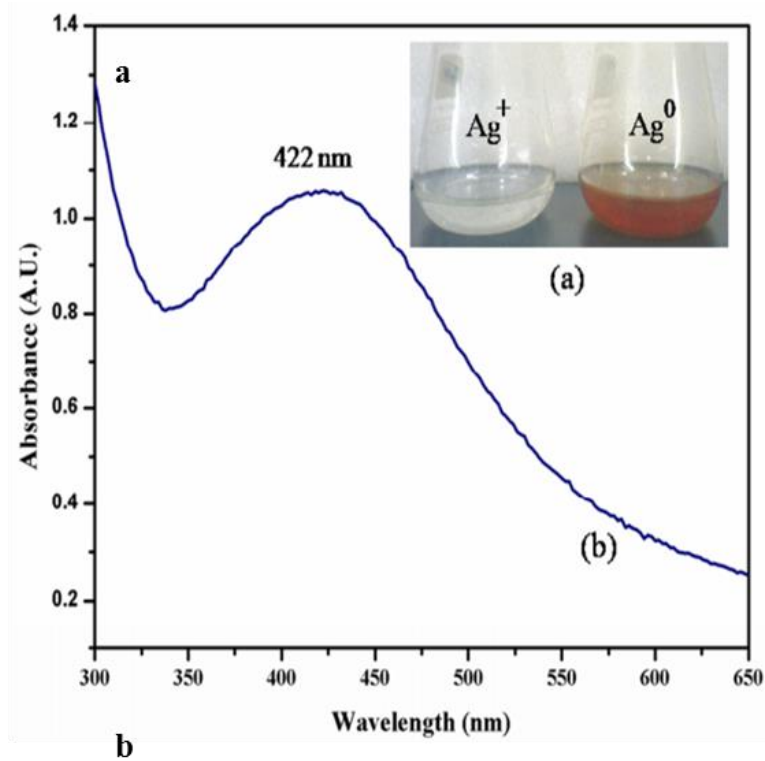


**Figura 2.5.** a) espectro de absorción UV-vis de solución de TiO<sub>2</sub>NPs usando extracto de V. negundo. b) grafica de valores larvicidas y pediculicidas [15].

#### 2.4.2 Síntesis verde de nanopartículas de Ag

Shanti y colaboradores en el 2016 tomaron en cuenta que actualmente existe una creciente necesidad de desarrollar nanopartículas ambientalmente benéficas y, esto se logra usando: biomasa y extractos celulares de bacterias o plantas [4]. Ellos sintetizaron y caracterizaron nanopartículas de plata usando extracto de un probiótico *Bacillus licheniformis*, donde el espectro de UV-vis mostró el plasmón centrado en 422 nm indicando la presencia de AgNPs. Los estudios mediante TEM demostraron que son esféricas con tamaños de 18.69 a 63.43 nm, mientras que con la técnica de microscopía de barrido laser y confocal se demostró la adherencia de las AgNPs en la pared bacteriana de *Vibrio parahaemolyticus*, con una marcada desintegración de la biopelícula bacteriana (véase la Figura 2.6).

Estos resultados sugieren que las AgNPs, pueden ser consideradas para el control de biopelículas bacterianas, muy comunes en el campo biomédico [4]. Aquí es necesario recalcar, que estos mismos métodos verdes hacen aptas a las AgNPs para ampliar sus aplicaciones.

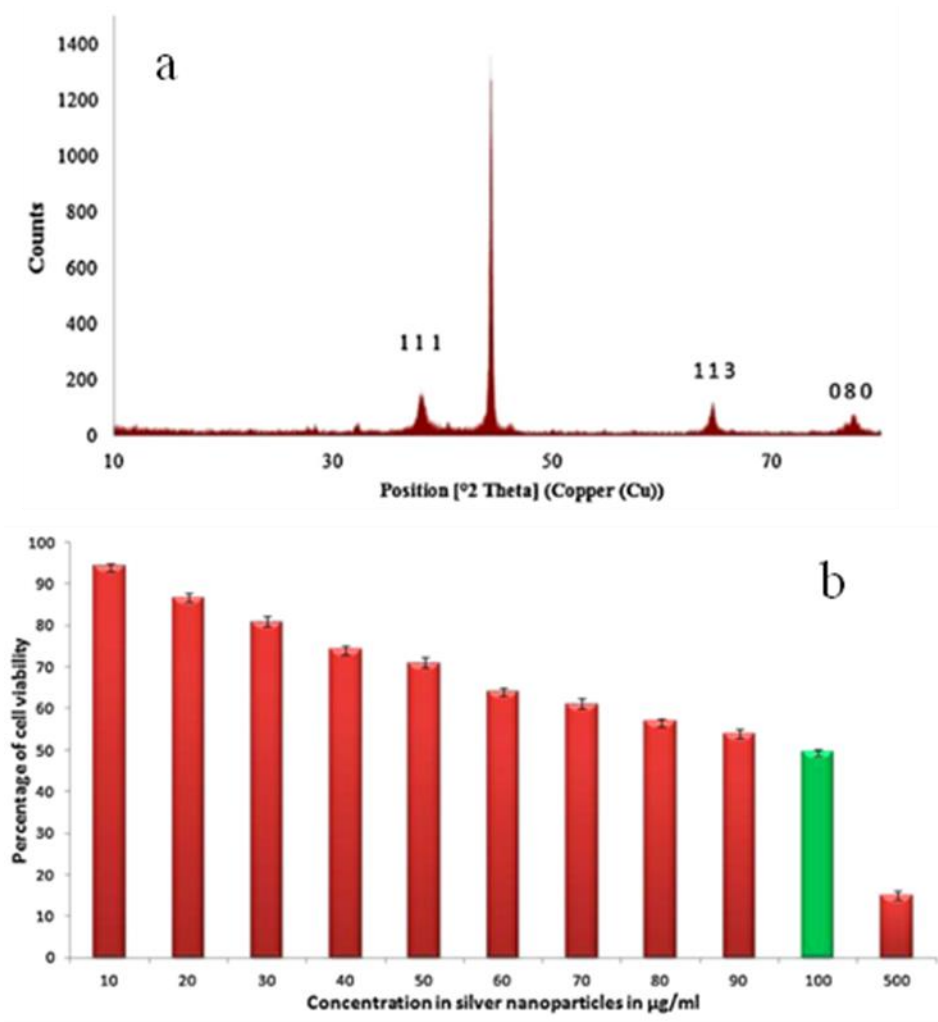


**Figura 2.6.** a) espectro de absorción UV-vis. b) Micrográficas de (CLSM) [4].

Otra forma de lograr esto, es utilizando plantas naturales. Para ello Sankar y colaboradores [37] usaron extracto de *O. vulgare* para reducir una solución de 1 mM de  $AgNO_3$  a temperatura ambiente a AgNPs, que caracterizaron al identificar los planos *fcc* de la plata

de las nanopartículas esféricas, su distribución de tamaño de entre 65 a 85 nm, (Figura 2.7a) y su citotoxicidad en líneas de células humanas cancerígenas in vitro (véase Figura 2.7b).

Por lo que observaron la síntesis de AgNPs gracias a los compuestos presentes en el extracto de *Origanum vulgare* y que juegan un papel importante en la síntesis verde. Estos mismos, permitieron la evaluación de citotoxicidad en líneas celulares cancerígenas humanas donde fue remarcable un 50% de mortalidad de células a 100 g/ml.



**Figura 2.7.** a) patrón de difracción de rayos X, b) citotoxicidad en células cancerígenas [37].

Los compuestos de las plantas como metabolitos secundarios (compuestos orgánicos producidos por las plantas sin tener función directa en el crecimiento ni en el desarrollo de

esta, es decir procesos esenciales; sólo en funciones secundarias en general por ejemplo: lo que respecta a la defensa, a la coloración, olor, etc. y algunos de ellos son los terpenoides y flavonoides [25]), son en gran medida los responsables de reducir la sal metálica y estabilizar las nanopartículas [38]. Gul y colaboradores en el 2016 [39] sintetizaron AgNPs por metabolitos secundarios presentes en el extracto de melón, y su toxicidad en las moscas domésticas en un rango de concentración de 2-10 mg/mL, mostrando un notable control en el tamaño del material y la capacidad insecticida (Tabla 2.4).

**Tabla 2.4.** Actividad insecticida de las AgNPs sintetizadas [39].

The insecticidal activity of synthesized AgNPs against *M. domestica*.

Test material	Concentration (mg/mL)	Number of the exposed		Number of the dead				1 h		2 h		3 h		4 h	
		Number of exposed/replica	Total exposed	1 h	2 h	3 h	4 h	M <sup>a</sup>	M <sup>c</sup>	M <sup>a</sup>	M <sup>c</sup>	M <sup>a</sup>	M <sup>c</sup>	M <sup>a</sup>	M <sup>c</sup>
Control	-	15	60	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	8.00	8.00	14.00	14.00
Plant aqueous extract	40	15	60	6.00 ± 1.00	8.00 ± 0.81	15.00 ± 0.95	31.00 ± 0.96	10.00	10.00	13.33	13.33	25.00	19.64	52.00	44.23
	30	15	60	3.00 ± 0.50	5.00 ± 0.50	13.00 ± 0.96	25.00 ± 0.96	5.00	5.00	8.33	8.33	22.00	16.07	42.00	32.69
	10	15	60	2.00 ± 0.57	3.00 ± 0.50	11.00 ± 0.50	18.00 ± 0.57	3.33	3.33	5.00	5.00	18.00	12.50	30.00	19.23
	5	15	60	0.00 ± 0.00	2.00 ± 0.57	4.00 ± 0.81	13.00 ± 0.95	0.00	0.00	3.33	3.33	7.00	0.00	22.00	9.62
AgNPs	10	15	60	43.00 ± 0.96	55.00 ± 0.96	60.00 ± 0.00	60.00 ± 0.00	71.67	71.67	91.66	91.66	100.00	100.00	100.00	100.00
	8	15	60	37.00 ± 1.25	42.00 ± 0.57	54.00 ± 1.29	60.00 ± 0.00	61.67	61.67	70.00	70.00	90.00	89.29	100.00	100.00
	4	15	60	26.00 ± 0.57	36.00 ± 0.81	39.00 ± 0.95	48.00 ± 0.81	43.33	43.33	60.00	60.00	65.00	62.50	80.00	76.92
	2	15	60	12.00 ± 0.81	17.00 ± 0.96	35.00 ± 0.96	44.00 ± 0.81	20.00	20.00	28.33	28.33	58.33	55.36	73.33	69.23
AgNO <sub>3</sub>	10	15	60	0.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00	8.00 ± 0.95	12.00 ± 0.00	0.00	0.00	6.66	6.66	13.33	7.14	20.00	7.69
DDVP	10	15	60	60.00 ± 0.00	60.00 ± 0.00	60.00 ± 0.00	60.00 ± 0.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	8	15	60	49.00 ± 0.50	60.00 ± 0.00	60.00 ± 0.00	60.00 ± 0.00	81.66	81.66	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	4	15	60	35.00 ± 0.50	51.00 ± 0.50	60.00 ± 0.00	60.00 ± 0.00	58.33	58.33	85.00	85.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	2	15	60	18.00 ± 0.57	31.00 ± 0.50	46.00 ± 0.57	60.00 ± 0.00	30.00	30.00	52.00	52.00	77.00	75.00	100.00	100.00

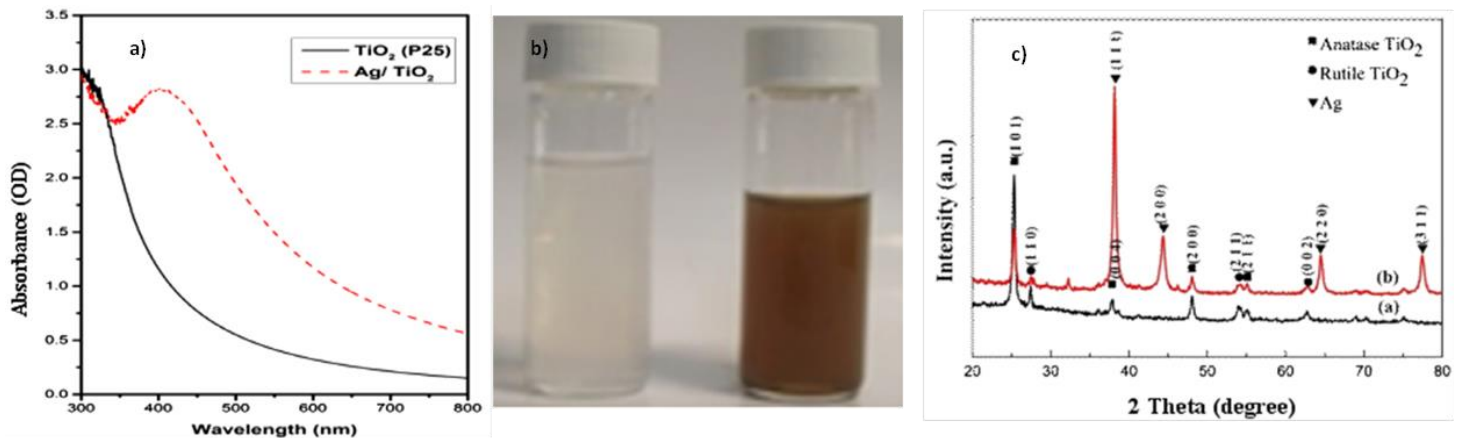
M<sup>a</sup>: Mortality (%); M<sup>c</sup>: Corrected mortality (%).

### 2.4.3 Síntesis de nanopartículas TiO<sub>2</sub>-Ag

Para la síntesis de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> y Ag, actualmente existen muchos trabajos donde se aplican métodos combinados o modificados. Uno de esos trabajos, fue el de Shet y col. [40], ellos obtuvieron nanopartículas de TiO<sub>2</sub>-AgNPs por medio del seguimiento de un método de hidrólisis de olla aplicando calcinación a 450 °C por un tiempo de 3 h, que posteriormente fueron usadas para su evaluación en las propiedades fotocatalíticas, y conocer su eficacia de degradación de fenoles, donde las partículas se ensayaron en dos tipos de formas: las nanopartículas libres e inmovilizadas en acetato de celulosa en un proceso batch bajo la radiación solar.

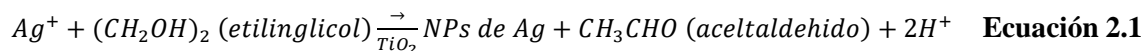
El método utilizado consistió en la hidrólisis del Titanio- (trietanolaminato) isopropóxido ( $N((CH_2)_2O)_3TiOCH(CH_3)_2$ ) y la reducción de los iones metálicos en dimetil formamida. Posteriormente, se utilizó, una relación molar de 1:1.7 de Ag y  $TiO_2$ , respectivamente, para finalmente calcinarlas por 3 h a  $450\text{ }^\circ\text{C}$ .

Mientras tanto Jhuang y Cheng [5] obtuvieron nanopartículas core-shell  $TiO_2$ -AgNPs (Figura 2.8) por medio de un proceso sonoquímico en presencia de etilenglicol con solución alcalina. Este consistió en mezclar los 0.005 % en peso de polvos de  $TiO_2$  con 20 ml de solución preparada de etilenglicol y agua desionizada y 0.01% en peso de NaOH 4:1, respectivamente, se utilizó ultrasonido a una frecuencia de 23 kHz y una potencia de 500w por 3 min en una mezcla de nitrato de plata ( $AgNO_3$ ) y nanopartículas de  $TiO_2$  dispersas en etilenglicol, se sintetizó durante 15 min a temperatura ambiente.



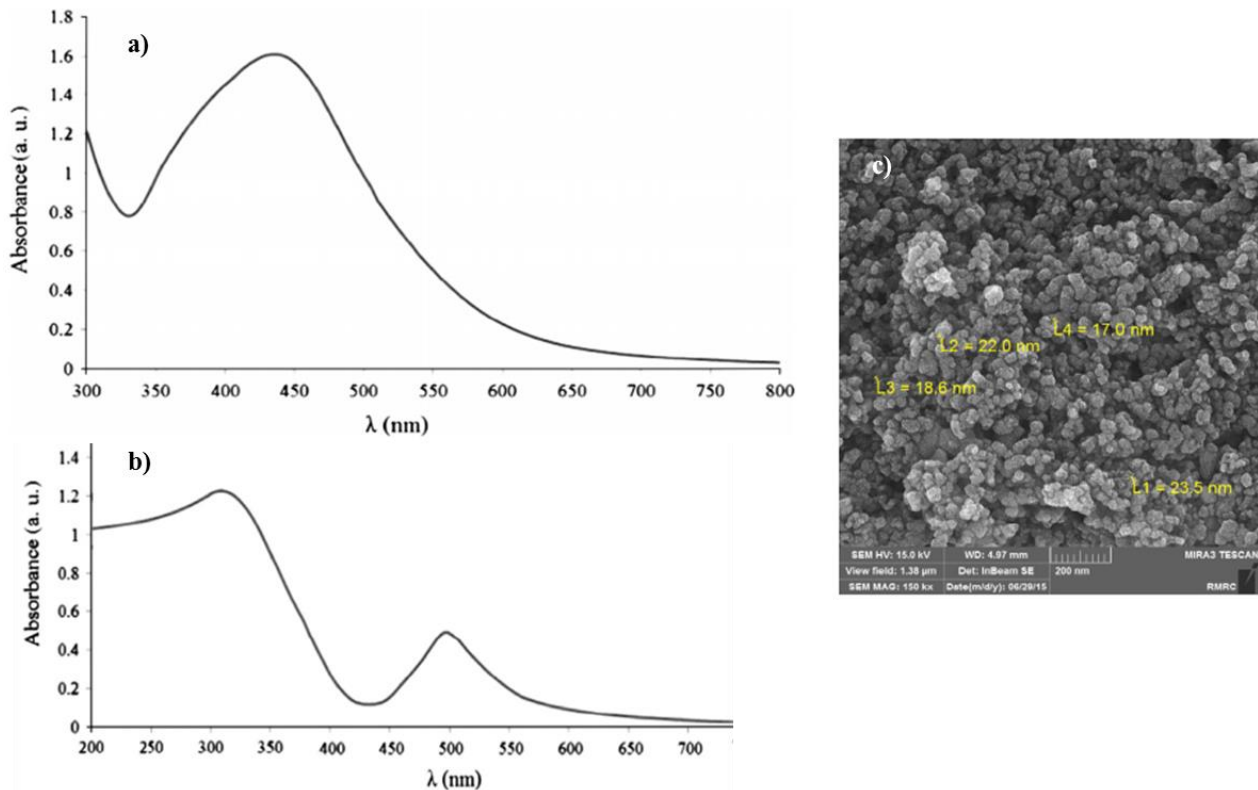
**Figura 2.8.** a) espectro de absorción UV-Visible de  $TiO_2$  y  $Ag-TiO_2$ . b) dispersión de  $TiO_2$  (izquierda) y  $Ag-TiO_2$ . c) patrón de rayos-X para (a)  $TiO_2$  puro y (b)  $Ag-TiO_2$  [5].

El tamaño promedio obtenido fue de 80 nm. Además, se encontró que la reacción del ion  $Ag^+$  con  $TiO_2$  se llevó a cabo por una reacción autocatalítica, lográndose obtener el 98 % de reducción de la plata a un tiempo de 1000 s de reacción.



Otro método por el cual son sintetizadas  $\text{TiO}_2\text{-AgNPs}$  es por síntesis verde o biosíntesis, Atarod y colaboradores en 2016 [41] sintetizaron un nanocompuesto de  $\text{Ag-TiO}_2$  usando extracto de las hojas de *Euphorbia heterophylla* sin ningún estabilizante o surfactante y midiendo su capacidad catalítica en la degradación de varios colorantes como: naranja de metilo, rojo de congo y azul de metileno en presencia de  $\text{NaBH}_4$  a temperatura ambiente.

El proceso consistió básicamente en la preparación típica de las  $\text{AgNPs}$ , en la cual mezclaron 20 mL de extracto de la planta gota a gota a una solución de 40 mL de  $\text{AgNO}_3$  0.003 M, añadiendo 1g de degussa p-25  $\text{TiO}_2$  en polvo bajo agitación constante a 60 °C durante 2h. Confirmaron la formación de  $\text{AgNPs}$  y  $\text{TiO}_2\text{-AgNPs}$  (Figura 2.9a-b) y caracterizaron por FESEM (Figura 2.9c), concluyendo que este método resultó bastante estable, al mantener las  $\text{Ag-TiO}_2\text{NPs}$  estables varios meses en atmósferas inertes.



**Figura 2.9.** a) espectro de absorción UV-vis de  $\text{AgNPs}$ . b) espectro de absorción  $\text{Ag-TiO}_2$ . c) micrografía FESEM [41].

### 2.4.4 Aplicaciones biológicas

En la actualidad, son comercializados de forma masiva nanomateriales en productos cotidianos, tanto, que se ha intensificado su exposición en personas, animales y su liberación potencial al ambiente. Además, estos bienes no especifican de forma clara parámetros que permitan al consumidor evaluar los posibles riesgos de su usanza. Por lo que en última instancia, sus posibles efectos tóxicos deben ser estudiados [6, 42].

En algunos trabajos antes comentados, conjuntamente a la síntesis de los nanomateriales, se han permitido evaluar su toxicidad, ya sea como actividad antibacteriana (ya común en AgNPs y TiO<sub>2</sub>NPs) o como citotoxicidad en general. Tomando en cuenta esto Schiavo y colaboradores 2016 [42], investigaron la genotoxicidad y citotoxicidad de ZnONPs por ensayo MTT (Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio, que es una sal de tetrazolio oxidada que es reducida por la coenzima NADPH), comparándolos con los resultados obtenidos también con SiO<sub>2</sub> y TiO<sub>2</sub> en una microalga marina *Dunaliella tertiolecta*. Donde su exposición a las nanopartículas fue de 72 h, en el cual, las NPs actúan a primera vista en la inhibición de la división celular a una concentración de 2 mg Zn/L y, a 5 mg Zn/L la acción genotóxica se manifestó. El autor manifiesta que esto se puede deber a la liberación de iones tóxicos de las ZnO sobre la proximidad de la membrana celular. Sin embargo, el TiO<sub>2</sub> y el SiO<sub>2</sub> presentaron una mayor toxicidad que el ZnO (Tabla 2.5).

**Tabla 2.5.** Valores de comparación de la toxicidad de las nanopartículas empleadas [42].

ZnO, TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub> genotoxicity and cytotoxicity (as % effect) at EC50 and NOEC values measured for *D. tertiolecta* population growth inhibition (Manzo et al., 2013a, 2015).

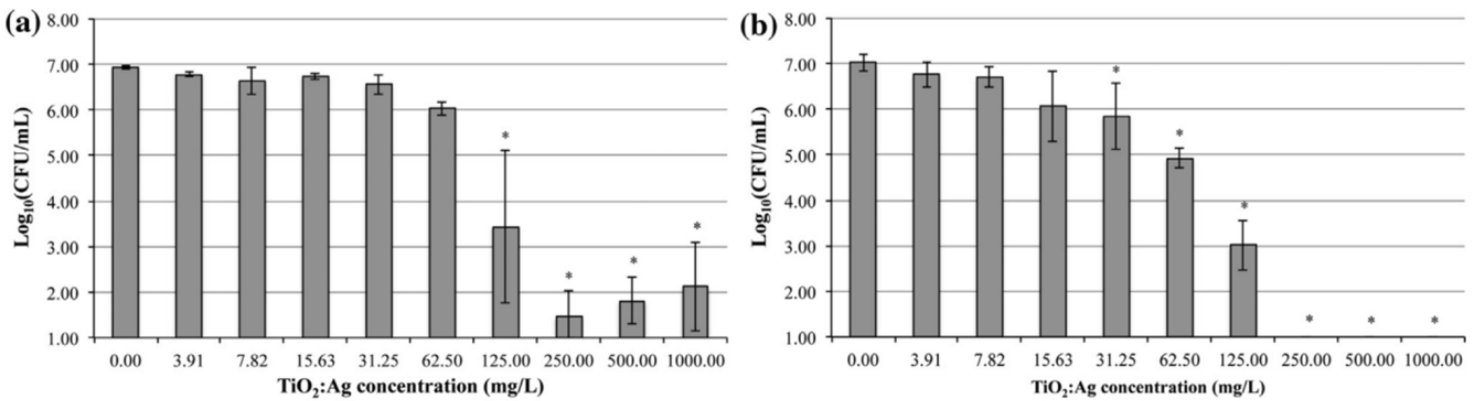
		ZnO		TiO <sub>2</sub>		SiO <sub>2</sub>	
		NOEC (0.1 mg Zn/L)	EC50 (2 mg Zn/L)	NOEC (7.5 mg/L)	EC50 (20 mg/L)	NOEC (125 mg/L)	EC50 (200 mg/L)
Genotoxicity	Comet (% effect)	5	7.5	95	95	40	56.25
Cytotoxicity	MTT (% effect)	3	2	29.3	61	17.6	57
	Acridine Orange (% effect)	-1.03	0	25	72	12	49
	DCFH-DA (% effect)	-1.14	2.27	6	20	43.75	55

De igual forma, Tomankova y colaboradores 2015 [6] evaluaron su citotoxicidad *in vitro* de TiO<sub>2</sub>NPs y AgNPs que se hallan disponibles comercialmente. Observando que todas las NPS penetraron las líneas de células humanas SVK14 y tuvieron efecto significativo en la

cinética de producción de radicales ROS (la producción de ROS no es el principal mecanismo de daño, pues los daños al ADN son significativos).

La viabilidad de las líneas celulares fue evaluada por MTT y demostró que las AgNPs presentaron mayor potencial citotóxico en contraste a las TiO<sub>2</sub>NPs. Concluyeron que aunque este estudio permitió un aporte al conocimiento en cuanto a la seguridad de la salud humana, son necesario ensayos *in vivo* para conocer la toxicidad de las NPs.

Ahora, hablando de actividad antimicrobiana no solo de TiO<sub>2</sub>NPs, sino decoradas con Ag. André y col. en 2015 [43], evaluaron la concentración mínima bactericida y fungicida, de las TiO<sub>2</sub>-AgNPs que sintetizaron por medio de tratamiento hidrotermales asistido por microondas, por medio de microdilución en caldo, como se describe por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio por sus siglas en inglés CLSI (The Clinical y Laboratory Standards Institute) en especies de *Candida (spp.)* (Figura 2.10). Concluyeron que las TiO<sub>2</sub>-AgNPs tienen un alto potencial para su uso como agente antimicrobiano.



**Figura 2.10.** Los valores promedios de log<sub>10</sub> (CFU /mL) a) *Candida albicans*, b) *C. glabrata* [43].

CAPÍTULO

3

# METODOLOGÍA

---

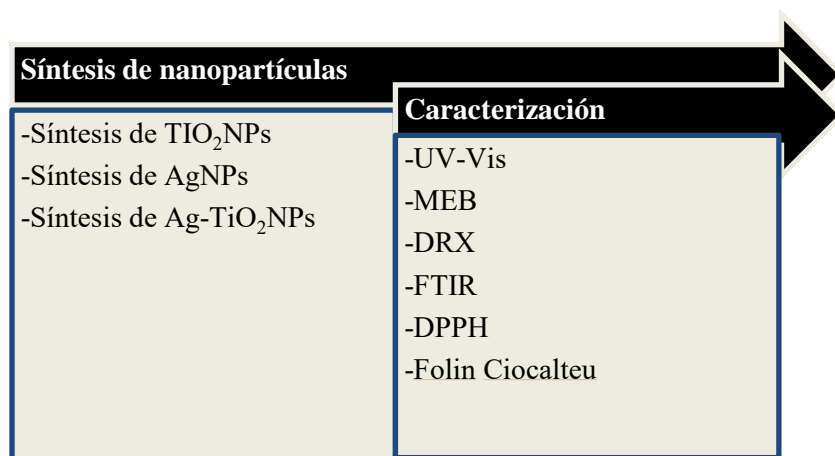
*"Empieza por hacer lo necesario, luego haz lo posible y de pronto estarás logrando lo imposible."*

*-San Francisco de Asís*

### CAPÍTULO III

#### DESARROLLO EXPERIMENTAL

De acuerdo a los objetivos del tema y a la revisión de la literatura, la Figura 3.1 muestra un diagrama general de la estrategia seguida para el desarrollo del proyecto. Esta se divide en tres fases principales: en primer lugar, se llevó a cabo la síntesis verde de las TiO<sub>2</sub>NPs, AgNPs y TiO<sub>2</sub>-AgNPs utilizando como agentes reductor y estabilizante los extractos de *O. vulgare* y *S. praealtum*, respectivamente; posteriormente, se procedió a su caracterización.



**Figura 3.1.** Procedimiento general a seguir en el proyecto de investigación.

### 3.1 Biosíntesis de TiO<sub>2</sub>-AgNPs

Las TiO<sub>2</sub>-AgNP se obtuvieron por síntesis verde, para ello, primeramente se recurrió a la adquisición de las plantas (*O. vulgare* y *S. praealtum*) de forma seca en un mercado local en la ciudad de Morelia, de las sales precursoras metálicas (AgNO<sub>3</sub> y TiCl<sub>4</sub>) y material en general a utilizar. Ya conseguido todo, inicialmente se sintetizaron las TiO<sub>2</sub>NPs y, en segunda instancia, se agregó de manera dosificada la disolución de AgNO<sub>3</sub> para el recubrimiento con plata sobre las TiO<sub>2</sub>-AgNPs (núcleo-coraza).

### 3.1.1 *Materiales*

Para la obtención de las NPs con el método ya comentado, se emplearon estos precursores inorgánicos los siguientes reactivos:

- Tetracloruro de titanio ( $\text{TiCl}_4$ ) 99.0% de pureza
- Nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) 99.5% de pureza

### 3.1.2 *Procedimiento*

#### 3.1.2.1 *Preparación del extracto*

Para los extractos acuosos de las plantas, se utilizaron diferentes concentraciones de cada una de ellas: 0.02, 0.04 y 0.06 g/L. Para ello primeramente, cada una de las plantas se llevó a molienda por maceración en mortero. Posterior al polvo obtenido, se pesaron 2 g y se agregó a 100 ml de agua destilada para calentarla durante 30 min a 60 °C. Finalmente, se dejó enfriar. Todo esto, para cada planta, refrigerándolas en recipientes herméticamente cerrados para sus posteriores usos.

#### 3.1.2.2 *Síntesis de $\text{TiO}_2$ NPs*

En una primera etapa, se sintetizaron las  $\text{TiO}_2$ NPs en un vaso de precipitado con 5 mL de extracto de *O. vulgare*, se adicionaron 5 mL de una disolución acuosa de  $\text{TiCl}_4$  a 10 mM de tal modo que la concentración final de la mezcla de reacción esté presente a 5 mM. De la misma manera se llevó a cabo con el extracto de *S. praealtum* y combinados.

#### 3.1.2.3 *Síntesis de AgNPs*

Con el fin de conocer la eficiencia de la reducción de plata de los extractos, se llevaron a cabo ensayos para la obtención de AgNPs en la misma forma que las de  $\text{TiO}_2$ , solamente

usando como precursor la disolución acuosa de  $\text{AgNO}_3$ . Los cambios a los que fue sujetos esta metodología, conforme se describen los resultados.

#### **3.1.2.4 Formación de nanopartículas núcleo-coraza**

Ya teniendo la mezcla inicial de reacción de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ , se procedió a lavar por centrifugación, por 30 min a 5000 rpm, recuperando el sobrenadante y se redispersó en agua destilada. En 5 mL de esta disolución lavada, se añadió 2.5 mL de extracto combinado de *S. praealtum* y *O. vulgare*. La segunda etapa correspondió a la formación de la capa de plata sobre las  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ . Para ello, en la disolución anteriormente realizada, se le añadieron gota a gota bajo agitación constante 2.5 mL de disolución de  $\text{AgNO}_3$  a 10 mM, de tal forma que al igual que el anterior, la concentración final de la mezcla de reacción esté presente a 2.5 mM.

### **3.2 Caracterización**

La técnica de análisis de espectroscopía de absorción UV-Vis permitió confirmar la formación de NPs. Esta técnica correlaciona las bandas de absorción debidas a la resonancia del plasmón de superficie y con ello proporcionar información de la distribución de tamaño y las formas de las NPs [44]. Los espectros resultantes son representados como la absorción frente a la longitud de onda en la región UV-Vis [45].

Por otro lado, con la microscopía electrónica de barrido (MEB), se realizó la determinación de forma preliminar, del tamaño y forma de las nanopartículas.

Este microscopio cuenta con la técnica de espectroscopía de dispersión de energía (EDS) que sirvió para realizar un análisis elemental para la confirmación de la Ag y  $\text{TiO}_2$  en las NPs. Con esta técnica se pueden detectar elementos químicos con número atómico  $>4$  de manera cualitativa y semicuantitativa que se encuentren en la muestra analizada [46].

Un análisis químico y de determinación estructural de las moléculas, se realizó por espectroscopía de infrarrojo (FTIR). Los grupos funcionales tienen frecuencias

características en las cuales absorben esas longitudes de onda que van desde 2.5 a 16  $\mu\text{m}$ . Esta se utilizó con el fin de identificar las sustancias presentes en el extracto natural, en donde se pretende obtener información de los grupos funcionales del extracto, que ambas fueron correlacionadas. De igual forma, se aplicó para conocer la estabilidad del extracto antes y después de la reacción de síntesis de NPs.

Finalmente, la difracción de rayos X se utilizó para dos aspectos diferentes pero complementarios: por una parte, la geometría de las direcciones de las difracciones brinda información sobre el sistema cristalino [47]. Otro aspecto a considerar de la técnica de difracción de rayos X, es que por medio de ésta se determinó el tamaño promedio de las partículas a través del uso de la ecuación de Debye-Scherrer, condicionada de que la red cristalina esté libre de deformaciones y que los cristales predominen en la muestra [48].

### 3.3 Capacidad reductora DPPH

En la síntesis verde de nanopartículas es fundamental conocer el poder reductor de los compuestos naturales de las plantas. Por ello, es importante determinar la actividad reductora de los extractos participantes en este trabajo por medio del ensayo de la reducción de radical libre 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) según el método descrito por Lee y col. [49]. Se adicionó 100  $\mu\text{L}$  de extracto de cada planta en diferentes concentraciones (7 mg/mL, 14 mg/mL y 21 mg/mL), se complementó con 900  $\mu\text{L}$  de agua destilada, para posteriormente agregar 1 mL de solución de DPPH a 0.2 mM en etanol y se homogenizó. Se incubaron durante 30 min en oscuridad a temperatura ambiente. De la misma forma, los controles se prepararon sin extracto (control negativo) y con BHT (como control positivo). Pasado el tiempo, se determinó la densidad óptica (DO) midiendo la absorbancia de la muestra a 517 nm en un espectrofotómetro UV/VIS Perkin-Elmer Lambda 18. El porcentaje de la actividad reductora (AR%) se determinó con el uso de la siguiente fórmula:

$$AR\% = \left[ \frac{(DO_{517\text{control}} - DO_{517\text{muestra}})}{DO_{517\text{control}}} \right] \times 100$$

### 3.4 Cuantificación de polifenoles Folin-Ciocalteu

La determinación del contenido total fenólico de los extractos preparados de las plantas *S. praealtum* y *O. vulgare* se llevó a cabo por un ensayo colorimétrico por medio del reactivo de Folin-Ciocalteu. Siendo este, un método basado en la transferencia de electrones en medio alcalino de moléculas fenólicas hacia complejos fosfolíbdico/fosfotúngstico, pasando de un morado a un azul indicativo de la reacción de óxido-reducción [50]. Según el método detallado en [51], se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de la muestra de cada una de las plantas (Tabla 3.1) por triplicado en tubos de ensaye, seguidamente 400  $\mu\text{L}$  de agua destilada y 300  $\mu\text{L}$  de reactivo de Folin-Ciocalteu a 2 M y se agitó toda la mezcla en un vortex 10''-15''. Cuando se hallaron homogeneizadas las muestras se le adicionó 1200  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (carbonato de sodio) a 0.7 M y se procedió a incubar por 2 h en ausencia de luz bajo temperatura ambiente. Pasado el tiempo, se evaluó la absorbancia a 765 nm en el espectrofotómetro antes mencionado. Los resultados obtenidos se compararon con una curva de calibración realizada a partir de ácido gálico 0.1 mg/mL (Tabla 3.2).

**Tabla 3.1.** Ensayos realizados por el método de Folin-Ciocalteu

Planta	Extracto ( $\mu\text{L}$ )	Agua destilada ( $\mu\text{L}$ )	Folin-Ciocalteu ( $\mu\text{L}$ )	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ ( $\mu\text{L}$ )
<b>S. praealtum</b>	100	400	300	1200
<b>O. vulgare</b>	100	400	300	1200
<b>L. Angustifolia</b>	100	400	300	1200

**Tabla 3.2.** Reactivos para la curva de calibración

<b>Ácido gálico (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>Agua destilada (<math>\mu\text{L}</math>)</b>
25	475
50	450
100	400
200	300
300	200
400	100
0	500

Se utilizó un volumen Folin-Ciocalteu y  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  de 300  $\mu\text{L}$  y 1200  $\mu\text{L}$  respectivamente para cada uno de las concentraciones.

CAPÍTULO

4

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

*"Los sabios son los que buscan la sabiduría; los necios piensan ya haberla encontrado."*

*-Napoleón Bonaparte*

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En toda ciencia exacta, es esencial en un trabajo de investigación una adecuada interpretación de los resultados obtenidos a través de un correcto procedimiento experimental. Estos resultados, deben en todo aspecto ser valorados al término de su obtención, debido a que es un punto importante para el comienzo del proceso experimental subsecuente y con ello permitir modificaciones que lleven a mejoras del proceso, para el caso de no conseguir lo esperado en primera instancia. En este apartado, se presentan los resultados obtenidos de manera cronológica y conforme a lo establecido en los objetivos. Además, se realiza una descripción y discusión adecuada que determina diferencias, pros o contras, respecto a otros trabajos reportados por otros autores y con ello contribuir al campo del conocimiento del tema en cuestión.

#### 4.1 Síntesis de nanopartículas de TiO<sub>2</sub>

Dentro de este apartado se pretende establecer la descripción de lo obtenido en cuanto a la síntesis de TiO<sub>2</sub>NPs por diferentes parámetros y condiciones además de las técnicas utilizadas.

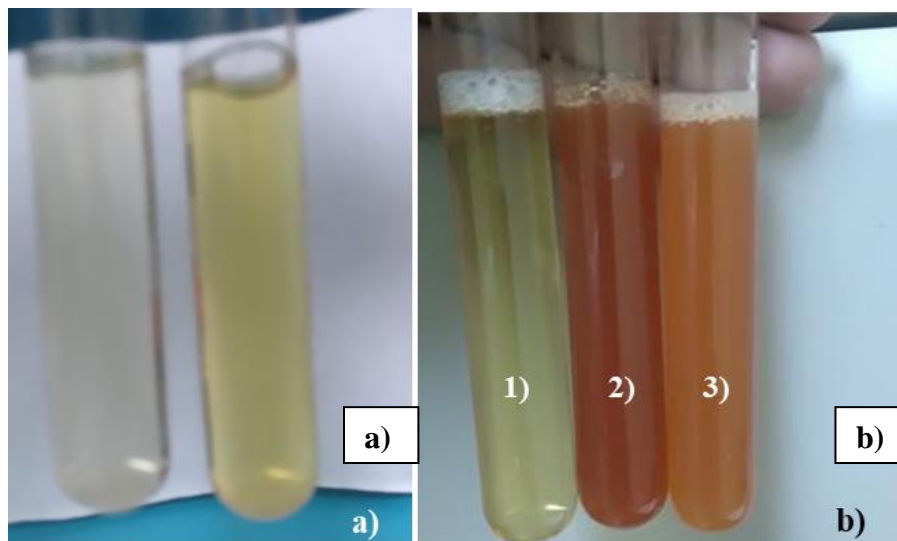
##### a) Biosíntesis por medio del uso de extracto de *S. praealtum* y *O. vulgare*

En la Figura 4.1a se puede apreciar el color de los extractos de *S. praealtum* y *O. vulgare* (de izquierda a derecha, respectivamente) después de su preparación de 2 g en 100 mL de agua destilada a 60 °C por 30 min. Mientras que en la Figura 4.1b se observa la coloración que resultó después de combinar los extractos de a) *S. praealtum*, b) *O. vulgare* y c) combinados en relación 1:1 con solución acuosa de tetracloruro de titanio (TiCl<sub>4</sub>) a 5 mM, en relación 1:1 respecto al extracto correspondiente. El cambio de color procedió inmediatamente al agregar la solución de titanio; en el caso con *S. praealtum* se oscureció mientras que en *O. vulgare* y combinados cambiaron a un rojo intenso y naranja,

respectivamente. Pasado 5 min aproximadamente de completar la reacción, tiende a formarse un precipitado de coloración antes mencionada.

Estos cambios iniciales de color dentro de la reacción, se deben principalmente a los cambios químicos de las moléculas de antocianinas presentes en los extractos de las plantas. Como se sabe, las antocianinas son un grupo de metabolitos naturales de naturaleza fenólica y que en muchos casos están unidos a un azúcar que, al someter a temperatura se desprende este y queda solo el compuesto fenólico, que por sí solo es incoloro y que, al entrar en contacto con la solución de  $\text{TiCl}_4$  (preparada a baja temperatura para evitar la hidrólisis violenta y no controlada), del cual se hidroliza una fracción de moléculas provoca la formación de  $\text{HCl}$ , lo que acidifica el sistema, esto lo describe Goutam y col. [52] al presentar un posible mecanismo de formación de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  empleando extracto de *Jatropha curcas L.*

Estos cambios de pH ejercen un efecto en la estructura y así mismo, en la estabilidad de las antocianinas, en las que a pH menores a dos, estas moléculas se encuentran como ión oxonio o catión flavilio ( $\text{AH}^+$ ) forma más estable y de color rojizo intenso [53, 54] como se puede observar en la muestra realizada con *O. vulgare*, esto indica que la planta es rica en antocianinas (Tabla 2.2). No así para *S. praealtum*, que solo cambió a un color más oscuro, lo que revela su bajo contenido de esos fenoles. El precipitado posterior correspondió a las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ , ya que este se analiza en posteriores caracterizaciones. Además, estos cambios de coloración también son atribuibles en parte a la formación de complejos clorados, como lo es  $\text{TiOCl}_2$ . Así lo señala Chang y col. [55] al sintetizar partículas de anatasa a través electrodiálisis de la solución acuosa de  $\text{TiCl}_4$ , ya que ellos también preparan una solución patrón de  $\text{TiCl}_4$  en agua a bajas temperaturas para evitar una hidrólisis violenta y completa, consecutivamente añadieron más agua y con este incremento provén mayormente la hidrólisis, favoreciendo la aparición de ese color naranja. Algo similar sucede al momento de agregar la solución de  $\text{TiCl}_4$  al extracto, también preparado en agua, dando cabida a un aumento en la velocidad de hidrólisis por el cambio de una temperatura mayor y crecimiento de la relación  $\text{TiCl}_4/\text{H}_2\text{O}$ , formándose estos complejos.

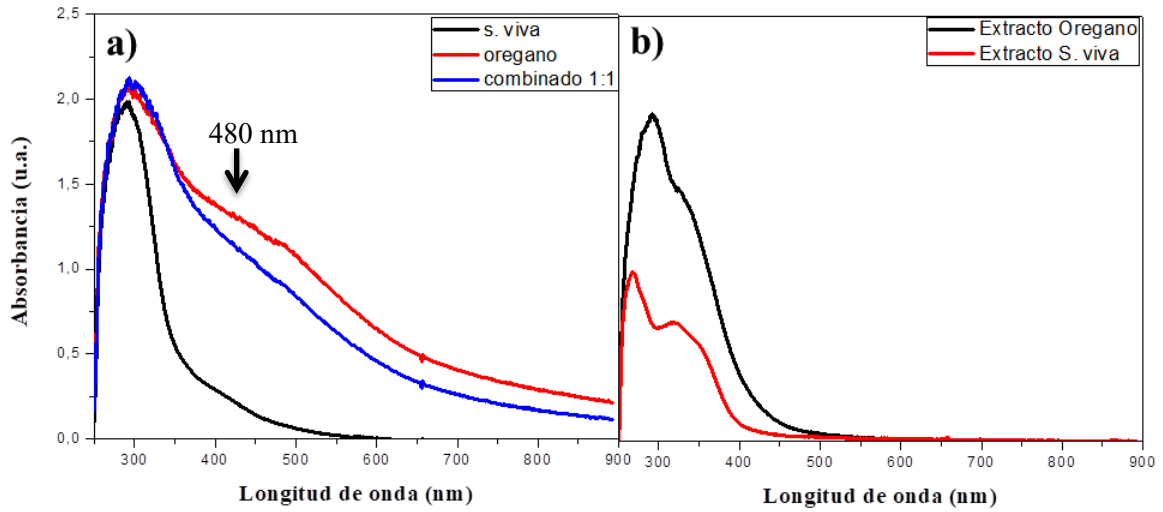


**Figura 4.1.** Muestras de la coloración de los extractos preparados a) y b) obtenida después de la reacción entre la solución de tetracloruro de titanio ( $\text{TiCl}_4$ ) con cada uno de los extractos evaluados:

1) *S. praealtum*, 2) *O. vulgare* y 3) Combinado relación 1:1.

La espectroscopía de UV-vis es una técnica preliminar que permite establecer en primera instancia la presencia de sólidos en forma de nanopartículas. En el caso particular de las  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ , en la literatura maneja un pico máximo de absorción en un rango de 300-400 nm [56, 57]. En la siguiente Figura 4.2a y 4.2b se puede observar los espectros correspondientes a la reacción de cada extracto con la solución de  $\text{TiCl}_4$  y el espectro de los extractos por sí solos, respectivamente. En ambos casos, se calibró el equipo con agua destilada como blanco. Se puede observar que en la Figura 4.2a se presentan en los tres casos, señales dentro de los 300 nm característicos de la formación de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  y una señal en 480 y 530 aproximadamente presente en *O. vulgare* y combinado, típico de longitudes de onda máximo de absorción de antocianinas, dependientes de los cambios en los radicales y posiciones de radicales hidroxilo e hidrógeno[58, 59].

No obstante, en la Figura 4.2b se denota que el principal pico de absorbancia de los extractos cae dentro del intervalo correspondiente a las  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ , lo que podría significar una interferencia para identificar la señal de formación de las  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ . No obstante, de menor intensidad y recorridos hacia la izquierda, lo que representó una complicación inicial en la determinación de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ .



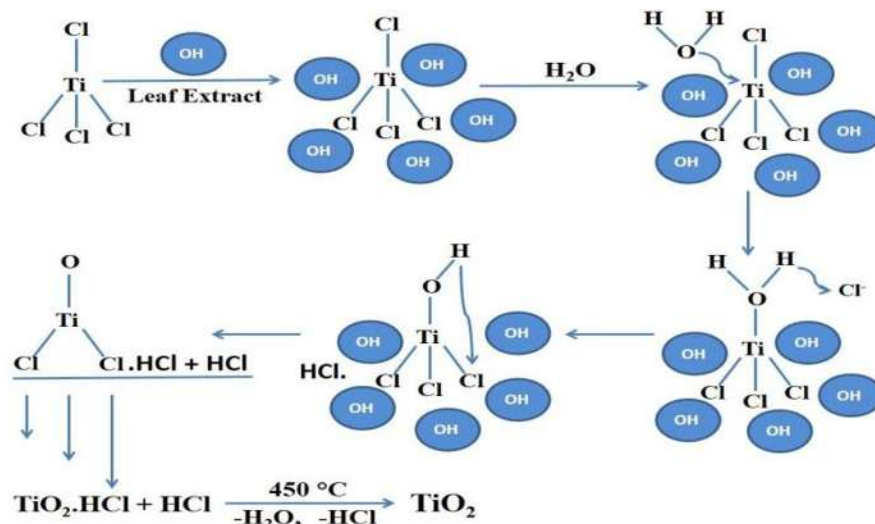
**Figura 4.2.** Espectro UV-vis de nanopartículas de  $TiO_2$  utilizando los extractos de *S. praealtum*, *O. vulgare* y combinados (a). Espectro correspondiente a los extractos puros después de ser preparados (b).

Las antocianinas además de todas las características mencionadas, se ha demostrado que tienen propiedades de secuestrar metales de transición y que dependiendo del sistema, pueden presentar bajos potenciales de reducción, que provoca que se comporten como agentes pro-oxidantes, que es contrario a antioxidante [60].

Además, al analizar la química acuosa del titanio en condiciones acidas fuertes, se han encontrado que debido a la relación alta de carga-radio atómico, la especie  $Ti^{+4}$  no se halla completamente en el sistema, aunque termodinámicamente se tiene una mayor probabilidad de encontrar el titanio como  $Ti^{+3}$  (véase anexo 1), de se encuentre en equilibrio con especie divalentes como:  $TiO^{+2}$  y  $Ti(OH)_2^{+2}$  y que toma gran importancia a  $pH > 0.7$  [61, 62] al presentarse la hidrólisis a ese pH:



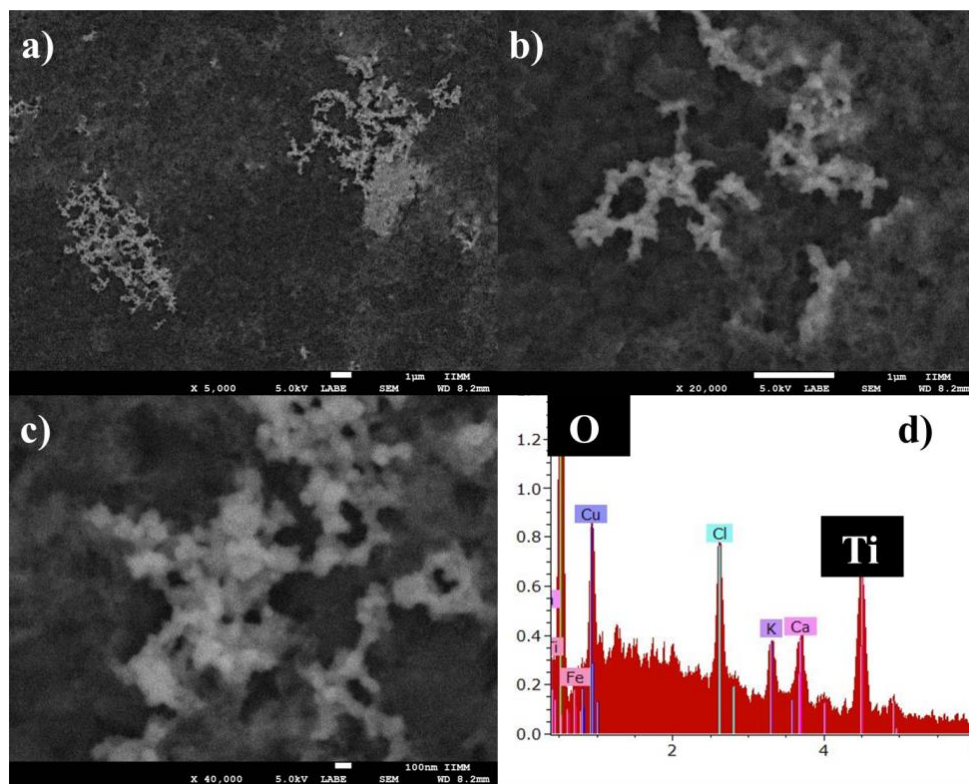
Esto significa, que los grupos hidroxilos y carbonilos de estos compuestos naturales tendrían interacción con las especies de Ti en la solución y generarían la hidrólisis y, con ello la formación a  $\text{TiO}_2$  (véase anexo 2). Así lo sugiere Goutam y col. [52] en el mecanismo de formación de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ , mostrado en la Figura 4.3. De igual forma, se ha atribuido que por medio de esta interacción, se forman complejos desarrollados entre el Ti (IV) con compuestos orgánicos o peróxido de hidrógeno presentes en la planta, en una especie de producto intermedio [63, 64], así lo remarca Sundrarajan y col. [65], al sintetizar  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  por medio del uso del extracto de las hojas de *M. citrifolia*, en la que establecen que los grupos carbonilos e hidroxilos de la antraquinona (metabolito extraído de *M. citrifolia*) interactúan con el  $\text{TiCl}_4$  formando enlaces no covalentes instituyendo un complejo de titanio [66] que posteriormente se calcina y, que por intolerancia térmica elimina las moléculas orgánicas asegurando la formación de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  y su cristalinidad, constituyendo a los compuestos del extracto, como agentes controladores de la hidrólisis y condensación de  $\text{TiO}_2$ . Cabe destacar, que a pesar que calcinan las muestras para mayor eficiencia de obtención de  $\text{TiO}_2$ , estas moléculas son muy inestables a estos cambios estructurales, por lo que no se descarta la formación debido a la condensación y con ello la precipitación de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  sin utilizar altas temperaturas.



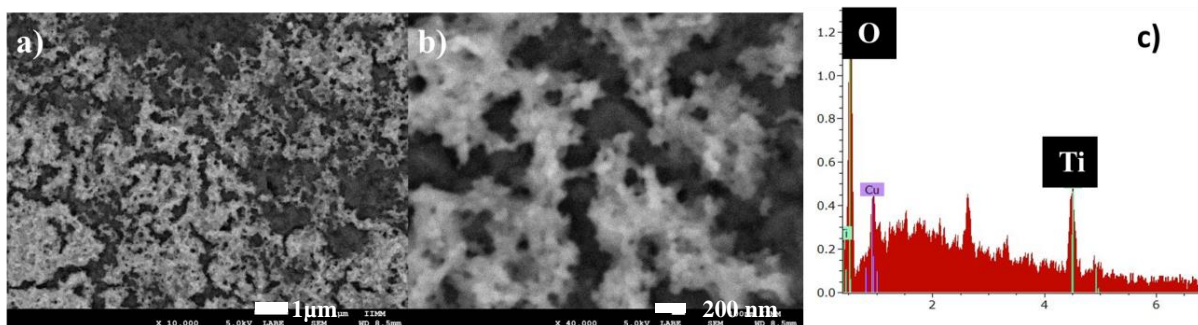
**Figura 4.3.** Esquema de posible mecanismo de formación de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  a través de la interacción con grupos (-OH) de los compuestos de las plantas [52].

Se pretendió comprobar los resultados obtenidos por espectroscopía UV-vis, como es la presencia de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ . Para ello, es necesario observar el material sintetizado y esto se logra por medio de diversas técnicas, de las cuales una de ellas es la microscopía electrónica de barrido (MEB) y espectroscopía de energía dispersiva (EDS). Estas permiten estudiar la morfología, tamaño, así como la composición del material por medio de análisis químico elemental. En la Figura 4.4 se muestra micrografías electrónicas de barrido representativas de la muestra obtenidas a partir del extracto de *S. praealtum* a diferentes ampliaciones: 5000X, 20 000X, 40 000X, por técnica LBE que combina electrones secundarios (morfología) y retrodispersados (composición) y el análisis EDS de la muestra. En esta se observan cúmulos de sólidos de  $\text{TiO}_2$ , donde en la micrografía de mayor ampliación se puede observar que se trata de cúmulos formados de individuos de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  de tamaño menor a 100 nm aprox. También, se aprecia que se encuentran ya coalesciendo entre ellas formando una especie de cadenas. Las cuales a pesar de estar encadenadas, se encuentran aisladas en forma de cúmulos lo que indicaría que la planta es efectiva para el control de la síntesis de  $\text{TiO}_2$  y al mismo tiempo contiene cierta cantidad de surfactantes que no permiten la completa coalescencia de estas nanopartículas. En lo que se refiere, a las que se logran unir, es debido a la tendencia de los planos preferenciales de mayor empaquetamiento a unirse entre ellos en respuesta a tender al equilibrio energético.

En la Figura 4.5 se observan las micrografías logradas con el uso del extracto de *O. vulgare*. Donde la Figura 4.5a ilustra la gran densidad de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  uniformemente distribuidas y de forma esferoide. Aparte de la mayor cantidad de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ , un aspecto diferente a la muestra anterior empleando *S. praealtum*, es el mayor grado de coalescencia, asimismo, que se encuentran dentro de alguna especie de segunda fase, presumiblemente parte de la fase orgánica o complejo orgánico de titanio formado, como previamente se menciona, que no condensó. Estos resultados concuerdan con el hecho de que la planta *O. vulgare* contiene gran cantidad de compuestos polifenólicos, entre ellos flavonoides, glúcidos y antocianinas, que permitieron una mayor formación de  $\text{TiO}_2$ . Pero sin dejar por hecho que no tiene los suficientes agentes surfactantes que dieran lugar a una dispersión homogénea de partículas individuales sin coalescencia.



**Figura 4.4.** Micrografías electrónicas de barrido en la que se observan las TiO<sub>2</sub>NPs obtenidas a partir del extracto de *S. praealtum*, a ampliaciones de a) 5000X, b) 20 00X y c) 40 000X. Y d) el análisis químico EDS donde se denota la presencia de Ti y O.

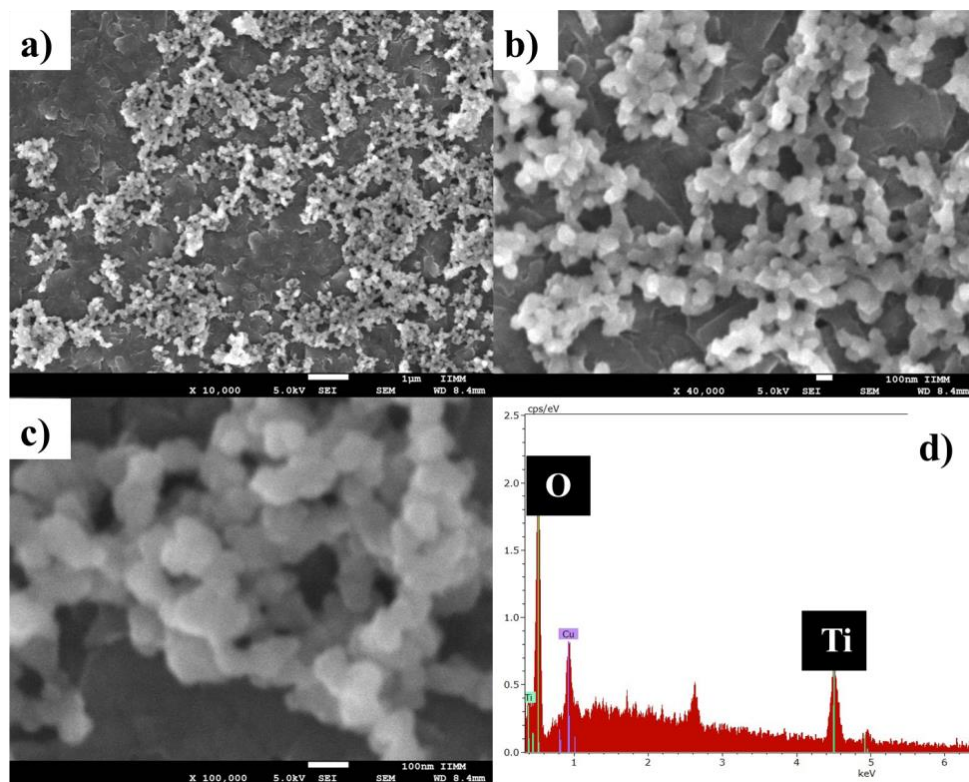


**Figura 4.5.** Micrografías y EDS de TiO<sub>2</sub>NPs obtenidas por medio del extracto de *O. vulgare*.

Las imágenes de la Figura 4.6 obtenidas a partir de la mezcla de los extractos: *S. praealtum* y *O. vulgare* ilustran una formación más limpia de TiO<sub>2</sub>NPs, definidas en tamaño y forma esférica, bajo la técnica de electrones secundarios que muestra morfología, y con ello se

observa la coalescencia entre los individuos. Además el análisis de EDS que resalta la presencia de titanio y oxígeno en forma elemental. Todos estos resultados concuerdan con los presentados en el trabajo realizado por Ghandi y col.[15]. Ellos, por medio del extracto de las hojas de *V. negundo* y  $TiCl_4$  sintetizaron  $TiO_2$ NPs de forma esférica y con tamaño promedio de 93 nm. Sin embargo, en esta última se denota la posible combinación de aspectos que ofrece cada una de las plantas en la síntesis de  $TiO_2$ NPs: por un lado, la cantidad nanopartículas logradas, que sería atribuido a *O. vulgare* y por otro la distribución de tamaño y que es gracias a los surfactantes y agentes estabilizantes que en general, están presentes en el extracto de *S. praealtum*.

Una vez confirmada la presencia de  $TiO_2$ NPs por MEB, se recurrió a la técnica de difracción de rayos X (DRX) para adicionalmente conocer la cristalinidad y las fases en las que se encuentran. Para este caso, se evaluó la muestra mediante el difractograma obtenido de  $TiO_2$ NPs sintetizadas por extracto combinado, presentado en la Figura 4.7. En este se muestra la presencia de tres picos, de las cuales se indexan de acuerdo a la tarjeta cristalográfica [99-101-0244] y muestra la presencia de KCl atribuido a los minerales del extracto de la planta; y por medio de la tarjeta [99-100-9707] perteneciente a la fase anatasa en los ángulos 25.37, 37.12, 54.12, 62.91 correspondientes a los índices de Miller (hkl): (101), (004), (105) y (204) indicando la presencia de esta fase, sin embargo, en muy pequeña intensidad lo que confirma que las  $TiO_2$ NPs presentes en la muestra se encuentran en su mayoría en estado amorfo con un pequeño porcentaje de cristalinidad en fase anatasa. Sanz y col. [67] prepararon  $TiO_2$ NPs mediante hidrólisis de  $TiCl_4$  en condiciones acidas y a baja temperatura, lo que obtuvieron en primera instancia es un material amorfo que al someterlo a temperatura de ebullición aumenta la cristalinidad, presumiblemente por el efecto que esto involucra la eliminación de HCl a temperaturas de ebullición, lo que favorece el crecimiento de cristales en fase anatasa, por medio de la reacción que es mediada por agua que involucra cadenas de titania amorfas pequeñas, no así para las cadenas amorfas grandes que se unen a la superficie de anatasa, lo que detiene su crecimiento de los cristales de la misma.



**Figura 4.6.** Resultados obtenidos mediante la combinación de extractos en relación 1:1, muestran las TiO<sub>2</sub>NPs a diferentes ampliaciones: a) 10 000, b) 40 000, c) 100 000 y d) el análisis químico con la presencia de Ti.

Por medio de la técnica de espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier (FTIR) por sus siglas en inglés Fourier-transform infrared spectroscopy, permitió identificar los grupos funcionales presentes en las plantas utilizadas antes y después de la reacción con TiCl<sub>4</sub>. En la Figura 4.8 se muestra el espectro del extracto de *S. praealtum* antes de la reacción y después de la reacción con TiO<sub>2</sub>NPs. Como se puede observar, las posiciones de las señales de los picos propios del extracto, se mantienen en el espectro de la mezcla de reacción de TiO<sub>2</sub>. En la imagen aparecen varias intensidades en las regiones: (3390, 2920, 1580, 1400, 1380, 1080, 700 y 550 cm<sup>-1</sup>) que corresponden a la presencia de grupos funcionales como: -OH de moléculas de agua y alcoholes, C-H de alcanos, N-H de amidas, C=C de aromáticos, C-O de ésteres, OH de fenoles, respectivamente. El grupo C=C perteneciente a aromáticos, el cual disminuye su intensidad respecto al extracto original y el grupo hidroxilo OH de compuestos fenólicos desaparecen después la reacción,

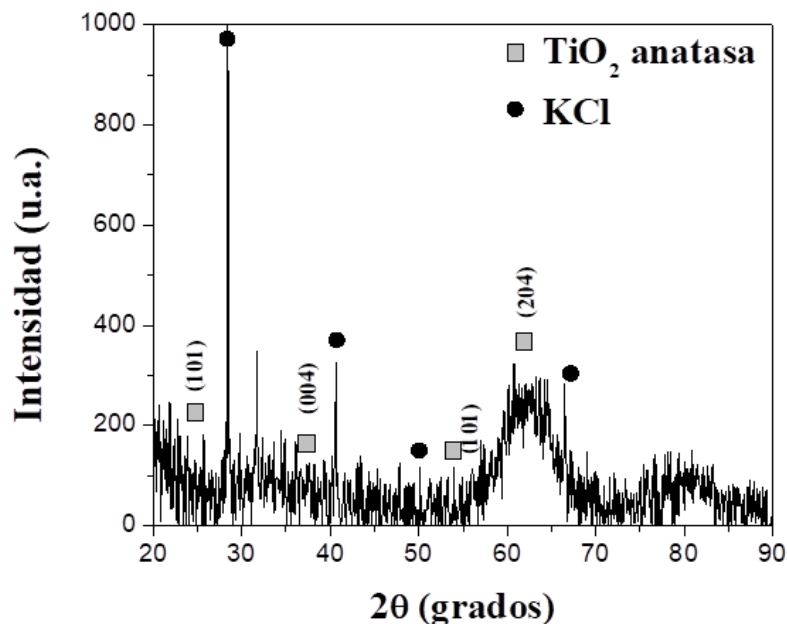
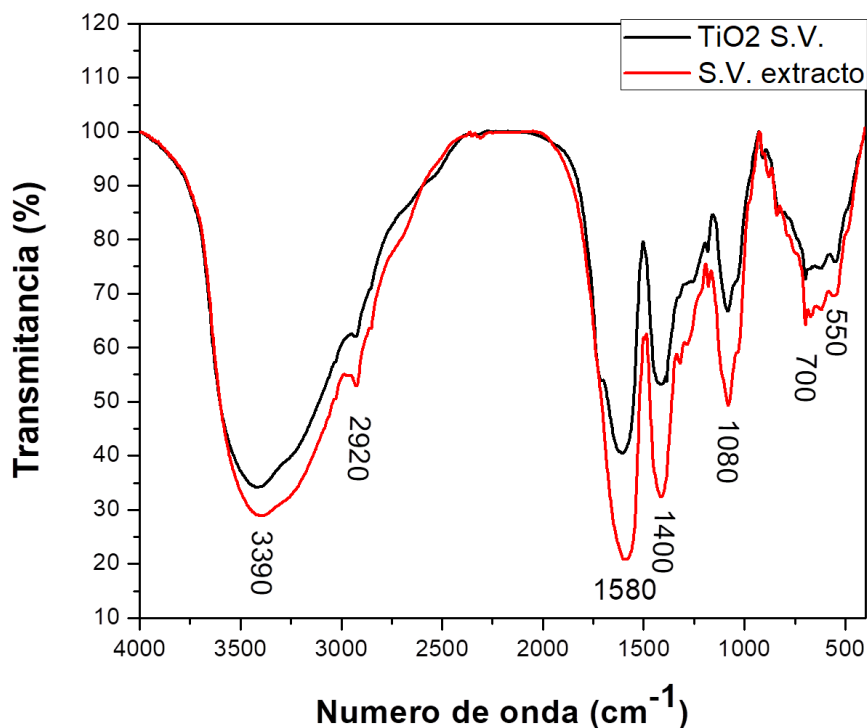


Figura 4.7. Difractograma de rayos X de la muestra con extracto combinado.

indicativo de haber participado en la formación de TiO<sub>2</sub>NPs [15]. Además de todos estos compuestos orgánicos, se puede apreciar la depreciación de las intensidades entre 700 y 550 cm<sup>-1</sup>, con un pico en 696 cm<sup>-1</sup> aproximadamente que de acuerdo a Saravanan y col. [68] corresponden al enlace Ti-O de la fase anatasa. Sin embargo, sí es el caso de la presencia de la fase anatasa, ésta probablemente estaría en un porcentaje mínimo, lo que daría, una razón por la cual no aparece tan claramente en los patrones de difracción de DRX.

#### b) Variación de sal precursora y concentración de extracto

En función de lo anterior se pretendió modificar varios parámetros básicos que pudieran dar como resultado, mejoras al proceso de obtención de TiO<sub>2</sub>NPs y de conseguir una mayor cristalinidad. Esos parámetros básicos resultan ser la concentración de sal precursora y cantidad de planta. Para ello, en primera instancia se tomó la misma concentración de planta anteriormente utilizada y se varió la concentración de TiCl<sub>4</sub>, resultando en el



**Figura 4.8.** Espectro infrarrojo FTIR comparativo entre el extracto natural de *S. praealtum* y TiO<sub>2</sub>NPs preparadas usando *S. praealtum*.

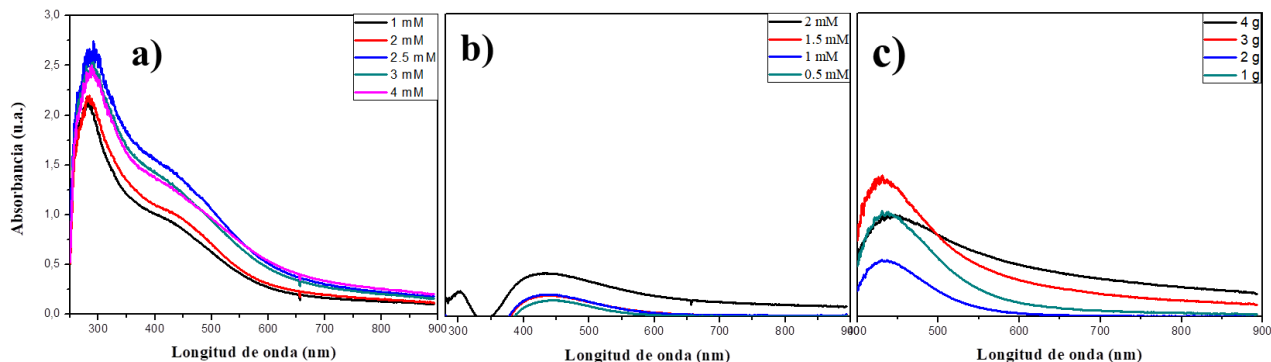
espectro de UV-vis de la Figura 4.9a. En este se puede observar de nuevo, el pico característico de 300 a 320 nm en función de la serie de concentraciones que van de 1 a 4 mM, siendo la de 2.5 mM (misma de la sección anterior) la que presentó un pico de mayor absorbancia tanto en los 320 nm como en los 480 nm. En la Figura 4.9b se presentan también en concentraciones de 0.5 a 2 mM. Sin embargo, en esta ocasión se realizó la medida de absorbancia utilizando como blanco el medio resultante del extracto después de lavarlas, lo que conllevó a la eliminación de interferencia del extracto, arrojando en la curva de 2 mM la aparición de una señal de absorbancia pequeña en 300 nm, lo que sugiere la síntesis de TiO<sub>2</sub> en tamaño nanométrico. Sin embargo, el hecho de que a 2.5 mM se presente una señal mayor en absorbancia en comparación con concentraciones altas correspondiente a 3 y 4 mM, demuestra que la concentración de titanio en solución acuosa afecta la presencia de especies reactivas de titanio en solución debido al desplazamiento de

las condiciones de equilibrio dentro del diagrama de Pourbaix (véase anexo 1) tendiendo hacia especies de óxidos hidratados. Todo lo anterior, suponiendo la ausencia de Cl en el sistema. Sin embargo, Saji y col [61] discuten que por medio de algunos estudios utilizando técnicas de polarografía de pulso diferencial, demuestra la existencia en su mayoría de tres especies en fase acuosa con cloruros en medio fuertemente acida:  $TiO^{+2}$ ,  $TiOCl^+$ , and  $TiOCl_2$ :



Estos estudios no descartaron, incluso, la presencia de complejos oxo, cloro y oxiclорuros. Por lo tanto, en resumen de lo anterior, revela que el aumento de la concentración de sal precursora, bajo condiciones no controladas de acidez, temperatura y cloruros en solución, puede dar cabida a una mayor formación de complejos desconocidos solubles y no solubles, que al no ser los adecuados, estables químicamente hablando, para la interacción con los compuestos orgánicos del extracto, no se puede llevar a cabo una favorable hidrólisis controlada por los compuesto orgánicos y por lo tanto no se obtenga la síntesis de  $TiO_2$ NPs. Sin embargo, esto aún no es contundente ya que no hay estudios termodinámicos de sistemas clorados de titanio todavía que pudieran abrir el panorama si estos compuestos clorados son favorables a reaccionar con los grupos hidroxilo y carbonilo del extracto de la planta.

En el caso de la Figura 4.9c, se tomó esa concentración de 2 mM de sal y se evaluó en diferentes cantidades de planta en el extracto: 1, 2, 3 y 4 g. Teniendo como efecto un comportamiento anómalo por lo regularmente reportado en la literatura, en donde se establece que a mayor cantidad de agentes naturales la eficiencia aumenta, no siendo el presente caso. Lo que se atribuye a que, al momento de la lixiviación de compuestos de la planta (preparación del extracto en diferentes cantidades de planta), se favoreció en 2 g la extracción mayormente de algún metabolito como: fenoles, saponinas, glucósidos, catequinas, flavonoides, alcaloides. antocianinas, etc. Por lo que representa, un proceso químico complicado por la misma naturaleza, variedad y cantidad compuestos químicos presentes [68].



**Figura 4.9.** Espectro UV-vis de la mezcla de reacción por medio de extracto combinado variando la concentración de sal y planta: a) a diferentes molaridades, b) variando la molaridad de la sal y usando el remanente del extracto como blanco y c) variando la masa de la planta.

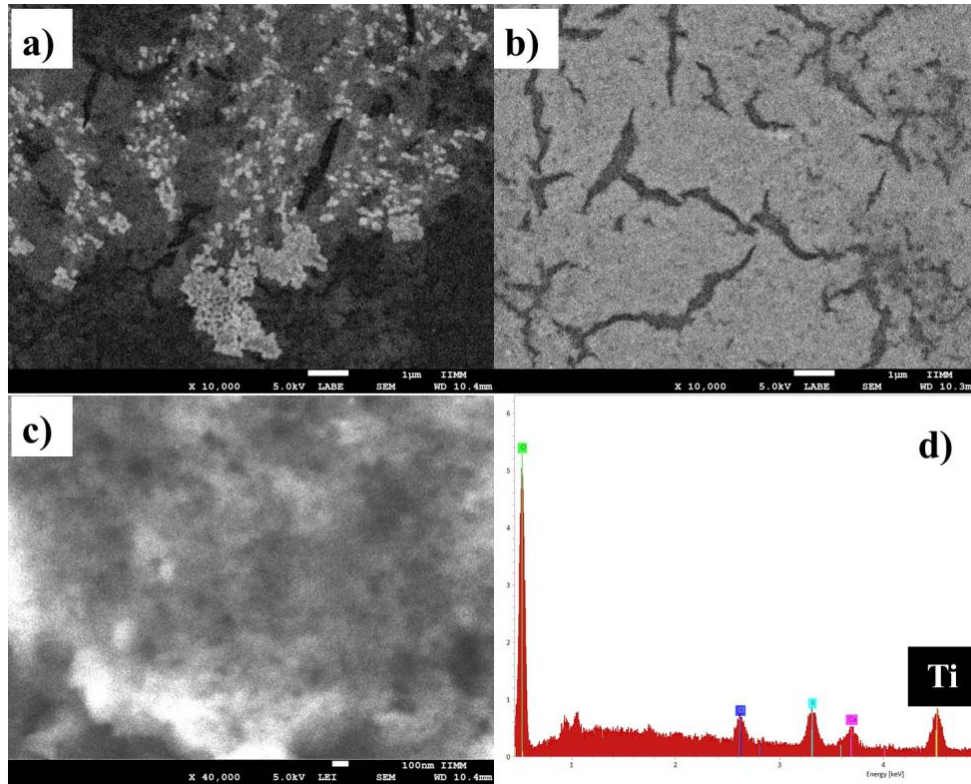
En la Figura 4.10 están representadas las micrografías electrónicas de barrido de la muestra de 2 mM en la que apareció el pico característico de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ , donde se muestra la aparición de zonas al parecer de partículas relativamente grandes, presumiblemente de compuestos clorados (panel a). En la Figura 4.10 panel b, otra zona representativa por la presencia de una fase de bajo contraste, lo que se procedió a tener una amplificación a 40 000X, a esta especie de fase (panel c), no observándose visualmente la aparición de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ , pero sí de una especie de gel de la que se obtuvo un análisis EDS (panel d) que confirma la aparición de titanio elemental dentro esta fase. El hecho de que no haya presencia visual de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  en las micrografías de barrido se atribuye a las variaciones en el sistema en cuanto la concentración de sal se refiere. Es conocido por tanto, que al variar la cantidad de  $\text{TiCl}_4$ , afectaría la acidificación del sistema y por lo tanto, la concentración de  $\text{HCl}$ . Según Brown y col. [69] la solubilidad de diferentes especies de titanio (IV) depende directamente del cuadro ácido en el que se encuentre y la concentración de  $\text{Cl}$  en el sistema. Por lo tanto, a pH mayores a 1 y concentraciones altas de  $\text{Cl}$ , se ha demostrado un porcentaje mayor de especies distintas del ion  $\text{TiO}^{+2}$ , como los son:  $\text{TiOCl}^+$  y  $\text{TiOCl}_2$  presentes en solución de  $\text{TiCl}_4$  (véase anexo 3) [70]. Estos complejos oxiclорuros de titanio junto a los complejos de sulfato de titanio se han demostrado ser estabilizadores de titanio al permitir complejos termodinámicamente estables y solubles lo que evitaría su

precipitación [61, 71]. Sin embargo, hay trabajos que a partir de estos complejos clorados, más específicamente el  $\text{TiOCl}_2$ , han sintetizado polvos de  $\text{TiO}_2$  y  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  por diversos métodos como lo son: la electrodiálisis, que permite la eliminación del ion  $\text{Cl}$  y con ello la precipitación de polvos de  $\text{TiO}_2$  [55], así como la oxidación de la solución de  $\text{TiOCl}_2$  por medio de oxígeno gaseoso y otro, en el que bajo la adición de  $\text{NH}_4\text{OH}$  producen un compuesto intermedio inestable  $\text{TiO}(\text{OH})_2$  que calcinan y forman las  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ [72].

### c) $\text{TiO}_2\text{NPs}$ sintetizadas adicionando surfactante sintético (PVP)

Conforme a lo obtenido en pasos anteriores, se optó por utilizar el surfactante PVP que permitiera la obtención de nanopartículas pequeñas y de alta cristalinidad, en el caso de que el mecanismo de formación de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  fuera por la unión de cadenas de titania amorfas pequeñas y que al no tener suficiente surfactante el extracto, estas crecieran y generarán partículas grandes y coalescencia entre ellas [73]. En la Figura 4.11 panel a se presenta los espectros de la réplica de la primera reacción presentada en este apartado, en la que después de añadida y mezclado la combinación de extracto con la sal 1:1, casi de manera inmediata al cambio de color, se le agregó gota a gota durante dos min solución de 5 mM de PVP. Se compara por lo tanto, la réplica del experimento con y sin surfactante PVP, además del cambio posterior a un día. Lo que se puede observar, es que la muestra que contiene PVP tiene mayor absorbancia en los dos picos presentes (300 nm y 450 nm), mientras que al pasar el tiempo, tanto las tratadas con PVP como las que carecen de él, no mostraron cambio aparente, lo que podría dar pie a que se encuentran en estado estable. Mientras tanto, para la Figura 4.11b se exhibe los espectros utilizando como blanco el sobrenadante del extracto lavado para eliminar la posible interferencia en la banda de interés (300-400 nm). Sin embargo, se demostró que la reacción con y sin PVP no generó  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  al no presentar señal de absorción característica.

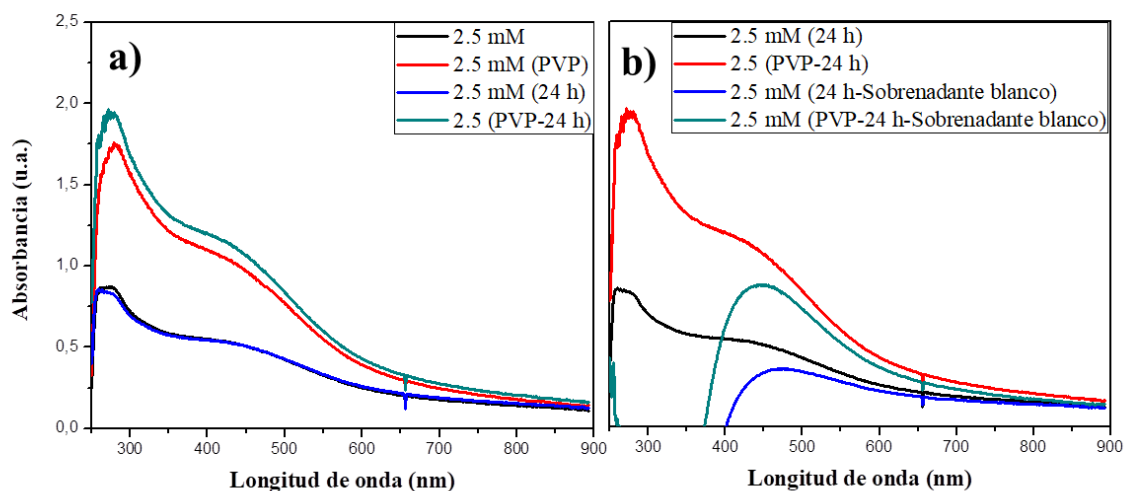
A través de micrografías de barrido mostradas en la Figura 4.12 se consolida lo visto en espectroscopía de UV-vis. Ya que en estas, se puede observar que no hay presencia de sólido cristalino u amorfo que haga referencia a  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ . En cambio se denota la presencia solamente de una fase no sólida, una especie de gel en la que se encuentra embebido el



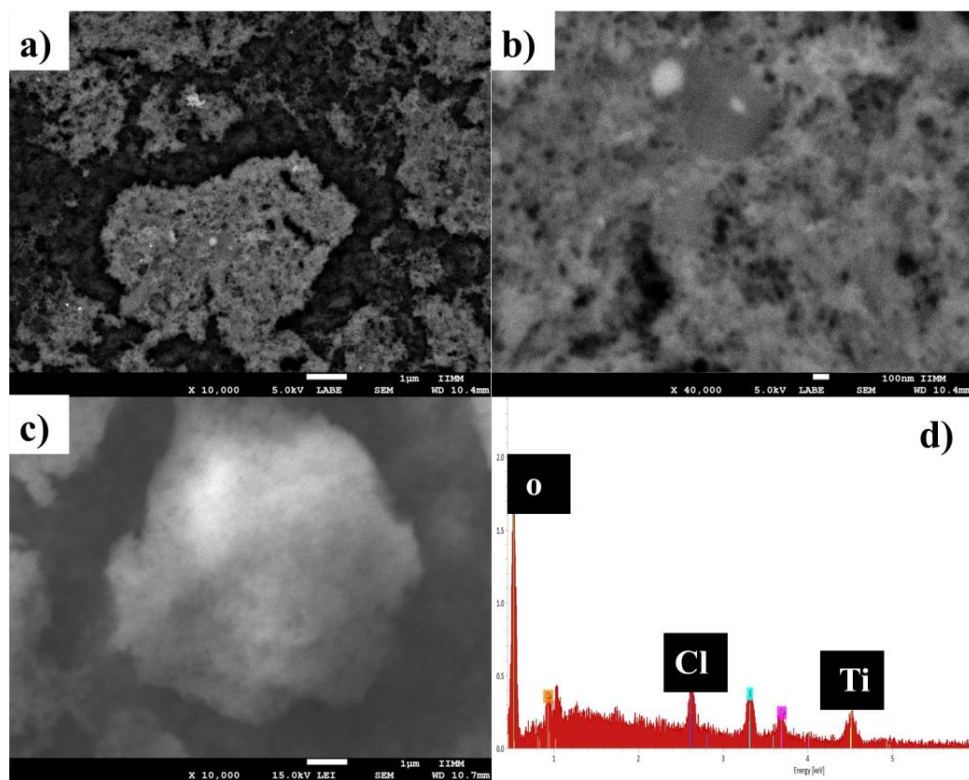
**Figura 4.10.** Micrografías electrónicas de barrido y EDS.

el titanio, lo que es demostrado en el análisis químico de la Figura 4.12d. Lo que sugiere que el PVP impidió la formación de nanopartículas sólidas por ser utilizada en cantidad mayor a la requerida, provocando el encapsulamiento de especies de titanio dentro del polímero mismo.

Para conocer la composición con la que se forma esta especie de fase no sólida, se recurrió a realizar un mapeo químico a un cúmulo (Figura 4.13). Lo que confirmó de nuevo, la presencia de Ti, además de O, así como de Cl. Un aspecto importante que resurge a colación, es el aparente traslape de las posiciones elementales de Ti y O (panel b y d), por lo que se presume que se trata de la formación de especies oxo de titanio ( $\text{TiO}^{+2}$  y  $\text{Ti}(\text{OH})_2^{+2}$ ) además de complejos clorados distribuidos debido al posicionamiento en la que se encuentra el cloro en la micrografía del mapeo químico del panel c.



**Figura 4.11.** Espectros UV-vis de reacción de síntesis de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  utilizando y no utilizando PVP, al instante y después de 24 h (a). Comparación de lecturas con diferentes blancos (b).



**Figura 4.12.** Micrografías de la reacción de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  con PVP después de ser lavada.

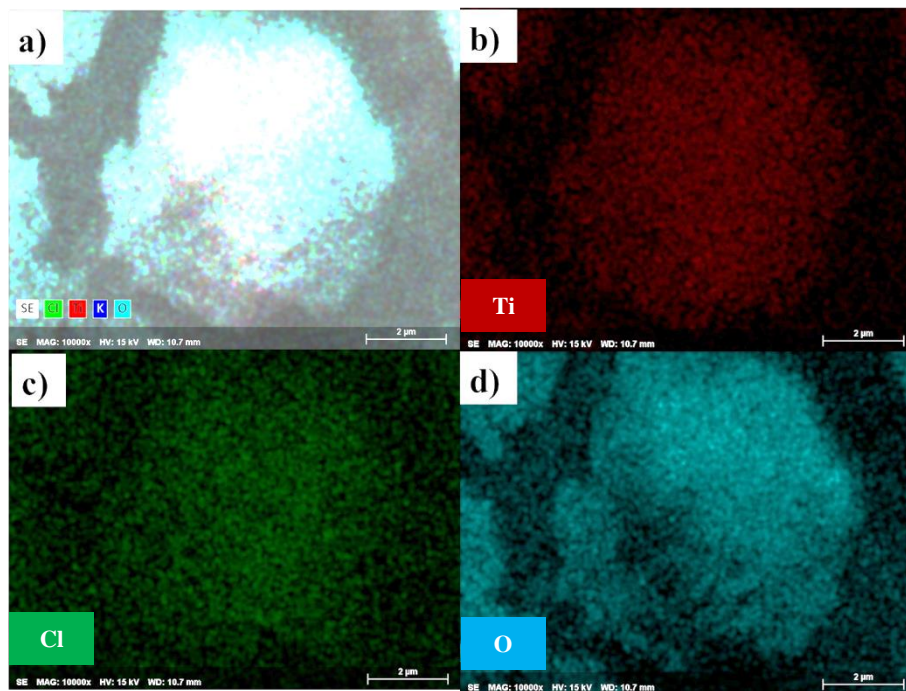
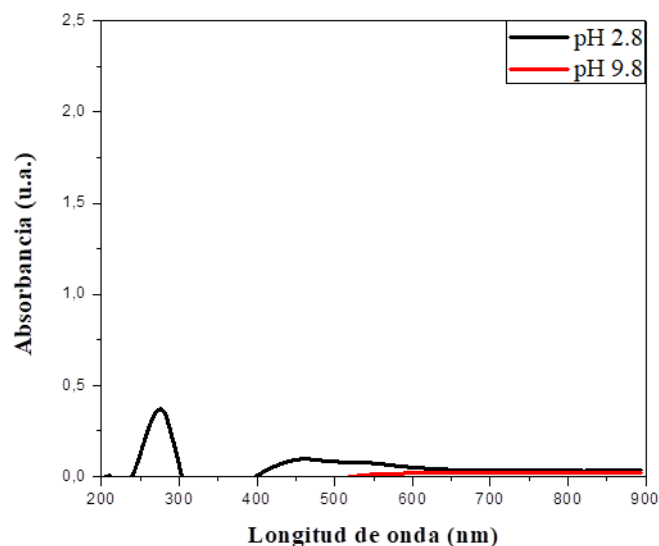


Figura 4.13. Mapeo químico de reacción de nanopartículas con PVP lavada.

#### d) $\text{TiO}_2$ NPs sintetizadas en condiciones ácidas y básicas

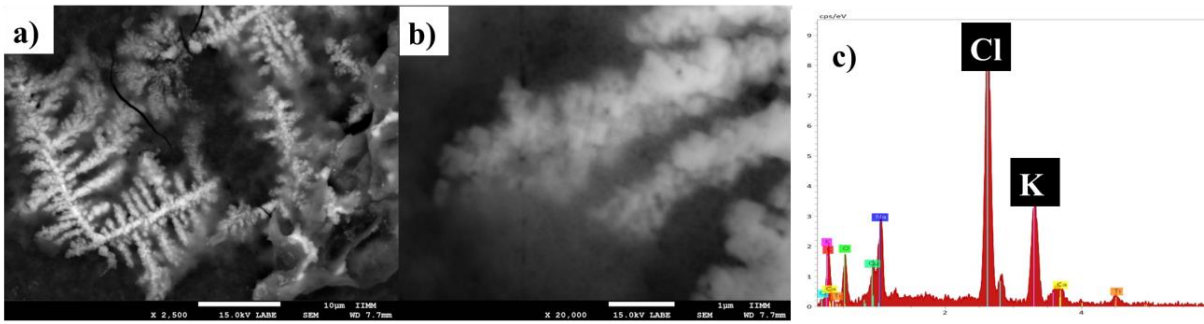
Otro factor que influyen según la literatura y como se ha visto anteriormente de manera importante en la síntesis y estabilización de  $\text{TiO}_2$ NPs es el pH [74], el cual se modificó con ácido acético e hidróxido de sodio (ambos a 0.1 M). El experimento se llevó a cabo bajo dosificación gota por gota a una velocidad de 0.5 mL/min del extracto sobre la sal, ajustando el pH con los reactivos antes mencionados y con agitación constante por 4 h. La Figura 4.14 muestra los dos espectros resultantes, en donde solo en condiciones ácidas de pH (2.8), se presenta una señal de absorción de interés por debajo de los 300 nm. Mientras que en condiciones básicas (pH= 9.8) no se presenta curva de absorción. Lo que daría a entender, que efectivamente a pH bajo se consolida la formación de  $\text{TiO}_2$ NPs, debido a que  $\text{pH} > 2$  coexisten en solución acuosa en equilibrio las especies iónicas como:  $\text{Ti}^{+4}$ ,  $\text{TIO}^{+2}$ ,  $\text{Ti}(\text{OH})_2^{+2}$  (véase anexo 1) y complejos clorados (en un modelo ideal), dando como resultado la iteración de estas tres primeras especies con compuestos orgánicos del extracto facilitando la formación de  $\text{TiO}_2$ NPs [75]. Sin embargo, la contaminación de iones de K y su mayor afinidad por el Cl al secarse la muestra y por leyes de solubilidad, propicia la

precipitación de cristales en forma de dendritas de KCl, que sería los responsable del pico de absorción en 300 nm [76]. Mientras que a  $\text{pH} > 8$ , es de esperarse especies de hidróxidos de titanio, de los cuales sería necesario implementar la aplicación de temperatura para precipitar en forma de nanopartículas, puesto que genera también una fase gel que se debe principalmente a la pectización de estos [72, 77].



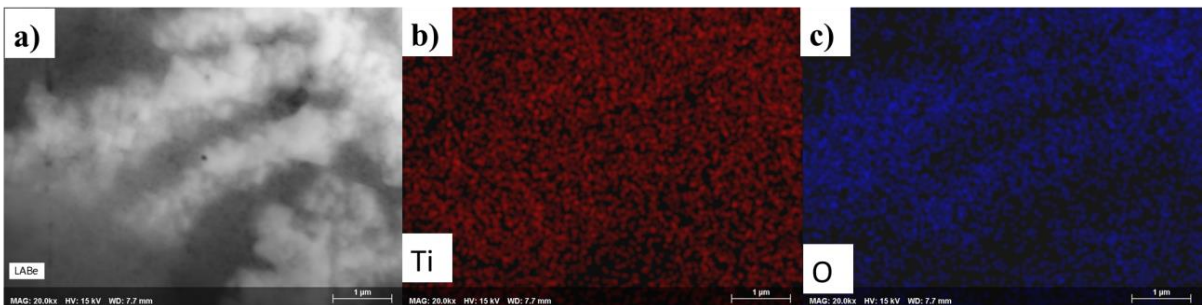
**Figura 4.14.** Espectro de absorción de dos reacciones en las que se les ajusto el pH ácido y básico.

Al evaluar la muestra bajo microscopía electrónica de barrido, se confirmó la formación de una variedad de morfologías microcristalinas de KCl en una especie de estructura dendrítica (Figura 4.15a), influenciada por la condición ácida a  $\text{pH}=2.8$  y además de una fase gel que pudiera tratarse de complejos de titanio clorados (panel b), debido a que se logró identificar la existencia de Cl en dicha fase (panel c). Por lo que, bajo esta condición de pH, no fue lo suficientemente ácida para la solubilidad y existencia de  $\text{Ti}^{+4}$  y oxo de titanio que diera paso a la hidrólisis e interacción con grupos hidroxilos (como ligandos) y con ello formación de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  y aunado a esto, el ion K no beneficia al sistema.



**Figura 4.15.** Micrografías electrónicas en condiciones ácidas y EDS que muestra la formación de cristales de KCl (cloruro de potasio)

De igual manera, se realizó un barrido químico (Figura 4.16) en la región fuera de la estructura dendrítica, revelando que, tanto el titanio y el oxígeno se encuentran uniformemente distribuidos (Figura 4.16 panel a y b). Lo que haría pensar en la formación de especies oxo de titanio o muy pequeñas de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ , pero que, debido a la falta de resolución del microscopio y al porcentaje menor de 2 % de titanio en la muestra respecto a los demás elementos, (lo que no sería factible para su identificación por DRX), también resultaría incorrecto afirmar la formación de éstas. Para ello es necesario examinar la muestra con técnicas como microscopía electrónica de transmisión (MET) y espectroscopía RAMAN. En el caso de confirmarse, se corroboraría lo dicho por Katouei y col.[78], de que aparte de la temperatura, el pH es uno de los principales factores determinantes para la síntesis de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  y su estabilización coloidal.



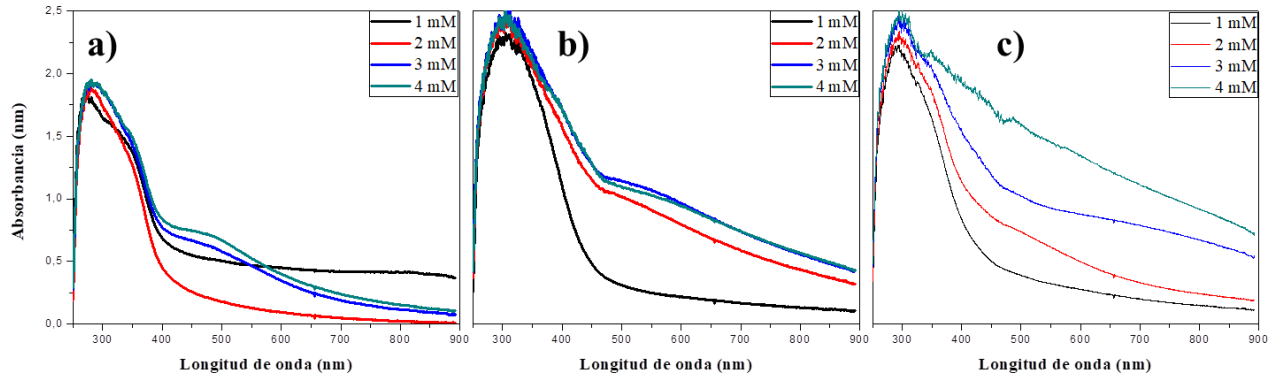
**Figura 4.16.** Mapeo químico en la que se encuentra el titanio en la muestra.

## 4.2 Síntesis de nanopartículas de Ag (AgNPs)

### a) Síntesis de AgNPs al variar la concentración de sal precursora

La presente sección se centra en el desarrollo de AgNPs utilizando la química verde, en la que participa como agentes reductores y estabilizadores los compuestos naturales lixiviados de las hojas de las plantas *S. praealtum* y *O. vulgare*. Así mismo, se discutirán lo obtenido al estudiar las AgNPs por medio de diversas técnicas de caracterización, como son: UV-vis, MEB, TEM, FTIR y DRX. En la Figura 4.17 se muestra los tres espectros propios por la utilización de extractos de: a) *S. praealtum*, b) *O. vulgare* y c) combinada, que fueron preparados con 2 g de planta seca en 100 mL de agua destilada y 60 °C, bajo agitación constante por 30 min, a molaridades de 1 a 4 mM. En la Figura 4.16a las molaridades 3 y 4 mM aparece el pico de plasmón superficial en 480 nm típico de AgNPs, pero con la característica de ser ancho, lo que indicaría una distribución amplia de tamaño o formación de autoensamble de nanopartículas. De la misma manera, en el panel b se presenta un desplazamiento hacia la derecha, alcanzando un máximo en 550 nm indicando posible formación de AgNPs grandes en el límite del rango nanométrico o distribuciones de diferentes formas y tamaños. Mientras tanto, en panel c, el pico máximo empieza a crecer acorde a la relación de sal, sin embargo, a mayor concentración aumenta considerablemente el ensañamiento a lo largo del espectro, revelando también formación de sólidos por encima de 100 nm.

De acuerdo a lo observado en las micrografías electrónicas de barrido (Figura 4.18), por medio de los agentes reductores extraídos en el extracto de *S. praealtum*, se logró la obtención de una alta densidad de AgNPs de tamaño uniforme y aparentemente esféricas. Pero además, la formación de autoensambles en forma de flores y estambres (paneles b y c, respectivamente), de tamaño de 300 nm de diámetro. El panel d ilustra el posible mecanismo de formación de los nanoensambles, al aparecer la nanoestructura se encuentra unida a una especie de cordón de plata (nanohilo o nonolamina de acuerdo a la forma) que se enrolla alrededor de una estructura esférica. Esto provocado por los agentes surfactantes del extracto natural, que permiten un crecimiento direccionado al unirse a planos

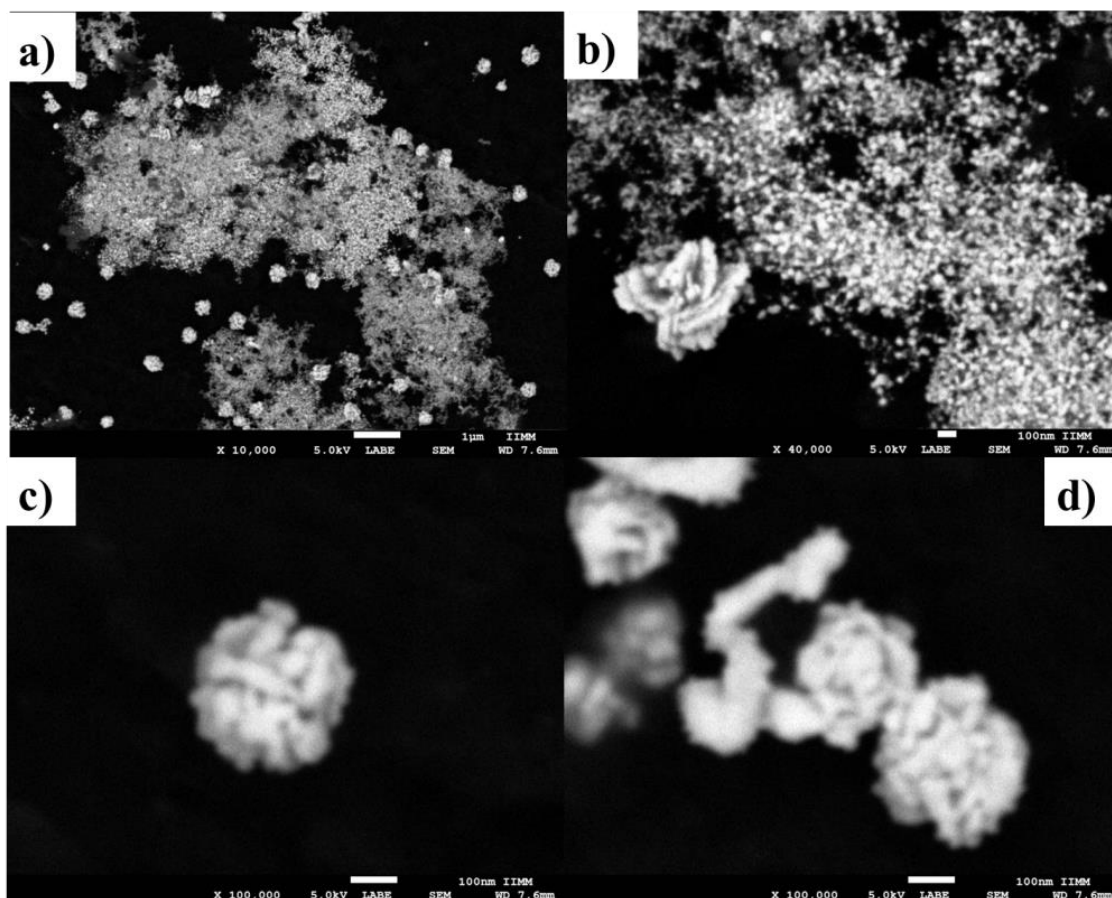


**Figura 4.17.** Espectro UV-vis correspondiente a diferentes molaridades con: a) *S. praealtum*, b) *O. vulgare*, c) combinado.

preferenciales de las nanopartículas, dejando expuesta en cierta dirección lo que permite el autoensamblado o coalescencia las AgNPs de partícula por partícula, lo que da pie a que se formen estas nanoestructuras con dimensiones nanométricos en forma de pétalos o hilos, entrando en la categoría de nanomateriales de dos y una dimensiones, respectivamente [79].

Las AgNPs sintetizadas utilizando *S. praealtum* fueron confirmadas mediante la técnica de difracción de rayos X. La Figura 4.19 muestra un conjunto de fases localizadas en el patrón de DRX que expuso diferentes picos intensos dentro del conjunto de valores de  $2\theta$  que fue de 20-90. La indexación de esos picos reveló la presencia de dos fases: por un lado las reflexiones que corresponden a los ángulos 38, 44, 64 y 77 con familia de planos: (111), (20 0), (2 2 0), (3 1 1), respectivamente [99-101-3078], típicas de la estructura cúbica centrada en las caras (fcc) perteneciente a la plata sólida y, por el otro lado la fase de AgCl. Estos resultados indican en primer lugar, que la planta *S. praealtum* contiene una alta capacidad reductora al reducir los iones  $Ag^+$  a AgNPs y confirman la presencia de  $Cl^-$  en la planta y finalmente, que los cristales no están orientados superficialmente en el plano (200) debido al crecimiento preferencial sobre otros planos, esto debido a la formación de nanoensambles [80].

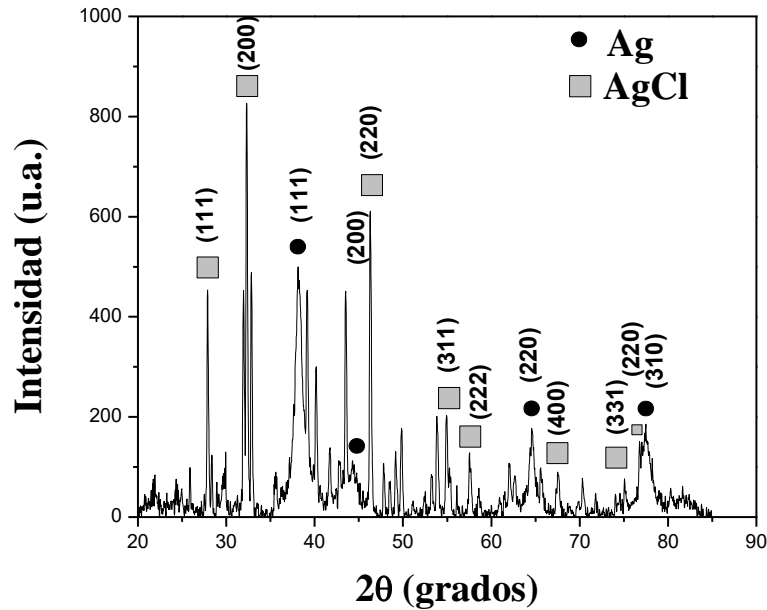
Para el caso de la síntesis de AgNPs usando extracto de *O. vulgare* las micrografías se exhiben en la Figura 4.20 a diferentes aumentos a) 5000X, b) 40 000X y c) 40 000X y d) análisis EDS. En estas se muestra la formación de nanopartículas AgNPs de dos



**Figura 4.18.** Micrografías electrónicas de barrido de la muestra de *S. praealtum* con autoensamble en forma de estambres y flores.

distribuciones de tamaño, de la cual una se encuentra por encima de los 100 nm como lo indicaba su espectro de UV-vis antes mencionado. Estos resultados difieren en la forma y distribución de tamaños de partícula por lo obtenido en Sankar y col. [36] con el uso de la misma planta solo que la reacción la sometieron a incrementos bajos de temperatura, teniendo como consecuencias AgNPs esféricas.

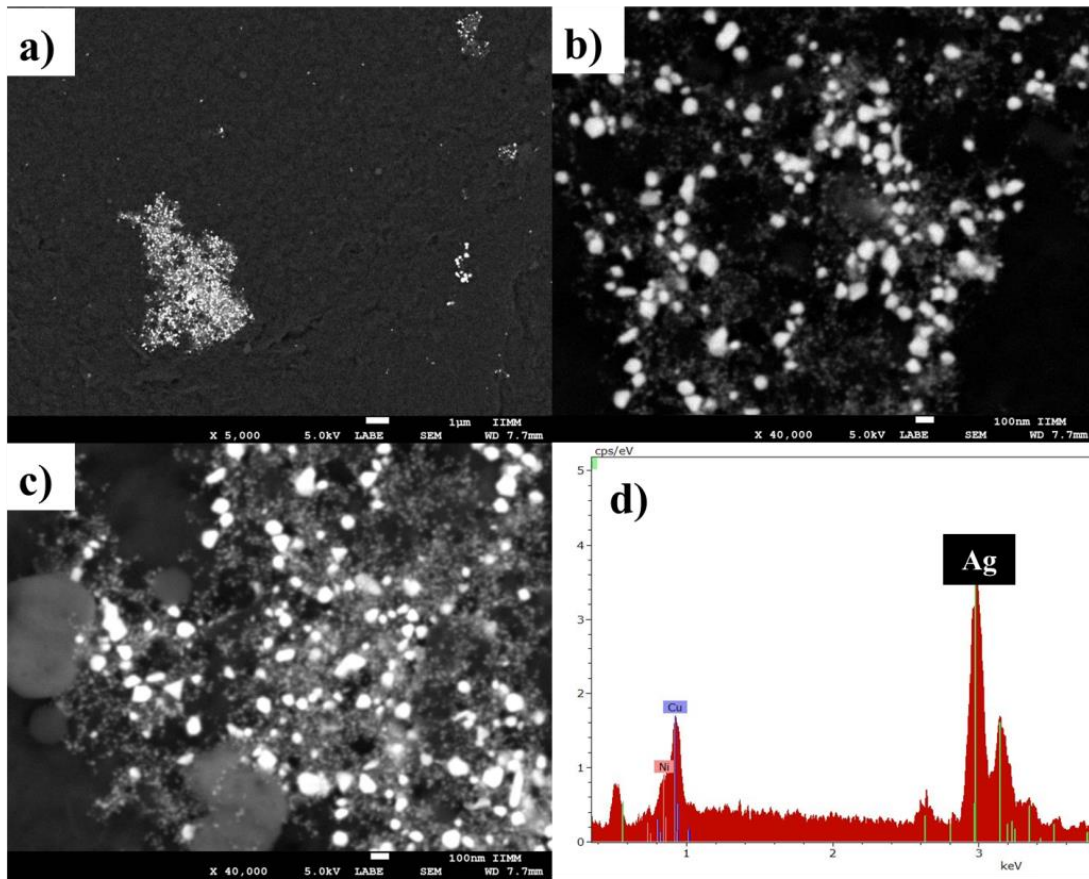
Para la muestra de síntesis usando extracto combinado, la Figura 4.21 ilustra lo obtenido. En ésta se puede observar la formación de AgNPs, mucho más definidas en tamaño y morfología, presentando forma cuasiesférica en su mayoría y la formación de nuevas estructuras no antes vistas en la literatura en lo que respecta a síntesis verde. Estas estructuras, parecidas a hilos y rodillos en la que su diámetro cae dentro de la escala



**Figura 4.19.** Difractograma de rayos X de la muestra de los nanoensambles.

nanométrica, se encuentran distribuidos junto a los cúmulos de AgNPs. El EDS (panel d) muestra que tanto las nanopartículas como las nanoestructuras en forma de hilos y rodillos son de plata en estado basal. Sin embargo, no se descarta la formación de pocos cristales de AgCl por la presencia de Cl en la muestra, seguramente proveniente del extracto de *S. praealtum*. La presencia del ion Cl, y por consiguiente la formación de AgCl puede dar pie al crecimiento de estos nanohilos y nanorodillos, esto lo asegura Zhang y col. [81], cuando establecen que uno de los factores que influyen en la obtención de nanohilos es la presencia de agentes externos como AgCl, esto a temperatura ambiente. Justamente, factores que intervienen en el proceso de síntesis de esta muestra.

Corroborando de nuevo los resultados obtenidos por MEB, el difractograma de DRX en la Figura 4.22 muestra las reflexiones indexadas: en ángulos: 8, 44, 64 y 77 para los planos: (111), (20 0), (2 2 0), (3 1 1), respectivamente, por medio de la tarjeta cristalográfica [99-101-2994] que representa la presencia plata sólida. Un detalle visible dentro del difractograma, son los picos estrechos, típicos de la presencia de cristales de tamaño por encima del tamaño nanométrico, lo que indicaría sólidos que en alguna de sus dimensiones salen de la escala nanométrica y, dentro de estos sólidos son atribuidos los nanohilos.



**Figura 4.20.** Micrografías electrónicas de barrido de la muestra de AgNPs sintetizadas por medio *O. vulgare* a: a) 5000X, b) 40 000X y c) 40 000X. d) EDS.

### b) Síntesis de AgNPs modificando la preparación del extracto

Al conocer la influencia de la concentración de la sal precursora  $\text{AgNO}_3$ , se procedió a observar el efecto de algunas variables relacionadas a la preparación del extracto. Por experiencia previa a este trabajo, utilizando estas plantas como extractos reductores, se consideró que la concentración de 2 g en 100 mL era la adecuada a seguir. Sin embargo, al considerar este proceso de síntesis como un método verde, se consideró que el gasto de energía en la preparación de extracto podría reducirse y generar un método más sustentable. Para ello, se tomó la variable tiempo y se realizó un experimento en el que el extracto fue preparado a las mismas condiciones antes dichas, solo que en esta ocasión, en menos tiempo; se procedió a someterlo a agitación y temperatura de 60 °C

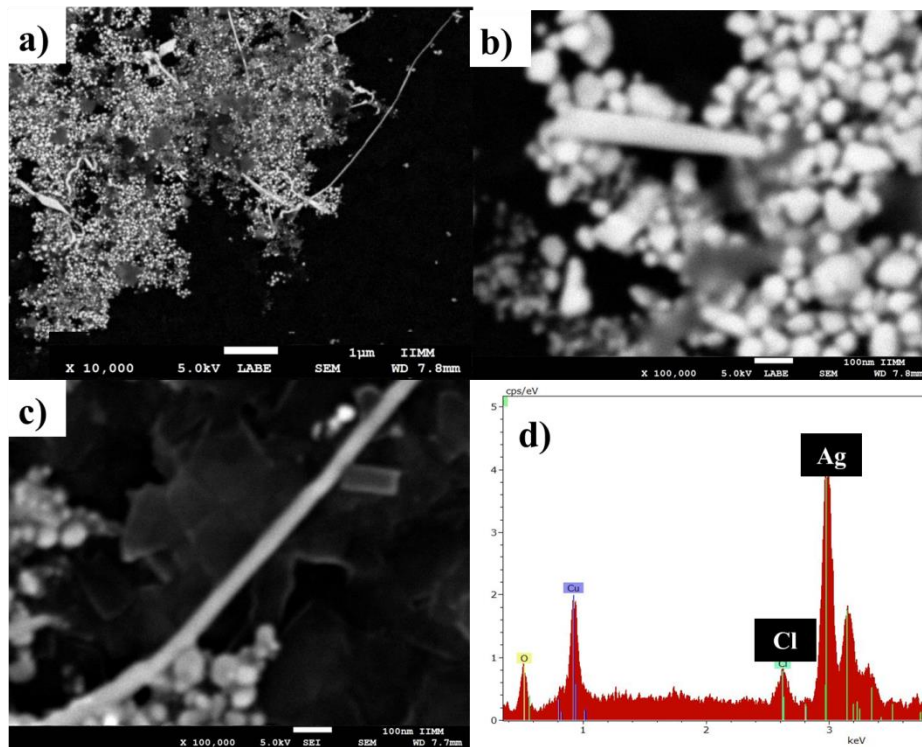


Figura 4.21. Micrografías de la muestra reducida por extracto combinado (*S. praealtum* y *O. vulgare*) y EDS de la misma (d).

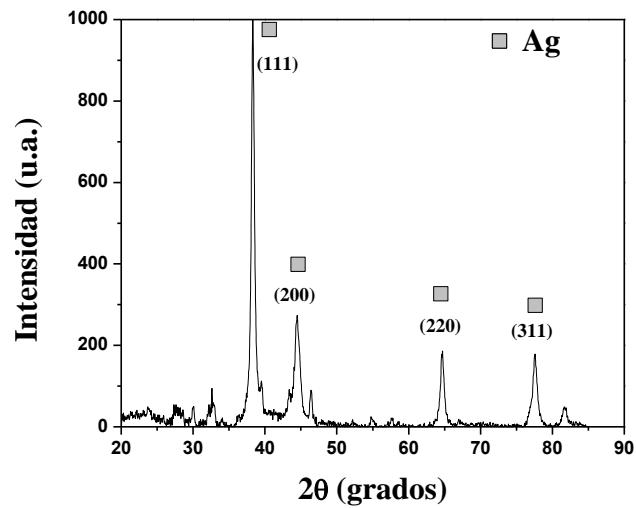
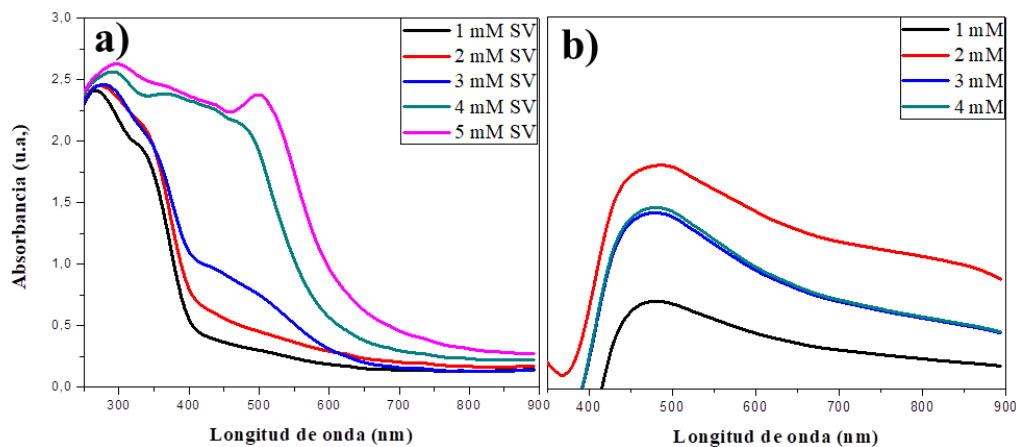


Figura 4.22. Difractograma de rayo x de la muestra de síntesis con extractos combinados.

por 5 minutos contrario a los 30 min usados en el paso anterior. Ya que en ese lapso, la solución ya presentaba un color suficientemente oscuro, considerable de lixiviación de compuestos orgánicos reductores. En la Figura 2.23 panel a, se presenta el espectro correspondiente a este ensayo, en la que la concentración de la sal fue de nuevo variada, pero ahora hasta 5 mM. En concentraciones bajas se puede ver la aparición de un pico de absorbancia entre los 450 nm, no así para 4 y 5 mM que se desplaza hacia la derecha, indicando un aumento de tamaño o una formación de producto secundario indeseable. No obstante, conociendo la presencia considerable en cantidad del ion Cl en la planta de *S. praealtum*, se ejecutó otra estrategia más: en primer lugar la determinación cuantitativa de iones Cl en el extracto natural por medio de la prueba de Mhor de determinación de cloruros, sin embargo, por razones de la presencia de compuestos orgánicos reductores presentes en la muestra en cuestión no fue posible determinar la cantidad, ya que se formaban productos indeseables y que interferirían en una correcta estimación.

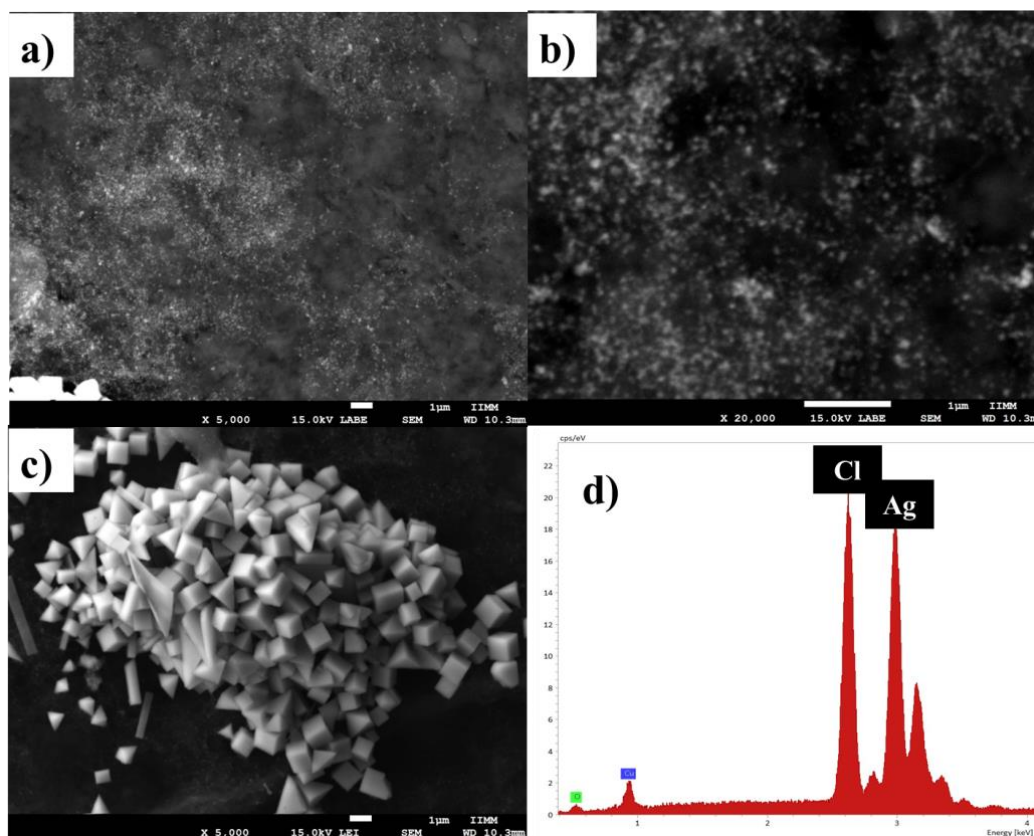
La segunda opción, consistió en lavar los polvos de la plantas de *S. praealtum* previa a la preparación del extracto. Para ello, se tomaron los 2 g de planta seca en polvo y se vertió en un recipiente con 100 mL de agua destilada que se mantuvo bajo agitación y temperatura ambiente por 30 min. Pasado el tiempo, se filtró y el precipitado se volvió a disolver en agua destilada pero ahora a temperatura de 60 °C, para preparar el extracto previo al lavado de la planta. Se observó que, en la solución obtenida después del lavado presentaba un color de un extracto preparado a temperatura, por lo que se procedió a realizar una prueba de síntesis de nanopartículas en tal medio. El espectro obtenido de tal prueba se presenta en el panel b, evaluando como blanco el sobrenadante del extracto, se puede observar que aparecen los picos de plasmón superficial de AgNPs en 480 nm. Lo que quiere decir que es posible extraer metabolitos secundarios reductores de las plantas aún sin temperatura, solamente bajo la utilización de agitación, evitando inclusive, la utilización de extracto en verde como en otros trabajos previos se maneja [82].



**Figura 4.23.** Espectros de UV-vis de dos muestras: a) replica a la anterior con *S. praealtum* ahora preparando el extracto a las mismas condiciones pero ahora solo por 5 min bajo temperatura y agitación constante a una concentración mayor, b) Replica de la mezcla de extractos combinados y lavado la planta previamente.

Dada la razón por la cual se modificó el tiempo de preparación del extracto, en la Figura 4.24 se muestra las AgNPs sintetizadas a partir de *S. praealtum* a 5 mM. En el panel a) de baja amplificación se denota la presencia de AgNPs ampliamente distribuidas; en el panel b) están inmersas entre el orgánico que permite su estabilización; en c) se observa una zona en la que se formaron microcristales de AgCl y finalmente en d), un EDS mostrando grandes cantidades de Cl en la mezcla de reacción. Estos resultados implican que el modo de preparación en menos tiempo extrajo mayor cantidad de iones Cl, lo que redujo la eficiencia de la reacción al despojar Ag para la formación de AgNPs, y formar cristales de AgCl, ya que éste tiene una mayor tendencia a precipitarse por su menor solubilidad.

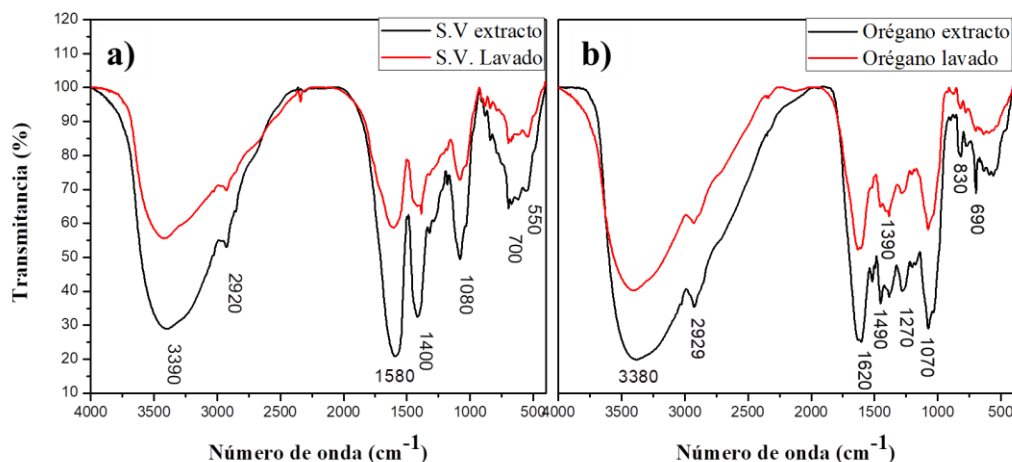
Para poder promover la reducción de  $\text{Ag}^+$  a AgNPs y no la precipitación de AgCl, en primera instancia sería necesario ingeniar un método de lavado de la planta para eliminar las posibles fuentes de Cl que puedan presentarse en pequeños cristales sobre la superficie de la planta debido a condiciones ambientales. Y en segundo lugar, someter al sistema de reacción a la luz visible, ya que esta misma originaría la foto degradación el AgCl al ser foto sensible causando formación de AgNPs [48].



**Figura 4.24.** Micrografías electrónicas de barrido de la muestra con *S. praealtum* y con menor tiempo de preparación de extracto. a) AgNPs a 5000X, b) 20 000X, c) microcristales de AgCl y d) EDS.

Para evaluar el cambio que tiene el extracto antes y después de ser lavado por la forma antes mencionada, se comparó por medio de la técnica de espectroscopía de infrarrojo (FTIR) cada uno de los extractos evaluados en el presente trabajo. En la Figura 4.25a se ilustra los espectros de la planta *S. praealtum*, en la que el espectro del extracto lavado disminuye en intensidad lo que sugiere que hay menos cantidad de compuestos extraídos, pero del mismo tipo y naturaleza. Las señales de número de onda de: 3390, 2920, 1580, 1480, 1080, 700 y 550  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a los grupos funcionales: OH, CH, C=O, C=C, N-O y C-Cl, respectivamente, que son parte de los metabolitos presentes en la reducción de los iones metálicos. De la misma manera, en el caso de los espectros del extracto de *O. vulgare*, las intensidades de los picos en la muestra lavada disminuyen respecto al

extracto originalmente preparado, con intensidades de número de onda de: 3380, 2930, 1620, 1390, 1270, 1070  $\text{cm}^{-1}$ , pertenecientes a grupos funcionales: OH, C-H, C=C, C-O, N=O, N-O, similares a la planta de *S. praealtum*, sobresaliendo compuestos nitrogenados.

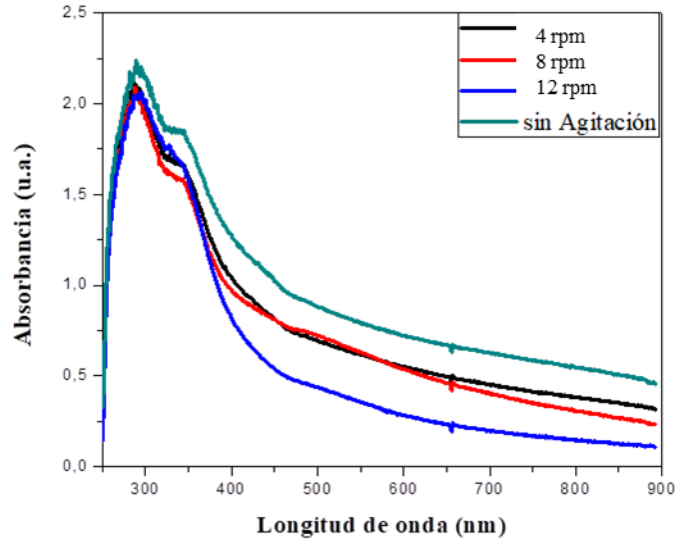


**Figura 4.25.** Espectros de infrarrojo correspondientes a los extractos de las plantas comparadas con la solución de lavado de la planta.

### c) Síntesis de AgNPs variando la velocidad de agitación

Como se acaba de apreciar, la agitación es un parámetro importante en la síntesis de AgNPs al influir en la extracción de compuestos reductores y otros elementos en la preparación de extracto. Para conocer por tanto, la influencia de esta variable en el proceso de síntesis de forma más directa, se ejecutó un ensayo en el que se varió la agitación de la solución de la reacción en la que ya contenía la sal y el extracto, al agregarse al mismo tiempo. La Figura 4.26 relaciona esta medida en función de la velocidad de agitación a la que fue sometida la reacción en una termoagitadora: 4, 8 y 12 rpm por 30 min, ya que por experiencia se ha demostrado que a ese lapso la reacción tiende a llegar a un equilibrio donde ya la formación y crecimiento de las AgNPs se ve disminuido considerablemente. El comportamiento el cual sigue el conjunto de espectros de UV-vis muestra una tendencia inversa proporcional en comparación con otras variables, por ejemplo, la concentración de sal. En éste, a medida que aumenta la velocidad de agitación el pico de absorción de las AgNPs parece disminuir

considerablemente. Por lo que se trataría de la generación de pequeña cantidad de AgNPs o su crecimiento a partículas más grandes.



**Figura 4.26.** Espectro de absorción UV-vis a diferente velocidad de agitación.

Para descubrir tal comportamiento anómalo y contrario a lo esperado, la muestra se analizó en microscopía electrónica de barrido. En el panel a de la Figura 4.27 se ilustra la micrografía representativa a 5000X en la que se confirma la presencia de AgNPs, pero además se ve incluido también estructuras de tamaño considerablemente mayores (nanohilos). En el panel b también se puede observar a la misma amplificación, nanohilos pero de tamaño más pequeño, mientras que en el panel c, se realiza un acercamiento de estas nanoestructuras (nanohilos) y finalmente en el panel d) el EDS que confirmaría que están formadas de plata. Lo que significaría que a medida que aumenta la agitación se favorece el crecimiento de nanopartículas por medio de un crecimiento secundario y por fenómeno de Oswald Ripening; por lo que las nanopartículas crecen debido a la agregación unas con otras inducido principalmente por la velocidad de agitación que provoca colisiones entre nanopartículas estables con estables o, estables con inestables que aún se encuentren por debajo del radio crítico, dando como resultado individuos de mayor tamaño [80].

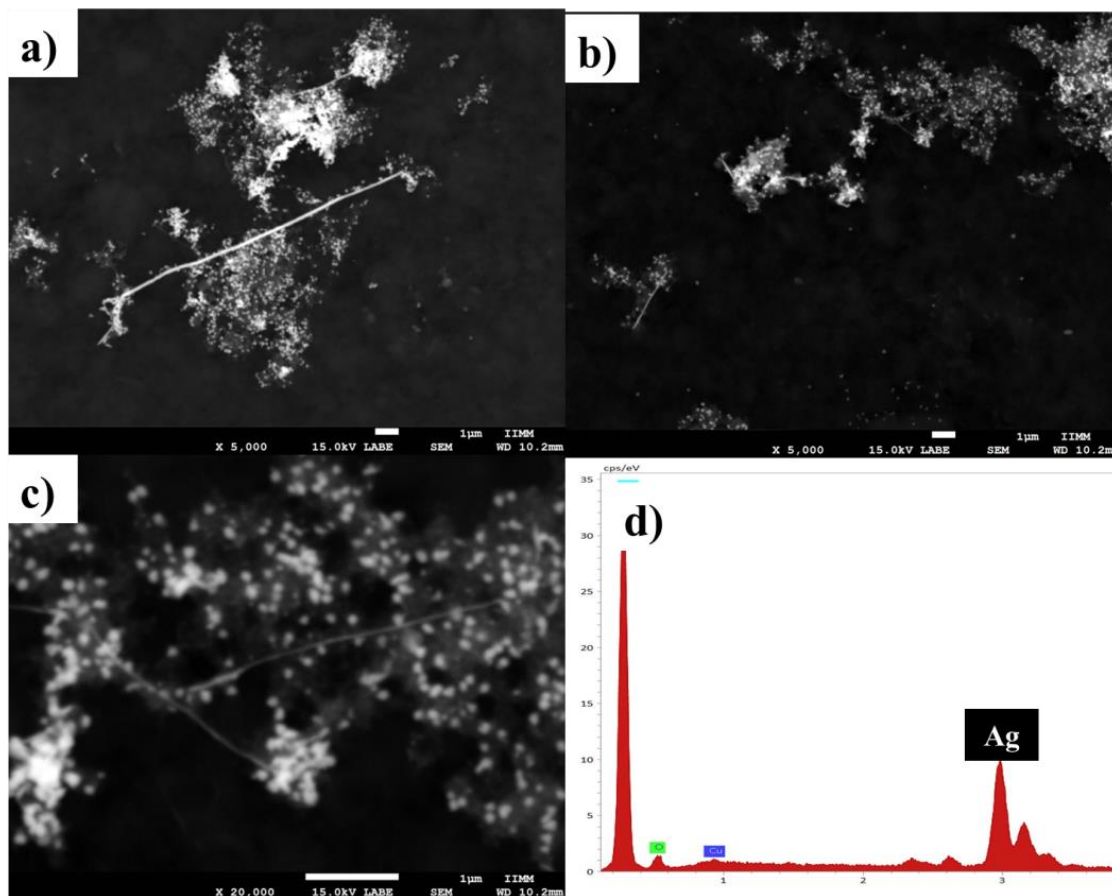


Figura 4.27. Imágenes obtenidas por el microscopio electrónico de barrido de la muestra a 12 rpm.

### 4.3 Síntesis de nanopartículas de TiO<sub>2</sub>-Ag

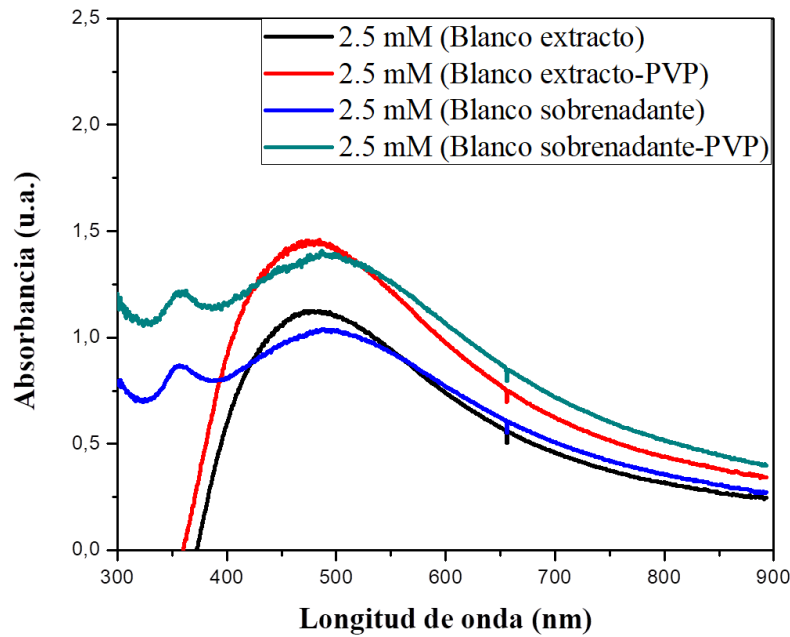
Logradas la obtención ya de las partículas de forma individual, hablando tanto de TiO<sub>2</sub> y Ag, por medio de los extractos de *S. praealtum* y *O. vulgare*, se procedió a lograr la preparación de TiO<sub>2</sub>-AgNPs, por medio de las estrategias planeadas en la metodología correspondiente. Para ello, se tomó como muestra de partida la de TiO<sub>2</sub> obtenida con la combinación de extractos y 2.5 mM de TiCl<sub>4</sub>. Al obtener las muestras, se procedió al lavado de las mismas mediante el uso de centrifuga. Lavada las TiO<sub>2</sub>NPs se vertió 5 mL de redisolución en un recipiente para agregar gota a gota 2.5 mL de extracto combinado y 2.5 mL de disolución de AgNO<sub>3</sub> a 10 mM, para contener en la mezcla final una concentración de 2.5 mM, a una velocidad aproximada de 0.003 mL/s a temperatura de 60°C. Posterior al término de la incorporación de todos los medios y soluciones, a una de las muestras se

agregó 0.5 mL de solución de 5 mM de PVP y se mantuvo en agitación por 2 h. En la Figura 4.28 se muestra el espectro de absorción de los experimentos realizados de nanopartículas TiO<sub>2</sub>-AgNPs utilizando en una de ellas, el reactivo PVP como estabilizante. Se evaluó en el espectroscopio UV-vis como blanco, dos medios: la mezcla de los extractos sin reaccionar y el sobrenadante del extracto después de la reacción. En primera instancia, se puede mencionar que el extracto como blanco, al caer su espectro de absorción entre los 250 a 400 nm al ser utilizados como blanco, generaba la pérdida de señales de absorbancia en ese rango de longitud de onda. Sin embargo, al ser el sobrenadante producto de cambio debido a la reacción, su espectro se modifica a lo que, al utilizarlo como blanco no genera la eliminación de curvas de absorbancias en el rango antes dicho, por lo que se observa un pico característico en 350 nm propio de TiO<sub>2</sub> y claro, de la plata en 470 nm. Finalmente, en segunda instancia, se manifiesta la presencia tanto de TiO<sub>2</sub> como de Ag, demostrando la formación de TiO<sub>2</sub>-AgNPs [83].

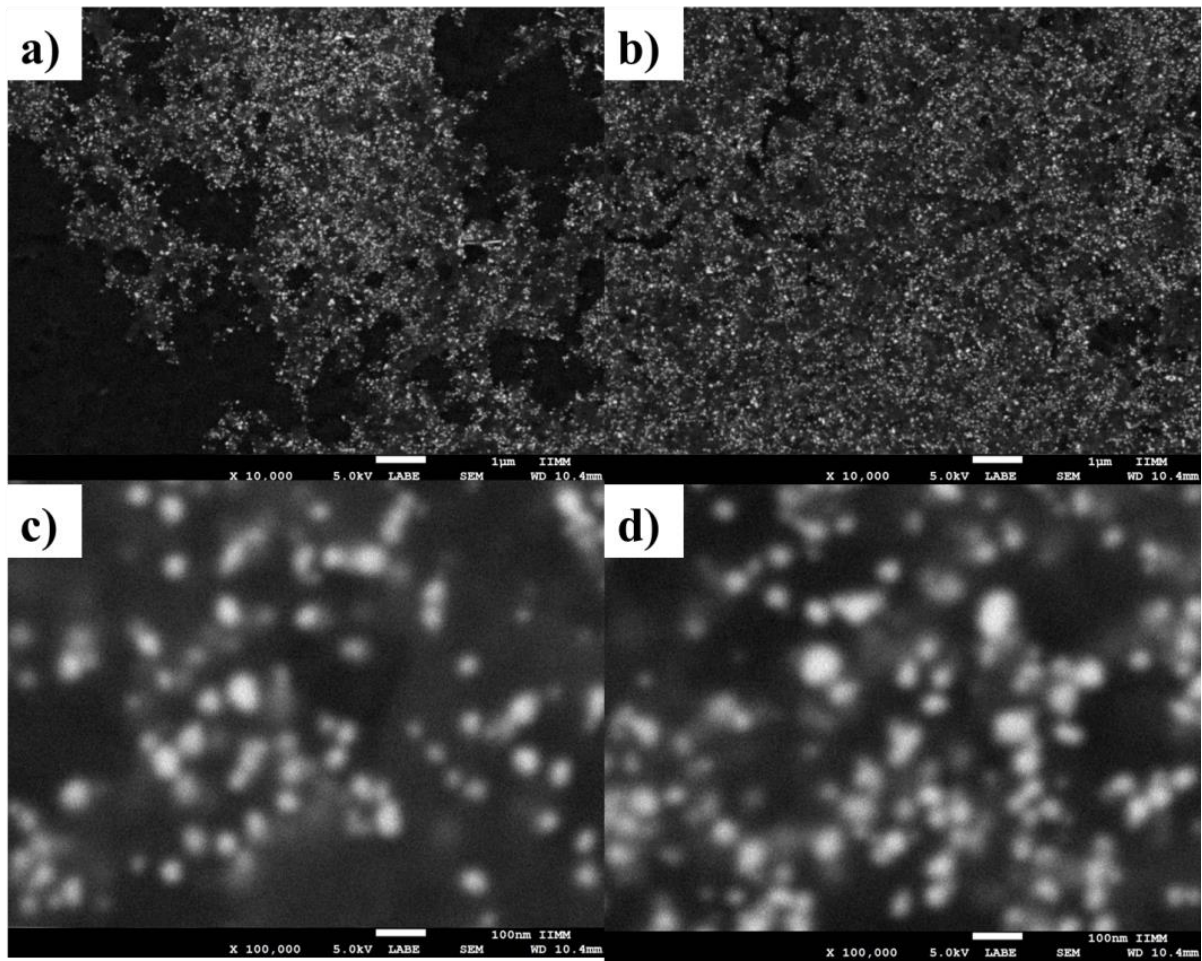
La Figura 4.29 ilustra las micrografías a 10 000X (paneles a y b) y 100 000X (incisos c y d), de la muestra de TiO<sub>2</sub>-AgNPs sin PVP. En ésta se puede observar la formación de nanopartículas ampliamente distribuidas de tamaño uniforme (paneles a y b) y, en micrografías de mayores ampliaciones, las nanopartículas en su mayoría de morfología esferoide con presencia de algunas otras formas indefinidas por falta de calidad de la micrografía. En todos los casos, las nanopartículas se encuentran dispersas como individuos, razón a que se encuentran inmersas en el medio orgánico (fase opaca visible).

Para confirmar la presencia de los elementos o compuesto en cuestión de interés, se realizó un mapeo químico EDS (Figura 4.30), en el que manifestó la presencia de elementos como: plata, titanio y oxígeno. Siendo la plata la que se encuentra en mayor proporción, seguida por el oxígeno que al mismo tiempo, se traslapa con los pocos puntos representativos de Ti. Desconociendo hasta ésta instancia, la formación de TiO<sub>2</sub>-AgNPs core-shell o si se trata de partículas individuales. Para ello, es necesario un análisis detallado de la microestructura de estas partículas formadas, esto por medio del uso de la técnica de caracterización de microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Las nanopartículas, tanto de  $\text{TiO}_2$  como de Ag, sintetizadas por el uso del extracto de *S. praealtum*, *O. vulgare* y extractos combinados, fueron valoradas en difracción de rayos X, y determinadas las fases presentes de estas. La Figura 4.31 ilustra el difractograma de la muestra que no contenía PVP. En esta se puede observar las reflexiones indexadas de la estructura (*fcc*) de la plata. No siendo así, para el  $\text{TiO}_2$ , debido al poco grado de cristalinidad arrojado desde un inicio en la muestra de  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  con extractos combinados, teniendo en su mayoría partículas de naturaleza amorfa. Lo que provoca que las señales de difracción de titanita sean opacadas por las de Ag y  $\text{AgCl}$ .



**Figura 4.28.** Espectro de absorción de las muestras de  $\text{TiO}_2\text{-Ag}$  utilizando PVP usando como blanco el extracto y el sobrenadante como blanco a la determinación de la absorción.



**Figura 4.29.** Micrografías electrónicas de barrido de la muestra sin PVP a: a) y b) 10 000X, c) y d) a 100 000X.

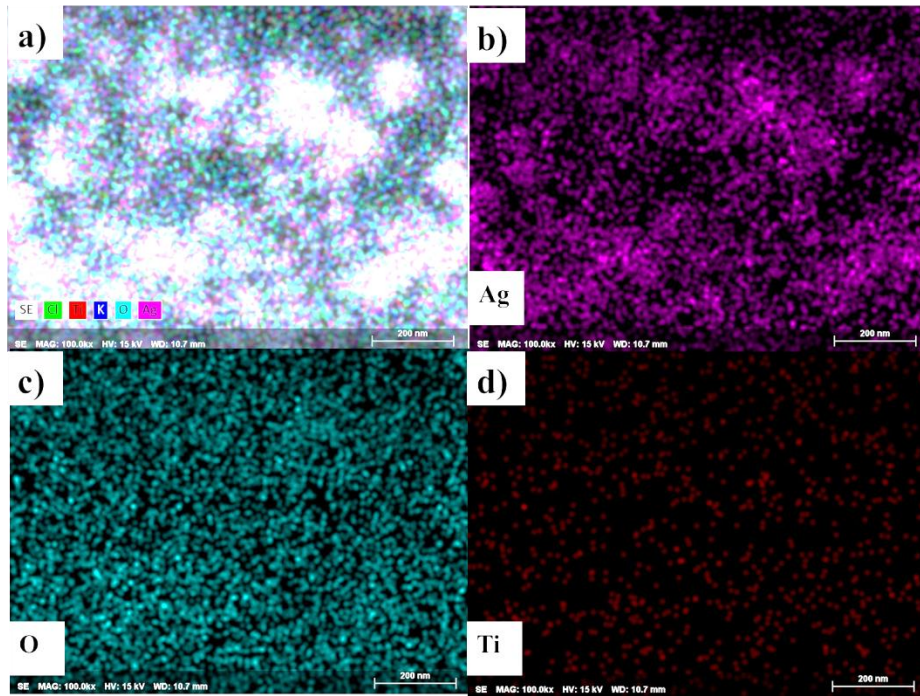


Figura 4.30. Mapeo químico de la muestra sin PVP, donde se muestra los mapeos de: b) Ag, c) O, d) Ti.

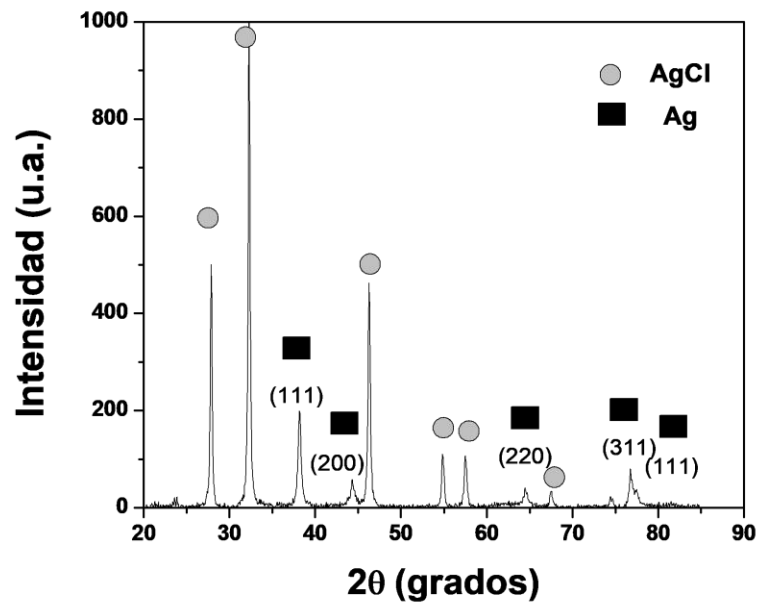
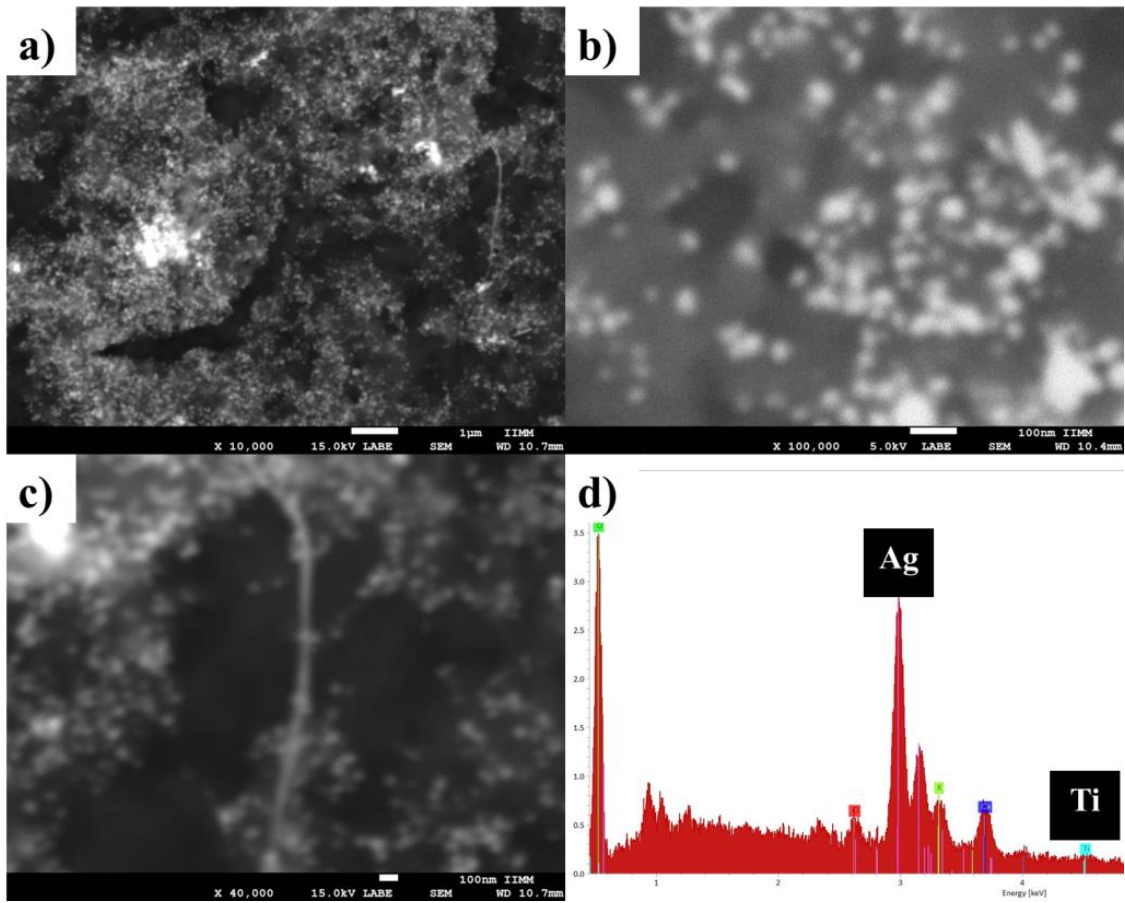


Figura 4.31. Difractograma de Rayos X, de la muestra sin PVP.

Analizada la muestra sin PVP, en la Figura 4.32, se observan las micrografías correspondientes a: a) 10 000 x, b) 100 000 x, c) 40 000 x, d) EDS. Al igual que el ensayo sin PVP, en esta se ve amplia distribución de nanopartículas en su mayoría de forma esferoide y en contraste con la muestra con PVP, la formación igualmente de nanohilos de tamaño considerable en su longitud (panel a). En el panel b, se muestra las nanopartículas individuales de distribución de tamaño uniforme. No así para el panel c, que muestra un nanohilo el cual, crece fuera de la escala nanométrica en dos micras aproximadamente, no así para su diámetro de espesor que se mantiene por debajo de los 100 nm considerados un material 1D. Esto sugiere que al no haber una barrera estérica que les impida seguir creciendo (PVP), las nanopartículas son influenciadas por surfactantes naturales propios del extracto que al unirse a sitios preferenciales, generan ese tipo de crecimiento unidireccionales anisotrópicos.

De igual forma, se confirmó la presencia de plata y titanio por medio del mapeo EDS (Figura 4.33) en donde se muestra la presencia de ambos elementos, así como del oxígeno. Un aspecto a recalcar, es la baja cantidad que hay de titanio (panel d), lo que haría difícil su identificación en DRX. Pero además, se podría confirmar la formación de  $\text{TiO}_2$ -AgNPs por microscopía electrónica de transmisión (TEM). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en Atarod y col. [41].



**Figura 4.32.** Micrografías SEM que muestra lo obtenido de la muestra con PVP a diferentes ampliaciones: a) 10 00 x, b) 100 000 x, c) 40 000 x y d) EDS.

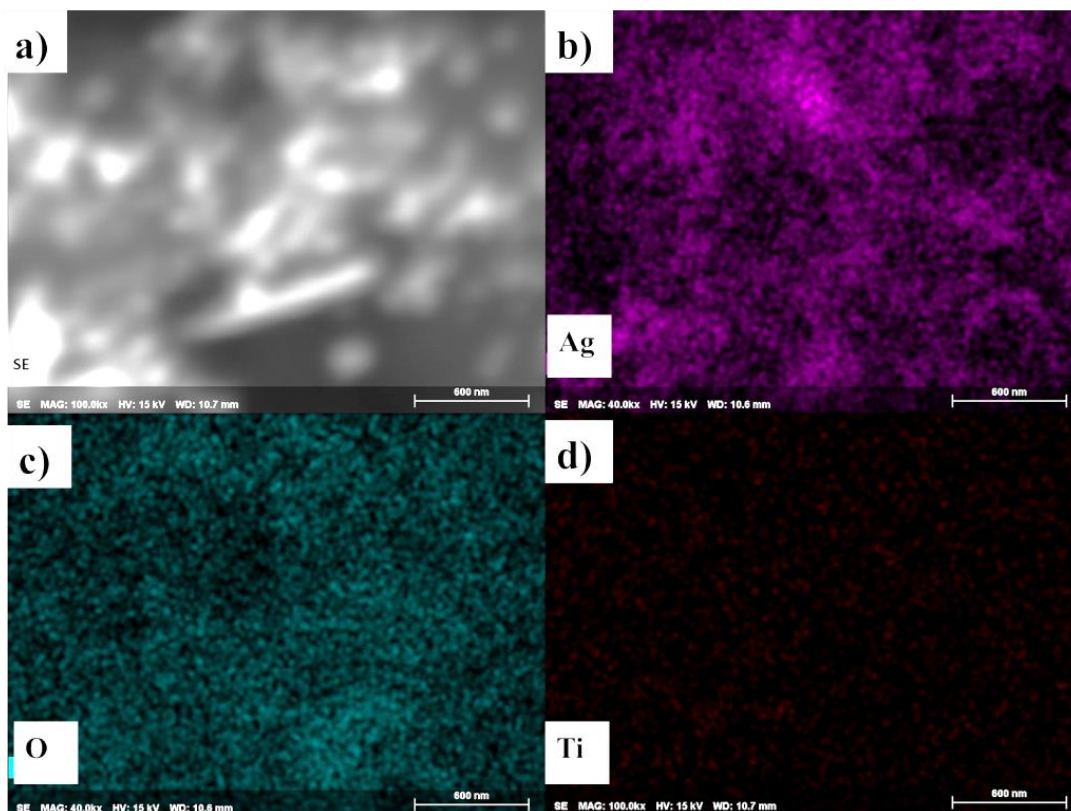


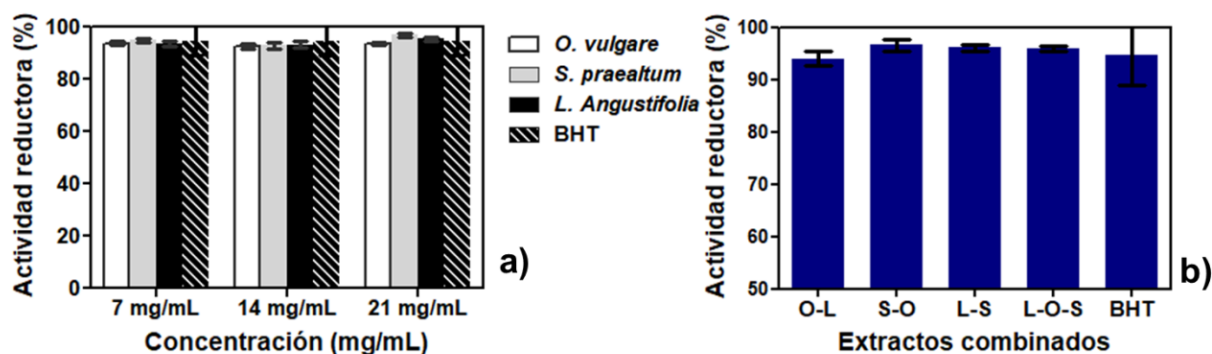
Figura 4.33. Mapeo EDS de la muestra con PVP: a) plata, b) oxígeno, c) titanio.

## 4.4 Ensayos en las plantas

### 4.4.1 Capacidad antioxidante DPPH

Es ya conocido, que los radicales libres son un factor de grandes daños en la biología, y que existen muchos alimentos que contienen antioxidantes que ayudan a mitigar estos deterioros. El ensayo de DPPH ha sido utilizado para evaluar la capacidad de estos antioxidantes naturales. Su cambio de color de morado a un amarillo es indicativo del radical reducido y estable, la reacción es dependiente de la capacidad de donación del par electrón-protón de compuestos antioxidantes [49, 84]. En el panel a de la Figura 4.34 se muestra la gráfica de actividad reductora del radical DPPH de tres plantas evaluadas (*O. vulgare*, *S. praealtum* y *L. angustifolia*) a concentraciones de 7, 14 y 21 mg/mL, comparado con un antioxidante comercial conocido como butilhidroxitolueno (BHT), mientras que en

la Figura 4.33 panel b se muestra la comparación de las posibles mezclas de extractos antes mencionados. En el panel a se observa que no hay una diferencia significativa en función de la concentración en cada una de las plantas, ya que en su mayoría contienen una actividad por encima del 90 %, no obstante el extracto de *S. praealtum* sobresale del resto, lo que significa mayor capacidad para reducir los radicales libres y con ello mejor habilidad como donador de protones. De igual manera, en el panel b se presenta las mezclas que contenían *S. praealtum* con las demás plantas, también se aprecia un mayor grado de actividad antioxidante inclusive mayor que el BHT. Estos resultados concuerdan con los reportados en [26], en la que evaluaron el extracto de *S. praealtum* usando sus flores, a temperatura de ebullición, obteniendo una capacidad del 82 %, mientras que Chun y col. [28] valoraron el extracto de *O. vulgare*, aunque crudo usando como disolventes agua destilada y etanol. En resumen, el ensayo resultó de igual forma equivalente al obtenido en este trabajo, en el que el mejor resultado fue usando el extracto preparado en agua, ya que influye que el ensayo está diseñado para medio acuoso, así como influye la naturaleza hidrofílicas e hidrofóbicas de los compuestos extraídos en cada solvente.

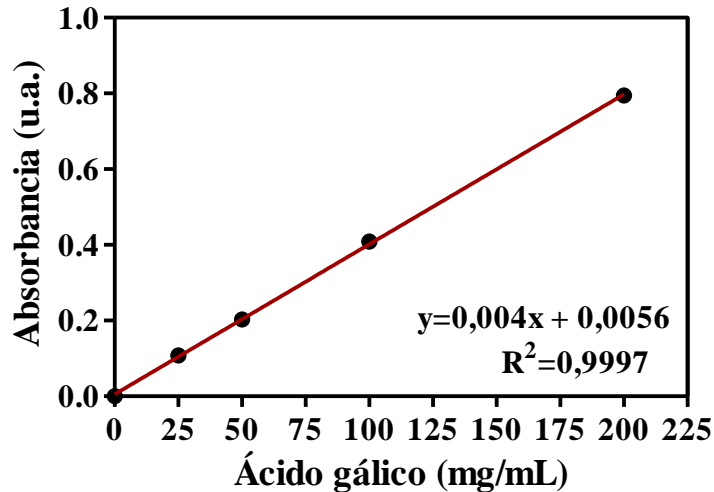


**Figura 4.34.** Capacidad reductora del radical DPPH de los extractos preparados a diferentes concentraciones (7, 14 y 21 mg/mL) de diferentes plantas comparadas con el control BHT (antioxidante comercial) (a), comparación con los extractos combinados (b).

#### 4.4.2 Cuantificación de polifenoles por Folin-Ciocalteu

Los fenoles son metabolitos secundarios que se consideran como antioxidantes de origen natural, por ello son de gran beneficio biológico en prevención de enfermedades cardiacas y degenerativas al tener la capacidad de disminuir el estrés oxidativos mediante quelación de elementos traza y eliminación de radicales libres [26, 85]. Además, de ser considerados como de los principales candidatos en la redacción de iones metálicos para formación de nanopartículas junto con los terpenoides, azúcares reductores y proteínas [86, 87].

Los resultados obtenidos del contenido total de fenoles en *O. vulgare*, *S. praealtum* y combinada (1:1) conseguidos por el método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu se estimaron de acuerdo a la curva estándar de ácido gálico a través del ajuste de los datos por regresión lineal donde se determinó la ecuación de la recta y  $R^2$  (Figura 4.35) y fueron expresados como mg AGE (ácido gálico equivalente) por mg de extracto seco.



**Figura 4.35.** Curva de calibración a partir de ácido gálico, en la que se estima la cantidad en mg de fenoles totales como mg de ácido gálico equivalentes en la muestras de las plantas utilizadas en este trabajo, ajustada a partir de una regresión lineal.

Las cantidades de fenoles equivalentes de ácido gálico de 6 muestras de las dos plantas y combinadas se exponen en la tabla 4.1, preparadas en extracto a dos temperaturas: ambiente

aprox. 25 °C y 60 °C, ambas a 5 min. En ésta, se puede observar que el *O. vulgare*, *S. praealtum* y combinadas (1:1) presentan a temperatura ambiente valores de: 279.5, 12.95 y 255.67 y; a 60 °C lo correspondiente a: 302.41, 43.72 y 269.07 mg AGE/mg extracto seco, respectivamente. Como se puede observar, tanto a 25 °C y 60 °C el *O. vulgare* se destaca por una mayor cantidad de fenoles en comparación con *S. praealtum*. Mientras que en el combinado, al tener un valor muy cercano al de *O. vulgare* se establece que los fenoles contenidos en este último se imponen en cantidad y poder a los fenoles de *S. praealtum* al no presentar un efecto acumulativo de acuerdo a los resultados de manera individual.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la preparación del extracto acuoso de *O. vulgare* ofrece la extracción de mayor cantidad de fenoles, y el presente trabajo lo demuestra, al obtener un alto contenido de fenoles a lo conseguido por medio de metanol por Sahin y col. [32]. De la misma manera, Chun y col. [28] demostraron que una extracción utilizando agua era más rica en fenoles en contraste con un solvente prótico como es el etanol y a mayor temperatura se extraía mayor cantidad de fenoles, aun así menor que los presentados aquí. Pero esta variación de cantidad de fenoles de una planta depende de la especie, del solvente (alta afinidad en agua) y especialmente se debe a que puede variar los contenidos de estos metabolitos en función del lugar y condiciones en las que crezca la planta, ya que al ser estos productos secundarios que ayudan a la planta a sobrevivir de acuerdo a las condiciones externas, pues una de sus funciones principales es la de defensa, la cantidad que sintetiza la planta está en función del estrés al que es sometida la planta en el ambiente [25, 88].

Por otro lado *S. praealtum*, contiene un bajo contenido de compuestos fenólicos comparado con *O. vulgare*, esto indicaría que los principales fenoles identificados (kaempferol y quercetina) en *S. praealtum* están en baja proporción, lo que implicaría que los resultados conseguidos de alta capacidad antioxidante en el ensayo de DPPH mostrados en el apartado anterior, es por el contenido identificado de: alcaloides, cumarinas y azúcares reductores, también con alta actividad antioxidante [89].

Cotejado con lo obtenido por Beltrán-Orozco y col [26] estos determinaron el contenido fenólico de *S. praealtum* de 688.42 mg/100 mg de extracto crudo utilizando solo los pétalos

de la flor. Considerando, que los compuestos fenólicos son los principales metabolitos que tienen como función el dotar a las plantas de colores vistosos, se consideraría una mayor cantidad en la flor. Sin embargo, los datos conseguidos en este trabajo solo se realizaron utilizando las hojas secas de *S. praealtum*, los cuales fueron mayores a los reportados por la literatura y esto es debido a que el método de extracción aquí utilizado implica la utilización de agitación y temperatura que dota de mayor energía al sistema ayudando a la extracción de metabolitos.

**Tabla 4.1.** Tabla del contenido total de fenoles en las plantas de *O. vulgare*, *S. praealtum* así como combinadas a temperatura ambiente y 60 °C.

<b>Planta</b>	<b>mg AGE/mg extracto seco (Temperatura 25 °C)</b>	<b>mg AGE/mg extracto seco (Temperatura 60 °C)</b>
<i>O. vulgare</i>	279.50	302.41
<i>S. praealtum</i>	72.95	43.72
<b>Combinada (1:1)</b>	255.67	260.07

CAPÍTULO

5

**CONCLUSIONES**

---

*"A un hombre le pueden robar todo, menos una cosa, la última de las libertades del ser humano, la elección de su propia actitud ante cualquier tipo de circunstancias, la elección del propio camino".*

*-Viktor Frankl*

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES

Se estableció que fue posible llevar a cabo la síntesis de TiO<sub>2</sub>NPs con baja cristalinidad por método de síntesis verde utilizando los extractos naturales de *S. praealtum*, *O. vulgare* y en una mezcla entre ambos extractos, bajo un cuadro de acidez muy alta por debajo de pH=1 y a temperatura ambiente.

Debido a la interacción entre las especies de titanio de la solución acuosa y los grupos carbonilos e hidroxilo provenientes de los extractos naturales de las plantas utilizadas, permite actuar a eso como controladores de la hidrólisis de TiCl<sub>4</sub> y precipitación, al mismo tiempo estabilizadores de las TiO<sub>2</sub>NPs formadas evitando su coalescencia completa.

Con el fin de buscar un mayor grado de cristalinidad, se recurrió a variar parámetros tales como: las concentraciones de sal precursora y extracto; el uso de surfactante PVP y las condiciones de pH. Sin embargo, las modificaciones en el sistema no fueron adecuadas, por lo que dio como resultado, complejos de titanio solubles y estables que son atribuidos a la presencia de Cl en la solución, el exceso de surfactante polimérico y valores de pH no favorables, por el hecho de lo complejo que resulta el sistema de reacción al contener una gran variedad de compuestos orgánicos lixiviados de las plantas de *S. praealtum* y *O. vulgare*, impidiendo la formación de titanio en forma de TiO<sub>2</sub>NPs.

Las AgNPs también resultaron ser fácilmente sintetizadas a partir de la sal precursora utilizando los extractos individuales de *S. praealtum* y *O. vulgare*, así como combinados. Pero además de AgNPs, se obtuvieron nanoensambles en forma de flores, estambres e hilos. Producto de factores tales como: la cantidad insuficiente de estabilizadores en los extractos de la planta; la presencia del ion Cl, que forma precipitados de AgCl y la agitación.

La síntesis de TiO<sub>2</sub>-Ag, se vio favorecida por la formación de AgNPs debido a la poca cantidad de TiO<sub>2</sub>, resultado de un lavado incorrecto. Además, el uso de surfactante en este tipo de reacción arrojó la formación de nano hilos y nanorodillos.

Fue comprobada la actividad reductora tanto del extracto *S. praealtum* como *O. vulgare* por medio del ensayo del radical libre DPPH en donde, exhiben una actividad reductora por arriba del 90 %, inclusive por encima del BHT (antioxidante conocido comercialmente).

En estudios previos en los que evaluaron las mismas especies de plantas por el ensayo DPPH, reportan bajos niveles de capacidad reductora en comparación al logrado en este trabajo; resaltan la metodología de preparación del extracto, el tipo de solvente e inclusive la extracción de la planta fresca, como principales factores que determinan una efectiva lixiviación de compuestos antioxidante. Donde, el uso de temperatura, agitación y la utilización de agua como solvente, permite obtener un extracto con alto poder antioxidante.

Finalmente, la técnica de determinación de fenoles y polifenoles por reactivo Folin-Ciocalteu permitió realizar un análisis cuantitativo de estos metabolitos a los que se atribuye ser los principales agentes reductores del metal Ag y pro-oxidantes de Ti. Su alto contenido en *O. vulgare* justifica la capacidad para reducir los iones metálicos y síntesis de nanopartículas. No siendo así para *S. praealtum*, que resultó con bajo contenido de fenoles, atribuyendo su alta capacidad antioxidante en el ensayo DPPH por la presencia de terpenos, azúcares reductores y proteínas, también conocidos con gran capacidad reductora y estabilizante.

## 5.1 Recomendaciones

Es necesario establecer bien las condiciones en la que el precursor de titanio permita la solubilidad de especies de titanio que sea favorable para la reducción de este y con ello la formación de  $\text{TiO}_2$  de alta cristalinidad.

Es necesario el análisis en microscopía electrónica de transmisión, para determinar la caracterización estructural de estos nanomateriales obtenido a partir de esta técnica verde y establecer la naturaleza cristalina y de fases presentes, así como verificar el tipo de configuración del nanocompuesto obtenido (núcleo-coraza o tipo campana).

Otro aspecto finalmente, es lograr determinar la concentración de los nanomateriales que es necesario para realizar de manera correcta los ensayos biológicos de citotoxicidad en un futuro.

## 5.2 Trabajo futuro

Por último, para establecer la citotoxicidad de estos nanomateriales obtenidos por el uso de extractos naturales de *S. praealtum* y *O. vulgare* sobre mitocondrias de hígado de rata, queda pendiente los ensayos de: el potencial de membrana mitocondrial, que determina un parámetro de importancia de las funciones bioquímicas de la mitocondria, lo que lo convierte en un indicador de la salud celular; respiración mitocondrial, ya que esta es indicativa del funcionamiento adecuado de la cadena respiratoria donde se lleva a cabo la síntesis de ATP, fuente de energía química de la célula y finalmente hinchamiento mitocondrial, que deja entrevisto posible efecto en los sistemas de transporte de iones y sustancia a través de la membrana celular. De los cuales, por medio de estos se debe de ampliar el conocimiento sobre la seguridad de estos nanomateriales en cuanto a la salud humana-animal y, que al mismo tiempo pueda derivar en un aumento de campos de aplicación para estos nanomateriales sintetizados por este método verde.

CAPÍTULO

6

# REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

*"Toda la ciencia no es más que un refinamiento del pensamiento cotidiano".*

*Albert Einstein*

**CAPÍTULO VI**  
**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- [1] DURÁN N, MARCATO P D, DURÁN M, YADAV A, GADE A,RAI M. Mechanistic aspects in the biogenic synthesis of extracellular metal nanoparticles by peptides, bacteria, fungi, and plants. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 90(5). 1609-1624, 2011.
- [2] WETCHAKUN N, INCESSUNGVORN B, WETCHAKUN K,PHANICHPHANT S. Influence of calcination temperature on anatase to rutile phase transformation in TiO<sub>2</sub> nanoparticles synthesized by the modified sol–gel method. *Materials Letters*. 82. 195-198, 2012.
- [3] LEYVA-PORRAS C, TOXQUI-TERAN A, VEGA-BECERRA O, MIKI-YOSHIDA M, ROJAS-VILLALOBOS M, GARCÍA-GUADERRAMA M,AGUILAR-MARTÍNEZ J A. Low-temperature synthesis and characterization of anatase TiO<sub>2</sub> nanoparticles by an acid assisted sol–gel method. *Journal of Alloys and Compounds*. 647. 627-636, 2015.
- [4] SHANTHI S, DAVID JAYASEELAN B, VELUSAMY P, VIJAYAKUMAR S, CHIH C T,VASEEHARAN B. Biosynthesis of silver nanoparticles using a probiotic *Bacillus licheniformis* Dabh1 and their antibiofilm activity and toxicity effects in *Ceriodaphnia cornuta*. *Microbial Pathogenesis*. 93. 70-77, 2016.
- [5] JHUANG Y-Y,CHENG W-T. Fabrication and characterization of silver/titanium dioxide composite nanoparticles in ethylene glycol with alkaline solution through sonochemical process. *Ultrasonics Sonochemistry*. 28. 327-333, 2016.
- [6] TOMANKOVA K, HORAKOVA J, HARVANOVA M, MALINA L, SOUKUPOVA J, HRADILOVA S, KEJLOVA K, MALOHLAVA J, LICMAN L,

- DVORAKOVA M, JIROVA D, KOLAROVA H. Cytotoxicity, cell uptake and microscopic analysis of titanium dioxide and silver nanoparticles in vitro. *Food and Chemical Toxicology*. 82. 106-115, 2015.
- [7] MONGE M. Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de Química*. ed., 2014.
- [8] DIOXIDE N T. State of the Science Literature Review: Nano Titanium Dioxide Environmental Matters.
- [9] ANGKAEW S, LIMSUWAN P. Preparation of silver-titanium dioxide core-shell (Ag@TiO<sub>2</sub>) nanoparticles: Effect of Ti-Ag mole ratio. *Procedia Engineering*. 32. 649-655, 2012.
- [10] SU W, WEI S, HU S, TANG J. Preparation of TiO<sub>2</sub>/Ag colloids with ultraviolet resistance and antibacterial property using short chain polyethylene glycol. *Journal of hazardous materials*. 172(2). 716-720, 2009.
- [11] QUIÑONES-JURADO Z V, WALDO-MENDOZA M Á, AGUILERA-BANDIN H M, VILLABONA-LEAL E G, CERVANTES-GONZÁLEZ E, PÉREZ E. Silver nanoparticles supported on TiO<sub>2</sub> and their antibacterial properties: effect of surface confinement and nonexistence of plasmon resonance. *Materials Sciences and Applications*. 5(12). 895, 2014.
- [12] WICKRAMARATNE GUNASEKERA R H. Synthesis and characterization of core-shell nanostructures and applications. 2010.
- [13] KASHALE A A, GATTU K P, GHULE K, INGOLE V H, DHANAYAT S, SHARMA R, CHANG J-Y, GHULE A V. Biomediated green synthesis of TiO<sub>2</sub> nanoparticles for lithium ion battery application. *Composites Part B: Engineering*. 2016.

- [14] SHANTHI S, JAYASEELAN B D, VELUSAMY P, VIJAYAKUMAR S, CHIH C T, VASEEHARAN B. Biosynthesis of silver nanoparticles using a probiotic *Bacillus licheniformis* Dabhl and their antibiofilm activity and toxicity effects in *Ceriodaphnia cornuta*. *Microbial Pathogenesis*. 93. 70-77, 2016.
- [15] GANDHI P R, JAYASEELAN C, VIMALKUMAR E, MARY R R. Larvicidal and pediculicidal activity of synthesized TiO<sub>2</sub> nanoparticles using *Vitex negundo* leaf extract against blood feeding parasites. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 19(4). 1089-1094, 2016.
- [16] PÁRAMO J L L. Biosíntesis y caracterización de nanopartículas de plata con extracto de *sedum praealtum* y su efecto en el crecimiento en levaduras y capacidad antioxidante. Ph.D. thesis. Bioquímica Instituto Tecnológico de Morelia Morelia, Mich, Mex. 2016.
- [17] ANTELO QUEIJO Á. Arquitecturas supramoleculares generadas por nuevos derivados de ciclodextrinas y ácidos biliares. ed. Univ Santiago de Compostela, 2008.
- [18] DOMINGO P A S. La nanotecnología. ed. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2010.
- [19] GARCÍA MARTÍNEZ J, ABELLÁN SÁEZ G, CARRILLO GÓMEZ A I, LINARES PÉREZ N. *Nanomateriales para aplicaciones avanzadas*. 2006.
- [20] OLUWAFEMI O S, VUYELWA N, SCRIBA M, SONGCA S P. Green controlled synthesis of monodispersed, stable and smaller sized starch-capped silver nanoparticles. *Materials Letters*. 106. 332-336, 2013.

- [21] K C K,N A. Introduction To Nanoscience And Nenotechnology. ed. Prentice-Hall Of India Pvt. Limited, 2009.
- [22] TRAN Q H,LE A-T. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*. 4(3). 033001, 2013.
- [23] SADEGHI B,GHOLAMHOSEINPOOR F. A study on the stability and green synthesis of silver nanoparticles using *Ziziphora tenuior* (Zt) extract at room temperature. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 134. 310-315, 2015.
- [24] RAI M,POSTEN C. Green Biosynthesis of Nanoparticles: Mechanisms and Applications. ed. CABI, 2013.
- [25] TAIZ L,ZEIGER E. Fisiología vegetal. ed. Universitat Jaume I, 2006.
- [26] DEL CARMEN BELTRÁN-OROZCO M, RASCÓN J J O, CEDILLO F D,TORRES R S. Chemical composition and antioxidant ability of the crude extract of *Sedum praealtum* flowers. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 25(10). 778, 2013.
- [27] SALAS P A E, VALENCIA G,MORALES V M F. Siempreviva: un espermicida natural y avances de su caracterización fitoquímica. *Revista Investigación Científica*. 4(2). 2008.
- [28] CHUN S-S, VATTEM D A, LIN Y-T,SHETTY K. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*. 40(2). 809-816, 2005.

- [29] HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ E, PONCE-ALQUICIRA E, JARAMILLO-FLORES M E, LEGARRETA I G. Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. *Meat Science*. 81(2). 410-417, 2009.
- [30] MILOS M, MASTELIC J, JERKOVIC I. Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*). *Food Chemistry*. 71(1). 79-83, 2000.
- [31] HOSSAIN M, BARRY-RYAN C, MARTIN-DIANA A B, BRUNTON N. Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. *Food Chemistry*. 126(1). 339-346, 2011.
- [32] ŞAHİN F, GÜLLÜCE M, DAFERERA D, SÖKMEN A, SÖKMEN M, POLISSIOU M, AGAR G, ÖZER H. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food control*. 15(7). 549-557, 2004.
- [33] GARCÍA-PÉREZ E, NORATTO G D, GARCÍA-LARA S, GUTIÉRREZ-URIBE J A, MERTENS-TALCOTT S U. Micropropagation effect on the anti-carcinogenic activity of polyphenolics from Mexican oregano (*Poliomintha glabrescens* Gray) in human colon cancer cells HT-29. *Plant foods for human nutrition*. 68(2). 155-162, 2013.
- [34] CACHÚ D M. Estudio de la conductividad Térmica de un Recubrimiento basado en nanopartículas de TiO<sub>2</sub> sintetizadas por el método sol-gel y su aplicación en tejas. Ph.D. thesis., Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Instituto de Investigaciones Metalúrgicas 2014.

- [35] DEJENE F B, ONANI M O, TARUS P K. The effect of rate of hydrolysis on structural and optical properties of the TiO<sub>2</sub> nanoparticles prepared by a sol-gel method. *Physica B: Condensed Matter*. 480. 213-218, 2016.
- [36] BLOUNT E, CLARIMÓN L, CORTÉS A. *Industria como naturaleza: hacia la producción limpia*. ed. Los Libros de la Catarata, 2003.
- [37] SANKAR R, KARTHIK A, PRABU A, KARTHIK S, SHIVASHANGARI K S, RAVIKUMAR V. *Origanum vulgare* mediated biosynthesis of silver nanoparticles for its antibacterial and anticancer activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 108. 80-84, 2013.
- [38] MASHWANI Z-U-R, KHAN M A, KHAN T, NADHMAN A. Applications of plant terpenoids in the synthesis of colloidal silver nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*. 234. 132-141, 2016.
- [39] GUL S, ISMAIL M, KHAN M I, KHAN S B, ASIRI A M, RAHMAN I U, KHAN M A, KAMBOH M A. Novel synthesis of silver nanoparticles using melon aqueous extract and evaluation of their feeding deterrent activity against housefly *Musca domestica*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 6(4). 311-316, 2016.
- [40] SHET A, VIDYA S K. Solar light mediated photocatalytic degradation of phenol using Ag core – TiO<sub>2</sub> shell (Ag@TiO<sub>2</sub>) nanoparticles in batch and fluidized bed reactor. *Solar Energy*. 127. 67-78, 2016.
- [41] ATAROD M, NASROLLAHZADEH M, SAJADI S M. *Euphorbia heterophylla* leaf extract mediated green synthesis of Ag/TiO<sub>2</sub> nanocomposite and investigation of its excellent catalytic activity for reduction of variety of dyes in water. *Journal of colloid and interface science*. 462. 272-279, 2016.

- [42] SCHIAVO S, OLIVIERO M, MIGLIETTA M, RAMETTA G, MANZO S. Genotoxic and cytotoxic effects of ZnO nanoparticles for *Dunaliella tertiolecta* and comparison with SiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub> effects at population growth inhibition levels. *Science of the Total Environment*. 550. 619-627, 2016.
- [43] ANDRÉ R S, ZAMPERINI C A, MIMA E G, LONGO V M, ALBUQUERQUE A R, SAMBRANO J R, MACHADO A L, VERGANI C E, HERNANDES A C, VARELA J A, LONGO E. Antimicrobial activity of TiO<sub>2</sub>:Ag nanocrystalline heterostructures: Experimental and theoretical insights. *Chemical Physics*. 459. 87-95, 2015.
- [44] SIFONTES Á B, MELO L, MAZA C, MENDES J J, MEDIAVILLA M, BRITO J L, ZOLTAN T, ALBORNOZ A. Preparación de nanopartículas de plata en ausencia de polímeros estabilizantes. *Quim. Nova*. 33(6). 1266-1269, 2010.
- [45] NÚÑEZ GONZÁLEZ C. Diseño, síntesis y propiedades de nuevos receptores aza-, oxaaza- y tioaza-macrocíclicos y de sus complejos metálicos. ed. Univ Santiago de Compostela, 2009.
- [46] GOODHEW P J, HUMPHREYS J, BEANLAND R. *Electron Microscopy and Analysis*, Third Edition. ed. Taylor & Francis, 2000.
- [47] SEBASTIAN M, NINAN N, HAGHI A K. *Nanomedicine and Drug Delivery*. ed. Apple Academic Press, 2012.
- [48] POOLE C P, OWENS F J. *Introducción a la nanotecnología*. ed. Editorial Reverté, 2007.
- [49] LEE J-Y, HWANG W-I, LIM S-T. Antioxidant and anticancer activities of organic extracts from *Platycodon grandiflorum* A. De Candolle roots. *Journal of Ethnopharmacology*. 93(2). 409-415, 2004.

- [50] BELTRÁN DELGADO Y, MORRIS QUEVEDO H J, DE LA CRUZ E R, QUEVEDO MORALES Y, BERMÚDEZ SAVÓN R C. Contenido de fenoles totales en extractos de *Pleurotus* obtenidos con solventes de diferente polaridad. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 32. 121-129, 2013.
- [51] AINSWORTH E A, GILLESPIE K M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature protocols*. 2(4). 875-877, 2007.
- [52] GOUTAM S P, SAXENA G, SINGH V, YADAV A K, BHARAGAVA R N, THAPA K B. Green synthesis of TiO<sub>2</sub> nanoparticles using leaf extract of *Jatropha curcas* L. for photocatalytic degradation of tannery wastewater. *Chemical Engineering Journal*. 336. 386-396, 2018.
- [53] HEREDIA-AVALOS S. Experiencias sorprendentes de química con indicadores de pH caseros. *Revista Eureka sobre enseñanza y divulgación de las ciencias*. 3(1). 2006.
- [54] GARZÓN G A. Anthocyanins as natural colorants and bioactive compounds: A review. *Acta Biológica Colombiana*. 13(3). 27-36, 2008.
- [55] CHANG M C. Preparation of Anatase Particles through Electro-Dialysis of TiCl<sub>4</sub> Aqueous Solution. *Journal of the Korean Ceramic Society*. 53(3). 325-331, 2016.
- [56] DVORANOVÁ D, BREZOVÁ V, MAZÚR M, MALATI M A. Investigations of metal-doped titanium dioxide photocatalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*. 37(2). 91-105, 2002.
- [57] HERNÁNDEZ ENRÍQUEZ J, GARCÍA SERRANO L, ZEIFERT SOARES B, GARCÍA ALAMILLA R, ZERMEÑO RESENDIZ B, DEL ANGEL SÁNCHEZ

- T, CUETO HERNÁNDEZ A. Síntesis y caracterización de nanopartículas de N-TiO<sub>2</sub>-Anatasa. *Superficies y vacío*. 21(4). 1-5, 2008.
- [58] ROJANO B, CRISTINA ZAPATA I, CORTES F B. Estabilidad de antocianinas y valores de capacidad de absorción de radicales oxígeno (ORAC) de extractos acuosos de corozo (*Bactris guineensis*). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 17(3). 244-255, 2012.
- [59] DE UGAZ O L S. *Colorantes Naturales*. ed. Pontificia Universidad Católica del Perú, Fondo Editorial, 1997.
- [60] PÉREZ TRUEBA G. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 22(1). 0-0, 2003.
- [61] REDDY M, SAJI J. Solvent extraction of tetravalent titanium with organophosphorus extractants. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*. 23(3-4). 199-227, 2002.
- [62] SOLE K C. Recovery of titanium from the leach liquors of titaniferous magnetites by solvent extraction: Part 1. Review of the literature and aqueous thermodynamics. *Hydrometallurgy*. 51(2). 239-253, 1999.
- [63] PATTERSON B D, MACRAE E A, FERGUSON I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV). *Analytical biochemistry*. 139(2). 487-492, 1984.
- [64] XIONG Y, ZHOU Z-R, WU F-H. Kinetic spectrophotometric determination of trace titanium (IV) based on oxidation discoloration of acid chrome blue K with hydrogen peroxide. *Journal of China University of Mining and Technology*. 17(3). 418-423, 2007.

- [65] SUNDRARAJAN M, BAMA K, BHAVANI M, JEGATHEESWARAN S, AMBIKA S, SANGILI A, NITHYA P, SUMATHI R. Obtaining titanium dioxide nanoparticles with spherical shape and antimicrobial properties using *M. citrifolia* leaves extract by hydrothermal method. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 171. 117-124, 2017.
- [66] CLARK R J H, BRADLEY D C, THORNTON P. *The Chemistry of Titanium, Zirconium and Hafnium: Pergamon Texts in Inorganic Chemistry*. ed. Elsevier Science, 2018.
- [67] SANZ J, SOBRADOS I, SORIA J, YURDAKAL S, AUGUGLIARO V. Anatase nanoparticles boundaries resulting from titanium tetrachloride hydrolysis. *Catalysis Today*. 281(Part 1). 198-204, 2017.
- [68] SARAVANAN S, BALAMURUGAN M, LIPPITZ A, FONDA E, SWARAJ S. XANES studies of titanium dioxide nanoparticles synthesized by using *Peltophorum pterocarpum* plant extract. *Physica B: Condensed Matter*. 503. 86-92, 2016.
- [69] BROWN P L, EKBERG C. *Hydrolysis of Metal Ions*. ed. Wiley, 2016.
- [70] KISLIK V S. *Solvent Extraction: Classical and Novel Approaches*. ed. Elsevier, 2012.
- [71] ALLAL K, HAUCHARD D, STAMBOULI M, PAREAU D, DURAND G. Solvent extraction of titanium by tributylphosphate, trioctylphosphine oxide and decanol from chloride media. *Hydrometallurgy*. 45(1-2). 113-128, 1997.
- [72] KIM S J, PARK S D, JEONG Y H, PARK S. Homogeneous precipitation of TiO<sub>2</sub> ultrafine powders from aqueous TiOCl<sub>2</sub> solution. *Journal of the American Ceramic Society*. 82(4). 927-932, 1999.

- [73] ELBASUNEY S. Sustainable steric stabilization of colloidal titania nanoparticles. *Applied Surface Science*. 409(Supplement C). 438-447, 2017.
- [74] LIN D, STORY S D, WALKER S L, HUANG Q, LIANG W, CAI P. Role of pH and ionic strength in the aggregation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in the presence of extracellular polymeric substances from *Bacillus subtilis*. *Environmental Pollution*. 228(Supplement C). 35-42, 2017.
- [75] SAKKA S, KOZUKA H. *Handbook of sol-gel science and technology*. 1. Sol-gel processing. ed. Kluwer Academic Publishers, 2005.
- [76] RÍOS E G. *Química*. ed. Reverté, 1984.
- [77] RODRÍGUEZ R P. Eliminación fotocatalítica de H<sub>2</sub>S en aire mediante TiO<sub>2</sub> soportado sobre sustratos transparentes en el UV-A. ed. Universidad de Santiago de Compostela, Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico, 2008.
- [78] KATOUEI ZADEH E, ZEBARJAD S M, JANGHORBAN K. Optimization of synthesis conditions of N-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles using Taguchi robust design. *Materials Chemistry and Physics*. 201(Supplement C). 69-77, 2017.
- [79] GARCÍA G G. Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata empleando los extractos de las plantas *Equisetum Hyemale L*, *Gnaphalium Conoideum kunth* y *Arctostaphylos Pungens kunth*. Ph.D. thesis. INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN METALURGIA Y MATERIALES, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo 2017.
- [80] QINGQUAN G, XINFU M, YU X, WEI T, HUI Z. Green synthesis and formation mechanism of Ag nanoflowers using l-cysteine and the assessment of Ag

- nanoflowers as SERS substrates. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 530(Supplement C). 33-37, 2017.
- [81] ZHANG P, WYMAN I, HU J, LIN S, ZHONG Z, TU Y, HUANG Z, WEI Y. Silver nanowires: Synthesis technologies, growth mechanism and multifunctional applications. *Materials Science and Engineering: B*. 223(Supplement C). 1-23, 2017.
- [82] PHULL A-R, ABBAS Q, ALI A, RAZA H, KIM S J, ZIA M, HAQ I-U. Antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities of green synthesized silver nanoparticles from crude extract of *Bergenia ciliata*. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2(1). 31-36, 2016.
- [83] LI H, HE Y, LIU Z, JIANG B, HUANG Y. Rapid synthesis of broadband Ag@TiO<sub>2</sub> core-shell nanoparticles for solar energy conversion. *Solar Energy Materials and Solar Cells*. 166. 52-60, 2017.
- [84] SHAHIDI F. *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications*. ed. AOCS Press, 1997.
- [85] MORENO E, ORTIZ B L, RESTREPO L P. Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales. *Revista Colombiana de Química*. 43(3). 41-48, 2014.
- [86] GRUMEZESCU A M. *Nanoscale Fabrication, Optimization, Scale-up and Biological Aspects of Pharmaceutical Nanotechnology*. ed. Elsevier Science, 2017.
- [87] BASIUK V A, BASIUK E V. *Green Processes for Nanotechnology: From Inorganic to Bioinspired Nanomaterials*. ed. Springer International Publishing, 2015.

- [88] MAKAROV V, LOVE A, SINITSYNA O, MAKAROVA S, YAMINSKY I, TALIANSKY M, KALININA N. “Green” nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae* (англоязычная версия). 6(1 (20)). 2014.
- [89] PASTRANA-BONILLA E, AKOH C C, SELLAPPAN S, KREWER G. Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(18). 5497-5503, 2003.

6.1 Anexos

6.1.1 Anexo 1

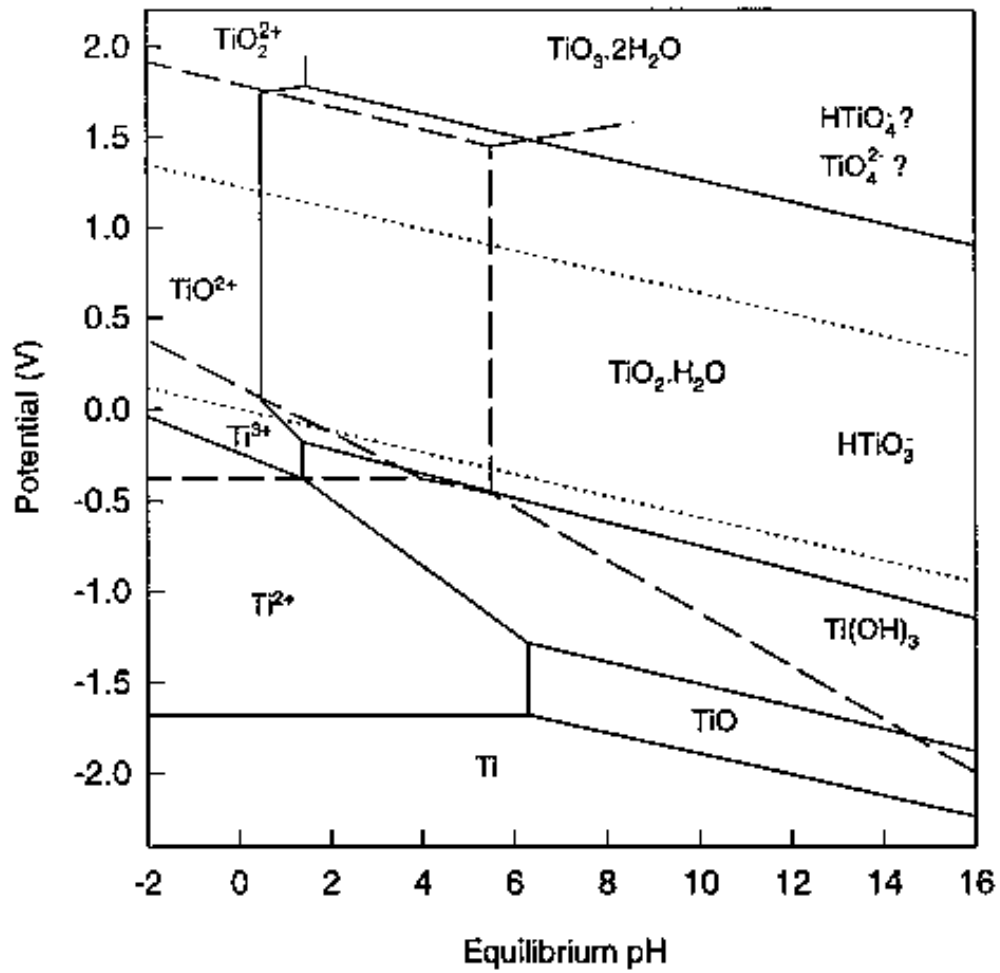


Figura 6.1. Diagrama de Pourbaix potencial vs pH para el sistema titanio-agua a 25 °C y [Ti]=0.2M [62].

6.1.2 Anexo 2

Hydrolysis reactions of titanium		
Reaction	Stability constant	References
$Ti^{3+} + H_2O \rightleftharpoons TiO^+ + 2H^+$	$\log \beta = -4.5$	[7]
$Ti^{3+} + OH^- \rightleftharpoons Ti(OH)^{2+}$	$\log K = 11.5$	[8]
$2Ti^{3+} + 2OH^- \rightleftharpoons Ti_2(OH)_2^{4+}$	$\log K = 24.8$	[8]
$TiO^{2+} + H_2O \rightleftharpoons TiO(OH)^+ + H^+$	$\log K = 12.82$	[5]
$Ti(OH)_3^+ + H^+ \rightleftharpoons Ti(OH)_2^{2+}$	$\log K = 0.3$	[5]
$Ti(OH)_{n-1} + OH^- \rightleftharpoons Ti(OH)_n^{4-n}$	$\log K_1 = 14.70$ $\log K_2 = 14.32$ $\log K_3 = 14.05$ $\log K_4 = 13.74$	[7]
$TiO^{2+} + HO_2^- \rightleftharpoons TiO^{2+} HO_2^-$	$\log \beta = 12.29$	[7]
$TiO^{2+} + H_2O_2 \rightleftharpoons TiO^{2+} H_2O_2$	$\log \beta = 3.71$	
$Ti_2O_3^{2-} + nH_2O \rightleftharpoons Ti_2O_3(OH)_n^{2-n} + nH^+$	$\log \beta_1 = -2.53$ $\log \beta_2 = -4.58$ $\log \beta_3 = -8.7$ $\log \beta_4 = -14.3$ $\log \beta_5 = -21.5$ $\log \beta_6 = -30.0$	[7]

Figura 6.2. Reacciones de hidrólisis de titanio de acuerdo a diferentes especies de titanio [62].

6.1.3 Anexo 3

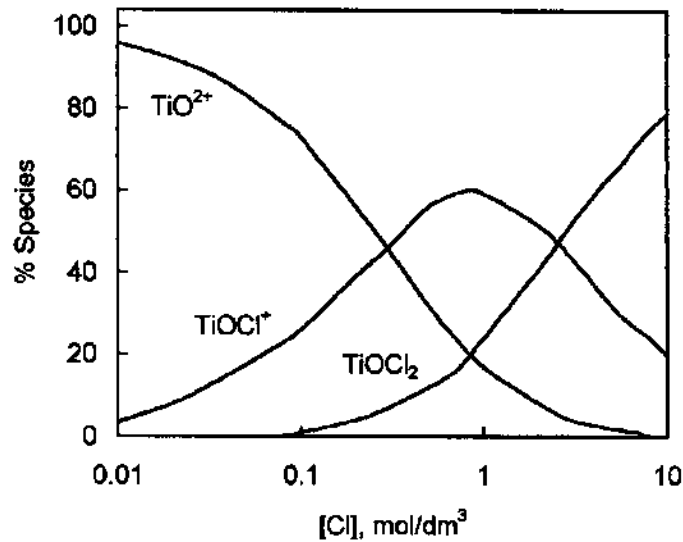


Figura 6.3. Diagrama de la distribución de complejos de oxiclорuros de titanio [61].