

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**“PRODUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO CON PROPIEDADES  
CONTROLABLES A TRAVÉS DE UN MÉTODO ENERGÉTICAMENTE  
EFICIENTE UTILIZANDO EXTRACTOS DE PLANTAS”**

**TESIS DE MAESTRÍA**

**QUE PARA OBTENER GRADO DE  
MAESTRO(A) EN INGENIERÍA QUÍMICA**

**PRESENTA:**

**“CARMINA TECUAPETLA HERRERA”**

**ASESOR(A):**

**“DRA. NANCY TEPALE OCHOA”**

**BUAP**

**H. Puebla Z., DICIEMBRE 2018**

## **ÍNDICE**

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>4</b>
<b>INDICE DE TABLAS</b> .....	<b>5</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>6</b>
<b>CAPITULO I. MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>8</b>
<b>1. NANOTECNOLOGÍA</b> .....	<b>8</b>
<b>1.1 GENERALIDADES DEL ORO</b> .....	<b>8</b>
<b>1.2 NANOPARTÍCULAS DE ORO (AUNPS)</b> .....	<b>9</b>
1.2.1 FACTORES QUE AFECTAN EL TAMAÑO Y FORMA DE NANOPARTÍCULAS.....	9
1.2.2 RESONANCIA DE PLASMON DE SUPERFICIE (SPR) DE ORO .....	10
1.2.3 NANOESTRUCTURAS DE ORO.....	12
1.2.4 TOXICIDAD DE NANOPARTÍCULAS DE ORO .....	13
<b>1.3 CARACTERÍSTICAS DE UN MÉTODO ENERGÉTICAMENTE EFICIENTE</b> ....	<b>15</b>
<b>1.4 BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO</b> .....	<b>16</b>
1.4.1 BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS CON PLANTAS .....	17
1.4.2 CANCERINA (HIPPOCRATEA EXCELSA KUNTH).....	18
1.4.3 POSIBLE MECANISMO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO CON PLANTAS .....	20
<b>1.5 SÍNTESIS EN UN SOLO PASO</b> .....	<b>20</b>
1.5.1 COPOLÍMEROS TRIBLOQUE .....	20
1.5.1.1 COPOLÍMERO DE BLOQUE P-103.....	22
1.5.2 PROPIEDADES DE COPOLÍMEROS DE BLOQUE P103 .....	23
1.5.3 REDUCCIÓN DE LOS IONES DE ORO CON COPOLÍMERO.....	23
<b>1.6 BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS CON PLANTAS Y AGENTE ESTABILIZADOR</b> .....	<b>24</b>
<b>CAPITULO II. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>26</b>
2.1 REACTIVOS .....	26
2.2 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE CANCERINA .....	26
2.3 SOLUCIÓN DE ORO Y SOLUCIÓN DE COPOLIMERO.....	27
2.4 BIOSÍNTESIS DE AUNPS CON EXTRACTOS DE CANCERINA- COPOLIMERO .....	27
2.4.1 BIOSÍNTESIS CON EXTRACTO DE CANCERINA .....	27

2.4.2 BIOSÍNTESIS CON EXTRACTO DE CANCERINA-POLÍMERO .....	27
2.5 CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO.....	28
2.5.1 UV-VIS ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN.....	28
2.5.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM).....	29
2.5.2 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA FT-IR .....	29
<b><i>CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</i></b>	<b><i>29</i></b>
3.1 CARACTERIZACION DE NANOPARTÍCULAS DE ORO POR ESPECTROSCOPIA UV-VIS.....	29
3.2 CARACTERIZACIÓN POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA DE CANCERINA, NANOPARTÍCULAS DE ORO CON Y SIN COPOLIMERO TRIBLOQUE P103.....	44
3.3 CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN. ....	48
CONCLUSIONES .....	58
<b><i>BIBLIOGRAFÍA .....</i></b>	<b><i>59</i></b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura. 1.2.1 Resonancia de Plasmón de superficie en una nanopartícula metálica (interacción de una nanoesfera metálica con luz). Desplazamiento de los electrones causado por un campo eléctrico oscilante donde se producen cargas superficiales negativas (electrones) y positivas (déficit de electrones), cuyo movimiento resonante constituye una oscilación de plasma (Jain et al., 2007).....</i>	<i>10</i>
<i>Figura. 1.2.2 Micrografías electrónicas de transmisión de (a) nonoesferas de Au, (b) nanotubos de Au, (c) nanoprismas de Ag (d) nanopartículas de aleación Au-Ag con incrementos de concentración de Au, (e) nanotubos de Au con aumentos en el tamaño, y (f) nanoprismas de Ag aumentando el tamaño de la longitud lateral (Jain et al., 2007).....</i>	<i>12</i>
<i>Figura 3.1 1 Espectros de las soluciones acuosas de Ácido tetracloroáurico trihidratado (HAuCl<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O), Se anexan los espectros del extracto de la corteza de cancerina diluida y el extracto el extracto de cancerina diluida.....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 3.1 2 Espectro de absorción para nanopartículas de oro empleando 0.2 mL de extracto de cancerina con 10 mL de la solución de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>.....</i>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<i>Figura 3.1 3 Espectro de absorción para nanopartículas de 0.4 mL de extracto de cancerina con 10 mL de la solución de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>.....</i>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<i>Figura 3.1 4 Espectro de absorción para nanopartículas de 0.6 mL de extracto de cancerina con 10 mL de la solución de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>.....</i>	<i>33</i>
<i>Figura 3.1 5 Espectro de absorción para nanopartículas de 0.8 mL de extracto de cancerina con 10 mL de la solución de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>.....</i>	<i>33</i>
<i>Figura 3.1 6 Espectro de absorción para nanopartículas de 1 mL de extracto de cancerina con 10 mL de la solución de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>.....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 3.1 7 cambio en la coloración después de la formación de AuNPs (4 horas) cuando se emplean 10 mL de la solución de oro con extracto de cancerina diluida (0.2mL, 0.4 mL, 0.6mL, 0.8 mL, 1 mL). .....</i>	<i>35</i>
<i>Figura 3.1 8 Espectros UV-Vis de AuNPs con 10 mL de H[AuCl<sub>4</sub>].3H<sub>2</sub>O y extracto de cancerina (0.2mL, 0.4mL,0.6mL,0.8mL y 1mL). En la parte superior derecha se tiene el cambio de la absorbancia vs la concentración de extracto de cancerina. ....</i>	<i>36</i>
<i>Figura 3.1 9 Absorbancia vs. Tiempo de muestras sintetizadas con Extracto diluido de Cancerina (EDC), empleando 10 mL de la Solución de Au con 0.2mL, 0.4mL, 0.6mL,0.8mL y 1 mL de EDC .....</i>	<i>36</i>
<i>Figura 3.1 10 El orden de adición fue 1mL de extracto de cancerina se mezcló con 1mL de P-103, después de 1 min en agitación se vertió la mezcla en 10 ml de la solución. de oro. Arreglo 1 .....</i>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<i>Figura 3.1 11 Soluciones preparadas con: 1 ml de extracto de cancerina diluido con 1 ml de P-103 a diferentes concentraciones la mezcla se adiciono a 10 ml de Au, es decir, Arreglo 1. a)0.05% p/v p-103, b) 0.1% p/v p-103, c) 0.5% p/v p-103, d) 1% p/v p-103. ....</i>	<i>39</i>
<i>Figura 3.1 12 El orden de adición fue 1mL de P-103 se adiciono a la mezcla de 1mL de extracto de cancerina con 10 ml de la solución. de oro. Arreglo 2 .....</i>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<i>Figura 3.1 13 Soluciones preparadas con:1 ml de P-103 a diferentes concentraciones se adiciona a la mezcla de 1 ml de extracto de cancerina diluido con 10 ml de Au, es decir, Arreglo 2. a)0.05% p/v p-103, b) 0.1% p/v p-103, c) 0.5% p/v p-103, d) 1% p/v p-103. ....</i>	<i>41</i>
<i>Figura 3.2 14 Absorbancia vs Tiempo de: a) Arreglo1, b) Arreglo 2 .....</i>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<i>Figura 3.3 15 Micrografías de la formación de nanopartículas de oro empleando 1ml de extracto de cancerina a temperatura ambiente. ....</i>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<i>Figura 3.3 16 Micrografías de la formación de nanopartículas de oro empleando 1ml de extracto de cancerina a temperatura ambiente. Agregando el copolímero tribloque P-103 siguiendo el modo de adición 1.....</i>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>

## INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1 Dependencia del tamaño en relación a la longitud de onda máxima del SPR de AuNPs esféricas (Shah et al., 2014). .....</i>	<b><i>¡Error! Marcador no definido.</i></b>
<i>Tabla 2 Propiedades del copolímero de bloque P-103 (Sakai et al., 2015). .....</i>	<b><i>¡Error! Marcador no definido.</i></b>
<i>Tabla 3 Temperaturas de micelización críticas para soluciones acuosas de copolímero plurónico P-103 en función de la concentración del copolímero (Alexandridis et al., 1994). .....</i>	<b><i>¡Error! Marcador no definido.</i></b>

## INTRODUCCIÓN

La rama de la ciencia relacionada con las nanopartículas, conocida como "nanotecnología", se ha convertido en un área de intensa investigación científica abarcando aplicaciones en los campos de la medicina, la electrónica, los biomateriales y la producción de almacenamiento de energía. El gran potencial de las nanopartículas se debe a las propiedades únicas de los elementos cuando su tamaño se reduce al nivel nanométrico. En general, las propiedades de las partículas por encima del tamaño del nanométrico no difieren significativamente de sus equivalentes a granel. Sin embargo, cuando las partículas se reducen al tamaño de nanómetro, sus propiedades físicas y químicas (por ejemplo, punto de fusión, fluorescencia, conductividad eléctrica, permeabilidad magnética y reactividad química) pueden cambiar drásticamente. Los cambios en estas propiedades están muy influenciados por su tamaño, forma y naturaleza del entorno circundante.

Entre todos los metales que se usan comúnmente para fabricar nanopartículas, el oro es el metal más ampliamente utilizado y estudiado ya que es uno de los elementos químicamente menos activos a su vez entre las nanopartículas metálicas, las nanopartículas de oro (AuNPs) han atraído mucha más atención debido a su biocompatibilidad y alto potencial para uso en biología y medicina, fuerte dispersión y absorción, resonancia de plasmón de superficie sintonizable (SPR), fácil funcionalización de la superficie, métodos de síntesis fáciles, y baja toxicidad. Por otro lado, las sales de oro tienen potentes propiedades antiinflamatorias y se han administrado para reducir el dolor y la inflamación asociados con la artritis reumatoide y la tuberculosis. Con el paso de los años, se descubrieron soluciones de oro en diferentes partes del mundo para tratar diversas enfermedades y aliviar el sufrimiento en pacientes con cáncer, para la detección de tumores, enfermedades genéticas y terapia fototérmica. La capacidad de las AuNPs para aplicaciones biomédicas se puede atribuir a sus propiedades plasmónicas, que se evidencian por un cambio de color drástico desde el color dorado en su forma general hasta una variedad de colores cuando se reduce a sus tamaños nanométricos. El tamaño de AuNPs rige las propiedades de las nanopartículas y las aplicaciones para las que se utilizan, a su vez estas propiedades son atribuidas directamente por el método de obtención. A través de los años se han utilizado diferentes métodos físicos y químicos para sintetizar nanopartículas puras y bien definidas, aunque a elevados costos, la gran desventaja de estos métodos como es el caso del químico es la

producción de nanopartículas consideradas tóxicas debido a la utilización de algunas especies químicas como el citrato de sodio. Por lo anterior investigadores se han dado a la tarea de proponer nuevos métodos de síntesis tal es el caso de la biosíntesis o síntesis verde el cual surge como una alternativa prometedora, para la formación de AuNPs, a través de bacterias, hongos o plantas. Siendo la síntesis de nanopartículas mediada por plantas la que cuente con mayores ventajas, incluyendo la biocompatibilidad, la escalabilidad y la aplicabilidad médica de la síntesis de nanopartículas usando el solvente universal (agua), como medio reductor, además de que las plantas son generalmente baratas, disponibles y no tóxicas; además de que es sabido que desde hace algunas décadas las plantas han formado parte de varios sistemas médicos indígenas mexicanos para tratar la sintomatología relacionada con enfermedades infecciosas. Las investigaciones sobre plantas medicinales se están reconsiderando ahora como un enfoque factible para descubrir nuevos agentes bioactivos para resolver problemas de salud pública

Algunas de las especies de plantas reportadas que han logrado la biosíntesis de nanopartículas de oro son zacate de limón, extracto de hoja de Almendro, extracto de hoja de olivo, extracto de flor de Plumería alba, cáscaras de cebolla secas (OP), hojas de palma. Investigadores hacen referencia que las anteriores plantas utilizadas en la síntesis verde contienen flavonoides, aldehídos, cetonas, aminas, ácidos carboxílicos, fenoles, terpenos, azúcares, proteínas y alcaloides los cuales han logrado actuar como agentes reductores del ion de oro con éxito; además de su propiedad reductora de estas plantas algunas cuentan con propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, anti fúngicas e inclusive anticancerosas como es el caso de la planta Hippocratea Excelsa Kunth conocida comúnmente como “cancerina”, la cual en México ha sido utilizada por sus propiedades medicinales como tratamiento para la Gastritis, Padecimientos renales, Afecciones de la piel, Infecciones uterinas como agente anti- inflamatorio y cicatrizante. Por otro lado, actualmente la incorporación de “agentes” estabilizadores (polímeros, generalmente) naturales en las metodologías verdes se ha propuesto con la finalidad de evitar la aglomeración durante el proceso de formación o para modificar las características superficiales de las nanopartículas.

En este trabajo se reporta la biosíntesis de nanopartículas de oro empleando el extracto de cancerina, además del efecto que tiene la adición del copolímero P103 en la formación de las nanopartículas metálicas.

## CAPITULO I. MARCO TEÓRICO

### 1. NANOTECNOLOGÍA

La nanotecnología es el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales a través del control de la materia a nanoescala; el desarrollo de esta disciplina se produce a partir de las propuestas de Richard Feynman por lo que ha sido considerado el padre de la "nanociencia". Richard Feynman propuso fabricar productos con base a un reordenamiento de átomos y moléculas; a través de un artículo reporto su análisis de como las computadoras trabajando con átomos individuales podrían consumir muy poca energía y conseguir velocidades asombrosas (Sanchez & Sobolev, 2010).

Dentro del rango nanométrico todas las propiedades (químicas, físicas y biológicas) de los átomos y moléculas individuales cambian en comparación con las de su contraparte más grande. Las nanopartículas metálicas son consideradas como los nanomateriales más prometedores en diversas aplicaciones (Kim *et al.*, 2015).

#### 1.1 GENERALIDADES DEL ORO

El oro, que se representa con el símbolo químico Au (del latín *Aurum*) es un metal noble que se encuentra en el grupo 1B de la tabla periódica; su número atómico es 79, su peso atómico de 196.967 uma, y tiene la configuración electrónica [Xe] 4f<sup>14</sup>5d<sup>10</sup>6s<sup>1</sup>. El oro presenta alta conductividad térmica y eléctrica. Aunque tiene un sólo electrón de valencia, su estructura electrónica no está estabilizada y puede adoptar siete estados de oxidación: (-I), (0), (I), (II), (III), (IV) y (V). Su densidad es (19.3 gr/cm<sup>3</sup>), su punto de fusión es (1064.76 °C), cuenta con un elevado potencial de ionización (9.22 eV) y el potencial electrónico es 1.68 V para la oxidación a oro (I). Sólo el oro (0), (I) y (III) son estables en solución acuosa, el oro existe en equilibrio entre su estado metálico [oro (0)] y sus estados de oxidación [oro (I) u oro (III)]. El oro metálico no se oxida o quema en el aire, incluso cuando se calienta; se ha demostrado que es inerte a fuertes ácidos por lo que es uno de los metales químicamente menos reactivos conocidos por el hombre (López, 2007). En la actualidad el oro coloidal se conoce como nanopartículas de oro (AuNPs) y estas a su vez se definen como aglomerados de átomos de oro de fase sólida dispersas en otra fase continua como puede ser agua, para obtener una disolución coloidal estable (Zhao *et al.*, 2013).

## **1.2 NANOPARTÍCULAS DE ORO (AuNPs).**

La obtención de nanopartículas metálicas coloidales ha sido un área muy activa de investigación específicamente a partir de metales nobles: oro, plata, platino y paladio a causa de sus propiedades ópticas concretamente, las nanopartículas de oro (AuNPs), exhiben excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas peculiares destacando las nanopartículas de oro por sus propiedades ópticas (K. *et al.*, 2007), fototérmicas, catalíticas (Mallick *et al.*, 2006), biomédicas como agentes antibacteriales (Kim *et al.*, 2015) y como tratamiento contra el cáncer (Her *et al.*, 2017), muchas de estas propiedades y sus posibles aplicaciones son fuertemente influenciadas por el tamaño y la forma de las mismas: esferas, barras, discos, prismas, etc. Es por eso que en los últimos tiempos se desarrollaron distintas técnicas de preparación de nanopartículas enfocadas en controlar las características morfológicas.

Las AuNPs son partículas coloidales con diámetros en el intervalo de 1 a 150 nanómetros que constan de un núcleo de Au y una capa protectora que rodea el núcleo el cual también puede ser modificado para controlar la estabilidad de las partículas, la solubilidad y la interacción con el entorno biológico. Una de las características ventajosas de AuNPs es la versatilidad sintética, que permite la adaptación fina del tamaño de partícula, forma y propiedades superficiales (Zhao *et al.*, 2013).

### **1.2.1 FACTORES QUE AFECTAN EL TAMAÑO Y FORMA DE NANOPARTÍCULAS.**

El tamaño, la distribución de tamaño y la forma de nanopartículas metálicas dependen de algunos parámetros importantes, tales como el método de síntesis, agente protector y/o estabilizador, tipo de solvente, concentración del precursor, pH y la temperatura de síntesis (Zhao *et al.*, 2013). Además, se ha encontrado que al aumentar la concentración del polímero (agente protector) más allá del valor óptimo, conlleva a un incremento de la viscosidad de la solución, obstaculizando la difusión, disminuyendo las repulsiones electrostáticas y promoviendo la aglomeración de las partículas (Petica *et al.*, 2008).

La velocidad a la que se agregan los reactivos también puede ser un factor que determina el tamaño de las partículas (Wang *et al.*, 2005). En otras investigaciones de síntesis utilizando otros metales tales como la plata se observó que al agregar los reactivos a razón de 1 gota/s

se generaron nanopartículas de plata bien dispersas y de un tamaño de 20-80 nm. Sin embargo, empleando velocidades de agregación mayores o menores a 1 gota/s, se obtuvieron partículas de mayor tamaño. También se ha observado que la temperatura de síntesis juega un papel preponderante en la dimensión y morfología de las partículas (Luo *et al.*, 2005).

### 1.2.2 RESONANCIA DE PLASMON DE SUPERFICIE (SPR) DE ORO

Los metales, además de reflejar la luz, tienen una propiedad óptica menos conocida: bajo ciertas condiciones la luz puede viajar por las superficies metálicas sin alejarse de ellas. Esta es una propiedad muy peculiar, ya que en condiciones normales la luz viaja por las tres dimensiones de un espacio. En realidad, esta “luz superficial” mejor conocida como resonancia de plasmón de superficie (PS), es una onda más complicada que la luz normal, ya que no consiste sólo en un campo electromagnético, sino que involucra también los electrones libres presentes en los metales. Sin embargo, como los electrones al moverse disipan energía en forma de calor, a los PS se les había tenido siempre por un sumidero de energía y, por lo tanto, como un inconveniente para la utilización de metales en dispositivos ópticos que envían energía de un lugar a otro. En efecto, tras haber recorrido un PS sólo una décima de milímetro, más de la mitad de la intensidad de luz que lleva se ha disipado ya en forma de calor. Por lo tanto, los PS no son muy adecuados si pretendemos valernos de ellos para transportar energía a distancias mayores que las décimas de milímetro. El estudio de los plasmones de superficie ha sido muy importante en la física del estado sólido, debido principalmente a que las características de su propagación están ligadas a las propiedades de la superficie, y por ello, también al tamaño y forma de la nanopartículas que se obtengan (Ver figura 1.2.1), (Prashant *et al.*, 2007).

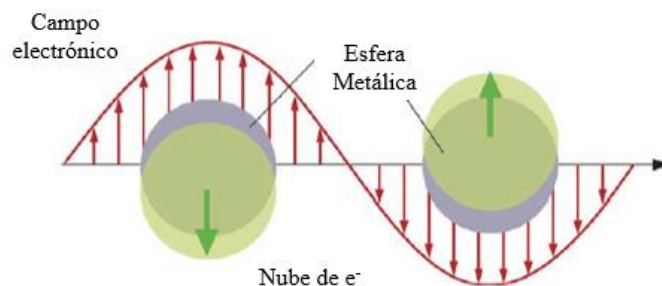


Figura. 1.2.1 Resonancia de Plasmón de superficie en una nanopartícula metálica (interacción de una nanoesfera metálica con luz). Desplazamiento de los electrones causado por un campo eléctrico oscilante donde se

producen cargas superficiales negativas (electrones) y positivas (déficit de electrones), cuyo movimiento resonante constituye una oscilación de plasma (Jain *et al.*, 2007)

Por lo tanto, la forma de las nanopartículas se puede observar y clasificar; por ejemplo, las nanopartículas en forma de barra presentan oscilaciones que van a lo largo de su eje horizontal (se absorben longitudes de onda más largas) y transversal (longitudes de onda corta), por lo que se ven otros colores, fruto de la absorción de luz en diferentes partes del espectro. Las nanopartículas rojas pueden agregarse formando objetos alargados de color violeta. Cuando se irradian las nanopartículas de oro con luz IR, se liberan considerables cantidades de calor, y la temperatura de las zonas cercanas a las nanopartículas se eleva considerablemente. Este efecto (“hipertermia”) es de posible aplicación en medicina, dado que permite calentar localmente un tejido con mucha precisión y eliminar o inactivar las células cercanas (Her *et al.*, 2017).

Investigaciones recientes reportan que para poder comprobar la presencia de nanopartículas experimentalmente, por ejemplo, en una muestra de nanopartículas de 5 a 10 nm se ilumina con luz blanca, la parte de altas energías del espectro (azul-violeta) se absorbe; el resto (rojo) atraviesa la muestra y, por lo tanto, estos coloides de oro se ven rojos. En nanopartículas más grandes (>40 nm), comienzan a influir otros efectos, como la dispersión de luz, lo que hace cambiar el color hacia un tono violeta, incluso pueden aparecer en rojo, azul, verde o marrón de acuerdo con el tamaño de las partículas y la forma (Véase figura 1.2.2). Estos colores surgen de la interacción de electrones en las nanopartículas metálicas con la luz incidente (Capek, 2017).

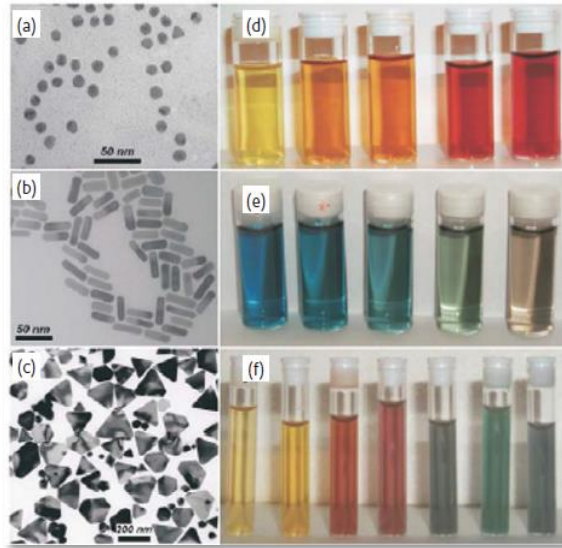


Figura. 1.2.2 Micrografías electrónicas de transmisión de (a) nooesferas de Au, (b) nanotubos de Au, (c) nanoprismas de Ag (d) nanopartículas de aleación Au-Ag con incrementos de concentración de Au, (e) nanotubos de Au con aumentos en el tamaño, y (f) nanoprismas de Ag aumentando el tamaño de la longitud lateral (Jain et al., 2007).

### 1.2.3 NANOESTRUCTURAS DE ORO

Las propiedades intrínsecas de las AuNPs están muy influenciadas por su tamaño y forma (Tabla 1). En general, se observa una única banda de plasmón para AuNPs esféricas aproximadamente en 520 nm. Para nanopartículas anisotrópicas como nanocilindros, se observan dos bandas plasmónicas debido a la oscilación de los electrones a lo largo de dos ejes longitudinal (largo) y transversal (corto), respectivamente. La banda de plasmón transversal se produce a  $\sim 520$  nm mientras que la banda de plasmón longitudinal aparece a una longitud de onda más larga dependiendo de la relación de aspecto del nanocilindro (relación de longitud / anchura) (Figura 1.2.3). La intensidad y la banda de absorción del SPR dependen de factores que influyen principalmente en la densidad de carga de electrones en la superficie de las partículas, tales como el tipo de metal, el tamaño de partícula, la forma, la estructura, la composición y la constante dieléctrica del medio circundante. El SPR sirve como una herramienta esencial para el seguimiento de la propiedad morfológica de las AuNPs sintetizadas (Shah *et al.*, 2014)

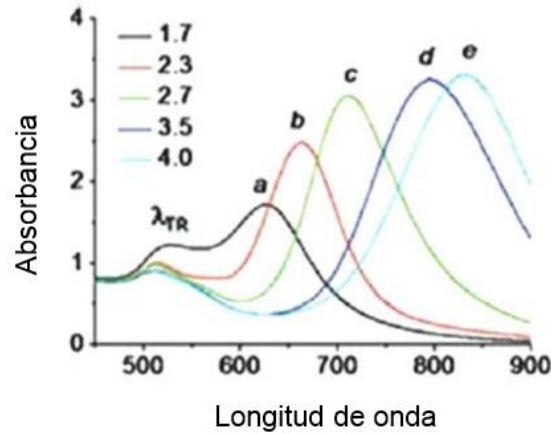


Figura. 1.2.3 Absorbancia de nanocilindro de Oro.

**Tabla 1. Dependencia del tamaño en relación a la longitud de onda máxima del plasmón de Superficie (SP) de AuNPs esféricas (Shah *et al.*, 2014)**

Tamaño de AuNPs	Formación de la banda de absorción a la longitud de onda (SP)
5 nm	515-520 nm
10 nm	515-520 nm
20 nm	524 nm
30 nm	526 nm
40 nm	530 nm
50 nm	535 nm
60 nm	540 nm
80 nm	553 nm
100 nm	572 nm

### 1.2.4 TOXICIDAD DE NANOPARTÍCULAS DE ORO

Los principales factores que determinan los efectos tóxicos de los nanomateriales en el organismo se pueden dividir en: factores que dependen de la exposición (vía de entrada, concentración y duración de la exposición), factores que dependen del organismo expuesto (susceptibilidad individual) y factores relacionados con la toxicidad intrínseca de la sustancia (factores físicos y químicos) (Rafique *et al.*, 2017). Existen tres vías principales a través de las cuales las personas pueden estar expuestas a los nanomateriales: inhalatoria, dérmica y oral. La vía de entrada más común de las nanopartículas al organismo es la inhalatoria. Las partículas ingresan al organismo por esta vía y, dependiendo de su tamaño, pueden ser exhaladas o bien depositarse en los diferentes compartimentos del aparato respiratorio (Uboldi *et al.*, 2009). Las nanopartículas también pueden ingresar al organismo por vía dermal, particularmente en el ambiente laboral, al depositarse sobre la piel, aunque esta vía de ingreso también puede ser utilizada por las nanopartículas presentes en cosméticos y

cremas solares que las contienen. Desde la dermis es posible que las partículas alcancen la circulación linfática y sanguínea. La ingestión es una de las rutas más probables por la que las nanopartículas pueden ingresar al organismo. Esto puede ocurrir de modo accidental, por la manipulación de nanomateriales, pudiendo pasar de las manos a la boca por una falta de higiene o también por la ingestión de alimentos que las contengan (Rafique *et al.*, 2017). Una propiedad específica de las nanopartículas es su capacidad para atravesar las barreras biológicas mediante un proceso denominado “translocación”, este término se refiere a un proceso mediante el cual las nanopartículas atraviesan las barreras biológicas y pueden encontrarse en otras partes del organismo, distintas a las del punto de ingreso, pero manteniendo su integridad como partícula (es decir, sin que se produzca disolución) (Ávalos *et al.*, 2013).

Mishra *et al.* , 2016 informaron la síntesis nanopartículas de oro con extracto de hojas y tallos de Hibiscus sabdariffa así como el efecto citotóxico de las nanopartículas en condiciones hiperglucémicas contra U87 Glioblastoma multiforme (GBM). A partir de sus observaciones experimentales propusieron el uso potencial de AuNPs en la muerte de células U87 GBM; para la terapia del cáncer tuvieron en cuenta la incapacidad de administrar la solución de forma selectiva frente a células malignas con poco o ningún daño colateral en las células sanas, a partir de la anterior consideración estudiaron el efecto tóxico de AuNPs frente a 293 células normales, y los resultados que obtuvieron fueron que la viabilidad celular es  $\geq 80\%$  tras el tratamiento con 2,0 nanogramos / ml de AuNPs después de un período de 48 h de incubación. Mencionaron además que informes anteriores también habían demostrado que las AuNPs tuvieron muy poca toxicidad para las células normales y, por lo tanto, son viables en diversas aplicaciones biológicas

Zheng, *et al.*, 2017 llevaron a cabo la síntesis de nanopartículas de oro a partir de soluciones acuosas de HAuCl<sub>4</sub> (20 mM, 0.25 mL) y ácido 6-mercaptohexanoico MHA (10 mM, 1 mL) y demostraron que es posible conferir actividad antimicrobiana a las AuNPs mediante el control de sus tamaño, en particular AuNPs de 2 nm mostraron un efecto antimicrobiano que estaba ausente de su contraparte más grande pudiendo matar tanto a bacterias Gram-positivas y bacterias Gram-negativas a partir del anterior estudio concluyeron que es posible considerar a las AuNPs como un bactericida de amplio espectro.

Ponnanikajamideen, *et al.*, 2018 estudiaron el efecto anti-diabético y cicatrizante in vivo de nanopartículas de oro sintetizadas usando una planta de insulina (*Chamaecostus Cuspidatus*). Los estudios in vivo fueron en ratones a los que se les suministraron las AuNPs a una dosis de 1.5 mg / kg por peso/ día durante 10 días donde examinaron la morfología y los cambios de comportamiento una vez al día. Considerando un valor de 45,65 ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) para las AuNPs y un valor de LC50 49,33 ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) para el extracto de la planta. A partir de su investigación informaron que todos los ratones sobrevivieron durante todo el período experimental sin exhibir ninguna anormalidad. Los ratones no mostraron ningún síntoma de toxicidad como fatiga, pérdida de apetito, cambio en el color de la piel, pérdida de peso, etc. Además, llevaron a cabo un análisis comparativo de varios parámetros hematológicos entre los ratones tratados con geminclamida, los ratones tratados con el extracto de la planta y ratones a los que se suministraron las AuNPs; mostrando claramente que no hubo alteración significativa. También examinaron, el efecto patológico de las nanopartículas sobre las características morfológicas de los órganos a través de las observaciones histológicas utilizando un microscopio óptico; los hallazgos histológicos confirman claramente el efecto no tóxico de las nanopartículas de oro sintetizadas biológicamente en hígado, riñón y pulmón.

### **1.3 CARACTERÍSTICAS DE UN MÉTODO ENERGÉTICAMENTE EFICIENTE**

Las reacciones redox son actualmente empleadas para sintetizar nanopartículas de oro con un intervalo de tamaño de 1-10 nm, debido a su relativa eficiencia energética y facilidad de implementación.

El desarrollo de un proceso eficiente para la síntesis de nanopartículas coloidales de oro de forma instantánea está relacionado con la viabilidad económica y ambiental. Las resoluciones a estas cuestiones van desde procesos a escala de laboratorio que tengan tiempos de finalización rápidos, el uso de reactivos verdes en fase acuosa en condiciones ambientales y el uso de agentes reductores no tóxicos a temperatura ambiente (D. *et al.*, 2010), (Sivaraman *et al.*, 2010). De acuerdo a lo anteriormente mencionado, la biosíntesis a base de plantas reúne las características necesarias para ser considerada como un método energéticamente eficiente.

Grubb, G. & Bakshi, B., (2010) realizaron una comparación entre el consumo energético que se tendría en un proceso industrial para la fabricación de dióxido de titanio y para la fabricación de nanopartículas de dióxido de titanio por procedimiento del clorhidrato

de Altair, con exclusión de las etapas de calcinación y molienda. Este estudio se planteó a través de la primera y segunda ley de la energía incluyendo el término de exergía. Para poner el proceso de nanopartículas de dióxido de titanio en contexto con otros nanomateriales y materiales de construcción más convencionales, hicieron la comparación de los requerimientos de energía bruta para varios materiales. Debido a que todos los materiales se usan en cantidades diferentes y para aplicaciones muy diferentes, los resultados mostraron que la necesidad de energía en masa por unidad para producir  $\text{TiO}_2$  es más del orden de los materiales de construcción tradicionales, como el acero. Además, plantearon que es posible una comparación extensiva de estos materiales si se multiplican por unidad los resultados de la masa por el volumen de producción anual total de cada material. Concluyeron que es posible que su comparación sea no funcional, ya que 1 kg de acero no es directamente comparable a 1 kg de nanopartículas, porque para una aplicación dada se requerirán cantidades muy diferentes de cada material, tal vez en combinación con otros materiales, como en el caso del nano compuestos. Sin embargo, la intensidad relativa de la energía puede proporcionar una primera aproximación para la viabilidad de una nueva tecnología en comparación con las técnicas establecidas.

#### **1.4 BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO**

La biosíntesis de AuNPs se puede efectuar a través del uso de las bacterias, hongos, levadura y biomasa vegetal como extracto vegetal, ejemplo de uno de estos es la síntesis extracelular utilizando la bacteria *Bacillus marisflavi* YCIS MN 5 (Nadaf & Kanase, 2016); el gran problema con estos métodos es la dificultad para proporcionar un buen control sobre la distribución del tamaño, la forma y cristalinidad de nanopartículas; así como también la manipulación de los parámetros de reacción tales como pH y temperatura capaces de inactivar los microbios y obstaculizar el proceso de biorreducción. Incluso se requiere de instalaciones especializadas para mantener el crecimiento de microorganismos, así como tiempos prolongados para la incubación. Con este método se deben tener precauciones especiales para poder manejar algunas bacterias o virus y evitar que estos no se vuelvan perjudiciales para humanos (Gan & Li, 2012) como alternativa se han propuesto múltiples investigaciones basadas en el empleo de extractos de plantas.

### 1.4.1 BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS CON PLANTAS

Se ha observado que las plantas que tienen aroma o color, contienen aminoácidos, enzimas, flavonoides, aldehídos, cetonas, aminas, ácidos carboxílicos, fenoles, terpenos, azúcares, proteínas y alcaloides, actúan como agentes reductores del ion de oro inclusive han logrado funcionar como agentes estabilizantes durante la formación de nanopartículas. Por lo tanto, para la biosíntesis se debe seleccionar siempre una planta que contenga al menos uno de los productos químicos mencionados anteriormente. Las nanopartículas de oro a partir de extracto de plantas de formas y tamaños bien definidos dependen de la concentración de extracto de la planta / biomasa, sal de metal, pH de la mezcla, temperatura y tiempo de formación. Algunas de las especies de plantas reportadas que han logrado la biosíntesis de nanopartículas de oro son la Menta (Jafarizad *et al.*, 2015) , extracto de hoja de olivo (Khalil *et al.*, 2012) , extracto de hoja de Almendro ( *Terminalia Catappa* ) (Ankamwar, 2010) , extracto de flor de Plumería alba (Mata *et al.*, 2016), zacate de limón (Shankar *et al.*, 2005).

En el 2005 se logró la reducción de los iones de oro por el extracto de la planta de zacate de limón que condujo a la formación de nanopartículas de forma triangular, también se reportó que el aumento de la cantidad de extracto es directamente proporcional a la absorbancia del plasmón en 525 nm, indicando a su vez un incremento en la cantidad de nanopartículas esféricas; mientras que a volúmenes menores de extracto, la longitud de onda se desplaza hacia la derecha, indicando la presencia de anisotropía en las nanopartículas obtenidas (Shankar *et al.*, 2005).

En el año 2010 se realizó la síntesis de AuNPs en solución acuosa a partir del extracto de hojas de almendro diluido como agente de reducción y estabilizador debido a la presencia de diversos ácidos y taninos hidrolizables presentes en la hoja de almendra. Las nanopartículas de oro que se obtuvieron presentaron una morfología esférica con una variación en tamaño de 10 a 35 nm y un tamaño promedio de 21.9 nm (Ankamwar, 2010).

Jafarizad, *et al.*, (2015) mediante un método de síntesis verde y el uso de dos plantas, (Mentha y Pelargonium), sintetizaron nanopartículas de oro estables incluso si se aumentaba la temperatura. Además, observaron que las nanopartículas de oro son estables en los medios de PBS, que es similar a la sangre humana. Sus espectros mostraron bandas de absorción en 537 y 538 nm respectivamente. Confirmaron a través de resultados de Cromatografía GC-MS de La existencia de Isoeugenol y Spathulenol en extracto de Mentha y Flavonoides, ácido

fenólico y Tanin en el extracto de *Pelargonium* tuvieron el efecto reductor en la síntesis de AuNPs debido a que tienen grupos funcionales hidroxilo. El efecto estabilizador de *Mentha* se debe a tener anillos aromáticos en Apiol e Isoleugenol. Mientras que el efecto estabilizador del *Pelargonium* no se debió solo a tener anillos aromáticos en el ácido cinámico, cumarina, flavonoides y ácido fenólico, sino a la existencia de enlaces C = C en los grupos monoterpeneo y Sesquiterpeneo y carboxílico en el ácido cinámico.

Kumar., *et al.* (2016) utilizaron el extracto acuoso de cáscaras de cebolla secas (OP)) para sintetizar nanopartículas de oro, a través del espectro de resonancia de plasmón superficial en 535 nm confirmaron la formación de nanopartículas, además identificaron que estas eran de un tamaño de partícula promedio de 45.42 nm. A través de FT-IR confirmaron la participación de varios compuestos fenólicos solubles en agua y derivados de cisteína en la reducción y estabilización de OP-AuNPs. Además, observaron que las OP-AuNPs mostraron una fuerte actividad antibacteriana.

Ahmad., *et al.* (2016). Reportaron la biosíntesis de AuNPs mediante el uso de extracto de hojas de palma de aceite acuoso. Obteniendo nanopartículas de oro polidispersas con un diámetro hidrodinámico promedio de  $55.22 \pm 42.86$  nm, además consideraron a los compuestos fenólicos y carboxílicos responsables de la reducción del ácido cloroáurico de oro. Durante la reducción el extracto de hojas de aceite de palma actuó como agente reductor y estabilizador, la tasa de formación fue directamente proporcional con el tiempo.

Desde hace algunas décadas es sabido que las plantas han formado parte de varios sistemas médicos indígenas mexicanos para tratar la sintomatología relacionada con enfermedades infecciosas. Las investigaciones sobre plantas medicinales se están reconsiderando ahora como un enfoque factible para descubrir nuevos agentes bioactivos para resolver problemas de salud pública; tal es el caso de la planta *Hippocratea Excelsa* Kunth conocida comúnmente como cancerina utilizada por sus propiedades medicinales y por su amplia gama de actividades biológicas, resultado de sus compuestos activos como los sesquiterpenos y triterpenos (Mena., *et al.*, 2007).

#### **1.4.2 CANCERINA (*Hippocratea Excelsa* Kunth)**

Su nombre científico es *Hippocratea excelsa* Kunth, la corteza de tallo es comúnmente conocida en la parte central de México como "Cancerina", debido a su uso popular en el

tratamiento del cáncer, y "mata piojo" en Yucatán, Michoacán y Guerrero, debido a su uso contra piojos y ácaros, la planta se usa como sedante, antiinflamatorio y cicatrizante y para el tratamiento de la disentería, la gastritis, padecimientos renales y las úlceras gástricas (Mena., *et al.*, 2007). Actualmente no se tienen estudios previos donde se utilice como agente reductor para la obtención de nanopartículas metálicas explícitamente de oro, sin embargo se ha afirmado la presencia de triterpenos pentacíclicos contenidos en la corteza del tallo de la planta (Ver figura 1.4.1), específicamente cinco tipos de oleanano y uno de ursano, los cuales fueron identificados como: 11 $\beta$ , 21 $\beta$ -dihidroxi-olean-12-eno-3-ona (**2**), 3 $\alpha$ , 11 $\alpha$ , 21 $\beta$ -trihidroxi-olean-12-eno (**3**), 3 $\alpha$ , 21 $\beta$ -dihidroxi-11 $\alpha$ -metoxi-olean-12-eno (**4**), 3 $\alpha$ , 21 $\beta$ -dihidroxi-olean-9 (**11**), 12-dieno (**5**), 3 $\alpha$ , 21 $\beta$ -dihidroxi-olean-12-eno (**6**) y 3 $\alpha$ , 21 $\beta$ -dihidroxi-11 $\alpha$ -metoxi-urs-12 (**7**) (Mena *et al.*, 2008), quienes podrían ser los encargados de contribuir a la reducción de iones de oro, por otra parte en la corteza de la raíz se confirmó la presencia del componente 3 $\alpha$ , 21 $\beta$ -dihidroxi-olean-12-eno (**1**) (Mena., *et al.*, 2008).

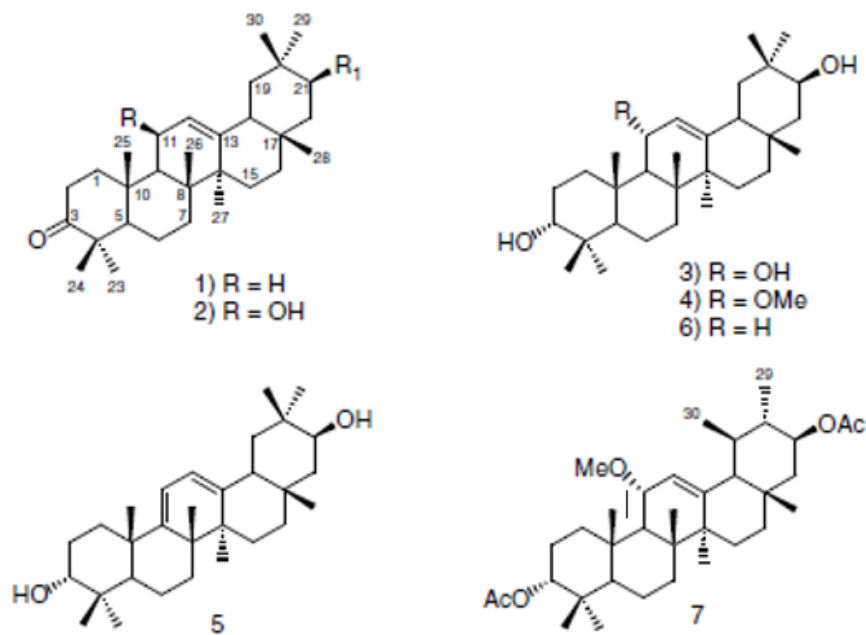
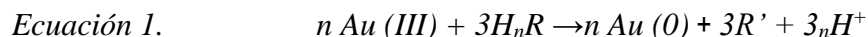


Figura. 1.4.1 Compuestos químicos aislados de la corteza del tallo de la Cancerina *Hippocratea excelsa* Kunth (Mena., *et al.*, 2008)

### 1.4.3 POSIBLE MECANISMO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO CON PLANTAS

El mecanismo exacto de la formación de estas nanopartículas en medios biológicos es desconocido, pero se presume que puede tener la siguiente reacción entre las biomoléculas activas y las especies aniónicas de oro.



Donde  $\text{H}_n\text{R}$  y  $\text{R}'$  son las biomoléculas activas y  $n$  representa el número de electrones donados por las biomoléculas al Au (III). Por lo tanto, las biomoléculas se oxidan, mientras que el Au (III) se reduce. La reacción redox incluye la transferencia de tres electrones y tres protones (Zhan *et al.*, 2011).

### 1.5 SÍNTESIS EN UN SOLO PASO

Otro método que puede llegar a clasificarse como energéticamente eficiente es el reportado por Sakai & Alexandridis, 2005, donde a partir de copolímeros biodegradables fue posible obtener nanopartículas de oro. La síntesis de nanopartículas de oro en un sólo paso fue reportada como un método económico, no tóxico y amigable con el medio ambiente permitiendo obtener tamaños de partículas de 10 nm aproximadamente. La síntesis se llevó a cabo empleando copolímeros de bloques poli (óxido de etileno)- poli (óxido de propileno) - poli (óxido de etileno) o (PEO-PPO-PEO) quienes actuaron como reductores/estabilizadores en la solución de ácido tetracloro-áurico trihidratado  $\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  en presencia de agua como disolvente a temperatura ambiente y en ausencia de un reductor adicional o energía; el tiempo de reacción fue menor a 2 horas.

#### 1.5.1 COPOLÍMEROS TRIBLOQUE

Los copolímeros no iónicos tribloque de poli (óxido de etileno) (PEO) (hidrofílicos) y poli (óxido de propileno) (PPO) (lipofílicos) se producen con la siguiente secuencia PEO-PPO-PEO o PPO-PEO-PPO y se conocen comercialmente como Pluronic o Poloxámeros. Los Pluronic debido a su carácter anfifílico han demostrado tener propiedades sinérgicas beneficiosas en combinación con medicamentos contra el cáncer (Kabanov, 2006), (Nishiyama & Kataoka, 2006).

BASF fabricante original introdujo una nomenclatura específica para aquellos copolímeros que consisten en una letra que indica el morfismo de cada copolímero: líquido (L), pasta (P), y en hojuelas (F), Véase figura 1.5.1., (Pitto., 2014).

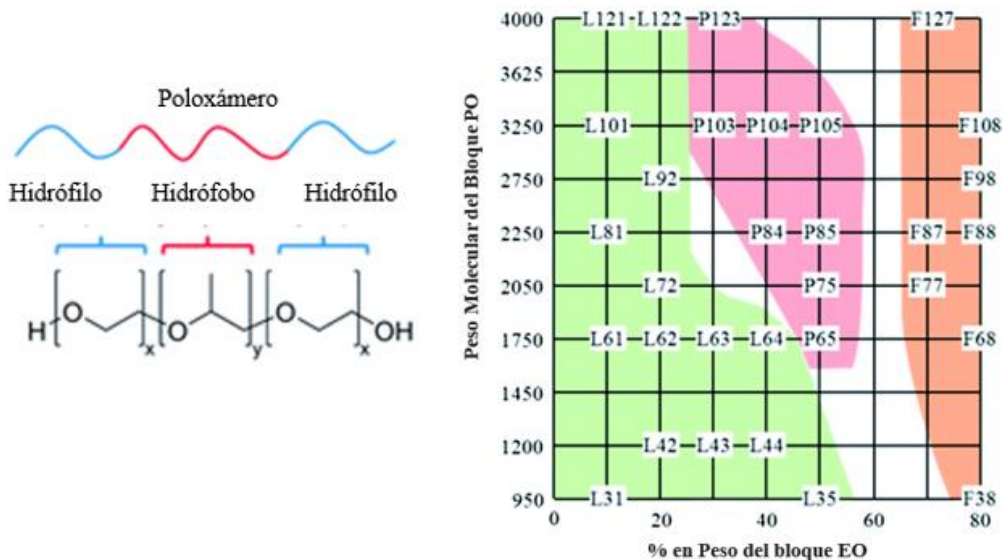


Figura. 1.5.1 Estructura molecular de un copolímero de tres bloques Pluronic® (izquierda) y el grafico del estado físico de los copolímeros en condiciones ambientales estado físico: líquido=verde; rosa= pasta; naranja = hojuelas) (Pitto-Barry, 2014).

Cuando son disueltos en solventes polares como es el agua, el bloque hidrófilo se disuelve en el solvente polar y el bloque hidrófobo se queda en la interface, lo cual produce una disminución en la tensión superficial del solvente, por este motivo a estos copolímeros se les denominan tensoactivos (Soltero, 2013). Gracias a sus propiedades tensoactivas se les atribuye la capacidad para interactuar con superficies hidrofóbicas incluso con membranas biológicas. Estos copolímeros exhiben una concentración micelar crítica (CMC) y una temperatura de micelar crítica (CMT); en soluciones acuosas por encima de la temperatura crítica micelar (CMT) y la concentración micelar crítica (CMC) estos copolímeros forman micelas. La CMC disminuye rápidamente a medida que aumenta la temperatura y que la CMT disminuye a medida que aumenta la concentración de copolímero (Álvarez *et al.*, 2009). Los diámetros de las micelas de Pluronic generalmente varían de 10 nm a 100 nm. El núcleo de las micelas se compone de bloques de PPO hidrófobos que están separados desde el exterior acuosa mediante la envoltura hidratada de cadenas de PEO hidrófilos (Batrakova *et al.*, 2008).

Dependiendo la relación entre las longitudes de los bloques hidrófobo/hidrofílico y el tipo de solvente, estos copolímeros pueden formar una variedad de microestructuras tales como: micelas esféricas, micelas cilíndricas, tipo gusano etc. A concentraciones elevadas, las micelas esféricas se pueden agrupar para formar cristales líquidos cúbicos y las micelas cilíndricas forman cristales líquidos hexagonales. Cuando el copolímero tribloque es disuelto en un solvente no polar, se forman estructuras micelares invertidas, en donde el núcleo está formado por el bloque hidrofílico y la corona por el bloque hidrofóbico (Soltero, 2013).

### 1.5.1.1 COPOLÍMERO DE BLOQUE P-103

El copolímero de bloque P103 se presenta en forma de pasta, presenta un olor suave a poliol tiene un color característico ligeramente lechoso turbio con un pH de 5-7.5, con una densidad de 1,04 g / cm<sup>3</sup>, soluble en agua además se considera un material no toxico realizando pruebas en ratas y obteniendo los siguientes valores DL50 > 5,000mg/Kg (BAFS, 2017). Su estructura química se muestra en la figura 1.5.2.

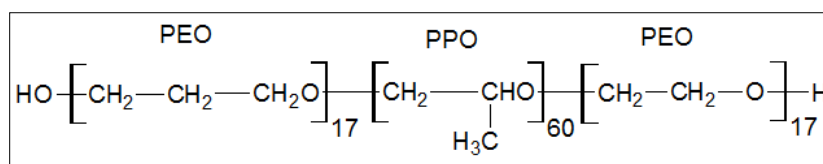


Figura. 1.5.2 Estructura química del Pluronic P-103 (Patra *et al.*, 2016).

Debido al carácter anfifílico del copolímero de bloque P103 (PEO<sub>17</sub>-PPO<sub>60</sub>-PEO<sub>17</sub>), es capaz de formar micelas en el agua. La dependencia de la CMC con la temperatura es muy fuerte en los tensoactivos no-iónicos, es alta a bajas temperaturas y disminuye al incrementarse la temperatura. A temperaturas menores que la temperatura micelar crítica o CMT se tiene la presencia de unímeros (polímero sin formar micelas), por arriba de la CMT se forman micelas esféricas más unímeros, y a temperaturas mayores de 30 °C, las micelas son cilíndricas (Álvarez, 2009).

### 1.5.2 PROPIEDADES DE COPOLÍMEROS DE BLOQUE P103

Tabla 2. Propiedades del copolímero de bloque P-103 (Sakai *et al.*, 2015)

	Peso	PEO%	peso	de	peso	de	CMC	fórmula
Pluronic	molecular	en peso	bloques		bloques		(mM)	nominal
			PPO		PEO		(25 ° C)	
<b>P103</b>	4950	30	3465		1485		0,141	EO <sub>17</sub> PO <sub>60</sub> EO <sub>17</sub>

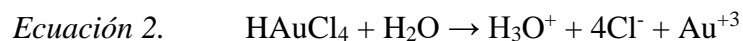
CMC: concentración crítica de formación de micelas.

Tabla 3. Temperatura de micelización críticas para soluciones acuosas de copolímero plurónico P103 en función de la concentración del copolímero (Alexandridis *et al.*, 1994).

	P103	
Concentración (% w/v)	mM	CMT (°C)
<b>0.01</b>	0.02	29.5
<b>0.025</b>	0.05	27.5
<b>0.05</b>	0.101	26
<b>0.1</b>	0.202	24.5
<b>0.25</b>	0.505	22.5
<b>0.5</b>	1.01	21
<b>1</b>	2.02	19.5
<b>2.5</b>		
<b>5</b>		

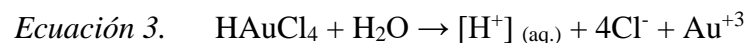
### 1.5.3 REDUCCIÓN DE LOS IONES DE ORO CON COPOLÍMERO

El complejo  $\text{HAuCl}_4^-$ , ácido tetracloroáurico, al disolverse en agua se disocia totalmente (en sus iones) originando un carácter ácido. Se efectúa una hidrólisis, lo que conduce a la formación de un ácido:



Por comodidad  $[\text{H}_3\text{O}^+]$  se escribe como  $[\text{H}^+]_{(\text{aq})}$  lo que quiere decir que el ión está hidratado.

Entonces:



En donde el medio ácido forma la especie catiónica de oro:  $\text{Au}^{+3}(\text{ac})$ .

El PEO del copolímero de bloque  $\text{PEO}_n\text{-PPO}_m\text{-PEO}_n$  forma cavidades donde los iones metálicos son reducidos vía oxidación, esto es, los iones se anclan en los pares de electrones sin aparear del oxígeno principalmente del segmento de los bloques PEO. Las características más importantes de la agregación de los copolímeros EO/PO son: la fuerte dependencia de

la CMC con la temperatura debido a la naturaleza hidrofóbica del PPO y la formación de las micelas debido a la deshidratación del bloque PPO (Sakai & Alexandridis, 2005).

## **1.6 BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS CON PLANTAS Y AGENTE ESTABILIZADOR**

Rai *et al.* (2016) informaron y compararon la actividad antibacteriana de nanopartículas de plata (AgNp's) sintetizadas por vía biológica (utilizando *Fusarium oxysporum*) y química en presencia y ausencia del Pluronic F68 como agente estabilizante. Las AgNp's sintetizadas en presencia de Pluronic F68 por la vía química exhibieron un mayor efecto en la actividad antibacteriana en comparación con las sintetizadas sin Pluronic F68. Por el contrario, las AgNp's sintetizadas biológicamente sin Pluronic F68 mostraron mayor potencial antibacteriano en comparación con las nanopartículas con Pluronic F68. En general, las nanopartículas de plata sintetizadas biológicamente mostraron una actividad antibacteriana superior en comparación con las nanopartículas sintetizadas químicamente; en ambas síntesis la adición del Pluronic F68 mostró la estabilización de las AgNp's. La presencia de AgNp's fue demostrado por diferentes técnicas de caracterización como: espectro UV-visible a 420 nm, con DRX observaron la presencia de estructuras cúbicas y mediante TEM confirmaron la presencia de nanopartículas esféricas con un intervalo de tamaño de 5-70 nm.

Mekkawy *et al.* (2017) realizaron la biosíntesis de nanopartículas de plata (AgNp's) utilizando hongo *Fusarium verticillioides*, así mismo evaluaron el efecto en la estabilidad y actividad antimicrobiana al adicionar un recubrimiento a las AgNp's; los recubrimientos evaluados fueron el polietilenglicol (PEG) 6000, dodecil sulfato de sodio (SDS), y  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD); siendo las AgNp's recubiertas con PEG las que mostraron una mayor estabilidad a causa de la disminución en la velocidad de sedimentación. Inferieron que las AgNp's en el tratamiento de infecciones en la piel son más eficaces si las partículas se encuentran suspendidas en una matriz de hidrogel en comparación con partículas suspendidas en agua; por lo anterior evaluaron la suspensión de las AgNp's en diversos agentes gelificantes como: carboximetil celulosa de sodio (Na CMC), alginato de sodio (Na alginato), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), Pluronic F-127, y el quitosano, observando que la actividad antibacteriana de los agentes gelificantes aumento a causa del recubrimiento que se adiciono a las AgNp's. La evaluación de la actividad antibacteriana se midió contra bacterias

Gram-positivas y Gram-negativas (*Escherichia coli*). Finalmente compararon la eficacia del hidrogel cargado con AgNp's 1% con la crema (Dermazin<sup>®</sup>) en ratas infectadas por SARM.

Su *et al.* (2017) reportaron la síntesis de nanopartículas de plata (AgNp's) utilizando Anilina como agente reductor, además se seleccionó Alginato de Sodio (SA) y carboximetil celulosa (CMC) ambos como agentes estabilizantes a causa de su naturaleza no tóxica y su capacidad para controlar el crecimiento y la forma de los AgNp's además de que son polímeros naturales y biocompatibles. Cuando se incorporaron AgNp's a la matriz del polímero CMC se observó que se redujo la aglomeración y aumentó la solubilidad en medio acuoso. Mientras que la incorporación de AgNp's en la matriz de SA mejoró notablemente la solubilidad de las nanopartículas en el medio acuoso y evito su agregación, esto debido a que SA tiene excelentes propiedades de humectación y alta solubilidad en agua, y se ha demostrado que actúa como un agente reductor y protector para la síntesis de varias nanopartículas metálicas. Las AgNp's protegidas con el polímero CMC o SA, en ambos casos mostraron una excelente actividad antibacteriana contra las bacterias Gram positivas, *S. pyogenes* y las bacterias Gram negativas, *K. pneumoniae*. Estos hallazgos indican que los AgNp's pueden desarrollarse aún más para futuras aplicaciones médicas. Las micrografías SEM de las AgNp's protegidas con CMC o SA revelaron que se formaron por debajo de 100 nm.

Chitra *et al.* (2015) reportaron la síntesis biológica de nanopartículas de oro a través del uso de extracto de *Zingiber Officinale* como agente reductor y el poloxámero 188 como agente estabilizador. A través de técnicas de caracterización como TEM, UV-Vis, EDX observaron la formación y las propiedades de las nanopartículas obtenidas, así como el efecto de la adición del poloxámero que tuvo en el control de la forma y el tamaño de las mismas. La actividad antibacteriana de los AuNPs recubiertas con el poloxamero188 inhibieron el crecimiento bacteriano con mayor eficacia que el extracto puro de *Zingiber Officinale* en el tratamiento de enfermedades asociadas con las bacterias Gram negativas *E. coli*.

Reena K., *et al.* 2017 obtuvieron AuNPs con éxito utilizando la pectina aislada de la cáscara de naranja debido a que contiene grupos hidroxilo, éster y carboxilato. Además, confirmaron que la pectina posee actividad antiinflamatoria y que es posible mejorarla incorporándole copolímeros biodegradables como el copolímero de poli (3-hidroxitbutirato) -poli (etilenglicol) y el copolímero de tribloque de ácido poli-láctico-co-poli(etilenglicol)-co-

poli-láctico (PLA-PEG-PLA). Las AuNPs a partir de la pectina se conjugaron en una matriz de copolímero tribloque PLA-PEG-PLA, la incorporación fue posible mediante una técnica de emulsión de agua en aceite inducida por ultra-sonicación (w / o). El análisis de absorción UV-Visible indicó la resonancia de plasmón superficial de AuNPs a 518 nm y la absorción de pectina alrededor de 250 nm. Los resultados de XRD revelaron que los AuNPs la estructura cristalina fcc (Estructura cúbica centrada en las caras) y confirmaron que el tamaño de los AuNPs era de 12 nm. El análisis de TEM les confirmó que las AuNPs esféricas se conjugaron con pectina y la matriz de polímero PLA-PEG-PLA. El análisis de citotoxicidad in vitro reveló que los nanoconjugados Pectina-AuNPs-PLA-PEG-PLA son altamente biocompatibles incluso a una concentración más alta de 200 µg / ml. Los nanoconjugados biocompatibles utilizaron con éxito como agentes antiinflamatorios. Los resultados de los métodos de estabilización de membrana y desnaturalización de proteínas indicaron que la pectina-AuNPs-PLA-PEGPLA mostró una mejor actividad antiinflamatoria similar a la droga estándar diclofenaco sódico.

## **CAPITULO II. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 REACTIVOS**

Para la reacción se utilizó ácido tetracloro-áurico trihidratado  $H[AuCl_4] \cdot 3H_2O$  (solución de oro) con una pureza del 99.9% de Sigma-Aldrich Química, S. A. de C. V. Para la preparación de las soluciones se utilizó agua tridestilada proveniente de Hycel de México, S.A. de C.V. La planta de Cancerina se obtuvo de un mercado local de la ciudad de Puebla. Mientras que los copolímeros P103 se obtuvieron de BASF, S. A. de C. V.

### **2.2 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE CANCERINA**

La corteza de cancerina se lavó cuidadosamente con agua tridestilada, y se dejó secar a temperatura ambiente por 24 horas para remover la humedad. Se preparó una muestra con 10g en trozos pequeños de cancerina con 100mL de agua tridestilada y se sometió a ebullición por 15 minutos. El extracto obtenido se dejó enfriar, posteriormente se centrifugo por 5 minutos a 6000 rpm para sedimentar la materia orgánica suspendida, por último, se filtró hasta obtener un extracto transparente libre de sólidos. El extracto se usó concentrado y

diluido con agua tridestilada (1:1) y se conservó bajo refrigeración (Ankamwar, 2010), (Khalil *et al.*, 2012).

### **2.3 SOLUCIÓN DE ORO Y SOLUCIÓN DE COPOLIMERO**

Se prepararon soluciones acuosas de oro a 1 mM, las muestras se cubrieron con papel aluminio para evitar su degradación con la luz solar. Para cada muestra se utilizaron 10mL de la solución.

La solución acuosa de copolímero tribloque P103 se preparó a diferentes concentraciones: 0.05 % peso (concentración por debajo de la CMC) y 0.1, 0.5 y 1 % peso (concentraciones por arriba del valor de la CMC). Las diferentes soluciones se colocaron en frascos de vidrio bajo agitación a temperatura ambiente durante 12 h. Los frascos de vidrio se colocaron en un baño de agua a temperatura ambiente durante 12 h para asegurar la estabilización de las micelas (Sakai & Alexandridis, 2005).

### **2.4 BIOSÍNTESIS DE AuNPs CON EXTRACTOS DE CANCERINA-COPOLIMERO**

#### **2.4.1 Biosíntesis con extracto de cancerina**

El proceso de síntesis se llevó a cabo a temperatura ambiente a partir de una solución de Ácido tetracloroáurico trihidratado  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (10ml) a 1 mM y el extracto de Cancerina a diferentes volúmenes (0.2ml, 0.4ml, 0.6ml, 0.8ml y 1ml) Para evitar la degradación de las muestras los frascos de vidrio se cubrieron con papel de aluminio.

#### **2.4.2 Biosíntesis con extracto de cancerina-Polímero**

El proceso de síntesis se llevó a cabo a temperatura ambiente a partir de una solución de Ácido tetracloroáurico trihidratado  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (10ml) a 1 mM, y el extracto de Cancerina (1ml) y una solución de copolímero tribloque P103 (1ml) a las siguientes concentraciones: 0.05% peso, 0.1%, 0.5% y 1% peso como agente estabilizador.

Se propusieron los siguientes dos modos de adición de los componentes para llevar a cabo la síntesis (Omkara S., *et al.*, 2015) Véase figuras 2.4.1 y 2.4.2:

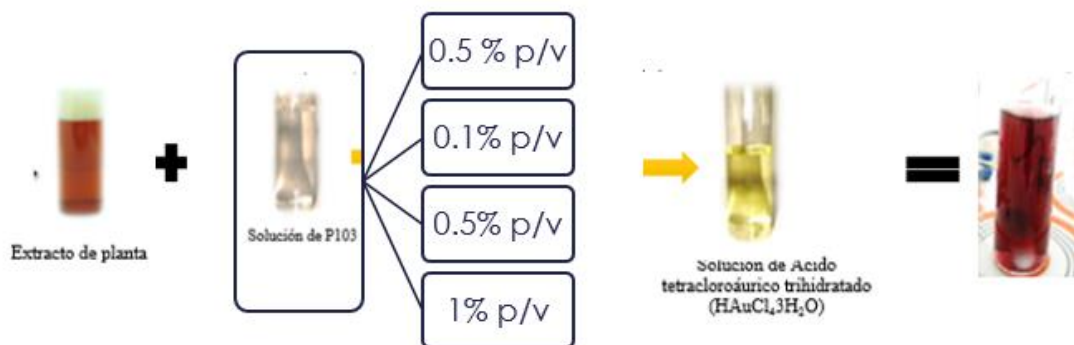


Figura 3.2 1. **Arreglo 1.** Mezcla formada por 1 ml de extracto de cancerina con 1 ml de la solución de copolímero P103 es adicionada a 10 ml de la solución de oro.

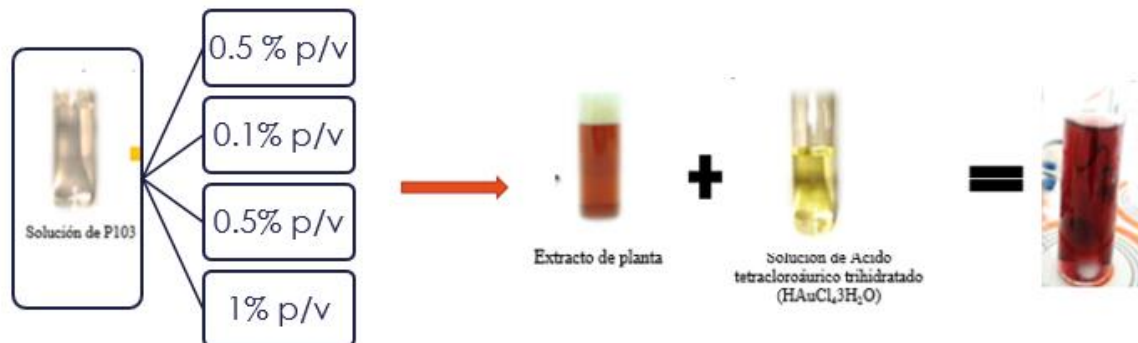


Figura 3.2.2. **Arreglo 2.** 1 ml de la solución de copolímero P103 es adicionado a la mezcla formada por 1 ml de extracto de cancerina con 10 ml de la solución de oro.

Para evitar la degradación de las muestras los frascos de vidrio se cubrieron con papel de aluminio. Las mezclas de reacción se mantuvieron en un baño de termostato de agua (Julabo F12) durante 5 horas a temperatura de síntesis constante (Chitra *et al.*, 2015).

## 2.5 CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO

Después de la síntesis, las nanopartículas se sometieron a caracterización con varias mediciones analíticas por espectroscopia UV-Vis, TEM, FT-IR.

### 2.5.1 UV-VIS ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN

La biorreducción de los iones Au (III) a Au<sup>0</sup> se monitoreo por espectroscopia UV-Vis usando un instrumento Genesys 10S (ThermoScientific). Los espectros de absorción se obtuvieron en el intervalo de 200-1100 nm con un paso de 0,1 nm y una velocidad de barrido

de 20 nm s<sup>-1</sup>. Las mediciones se llevaron a cabo a partir de 1 min, 5 min y posteriormente cada 30 min hasta por 4 horas, tiempo aproximado donde se completa el proceso de biorreducción (Khalil *et al.*, 2012),(Jafarizad *et al.*, 2015; Mata *et al.*, 2016).

### **2.5.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM)**

En este trabajo se utilizó un microscopio JEOL-JEM 200 para las observaciones por TEM. Las muestras para TEM, se prepararon dejando evaporar una gota de la suspensión coloidal de nanopartículas de oro, sobre rejillas de Cu recubiertas con carbono y Lacey carbono. La caracterización por TEM fue llevada a cabo con un microscopio electrónico de transmisión JEOL operado a un voltaje de aceleración de 200 kV.

### **2.5.2 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA FT-IR**

Para realizar mediciones en el equipo de infrarrojo la planta tuvo que ser triturada finamente para obtener la muestra en polvo, mientras que las nanopartículas fueron centrifugadas a 5000 rpm por 30 minutos, lavadas con acetona y colocadas en un sonicador por 10 minutos, finalmente se centrifugaron nuevamente por 15 min y colocadas en el horno a 30 °C para evaporar el solvente y así obtener nanopartículas en polvo. Las mediciones de los espectros FT-IR se llevaron a cabo en un equipo Spectrum 100 FTIR.

## **CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

A continuación, se discuten los resultados obtenidos de la caracterización de estas nanopartículas a través de la técnica de espectroscopia UV-Vis, microscopia electrónica de transmisión (TEM), espectroscopia Infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), y dispersión de luz dinámica (DLS).

### **3.1 CARACTERIZACION DE NANOPARTÍCULAS DE ORO POR ESPECTROSCOPIA UV-Vis**

A continuación, se miden los espectros UV-Vis para la solución acuosa de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> a 1 mM, el extracto de cancerina concentrado y el extracto de cancerina diluido con agua tridestilada (Ver figura 3.1.1). A estos se les denominara en adelante “blancos”. Todos los blancos son medidos a temperatura ambiente (T=25 °C). El espectro de la solución de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> muestra una banda de absorción en ~310 nm que indica la presencia de átomos de Au (III) libres en la solución (Sakai & Alexandridis, 2005). Es importante destacar que

ninguno de los espectros muestra absorbancia en el intervalo comprendido entre 500 y 600 nm donde teórica y experimentalmente se conoce que la presencia de una banda de absorción en esa región indica la formación de nanopartículas de oro (Kumar , *et al.*, 2016). Note que al diluir el extracto de cancerina disminuye significativamente la interferencia presente en la región de 200 a 350 nm.

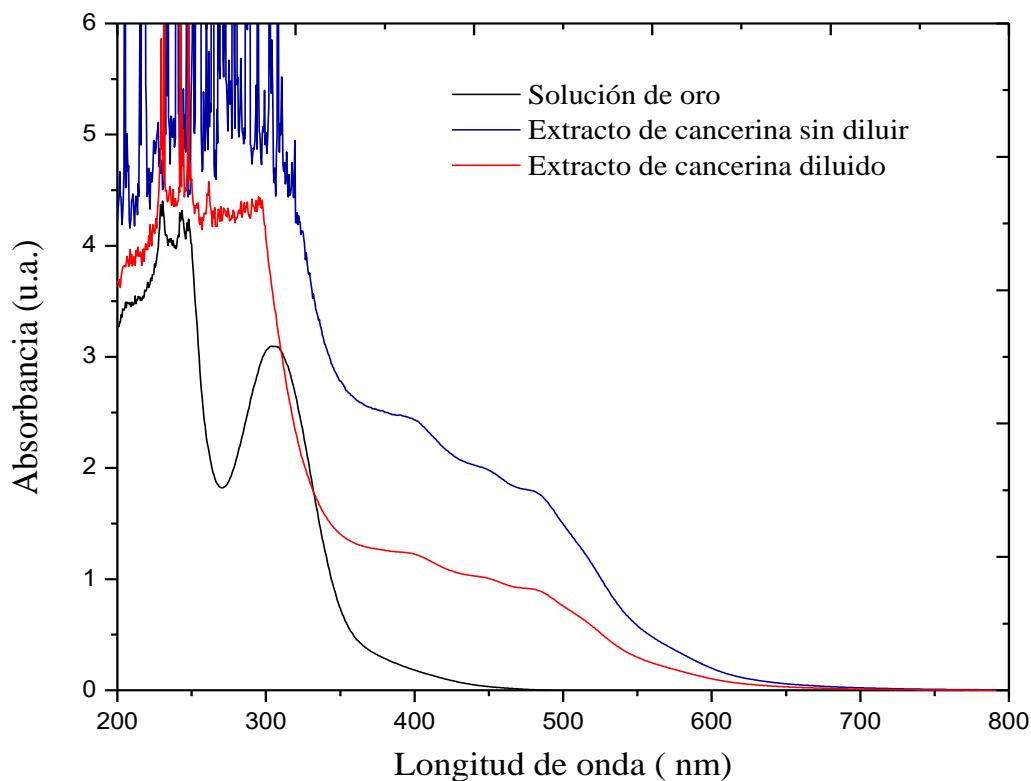


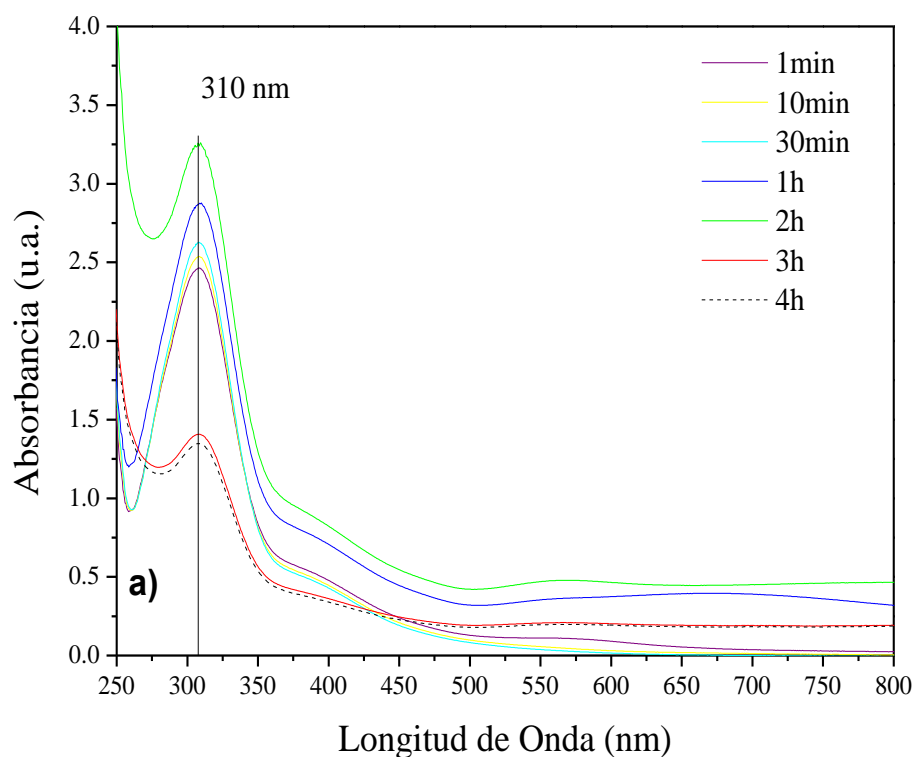
Figura 3.1.1 Espectros de las soluciones acuosas de Ácido tetracloroáurico trihidratado ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), extracto de cancerina sin diluir, extracto de cancerina diluido.

Con la finalidad de establecer un volumen ideal del extracto de cancerina para la formación de nanopartículas se preparan diferentes muestras, añadiendo cierto volumen del extracto de cancerina (0.2 mL, 0.4 mL, 0.6 mL, 0.8 mL, 1 mL) a la solución de  $\text{HAuCl}_4$ , 1 mM (10 mL). El proceso de reducción de las nanopartículas de  $\text{Au}^{3+}$  a  $\text{Au}^0$  fue seguido a través de espectroscopia UV-Vis por 4 horas.

En la figura 3.1.2 (a) se muestra el espectro de UV-Vis de la mezcla de 0.2 mL de extracto de cancerina con la solución de  $\text{HAuCl}_4$ , alrededor de la región de  $\sim 310$  nm se aprecia una banda de absorción debido a la presencia de átomos de Au (III) libres en la solución (Sakai, 2005), posiblemente porque el volumen del extracto de cancerina es menor al que se requiere para iniciar la biorreducción, incluso se observa un comportamiento muy

similar al espectro del blanco de la solución de oro mostrado en la figura anterior; la formación de AuNPs es seguida por 4 horas, en ese intervalo de tiempo no presenta algún cambio de coloración.

Se realiza una segunda síntesis aumentando el volumen del extracto de cancerina a 0.4 ml junto con la solución de oro, después de los 5 segundos de iniciar la reacción se observa un cambio de coloración en la muestra de amarillo pálido a violeta claro. La cinética de formación se monitorea a través de espectroscopia UV-Vis generando el espectro de la figura 3.1.2 (b) donde se observa que cerca de la región comprendida entre 500 y 600 nm sobresale una banda ancha de absorción en ~558 nm característica de la presencia de nanopartículas de oro (Balaprasad A., 2010, Rajeshkumar S., 2016) y que va en aumento hasta por 2 horas. De acuerdo a Prathap S. *et al.*, (2006) cuando los espectros exhiben una sola banda de absorción se infiere la presencia de nanopartículas de oro con formas esféricas. A partir de la tercera hora de iniciada la reacción se observa que el valor de la absorbancia disminuye considerablemente posiblemente por la aglomeración de la nanopartículas de oro (Ahmed, S., *et al.*, 2016)



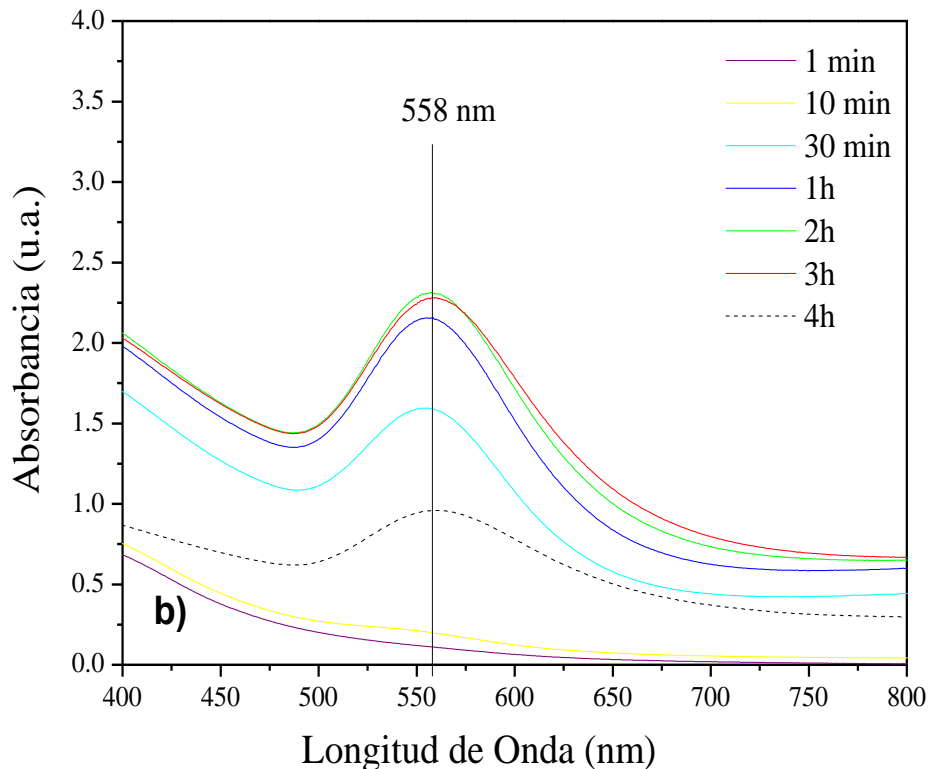


Figura 3.1.2. (a) Espectro UV-Vis de 0.2 mL de extracto de cancerina con 10 mL de la solución de H<sub>AuCl</sub><sub>4</sub>. (b) Espectro UV-Vis de 0.4 mL de extracto de cancerina con 10 mL de la solución de H<sub>AuCl</sub><sub>4</sub>.

Durante la biosíntesis con un volumen de 0.6 mL (Véase figura 3.1.3 (a)) de extracto de cancerina con 10 mL de la solución de oro el espectro UV-Vis muestra una banda de absorción con mayor intensidad alrededor de 534 nm, simultáneamente una segunda banda de absorción con una forma más ancha y de menor intensidad en ~780 nm durante los primeros 10 minutos de iniciada la reacción. Una hora después la intensidad de las bandas de absorción disminuye debido a la aglomeración de las nanopartículas metálica. Por otra parte, el espectro de absorción empleando 0.8 mL de extracto de cancerina y 10 ml de la solución de oro muestra una banda de absorción alrededor de 534 nm y una segunda banda ancha de absorción en 820 nm posiblemente debido a la presencia de formas diferentes a las esféricas. De acuerdo a Prathap S. *et al.*, (2006) durante la síntesis de nanopartículas de oro empleando extracto de aloe vera reportaron que el número de bandas de absorción disminuye a medida que aumenta la simetría de las nanopartículas, es decir, las nanopartículas con formas esféricas mostraron solo una banda de absorción, mientras que los discos y las nano placas triangulares mostraron dos o más bandas de absorción.

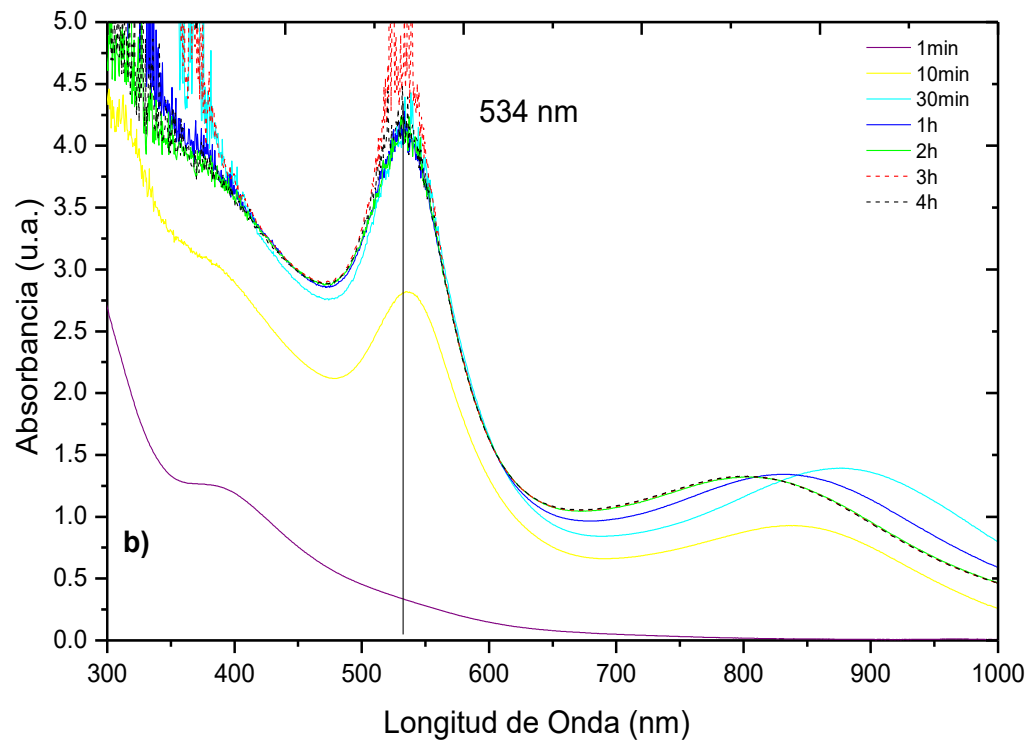
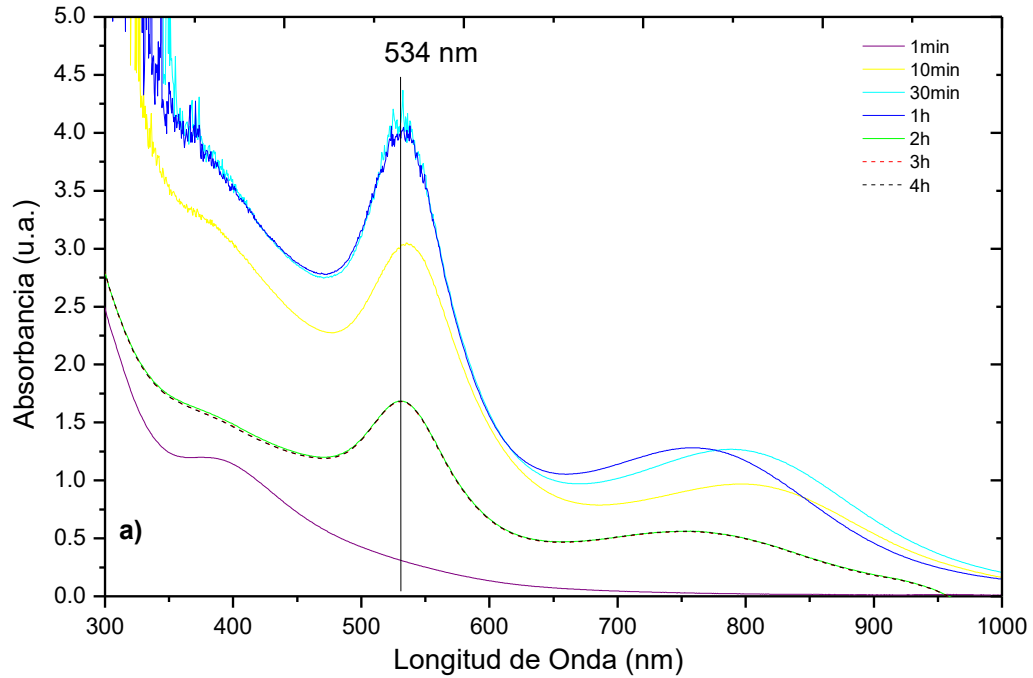


Figura 3.1. 3 (a) Espectro de absorción para nanopartículas de 0.6 mL de extracto de cancerina con 10 mL de la solución de  $\text{HAuCl}_4$ . 3.1 3 (b) Espectro de absorción para nanopartículas de 0.8 mL de extracto de cancerina con 10 mL de la solución de  $\text{HAuCl}_4$ .

Cuando se emplea 1 mL del extracto de cancerina y 10 mL de la solución de oro (Ver figura 3.1.4) aparece una banda de absorción alrededor de 534 nm, la desaparición de colas de banda

a longitudes de onda mayores permite suponer que se produce un aumento en la concentración de nanopartículas esféricas de la solución coloidal resultado de aumentar la proporción de agente reductor en la muestra, formando nanopartículas de menor tamaño o de tamaños mas uniformes. Dicho comportamiento es similar al reportado por Rico, A., (2010), De-Lamo B., (2015), ) quienes observaron que el tamaño de las nanopartículas disminuye al aumentar la concentración del extracto. Es importante mencionar que la absorbancia se mantiene constante a partir de los 30 minutos hasta por 4 horas de reacción y que el exceso de ruido en el espectro se debe a la materia orgánica del extracto que no participa en la reacción.

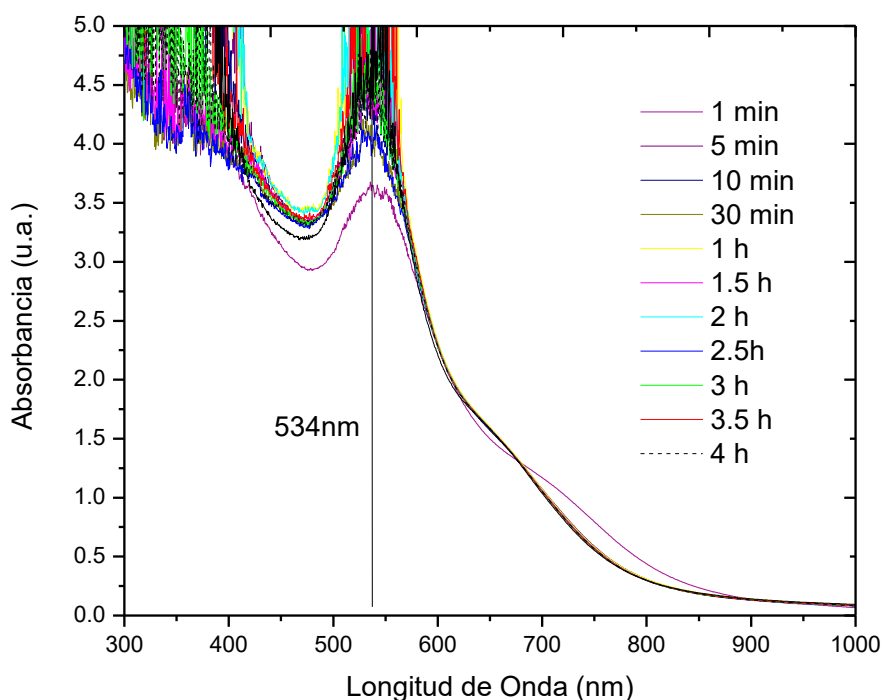


Figura 3.1 4 Espectro de absorción para nanopartículas de 1 mL de extracto de cancerina con 10 mL de la solución de HAuCl<sub>4</sub>.

La figura 3.1.5 muestra fotos del cambio de coloración de las nanopartículas de oro de acuerdo a la variación en el volumen de extracto de la corteza de cancerina (0.2mL, 0.4mL, 0.6mL, 0.8mL y 1 mL). El color violeta, rosado a rosado oscuro observado es característico de la resonancia de plasmón superficial (SPR) de diferentes tamaños de nanopartículas de oro ( Link & El Sayed, 2000).

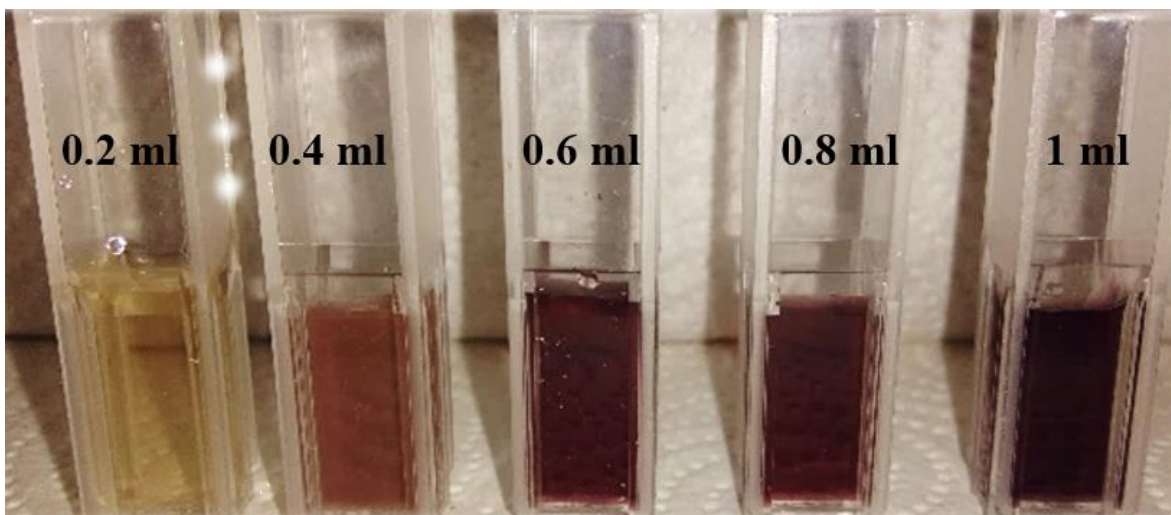


Figura 3.1 5 cambio en la coloración después de la formación de AuNPs (4 horas) cuando se emplean 10 mL de la solución de oro con extracto de cancerina diluida (0.2mL, 0.4 mL, 0.6mL, 0.8 mL, 1 mL).

La figura 3.1.6 muestra la absorbancia máxima vs. la longitud de onda, así como el efecto del cambio de la cantidad del extracto de cancerina (0.2mL, 0.4mL, 0.6mL, 0.8mL y 1 mL) en la formación de las nanopartículas de oro de todas las muestras a los 10 minutos de reacción. Cuando el volumen del extracto de cancerina es 0.2 y 0.4 mL no hay aumento de absorbancia significativo debido a que la cantidad de extracto no es suficiente para iniciar la síntesis del oro. Khalil M., *et al.*, 2010 reportaron un comportamiento similar durante el proceso de biosíntesis a partir de aceite de olivo. Al utilizar 0.6 mL, 0.8mL y 1 mL de extracto de cancerina durante los primeros 5 minutos se observan valores importantes de absorbancia indicando la formación de nanopartículas de oro de manera instantánea. Por otra parte, el inserto de la figura 3.1.6 muestra que el valor de la concentración del extracto de cancerina es directamente proporcional al valor de la absorbancia, es decir, que a mayor cantidad de extracto existe una mayor cantidad de nanopartículas.

En la figura 3.1.7 se observa el comportamiento de la absorbancia respecto al tiempo para todas las muestras cuando se emplean volúmenes de extracto de cancerina (0.2mL, 0.4mL, 0.6mL, 0.8mL y 1 mL) por un periodo de cuatro horas. Alrededor de 1.5 horas se observa que las muestras con 0.2, 0.4 y 0.6 mL presentan una disminución en su absorbancia, mientras que la reacción con 0.8 mL y 1 mL de cancerina se mantuvieron estables durante las 4 horas.

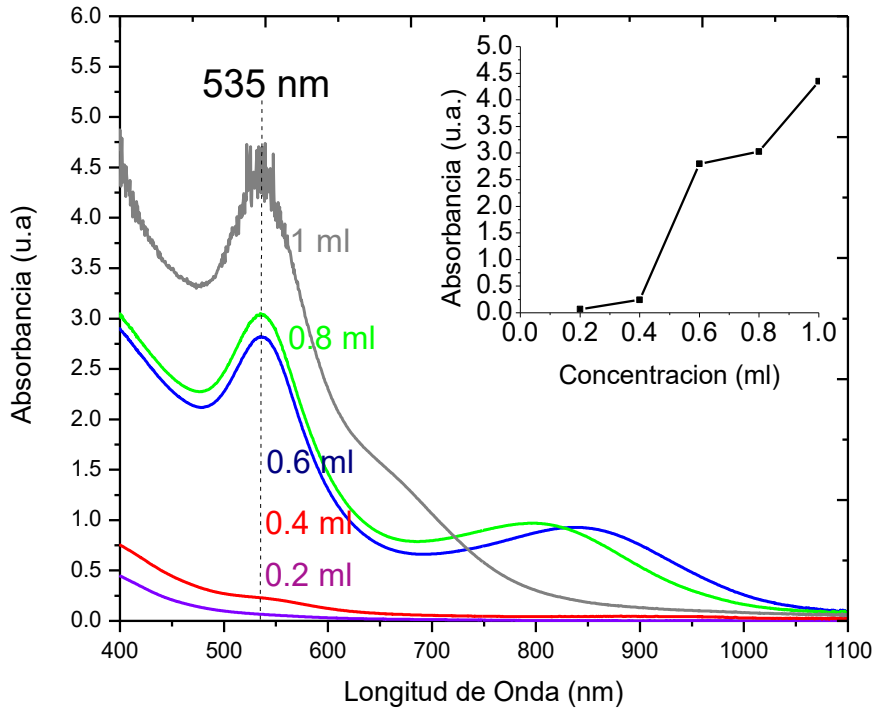


Figura 3.1 6 Espectros UV-Vis de AuNPs con 10 mL de  $H[AuCl_4].3H_2O$  y extracto de cancerina (0.2 mL, 0.4 mL, 0.6 mL, 0.8 mL y 1 mL). En la parte superior derecha se tiene el cambio de la absorbancia vs la concentración de extracto de cancerina.

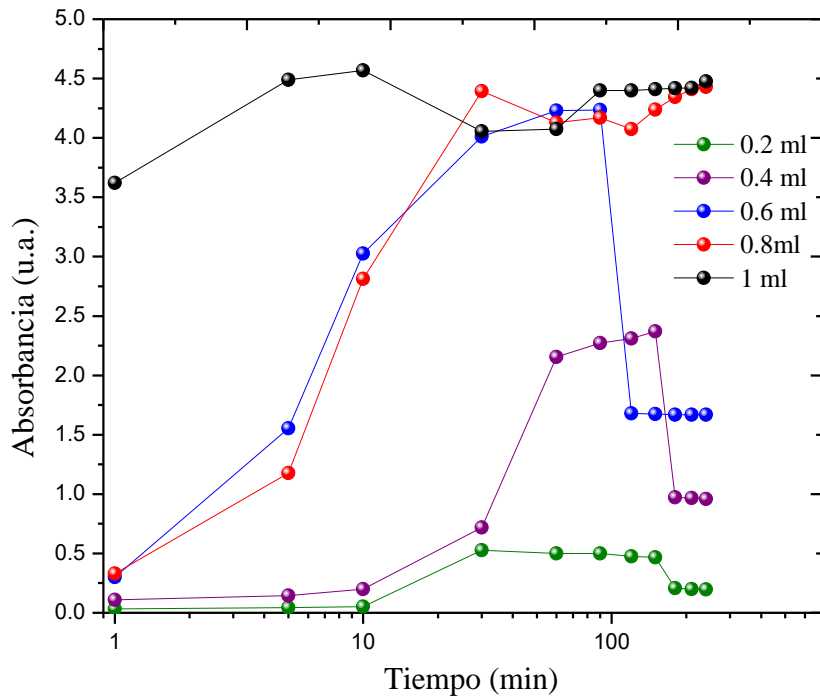


Figura 3.1 7 Absorbancia vs. Tiempo de la síntesis de AuNPs de muestras sintetizadas empleando 10 mL de la Solución de Au con 0.2 mL, 0.4 mL, 0.6 mL, 0.8 mL y 1 mL de extracto de Cancerina.

Para analizar la reproducibilidad de la muestra de 1 ml de extracto de cancerina con 10 ml de la solución de oro, se realiza el experimente tres veces con el mismo lote de cancerina bajo las mismas condiciones a  $T=25^{\circ}\text{C}$  y observando los valores de absorbancia durante un periodo de 4 horas, durante la síntesis 1 se observa una banda de absorción en 534 nm, mientras que en la síntesis 2 en 533nm y en la síntesis 3 alrededor de 533 nm. Los datos arrojaron un valor de desviación estándar (DesvEst) de 0.7787, gráficamente se reportan los datos en la figura 3.1.8.

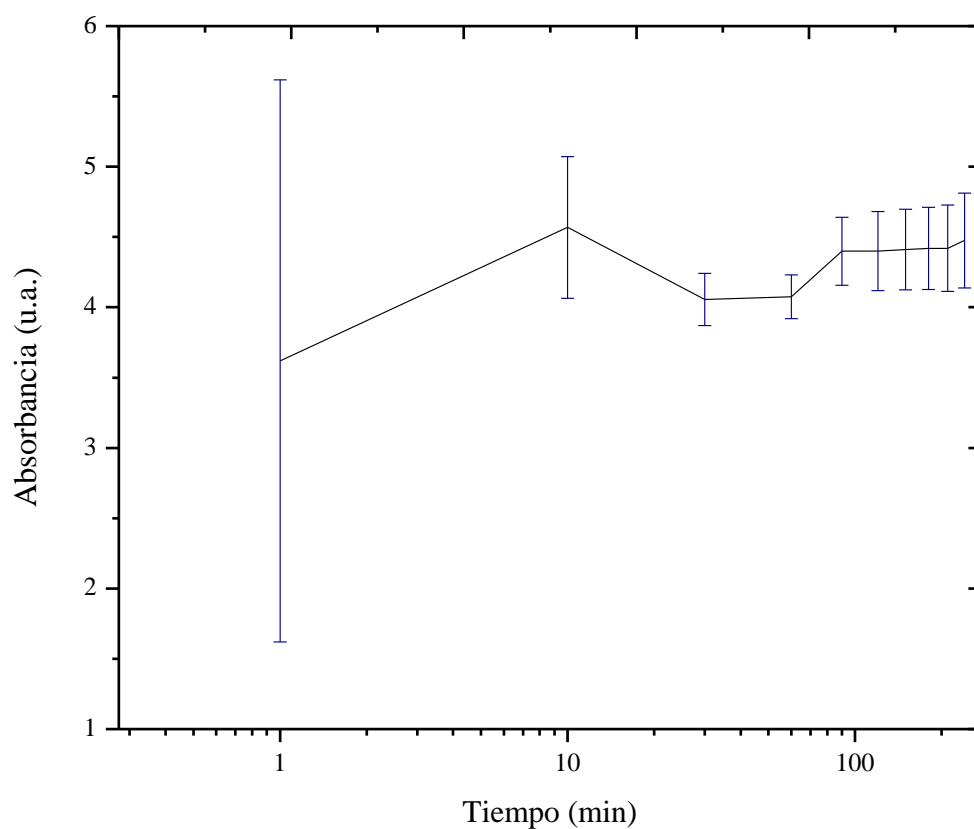


Figura 3.1.8 Absorbancia vs Tiempo de síntesis 1, síntesis 2 y síntesis 3.

De acuerdo a la figura 3.1.8 se concluye que la síntesis a través de extracto de cancerina es reproducible cuando se emplea un volumen de 1 ml por lo tanto se decide trabajar bajo estas condiciones. Para observar la estabilidad de las AuNPs bajo estas condiciones, se sigue el comportamiento de la absorbancia durante 75 días. En la figura 3.1.9, en el primer minuto de reacción se observa la aparición de una banda ancha alrededor de 534 nm, característica de la presencia de nanopartículas de oro (Rajeshkumar S., 2016). Esta banda en función del tiempo se torna más estrecha indicando la presencia de nanopartículas

con formas esféricas, además la absorbancia aumenta de manera constante hasta por 24 horas; sin embargo, a partir del tercer día se observa una disminución constante hasta por 75 días. Al mismo tiempo se observa la aparición de colas de banda en 730 nm que se forman en los primeros cinco minutos y que se mantiene hasta por los 75 días indicando formas irregulares o que se encuentran fuera de la esfericidad (Prathap S. *et al.*, 2006).

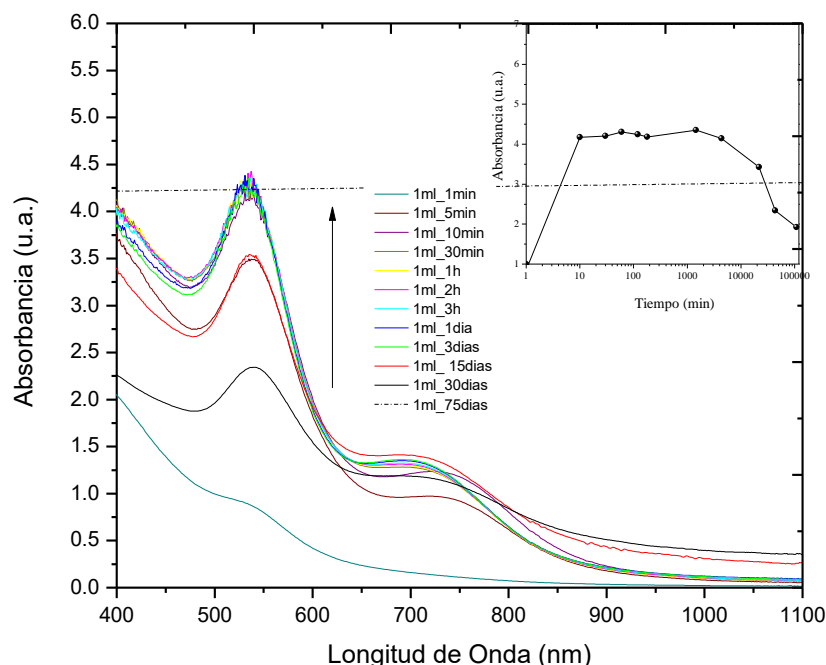


Figura 3.1.9 Espectros UV-Vis de 1 mL de extracto de cancerina y 10 mL de  $H[AuCl_4].3H_2O$  monitoreada por 75 días. En la parte superior derecha se tiene el cambio de la absorbancia vs la concentración de extracto de cancerina.

Debido a la aglomeración que se presenta en las nanopartículas de oro a partir del tercer día se decide incorporar el copolímero tribloque P-103. Pompe *et al.*, 2013 y Webster *et al.*, 2013 proponen la incorporación de “agentes” estabilizadores (polímeros, generalmente) naturales en las metodologías verdes, con la finalidad de evitar la aglomeración durante el proceso de formación o para modificar las características superficiales de las nanopartículas.

En este trabajo se consideraron las concentraciones de 0.05% p/v (concentración por debajo de la concentración crítica micelar), 0.1% p/v, 0.5% p/v y 1% p/v (concentraciones por arriba de la concentración crítica micelar) para el copolímero tribloque P103.

La adición fue de acuerdo al arreglo 1 y 2 mencionados en la metodología. El espectro UV-Vis que sigue la formación de nanopartículas con el arreglo 1 se muestran en la figura 3.1.10

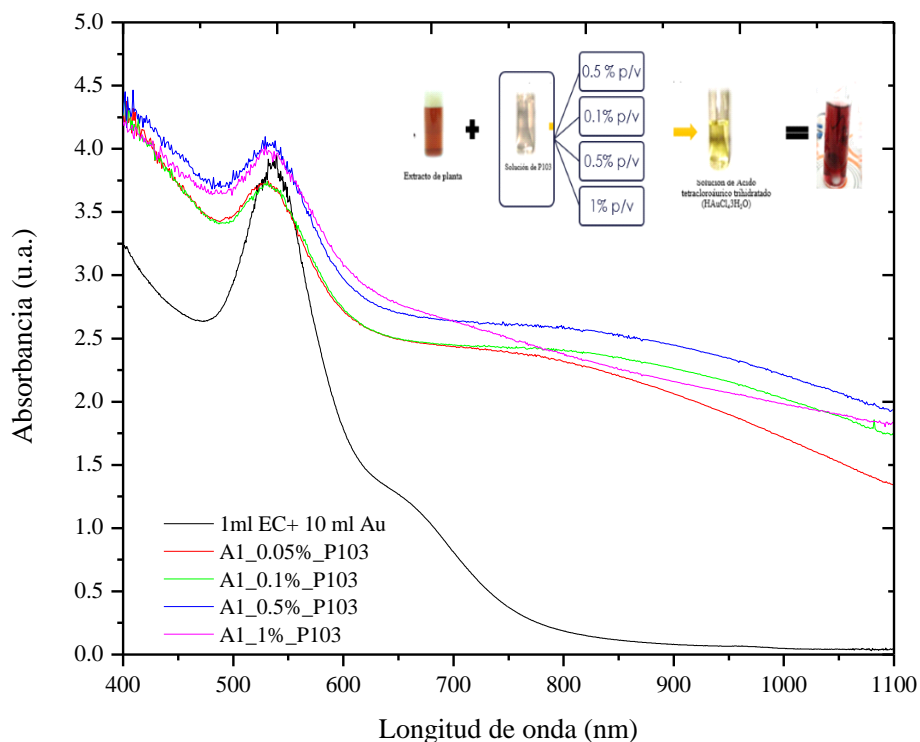


Figura 3.1. 10 Arreglo 1: la mezcla de extracto de cancerina + solución de copolímero P103 0.05% p/v, 0.1% p/v, 0.5% p/v y 1% p/v que se adicionan a 10 ml de la solución de oro.

La figura 3.1.10 se muestra la formación de las nanopartículas proponiendo el arreglo 1 a las diferentes concentraciones de copolímero tribloque P103 (0.05% p/v, 0.1% p/v, 0.5% p/v y 1% p/v), así como la formación de la muestra sin copolímero (espectro UV-Vis color negro); todas reportadas al tercer día. Observe una banda ancha de absorción alrededor de 535 nm, banda característica de la resonancia transversal del plasmón debido a la formación de nanopartículas de oro, note que la concentración de copolímero es directamente proporcional al valor de la absorbancia, mientras que la banda de absorción de la muestra sin copolímero es estrecha (línea negra) los espectros con copolímero tienen una banda más ancha esto podría deberse a que las estructuras de las nanopartículas son de mayor tamaño debido a que se adhiere el bloque hidrófobo del copolímero tribloque P103 en la superficie metálica (Khalil M., *et al.*, 2010), (chitra K., *et al.*, 2015). Por otra parte también se aprecia la formación de una segunda banda de absorción a alrededor de 830 nm característica de la

resonancia de plasmón longitudinal debido a la formación de formas triangulares, hexagonales o irregulares ( Shankar *et al.*, 2003 , Daniel & Astruc, 2004 ).

En la figura 3.1.11 se muestra la desviación estándar de cada una de las síntesis que se realizaron con el arreglo 1 con cada una de las concentraciones de copolímero empleado, gráficamente es posible observar la reproducibilidad con cierta desviación debido al sin número de variables que deben controlarse.

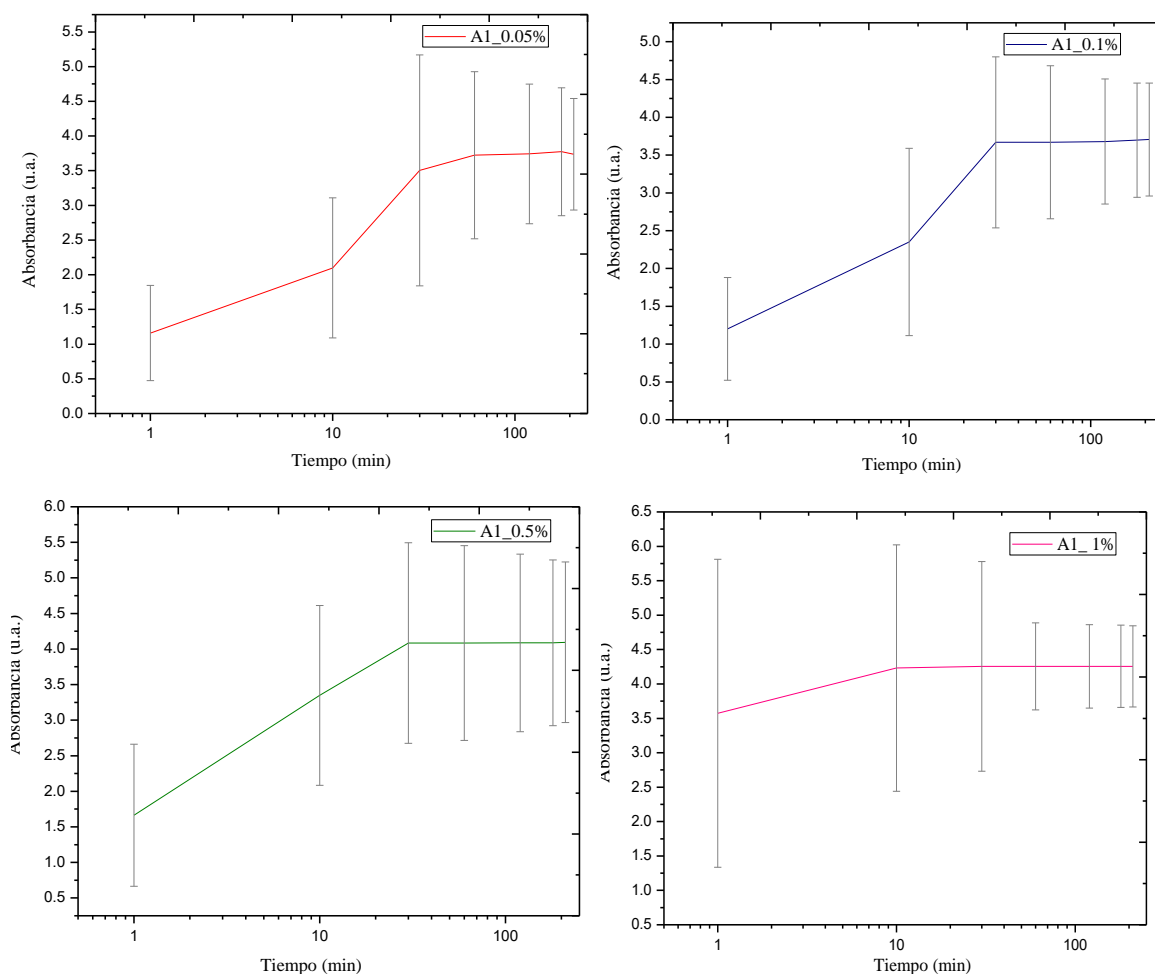


Figura 3.1.11 Desviación estándar de arreglo 1 para las concentraciones de copolímero tribloque 0.05% p/v (línea color rojo), 0.1% p/v (línea color azul), 0.5% p/v (línea color verde) y 1% p/v (línea color rosa).

En la figura 3.1.12 se muestra los espectros de formación de las nanopartículas proponiendo el arreglo 2 a diferentes concentraciones de copolímero tribloque P103 (0.05% p/v, 0.1% p/v, 0.5% p/v y 1% p/v) a los tres días. Además, se adiciona la muestra sin copolímero (espectro UV-Vis color negro). Observe que a mayor concentración de copolímero el valor de la absorbancia aumenta y las bandas son más estrechas comparada

con la muestra sin copolímero. También se observa que las colas de banda se reducen en las muestras con copolímero debido a que de acuerdo a Khalil M., *et al.*, 2010 y Chitra K., *et al.*, 2015 mencionan que la superficie metálica tiene una gran afinidad con la parte hidrofóbica del copolímero tribloque lo que permite la incorporación del copolímero modificando su forma y tamaño.

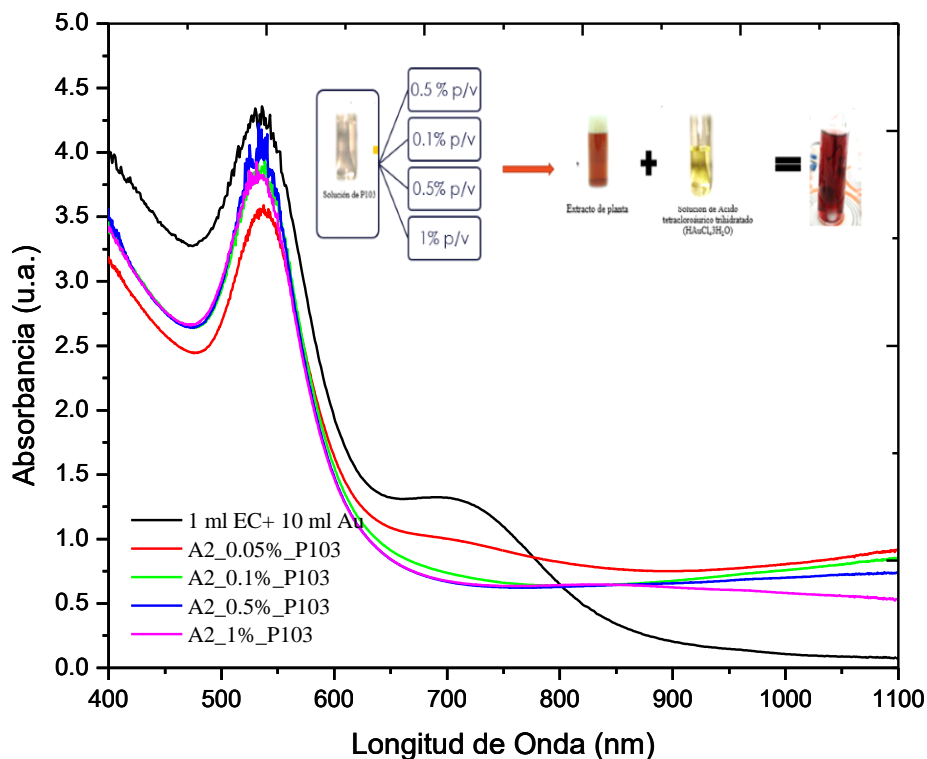


Figura 3.1 12 Soluciones preparadas con: 1 ml de P-103 a diferentes concentraciones se adiciona a la mezcla de 1 ml de extracto de cancerina diluido con 10 ml de Au, es decir, Arreglo 2. a) 0.05% p/v p-103, b) 0.1% p/v p-103, c) 0.5% p/v p-103, d) 1% p/v p-103.

En la figura 3.1.13 se muestra la absorbancia vs tiempo de las síntesis de AuNPs con diferente concentración del polímero, mostrando la desviación estándar de cada una de las síntesis con el arreglo 2. Estas graficas dan una idea sobre su comportamiento a través del tiempo considerando que las reacciones son a partir de un extracto natural que contiene alrededor de más de 100 componentes

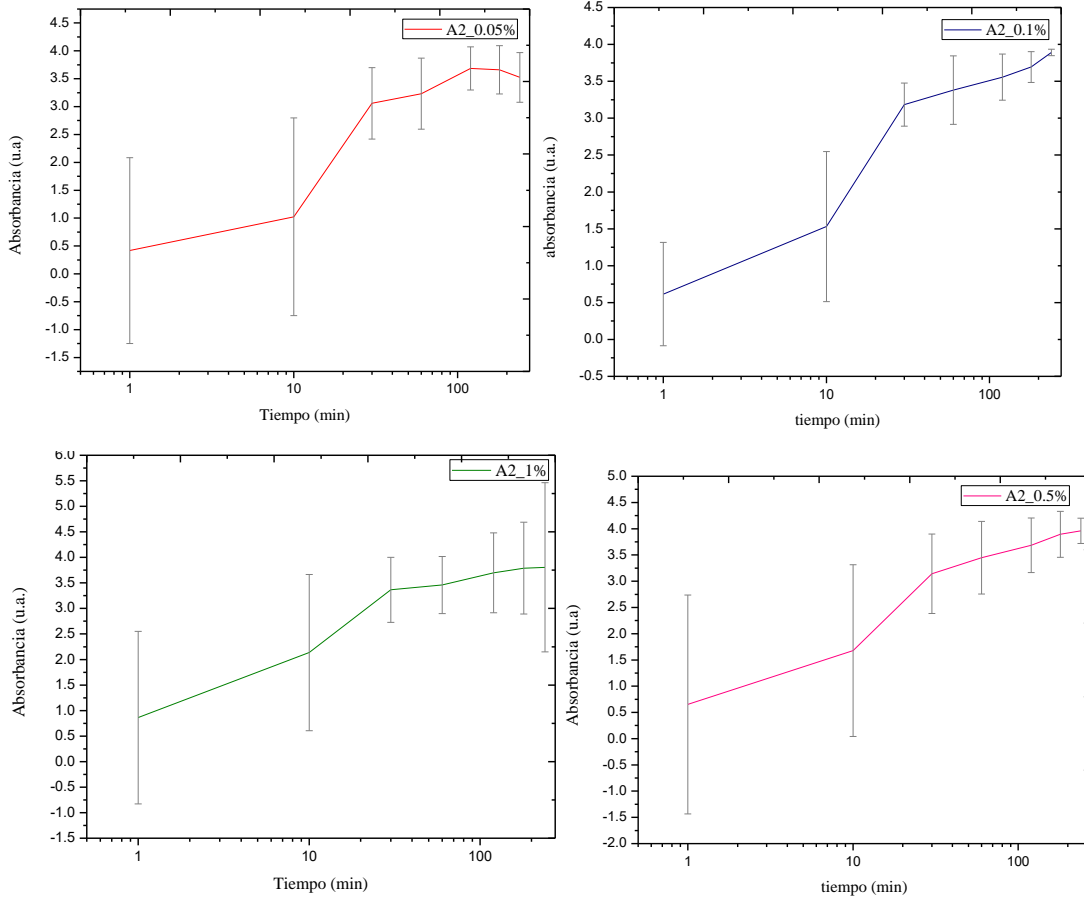


Figura 3.1.13 Desviación estándar de arreglo 2 para las concentraciones de copolímero tribloque 0.05% p/v (línea color rojo), 0.1% p/v (línea color azul), 0.5% p/v (línea color verde) y 1% p/v (línea color rosa).

El comportamiento de la absorbancia vs tiempo se muestra para el arreglo 1 en el gráfico de la figura 3.1.14.

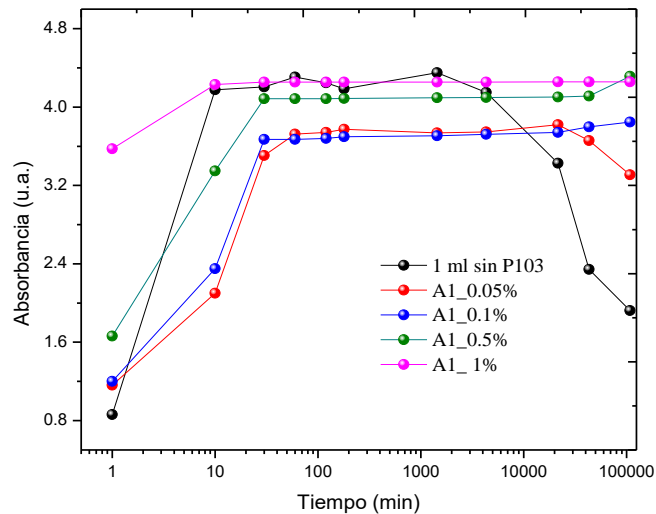


Figura 3.1. 14 Absorbancia vs Tiempo del **Arreglo 1**: la mezcla de extracto de cancerina + solución de copolímero P103 se adiciona a 10 ml de la solución de oro.

Respecto al arreglo 1 se puede mencionar que la muestra con copolímero con una concentración mayor a % p/v contribuye a que la formación de nanopartículas se mantenga estable y constante a través del tiempo. Por otra parte, con el arreglo 2 las nanopartículas sintetizadas con 0.05%p/v de P-103 permanece estable hasta por 75 días, mientras que las demás muestras se mantienen por 30 días. Visualmente en las muestras del arreglo 2 era posible ver a simple vista precipitados sólidos resultado de la poca interacción con el copolímero (véase figura 3.1.15).

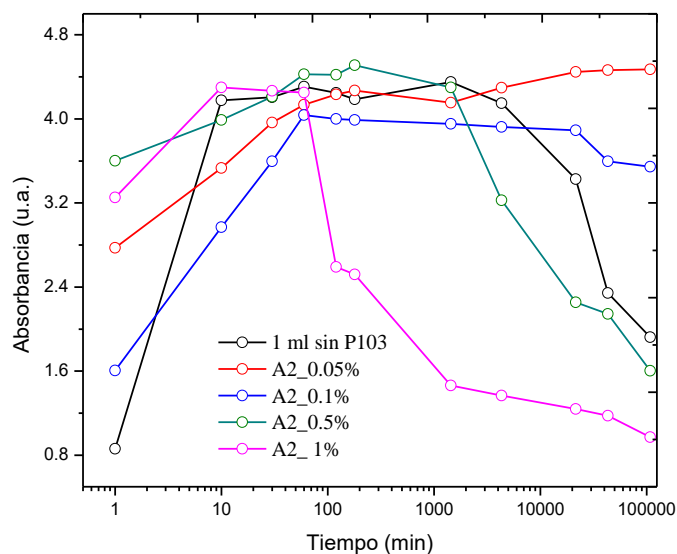


Figura 3.1.15 Absorbancia vs Tiempo del Arreglo 2: la mezcla de extracto de cancerina + solución se P103 se adiciona a la solución de oro.

### **3.2 CARACTERIZACIÓN POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA DE CANCERINA, NANOPARTÍCULAS DE ORO CON Y SIN COPOLIMERO TRIBLOQUE P103.**

Se realizaron mediciones de FTIR para identificar los grupos funcionales en el extracto de cancerina, y como éstos participan en la síntesis de las nanopartículas de oro. El análisis del extracto de *Hippocratea excelsa* Kunth (véase figura 3.2.1) muestra que las bandas aproximadamente a los  $3284\text{ cm}^{-1}$  se deben a estiramientos de enlace de los grupos hidroxilo O-H aportados por el alcohol, que demuestra la propiedad reductora del extracto de *Hippocratea excelsa* Kunth. Estudios anteriores reportaron la biosíntesis de nanopartículas de oro a través de extracto de plantas (hojas de palma y hojas de olivo) donde atribuyeron que fue posible la síntesis gracias a que los grupos hidroxilo (O-H) tienen una mayor capacidad para unirse a los iones de oro (Ahmad, T., *et al.* 2016) y (Mostafa, M., *et al* 2012)

Las bandas en  $2925\text{ cm}^{-1}$  se deben al estiramiento de enlace de los grupos metileno, mientras que los enlaces en las bandas de  $1372\text{ cm}^{-1}$  pertenecen a la flexión del enlace en los grupos metilo, la banda intensa en  $1040\text{ cm}^{-1}$  se debe a estiramientos de enlaces COC, las bandas en  $1242\text{ cm}^{-1}$  y  $1443\text{ cm}^{-1}$  se deben a estiramientos de enlaces OH, siendo la banda en  $1605\text{ cm}^{-1}$ ,  $2030\text{ cm}^{-1}$  y  $2325\text{ cm}^{-1}$  perteneciente a enlaces C=C, la banda cerca de  $1739\text{ cm}^{-1}$  pertenece al estiramiento del grupo carbonilo C=O perteneciente al grupo cetona, la banda en  $1605\text{ cm}^{-1}$  se debe a la torsión del enlace O-H, mientras que alrededor de  $786\text{ cm}^{-1}$  se debe a la flexión de enlaces C-H.

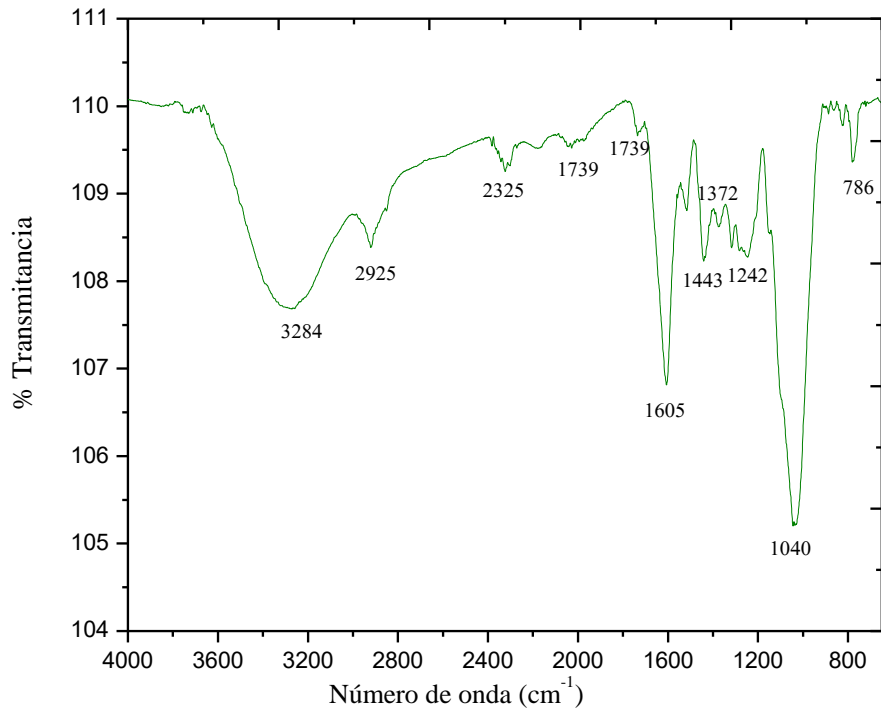


Figura 3.2 1 Espectro FT-IR de Cancerina

El análisis del espectro infrarrojo de las nanopartículas de oro (ver figura 3.2.2) muestra bandas alrededor de  $3244\text{ cm}^{-1}$  debido a estiramientos de enlace de los grupos hidroxilo O-H aportados por el alcohol, las bandas en  $2924\text{ cm}^{-1}$  y  $2859\text{ cm}^{-1}$  se deben al estiramiento de enlace de los grupos metileno, mientras las bandas de  $1374\text{ cm}^{-1}$  pertenecen a la flexión del enlace en los grupos metilo, las banda intensa en  $1060\text{ cm}^{-1}$  se deben a estiramientos de enlaces COC, las bandas en  $1281\text{ cm}^{-1}$  y  $1437\text{ cm}^{-1}$  se deben a estiramientos de enlaces OH, las bandas en  $2055\text{ cm}^{-1}$ ,  $2195\text{ cm}^{-1}$  y  $2322\text{ cm}^{-1}$  se podrían atribuir a enlaces C=C, la banda en  $1605\text{ cm}^{-1}$  se debe a la torsión del enlace O-H, mientras que alrededor de  $820\text{ cm}^{-1}$  se debe a enlaces C-H.

El análisis del espectro infrarrojo de las nanopartículas de oro adicionándoles copolímero tribloque P103 muestra bandas alrededor de  $3262\text{ cm}^{-1}$  debido a estiramientos de enlace de los grupos hidroxilo O-H aportados por el alcohol, la banda en las bandas en  $2966\text{ cm}^{-1}$  y  $2874\text{ cm}^{-1}$  se deben al estiramiento de enlace de los grupos metileno  $\text{CH}_2$ , mientras las bandas de  $1375\text{ cm}^{-1}$  pertenecen a la flexión del enlace en los grupos metilo  $\text{CH}_3$ , las banda intensa en  $1061\text{ cm}^{-1}$  se deben a estiramientos de enlaces COC, las bandas en  $1279\text{ cm}^{-1}$  y  $1441\text{ cm}^{-1}$  se deben a estiramientos de enlaces OH, las bandas en  $2303\text{ cm}^{-1}$  se podrían atribuir

a enlaces C=C, la banda en  $1605\text{ cm}^{-1}$  se debe a la torsión del enlace O-H, mientras que alrededor de  $820\text{ cm}^{-1}$  se debe a enlaces C-H.

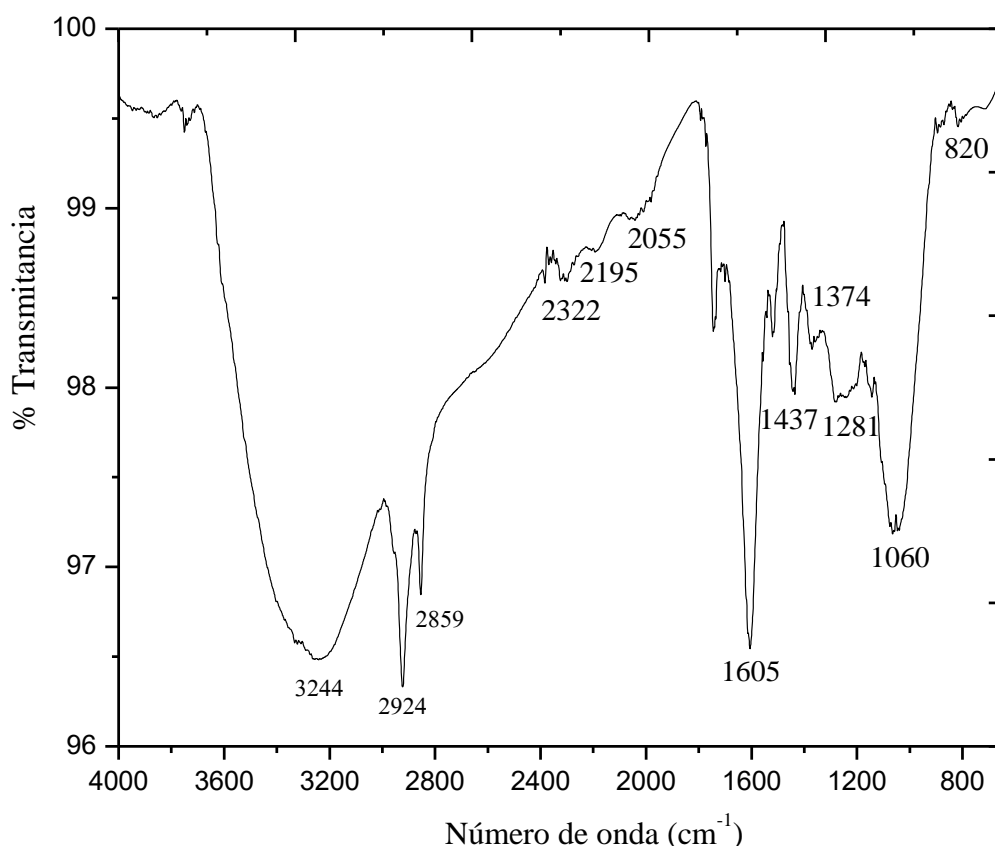


Figura 3.2 2 Espectro FTIR de la formación de nanopartículas con 1 ml de extracto de cancerina y 10 ml de la solución de oro.

Es posible observar diferencias importantes entre los espectros de la cancerina y las AuNPs, de  $3284\text{ cm}^{-1}$  a  $3244\text{ cm}^{-1}$  con una mayor intensidad posiblemente por el aumento en la cantidad de enlaces OH debido al medio acuoso en el que se lleva a cabo la biosíntesis y de  $1040$  a  $1060\text{ cm}^{-1}$  donde la banda disminuye debido a la interacción de los enlaces COC con la materia orgánica del extracto, la aparición de bandas entre  $2000\text{ cm}^{-1}$  y  $2300\text{ cm}^{-1}$  por el aumento de enlaces de C=C, un aumento en la intensidad en la banda de  $1605\text{ cm}^{-1}$  debido al aumento de vibraciones por mayor cantidad de enlaces OH, además un cambio de  $786\text{ cm}^{-1}$  a  $820\text{ cm}^{-1}$  debido a la disminución de vibraciones C-H posiblemente incorporación de otros compuestos.

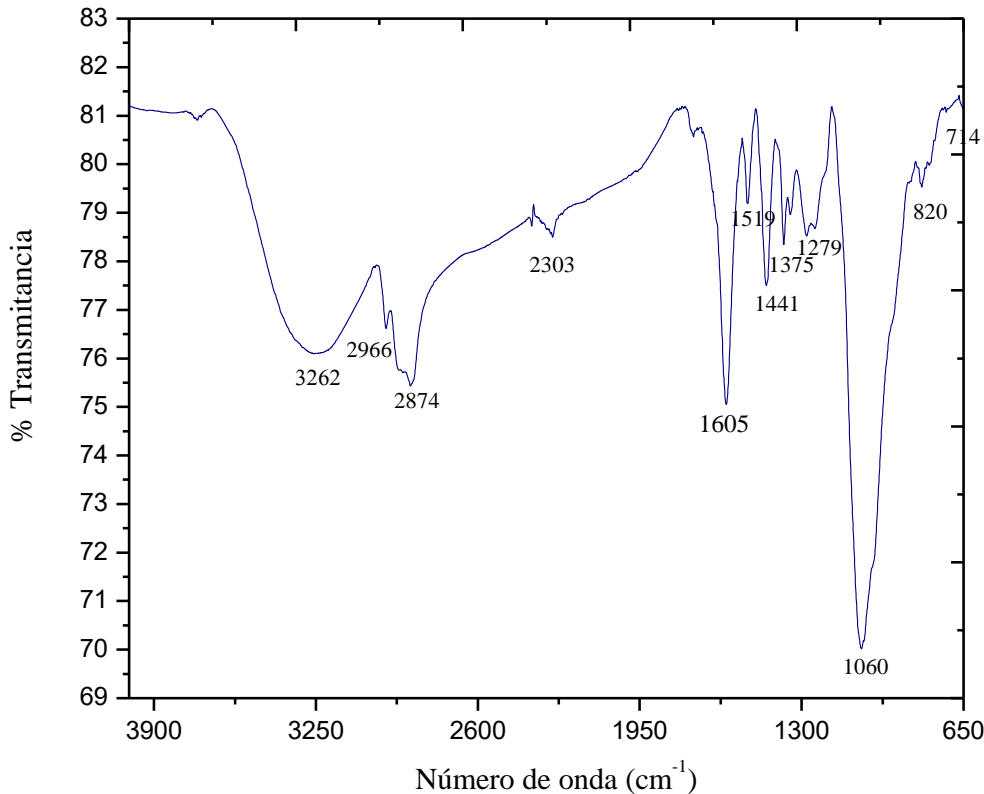


Figura 3.2. 3 Espectro FTIR de la formación de nanopartículas con 1 ml de extracto de cancerina y 10 ml de la solución de oro y 1 ml de copolímero tribloque P103

Mientras que entre el espectro entre AuNPs y el de AuNPs con polímero es evidente el cambio de  $3244\text{ cm}^{-1}$  a  $3262\text{ cm}^{-1}$  donde la intensidad de la banda disminuye posiblemente por la interacción del grupo OH con las biomoléculas activas del extracto de la plata y la interacción con el copolímero, un cambio de intensidad en las banda de  $2859$  debido a que hay presencia de mayor cantidad de enlaces CH debido a los grupos metileno ,así como el aumento y aparición de nuevas bandas como en  $1279\text{ cm}^{-1}$  a  $1375\text{ cm}^{-1}$ ,  $1441\text{ cm}^{-1}$  y  $1519\text{ cm}^{-1}$  por la participación de cadenas más largas de C-H por grupos metileno y metilo introducidas por el copolímero tribloque P103, además la disminución en la intensidad de la banda en  $1605\text{ cm}^{-1}$  por el rompimiento de enlaces OH debido a que el oxígeno esta interaccionando con los iones metálicas para la formación de nanopartículas. Cao contrario se observa un aumento en la intensidad en la banda alrededor de  $1060\text{ cm}^{-1}$  a la incorporacion de grupos OH por el copolímero P103. Por lo tanto, los resultados de FTIR han demostrado la participación de los grupos OH contenidos en los triterpenos desempeñan un papel importante en la reducción del ácido cloroáurico para formar nanopartículas de oro (Pei, G., *et al*, 2012), (Mostafa N., *et al*, 2017)

### 3.3 CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN.

La estructura y la distribución del tamaño de las nanopartículas de oro se analizaron usando TEM. Las micrografías de las nanopartículas obtenidas de la mezcla del extracto de cancerina y la solución de oro corresponden a la figura 3.3.1 en general muestran nanopartículas de oro con formas en su mayoría esféricas en (a) y (b).

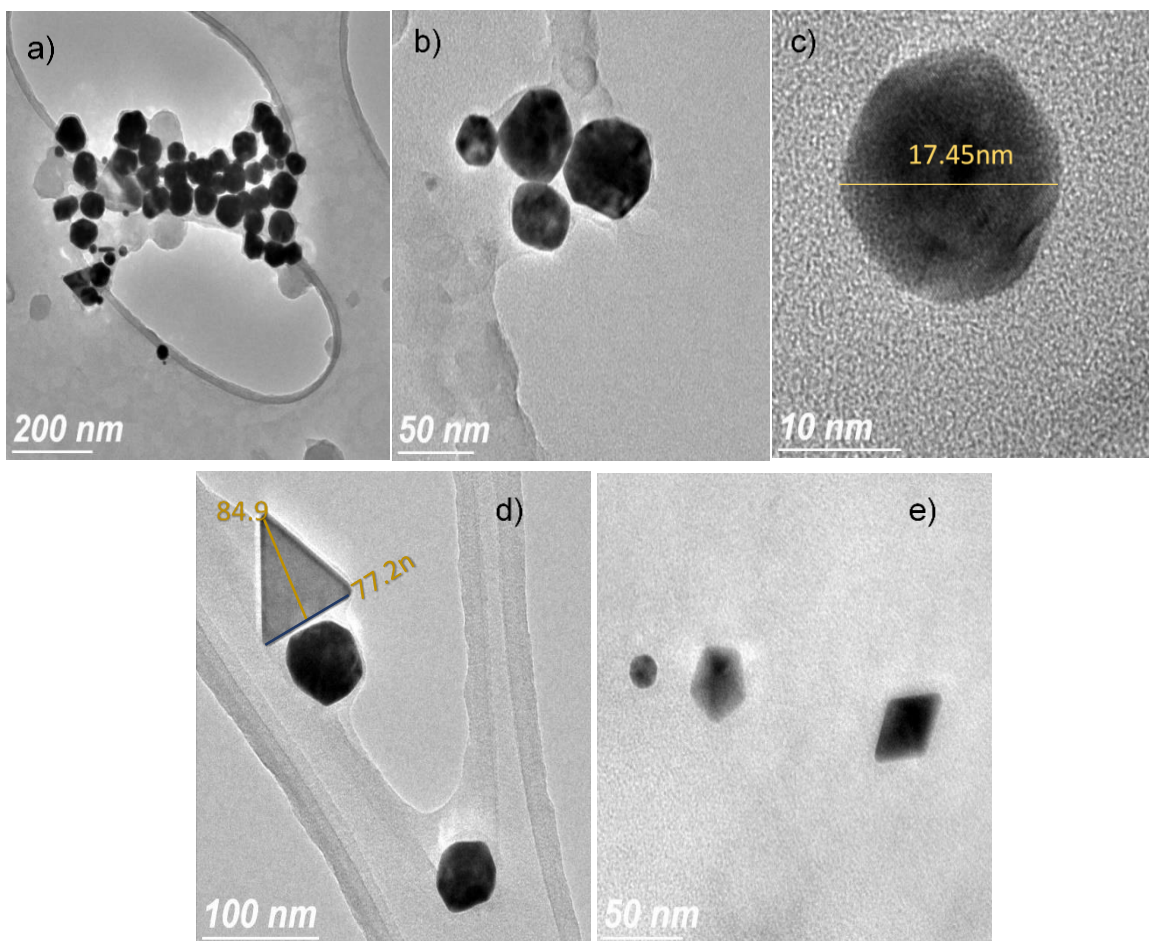


Figura 3.3.1 Micrografías a 200 nm, 50 nm y 10 nm de la formación de AuNp's empleando 1m de extracto de cancerina y la solución de oro, a temperatura ambiente.

Las formas esféricas (b) a partir del histograma de la figura 3.3.2 se encontraron tamaños que van desde 11.5 nm hasta 93 nm, con un tamaño promedio de  $34 \text{ nm} \pm 16 \text{ nm}$ , sin embargo, es importante indicar que también se obtuvieron otras formas tales como nano triángulos en (d) y nano rombos en (e) , de acuerdo a los espectros UV-Vis para 1 ml de extracto de cancerina y la solución de oro mostraban una sola banda de absorción entre 500

y 600 nm indicando la presencia de formas esféricas, aun así era posible ver algunas colas de banda debido a la presencia de formas diferentes a las esféricas en conjunto con la técnica de microscopia electrónica de transmisión podemos confirmar que las suposiciones echas son verdaderas.

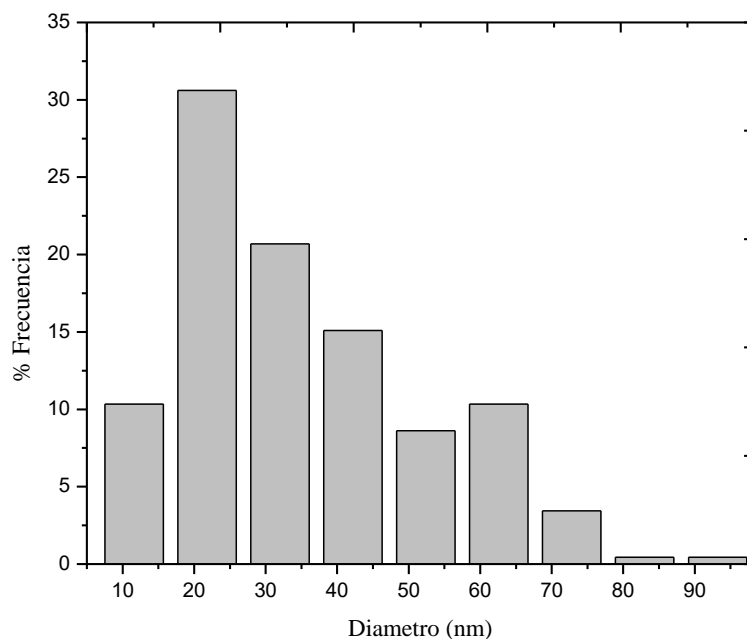


Figura 3.3.2 Histograma correspondiente a las micrografías de la formación de AuNp's empleando 1m de extracto de cancerina y la solución de oro, a temperatura ambiente.

Por otra parte, se reporta el efecto que tiene el incorporar el copolímero P103 a diferentes concentraciones (0.05% p/v, 0.1% p/v, 0.5% p/v y 1%p/v) en la formación de las nanopartículas de oro a través del arreglo 1 y arreglo 2. De acuerdo a Webster et al., 2013 y estudios previos menciona que el problema de la inestabilidad debido a la agregación podría superarse decorando la superficie de las AuNPs con polímeros poco auto interactivos; inclusive revelaron que la incorporación del copolímero podría provocar cambios en la morfología de las nanopartículas.

Las micrografías para el arreglo 1, empleando el copolímero P103 a 0.05% p/v se muestran en la figura 3.3.3. En todas las micrografías se observa la aparición de superficies circulares tipo corona, de grandes tamaños generadas posiblemente por las estructuras poliméricas denominadas micelas en (a) a su vez es posible apreciar la presencia de nanopartículas de oro dentro y alrededor de la superficie de la micela las cuales exhiben formas esféricas bien dispersas y distribuidas, en la figura (b) es posible apreciar un tipo de

aureola alrededor de las nanopartículas señaladas con flechas, esto podría deberse la afinidad de la superficie metálica con el bloque hidrófobo del copolímero tribloque P103 en forma de micelas (Khalil M., *et al.*, 2010), (chitra K., *et al.*, 2015).

Comparando con los espectros UV-Vis es posible atribuir las colas de banda anchas a la formación de micelas de grandes tamaños.

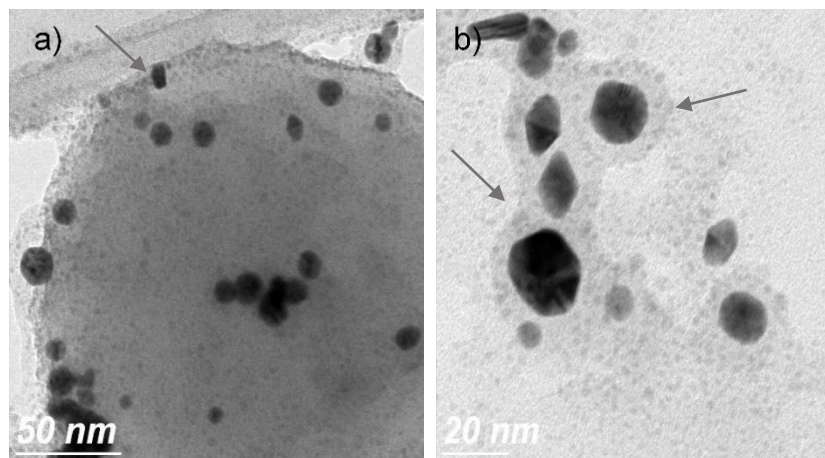


Figura 3.3.3 Micrografías a 50 nm y 20 nm para el arreglo 1 con 0.05% p/v de copolímero P103.

En la figura 3.3.5 se observa el histograma correspondiente a las micrografías a 50nm y 20 nm, de acuerdo al grafico se reporta un tamaño promedio de 13.10 nm, con una distribución normal indicando que los tamaños son más uniformes entre las nanopartículas con un valor mínimo de desviación y de valor numérico de  $\pm 4.85$  nm.

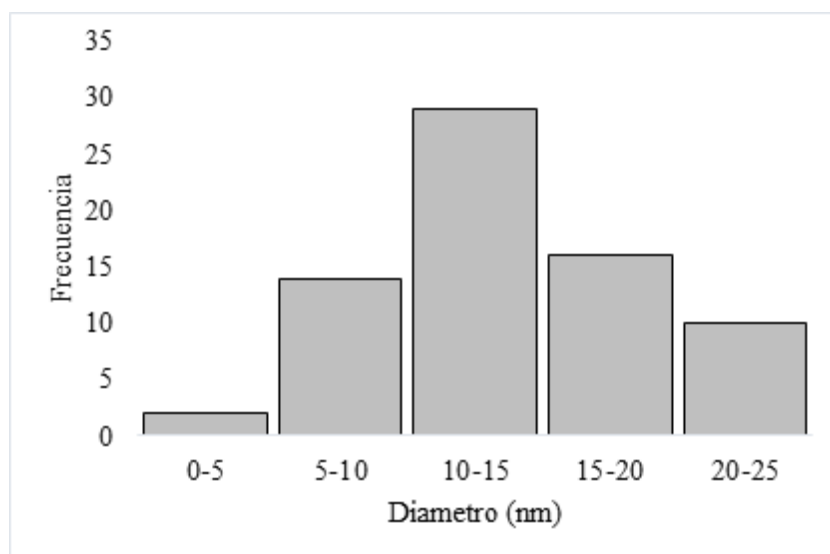


Figura 3.3.4 histograma correspondiente al arreglo 1 empleando el copolímero P103 a 0.05% p/v.

A continuación, se muestran micrografías a 10 nm y 5 nm en la figura 3.3.5 donde se observan nanopartículas con formas esféricas de tamaños que oscilan entre 5 nm a 8 nm; a estas resoluciones también es posible apreciar (observe la flecha en la imagen a) alrededor de algunas nanopartículas un tipo aureola posiblemente sea un recubrimiento de copolímero P103 sobre la superficie de oro en (a) y (b).

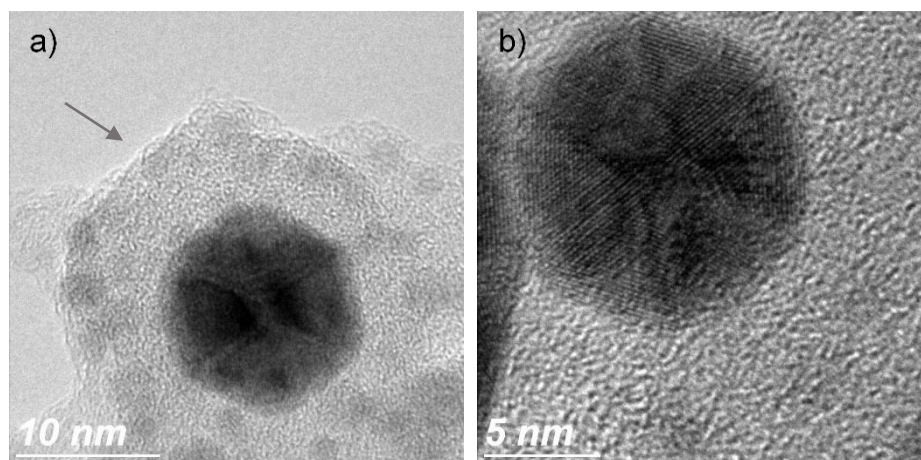


Figura 3.3.5 Micrografías a 20 nm y 5 nm para el arreglo 1 (empleando el copolímero P103 a 0.05% p/v).

Las micrografías para el arreglo 1, cambiando la concentración del copolímero P103 a 0.5% p/v se muestran en la figura 3.3.6, en (a) es posible ver que las formas de las nanopartículas que predominan son esféricas, que la distancia de separación entre una y otra nanopartícula disminuye dando la apariencia de nanopartículas de mayor tamaño, se nota la formación de micelas en mayor cantidad a causa del aumento en la concentración del copolímero; nótese que las nanopartículas de oro se encuentran en su mayoría sobre la superficie de las micelas. Al mismo tiempo en (b) y (c) se muestran las micrografías a 20nm a esta resolución es posible identificar con flechas otras formas como la presencia nanotubos, nanos triángulos, nanos rombos y algunas otras formas irregulares que se encuentran en menor proporción; de acuerdo al histograma de la figura 3.3.7 correspondiente al arreglo 1 empleando el copolímero P103 a 0.5% p/v, los tamaños van de 5 nm a 30 nm, siendo 11.5 nm el tamaño promedio.

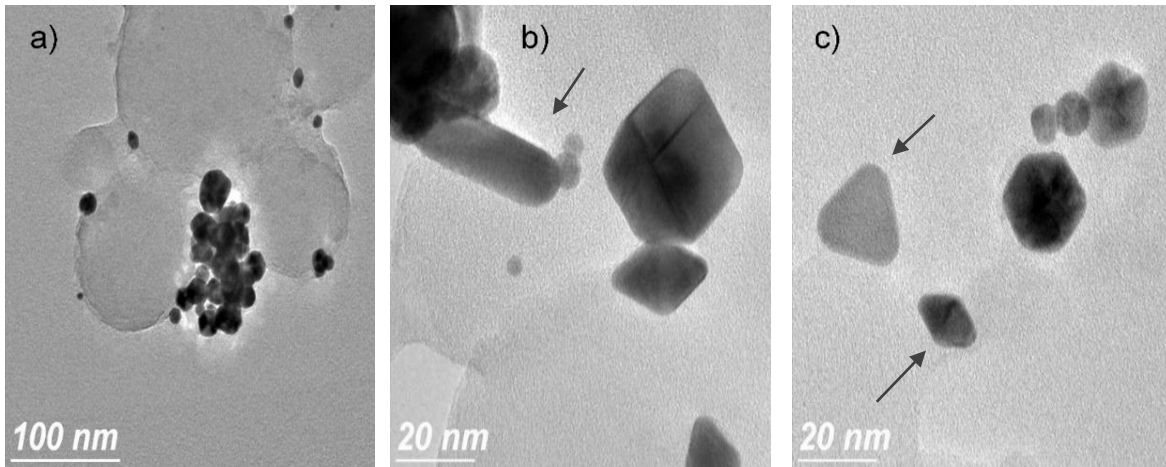


Figura 3.3.6 Micrografías a 100 nm y 20 nm para el arreglo 1 empleando el copolímero P103 a 0.5% p/v.

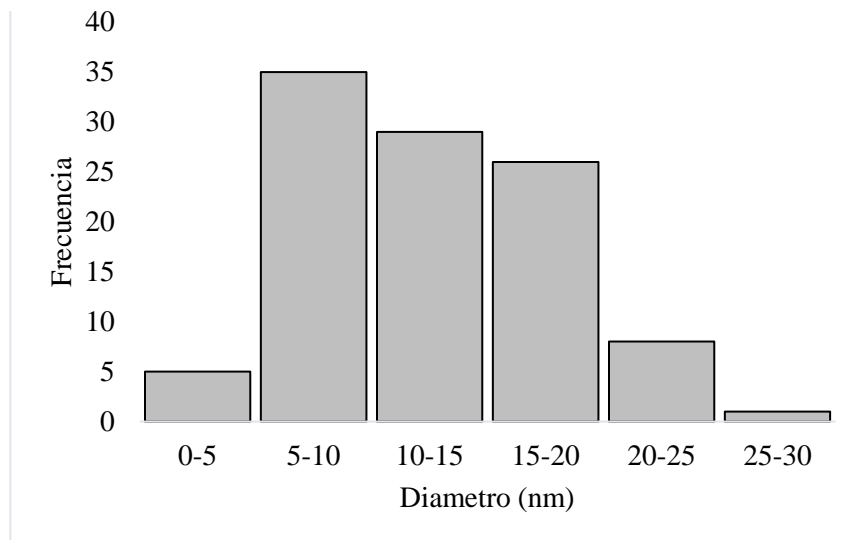


Figura 3.3.7 histograma de figura 3.3.6 (Arreglo 1 empleando el copolímero P103 a 0.5% p/v).

A continuación, se muestran las micrografías obtenidas a través del arreglo 2 a diferentes concentraciones de copolímero tribloque P103 (0.05% p/v, 0.1% p/v, 0.5% p/v y 1% p/v)

La estructura y la distribución del tamaño de las nanopartículas de oro formadas de acuerdo al arreglo 2 empleando 0.05% p/v de copolímero tribloque P103 son mostradas en la figura 3.3.8 b donde se observa la presencia de las superficies esféricas de gran tamaño con coloración blanquizca probablemente pertenecen a los bloques polímeros suspendidos en la solución, note que la distancia entre cada nanopartícula de oro disminuye dando la apariencia de tener estructuras de oro de mayor tamaño (ver figura 3.3.8 a), si se aumenta la

resolución de las imágenes a 10 nm (véase figura 3.3.8 c ) es posible apreciar nanopartículas con tamaños de hasta 20 nm con formas en su mayoría esféricas siendo evidente que aumentó la cantidad de nanopartículas de oro, note que muy pocas nanopartículas de oro presentan el recubrimiento de copolímero alrededor de la superficie. La distribución de tamaño se reporta en el histograma de la figura 3.3.9 siendo 34.8 nm el diámetro promedio de las nanopartículas de oro.

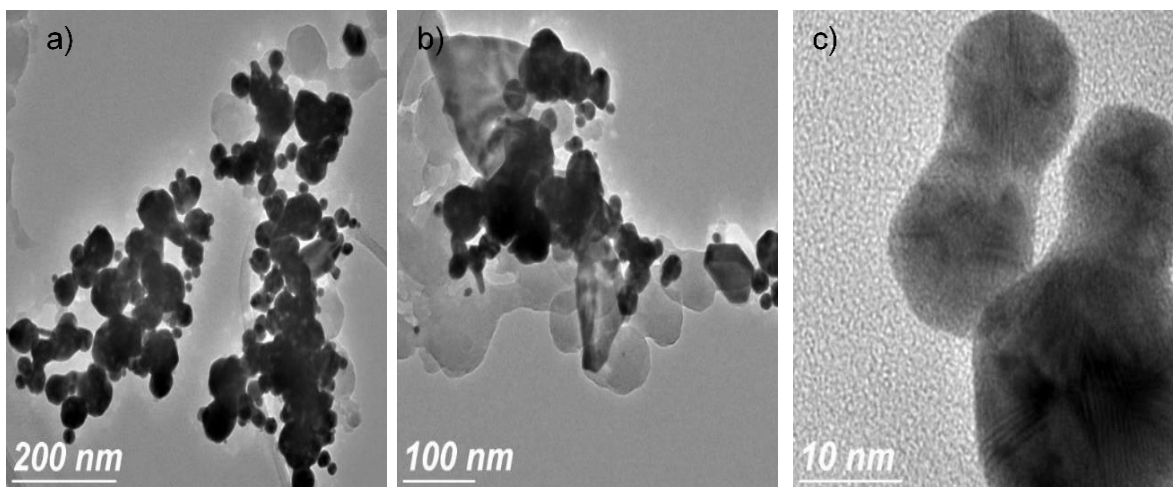


Figura 3.3.8 Micrografías a 200 nm, 100 nm y 10 nm para el arreglo 2 empleando el copolímero P103 a 0.05% p/v.

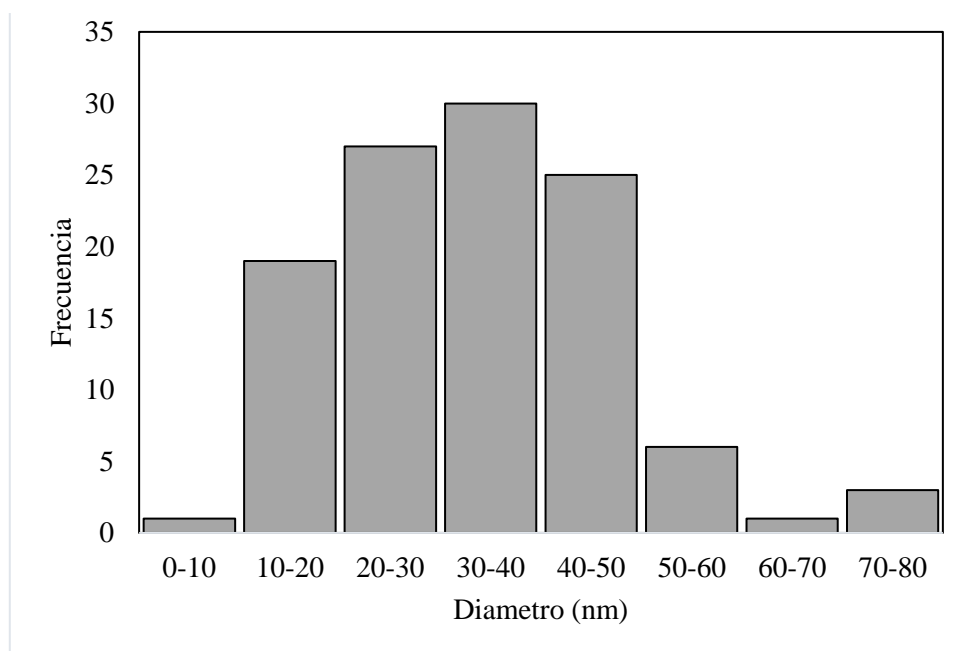


Figura 3.3.9 histograma correspondiente a la figura 3.3.10 (Arreglo 2 empleando el copolímero P103 a 0.05% p/v).

Cuando la concentración del copolímero P103 es 0.1 % p/v empleando el arreglo 2se muestran las micrografías en la figura 3.3.10 donde se observa la formación de micelas de grandes tamaños en (b), sobre las cuales es posible observar nanopartículas de oro. Nótese que en ciertas partes de la micela se concentran aparentemente grupos de nanopartículas de oro debido a que la separación entre ellas disminuye en (a), es importante mencionar que se observan grupos de micelas que no tienen contacto con las nanopartículas; a través de la micrografía a 50 nm se aprecian formas en su mayoría esféricas (c), sin embargo, también se tienen nanos hexágonos (d) y (e), además se aprecian y se señalan con flechas algunas nanopartículas con un recubrimiento de copolímero alrededor de su superficie de diámetros alrededor de 27 nm. La distribución de tamaño de las nanopartículas se muestra en la figura 3.3.11 siendo el diámetro promedio de 42.8nm

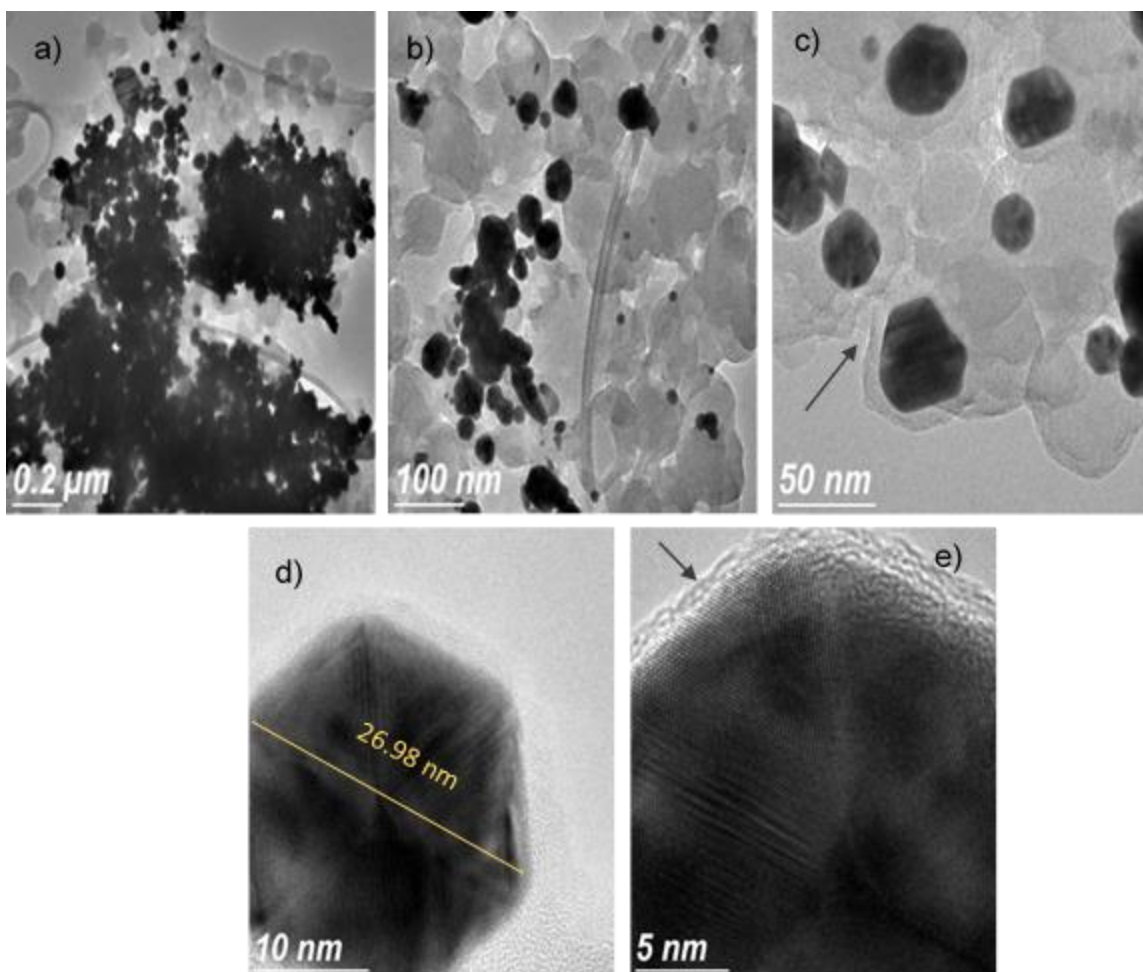


Figura 3.3.10 Micrografías a 0.2  $\mu\text{m}$ , 100 nm y 50 nm para el arreglo 2 empleando el copolímero P103 a 0.1% p/v.

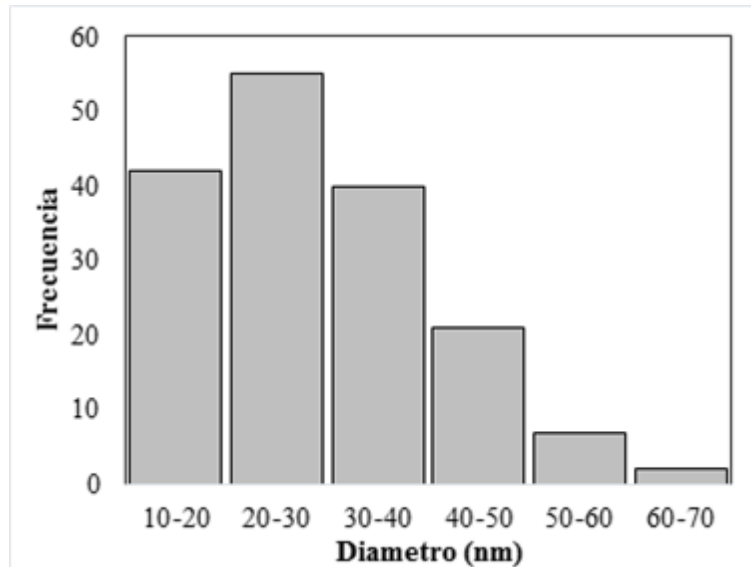


Figura 3.3.11 histograma correspondiente a la figura 3.3.14 (Arreglo 2 empleando el copolímero P103 a 0.1% p/v).

Las micrografías para el arreglo 2 utilizando una concentración de 0.5% p/v de copolímero se muestran en la figura 3.3.12 se observa la formación de micelas, debido a que la separación entre nanopartículas es menor es posible que exista el fenómeno de aglomeración entre ellas (a) para observar las nanopartículas desde un mejor enfoque se toman micrografías a 20 nm (b) y (c) donde se logran ver que algunas otras nanopartículas son estables y que mantienen diámetros de entre 5 nm a 10 nm con formas esféricas, también se encontraron formas como nanocilindros, nanorombos y nanotriángulos con tamaños de entre 21 nm y 23 nm y 25 nm respectivamente

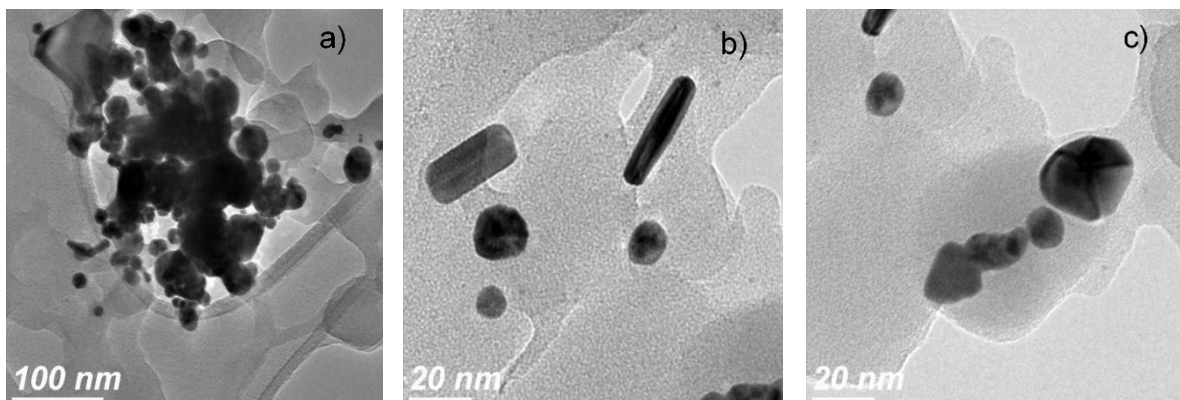


Figura 3.3.12 Micrografías a 100 nm y 20 nm para el arreglo 2 empleando el copolímero P103 a 0.5% p/v.

Mientras que las micrografías de la figura 3.3.13 a 5 nm muestran que también fue posible obtener nanopartículas con diámetros de 2.3 nm a 3nm es importante mencionar que estas se encuentran sobre micelas ya que alrededor de ella se nota la formación del recubrimiento polimérico indicado con flechas de color rojo.

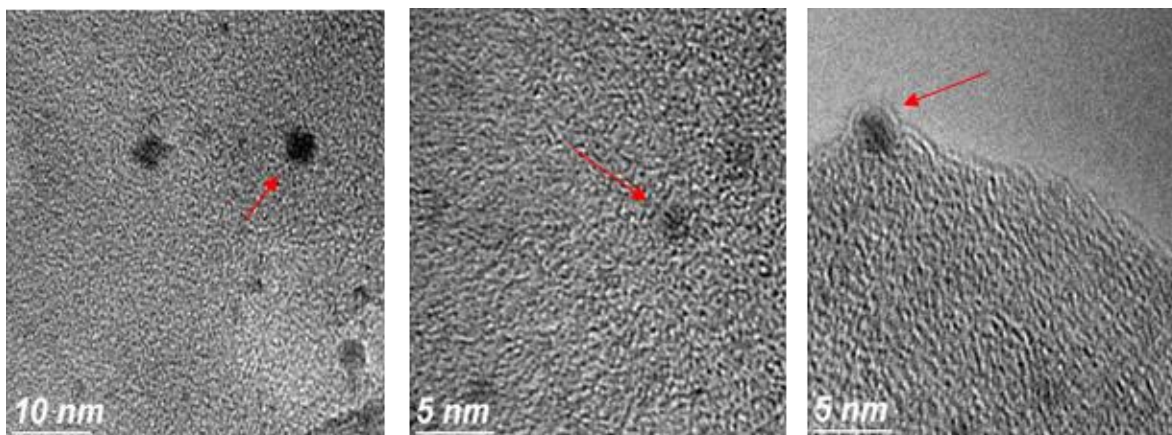


Figura 3.3.13 Micrografías a 5 nm para el arreglo 2 empleando el copolímero P103 a 0.5% p/v.

Las micrografías de la figura 3.3.14 corresponden al arreglo 2 cuando la concentración de copolímero es de 1% p/v donde también se logra la formación de nanopartículas con tamaños indeterminados debido al fenómeno de la aglomeración posiblemente porque la cantidad de micelas es menor (a), para observar el fenómeno más de cerca se tienen micrografías a 20 nm (b) donde se aprecia la unión entre nanopartículas esféricas para formar nanopartículas de mayor tamaño, con formas irregulares únicamente mantienen su forma y su tamaño aquellas nanopartículas a las que se les nota el recubrimiento de copolímero sobre su superficie señalados en (c) con flechas, en la figura 3.3.15 se muestran nanopartículas con diámetros de 8.4 nm.

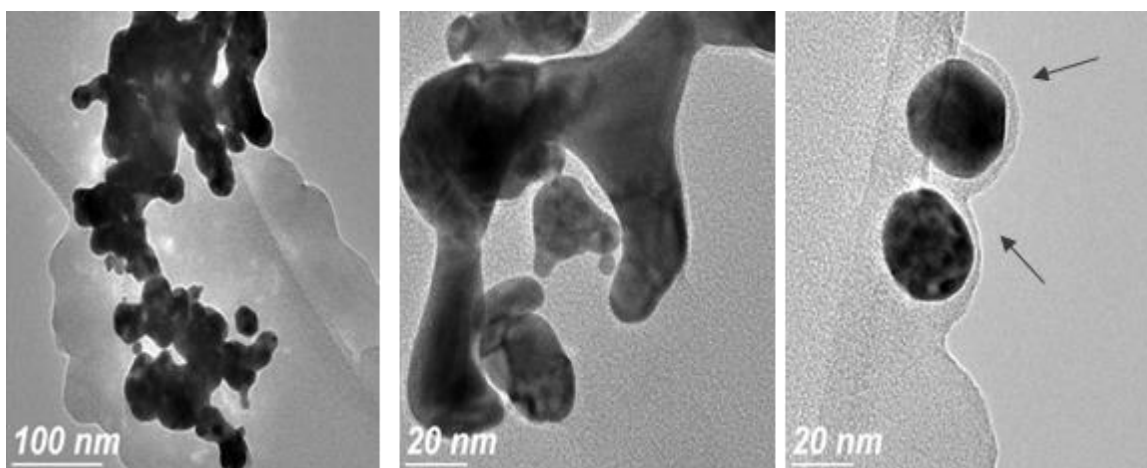


Figura 3.3.14 Micrografías a 0.2 $\mu$ m y 100 nm para el arreglo 2 empleando el copolímero P103 a 1% p/v.

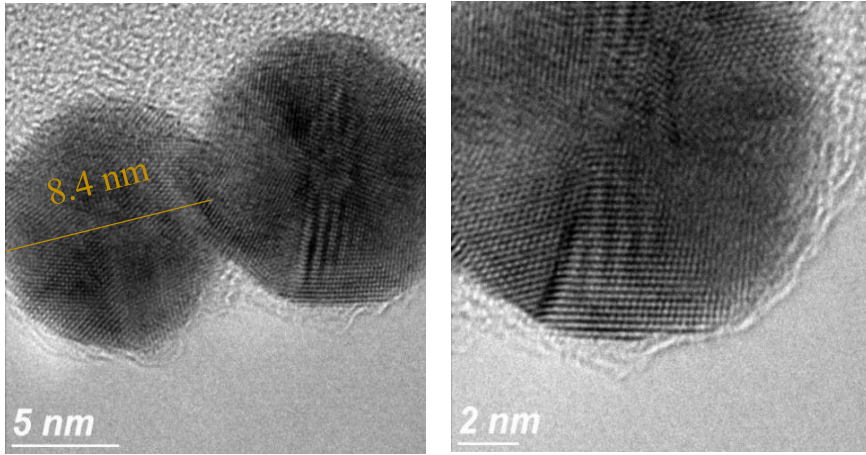


Figura 3.3.15 Micrografías a 20 nm para el arreglo 2 empleando el copolímero P103 a 1% p/v.

## CONCLUSIONES

El alto contenido de grupos O-H de alcoholes contenidos en los triterpenos del extracto de cancerina tienen fuertes propiedades antioxidantes que ayudaron a la reducción de cationes de oro a AuNp's. La caracterización a través de espectroscopia UV-Vis, TEM y FTIR de AuNp's revelaron que la morfología de los AuNp's depende de la concentración de extracto. A mayor concentración del extracto, es posible obtener mayor cantidad de nanopartículas con diferentes formas. El método desarrollado para la síntesis de AuNp's no utiliza ningún reactivo tóxico y por lo tanto tiene un gran potencial para el uso en aplicaciones biomédicas. Fue posible adicionar el copolímero P103 a partir de imágenes TEM se pudo apreciar la formación de una especie de recubrimiento sobre la superficie de las nanopartículas notándose que debido a la adición del polímero las propiedades físicas y químicas cambian inmediatamente, las nanopartículas que se obtuvieron fueron de diversos tamaños teniendo un valor promedio de 36 nm cuando se hace la síntesis sin copolímero, sin embargo cuando se adiciona el copolímero el diámetro promedio se redujo hasta 13 nm esta supuesta funcionalización de la superficie de la nanopartícula se cree que tendrá la capacidad de potencializar y/o conservar sus propiedades.

## BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez et al. (2009). Phase behavior of the Pluronic P103 / water system in the dilute and semi-dilute regimes. *Journal of Colloid And Interface Science*, 333, 655–662. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2009.01.068>
- Ankamwar. (2010). Biosynthesis of Gold Nanoparticles ( Green-Gold ) Using Leaf Extract of Terminalia Catappa. *E-Journal of Chemistry*, 7(4), 1334–1339.
- Ávalos, a., Haza, A., & Morales, P. (2013). Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 7(2), 1–23. [https://doi.org/10.5209/rev\\_RCCV.2013.v7.n2.43408](https://doi.org/10.5209/rev_RCCV.2013.v7.n2.43408)
- BAFS. (2017). *Data Sheef*.
- Capek, I. (2017). Polymer decorated gold nanoparticles in nanomedicine conjugates. *Advances in Colloid and Interface Science*. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.01.007>
- Chitra, K., Manikandan, A., & Arul Antony, S. (2016). Effect of Poloxamer on Zingiber Officinale Extracted Green Synthesis and Antibacterial Studies of Silver Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 16(1), 758–764. <https://doi.org/10.1166/jnn.2016.10630>
- D.Ray, D., Aswal, V. K., & Kohlbrecher, J. (2010). Room Temperature , High-yield Synthesis of, (Iii), 192–194.
- Gan, P. P., & Li, S. F. Y. (2012). Potential of plant as a biological factory to synthesize gold and silver nanoparticles and their applications. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 11(2), 169–206. <https://doi.org/10.1007/s11157-012-9278-7>
- Her, S., Jaffray, D. A., & Allen, C. (2017). Gold nanoparticles for applications in cancer radiotherapy : Mechanisms and recent advancements ☆. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 109, 84–101. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.12.012>
- Hung, C., Velusamy, P., Venkat, G., Adhikary, S., Pandian, K., & Anbu, P. (2017). Studies of antibacterial ef fi cacy of different biopolymer protected silver nanoparticles synthesized under re fl ux condition. *Journal of Molecular Structure*, 1128, 718–723. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.09.045>
- Jafarizad, A., Safaee, K., Gharibian, S., Omidi, Y., & Ekinici, D. (2015). Biosynthesis and In-Vitro Study of Gold Nanoparticles Using Mentha and Pelargonium Extracts. *Procedia Materials Science*, 11, 224–230. <https://doi.org/10.1016/j.mspro.2015.11.113>
- K. , Prashant. H.El-Sayed, Ivan. A. El -Sayed, M. (2007). Au nanoparticles target cancer. *Nanotoday*, 2, 18–29.
- Kabanov, A. V. (2006). Polymer genomics : An insight into pharmacology and toxicology of nanomedicines ☆. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58, 1597–1621. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.019>
- Khalil, M. M. H., Ismail, E. H., & El-magdoub, F. (2012). Biosynthesis of Au nanoparticles using olive leaf extract. *Arabian Journal of Chemistry*, 5(4), 431–437. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.11.011>
- Kim, E. Y., Kumar, D., & Lim, D. (2015). Recent advances in gold nanoparticle-based bioengineering applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 3, 8433–8444. <https://doi.org/10.1039/C5TB01292A>
- López Fernández, A. (2007). Metales preciosos: el oro. In *Boletín de la Real Academia de Córdoba, de Ciencias, Bellas Letras y Nobles Artes, n.152 (2007)* (Vol. 152, pp. 345–352).
- Luo, C., Zhang, Y., Zeng, X., Zeng, Y., & Wang, Y. (2005). The role of poly(ethylene glycol)

- in the formation of silver nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 288(2), 444–448. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.03.005>
- Mallick, K., Witcomb, M., & Scurrell, M. (2006). Silver nanoparticle catalysed redox reaction: An electron relay effect, 97, 283–287. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2005.08.011>
- Mata, R., Bhaskaran, A., & Sadras, S. R. (2016). Particuology Green-synthesized gold nanoparticles from *Plumeria alba* flower extract to augment catalytic degradation of organic dyes and inhibit bacterial growth. *Particuology*, 24, 78–86.
- Mekkawy, A. I., El-Mokhtar, M. A., Nafady, N. A., Yousef, N., Hamad, M., El-Shanawany, S. M., ... Elsabahy, M. (2017). In vitro and in vivo evaluation of biologically synthesized silver nanoparticles for topical applications: Effect of surface coating and loading into hydrogels. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 759–777. <https://doi.org/10.2147/IJN.S124294>
- Mena-rejo, G. J., Cedillo-rivera, R., & Quijano, L. (2008). 21 b -Hydroxy-oleanane-type triterpenes from *Hippocratea excelsa*. *Phytochemistry*, 69, 1057–1064. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.10.016>
- Mena-rejo, G. J., Pe, A. R., Moo-puc, R. E., Cedillo-rivera, R., Bazzocchi, I. L., & Jime, I. A. (2007). Anti-giardial Activity of Triterpenoids from Root Bark of *Hippocratea excelsa* | *J Nat. Prod.*, 3, 863–865.
- Nadaf, N. Y., & Kanase, S. S. (2016). Biosynthesis of gold nanoparticles by *Bacillus marisflavi* and its potential in catalytic dye degradation. *Arabian Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.09.020>
- Nishiyama, N., & Kataoka, K. (2006). Current state, achievements, and future prospects of polymeric micelles as nanocarriers for drug and gene delivery, 112, 630–648. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.05.006>
- Patra, J. K., Kwon, Y., & Baek, K. H. (2016). Green biosynthesis of gold nanoparticles by onion peel extract: Synthesis, characterization and biological activities. *Advanced Powder Technology*, 27(5), 2204–2213. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2016.08.005>
- Petica, A., Gavrilu, S., Lungu, M., Buruntea, N., & Panzaru, C. (2008). Colloidal silver solutions with antimicrobial properties. *Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology*, 152(1–3), 22–27. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2008.06.021>
- Pitto-Barry, 2014. (2014). Pluronic® block-copolymers in medicine: from chemical and biological versatility to rationalisation and clinical advances. *Royal Society of Chemistry*, 5, 3291–3297. <https://doi.org/10.1039/C4PY00039K>
- Rafique, M., Rafique, M. S., Butt, S. H., Kalsoom, U., Afzal, A., Anjum, S., & Usman, A. (2017). Dependence of the structural optical and thermo-physical properties of gold nano-particles synthesized by laser ablation method on the nature of laser. *Optik - International Journal for Light and Electron Optics*, 134, 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2017.01.015>
- Rai, M., Santos, C. A. dos, Ingle, A. P., & Seckler, M. M. (2016). Comparative antibacterial activity of silver nanoparticles synthesised by biological and chemical routes with pluronic F68 as a stabilising agent. *IET Nanobiotechnology*, 10(4), 200–205. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2015.0055>
- Sakai, T., & Alexandridis, P. (2005). Mechanism of Gold Metal Ion Reduction, Nanoparticle Growth and Size Control in Aqueous Amphiphilic Block Copolymer Solutions at Ambient Conditions. *J. Phys. Chem. B*, (716), 7766–7777.

- Sanchez, F., & Sobolev, K. (2010). Nanotechnology in concrete – A review. *Construction and Building Materials*, 24(11), 2060–2071. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2010.03.014>
- Shah, M., Badwaik, V., Kherde, Y., Waghwani, H. K., Modi, T., Aguilar, Z. P., ... Dakshinamurthy, R. (2014). Gold nanoparticles: various methods of synthesis and antibacterial applications. *Frontiers in Bioscience*, 19(June), 1320–1344.
- Shankar et al. (2005). Controlling the Optical Properties of Lemongrass Extract Synthesized Gold Nanotriangles and Potential Application in Infrared-Absorbing Optical Coatings. *Chem. Mater.*, (11), 566–572.
- Sivaraman, S. K., Kumar, S., & Santhanam, V. (2010). Room-temperature synthesis of gold nanoparticles – Size-control by slow addition. *Gold Bulletin*, 43(4), 275–286.
- Soltero. (2013). *Copolímeros Tribloque en la Ciencia y la Tecnología*.
- Uboldi, C., Bonacchi, D., Lorenzi, G., Hermanns, M. I., Pohl, C., Baldi, G., ... Kirkpatrick, C. J. (2009). Gold nanoparticles induce cytotoxicity in the alveolar type-II cell lines A549 and NCIH441. *Particle and Fibre Toxicology*, 6(1), 18. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-6-18>
- V. Batrakova, Elena & V. Kabanov, A. (2009). Pluronic Block Copolymers: Evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers. *J Control Release*, 130(2), 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.04.013>. Pluronic
- Wang, H., Qiao, X., Chen, J., & Ding, S. (2005). Preparation of silver nanoparticles by chemical reduction method. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 256(2–3), 111–115. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.12.058>
- Zhan, G., Huang, J., Lin, L., Lin, W., Emmanuel, K., & Li, Q. (2011). Synthesis of gold nanoparticles by Cacumen Platycladi leaf extract and its simulated solution: Toward the plant-mediated biosynthetic mechanism. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(10), 4957–4968. <https://doi.org/10.1007/s11051-011-0476-y>
- Zhao, P., Li, N., & Astruc, D. (2013). State of the art in gold nanoparticle synthesis. *Coordination Chemistry Reviews*, 257(July 2012), 638–665. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.09.002>

