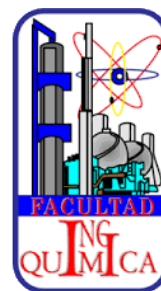




**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**



***“Biosíntesis de nanopartículas de oro utilizando un
extracto acuoso de la planta Justicia Spicigera Schltdl y
su evaluación catalítica en la degradación del 4-NP”***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

PRESENTA

JUAN ALBERTO ROSAS GUTIÉRREZ

DIRECTORA DE TESIS

DRA. NANCY TEPALE OCHOA

CO-DIRECTORA DE TESIS

DRA. ANABEL ROMERO LÓPEZ

PUEBLA, PUE.

DICIEMBRE DE 2025



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

CTC03

Autorización de Impresión de Tesis

Ingeniería Química (X)

Ingeniería Ambiental ()

Ingeniería en Alimentos ()

Ingeniería en Materiales ()

Matrícula: 201910900

Al C. Sustentante Juan Alberto Rosas Gutiérrez

De acuerdo a la **presentación y revisión** de la tesis:

Biosíntesis de nanopartículas de oro utilizando un extracto acuoso de la planta *Justicia Spicigera*
Schldl y su evaluación catalítica en la degradación del 4-NP.

se aprueba la impresión y empastado de la misma.

Jurado de examen profesional:

		Firma
Presidente:	<u>Dr. José Antonio Rivera Márquez</u>	<u></u>
Secretario:	<u>Dr. Adán Luna Flores</u>	<u></u>
Vocal:	<u>Dra. Nancy Tepale Ochoa</u>	<u></u>

Fecha de examen: 9 de enero de 2026

H. Puebla de Zaragoza a 27 de noviembre de 2025.

DECICATORIA

A Dios, a mis padres y hermanos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a Dios por darme la oportunidad de poder concluir mi formación universitaria, por la bendición, acompañamiento y ayuda en cada noche de estudio para el cumplimiento de uno de los más grandes sueños en mi vida, así como por la fortaleza brindada para persistir y aprender de cada prueba durante este maravilloso trayecto.

A mis padres, por su amor incondicional, dedicación, esfuerzo y perseverancia para brindarme todas las herramientas necesarias para poder continuar con mis estudios, por ser mi más grande motivación y cuyo ejemplo de superación me permitió levantarme día a día para formar mi mejor versión.

A mis hermanos, por el cariño tan grande que siempre nos ha unido y porque este trabajo unifica todo lo que cada uno de ustedes me ha brindado para alcanzar este importante logro, anhelo profundamente poder contribuir en el alcance de sus sueños y objetivos a partir del valioso conocimiento adquirido durante este camino.

A la BUAP, por darme la oportunidad de ser parte de esta gran comunidad universitaria, por instruirme con educación de calidad recibida a través de mis maestros, asimismo, por otorgarme un conocimiento integral que como egresado me permitirá enfrentar los retos y desafíos que el mundo laboral exige desde una perspectiva humana, social, crítica y constructiva.

A la Dra. Nancy Tepale Ochoa, por permitirme explorar y aprender del maravilloso e interesante mundo de la nanociencia, porque desde el proyecto de investigación “Haciendo Ciencia en la BUAP” y durante el desarrollo de esta investigación tuvo la mejor disposición, paciencia y compromiso para orientarme hacia el cumplimiento de esta meta y forjar mis primeros pasos en el ámbito de la investigación científica.

A la Dra. Anabel Romero López, por la enseñanza en las técnicas de caracterización avanzadas, por su disponibilidad y amabilidad para resolver las dudas durante el desarrollo experimental en el laboratorio para lograr un aprendizaje óptimo.

De igual manera, agradezco a la Dra. María Eunice de Anda Reyes por la facilidad en el uso de los equipos de caracterización del IFUAP y al Dr. Ismael Santos Ramos por la explicación y evaluación de resultados durante la aplicación de catálisis.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	9
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	12
JUSTIFICACIÓN	15
HIPÓTESIS	15
OBJETIVOS	15
Objetivo General.....	15
Objetivos Específicos	15
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	17
1.1. Nanotecnología.....	18
1.2. Nanopartículas	18
1.3. Síntesis de nanopartículas metálicas	19
1.4. Síntesis verde de nanopartículas metálicas.....	20
1.5. Biosíntesis de nanopartículas de oro	21
1.5.1. Influencia del tamaño de partícula en la coloración de las nanopartículas sintetizadas	23
1.5.2. Resonancia de Plasmón Superficial (SPR).....	24
1.5.3. Propiedades de las nanopartículas de oro	25
1.6. Muicle (<i>Justicia Spicigera Schltdl</i>)	28
1.7. Catálisis	30
1.8. 4-Nitrofenol	31
1.9. Técnicas de caracterización	35
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA	37
2.1. Preparación del extracto acuoso	38
2.2. Preparación de solución precursora de $H[AuCl_4] \cdot 3H_2O$	39
2.3. Biosíntesis de AuNPs	39
2.4. Lavado de AuNPs	40
2.5. Técnicas de Caracterización	42
2.5.1. Caracterización de grupos cromóforos del extracto acuoso de <i>Justicia Spicigera Schltdl</i> a través de Espectroscopia UV-Visible.....	42
2.5.2. Resonancia de Plasmón Superficial de AuNPs mediante Espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV-Vis).....	42
2.5.3. Dispersión de Luz Dinámica (DLS)	43

2.5.4.	Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	44
2.5.5.	Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	44
2.6.	Curvas de calibración	45
2.7.	Reducción catalítica del 4-NP empleando NaBH ₄ en ausencia de catalizador	46
2.8.	Reducción catalítica del 4-NP con NaBH ₄ y AuNPs como catalizador	48
CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		49
3.1.	Caracterización de grupos cromóforos del extracto acuoso de <i>Justicia Spicigera Schltdl</i> a través de Espectroscopia UV-Visible	50
3.2.	Análisis de Resonancia de Plasmón Superficial (SPR) mediante la técnica de Espectroscopia Ultravioleta-Visible	51
3.3.	Análisis de la concentración y tamaño de partícula a partir del espectro UV-Vis54	
3.4.	Distribución y tamaño de partícula por medio de la técnica de Dispersión de Luz Dinámica (DLS)	55
3.4.1.	Distribución de tamaño por Intensidad.....	57
3.4.2.	Distribución de tamaño por Volumen	58
3.4.3.	Distribución de tamaño por Número	59
3.4.4.	Potencial Z (PZ)	60
3.5.	Micrografías SEM para la determinación de morfología en AuNPs sintetizadas	62
3.6.	Identificación de grupos funcionales en espectro FTIR del extracto acuoso de muicle y AuNPs.....	63
3.7.	Catálisis	68
3.7.1.	Curvas de calibración	68
3.7.1.1.	4-NP	68
3.7.1.2.	4-NPO	70
3.7.1.3.	4-AP	71
3.8.	Reducción catalítica del 4-NP empleando NaBH ₄ en ausencia de catalizador	73
3.9.	Reducción catalítica del 4-NP con NaBH ₄ y AuNPs como catalizador	77
3.9.1.	Catálisis con 0.125 ml de AuNPs	77
3.9.2.	Catálisis con 0.25 ml de AuNPs	81
3.9.3.	Catálisis con 0.5 ml de AuNPs	84
3.9.4.	Catálisis con 1 ml de AuNPs	88
CONCLUSIONES.....		91
BIBLIOGRAFÍA		92
APÉNDICE		100
APÉNDICE A. Estabilidad de NaBH ₄ mediante Espectroscopia UV-Visible.....		101

APÉNDICE B. Curvas de calibración UV-Vis para determinar la concentración de reducción del 4-NPO y producción del 4-AP.....	104
APÉNDICE C. Cinética de reducción del 4-NPO.....	106

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Comparación en la escala nanométrica de diferentes nanomateriales y microorganismos	18
Figura 1.2 Principales propiedades químicas del Au.....	21
Figura 1.3 Esquema de biosíntesis y efecto de grupos funcionales en la formación de AuNPs.....	22
Figura 1.4 Variación de la coloración de nanopartículas de oro en soluciones coloidales por diferente tamaño de partícula.....	23
Figura 1.5 Fenómeno de Resonancia de Plasmón Superficial como respuesta a la oscilación electrónica del oro	24
Figura 1.6 Estructura química de la <i>kaempferitrina</i>	29
Figura 1.7 Estructura química del 4-nitrofenol.....	32
Figura 1.8 Espectros de absorción UV-Vis de los compuestos <i>a)</i> 4-NP, <i>b)</i> ion 4-NPO y <i>c)</i> 4-AP.....	32
Figura 1.9 Mecanismo de reacción en la reducción de 4-NP a 4-AP utilizando NaBH ₄ como fuente de H ₂	33
Figura 1.10 Principales técnicas instrumentales en la caracterización de AuNPs.....	36
Figura 2.1 Proceso experimental para la obtención del extracto acuoso de <i>Justicia Spicigera Schltdl.</i>	38
Figura 2.2 Ruta de síntesis verde de AuNPs utilizando extracto acuoso de muicle.....	40
Figura 2.3 Proceso de lavado de muestras de nanopartículas de oro.....	41
Figura 2.4 Variación en los sobrenadantes de AuNPs tras <i>a)</i> primer lavado, <i>b)</i> segundo lavado y <i>c)</i> centrifuga universal para tratamiento de muestras.....	41
Figura 2.5 Diseño experimental en el análisis SPR mediante espectroscopia UV-Vis.....	42
Figura 2.6 Equipo DLS para <i>a)</i> distribución y tamaño de partícula, <i>b)</i> medición del PZ.....	43
Figura 2.7 Espectrómetro Cary 630 FTIR para identificación de grupos funcionales.....	44
Figura 2.8 Preparación de obleas de Si para caracterización morfológica (<i>a</i> y <i>b</i>), <i>c)</i> Microscopio SEM.....	45
Figura 2.9 Soluciones preparadas de <i>a)</i> 4-NP/4-AP (1 mM) y <i>b)</i> para puntos de curva de calibración.....	46

Figura 2.10 <i>a)</i> compuesto intermediario ion 4-NPO y <i>b)</i> determinación de pH de la solución.....	46
Figura 2.11 ion 4-NPO <i>a)</i> al inicio ($t=0$ min) y <i>b)</i> al término ($t=1200$ min) de la reacción de reducción con NaBH_4 (200 mM).	47
Figura 2.12 ion 4-NPO <i>a)</i> al inicio ($t=0$ min) y <i>b)</i> al término ($t=1200$ min) de la reacción de hidrogenación con NaBH_4 (100 mM).....	48
Figura 3.1 Espectro UV-Vis del extracto acuoso de <i>Justicia Spicigera Schltdl</i> para identificación de grupos cromóforos.....	50
Figura 3.2 Evolución cromática durante la biosíntesis de AuNPs utilizando extracto acuoso de <i>Justicia Spicigera Schltdl</i>	51
Figura 3.3 Esquema de reacción propuesto sobre la síntesis de AuNPs utilizando el extracto acuoso de <i>Justicia Spicigera Schltdl</i>	52
Figura 3.4 Espectros de absorción para <i>a)</i> Muestra 1, <i>b)</i> Muestra 2 y <i>c)</i> Muestra 3 de AuNPs aplicando la relación 1:10.....	53
Figura 3.5 Evolución de la reacción durante la síntesis de AuNPs para absorbancia.....	55
Figura 3.6 Distribución de tamaño de partícula por <i>a)</i> intensidad, <i>b)</i> volumen y <i>c)</i> número.....	56
Figura 3.7 Potencial Z y representación de repulsión electrostática de cargas de <i>a)</i> AuNPs sin lavar y <i>b)</i> AuNPs lavadas sonicadas.....	61
Figura 3.8 Micrografías SEM de AuNPs con acercamiento de <i>a)</i> 2000X y <i>b)</i> 20000X.....	62
Figura 3.9 Espectros FTIR del extracto de muicle y AuNPs <i>a)</i> sin lavar y <i>b)</i> lavadas sonicadas para identificación de grupos funcionales.....	63
Figura 3.10 Comportamiento del 4-NP a distintas concentraciones para <i>a)</i> curva de calibración y <i>b)</i> ajuste lineal.....	69
Figura 3.11 Comportamiento del ion 4-NPO a distintas concentraciones para <i>a)</i> curva de calibración y <i>b)</i> ajuste lineal.....	70
Figura 3.12 Comportamiento del 4-AP a distintas concentraciones para <i>a)</i> curva de calibración y <i>b)</i> ajuste lineal.....	72
Figura 3.13 Reducción catalítica de 4-NP y NaBH_4 como agente reductor <i>a)</i> 100 mM y <i>b)</i> 200 mM.....	74
Figura 3.14 C/C_0 vs tiempo a distintas concentraciones de NaBH_4 en <i>a)</i> reducción del 4-NPO a 401 nm y producción del 4-AP a <i>b)</i> 231 nm y <i>c)</i> 297 nm.....	75
Figura 3.15 Respuesta espectral de la catálisis del 4-NP con 0.125 ml de AuNPs para diferentes concentraciones de NaBH_4 <i>a)</i> 100 mM y <i>b)</i> 200 mM.....	78
Figura 3.16 C/C_0 vs tiempo para <i>a)</i> reducción del 4-NPO a 401 nm y formación de 4-AP a <i>b)</i> 231 nm y <i>c)</i> 297 nm con 0.125 ml de AuNPs como catalizador a distintas concentraciones de NaBH_4	80
Figura 3.17 Respuesta espectral de la catálisis del 4-NP con 0.25 ml de AuNPs para diferentes concentraciones de NaBH_4 <i>a)</i> 100 mM y <i>b)</i> 200 mM.....	81

Figura 3.18 C/C_0 vs tiempo para <i>a)</i> reducción del 4-NPO a 401 nm y formación de 4-AP a <i>b)</i> 231 nm y <i>c)</i> 297 nm con 0.25 ml de AuNPs como catalizador a distintas concentraciones de NaBH_4	83
Figura 3.19 Respuesta espectral de la catálisis del 4-NP con 0.5 ml de AuNPs para diferentes concentraciones de NaBH_4 <i>a)</i> 100 mM y <i>b)</i> 200 mM.....	85
Figura 3.20 C/C_0 vs tiempo para <i>a)</i> reducción del 4-NPO a 401 nm y formación de 4-AP a <i>b)</i> 231 nm y <i>c)</i> 297 nm con 0.5 ml de AuNPs como catalizador a distintas concentraciones de NaBH_4	86
Figura 3.21 Respuesta espectral de la catálisis del 4-NP con 1 ml de AuNPs para diferentes concentraciones de NaBH_4 <i>a)</i> 100 mM y <i>b)</i> 200 mM.....	88
Figura 3.22 C/C_0 vs tiempo para <i>a)</i> reducción del 4-NPO a 401 nm y formación de 4-AP a <i>b)</i> 231 nm y <i>c)</i> 297 nm con 1 ml de AuNPs como catalizador a distintas concentraciones de NaBH_4	89
Figura A1 <i>a)</i> solución de NaBH_4 (200 mM), medición de pH <i>b)</i> al inicio y <i>c)</i> al término del monitoreo	101
Figura A2 <i>a)</i> Estabilidad de NaBH_4 por espectroscopia UV-Visible y <i>b)</i> tiempo óptimo para usarlo como fuente de hidrógeno.....	102
Figura A3 Hidrólisis en solución de NaBH_4 en diferentes intervalos de tiempo.....	103
Figura C1 <i>a)</i> $\ln(C/C_0)$ vs tiempo para la determinación de k_{app} en la reducción del 4-NPO utilizando 0.125 ml de AuNPs como catalizador.....	106

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Grupos funcionales y tipo de vibración molecular para espectros FTIR del extracto acuoso de muicle y AuNPs (sin lavar y lavadas sonicadas).....	66
Tabla 2 Parámetros de la ecuación de la recta obtenidos por regresión lineal para compuestos químicos involucrados en la reacción de reducción del 4-NP	73
Tabla 3 Conversión catalítica a distintos volúmenes de AuNPs.....	91

RESUMEN

En este estudio se presenta un método sustentable, económico y eficiente para la biosíntesis de nanopartículas de oro (AuNPs) utilizando un extracto acuoso de la planta de muicle (*Justicia Spicigera Schltdl*). Las AuNPs obtenidas fueron caracterizadas mediante Espectroscopia UV-Visible, Dispersión de Luz Dinámica (DLS), Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), y Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR). La solución coloidal de tonalidad violeta evidenció la síntesis exitosa de las AuNPs, confirmadas por la banda de resonancia de plasmón superficial (SPR) a 535 nm. El análisis DLS determinó un tamaño de diámetro hidrodinámico promedio de 13.5 nm y un Potencial Z de -36.56 mV, indicando alta estabilidad coloidal. Por su parte, las micrografías SEM mostraron partículas con morfología cuasi esférica y tamaños entre 10 y 40 nm. Los espectros FTIR revelaron la presencia de grupos funcionales asociados a compuestos fenólicos y flavonoides, que actuaron como agentes reductores y estabilizantes. La actividad catalítica de las AuNPs se evaluó mediante la reducción del 4-nitrofenol (4-NP). En ausencia de AuNPs, la reducción del 4-NP con NaBH₄ redujo la concentración del 4-NP a 68% en 20 h. Sin embargo, al utilizar 0.125 ml de AuNPs se redujo 97% en 12 minutos. Estos resultados demuestran el potencial del extracto acuoso de *Justicia Spicigera Schltdl*. para la síntesis de AuNPs con alta estabilidad y propiedades fisicoquímicas adecuadas para futuras aplicaciones en biorremediación ambiental.

Palabras clave: AuNPs, grupos funcionales, reducción, catálisis, biorremediación ambiental.

ABSTRACT

This study reports a sustainable, cost-effective, and efficient approach for the green synthesis of gold nanoparticles (AuNPs) using an aqueous extract of the muicle plant (*Justicia Spicigera Schltdl*). The resulting AuNPs were characterized by UV–Visible Spectroscopy, Dynamic Light Scattering (DLS), Scanning Electron Microscopy (SEM), and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR).

The violet coloration of the colloidal suspension indicated successful nanoparticle formation, further confirmed by the appearance of a surface plasmon resonance (SPR) band centered at 535 nm. DLS measurements revealed an average hydrodynamic diameter of 13.5 nm and a zeta potential of –36.56 mV, indicating high colloidal stability. SEM images showed quasi-spherical particles with sizes ranging from 10 to 40 nm. FTIR analysis identified functional groups associated with phenolic compounds and flavonoids, suggesting their role as both reducing and stabilizing agents during nanoparticle formation.

The catalytic activity of the AuNPs was evaluated through the reduction of 4-nitrophenol (4-NP). In the absence of AuNPs, NaBH₄ alone resulted in only a 68% decrease in the 4-NP concentration after 20 h. In contrast, adding 0.125 mL of AuNPs resulted in a 97% reduction

within just 12 min. These results demonstrate the capability of the aqueous extract of *Justicia Spicigera Schltdl* to facilitate the controlled synthesis of highly stable AuNPs with promising physicochemical properties for future environmental bioremediation applications.

Keywords: *AuNPs, functional groups, reduction, catalysis, environmental bioremediation.*

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

En el sector industrial los compuestos orgánicos aromáticos y nitrofenoles desempeñan un papel importante debido a que son la materia prima para la producción de diversos productos químicos como insecticidas, fungicidas, cosméticos y en el sector farmacéutico para la fabricación de diversos medicamentos, por ejemplo, el 4-nitrofenol es un intermediario en la producción del paracetamol, es considerado un reactivo altamente tóxico y contaminante. Por lo tanto, es aconsejable reducir el 4-NP a 4-AP. El 4-AP es un material de partida en muchas síntesis comerciales, incluidos productos medicinales, fotográficos e inhibidores de la corrosión. Como resultado, la comunidad científica ha prestado recientemente mucha atención al desarrollo de nuevos catalizadores para la conversión de 4-NP en 4-AP [1] [2].

Se han utilizado diferentes métodos para eliminar compuestos aromáticos en medios acuosos como la filtración, coagulación y adsorción. El método de adsorción es ampliamente utilizado porque es menos costoso, es simple y eficiente, no obstante, cuando se modifica alguna variable como temperatura, pH o concentración inicial, la eficiencia de adsorción se afecta considerablemente [1] [3] [4]. Durante la adsorción solo se transfieren los contaminantes de un lugar a otro. Sin embargo, es deseable que nuevos materiales, además de eficientes, puedan degradar los contaminantes. La propuesta de implementar nanopartículas metálicas para la reducción de contaminantes en medios acuosos ha cobrado relevancia en los últimos años. Tradicionalmente, la síntesis de nanopartículas implica el uso de productos químicos y disolventes peligrosos, que pueden tener efectos nocivos para el medio ambiente y para la salud humana. Una técnica comúnmente utilizada para producir nanopartículas de una manera ambientalmente sostenible es la denominada “*síntesis verde*” la cual involucra extractos de plantas [5] [6] [7] [8]. La síntesis verde que utiliza plantas se ve favorecida debido a sus abundantes fitoquímicos bioactivos, como fenoles, alcaloides, esteroides, curcuminas y flavonoides. Estos compuestos, químicamente complejos, son benignos para el medio ambiente y pueden actuar como agentes reductores, limitantes y estabilizadores en la síntesis de nanopartículas. En consecuencia, los métodos basados en plantas producen nanopartículas altamente estables, que agilizan el proceso de escalamiento y reducen significativamente el riesgo de contaminación [6] [8] [9].

Las nanopartículas de oro (AuNPs) son de gran interés debido a sus propiedades fisicoquímicas únicas y sus aplicaciones en distintos campos como la catálisis, la electrónica, la biomedicina, así como en la detección y tratamiento contra el cáncer [10] [11] [12]. Otras de las características distintivas de las AuNPs es la conductividad térmica y eléctrica, la estabilidad, así como la mejor actividad catalítica cuando son implementadas como catalizadores [1] [13].

La síntesis de AuNPs empleando extracto de semilla de cardamomo negro (*Amomum subulatum*) como agente reductor y estabilizante fue efectuado por Baghel *et al.* (2025) quienes evaluaron sus propiedades catalíticas en la reducción del 4-nitrofenol. Las AuNPs

sintetizadas fueron caracterizadas mediante Espectroscopia UV-Visible, Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM), Barrido de Luz dinámica (DLS), Espectroscopia Infrarroja Por Transformada de Fourier (FTIR) y Espectroscopia de Rayos X con Dispersión de Energía (EDX). Mediante espectroscopia UV-Visible se confirmó el hallazgo del plasmón SPR a 530.5 nm. Las micrografías TEM determinaron un tamaño de partícula menor a 100 nm con morfología esférica, en DLS el tamaño promedio observado fue de 113 nm, el índice de polidispersidad (PDI) fue de 0.301 indicando una distribución de tamaño de partículas estrecha y Potencial Z de -10.3 mV, cuya carga superficial negativa contribuyó a la estabilidad de la dispersión coloidal minimizando la agregación de partículas. El espectro FTIR detectó los principales grupos funcionales presentes en el extracto de semilla involucrados en la reducción de los iones de oro. El análisis EDX reveló señales fuertes características del oro, confirmando la presencia de AuNPs y presencia de elementos como Mg, Cl, K, Ca y señales débiles de Cu y C. Finalmente, el patrón de difracción de electrones de área seleccionada (SAED) confirmó la naturaleza cristalina de las nanopartículas a través de los planos cristalinos: (111), (200), (220) y (311), asimismo, los anillos de difracción determinaron que las AuNPs eran policristalinas.

Durante la reducción del 4-NP con 200 μ L de AuNPs como catalizador se observó una disminución rápida en la absorbancia del *p*-nitrofenolato de sodio a 400 nm y un concurrente aumento en la absorbancia del 4-AP a 300 nm. Se logró una eficiencia de reducción del 97.07% en 7 min y la reacción siguió un modelo de cinética de pseudo- primer orden de 0.45 min^{-1} [14].

De manera similar, Dang *et.al* (2024) obtuvieron AuNPs a partir del extracto de *Hopea odorata* como catalizador en la reducción del 4-NP. Mediante las técnicas de espectroscopia UV-Visible, FTIR, DLS, Potencial Z, TEM y XRD se determinaron las propiedades fisicoquímicas predominantes en las nanopartículas de oro resultantes. Espectrofotométricamente, se identificó la presencia del plasmón de oro a 545 nm, el tamaño medio de las nanopartículas fue de 13.5 nm y el compuesto 4-AP se detectó en $\lambda=300$ nm después de 24 minutos de reacción; este estudio enfatiza la importancia de incorporar AuNPs obtenidas por química verde en la degradación de compuestos orgánicos contaminantes [15].

Por último, Alizadeh *et.al* (2023) sintetizaron AuNPs utilizando el extracto de la planta *Crocus caspius* y analizaron su rendimiento catalítico en la reducción del 4-NP. Empleando las técnicas de caracterización tradicionales como Espectroscopia UV-Visible, TEM, SEM, EDX, XRD y FTIR, lograron identificar la banda plasmónica superficial (SPR) a 570 nm. La morfología de las nanopartículas fue en su mayoría irregular con un tamaño de partícula promedio de 22.6 nm. Aplicando 15 μ l de nanocatalizador se redujo el 99% de la concentración de este compuesto, por lo que, los autores concluyen que aplicar AuNPs como catalizador disminuye considerablemente el tiempo de reducción [16].

La planta de muicle posee múltiples compuestos orgánicos como lactonas, flavonoides, diterpenos, flavononas, antocianinas, terpenoides, polifenoles, alcaloides y lignanos los cuales poseen diversos grupos hidroxilo (-OH) [17] [18] [19] [20] [21]. Por lo tanto, esta planta podría actuar como un reductor y estabilizador durante la síntesis de AuNPs. A pesar de que en la literatura existen diversos estudios sobre la síntesis de nanopartículas de oro empleando diversas plantas, la información acerca del uso del muicle para sintetizar AuNPs es nula, en este sentido, solo se han reportado investigaciones para AgNPs y ZnO NPs utilizando el extracto de este recurso orgánico [22] [23]. Por tal motivo, este estudio permitirá indagar la formación y propiedades de las nanopartículas, así como su aplicación en catálisis en la degradación de compuestos tóxicos y contaminantes.

En la presente investigación se sintetizaron nanopartículas de oro a partir del extracto acuoso de la planta de muicle (*Justicia Spicigera Schltdl*) para evaluar la actividad catalítica en la degradación del 4-NP. Para profundizar en las propiedades fisicoquímicas, las nanopartículas obtenidas se caracterizaron mediante Espectroscopia UV-Visible, Dispersión de Luz Dinámica (DLS), Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).

JUSTIFICACIÓN

Las AuNPs sintetizadas por química verde han emergido como catalizadores eficientes para la reducción del 4-NP dado que, a diferencia de otros métodos de degradación, el uso de nanopartículas como catalizadores aceleran la velocidad de reacción, disminuyen el tiempo de reducción y evitan la formación de subproductos no deseados.

La planta de muicle (*Justicia Spicigera Schltdl*) tiene una diversidad de compuestos fitoquímicos, entre ellos: flavonoides, terpenoides, flavononas, flavonas y diterpenos, los cuales en conjunto realizan una sinergia para sintetizar de manera más eficiente nanopartículas de oro. En la literatura se encuentran diversos estudios sobre la composición fitoquímica, efecto hemolítico, propiedades hipoglucemiantes y actividad antioxidante de esta planta, sin embargo, aunque se han reportado investigaciones sobre la biosíntesis de nanopartículas de Ag y ZnO, actualmente no existe algún estudio reportado sobre la síntesis de AuNPs implementando este recurso orgánico. Por lo que este estudio brindará nuevo conocimiento sobre nanopartículas de oro y se contribuirá al enriquecimiento del uso de métodos de síntesis verde sustituyendo así los métodos químicos convencionales, reduciendo así la generación de reactivos residuales altamente nocivos y contaminantes.

HIPÓTESIS

Aplicar nanopartículas de oro con morfología esférica obtenidas por biosíntesis a partir del extracto acuoso de la planta de muicle (*Justicia Spicigera Schltdl*) como catalizador, degradará el reactivo 4-nitrofenol en un 90% disminuyendo así el tiempo de reducción.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evidenciar que las nanopartículas de oro obtenidas por biosíntesis a partir del extracto acuoso de la planta de muicle (*Justicia Spicigera Schltdl*) pueden aplicarse como catalizador en la degradación del 4-NP en un porcentaje superior al 80%.

Objetivos Específicos

- a) Sintetizar AuNPs menores a 100 nm empleando el extracto de *Justicia Spicigera Schltdl*.
- b) Identificar la formación de AuNPs a través de espectroscopia UV-Visible mediante la presencia de los plasmones SPR.

- c) Identificar los principales grupos funcionales reductores y estabilizadores presentes en las nanopartículas sintetizadas implementando la técnica de Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (por sus siglas en inglés, FTIR).
- d) Caracterizar las AuNPs obtenidas para establecer la morfología mediante Microscopía Electrónica de Barrido (por sus siglas en inglés, SEM).
- e) Establecer la distribución y tamaño de partícula promedio de las nanopartículas utilizando la técnica de Dispersión de Luz Dinámica (por sus siglas en inglés, DLS).
- f) Evaluar la reducción del reactivo 4-NP mediante espectroscopia UV-Visible identificando la longitud de onda de los compuestos característicos: 4-NP, ion 4-nitrofenolato y 4-AP para establecer el tiempo de degradación total.

CAPÍTULO I

ANTECEDENTES

1.1. Nanotecnología

Las referencias iniciales a la Nanotecnología fueron presentadas en 1959 por el físico Richard Feynmann en una conferencia titulada “There’s plenty of room at the bottom” mientras que el término “Nanotecnología” fue usado por primera vez en 1974 por Norio Taniguchi [24] [25]. La Nanociencia es el estudio de los fenómenos y el manejo de materiales a escala nanométrica, en tanto que el término *Nanotecnología* involucra el diseño, la caracterización y la aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas complejos mediante el control de la forma, el tamaño y las propiedades de la materia a escala nanométrica [24], aunque de manera similar la nanotecnología se entiende también como la investigación, desarrollo, fabricación y/o aplicación de materiales nanométricos con fines diversos [26] [27].

1.2. Nanopartículas

Las nanopartículas son partículas de tamaño comprendido entre 1 y 100 nm [28] [29]. El prefijo “nano” significa enano, en el Sistema Internacional de Unidades (SIU), un nanómetro (nm) corresponde a la mil millonésima parte de un metro. Esto se puede expresar como 10^{-9} metros; o bien 0.000,000,001 m, que es lo mismo [25] [26].

La Figura 1.1 muestra una comparación en relación con el tamaño de diferentes nanomateriales y microorganismos, los cuales permiten comprender más a detalle el término de tamaño nanométrico:

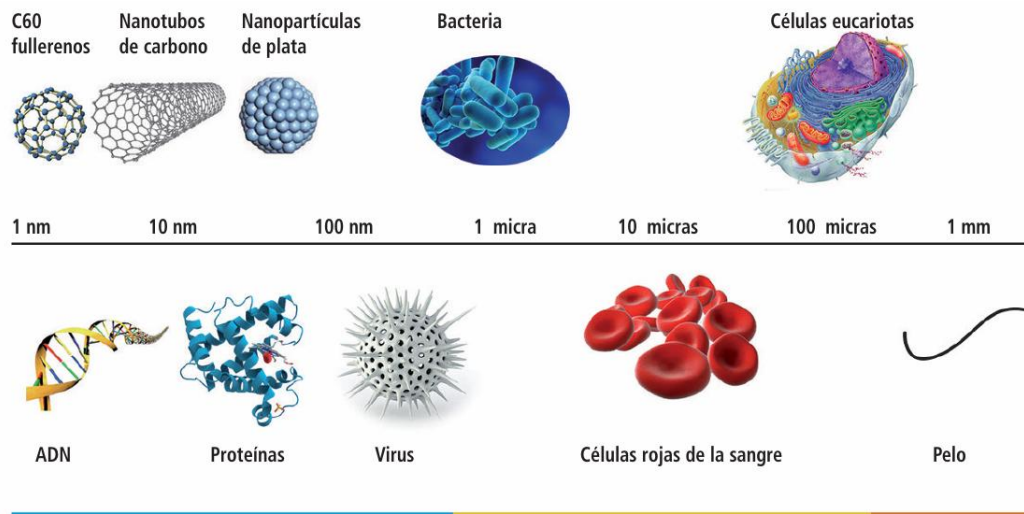


Figura 1.1 Comparación en la escala nanométrica de diferentes nanomateriales y microorganismos [26].

Las nanopartículas pueden clasificarse en función de su composición, forma y tamaño. Los tipos más comunes de nanopartículas son las metálicas, las de óxidos metálicos, las basadas en carbono, las poliméricas y los puntos cuánticos [28] [24]. Existen tres tipos de

nanopartículas: las naturales, como las que se producen en erupciones volcánicas; las incidentales, como las emisiones de la combustión en motores; y las fabricadas, generadas a propósito con una finalidad [24].

La generación de nanopartículas es de relevancia básicamente por tres razones: Por los beneficios que aportan en distintas áreas, por ser una tecnología emergente en pleno desarrollo y por los riesgos asociados a ellas [24] [30]. Hay propiedades intrínsecas de las nanopartículas que deben ser consideradas en cuanto a su toxicidad [24] [30], [31], entre las que destacan:

1. La forma que puede afectar cómo la nanopartícula interactúa con las membranas biológicas.
2. El conjunto de propiedades superficiales, alguna reacción o si tienen añadido algún compuesto tóxico que pueda ser liberado al ambiente.
3. La composición química.

1.3.Síntesis de nanopartículas metálicas

Para generar nanopartículas se distinguen dos enfoques, el de “arriba-abajo”, en el cual se producen las nanopartículas mediante técnicas físicas como la molienda o la abrasión de un material y el enfoque de “abajo-arriba” donde las nanopartículas se generan a partir de “nanobloques” de átomos o moléculas, dando lugar a agrupaciones más complejas [28] [32]. La síntesis de nanopartículas metálicas puede llevarse a cabo mediante métodos químicos y métodos verdes o también denominados “biosíntesis”; el uso de métodos químicos involucra el uso de condiciones elevadas, equipos sofisticados para efectuar las reacciones y el uso de reactivos altamente costosos, por su parte, la síntesis verde hace uso de organismos vegetales o microorganismos tales como hongos, levaduras, bacterias o extractos acuosos de plantas para suplir la función reductora de muchos agentes químicos [6] [7] [8].

Como en todo proceso de síntesis, las condiciones de reacción, como la concentración del ion metálico, la temperatura, el pH, el tiempo de reacción, entre otras, juegan un papel importante en la forma, tamaño y cantidad de las nanopartículas sintetizadas. Concentraciones altas pueden acelerar la formación de nanopartículas, aunque esto también puede llevar a una mayor tendencia a la aglomeración y sedimentación, una concentración muy baja puede no ser suficiente para mantener la estabilidad de las nanopartículas a lo largo del tiempo [28] [7].

La temperatura es uno de los factores más influyentes, porque las distintas morfologías (esféricas, prismáticas, hojuelas, triangulares, octaédricas, entre otras), el tamaño y la síntesis dependen de este parámetro [28] [33]. El pH del medio de reacción influye directamente en la formación de centros de nucleación, los cuales están relacionados con valores de pH elevados. Algunas nanopartículas se sintetizan en condiciones específicas de acidez o basicidad, lo que implica tiempos de reacción más prolongados. Por lo tanto, estas

condiciones favorecen el aumento en el tamaño de partículas, así mismo, conducen a un mayor rendimiento como resultado de la interacción más duradera con los reactivos involucrados [28] [33].

1.4. Síntesis verde de nanopartículas metálicas

La síntesis por química verde se engloba dentro del enfoque “abajo-arriba” [28] [32]. En general, el mecanismo de síntesis por química verde incluye cuatro fases: inicial, activación, crecimiento y terminación [28].

La fase inicial consiste en la obtención del medio de reacción, que es el extracto, generalmente acuoso, de una o varias partes de la especie vegetal, o el medio de cultivo de los microorganismos y su crecimiento, además de la adición de la sal precursora que será la fuente de los iones metálicos. La segunda fase es la de activación en donde ocurren la reducción química de iones metálicos y la generación de los centros de nucleación donde surgen y crecen las nanopartículas. La tercera fase es la de crecimiento donde las pequeñas nanopartículas adyacentes se fusionan espontáneamente en partículas de mayor tamaño formando agregados, finalmente, la fase de terminación donde se determina la forma final de las nanopartículas y los compuestos que participaron en la reacción ayudan a estabilizarlas y a potenciar sus propiedades [28].

La síntesis verde utiliza diferentes organismos que sustituyen a los agentes químicos reductores, en este caso el uso de compuestos orgánicos constituye una fuente de agentes de reducción fuertes por el contenido de grupos hidroxilo (-OH) o bien, reacciones intra y extracelulares que sintetizan adecuadamente las nanopartículas metálicas [28]. Las plantas contienen varios compuestos (terpenos, flavonoides, polifenoles, alcaloides, proteínas, etc.) los cuales participan en la reducción de las sales metálicas y en la estabilización de las nanopartículas resultantes [28] [33].

Los flavonoides, aminoácidos, proteínas, terpenoides, taninos, azúcares reductores, etc. tienen la característica de poseer grupos hidroxilo, los cuales, al perder electrones, rodean al ion metálico, formando el complejo. Tras este proceso, los grupos hidroxilo se oxidan a grupos carbonilo, interviniendo en la estabilización de las nanopartículas; las transformaciones estructurales de los flavonoides también generan protones que reducen los iones metálicos para formar nanopartículas, por lo cual están implicados en la nucleación, la etapa inicial de su formación y la posterior agregación [28] [34].

1.5. Biosíntesis de nanopartículas de oro

El oro es un elemento químico que pertenece a los metales de transición, se encuentra en el grupo 11 y el periodo 6 de la tabla periódica. Es considerado como un metal pesado y noble ya que es inerte a la mayoría de corrosivos y suele reaccionar con muy pocos elementos [35]. Las propiedades del oro a granel como alta densidad electrónica y carácter químico inerte condicionan el comportamiento atómico durante la reducción de los iones metálicos y formación de núcleos metálicos. Estas propiedades en la escala nanométrica permiten una mejor distribución de electrones generando propiedades emergentes como la resonancia plasmónica superficial y mayor relación superficie-volumen, por esta razón, el comportamiento del metal en bulto bajo las condiciones controladas en la nanosíntesis permite formar nanoestructuras con diferente morfología [36], [37] [38].

La Figura 1.2 destaca las principales propiedades químicas del oro, mostrando una perspectiva más amplia sobre su potencialidad para sintetizar nanopartículas metálicas.



Figura 1.2 Principales propiedades químicas del Au [38].

Las nanopartículas tienen una forma de suspensión coloidal en el agua llamada nanopartículas de oro coloidal, se pueden producir en diferentes formas y tamaños, como nanoesferas, nanocubos, nanovarillas, nanoestrellas, (diferentes relaciones de aspecto) y nanopirámides [38] [39]. Las nanopartículas de oro pueden formar complejos incidentalmente con los componentes del medio, la formación de estos complejos puede modificar propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas de oro, como carga, química superficial y estado de agregación [28], [39].

La Figura 1.3 describe el esquema de reacción durante la síntesis de AuNPs utilizando extracto acuoso de plantas como agente reductor. El proceso de biosíntesis de nanopartículas de oro inicia en la fase de activación, con la reducción de los iones de oro que dependen del potencial reductor del extracto. La siguiente etapa corresponde al crecimiento de las nanopartículas donde surge el aumento y agrupación de los centros de nucleación, finalmente, en la etapa de terminación se alcanza el equilibrio termodinámico, dando como resultado la forma y tamaño final de las AuNPs.

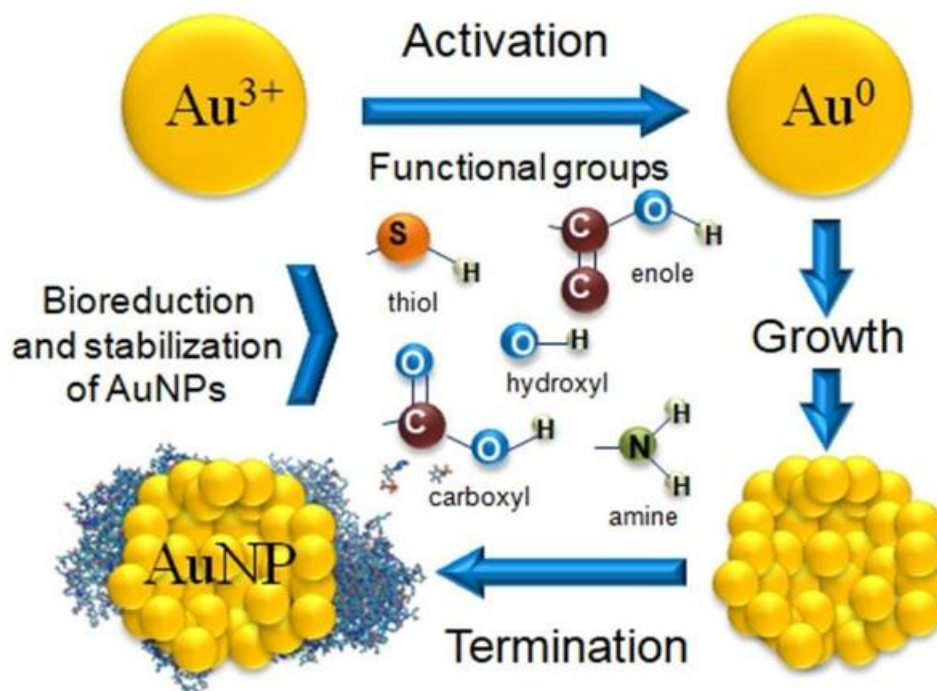


Figura 1.3 Esquema de biosíntesis y efecto de grupos funcionales en la formación de AuNPs [40].

Otra de las propiedades importantes que presentan estas nanopartículas es el efecto llamado “*resonancia localizada del plasmón de superficie*” (por sus siglas en inglés, LSPR), el cual incrementa la señal en la detección de algunas moléculas de interés, la cual puede ser modificada para los fines deseados, al alterar la forma y tamaño de las AuNPs [39] [41]. La morfología de las AuNPs es una característica relevante que ayuda a controlar las propiedades ópticas aprovechando el factor de anisotropía [39].

Uno de los métodos más importantes y utilizados es el método de química humedad, también conocido como método coloidal, el cual permite controlar la morfología de las AuNPs sintetizadas y el tamaño de la nanopartícula anisotrópica deseada. La síntesis consta de tres pasos básicos y generales, siendo el primero la creación de AuNPs en forma esférica y con un tamaño muy pequeño, las cuales servirán como semillas en su posterior crecimiento; el siguiente paso es la dilución de estas para controlar el tamaño de la nanopartícula deseada, teniendo en cuenta que entre mayor dilución se realice, se obtendrá un mayor tamaño; por

último y más crucial es el crecimiento, pues dependiendo de la forma a obtener, son los reactivos a ocupar, dando mayor importancia a los agentes reductores ocupados [39].

1.5.1. Influencia del tamaño de partícula en la coloración de las nanopartículas sintetizadas

Durante la síntesis de nanopartículas de oro es posible identificar el cambio de coloración de las muestras en soluciones coloidales a medida que se efectúa la reducción de los iones de oro correspondientes. El oro a granel tiene un color amarillo característico, pero curiosamente cuando se dividen finamente, las soluciones coloidales de nanopartículas de oro pueden variar de rojo rubí (partículas más pequeñas) a azul (partículas más grandes), las partículas con un diámetro de alrededor de 10 nm son de color rojo rubí debido a una banda de absorción estrecha a 520 nm [38] [42].

La Figura 1.4 presenta diversas muestras de nanopartículas de oro en soluciones coloidales, se puede observar que dependiendo del tamaño de partícula la coloración puede variar considerablemente.



Figura 1.4 Variación de la coloración de nanopartículas de oro en soluciones coloidales por diferente tamaño de partícula [38].

Cuando el tamaño de partícula aumenta, es posible observar la dispersión de la luz y como resultado se aprecia el desplazamiento de la banda de absorción a longitudes de onda más grandes, las nanopartículas con un tamaño aproximado de 100 nm suelen tener una morfología en forma de bastón que da como resultado una diversidad en la tonalidad de las nanopartículas ya sea púrpura, violeta o azul pálido en donde la dispersión de luz va acompañada de la absorción. Cuando las nanopartículas se aglomeran la solución presenta una coloración dorada, un efecto resultante de la reducción de la reflectividad de la luz azul en condiciones de luz reflejada; una desventaja de las nanopartículas de oro es que tienden a aglomerarse con el paso del tiempo, una manera de evitar el crecimiento de partícula es la integración de agentes estabilizantes los cuales evitan el acercamiento entre estas partículas [38] [41].

1.5.2. Resonancia de Plasmón Superficial (SPR)

El fenómeno de resonancia de plasmón superficial (SPR) es una propiedad óptica que se produce por la oscilación colectiva de los electrones de la superficie de una nanopartícula metálica o un material dieléctrico inducida por un campo electromagnético incidente. A partir de la interacción electrostática entre los electrones y el núcleo, surge una fuerza restauradora que hace que la oscilación de la nube electrónica sea relativa al núcleo. En el caso de las AuNPs, al incidir luz visible, una longitud de onda resonante específica es absorbida por estas para inducir oscilaciones de los electrones superficiales. La oscilación resultante genera radiación electromagnética a la misma frecuencia que los electrones oscilantes [41] [43] [44].

La Figura 1.5 describe el fenómeno de Resonancia de Plasmón Superficial (SPR) que produce oscilaciones como respuesta a la interacción de la luz con los electrones de las nanopartículas de oro.

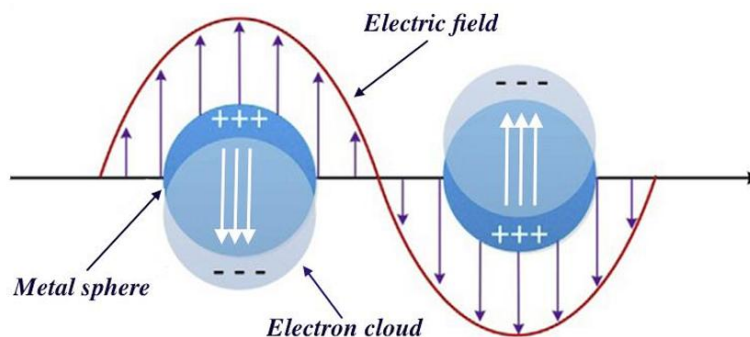


Figura 1.5 Fenómeno de Resonancia de Plasmón Superficial como respuesta a la oscilación electrónica del oro [38].

El plasmón de resonancia superficial es característico para cada nanopartícula metálica, en el caso del Au suele formarse aproximadamente a 520 nm, aunque esta longitud de onda puede desplazarse por la forma, tamaño y medio dispersor. Cuando el tamaño de partícula es menor que el camino medio de los electrones en la banda de conducción, las colisiones disminuyen respecto a las observadas en el material a granel, esto ocasiona un desplazamiento de la banda SPR a longitudes de onda menores, dicho desplazamiento se conoce como *blue-shifted* [38] [41].

Por el contrario, cuando la banda del plasmón superficial se ensancha sufre un desplazamiento hacia el infrarrojo (corrimiento al rojo o *red-shift*) por el aumento de la longitud de la nanopartícula debido a los efectos de dispersión [41] [44].

La altura del pico del plasmón indica el aumento de la concentración de nanopartículas, hasta que las nanopartículas alcanzan su tamaño crítico y el coeficiente de absorción de las nanopartículas de oro disminuye, por lo tanto, no pueden absorber más ya que no es posible volver a fragmentarse [38] [44]; la baja definición del plasmón se debe a la relación que

existe entre la baja concentración de nanopartículas obtenidas y la elevada polidispersidad morfológica, así como la interacción con el medio o con el agente estabilizante, dichos fenómenos también pueden generar corrimientos a longitudes de onda más cortas o bien, a longitudes de onda más largas [44].

1.5.3. Propiedades de las nanopartículas de oro

Las AuNPs poseen propiedades fisicoquímicas notables, por ejemplo, las propiedades ópticas y catalíticas dependen fuertemente del tamaño, morfología y el entorno superficial del material, estas características surgen debido a la alta relación superficie/volumen que modifican el comportamiento electrónico y energético de los átomos superficiales [45] [46] [47]. En el ámbito catalítico, la eficacia de las nanopartículas depende directamente de la estructura y composición química, así como de su interacción con el medio de reacción [45], [47]. A continuación, se describen las principales propiedades catalíticas que determinan el desempeño de las nanopartículas de oro, incluyendo: actividad, selectividad, durabilidad y resistencia al envenenamiento; estos factores son fundamentales en la compresión de procesos de oxidación, hidrogenación, así como reacciones químicas industriales y ambientales.

Actividad catalítica

El uso del oro como catalizador activo requiere controlar el tamaño de partícula durante su preparación ya que se necesita un tamaño muy pequeño, aproximadamente entre 2 y 10 nm. Es preciso identificar que no se sintericen ya sea por la presencia de cloruro o por altas temperaturas dado que a estas condiciones el oro se vuelve inactivo, por lo tanto, las partículas mayores a 10 nm son menos sensibles a la sinterización. Las diferentes estructuras de las nanopartículas de oro han demostrado ser catalizadores activos, por ejemplo: nanopartículas de oro más grandes, monocristales de oro, oro en polvo (a granel) sin soporte y nanotubos de oro [38] [47].

Selectividad

Las nanopartículas de oro muestran una selectividad extraordinaria en un gran número de reacciones, a saber, oxidaciones e hidrogenaciones selectivas en condiciones suaves [38] [47].

Durabilidad

Las nanopartículas pequeñas de Au podrían sinterizarse a temperaturas mucho más bajas, ya que se espera que su temperatura de fusión disminuya drásticamente con la disminución del tamaño de partícula (una temperatura significativamente más baja que el punto de fusión del oro a granel). Se sabe que el cloruro residual puede actuar como un veneno catalizador, especialmente a altas temperaturas y los precursores más utilizados (como HAuCl_4) lo

contienen; el cloruro facilita la aglomeración de partículas de Au durante un tratamiento térmico e inhibe la actividad catalítica envenenando el sitio activo [38] [47].

Resistencia al veneno

Otra de las propiedades catalíticas importantes es que los catalizadores de oro muestran una alta resistencia contra el envenenamiento por azufre [38] [47].

A continuación, se presentan las investigaciones más recientes acerca del uso de extractos de plantas para la biosíntesis de AuNPs destacando los principales hallazgos y tendencias en el uso de metabolitos vegetales como agentes reductores y estabilizantes.

Sett *et al.* (2016) a través de un método de química verde consiguieron AuNPs empleando extracto acuoso de fruta *Dillenia indica* para ensayos de cito-compatibilidad *in vitro*. Se evaluaron diferentes condiciones de reacción variando el % volumétrico de extracto acuoso a 5,10,15 y 20%, siendo la última concentración la que presento los mejores resultados, posteriormente, las nanopartículas resultantes fueron caracterizadas mediante las técnicas de espectroscopia UV-Visible, TEM, XRD, FTIR, SAED y UHRTEM. Las AuNPs se sintetizaron tras 15 minutos de reacción cuando se identificó una coloración rojo-rubí, el plasmón de oro se obtuvo en el intervalo de 530-535 nm, las imágenes SEM confirmaron la formación de nanopartículas con morfología diversa (esféricas, triangulares, tetragonales, pentagonales y algunas con contornos irregulares con tamaño de partícula entre 5-50 nm). El análisis UHRTEM mostró franjas de red claras en las superficies de las partículas, SAED una naturaleza monocristalina con la fase fcc, mientras que, con la técnica de XRD se identificaron picos a (111), (200) y (220) a 38.3°, 44.3° y 65.4°, respectivamente; por último, el espectro FTIR de las AuNPs sintetizadas identificó los siguientes grupos funcionales: alcano C-H a 2947 cm⁻¹, carbonilo C=O a 1739 cm⁻¹, amina primaria N-H a 1651 cm⁻¹, aromático C-C a 1456 cm⁻¹ y una presencia de alcohol, ácido carboxílico, ésteres y éteres a 1114 cm⁻¹.

El ensayo de colorante MTT realizado para evaluar la actividad de la hidrogenasa mitocondrial, tras 24 h de tratamiento con AuNPs mantuvo casi el 90% de viabilidad en las células, lo que indicó que estas nanopartículas no eran tóxicas y biocompatibles con la célula normal; este estudio representa una excelente plataforma para múltiples aplicaciones biomédicas [12].

Mofrad *et al.* (2017) realizaron una recopilación breve pero precisa de las investigaciones de las AuNPs sintetizadas a partir de métodos de química verde utilizando una diversidad de especies de plantas. En esta investigación los autores hacen hincapié en que los métodos verdes resultan ser más amigables con el ambiente, accesibles y viables para la obtención de nanopartículas de oro las cuales pueden tener una diversidad de aplicaciones, por ejemplo, en la óptica, física, actividad antibacteriana, actividad catalítica en la degradación de compuestos contaminantes, así como en el tratamiento contra el cáncer. En este trabajo

también se describe el uso de las técnicas de caracterización tradicionales como Espectroscopia UV-Visible, FTIR, TEM, XRD, DLS y SEM para el control del tamaño y forma de las nanopartículas para aplicaciones específicas; los autores finalizan la recopilación estableciendo que las propiedades de las AuNPs son compatibles con cualquier disciplina para su implementación, además de que los métodos verdes representan una alternativa más viable puesto que no generan contaminantes durante el proceso de síntesis, a diferencia de los métodos químicos convencionales [48].

Muniyappan *et al.* (2021) obtuvieron AuNPs a partir de la curcumina aislada de *Curcuma pseudomontana* (CUR-AuNPs) para su evaluación en la actividad antibacteriana, antioxidante y antiinflamatoria. Las AuNPs sintetizadas fueron caracterizadas mediante las técnicas de UV-Vis, SEM, HRTEM y FTIR. Se observó la formación del plasmón de oro con una $\lambda_{\max}$ de 542 nm cuando se logró la transición de una tonalidad dorada a rojo-rubí característica de las nanopartículas de oro. El espectro FTIR identificó vibraciones de flexión de olefina del grupo C-C unido al del anillo bencénico, así como la presencia de los grupos funcionales C=O, CO y OH, mientras que, en resultados TEM se evidenció la presencia de nanopartículas con morfología esférica con tamaño promedio de partícula de 39 nm, diámetro promedio de 20 nm y dentro del 10% de la distribución de tamaño.

El estudio de la actividad antibacteriana se realizó para bacterias gram positivas (*Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aerus*) y gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*) para concentraciones de 100, 200 y 300 $\mu\text{g/ml}$, de esta manera, las CUR-AuNPs con la concentración de 300 $\mu\text{g/ml}$ presentaron las siguientes mejores zonas de inhibición: *E.Coli* (28 mm), *B.subtilis* (26 mm), *S.aerus* (25 mm) y *P. aeruginosa* (23 mm). Con respecto a la actividad antiinflamatoria para concentraciones evaluadas de 5, 10, 15, 20 y 25 $\mu\text{g/ml}$ estas nanopartículas mostraron una máxima eficiencia de inhibición de 94% con 25 $\mu\text{g/ml}$. Finalmente, en la actividad antioxidante se utilizaron las mismas concentraciones de la actividad antiinflamatoria tomando como estándar de referencia al ácido ascórbico para diferentes métodos obteniendo así los siguientes porcentajes de inhibición: DPPH (85.2%), H_2O_2 (83.2%), RP (87.9%), NO (84.5%) y CUPRAC (85.6%); se concluye que esta investigación permitirá realizar una exploración más efectiva en diversas aplicaciones biomédicas [49].

Kumar *et.al* (2022) sintetizaron AuNPs utilizando extracto de la hoja *Sacha inchi* como agente reductor y estabilizante para evaluar la actividad catalítica en la degradación del colorante naranja de metilo (OM). Se emplearon las técnicas de Espectroscopía UV-visible, DLS, TEM con difracción de electrones de área seleccionada (SAED), FTIR y XRD. Se obtuvo el plasmón de oro a 545 nm con nanopartículas con tamaño entre 5-30 nm con morfología esférica, las AuNPs obtenidas se aplicaron como catalizadores degradando el 90% de la concentración del naranja de metilo; este estudio establece la pauta para futuras líneas de investigación en la degradación de colorantes orgánicos en aguas residuales [50].

Gami *et al* (2022) desarrollaron un método de síntesis verde de AuNPs y AgNPs aprovechando el extracto acuoso de hoja *Leucophyllum frutescens* como agente reductor y estabilizante para evaluar su actividad catalítica en la fotodegradación del colorante Rhodamina B (RhB). Las nanopartículas resultantes fueron caracterizadas mediante espectroscopia UV-Visible, HRTEM, DLS, EDS, XRD y FTIR. Se obtuvo el plasmón superficial de AgNPs a 460 nm y AuNPs a 540 nm, para las AgNPs los resultados para las técnicas de caracterización resultantes evidenciaron una morfología esférica e irregular con un tamaño de partícula ~50 nm (HRTEM), tamaño hidrodinámico de 38.4 nm (DLS), el estudio EDS confirmó la presencia elemental de Ag, el espectro de XRD reveló un gran número de picos en el valor de 2θ de 27.90°, 32.30°, 38.10°, 46.30°, 54.90° y 64.40° correspondientes a los planos (111), (102), (110), (220), (104) y (114) respectivamente. En el espectro FTIR se identificaron grupos funcionales N-H, C=O y C-O asociados a los agentes reductores provenientes del extracto. Con respecto a las AuNPs se observó mediante HRTEM anisotropía en la morfología, tamaño hidrodinámico de 104.8 nm, presencia elemental de Au mediante EDS, el espectro XRD mostró un gran número de picos en el valor de 2θ de 38.10°, 44.30°, 64.70° y 77.40° que corresponden a los planos (101), (200), (220) y (311) respectivamente; en cuanto al espectro FTIR se observó un estiramiento menor C-O y similitud en las vibraciones con las AgNPs.

En la aplicación catalítica, las AuNPs y AgNPs mostraron alta capacidad para degradar el colorante RhB con una eficiencia de degradación del 23.1% para AgNPs y del 31.7% para AuNPs, por lo que se concluye que el extracto acuoso de esta hoja es eficaz en la síntesis de nanopartículas metálicas de forma rápida, ecológica y económica [51].

Por último, Al Shayeb *et al.* (2023) sintetizaron AuNPs utilizando *Acacia catechu* para la evaluación de la actividad antimicrobiana frente a *S.mutans* y *E.coli* a partir de las siguientes concentraciones: 30, 60 y 100 μ l. Las nanopartículas de oro fueron caracterizadas mediante Espectroscopia UV-Visible y SEM, se obtuvo un pico máximo de absorción a 540 nm, mientras que el tamaño de partícula estimado fue entre 5-15 nm con morfología esférica; las AuNPs aplicadas a la par con ampicilina mostraron una efectiva actividad antimicrobiana demostrando así el potencial anticancerígeno para futuras aplicaciones en odontología [34].

1.6. Muicle (*Justicia Spicigera Schltdl*)

Es una planta endémica de Mesoamérica, que crece desde México hasta el sur de Colombia, reporta un promedio de 600 especies. En México, *J. Spicigera* se registra en los estados de Chiapas, Nayarit, San Luis Potosí, México, Puebla, Morelos, Tlaxcala, Yucatán e Hidalgo [20] [52].

Corresponde al Reino *Plantae*, Género *Justicia* y Especie *Justicia Spicigera Schlechtendal* [20]. Es conocida con diversos nombres comunes, por ejemplo: micle, muiltle, muicle, nicle, hierba tinta, añil de piedra, hierva púrpura, limain, mohuite, muele, muille, muite [20].

Se suele reconocer con facilidad a las especies de *Justicia* por su corola bilabial, con un labio posterior generalmente bilobulado, un labio anterior trilobulado, dos estambres, una cápsula con cuatro semillas y una porción basal estéril [19] [18]. Las principales partes de la planta utilizadas son raíz, tallo, hoja y fruto [19], [20]. Es utilizada de manera empírica por algunas etnias de México como tónico sanguíneo, estimulante, antidisentérico, antipirético, antiespasmódico, antiinflamatorio, para aliviar trastornos menstruales, nervios, insomnio, bronquitis, desordenes intestinales incluyendo náuseas, diarrea y vómito, para tratar el cáncer e infecciones renales para clarificar la sangre, la erisipela, sífilis, tumores o granos y contra la presión arterial se utiliza la infusión de la flor [20].

La planta contiene una variedad de propiedades antioxidantes debido al contenido de flavonoides, la diversidad de metabolitos secundarios incluye los alcaloides, lignanos, y terpenoides (iridoides, diterpenoides y triterpenoides), aunado a aceites esenciales, vitaminas, ácidos grasos (ácido docosanoico), y ácido salicílico. Se ha encontrado que el compuesto que potencialmente es el responsable de la actividad biológica como antiinflamatorio y antidiabético es el flavonoide glucosidado *kaempferitrina* [19] [20], por su variedad de enlaces -OH esta planta podría desempeñarse como importante reductor durante la síntesis de nanopartículas de Ag u otra sal metálica precursora.

La Figura 1.6 muestra la estructura química de la *Kaempferitrina*, en donde se aprecia la diversidad de enlaces -OH como posibles estabilizadores-reductores en la síntesis de AuNPs.

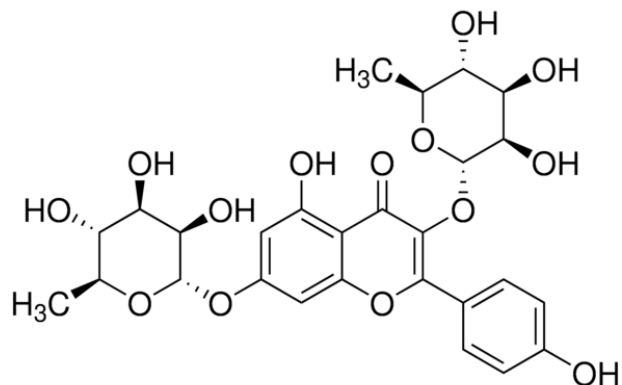


Figura 1.6 Estructura química de la Kaempferitrina [53].

Bernardo-Mazariegos *et al.* (2018) evaluaron la biosíntesis de AgNPs utilizando el extracto acuoso de la planta *Justicia Spicigera* contra diversas bacterias transmitidas por los alimentos (*Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter aerogenes*), así como de hongos fitopatógenos (*Colletotrichum sp.*, *Fusarium solani*, *Alternaria alternata* y *Macrophomina phaseolina*). Las AgNPs fueron caracterizadas mediante Espectroscopia UV-Visible, Espectrometría de Rayos X de Energía Dispersiva (EDS), Potencial Z y DLS. Se obtuvo un tamaño de partícula entre 86-100 nm con morfología esférica y el plasmón de Ag se formó a

487 nm, se comparó la actividad antimicrobiana en medios de cultivo para cada microorganismo: medio con AgNPs y únicamente con extracto acuoso; los autores identificaron que los cuadrantes con AgNPs presentaron una mayor zona y porcentaje de inhibición por lo que estas nanopartículas mostraron una efectiva actividad antibacteriana y antifúngica contra *B. cereus*, *K. pneumoniae*, *E. aerogenes*, *A. alternata* y *M. phaseolina* [23].

Otra investigación que emplea el extracto acuoso de la planta de muicle es el presentado por Soto-Robles *et.al* (2020) donde presentan la propuesta de un método fácil y simple de ruta verde para la reducción del azul de metileno (MB) a partir de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NPs). Las nanopartículas fueron caracterizadas mediante las técnicas de Espectroscopia UV-Visible, FTIR, XRD y SEM. La degradación fotocatalítica fue evaluada para 4 concentraciones (1, 2, 4 y 8% en peso volumen) denominadas M1-ZnO, M2-ZnO, M4-ZnO y M8-ZnO, respectivamente, durante 90 minutos; transcurrido el tiempo de reacción las muestras presentaron los siguientes porcentajes de degradación: M1-ZnO (73.44%), M2-ZnO (81.92%), M4-ZnO (83.05%) y M8-ZnO (92.78%), siendo la última muestra aquella que mostró mayor rendimiento debido a la gran cantidad de MB absorbida y distribución de tamaño de partículas [54].

1.7.Catálisis

Los catalizadores se definen como compuestos que reaccionan químicamente pero que no son consumidos en el transcurso de la reacción [2] [55]. La catálisis puede llevarse a cabo de múltiples formas, por ejemplo: a) la catálisis homogénea, es decir, cuando los reactivos y el catalizador se encuentran en la misma fase. En este tipo de catálisis generalmente los reactivos están en un medio acuoso y los catalizadores son frecuentemente pares ácidos/base; b) la catálisis heterogénea en la cual los catalizadores son sólidos usualmente porosos y los reactivos pueden estar en fase gaseosa o líquida, y, c) se encuentra la catálisis de tipo “bio” en la cual se necesita de una enzima y un sustrato afín [2] [56].

Los principios de la catálisis abarcan varios aspectos de este fenómeno químico esencial:

- a) **Funcionalidad del catalizador:** Los catalizadores proporcionan una vía de reacción alternativa con menor energía de activación [2] [55].
- b) **Medición de la actividad catalítica:** La actividad catalítica se cuantifica utilizando la frecuencia de rotación (TOF), que representa el número de reacciones que un catalizador puede facilitar por unidad de tiempo [2] [55].
- c) **Vías y mecanismos:** Dependiendo del catalizador y la reacción, la catálisis puede involucrar varios mecanismos, como la catálisis ácido-base, la catálisis enzimática y la catálisis heterogénea [2] [55].

La energía de activación de la reacción catalizada es menor que aquella que no incluye un catalizador y, por lo tanto, la reacción catalizada es más rápida que la no catalizada [57] [55], [57], por lo tanto, más colisiones moleculares tienen la energía necesaria para alcanzar el estado de transición [57]. Los catalizadores pueden promover la producción de uno u otro producto, esta característica de los catalizadores se conoce como *selectividad* [57] [55].

Uno de los actores involucrados en los catalizadores son los metales nobles, denominados así porque son metales que en estado natural y en condiciones ambientales no reaccionan con el oxígeno del medio ambiente [55]. Es aceptado que la actividad catalítica del oro aumenta cuando el tamaño de la partícula disminuye, también se ha propuesto que los nanocatalizadores de Au son altamente activos cuando forman arreglos tridimensionales del tipo racimos conformados por agrupaciones de ocho a veinticuatro átomos de Au [57] [47].

Los catalizadores heterogeneizados son las nanopartículas metálicas, que, presentan todas las propiedades que les confiere su tamaño, tal como la relación área superficial/volumen [55] [45] [46]. Los catalizadores heterogéneos se componen normalmente de una fase activa y un soporte que normalmente proporciona una alta superficie sobre la que se dispersa la fase activa, frecuentemente de tamaño nanométrico y, por lo tanto, la catálisis por definición es un fenómeno “nano” [2] [47].

1.8. 4-Nitrofenol

El 4-nitrofenol (4-NP) o *para*-nitrofenol es un compuesto fenólico y un material cristalino de color amarillo pálido. Se utiliza como indicador de pH incoloro a pH inferior a 5.4 y amarillo a pH superior a 7.5 debido a un estado desprotonado (ion 4-nitrofenolato) [58] [59]. También se utiliza para la síntesis de diferentes sustancias farmacéuticas de gran importancia para la salud, como el paracetamol (analgésico y antipirético), la fenetidina (anticonvulsivo) y la acetofenetidina (analgésico) [2] [60]; el 4-NP se obtiene a partir de la reducción de etoxilatos de nonilfenol [4] [60].

La Figura 1.7 presenta la estructura química del 4-nitrofenol, el cual es utilizado durante la síntesis química de diversas sustancias comerciales.

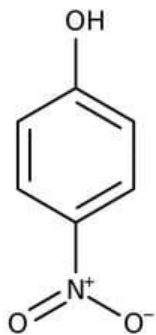


Figura 1.7 Estructura química del 4-nitrofenol.

El 4-NP presenta su banda de máxima absorción en 317 nm, al entrar en contacto con el agente reductor (NaBH_4) presenta un cambio en su banda máxima de 317 a 400 nm, este nuevo pico representa un compuesto intermedio llamado *ion 4-nitrofenolato* (ion 4-NPO) [58] [59] [61]. Finalmente, al obtenerse el compuesto 4-AP se presenta una banda a 300 nm dentro del espectro de absorbancia UV-Vis [60] [59] [58]. La Figura 1.8 ilustra los compuestos presentes durante la reducción del 4-NP a diferente longitud de onda:

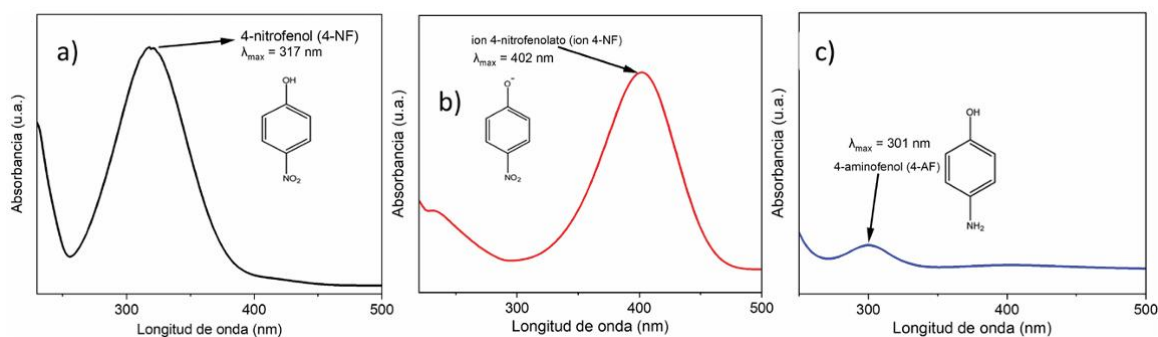


Figura 1.8 Espectros de absorción UV-Vis de los compuestos a) 4-NP, b) ion 4-NPO y c) 4-AP [4].

El mecanismo de reacción de la reducción catalítica del 4-NP para la generación de 4-AP empleando al NaBH_4 como agente reductor se aprecia en la Figura 1.9. Inicialmente, la ionización del borohidruro de sodio en la fase líquida resulta en la producción de iones borohidruro (BH_4^-) los cuales se adsorben en la superficie del catalizador metálico para formar un complejo de hidruro metálico [60]. Al mismo tiempo, el 4-NP se adsorbe en la superficie del complejo de hidruro metálico.

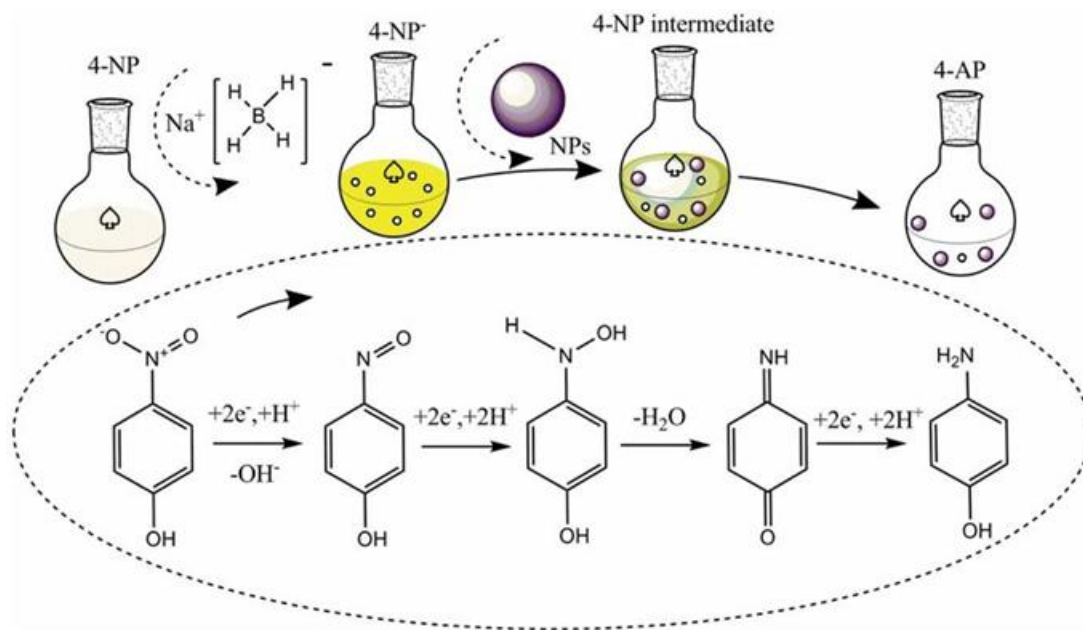


Figura 1.9 Mecanismo de reacción en la reducción de 4-NP a 4-AP utilizando NaBH_4 como fuente de H_2 [60].

Debido a que el proceso es reversible, la adsorción es seguida por el proceso de desorción. El equilibrio termodinámico en la superficie del complejo de hidruro permite la transferencia de H_2 de la superficie del complejo de hidruro al 4-NP, seguido de la formación del ion 4-nitrofenolato; tras la reducción del ion 4-NPO se obtiene simultáneamente el reactivo 4-AP [60] [61].

Sivakavinesan *et al.* (2022) presentaron en su investigación una alternativa en el aprovechamiento de biorresiduos al utilizar la cáscara de lima dulce (*Citrus limetta* Risso) para la síntesis de AuNPs en la reducción del 4-nitrofenol, para ello se utilizaron las técnicas de Espectroscopia UV-Visible, XRD, FTIR, Microscopía Electrónica de Barrido por Emisión de Campo (FESEM) y Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) para identificar las propiedades fisicoquímicas y morfológicas de las nanopartículas sintetizadas. Se obtuvo un pico máximo de absorción a 530 nm, morfología irregular y partículas de tamaño promedio de 64 nm. La reducción del 4-NP se concretó al lograr un desplazamiento desde la banda característica del ion 4-nitrofenolato (400 nm) a la banda del compuesto 4-AP (300 nm), durante la reducción la absorbancia de la solución disminuyó gradualmente y en términos de colorimetría la muestra se redujo desde un tono amarillo intenso a incoloro; el tiempo de reducción total se logró tras 80 minutos de reacción [62].

Falahudin *et al.* (2023) realizaron la síntesis de AuNPs a partir del extracto de la planta *Peronema canescens* para evaluar el rendimiento de las nanopartículas como catalizador en la reducción de los compuestos de rodamina (RhB), amarillo de metanilo (MY)

y 4-nitrofenol (4-NP). Utilizando las técnicas de Espectroscopia UV-Visible, análisis del tamaño de partícula (PSA) y TEM identificaron la formación del plasmón de oro a 532 nm, morfología esférica con un diámetro promedio de 14.9 nm. Empleando NaBH₄ como agente reductor se identificó la disminución en la absorbancia de cada uno de los compuestos identificando a su vez el cambio de la coloración de las soluciones desde un tono intenso a incoloro, espectrofotométricamente, el tiempo de reducción de la RhB y del MY fue de 15 minutos, mientras que, la reducción del 4-NP se completó tras 25 minutos después de la disminución en la absorbancia de 2.5 a 0 u.a. [42].

Alizadeh *et al.* (2023) utilizaron el extracto de la planta *Crocus caspius* para sintetizar AuNPs y evaluar su rendimiento catalítico en la degradación de naranja de metilo (MO), azul de metileno (MB) y 4-NP, para ello emplearon las técnicas de Espectroscopia UV-Visible, TEM, SEM, EDX, XRD y FTIR para la caracterización de las nanopartículas. Se identificó el pico de absorción máxima a 570 nm, las nanopartículas eran irregulares y con un tamaño promedio de 22.66±1.67 nm. Se propusieron diversas concentraciones variando el contenido de nanopartículas presentes en cada solución y utilizando a su vez al NaBH₄ como agente reductor, para el naranja de metilo se evaluaron las concentraciones de 100, 120 y 150 µL siendo el porcentaje de degradación de 99, 99.3 y 100% respectivamente, pasando de una tonalidad naranja a incolora. Para el azul de metileno las concentraciones corresponden a 150, 170 y 200 µL donde la degradación fue de 98, 98.6 y 99.5% en el orden dado y su aspecto varió desde una coloración azul fuerte a incolora. En el 4-NP se analizaron las concentraciones de 10 y 15 µL en donde la solución se modificó desde un tono amarillo intenso a incoloro y el porcentaje de reducción corresponde a 97.7% y 99% respectivamente; los autores concluyen que incorporar AuNPs como catalizador disminuye considerablemente el tiempo de reducción a diferencia de un sistema donde solo interactúa el NaBH₄ con el colorante, mayor contenido de NPs degradan mayor cantidad de colorante y el poder catalítico se debe a su tamaño [16].

Dang *et al.* (2024) emplearon AuNPs biosintetizadas a partir del extracto de *Hopea odorata* en donde evaluaron la actividad catalítica de las nanopartículas en la reducción del 4-NP. Utilizando las técnicas tradicionales como Espectroscopia UV-Visible, FTIR, DLS, potencial zeta, TEM y XRD, lograron establecer un pico de máxima absorción a 545 nm, la distribución de las nanopartículas fue desde 3 a 30 nm con un tamaño medio de 13.5 nm. Se identificó la reducción al observar un desplazamiento desde la banda del 4-NP de 317 nm hasta 400 nm donde se formó el ion 4-nitrofenolato. Luego en reacción con el NaBH₄ la banda se desplazó hasta 300 nm formando al 4-AP en 24 minutos mostrando así la efectividad de incorporar nanopartículas de oro biosintetizadas en la degradación de compuestos orgánicos contaminantes [15].

Finalmente, Tahir Khalil *et al.* (2024) realizaron un estudio sobre la síntesis de AuNPs utilizando el extracto de *Lilium longiflorum* para la reducción del azul de metileno (MB)

y el 4-NP. Las nanopartículas fueron caracterizadas empleando las técnicas de caracterización de Espectroscopia UV-Visible, TEM, HRTEM, FTIR, SEM y EDX. Se observó la formación del plasmón de oro a 535 nm en donde predominó la morfología esférica con un tamaño promedio de 4.97 nm. La reducción catalítica únicamente con NaBH_4 redujo la concentración del 4-NP en 80 minutos, sin embargo, al agregar 0.05g de AuNPs este se degradó en 3 minutos. Con el azul de metileno, la reacción sin nanopartículas de oro degradó al colorante tras 65 minutos de reacción y al incorporar de AuNPs la reacción finalizó en 3 minutos; los autores concluyen que incorporar una mayor cantidad de nanopartículas como catalizadores disminuyen la concentración de los reactivos en menor tiempo [63].

1.9. Técnicas de caracterización

Para comprender la actividad catalítica, la naturaleza de los sitios activos, los fenómenos de desactivación, entre otros comportamientos de las nanopartículas de oro, es necesario determinar algunos detalles sobre su estructura, tamaño, forma, carga, estado de oxidación, entre otros parámetros que pueden ser identificados a partir de técnicas de caracterización especializadas. La Figura 1.10 muestra las técnicas de caracterización más utilizadas para la identificación de las propiedades fisicoquímicas de las AuNPs:

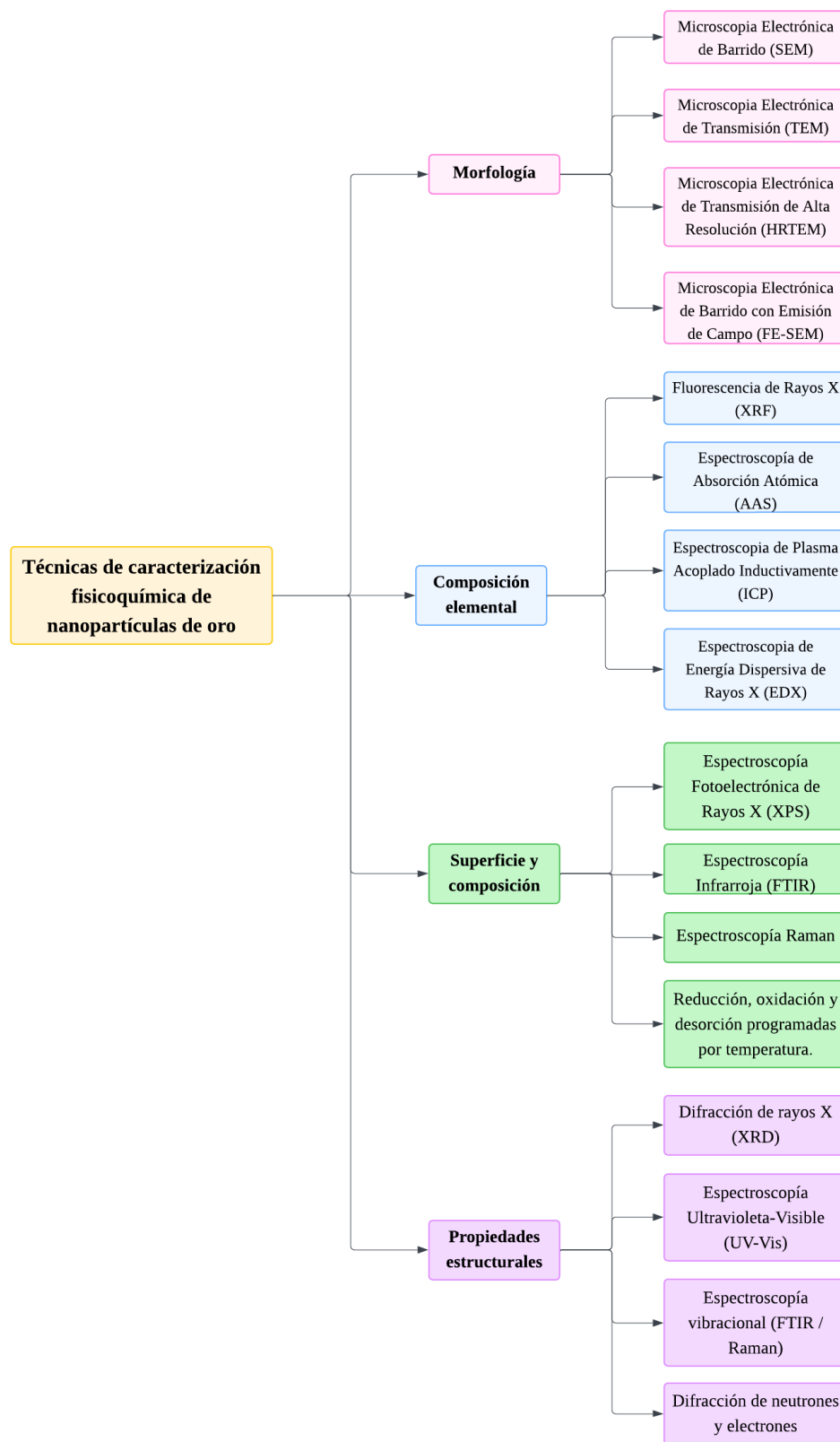


Figura 1.10 Principales técnicas instrumentales en la caracterización de AuNPs [38].

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1.Preparación del extracto acuoso

La hoja de muicle (*Justicia Spicigera Schltl*) se adquirió en un mercado local de la Ciudad de Puebla, el contenido de la materia prima estaba constituido por hojas, tallo y flores, sin embargo, el extracto se preparó únicamente con hojas retirando el contenido adicional (tallos y flores), así como de partículas externas a la planta; las hojas limpias fueron almacenadas en bolsas de plástico.

La Figura 2.1 describe el proceso experimental para la preparación del extracto acuoso utilizando la planta de muicle como agente reductor durante la síntesis de las nanopartículas de oro.

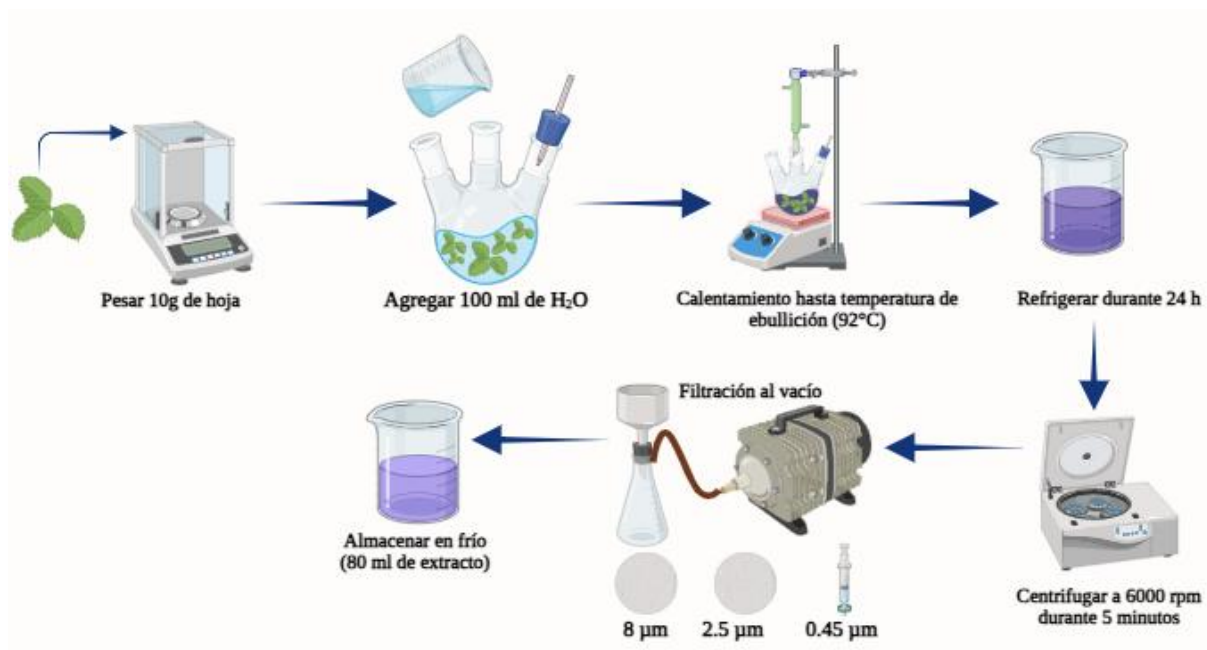


Figura 2.1 Proceso experimental para la obtención del extracto acuoso de Justicia Spicigera Schltl.

Se utilizó una balanza analítica (OHAUS Pioneer PA224) para pesar 10g de hojas, las cuales se depositaron en un matraz de 3 bocas junto con un agitador magnético para favorecer la agitación durante el proceso de extracción. En este sistema se añadieron 100 ml de agua tridestilada (Marca Baker), en una de las bocas del matraz se colocó un termómetro de Hg para monitorear el incremento de temperatura durante el proceso de calentamiento y se verificó que el sistema estuviera debidamente sellado para evitar pérdidas de calor durante la obtención del extracto acuoso.

El matraz de 3 bocas se colocó sobre una manta de calentamiento (AYSEL MOD-MCA-A250), y de manera simultánea se encendió el baño recirculador (AYSPEL MD.BR-A4).

Una vez que el sistema alcanzó la temperatura de ebullición (92°C) se contabilizaron 15 minutos adicionales para obtener la mayor cantidad de solución acuosa posible. Posteriormente, el matraz se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 30 minutos y se recuperaron 80 ml de extracto, el cual, por su alta actividad antioxidante y presencia de saponinas mostró un color morado intenso con abundante espuma [64], [65]; la solución se almacenó en frío durante 24 h recubierta en su totalidad con papel aluminio y Parafilm.

Transcurridas las 24 h, el extracto se centrifugó para retirar partículas de gran tamaño en una centrífuga universal (HERMLE Labnet Z206-A) a 6000 rpm durante 5 minutos, al terminar de centrifugar las muestras se observó materia orgánica residual adherida a las paredes del tubo de muestra. Luego, en una bomba de vacío (GAST DOA-P704-AA) se instaló un matraz Kitasato de 250 ml y utilizando papel filtro (Whatman) de 8 y 2.5 μm se realizó la filtración del extracto por duplicado; el último filtrado se realizó utilizando un acrodisco de 0.45 μm . Al final se recuperaron 75 ml de extracto acuoso con las condiciones óptimas para su implementación como agente reductor y estabilizante durante la reacción de síntesis.

Para la obtención de las AuNPs el extracto se diluyó con agua tridestilada en una relación 1:1, por ejemplo, se agregaron 6 ml de H_2O + 6 ml de extracto filtrado.

2.2.Preparación de solución precursora de $\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

Se preparó una solución precursora de ácido tetracloroáurico (1mM) como fuente de iones durante la reacción de síntesis utilizando sal de oro (Sigma-Aldrich pureza del 99%) y agua tridestilada. La solución se almacenó en la oscuridad para evitar interacción con la luz visible.

2.3.Biosíntesis de AuNPs

En una pecera de cristal se acondicionó un baño de agua para mantener constantes las variables durante la reacción, para ello se añadieron 15 L de agua desionizada y un recirculador (Polystat CP Cole-Parmer®) para mantener fija la temperatura a 25°C, las paredes de la pecera fueron recubiertas con papel aluminio para evitar interacción de la luz con el medio de reacción. En la parte inferior del sistema se colocó una parrilla de termoagitación (Thermo Scientific CIMAREC) con agitación constante y sin transferencia de calor; el tiempo de estabilización del medio de reacción fue de 10 minutos.

La relación volumétrica aplicada durante la síntesis de AuNPs corresponde a:

10 ml de $\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (1mM) + 1 ml de extracto acuoso diluido

La Figura 2.2 presenta la ruta de síntesis verde para la obtención de nanopartículas de oro utilizando el extracto acuoso de muicle:

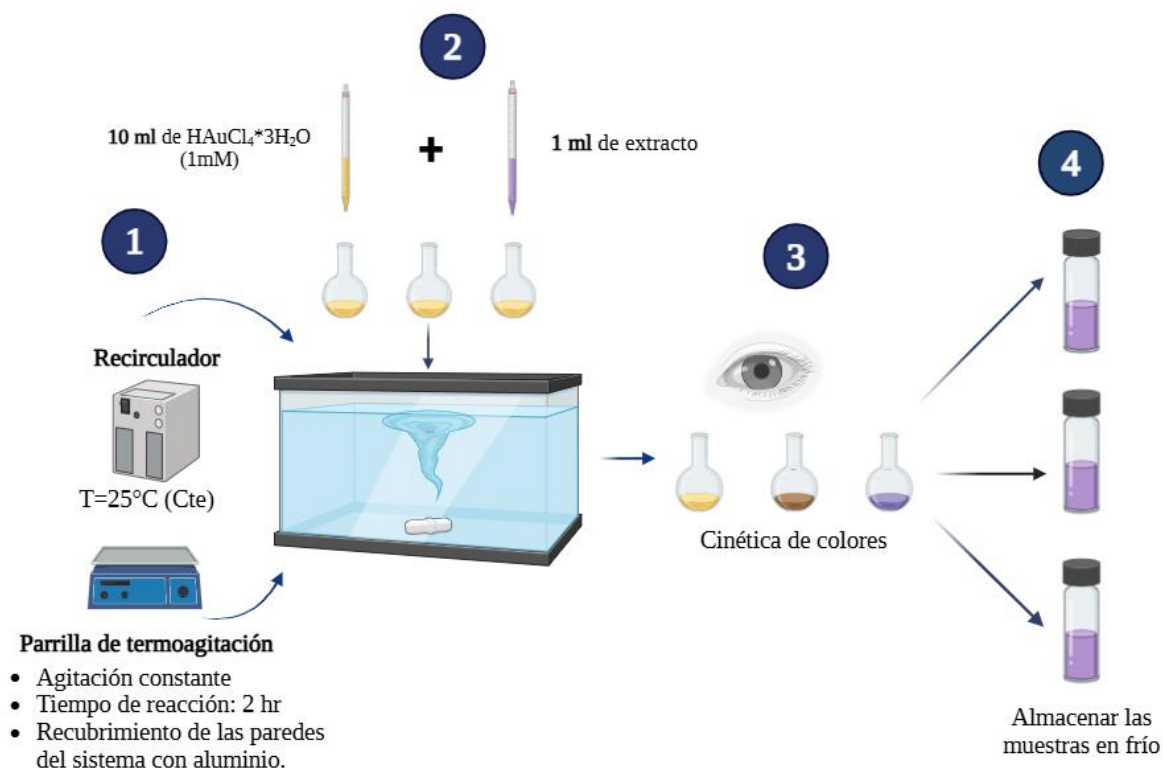


Figura 2.2 Ruta de síntesis verde de AuNPs utilizando extracto acuoso de muicle.

Durante el transcurso de la reacción se analizó el cambio de color asociado al crecimiento de las nanopartículas, entre cada intervalo de medición se observaron cambios significativos en la apariencia y contraste de cada muestra. Inicialmente, durante los primeros 5 minutos de reacción las soluciones coloidales presentaron una tonalidad dorada, entre 15 y 30 minutos un color marrón oscuro, finalmente, de 45-120 minutos la solución exhibió una tonalidad violeta, la cual fungió como primer indicador de la formación exitosa de las AuNPs.

Finalizada la reacción de síntesis las muestras se almacenaron en viales de vidrio recubiertos con papel aluminio para evitar interacción con la luz visible, seguidamente, fueron refrigeradas a 5°C.

2.4.Lavado de AuNPs

Las muestras de AuNPs se colocaron en un baño ultrasónico (CS-UB100) durante 10 minutos para redispersión, una vez finalizado el proceso de sonicado las muestras se distribuyeron proporcionalmente en tubos de centrifuga. El contenido de cada tubo se pesó en una balanza (VELAB VE-500), luego se centrifugó utilizando una centrífuga universal (HERMLE Z36 HK) a 15000 rpm durante 15 minutos (Figura 2.4c); finalmente, se retiró el sobrenadante y se agregaron 1 l ml de agua tridestilada para repetir el proceso 2 veces.

La Figura 2.3 ejemplifica las distintas facetas del proceso de lavado de AuNPs:

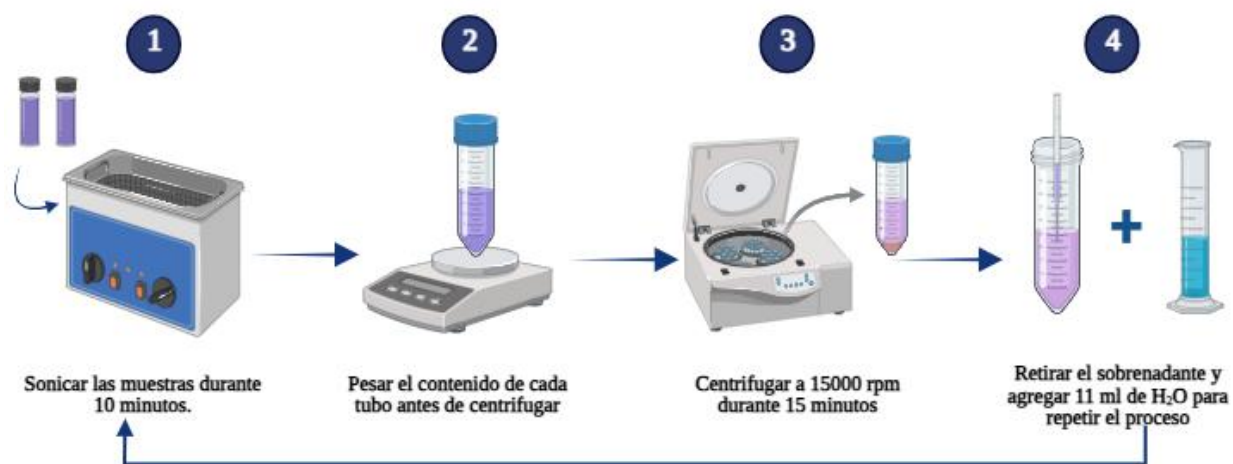


Figura 2.3 Proceso de lavado de muestras de nanopartículas de oro.

Siguiendo la metodología anterior se identificó un cambio considerable en el aspecto de las soluciones durante cada lavado. Tras el primer lavado, el sobrenadante exhibió una coloración violeta con materia orgánica residual que no interactuó durante la estabilización de las nanopartículas (Figura 2.4a), de modo que, al efectuar el segundo lavado el sobrenadante fue completamente transparente (Figura 2.4b).

La Figura 2.4 presenta la diferencia en el aspecto de los sobrenadantes de AuNPs entre cada lavado:

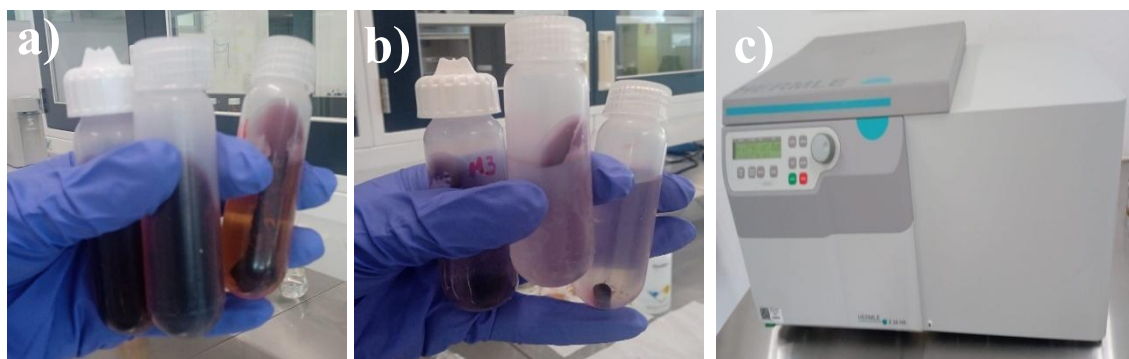


Figura 2.4 Variación en los sobrenadantes de AuNPs tras a) primer lavado y b) segundo lavado; c) centrífuga universal para tratamiento de muestras.

2.5. Técnicas de Caracterización

2.5.1. Caracterización de grupos cromóforos del extracto acuoso de *Justicia Spicigera Schltdl* a través de Espectroscopia UV-Visible

Se caracterizó el espectro UV-Vis del extracto acuoso de muicle añadiendo en una celda de cuarzo 3 ml de agua tridestilada + 5 gotas de extracto diluido con la finalidad de identificar los principales grupos funcionales asociados a las distintas absorciones de luz de los cromóforos de las moléculas orgánicas, así como el tipo de transición para las bandas a distinta longitud de onda.

2.5.2. Resonancia de Plasmón Superficial de AuNPs mediante Espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV-Vis)

Durante la síntesis de AuNPs es posible identificar el cambio de coloración durante el desarrollo de la reacción hasta la obtención de una solución violeta, la cual permite establecer preliminarmente la formación de las nanopartículas metálicas, sin embargo, resulta imprescindible confirmar espectrofotométricamente la presencia del plasmón de oro en el intervalo de longitud de onda entre 520 y 540 nm. Con base en lo anterior, se registró la formación de bandas de absorción cada 15 minutos durante 2 h hasta la obtención del plasmón SPR, adicionalmente, después de cada caracterización se identificó el color de las AuNPs para contrastar las observaciones cualitativas con los espectros UV-Vis obtenidos. La Figura 2.5 ilustra la secuencia experimental para determinar la presencia del plasmón SPR de las AuNPs utilizando un espectrofotómetro UV-Vis:

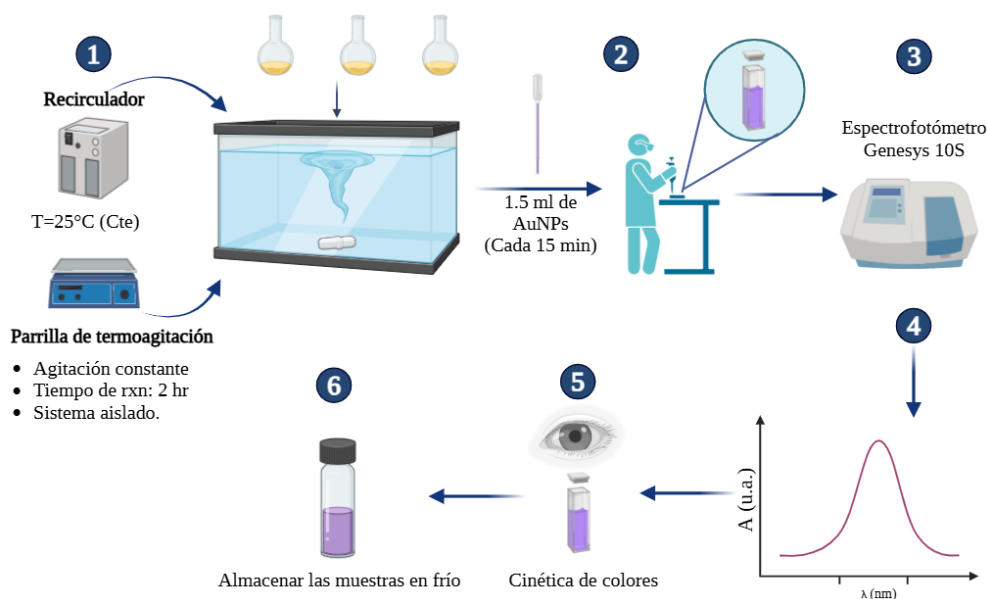


Figura 2.5 Diseño experimental en el análisis SPR mediante espectroscopia UV-Vis.

La caracterización se realizó utilizando un espectrofotómetro *Genesys 10S* (Thermo Scientific) en el cual se monitoreó la formación de las diferentes bandas durante la reacción de síntesis, para ello se tomaron alícuotas de 1.5 ml y el contenido se colocó en una celda de cuarzo (PerkinElmer). La celda se situó en el espectrofotómetro para su caracterización y luego se inspeccionó la tonalidad de cada muestra. Al término de cada medición, las nanopartículas fueron reincorporadas al sistema de reacción para evitar pérdidas en las soluciones coloidales.

2.5.3. Dispersión de Luz Dinámica (DLS)

La caracterización de las AuNPs mediante la técnica DLS se realizó antes y después del lavado para identificar su efecto sobre las soluciones, así como la diferencia en la distribución y tamaño de partícula. Se utilizó el equipo *Malvern Zetasizer Nano ZS90* en donde se configuraron los parámetros para el análisis de AuNPs. Se inició con una medición de distribución por intensidad, las mediciones se realizaron por triplicado y se utilizó 1/3 de la capacidad de la celda para efectuar la caracterización.

Para medir la carga eléctrica de las partículas en suspensión se realizó la medición del Potencial Z (ζ) utilizando una celda capilar plegada (DTS1070) en cuyo interior se colocó 1 ml de muestra, se configuraron los parámetros del equipo DLS a medición PZ y también las mediciones se realizaron por triplicado.

La Figura 2.6 muestra el equipo DLS utilizado para determinar la distribución y tamaño de partícula en las soluciones coloidales, así como la celda utilizada para medir el PZ.



Figura 2.6 Equipo DLS para a) distribución y tamaño de partícula, b) medición del PZ.

2.5.4. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

El extracto acuoso de muicle posee una diversidad de compuestos fitoquímicos que participan activamente en la reducción y estabilización de las nanopartículas de oro, no obstante, es preciso identificar los grupos funcionales presentes en dichos compuestos. Utilizando un espectrómetro *Cary 630 FTIR* (marca Agilent Technologies) se colocó una mínima cantidad de muestra en el accesorio de interacción y se dejó evaporar hasta que la intensidad de la señal en la banda del agua $\sim 3200\text{ cm}^{-1}$ disminuyera. El procedimiento anterior permitió obtener los espectros FTIR del extracto acuoso y de las AuNPs (sin lavar y lavadas sonicadas).

En los espectros de infrarrojo se identificó la región de formación de bandas y picos, después, consultando información en la literatura se determinó el grupo funcional asociado a cada intensidad.

La Figura 2.7 presenta el espectrómetro utilizado para la identificación de los grupos funcionales presentes en el extracto acuoso y en las nanopartículas de oro en los escenarios anteriormente descritos:

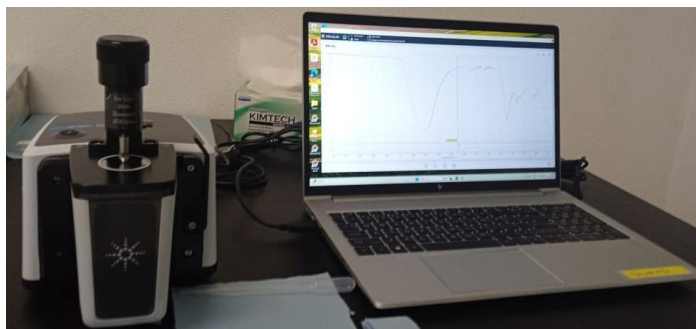


Figura 2.7 Espectrómetro Cary 630 FTIR para identificación de grupos funcionales.

2.5.5. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Se instaló un agitador magnético (IKA RCT basic) en donde se colocaron 2 obleas de Si para el depósito de muestra de AuNPs lavadas sonicadas. Se añadieron gradualmente $5\text{ }\mu\text{l}$ de AuNPs en cada oblea hasta completar el volumen requerido, es decir, $5\text{ y }10\text{ }\mu\text{l}$, respectivamente. El agitador efectuó transferencia de calor a temperatura constante (70°C) durante 15 minutos hasta que el contenido de cada oblea se evaporó completamente.

Utilizando un microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-5400LV) con electrones secundarios (SEI) se obtuvieron las micrografías SEM para observar la morfología

superficial con la mayor resolución posible. Se empleó un voltaje de 5.0 kV adecuado para obtener detalles sin modificar las propiedades de las AuNPs o del recubrimiento vegetal, la distancia de trabajo (WD) fue de 6.0 mm para optimizar la calidad de imagen en el sustrato de la oblea de Si. Se realizaron dos acercamientos a 2000X y 20000X con una escala de referencia de 10 y 1 μm , respectivamente, los cuales permitieron aproximar la morfología de las nanopartículas sintetizadas.

La Figura 2.8 muestra el depósito de las obleas de Si y el microscopio utilizado para la caracterización SEM:

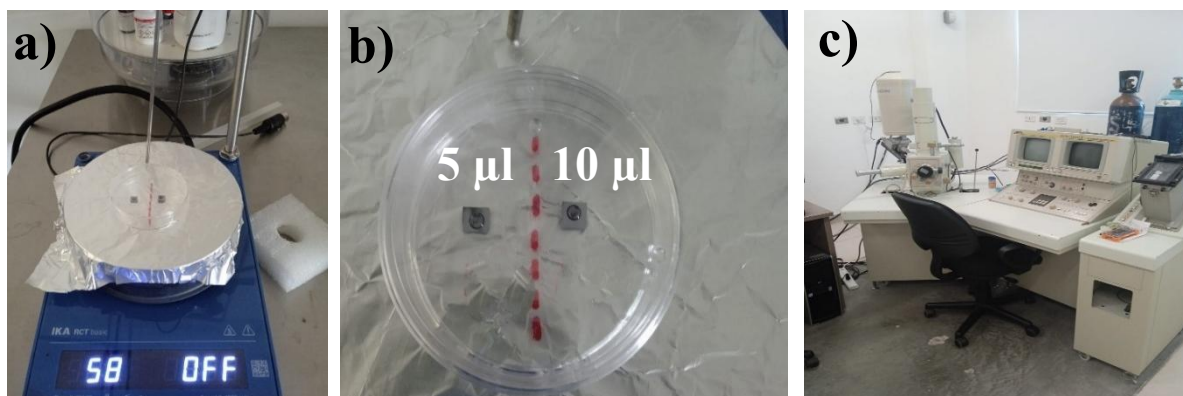


Figura 2.8 Preparación de obleas de Si para caracterización morfológica (a y b); c) Microscopio SEM.

2.6. Curvas de calibración

Se preparó una solución madre de 4-NP (Sigma-Aldrich, 99%) y 4-AP (Sigma-Aldrich, 98%) (1 mM) de 250 y 100 ml, respectivamente. A partir de éstas se realizaron 5 diluciones en un matraz volumétrico de 10 ml para obtener una curva de calibración para las siguientes concentraciones: 0.2, 0.1, 0.0500, 0.0250 y 0.0125 mM.

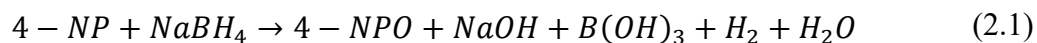
La Figura 2.9 ilustra la solución madre de 4-NP y 4-AP, así como las soluciones diluidas para construir la curva de calibración de cada compuesto, empleando la técnica de espectroscopia UV-Visible.



Figura 2.9 Soluciones preparadas de a) 4-NP/4-AP (1 mM) y b) puntos de curva de calibración.

2.7. Reducción catalítica del 4-NP empleando NaBH_4 en ausencia de catalizador

La ecuación 2.1 describe la reacción del 4-NP empleando NaBH_4 para la formación del ion 4-nitrofenolato y la generación de productos secundarios durante la hidrólisis de la solución.



La obtención del ion 4-NPO intensificó el color de la disolución desde un tono amarillo tenue a intenso, también se midió el pH para determinar la basicidad del compuesto formado.

La Figura 2.10 muestra al ion 4-NPO como intermediario en la producción del 4-AP, además, se ilustra la determinación del pH en la solución resultante.



Figura 2.10 a) compuesto intermediario ion 4-NPO y b) determinación de pH de la solución.

Diversos estudios reportados en la literatura establecen que el NaBH_4 por sí solo es incapaz de reducir al 4-NP a menos que se utilice algún catalizador que agilice la reacción y permita una reducción óptima [66] [67]. Por tal motivo, se realizaron dos reacciones de reducción sin catalizador modificando la concentración de NaBH_4 (100 y 200 mM). Por lo tanto, se agregaron 2 ml de 4-NP (0.2 mM) más 0.5 ml de NaBH_4 (con las concentraciones previamente señaladas) para producir el ion 4-NPO.

El espectrofotómetro se programó a 80 ciclos, cada ciclo efectuó una medición cada 15 minutos durante 20 h (1200 minutos) hasta que se observó la disminución de la banda del ion 4-NPO (401 nm), así como nula presencia de burbujas en la celda de UV-Vis. Al igual que en los casos anteriores se determinó el pH de la muestra resultante.

La Figura 2.11 muestra la solución del ion 4-NPO obtenida a partir de la reacción de 2 ml de 4-NP (0.2 mM) más 0.5 ml de NaBH_4 (200 mM), al inicio (2.11a) y al término de la reacción de reducción, en ausencia de catalizador (2.11b).



Figura 2.11 ion 4-NPO a) al inicio ($t=0$ min) y b) al término ($t=1200$ min) de la reacción de reducción con NaBH_4 (200 mM).

La Figura 2.12 presenta la apariencia del ion 4-NPO obtenido de la reacción de 2 ml de 4-NP (0.2 mM) más 0.5 ml de NaBH_4 (100 mM), al inicio (2.12a) y al término de la reacción de reducción (2.12b), después de 20 h de monitoreo mediante espectroscopia UV-Visible.

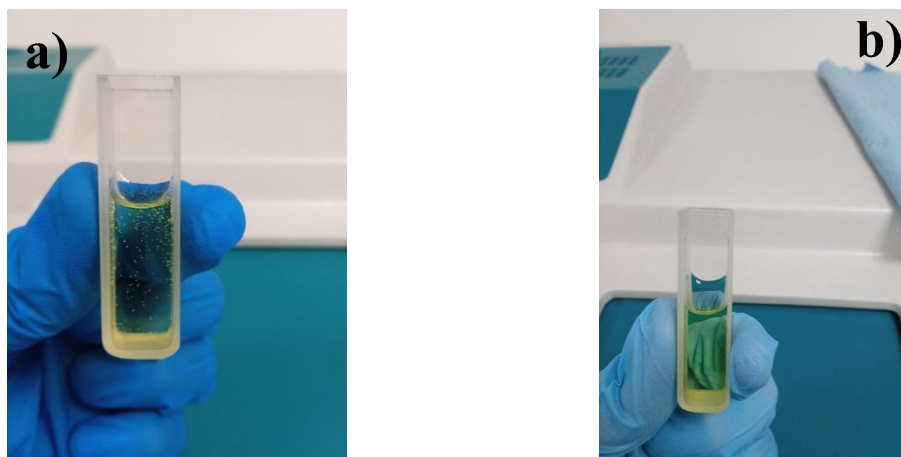


Figura 2.12 ion 4-NPO a) al inicio ($t=0$ min) y b) al término ($t=1200$ min) de la reacción de reducción con NaBH_4 (100 mM).

2.8. Reducción catalítica del 4-NP con NaBH_4 y AuNPs como catalizador

Para las reacciones de reducción del 4-NP, utilizando AuNPs como catalizador, se mantuvieron constantes la concentración (0.2 mM) y el volumen del 4-NP (2 ml), así como las concentraciones (100 y 200 mM) y el volumen del NaBH_4 (0.5 ml). La variable en este estudio fue el volumen de AuNPs, 0.125, 0.25, 0.5 y 1 ml.

El espectrofotómetro se programó a diferentes ciclos según el volumen de nanopartículas utilizado y el lapso entre cada medición fue de 1 minuto. La solución de NaBH_4 se utilizó a los 30 min, tiempo óptimo determinado durante el estudio de estabilidad (ver Apéndice A).

La conversión catalítica se calculó empleando la ecuación 2.2 [14]:

$$\text{Conversión catalítica (\%)} = \left(\frac{A_0 - A_t}{A_0} \right) \cdot 100 \quad (2.2)$$

Donde:

A_0 : Absorbancia inicial

A_t : Absorbancia en el tiempo “ t ”

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y

DISCUSIÓN

3.1. Caracterización de grupos cromóforos del extracto acuoso de *Justicia Spicigera Schltdl* a través de Espectroscopia UV-Visible

Diversos estudios han documentado que la planta de muicle contiene una diversidad de flavonoides, ácidos fenólicos, y pigmentos de antocianinas [68] [69]. Dichos compuestos permiten detectar señales espectrales en UV-Vis relacionadas con sistemas aromáticos extendidos y grupos carbonilo conjugados, los cuales desempeñan un papel clave como agentes reductores y estabilizantes durante la síntesis de nanopartículas metálicas.

La Figura 3.1 presenta el espectro UV-Vis del extracto acuoso de muicle en donde se observan distintas bandas que corresponden a absorciones de luz por los cromóforos de las moléculas orgánicas:

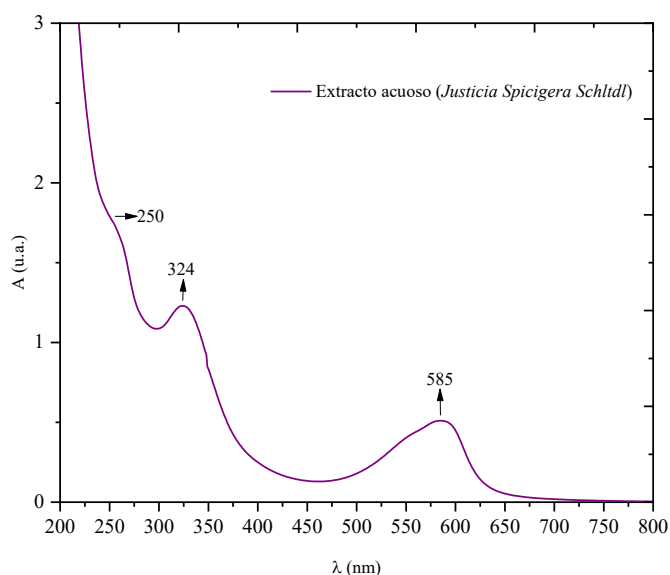


Figura 3.1 Espectro UV-Vis del extracto acuoso de *Justicia Spicigera Schltdl* para identificación de grupos cromóforos.

La banda a 250 nm posee una transición electrónica $\pi \rightarrow \pi^*$ en anillos aromáticos conjugados característicos de compuestos fenólicos y flavonoides [17] [70]. En este rango es común identificar cromóforos como anillos bencénicos con sistemas π conjugados, grupos carbonilo y ésteres aromáticos; se trata típicamente de la “Banda II” de los flavonoides asignada al sistema benzóilo del compuesto correspondiente a la estructura del flavonol [71]. La planta *Justicia Spicigera* contiene flavonoides como la *Kaempferitrina*, *kaempferol 3-7-bisrhamnósido* y *naringenina*, cuyos espectros UV-Vis concuerdan con esta banda de máxima absorbancia [17] [72].

La banda a 324 nm corresponde a transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ de sistemas π más extendidos, los cuales están relacionados al sistema cinámico de flavonoides y anillos aromáticos con sustitución conjugada [71]. Los flavonoides presentes pertenecen a la “Banda I” atribuida al anillo B

conjugado con el anillo C del carbonilo con absorciones en el rango entre 300-370 nm [71]; los cromóforos en esta banda pertenecen a los dobles enlaces conjugados (-C=C-) en el anillo aromático B y grupo carbonilo (C=O) de las flavonas y flavonoles, el pico en esta longitud de onda también indica estructuras fenilpropanoides conjugadas, mismas que muestran absorción habitual en el rango comprendido entre 300-350 nm [71], [72].

Por último, la banda de absorción a 585 nm posee la misma transición electrónica que las bandas anteriores, solo que la formación de esta señal espectral se asocia a pigmentos de antocianinas presentes en el extracto. Estos pigmentos son heterósidos del tipo *flavylium* cuyas especies coloreadas absorben luz en el rango visible (por ejemplo, metabolitos con estructuras C₆-C₃-C₆ muy conjugadas) [68]. En este sentido, en medio neutro o básico el anión *flavylium* en su forma quinoide es el cromóforo predominante, el cual es de color azul y su absorción se desplaza hacia mayores longitudes de onda (~580 nm) [68]. El extracto de *Justicia Spicigera Schltdl* es rico en antocianinas (por ejemplo, *peonidina-3-5-diglucósido* y *malvidina-3-5-diglucósido*), dichos compuestos explican la absorción en este rango espectral debido a que sus cadenas extensas y estado catiónico-aniónico permiten transiciones de baja energía [17], [68].

3.2. Análisis de Resonancia de Plasmón Superficial (SPR) mediante la técnica de Espectroscopia Ultravioleta-Visible

Las soluciones coloidales que contienen a las AuNPs exhiben un cambio de color durante la reducción de los iones metálicos del oro. Las muestras presentaron cambios significativos en su tonalidad pasando desde un tono dorado hasta una coloración marrón oscura en el intermedio de la reacción. Al finalizar la síntesis, las nanopartículas exhibieron matices violeta, asociados a la formación de AuNPs utilizando extractos acuosos [49] [73] [74] [75].

La Figura 3.2 muestra la variación de color en las soluciones coloidales durante la reacción de síntesis en diferentes intervalos de tiempo:

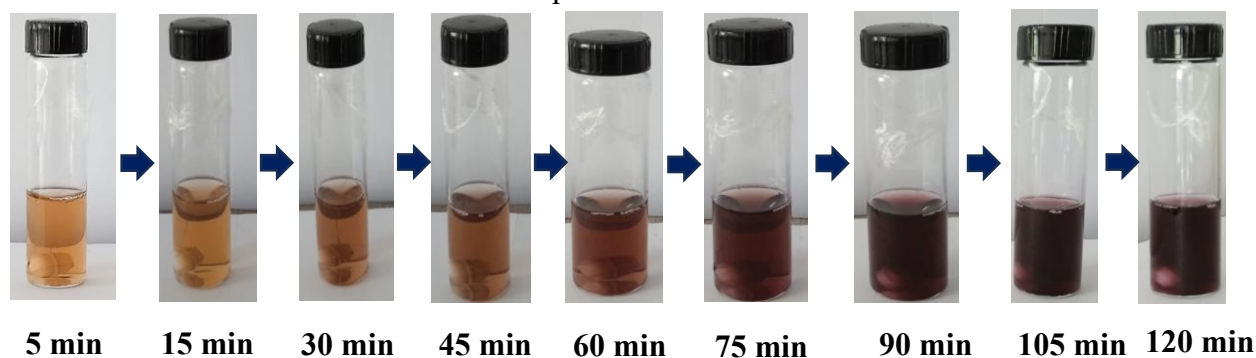


Figura 3.2 Evolución cromática durante la biosíntesis de AuNPs utilizando extracto acuoso de *Justicia Spicigera Schltdl*

En la Figura 3.3 se presenta la propuesta del esquema de reacción en la síntesis de AuNPs utilizando el extracto acuoso de *Justicia Spicigera Schltdl* como agente reductor y estabilizante. La molécula orgánica representativa en la figura corresponde al flavonoide *Kaempferitrina*, el cual es el compuesto fitoquímico predominante en el extracto acuoso:

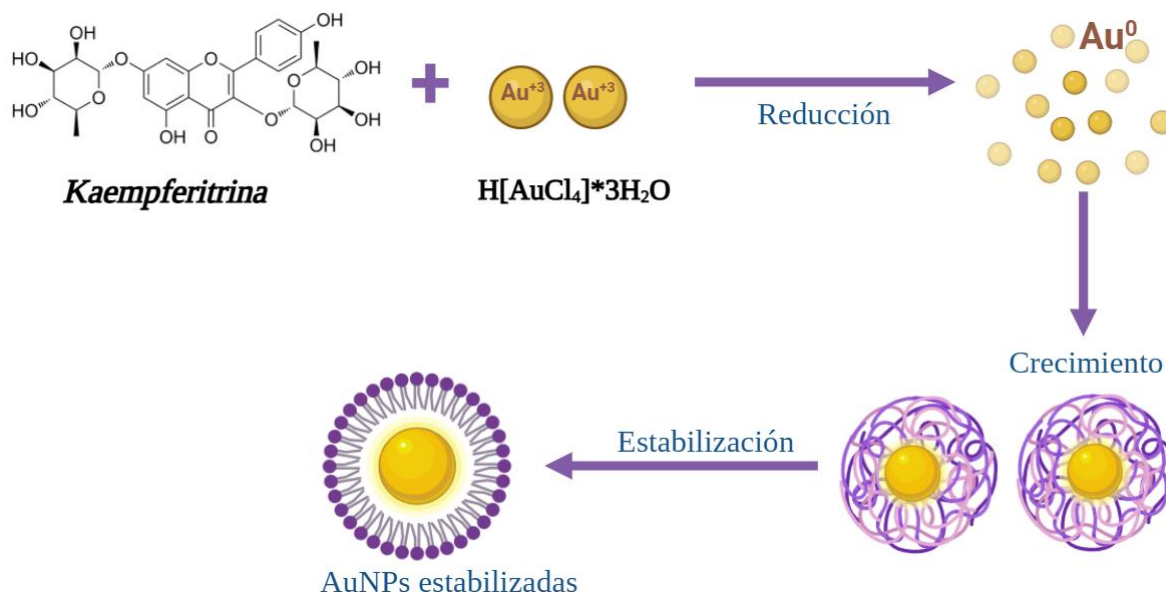
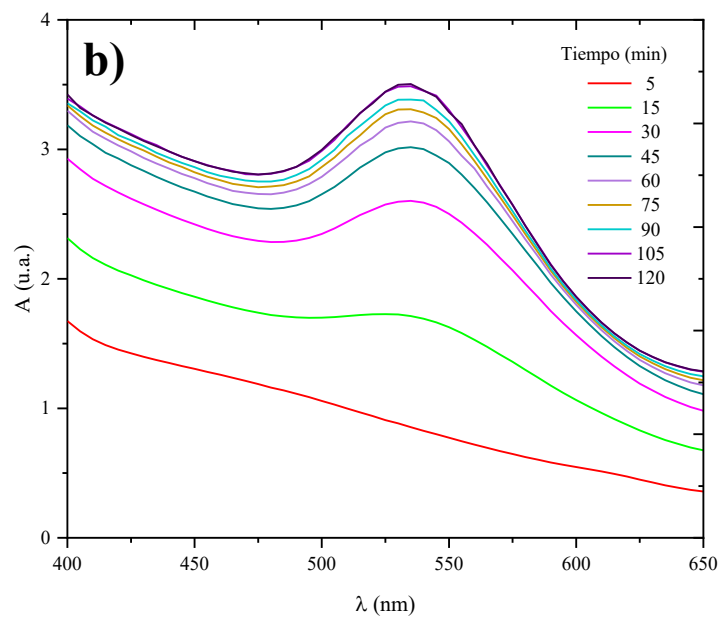
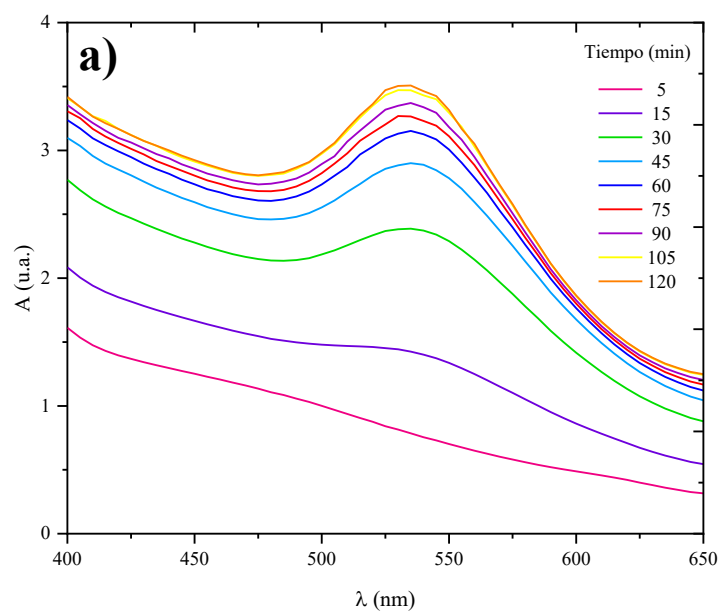


Figura 3.3 Esquema de reacción propuesto sobre la síntesis de AuNPs utilizando el extracto acuoso de *Justicia Spicigera Schltdl*. Elaboración propia.

El esquema de reacción propuesto indica que, inicialmente los compuestos fitoquímicos del extracto acuoso de muicle (en este caso, el flavonoide *Kaempferitrina*) interactúan con los iones de Au presentes en la solución precursora del ácido tetracloroáurico para efectuar su reducción del estado de oxidación +3 a 0. Tras la reducción, se forman los primeros centros de nucleación donde surgen y crecen las partículas, después en la fase de crecimiento y estabilización los compuestos orgánicos del extracto forman una capa de recubrimiento (*capping*) para estabilizar a las nanopartículas. Las AuNPs adquieren un tamaño y morfología predominantes con propiedades fisicoquímicas potenciales.

La Figura 3.4 presenta el espectro de absorción por triplicado de las AuNPs biosintetizadas utilizando la relación 1:10. Al monitorear el avance de la reacción mediante espectroscopia UV-Vis, los espectros evidenciaron la formación del plasmón SPR a 535 nm en donde predomina la presencia de nanopartículas con morfología esférica [49] [73] [74]. En estos espectros se aprecia un desplazamiento hacia la derecha de las bandas de absorción sugiriendo un incremento de tamaño, es decir, hay un corrimiento hacia el infrarrojo. García-Hernández et al. (2017) describen que la síntesis de nanopartículas de oro utilizando extractos vegetales forma plasmones de absorbancia entre 534 y 548 nm [76]. Barman et. al (2013) explican que el desplazamiento a longitudes de onda mayores se relaciona con la

polidispersidad e inestabilidad coloidal (tendencia a la aglomeración de nanopartículas de oro), así como el aumento del tamaño de las partículas [77].



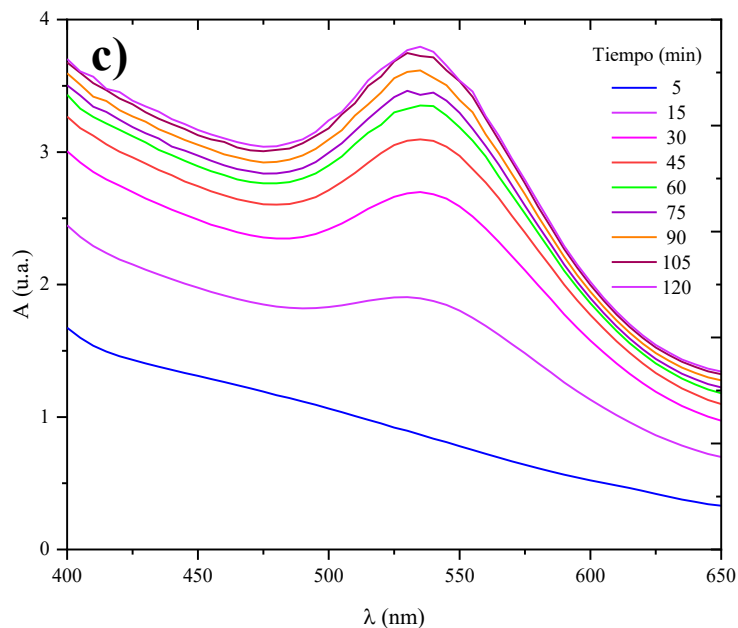


Figura 3.4 Espectros de absorción para a) Muestra 1, b) Muestra 2 y c) Muestra 3 de AuNPs aplicando la relación 1:10

3.3. Análisis de la concentración y tamaño de partícula a partir del espectro UV-Vis

La Figura 3.5 muestra la variación de la absorbancia durante la reacción de síntesis para la región a 535 nm donde se formó la banda plasmónica de resonancia (SPR). La gráfica representa el promedio del triplicado, mientras que las barras de error estadístico hacen referencia a la desviación estándar de los datos durante cada medición.

Durante el desarrollo de la reacción los valores de absorbancia incrementan gradualmente a medida que transcurre el tiempo, los primeros 15 minutos muestran un incremento considerable y las barras de error son relativamente grandes, esto se debe a que en esta etapa inicial de formación las nanopartículas describen un proceso dinámico y heterogéneo, en estos primeros minutos es difícil identificar la presencia del plasmón de oro. En el intervalo entre 15-45 minutos se aprecia una ligera disminución en la desviación de los datos, sugiriendo una pequeña variación en la concentración, en este intervalo se lleva a cabo el crecimiento. De 45-120 minutos el comportamiento es homogéneo, el tamaño de las barras de error es constante, de modo que, la reproducibilidad en los datos es alta.

El aumento de la absorbancia entre cada medición durante la síntesis sugiere un incremento de la concentración en las nanopartículas formadas [28], la variabilidad registrada en las

barras de error estadístico establece que durante los primeros minutos hay más dispersión en la concentración de las nanopartículas, no obstante, para tiempos superiores a 60 minutos no hay tanta dispersión y las AuNPs presentan una mayor concentración, por lo que la reacción es más reproducible y controlada.

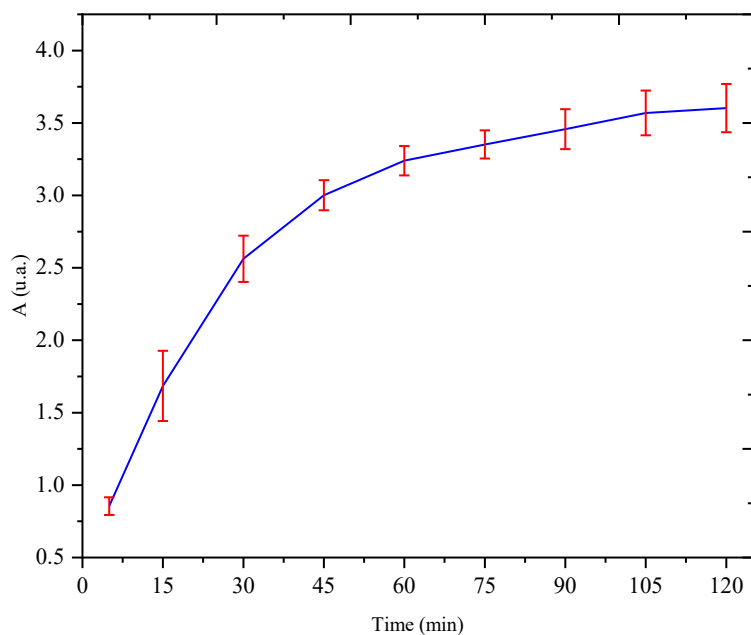
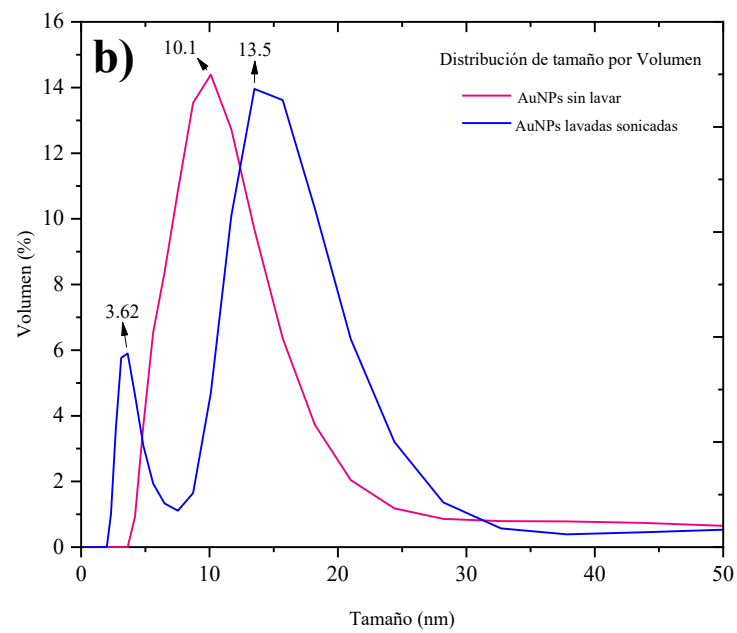
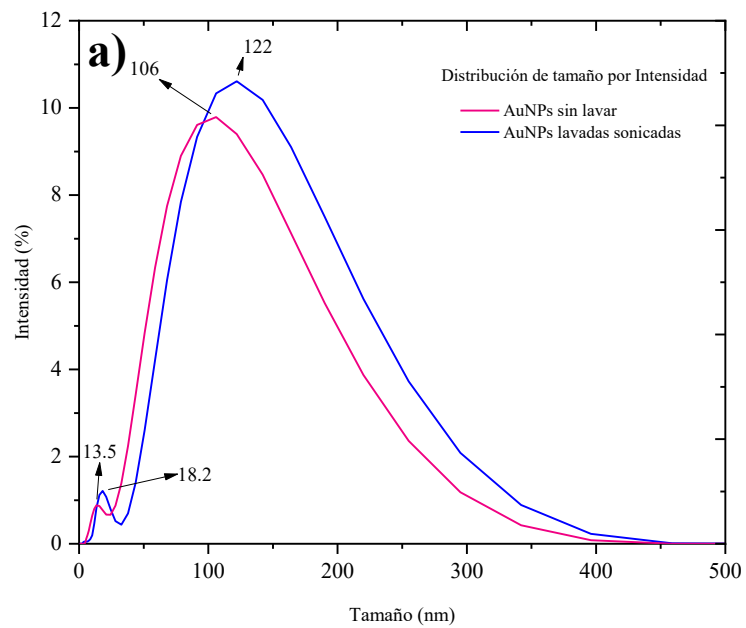


Figura 3.5 Evolución de la reacción durante la síntesis de AuNPs para absorbancia

3.4.Distribución y tamaño de partícula por medio de la técnica de Dispersión de Luz Dinámica (DLS)

La Figura 3.6 exhibe la distribución y tamaño de partícula por intensidad, volumen y número para AuNPs sin lavar y un nuevo escenario denominado “AuNPs lavadas sonicadas”, para analizar el efecto de retirar el extracto que no reaccionó, así como la redispersión ultrasónica en el tamaño de partícula.



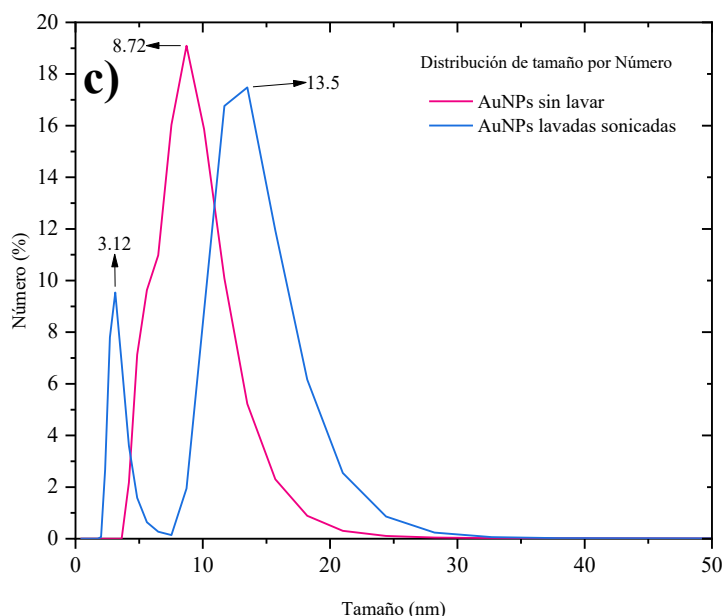


Figura 3.6 Distribución de tamaño de partícula por a) intensidad, b) volumen y c) número

3.4.1. Distribución de tamaño por Intensidad

El tamaño obtenido por intensidad es el “tamaño hidrodinámico”, es decir, el tamaño efectivo de la nanopartícula más el recubrimiento vegetal y posibles compuestos absorbidos.

En la Figura 3.6a se aprecia que la curva de las AuNPs sin lavar presenta un comportamiento bimodal debido a la presencia de dos diferentes tamaños de partícula, el primero a 13.5 nm y el segundo a 106 nm en donde se aprecia una distribución más aguda y simétrica. La ausencia del lavado preserva los compuestos fitoquímicos reductores-estabilizadores de las nanopartículas, el PDI (índice de polidispersidad) registrado por el equipo fue de 0.310, indicando una distribución moderadamente homogénea [78].

El proceso de lavado (centrifugación y redispersión) de nanopartículas suele remover agentes estabilizantes superficiales o iones residuales, de modo que al lavar las AuNPs se puede eliminar parcialmente la capa orgánica de recubrimiento que las estabiliza, lo que incrementa la agregación y eleva el diámetro hidrodinámico registrado [79][80]; el resultado en la distribución por intensidad es la formación de picos desplazados hacia mayores tamaños y un PDI superior a 0.31 después del lavado. Por consiguiente, la curva de las AuNPs lavadas sonicadas demuestra una distribución bimodal moderada debido a la presencia de un tamaño de partícula de 18.2 y 122 nm con leve desplazamiento de la cola derecha respecto a las AuNPs sin lavar.

Gurunathan *et.al* (2014) dieron a conocer un tamaño de partícula de 20 nm para AuNPs sintetizadas utilizando micelio del hongo *Ganoderma spp* con una distribución de tamaño por intensidad entre 15 y 30 nm. La curva obtenida por DLS para esta distribución fue relativamente estrecha y simétrica, razón por la cual los autores señalaron que, para tamaños de partícula mayores a 25 nm, el ancho de banda aumenta con el incremento del tamaño de partícula [81].

De modo similar, Elia *et.al* (2014) en la síntesis de AuNPs utilizando extracto acuoso de cuatro plantas distintas (*Salvia officinalis*, *Lippia citriodora*, *Pelargonium graveolens* y *Punica granatum*) emplearon la técnica DLS para la determinación del tamaño de partícula. Los autores reportaron un tamaño promedio entre 1 y 8 nm con comportamiento bimodal en las cuatro distribuciones, cada curva mostró un amplio ensanchamiento debido a la polidispersidad y coexistencia de diferentes tamaños de partículas. Adicionalmente, los picos del diámetro más grande exhibieron la mayor parte de la intensidad, de modo que, el pico correspondiente a partículas pequeñas constituyó únicamente entre el 1 y 3% de la intensidad total; el estudio destaca que la distribución de tamaño de partícula obtenido en las mediciones de intensidad está sesgada hacia partículas más grandes y no representa el número total de las partículas con un tamaño determinado [82].

3.4.2. Distribución de tamaño por Volumen

Las curvas de la Figura 3.6b presentan la distribución del tamaño en volumen de las AuNPs. Las AuNPs sin lavar exhiben un máximo en 10 nm con un porcentaje de 14.93%, dicho porcentaje es una porción del volumen total de las nanopartículas caracterizadas. El índice de polidispersidad registrado fue de 0.310 el cual indica una dispersidad moderada donde coexisten diferentes tamaños de partículas [83]. La curva es estrecha indicando una población de partículas pequeñas.

La curva de las AuNPs lavadas sonicadas muestra dos tamaños de partícula, 3.62 y 13.5 nm indicando un comportamiento bimodal. El efecto del sonicado posterior al lavado permite la detección de tamaños más pequeños que bajo las condiciones anteriores eran casi imperceptibles; el estrechamiento en la distribución indicó mejor dispersión y reducción de polidispersidad [80].

Fouda *et.al* (2022) reportaron un tamaño promedio de partícula de 91.28 nm para AuNPs sintetizadas con el extracto acuoso del rizoma *Zingiber officinale*. Los autores señalan que al utilizar la técnica DLS para determinar el tamaño de partícula se obtuvieron tamaños más grandes (91.28 nm) en comparación con la técnica TEM (15.11 nm) y XRD (18 nm), el PDI obtenido fue de 0.3 mismo que indicó una dispersión homogénea; la curva de distribución

por volumen presentó un comportamiento simétrico y estrecho, reafirmando la presencia de tamaños de partícula relativamente grandes [84].

A su vez, Macovei *et.al* (2024) emplearon extracto acuoso y etanólico del rizoma *Geum urbanum* L. en la síntesis de AuNPs. Para el extracto acuoso, las nanopartículas exhibieron un tamaño promedio de 70.29 nm con un PDI de 0.557 que indicó heterogeneidad en el medio dispersante. La distribución por intensidad mostró un tamaño hidrodinámico de 70.29 nm, mientras que la curva de distribución por volumen mostró un comportamiento monomodal y amplio ensanchamiento de la banda. Mientras que, las nanopartículas sintetizadas con el extracto etanólico presentaron menores tamaños de partícula, se determinó un tamaño promedio de 46.26 nm con PDI de 0.325 (sistema homogéneo); la distribución por volumen presentó un comportamiento bimodal, asimetría relativa y desplazamiento hacia tamaños de partícula más pequeños [85].

3.4.3. Distribución de tamaño por Número

La distribución de tamaño por número mostrada en la figura 3.6c para las AuNPs sin lavar describe un tamaño de partícula predominante de 8.72 nm, por lo que su comportamiento es unimodal. La anchura de la distribución está relacionada con la presencia de compuestos orgánicos que actúan como estabilizadores en las nanopartículas. En cuanto a las AuNPs lavadas sonicadas coexisten dos tamaños de partícula, 3.12 y 13.5 nm, esto indica que después de la redispersión de las nanopartículas hubo una ruptura de los agregados en fragmentos más pequeños permitiendo mayor uniformidad en la solución y detección de tamaños de partícula menores [78] [79].

Elia *et.al* (2014) enfatizan el tamaño de partícula mediante la distribución de tamaño por número. Los tres primeros extractos evaluados mostraron un tamaño de partícula pequeño: *Salvia officinalis* (4 nm), *Lippia citriodora* (2.6 nm) y *Pelargonium graveolens* (6 nm), además, presentaron alta monodispersión. Por su parte, el extracto de la planta *Punica granatum* tuvo una distribución de tamaño promedio de 34 nm, aunque el pico central estuvo centrado en diámetros mayores, representa una fracción minoritaria de partículas grandes con tamaño uniforme a diferencia de los extractos anteriores [82].

Por su parte, Assad *et.al* (2025) dieron a conocer un tamaño de partícula de 98.27 nm para AuNPs mediante DLS utilizando extracto acuoso de *Equisetum diffusum*, las cuales fueron consideradas con una dispersión bastante uniforme y con baja variabilidad en el tamaño. Al comparar este tamaño de partícula con el obtenido por SEM, esta última técnica detectó un tamaño de 68.85 nm, el cual es más pequeño que el determinado por la técnica de dispersión de luz; la estrechez en el pico de la distribución de tamaño por número respaldó la eficiencia

del extracto vegetal como agente reductor y estabilizante para evitar la formación de agregados [86].

3.4.4. Potencial Z (PZ)

La Figura 3.7 representa el Potencial Z de las AuNPs sin lavar y lavadas sonicadas, para medir la estabilidad de las partículas en suspensión, así como de la cuantificación eléctrica. El eje vertical denominado “conteos totales” corresponde a la intensidad de señal detectada, es decir, al número de fotones dispersados que contribuyeron a cada intervalo del potencial Z.

la Figura 3.7a describe el comportamiento gaussiano del PZ relacionado a las AuNPs sin lavar, así como la representación de la repulsión de carga electrostática para este escenario. El valor obtenido fue de -14.93 mV, indicando un exceso de cargas negativas en la doble capa eléctrica difusa, por lo que las partículas tienden a repelerse electrostáticamente, pero la magnitud es moderada. El ancho relativo de la curva indica heterogeneidad y repulsión considerable en la carga superficial entre las nanopartículas [87]; valores de PZ de ± 30 mV suelen corresponder a buena estabilidad electrostática, por lo tanto, el potencial determinado indica que las AuNPs muestran carga negativa con estabilidad electrostática parcial, por lo que podrían agregarse con el tiempo [84] [88].

Por su parte, la Figura 3.7b exhibe una distribución con forma de campana gaussiana simétrica con una población dominante de carga centrada en -36.56 mV que sugiere que las AuNPs formaron un coloide con buena estabilidad y repulsiones electrostáticas dominantes que reducen la tendencia a la aglomeración. En contraste, el desplazamiento de la curva hacia valores más alejados de cero (en este caso ~ -36 mV) corresponde a una mayor densidad de carga y estabilidad; el comportamiento de la gráfica es monomodal, sin picos adicionales ni asimetrías notables, lo cual sugiere que las AuNPs sintetizadas con el extracto de muicle formaron un sistema homogéneo con población uniforme.

El proceso de lavado mejora el Potencial Z en las AuNPs lavadas sonicadas debido a la eliminación de especies orgánicas que disminuyen su carga superficial efectiva, por lo tanto, se evita la formación de agregados e incrementa la estabilidad coloidal de las partículas en suspensión.

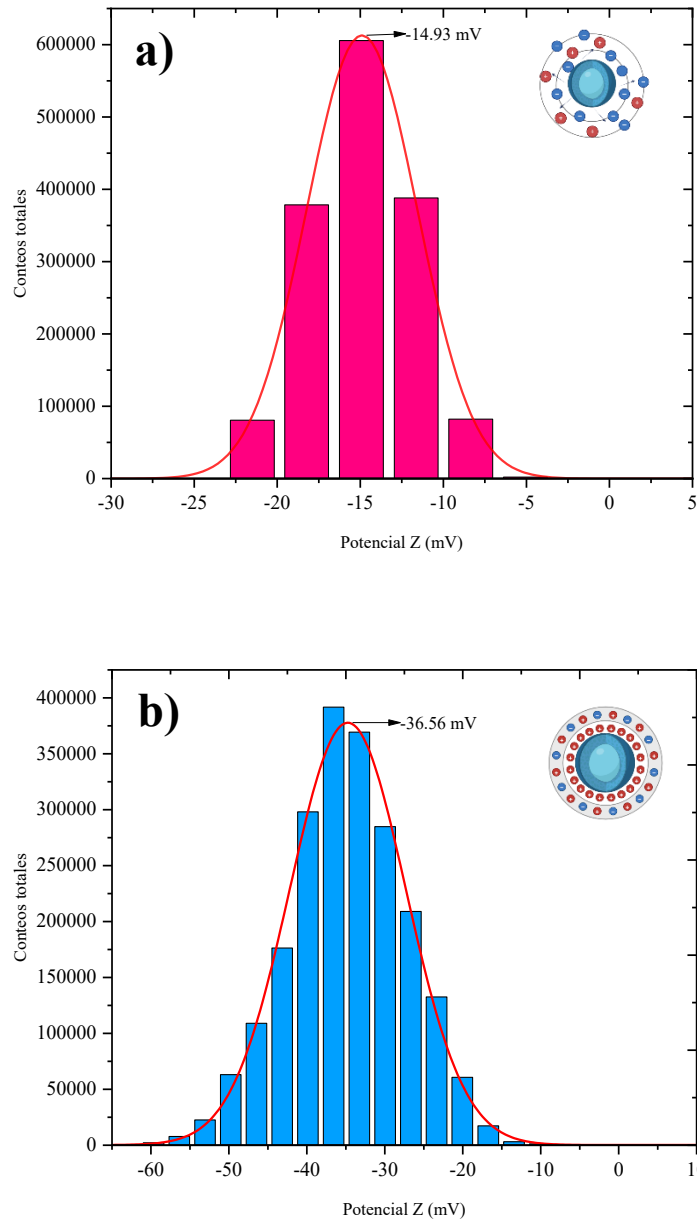


Figura 3.7 Potencial Z y representación de repulsión electrostática de cargas de a) AuNPs sin lavar y b) AuNPs lavadas sonicadas

Fouda *et.al* (2022) también determinaron el Potencial Z para conocer la estabilidad de las partículas en suspensión a partir de la cuantificación de la carga eléctrica. Los autores obtuvieron un valor de -28.8 mV, el cual de acuerdo con su intervalo para clasificar al PZ se consideró estabilidad en las nanopartículas, la curva mostró un comportamiento gaussiano y unimodal, un único pico simétrico y se afirmó que todas las partículas tenían sistemáticamente carga negativa [84].

Algo similar ocurre con Carone *et.al* (2023) quienes utilizaron al PZ como indicador de la estabilidad coloidal. En esta investigación se postula que para valores superiores a +30 mV e inferiores a -30 mV hay buena estabilidad debido a la repulsión electrostática entre partículas con carga superficial similar, puesto que para nanopartículas de oro con morfología esférica y bipirámides se obtuvo en valor de PZ mayor a +30 mV, el cual confirmó la estabilidad coloidal y el efecto de la morfología sobre la distribución de carga superficial e interacción entre partículas [88].

3.5. Micrografías SEM para la determinación de morfología en AuNPs sintetizadas

La Figura 3.8 presenta las micrografías de las AuNPs depositadas sobre obleas de Si con diferentes acercamientos para la identificación de la morfología asociada.

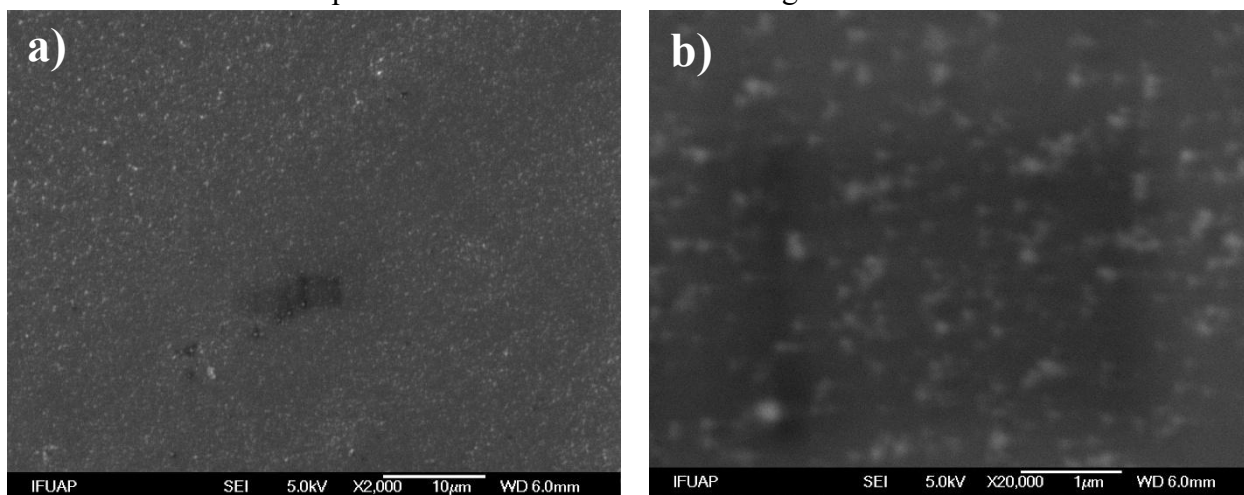


Figura 3.8 Micrografías SEM de AuNPs con acercamiento de a)2000X y b)20000X

En el primer acercamiento de 2000X (Figura 3.8a) se distingue una cobertura general del sustrato en la zona central más oscura, relacionada principalmente a la presencia de una película vegetal del extracto restante después del calentamiento de las obleas de Si para su evaporación [89]. En la parte superior derecha se aprecia un patrón superficial rugoso con puntos brillantes aislados que son en su mayoría aglomerados, finalmente, la distribución es moderadamente dispersa sin tantas acumulaciones. [90]

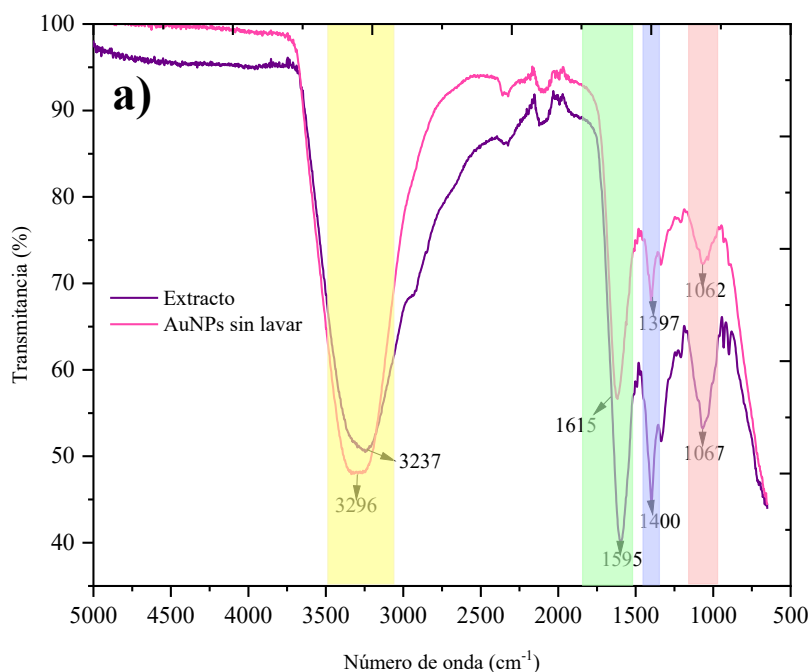
La micrografía a 20000X (Figura 3.8b) permite observar a las AuNPs como puntos brillantes, la forma de las partículas es mayormente cuasi esférica con diámetros visuales entre 10 y 40 nm (que es el rango promedio de las nanopartículas sintetizadas por extractos vegetales), la distribución es buena con pocas aglomeraciones, lo cual mejora su área superficial activa y las regiones más oscuras están asociadas a la matriz orgánica vegetal que sirvió como agente reductor y estabilizador [90].

3.6. Identificación de grupos funcionales en espectro FTIR del extracto acuoso de muicle y AuNPs

La naturaleza química del extracto acuoso de la planta de muicle se constituye por una diversidad de compuestos fitoquímicos (polifenoles, flavonoides, flavononas, antocianinas, taninos, etc.), los cuales poseen grupos funcionales como hidroxilos (-OH), carbonilos (C=O), aminas (-NH₂), éteres y enlaces aromáticos (C=C) los cuales permiten efectuar la función reductora y estabilizadora durante la síntesis de nanopartículas metálicas. Las AuNPs sintetizadas con dicho extracto presentan una capa orgánica de recubrimiento derivada de los compuestos orgánicos de la planta, esta capa contiene los grupos funcionales que permanecen adsorbidos tras la reducción de los iones de Au³⁺ a Au⁰; la variabilidad en la detección de los grupos funcionales y bandas a diferente número de onda ($\bar{\nu}$) en el espectro FTIR se debe principalmente al tratamiento realizado en las muestras previo a la caracterización.

Se determinó el espectro de infrarrojo para el extracto acuoso de muicle, el cual se tomó de referencia para identificar el comportamiento espectral y desplazamientos de los espectros de las AuNPs sin lavar y lavadas sonicadas.

La Figura 3.9 ilustra el espectro FTIR del extracto acuoso de muicle y su comparación para cada escenario de AuNPs para identificar los principales grupos funcionales que actuaron como agentes reductores y estabilizantes durante la reacción de síntesis.



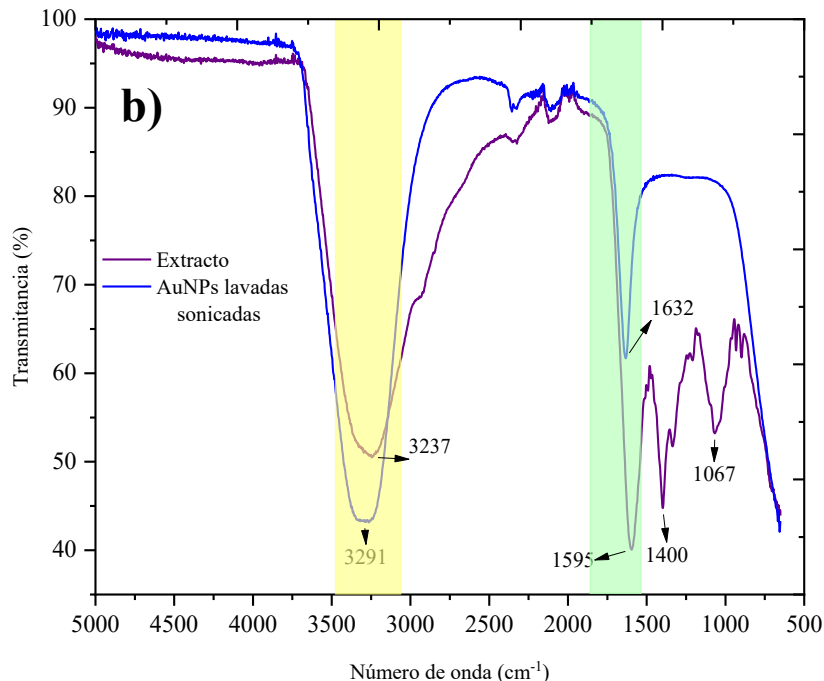


Figura 3.9 Espectros FTIR del extracto de muicle y AuNPs a) sin lavar y b) lavadas sonicadas para identificación de grupos funcionales.

En los espectros de infrarrojo anteriores, la región comprendida entre 4000-1500 cm^{-1} se denomina *región de grupos funcionales* y exhibe la formación de bandas relacionadas con enlaces de estiramiento de O-H, C-H y N-H. El espectro de la Figura 3.9a corresponde a las AuNPs sin lavar, en la región de color amarillo entre 3300-3220 cm^{-1} se aprecia un desplazamiento en la banda de infrarrojo de las nanopartículas hacia mayor número de onda (3296 cm^{-1}), ensanchamiento de la banda y descenso hacia un menor porcentaje de transmitancia. Este desplazamiento horizontal a mayor número de onda indica que los grupos -OH/-NH se encuentran más enlazados (formando fuerzas intermoleculares ion-dipolo y/o fuerzas de London) reforzando la interacción del extracto con los iones de oro [91].

Los cambios verticales representan la intensidad en la transmitancia, por lo que, una reducción de la intensidad de un pico al pasar de extracto a AuNPs indica que ese grupo funcional participó en el proceso (cediendo electrones al reducir Au^{3+} a Au^0). Cuando un pico no cambia significativamente de intensidad, sugiere que dicho grupo funcional sigue presente como agente estabilizante [91].

En el intervalo de número de onda comprendido entre 1800-1500 cm^{-1} (recuadro verde) se encuentran grupos funcionales con enlaces dobles. Este pico tiene un desplazamiento vertical (hacia arriba) y horizontal (hacia la izquierda) indicando mayor número de onda y

transmitancia. Un pico que se mueve a menor número de onda indica debilitamiento del enlace donde se ceden electrones al metal y viceversa [91].

La zona entre $1500\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ se conoce como *región de huella dactilar*, las bandas que aparecen en esta región son producto de varios tipos de vibraciones de enlace, estas vibraciones originan una fuerte interacción entre enlaces vecinos y predominan los grupos funcionales con enlaces sencillos [92]. En este intervalo se aprecia la formación de dos picos característicos para cada espectro, en el primer recuadro (encuadre azul oscuro) el extracto de muicle presenta una banda a $\bar{\nu}=1400\text{ cm}^{-1}$ y el de las AuNPs sin lavar en $\bar{\nu}=1397\text{ cm}^{-1}$ por lo que este último espectro presenta un desplazamiento a la derecha y luego hacia arriba con mayor transmitancia. El segundo recuadro en color rosa forma un pico a $\bar{\nu}=1067\text{ cm}^{-1}$ para el extracto y de $\bar{\nu}=1062\text{ cm}^{-1}$ donde se observa el efecto de recubrimiento de los compuestos orgánicos en las AuNPs.

En el espectro FTIR de la Figura 3.9b, el extracto posee un pico máximo a $\bar{\nu}=3237\text{ cm}^{-1}$ que al compararse con el de las AuNPs lavadas sonicadas, hay un desplazamiento a la izquierda ($\bar{\nu}=3291\text{ cm}^{-1}$) y luego hacia menor porcentaje transmitancia. La disminución de transmitancia de ciertas bandas en las nanopartículas refuerza que esos grupos formaron enlaces con el metal o fueron eliminados, confirmando la interacción original basada en involucramiento químico [91].

En el siguiente rubro entre $1800\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ el pico de las nanopartículas se desplaza hacia la izquierda con $\bar{\nu}=1632\text{ cm}^{-1}$ y luego verticalmente hacia arriba logrando una separación estrecha entre ambos espectros. En la región de huella dactilar es donde se aprecia fuertemente la diferencia espectral entre las AuNPs sin lavar y lavadas sonicadas por la ausencia de grupos funcionales de los compuestos orgánicos como resultado del lavado de las nanopartículas.

El proceso de lavado/sonicado elimina moléculas orgánicas ligadas al metal, lo anterior se traduce como la atenuación o desaparición de ciertas bandas en el espectro de las AuNPs lavadas sonicadas, por lo que, las bandas persistentes corresponden a compuestos aún absorbidos [91].

La Tabla 1 describe los grupos funcionales, tipo de vibración molecular y justificación científica para los picos identificados en el espectro FTIR del extracto acuoso de muicle y AuNPs (sin lavar y lavadas sonicadas).

Tabla 1 Grupos funcionales y tipo de vibración molecular para espectros FTIR del extracto acuoso de muicle y AuNPs (sin lavar y lavadas sonicadas)

Espectro	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Tipo de vibración	Justificación	Referencia
Extracto acuoso de muicle	1067	C-O-C C-O	Estiramiento (éteres, ésteres)	Participación en reducción de iones de Au ³⁺ a Au ⁰ y recubrimiento de la superficie metálica.	[93]
	1400	C-N	Estiramiento (amida III)	Característico de proteínas y aminoácidos adsorbidos.	[91]
	1595	N-H	Deformación (1° aminas, aminas aromáticas y amidas)	Indica recubrimiento proteico de las AuNPs; estas proteínas evitan la aglomeración.	[91]
	3237	-OH	Estiramiento amplio unido por puentes de hidrógeno	Los polifenoles y flavonoides presentes en la <i>kaempferitrina</i> forman una banda ancha que forma puentes de hidrógeno, facilitando la donación de electrones para la reducción de iones de oro.	[94]
AuNPs sin lavar	1062	C-O-C	Estiramiento (éteres y ésteres)	Los compuestos glicosilados-polisacáridos donan electrones para la reducción de Au ³⁺ a Au ⁰ y permanecen adsorbidos como ligandos; estos adsorbatos orgánicos superficiales estabilizan a las AuNPs.	[91]
	1397	O-H (deformación)		Los -OH fenólicos donan electrones para reducir los iones de oro y	

		C-O (Estiramiento)	(fenoles)	estabilizan la superficie de las AuNPs uniéndose por enlaces de hidrógeno, creando una red que actúa como recubrimiento protector.	[91], [95]
	1615	C=C	Estiramiento (alquenos)	Los dobles enlaces de carbono aportan interacciones π -metal para adsorción y recubrimiento de AuNPs, así como estabilización en el sistema.	[96], [97]
	3296	-OH	Estiramiento amplio unido por puentes de hidrógeno	Los fenoles-polioles donan e^- para reducir Au^{3+} a Au^0 y posteriormente quedan adsorbidos mediante puente de hidrógeno y coordinación $O \rightarrow Au$ contribuyendo a la estabilidad coloidal; la reducción en la intensidad indica eliminación de ligandos débiles.	[91], [95]
AuNPs lavadas sonicadas	1632	N-H	Deformación (1° aminas, aminas aromáticas, amidas)	Los pares libres de N coordinan fuertemente al Au formando ligandos de anclaje que permanecen tras el lavado y sonicación, esta coordinación estabiliza las AuNPs y facilita la transferencia electrónica local que contribuyen a la nucleación y crecimiento.	[91], [95]

	3291	O-H, N-H	Estiramiento (1° aminas y amidas)	La persistencia tras el lavado indica ligandos fuertemente adsorbidos de fenoles y proteínas; los O-H reducen los iones de oro mientras que los enlaces N-H fungen como remanentes que estabilizan a las AuNPs.	[91], [95]
--	------	----------	-----------------------------------	---	------------

3.7. Catálisis

Para estudiar la actividad catalítica de las AuNPs sintetizadas con el extracto de hoja de muicle, se eligió la reducción del 4-nitrofenol. El progreso de las reacciones se monitoreó con un espectrofotómetro UV-Vis.

3.7.1. Curvas de calibración

3.7.1.1. 4-NP

El 4-NP posee una banda de máxima absorción ($\lambda_{\max}$) en 317 nm, esta banda corresponde a la transición electrónica $\pi \rightarrow \pi^*$ del electrón del orbital π característico del anillo fenólico al orbital π conjugado [58], [59]. Se prepararon cinco muestras a diferentes concentraciones (0.2, 0.1, 0.0500, 0.0250 y 0.0125 mM) y se monitorearon las dos bandas características, 226 y 317 nm (Fig. 3.10a). La absorbancia en función de la longitud de onda aumentó gradualmente al incrementar la concentración, por tal motivo, se realizó un ajuste lineal para determinar los parámetros de la ecuación de una recta. El pH fue de 5 para cada concentración, indicando acidez en el medio acuoso. La Figura 3.10b presenta la curva de calibración obtenida para las distintas concentraciones de 4-NP y el ajuste lineal.

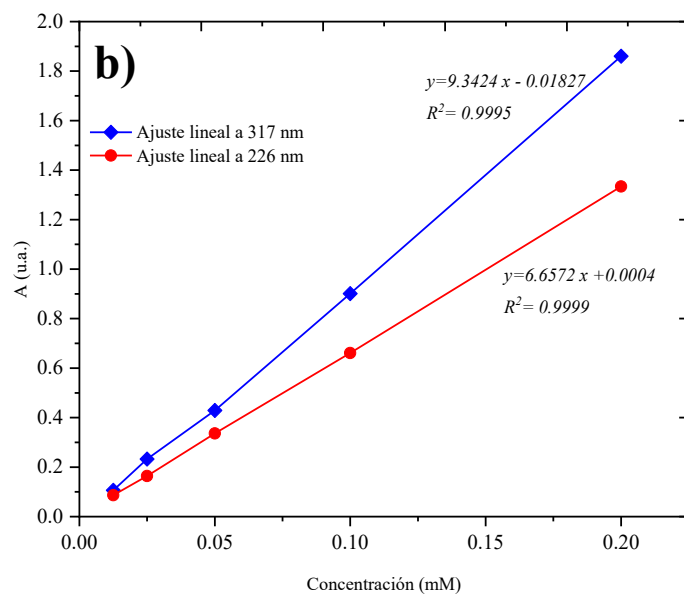
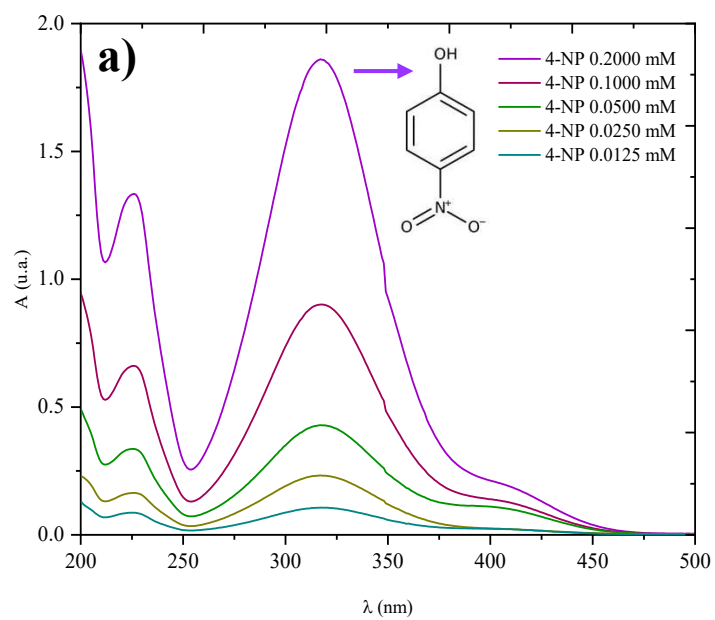


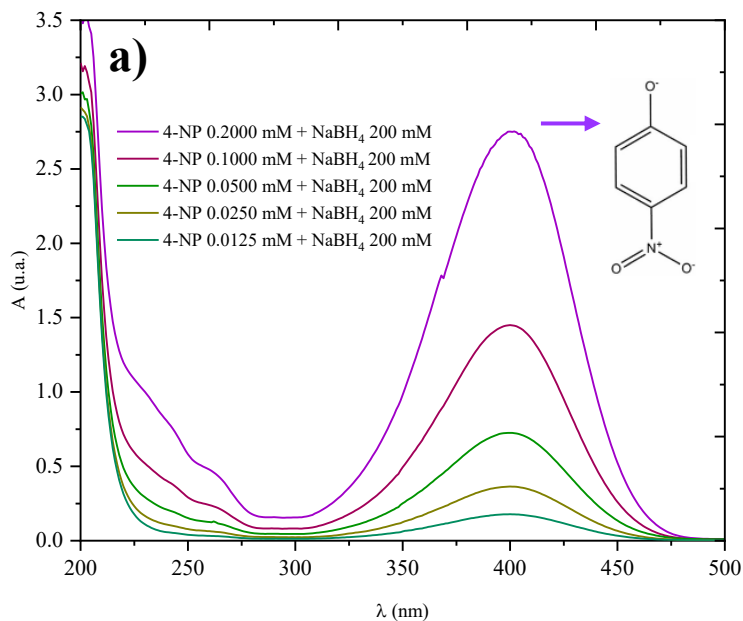
Figura 3.10 a) Absorbancia vs. Longitud de onda para 4-NP a distintas concentraciones y b) ajuste lineal

3.7.1.2. 4-NPO

Al añadir NaBH_4 a la solución acuosa del 4-NP, éste se transforma en su forma iónica 4-nitrofenolato (4-NPO), que absorbe fuertemente alrededor de 400 nm en el espectro UV-Vis. Esta formación se indica visualmente por cambio de color de la solución, de amarillo claro o tenue a un amarillo más intenso y brillante. La banda a esta longitud de onda está asociada a una transición electrónica $\pi \rightarrow \pi^*$ típica de compuestos aromáticos con grupos nitro conjugados, los cuales son clave para monitorear la reacción de reducción hacia 4-AP [58], [59], [98].

A cada una de las concentraciones preparadas de 4-NP se agregaron 0.5 ml de NaBH_4 (200 mM). A través de espectroscopía UV-Vis se observó el desplazamiento de la banda de absorción, de 317 a 401 nm debido a un desplazamiento batocrómico por el desprendimiento del protón del grupo hidroxilo, generando una transición del compuesto fenol a fenóxido [59], [98]. La absorbancia vs. longitud de onda aumentó con el incremento de la concentración y exhibió un comportamiento lineal. La solución presentó un pH de 9, es decir, un medio básico.

La Figura 3.11 muestra la absorbancia vs. longitud de onda en la producción del ion 4-NPO, así como el ajuste lineal para obtener los parámetros de la ecuación de la recta.



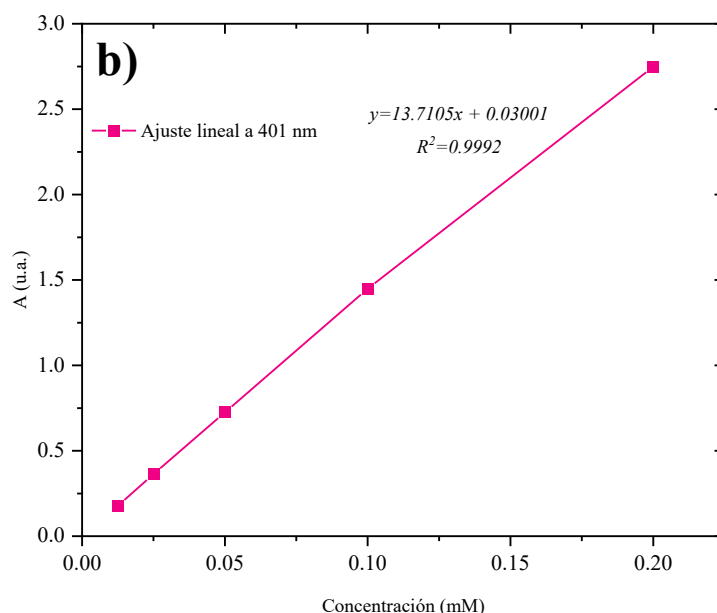


Figura 3.11 a) Absorbancia vs. Longitud de onda para 4-NPO a distintas concentraciones y b) ajuste lineal

3.7.1.3. 4-AP

El 4-AP se obtiene de la reacción de reducción del 4-NP con el NaBH_4 , en presencia de un catalizador. Este compuesto es incoloro y su presencia se evidencia con una banda de absorción a $\lambda_{\text{max}}=301 \text{ nm}$ [59], [60]. Para construir la curva de calibración se usaron las mismas concentraciones del 4-NP. En este caso se formaron dos bandas a diferente longitud de onda: 1) la banda situada en 231 nm está relacionada con una transición electrónica de $\pi \rightarrow \pi^*$ del anillo aromático distintivo de los compuestos fenólicos presentes, y 2) la banda situada en 297 nm se relaciona con una transición electrónica $n \rightarrow \pi^*$ por la presencia de grupos amino ($-\text{NH}_2$) e hidroxilos ($-\text{OH}$), estos grupos tienen pares no enlazantes que pueden participar en transiciones menos intensas [58], [59]. En ambas bandas se observó un incremento gradual con el aumento de la concentración, por lo tanto, este comportamiento se ajustó a una línea recta y se obtuvieron sus parámetros.

La Figura 3.12 muestra la absorbancia vs. longitud de onda para el 4-AP a distintas concentraciones, así como el ajuste lineal para la obtención de los parámetros de la ecuación de la recta.

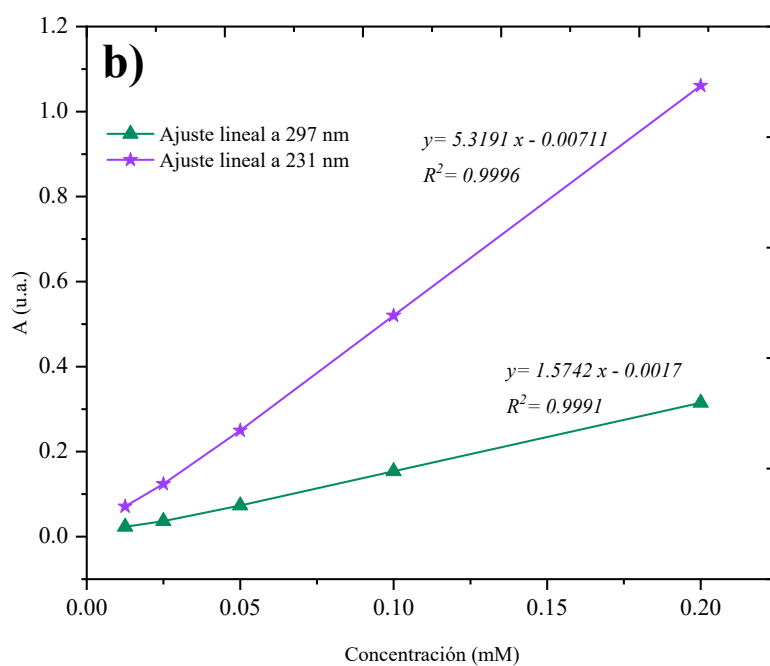
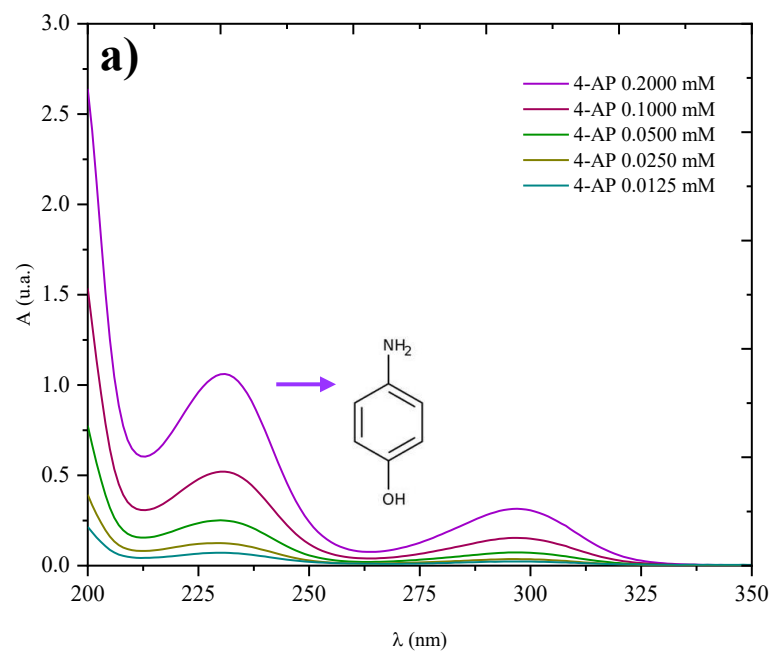


Figura 3.12 a) Absorbancia vs Longitud de onda para 4-AP a distintas concentraciones y b) ajuste lineal

La Tabla 2 presenta los parámetros obtenidos del ajuste lineal de 4-NP, ion 4-NPO y 4-AP:

Tabla 2 Parámetros de la ecuación de la recta obtenidos por regresión lineal para compuestos químicos involucrados en la reacción de reducción del 4-NP

Compuesto	Longitud de onda (nm)	Ordenada al origen (b)	Pendiente (m)	R ²
4-NP	226	0.0004	6.6572	0.9999
	317	-0.01827	9.3424	0.9995
4-NPO	401	0.03001	13.7105	0.9992
4-AP	231	-0.00711	5.3191	0.9996
	297	-0.0017	1.5742	0.9991

Los parámetros se utilizaron para calcular los porcentajes de reducción del 4-NPO a 401 nm, así como la producción de 4-AP a 231 y 297 nm (ver Apéndice B).

3.8.Reducción catalítica del 4-NP empleando NaBH₄ en ausencia de catalizador

Es posible efectuar la reducción del 4-NP utilizando únicamente NaBH₄, sin embargo, el tiempo y porcentaje de consumo dependerán fuertemente de la concentración de agente reductor utilizado. Las reacciones de reducción sin AuNPs para las concentraciones de 100 y 200 mM de NaBH₄ fueron analizadas durante 1200 minutos (20 h) para establecer el tiempo de máxima disminución.

Al emplear 100 mM de NaBH₄, el ion 4-NPO presentó el tono amarillo intenso característico con flujo abundante de H₂, tras 8 h de reacción el cambio entre cada espectro fue mínimo, y se concluyó que la reducción del 4-NP es mínima y requiere más tiempo. Por otra parte, al emplear NaBH₄ a 200 mM se apreció una disminución de las bandas, el transcurso de la reacción permitió monitorear adecuadamente la reducción del ion 4-NPO y producción del 4-AP. El tiempo de máximo consumo fue de 780 min (13 h); la coloración de la solución al término de la reducción fue amarillo pálido sin presencia de burbujas debido al consumo absoluto del hidrógeno durante la reacción.

La Figura 3.13 ilustra los espectros UV-Vis para las reacciones de reducción con NaBH₄ sin AuNPs como catalizador. Es fácil apreciar que una mayor concentración de agente reductor permite reducir un mayor porcentaje de 4-NP debido a la abundancia de H₂, no obstante, el tiempo de reacción elevado no garantiza una disminución total.

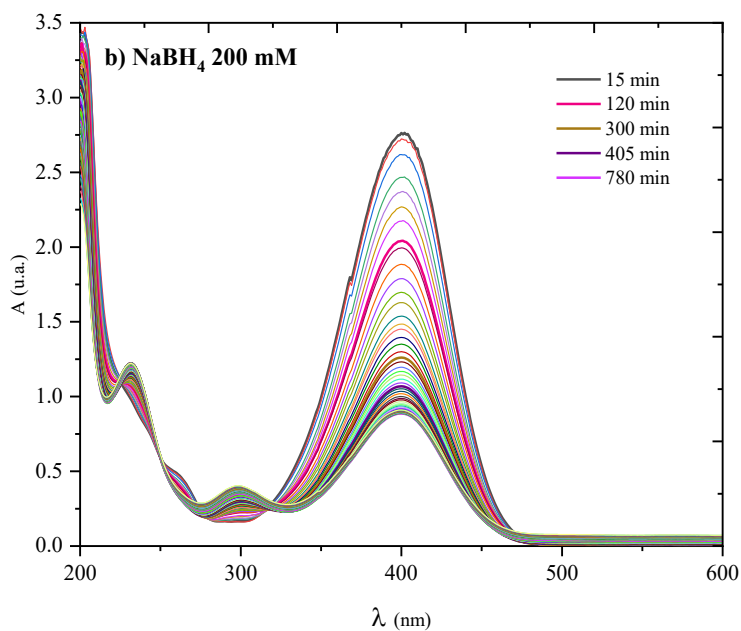
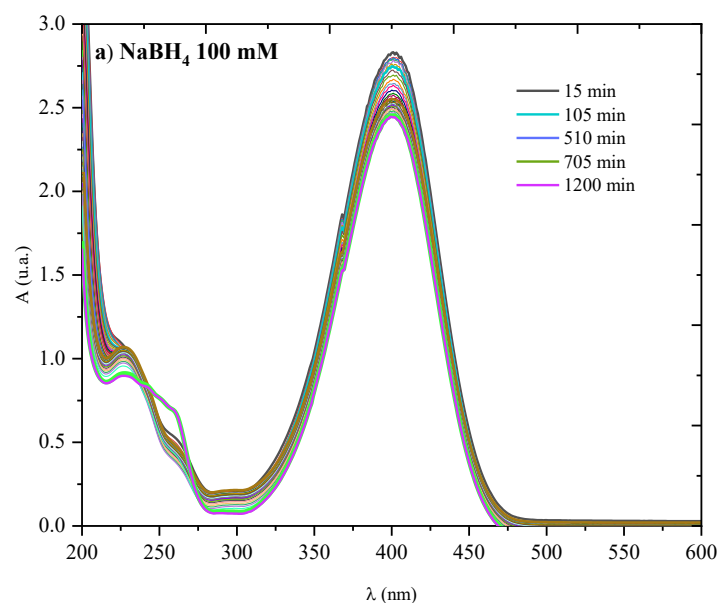


Figura 3.13 Reducción catalítica de 4-NP y NaBH_4 como agente reductor a) 100 mM y b) 200 mM

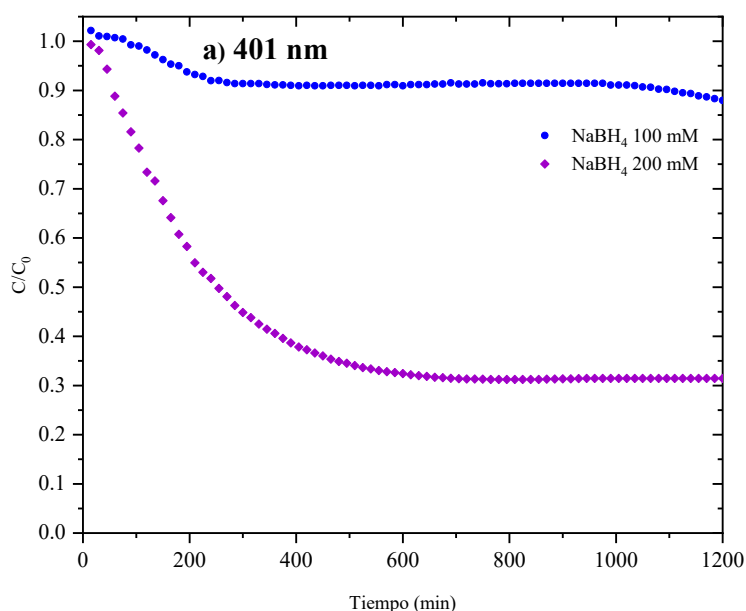
La Figura 3.14 presenta el C/C_0 vs tiempo para analizar la reducción del ion 4-NPO en 401 nm (Fig. 3.14a), y la producción del 4-AP a 231 y 297 nm (Fig. 3.14 b-c) con distintas concentraciones de NaBH_4 sin usar AuNPs como catalizador.

La Figura 3.14a, asociada a 4-NPO, muestra que la reacción de reducción se efectúa rápidamente cuando se emplean 200 mM de NaBH_4 , en 200 min se reduce el 66% de la

concentración total de 4-NP al pasar de 1.0 a 0.44 u.a. En el intervalo de 200-500 min el sistema decrece progresivamente hasta alcanzar el equilibrio en $t=600$ minutos. Este comportamiento se mantiene hasta 1200 min cuando se logra una reducción máxima del 68%. Por el contrario, cuando se emplean 100 mM de NaBH_4 , la reacción de reducción disminuye lentamente, en $t=240$ min alcanza un porcentaje de disminución del 9%, pasa de 1 a 0.91 u.a., posterior a este tiempo el sistema se mantiene constante alcanzando una reducción del 5%, al sumar ambos porcentajes solo reduce el 14% de la concentración total de 4-NP.

En la Figura 3.14b, asociada a la producción de 4-AP en 231 nm, se observa que al emplear NaBH_4 200 mM hay un incremento progresivo, desde 0.16 a 0.38 u.a., dando como resultado una producción del 87% de 4-AP. Por otra parte, al emplear NaBH_4 100 mM, pasa de 1.87 a 1.95 u.a. sugiriendo la producción del 70% de este compuesto, posteriormente, en $t=975$ min el comportamiento de absorbancia disminuye hasta terminar la reacción.

La Figura 3.14c corresponde a la producción de 4-AP a 297 nm. La reacción de reducción que emplea 200 mM de NaBH_4 , aumentó de 0.5 a 1.2 u.a. indicando la formación del 87% de la producción total de 4-AP. Por otro lado, cuando se emplean 100 mM de NaBH_4 , se obtiene un porcentaje de producción del 98%; sin embargo, se percibe un descenso en $t=930$ min sugiriendo una disminución en la producción de 4-AP tras la catálisis por adsorción parcial del compuesto [99].



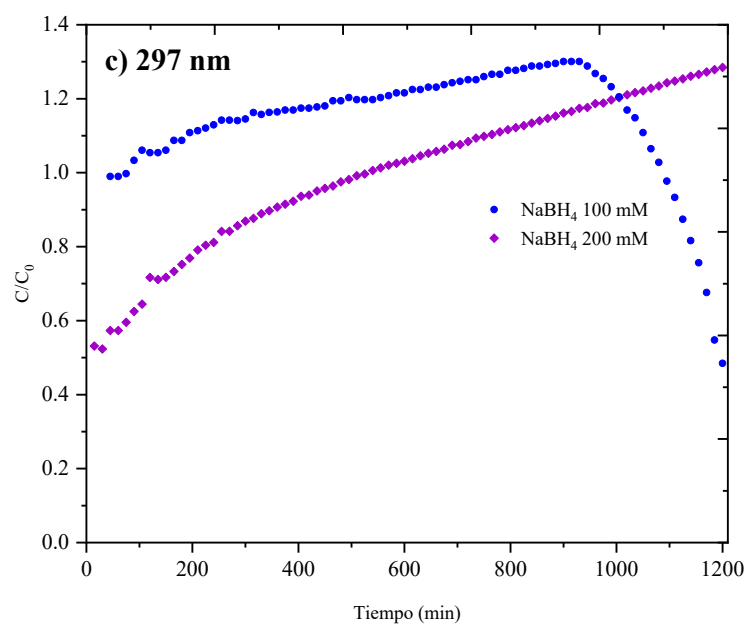
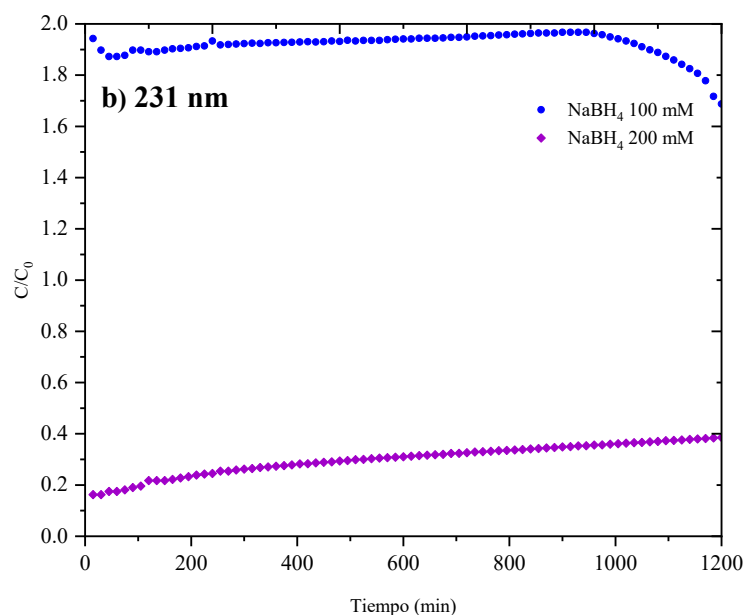


Figura 3.14 C/C_0 vs tiempo a distintas concentraciones de NaBH_4 en a) reducción del 4-NPO a 401 nm y producción del 4-AP a b) 231 nm y c) 297 nm

Los resultados anteriores establecen que es posible desarrollar la reducción del 4-NP con NaBH_4 en ausencia de catalizador, no obstante, el tiempo de reacción es muy prolongado y no garantiza la disminución al 100%.

3.9.Reducción catalítica del 4-NP con NaBH₄ y AuNPs como catalizador

En este apartado se presentan los resultados de la reducción catalítica del 4-NP con AuNPs como catalizador, evaluando la reducción del ion 4-NPO, así como la producción del 4-AP.

3.9.1. Catálisis con 0.125 ml de AuNPs

El estudio de la reducción catalítica de 4-nitrofenol (4-NP) a 4-aminofenol (4-AP) se realizó usando 0.125 mL de AuNPs en presencia de NaBH₄ (100 y 200 mM). La Figura 3.15 muestra la evolución del espectro UV-Vis durante la catálisis.

La Figura 3.15a muestra que al emplear 100 mM de NaBH₄ la banda del ion 4-NPO a 401 nm disminuye gradualmente, logrando una reducción del 97% en 15 minutos, de manera simultánea, se observa un incremento en la banda a 231 nm, lo cual confirma parcialmente la producción del 4-AP durante la reacción, formándose 54% de este compuesto. Por otra parte, cuando se emplea 200 mM de NaBH₄ se consume el mismo porcentaje del ion 4-NPO, pero en menor tiempo (12 minutos), y se produce 55% de 4-AP.

La banda asociada al 4-AP en la región comprendida entre 297 y 301 nm difiere de estudios reportados por diversos autores en la reducción del 4-NP [4] [99]. El comportamiento habitual en esta región se caracteriza por el incremento en la intensidad en el transcurso de la reacción. En ambas figuras se aprecia que en t=1 min se produce una banda de máxima absorción equivalente a la producción de 4-AP de 65 y 71% para 100 y 200 mM, respectivamente. Después de este tiempo la intensidad de la señal disminuye y se atribuye a la superposición de señales espectrales del extracto y del 4-AP [60].

El extracto acuoso de muicle exhibe una banda de absorción en 324 nm la cual coincide con la absorción UV de compuestos orgánicos de la planta como antocianinas, flavonoides, polifenoles, etc., los cuales se superponen a la señal del 4-AP en 301 nm, de modo que, al iniciar la reacción ambas contribuyen a la absorbancia total en esta región [61], [69].

Las antocianinas son inestables ante factores físicos y químicos como el pH, la temperatura, el oxígeno, la luz, las enzimas, los azúcares, los pigmentos, entre otros factores [100] [69]. Se encuentran en cuatro formas químicas diferentes, las cuales dependen del pH de la solución, por ejemplo: a pH=1 las antocianinas se encuentran en forma del *cation flavilio* que las hace muy solubles en agua, cuando el pH aumenta entre 2-4 la especie *azul quinoidal* se encuentra abundantemente, mientras que a un pH entre 5-6 aparecen *pseudobases carbinol* y *chalconas* que son compuestos incoloros. El surgimiento del compuesto orgánico *catecol* (también denominado *pirocatecol*) en pH=7 o superior indica degradación de productos [69], [100]; en vista de que la reacción se efectúa en un medio básico por la presencia del NaBH₄

(pH=9), los compuestos del extracto tienden a degradarse debido a que son estables únicamente en medio ácido ($\text{pH} \leq 3$), por lo que, al no tener estabilidad reducen significativamente su absorción en el espectro UV-Vis, debido a la modificación estructural molecular por variaciones de pH [69] [100].

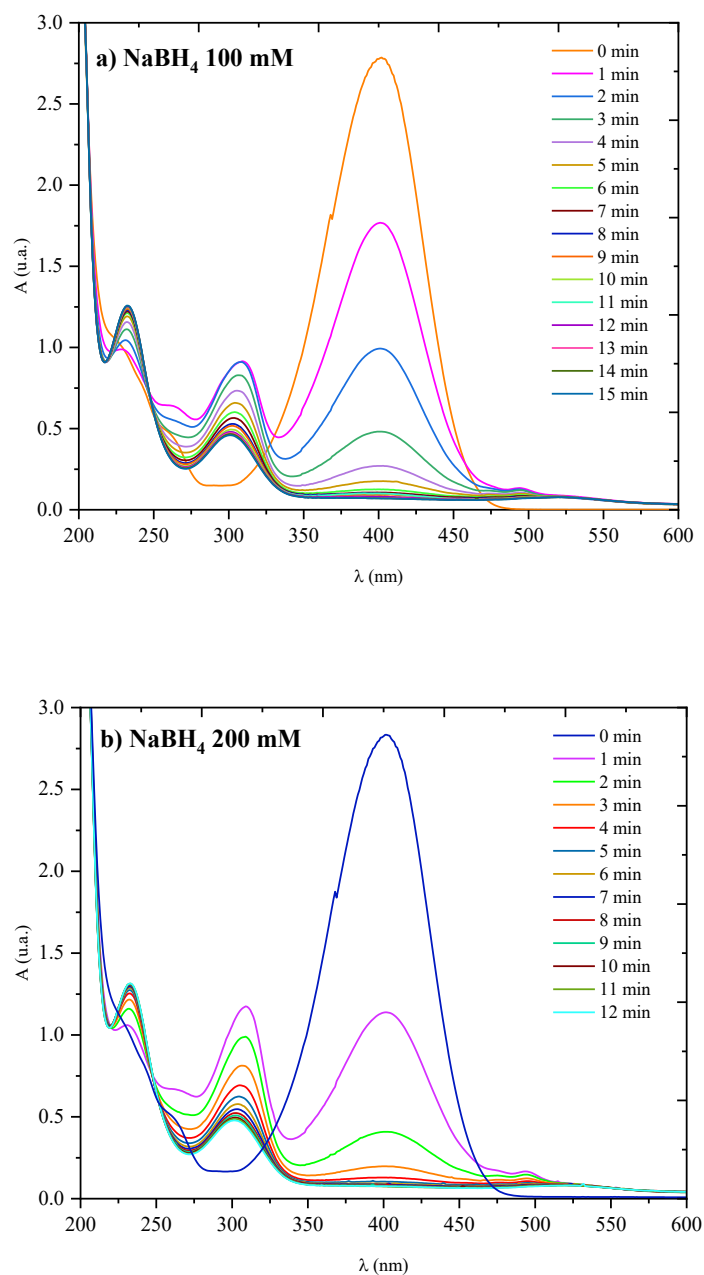


Figura 3.15 Respuesta espectral de la catálisis del 4-NP con 0.125 ml de AuNPs para diferentes concentraciones de NaBH_4 a) 100 mM y b) 200 mM

La Figura 3.16 presenta C/C_0 vs tiempo de la reducción del 4-NPO (Fig. 3.16a) a una longitud de onda de 401 nm, así como la formación de 4-AP a 231 y 297 nm (Fig. 3.16 b-c), en presencia de 0.125 ml de AuNPs como catalizador.

En la Figura 3.16a se observa que ambas concentraciones de NaBH_4 muestran una reducción rápida. La curva de 200 mM pasa de 1 a 0.40 u.a. en el primer minuto, es decir, se consume el 60% del ion 4-NPO, y después de 3 min el porcentaje de reducción es del 97%.

Para 100 mM, en el primer minuto, el descenso va de 1 a 0.6 u.a. que corresponde al 40%, en 3 min el 90%, y después de 5 min se alcanza el porcentaje máximo de reducción del 97%. Lo anterior indica que el exceso de NaBH_4 acelera la velocidad de reducción, por lo tanto, hay mayor transferencia de electrones por unidad de tiempo en la superficie de las AuNPs [101].

La Figura 3.16b corresponde a la formación de 4-AP a 231 nm, ambas curvas muestran un incremento desde $t=0$ min hasta 12 min. En el primer minuto hay un leve aumento en ambas curvas, la banda de 200 mM aumenta más rápido que la de 100 mM, el porcentaje de producción corresponde al 54 y 55 % para las concentraciones de 100 y 200 mM, respectivamente.

El porcentaje de producción obtenido se encuentra por debajo del valor esperado (~60%) debido a la adsorción de 4-AP sobre AuNPs, dado que, el recubrimiento orgánico favorece la retención, así como reacciones secundarias como: oxidación, acoplamiento y degradación por compuestos del extracto [2].

Finalmente, el comportamiento en la Figura 3.16c para la producción del 4-AP a 297 nm describe una señal máxima en $t=1$ min para ambas concentraciones luego desciende continuamente hasta estabilizarse entre 12 y 15 minutos. El comportamiento descendente coincide con la explicación realizada en la Figura 3.15 debido a interferencias del extracto de muicle, así como fenómenos dinámicos, tales como: degradación de pigmentos, adsorción/desorción de AuNPs, así como formación y desaparición de especies intermedias [68], [69]. Para la curva de 200 mM se produce el 71%, mientras que, para 100 mM se obtiene el 65% de la producción total de 4-AP.

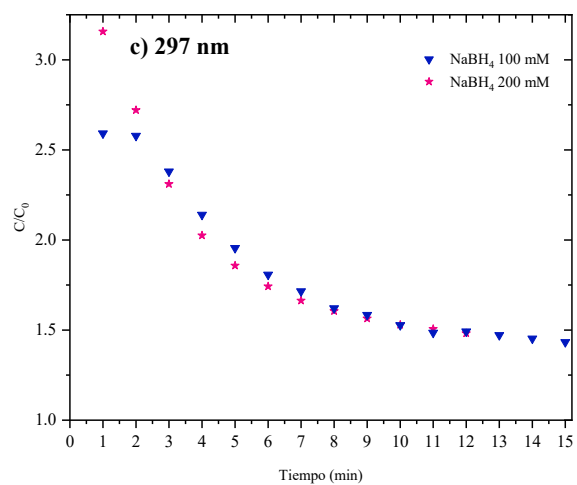
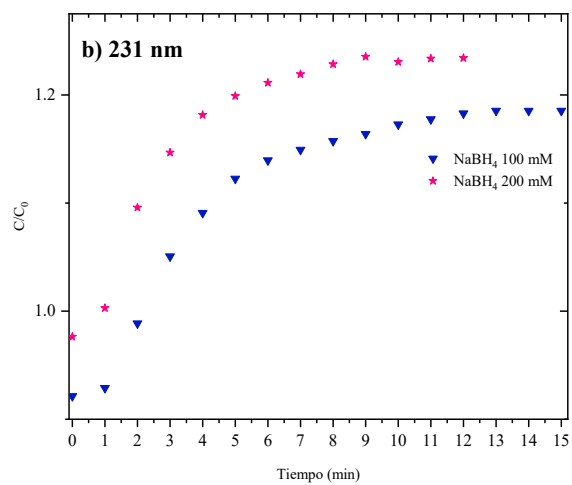
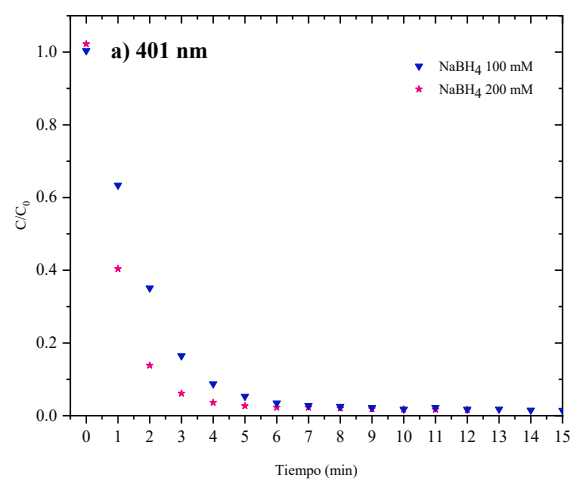


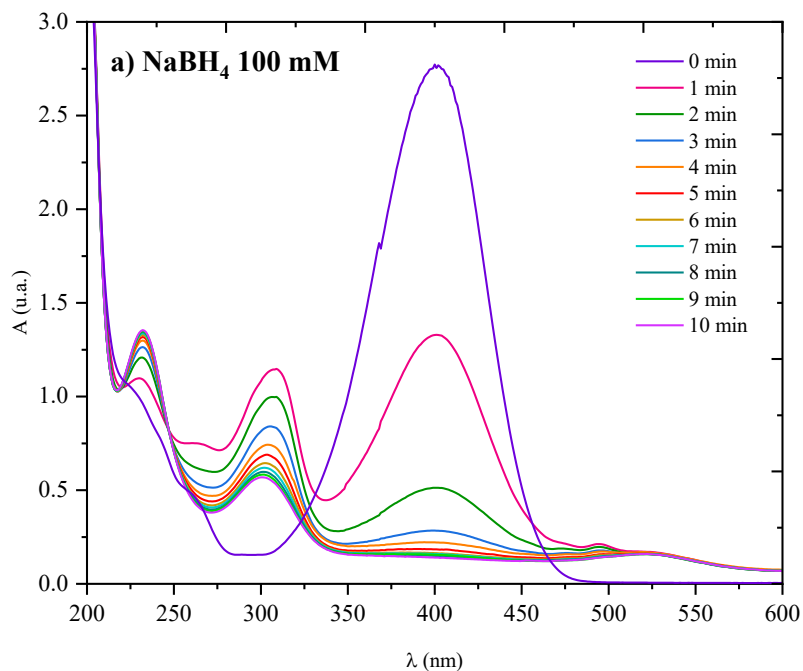
Figura 3.16 C/C_0 vs tiempo para a) reducción del 4-NPO a 401 nm y formación de 4-AP a b) 231 nm y c) 297 nm con 0.125 ml de AuNPs como catalizador a distintas concentraciones de NaBH_4 .

Se determinó la velocidad de reacción en la reducción del 4-NPO (Figura 3-16a) para determinar la constante de velocidad empleando 0.125 ml de AuNPs (ver Apéndice C).

3.9.2. Catálisis con 0.25 ml de AuNPs

La Figura 3.17 muestra la evolución del espectro UV-Vis durante la catálisis del 4-NP al utilizar 0.25 ml de AuNPs como catalizador.

La reducción en la banda del 4-NPO se realiza en menor tiempo para la concentración de NaBH_4 de 200 mM, logrando un porcentaje de reducción del 95% en 8 minutos, mientras que, para 100 mM se obtiene el mismo porcentaje después de 10 minutos de reacción. El comportamiento de la curva de producción del 4-AP a 231 nm, incrementa y se obtiene el 51 y 53% para las concentraciones de NaBH_4 de 200 y 100 mM, respectivamente. El comportamiento espectral del 4-AP a 297 nm se mantiene debido a la degradación de moléculas orgánicas del extracto; se concluye que las AuNPs con un volumen de 0.25 ml son efectivas debido a que logran conversiones muy altas en pocos minutos.



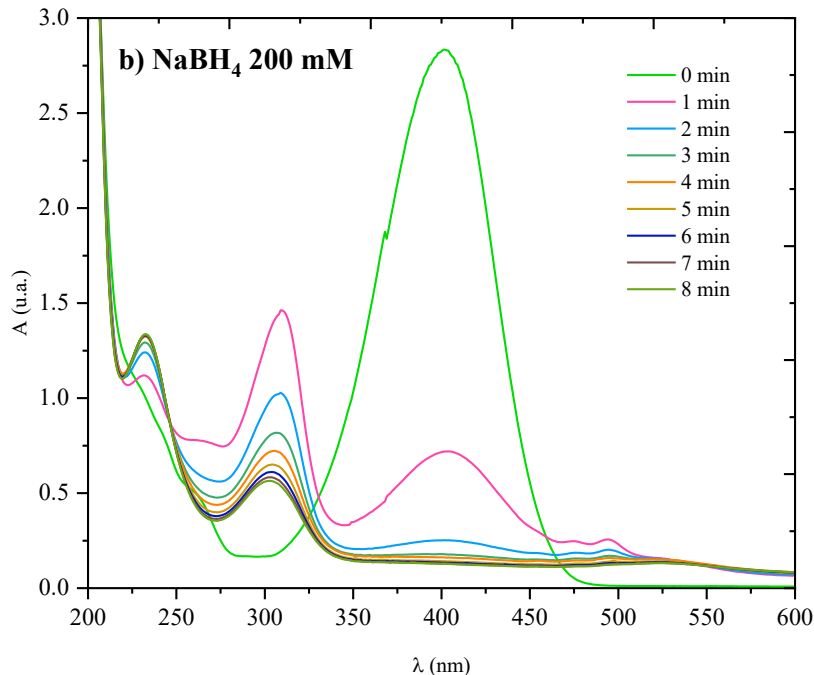


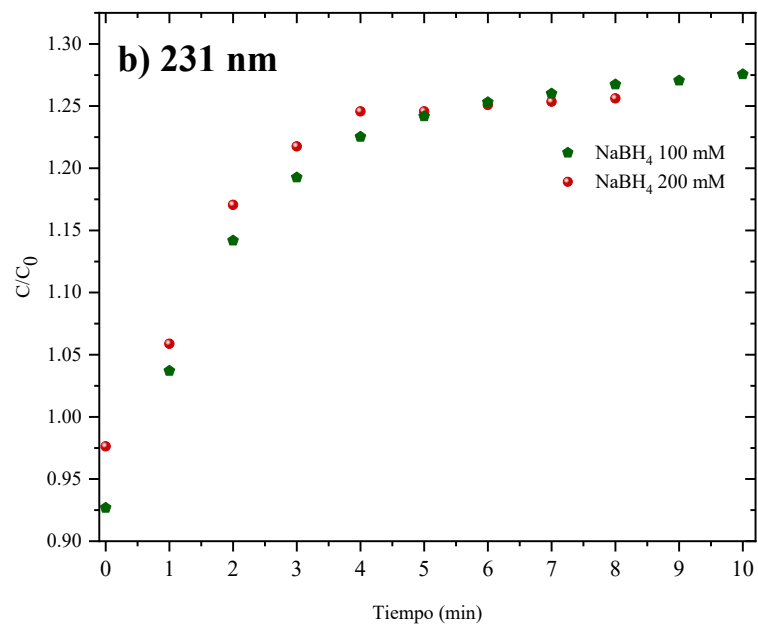
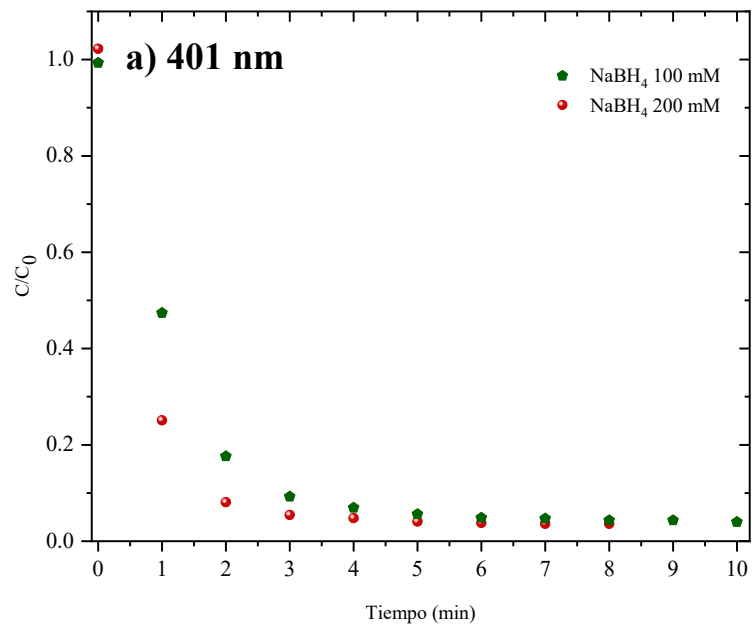
Figura 3.17 Respuesta espectral de la catálisis del 4-NP con 0.25 ml de AuNPs para diferentes concentraciones de NaBH_4 a) 100 mM y b) 200 mM

La Figura 3.18 presenta C/C_0 vs tiempo durante la reducción del 4-NPO a una longitud de onda de 401 nm (Fig. 3.18a), así como la formación de 4-AP a 231 y 297 nm (Fig. 3.18 b-c), en presencia de 0.25 ml de AuNPs como catalizador.

En la Figura 3.18a se observa que la reducción del 4-NPO ocurre más rápido para la concentración de 200 mM. En $t=1$ min se logra una reducción de 1 a 0.25 u.a. que corresponde al 75% de la reducción, de 2-4 minutos 94% y después de 5 minutos el 95%. La concentración de 100 mM realiza una reducción de absorbancia de 1 a 0.48 u.a. en el primer minuto, que corresponde al 52% de reducción, de 2-4 minutos 94% y después de 8 minutos el 95%.

En la Figura 3.18b las dos curvas aumentan a partir de $t=0$ min debido al aumento progresivo en la producción de 4-AP. La curva de 200 mM incrementa más rápido, sin embargo, la curva de 100 mM muestra un mayor porcentaje de producción. Los porcentajes corresponden al 51 y 53% para las concentraciones de NaBH_4 de 200 y 100 mM, respectivamente.

En la Figura 3.18c, que corresponde a la banda del 4-AP a 297 nm exhibe como ambas curvas adquieren en $t=1$ min el máximo porcentaje de producción del 58 y 62% para las concentraciones de 100 y 200 mM, respectivamente. Después del primer minuto de reacción, ambas curvas disminuyen continuamente hasta $t=10$ minutos, sin embargo, la concentración de 200 mM lo hace más rápido.



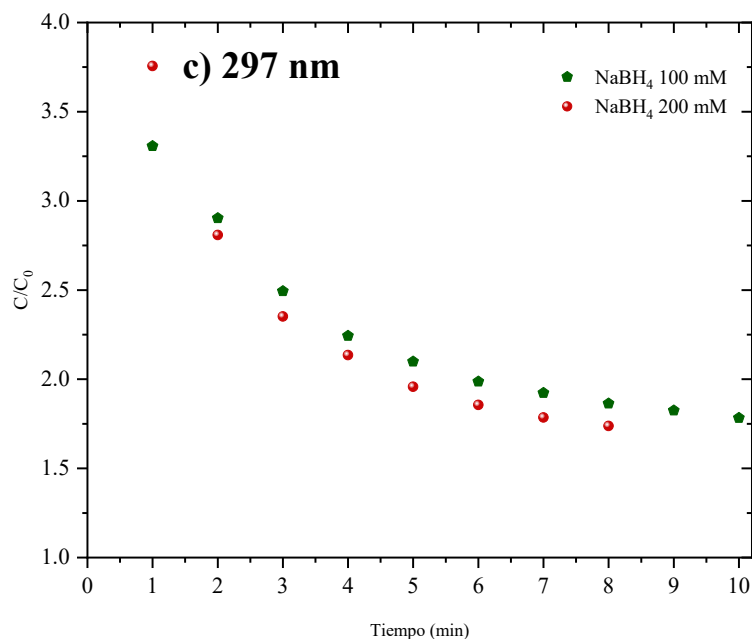


Figura 3.18 C/C_0 vs tiempo para a) reducción del 4-NPO a 401 nm y formación de 4-AP a b) 231 nm y c) 297 nm con 0.25 ml de AuNPs como catalizador a distintas concentraciones de NaBH₄.

3.9.3. Catálisis con 0.5 ml de AuNPs

La Figura 3.19 muestra la evolución del espectro UV-Vis durante la catálisis del 4-NP al utilizar 0.5 ml de AuNPs como catalizador.

Las dos concentraciones de NaBH₄ (100 y 200 mM) desempeñan la actividad catalítica en el mismo tiempo, y se obtienen porcentajes de reducción del 90% y 92%, respectivamente. En ambas curvas se aprecia el plasmón SPR de las AuNPs en 535 nm debido a un exceso de catalizador, por lo tanto, parte de estas nanopartículas que no reaccionaron quedan suspendidas en la solución. Con base en lo anterior, se concluye que un mayor volumen de nanopartículas acelera la velocidad de la reacción, pero no reduce en su totalidad al 4-NPO. La banda del 4-AP a 231 nm, incrementa gradualmente en ambas concentraciones, el porcentaje de producción a esta longitud de onda corresponde al 46 y 51% para las concentraciones de NaBH₄ de 100 y 200 mM, correspondientemente. Al igual que en los volúmenes anteriores, el comportamiento de la banda del 4-AP a 297 nm se mantiene constante.

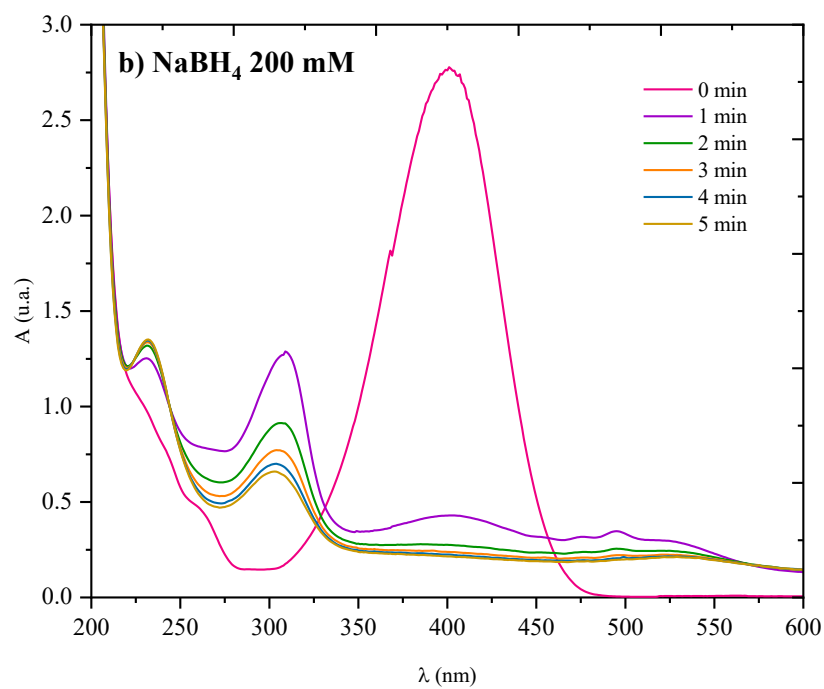
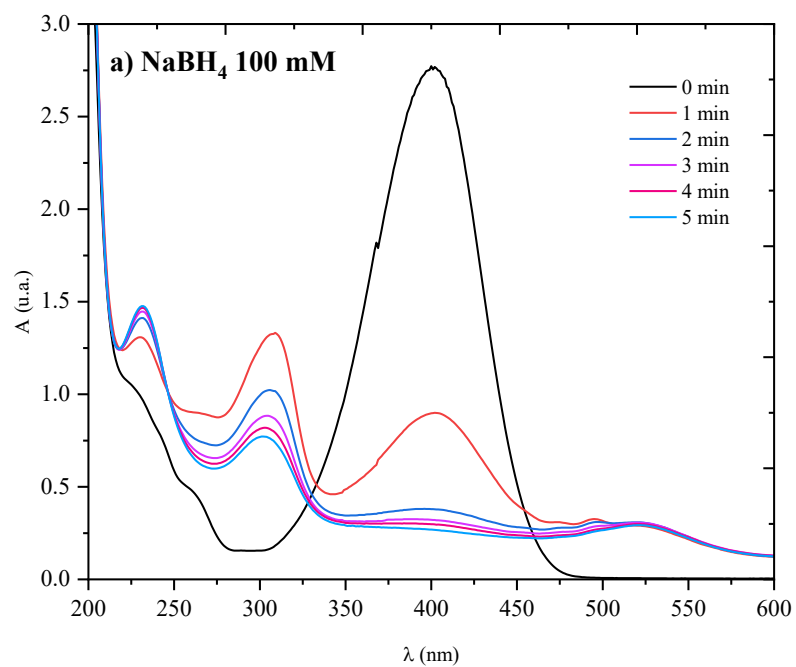
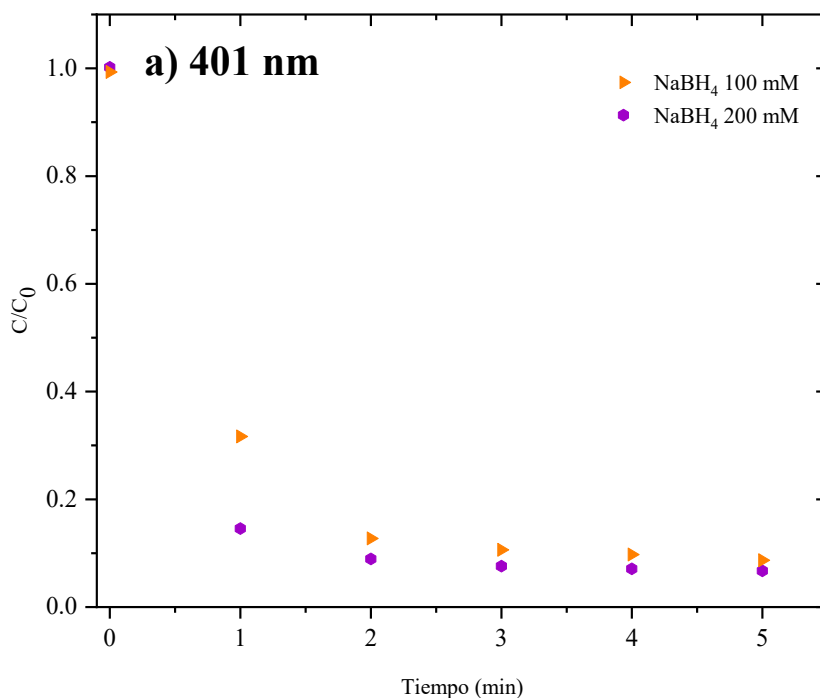


Figura 3.19 Respuesta espectral de la catálisis del 4-NP con 0.5 ml de AuNPs para diferentes concentraciones de NaBH_4 a) 100 mM y b) 200 mM

La Figura 3.20 presenta C/C_0 vs tiempo durante la reducción del 4-NPO a una longitud de onda de 401 nm (Fig. 3.20a), así como la formación de 4-AP a 231 y 297 nm (Fig. 3.20 b-c), en presencia de 0.5 ml de AuNPs como catalizador.

En la Figura 3.20a se observa que la reducción del 4-NPO ocurre más rápido para la concentración de 200 mM, al lograr una reducción de 1 a 0.14 u.a. que corresponde al 86% de reducción en el primer minuto, después de 2 minutos el sistema se mantiene estable y se logra un porcentaje máximo de reducción del 92%. Por otra parte, a 100 mM la reducción en el primer minuto va de 1 a 0.31 u.a. que corresponde al 69%, luego la curva disminuye hasta $t=5$ min donde se reduce el 90% del 4-NPO.

En la Figura 3.20b ambas curvas aumentan progresivamente desde $t=0$ min debido a la producción del 4-AP durante la reacción. La curva de 100 mM es más prolongada respecto a la de 200 mM y ambas son estables después de 5 minutos. Por último, en la Figura 3.20c en $t=1$ min las curvas adquieren un porcentaje de producción de 4-AP del 56 y 64% para 100 y 200 mM, respectivamente.



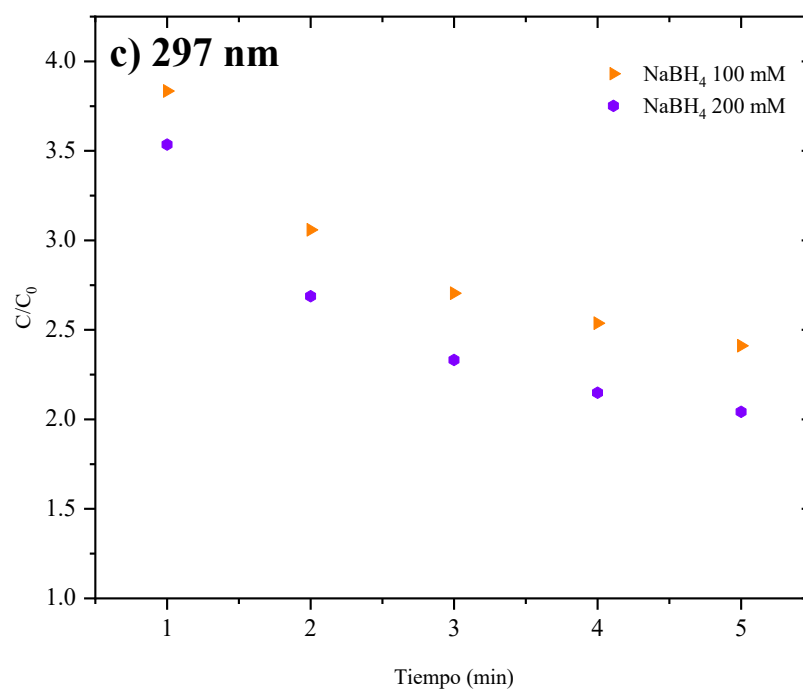
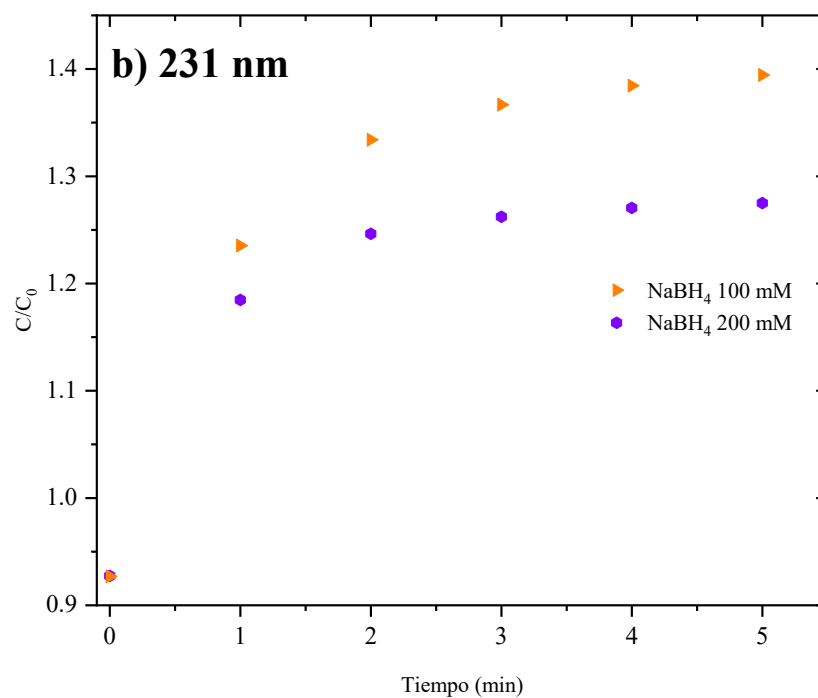


Figura 3.20 C/C_0 vs tiempo para a) reducción del 4-NPO a 401 nm y formación de 4-AP a b) 231 nm y c) 297 nm con 0.5 ml de AuNPs como catalizador a distintas concentraciones de NaBH_4 .

3.9.4. Catálisis con 1 ml de AuNPs

La Figura 3.21 muestra la evolución del espectro UV-Vis durante la catálisis del 4-NP al utilizar 1 ml de AuNPs como catalizador.

La Figura 3.21a muestra cómo se requieren 8 min para reducir al 4-NPO en un 84% con NaBH_4 100 mM, mientras que, para 200 mM la reducción ocurre en 3 min y se obtiene un porcentaje del 86%. En ambas curvas se aprecia el plasmón SPR de las AuNPs a 535 nm después de reacción catalítica. La banda del 4-AP a 231 nm incrementó gradualmente y produjo el 38 y 46% para las concentraciones de NaBH_4 de 100 y 200 mM, respectivamente.

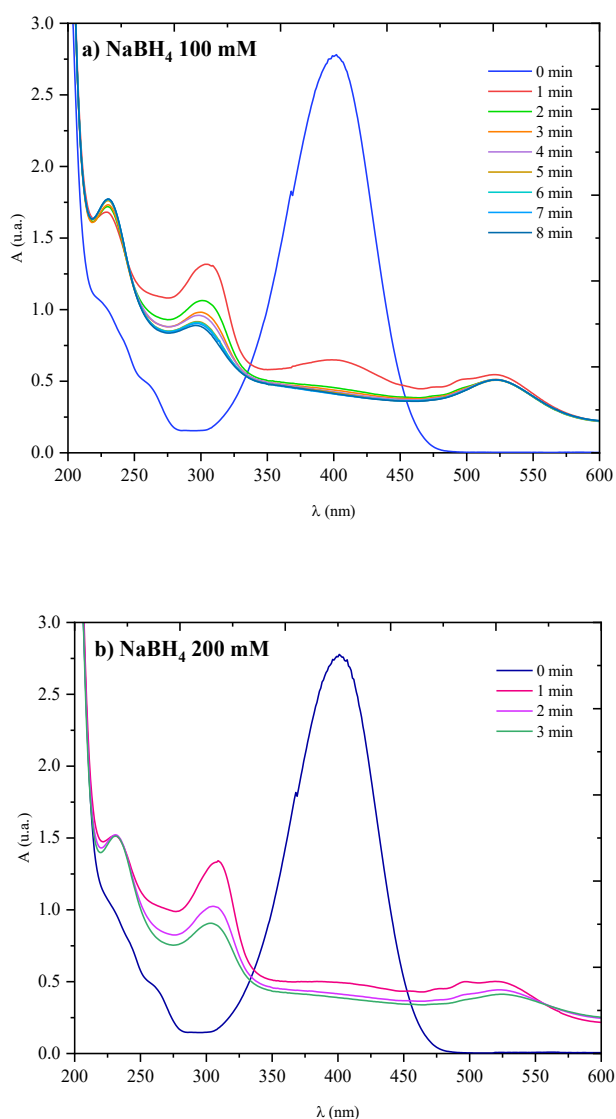
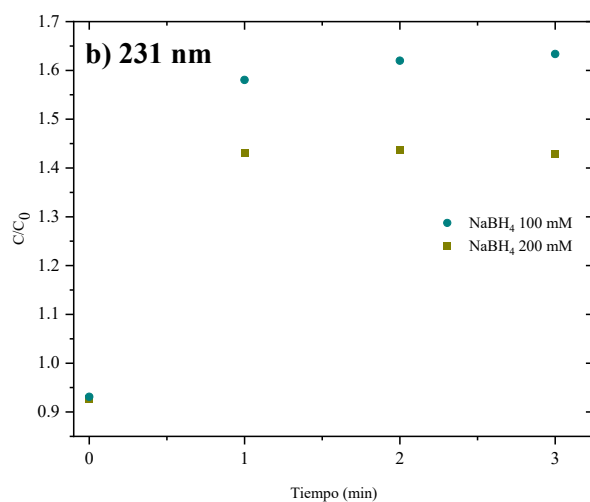
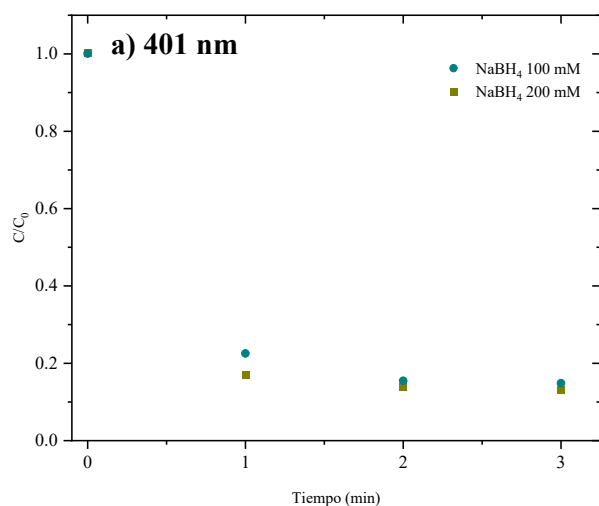


Figura 3.21 Respuesta espectral de la catálisis del 4-NP con 1 ml de AuNPs para diferentes concentraciones de NaBH_4 a) 100 mM y b) 200 mM

La Figura 3.22 presenta C/C_0 vs tiempo durante la reducción del 4-NPO a una longitud de onda de 401 nm (Fig. 3.22a), así como la formación de 4-AP a 231 y 297 nm (Fig. 3.22 b-c), en presencia de 1 ml de AuNPs como catalizador.

En la Figura 3.22a se observa que la reducción del 4-NPO ocurre de manera simultánea para ambas concentraciones, la reducción va de 1 a 0.16 u.a. que corresponde al 84% del compuesto consumido en el primer minuto para 100 mM y del 86% para la concentración de NaBH_4 de 200 mM. En la Figura 3.22b las curvas aumentan desde $t=0$ min hasta $t=3$ min, la curva de 100 mM crece más rápido con respecto a la de 200 mM. En la Figura 3.22c ambas curvas adquieren el mayor porcentaje de producción en $t=1$ min del 54 y 56% para las concentraciones de NaBH_4 de 100 y 200 mM, respectivamente. Entre 2 y 6 min disminuye la banda como resultado de la degradación de antocianinas del extracto y después de 7 min el comportamiento de las curvas se mantiene constante.



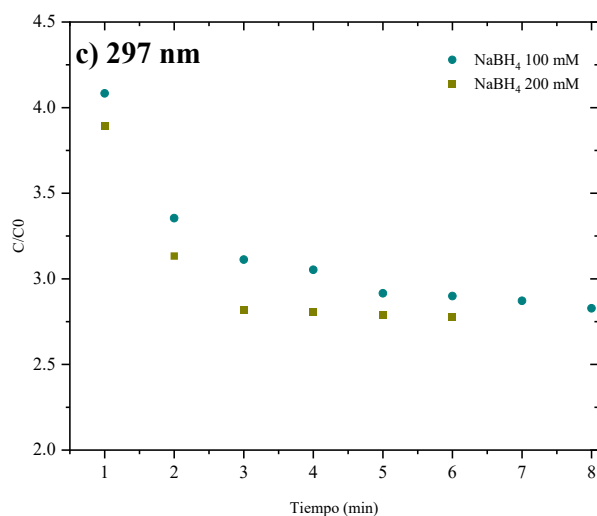


Figura 3.22 C/C_0 vs tiempo para a) reducción del 4-NPO a 401 nm y formación de 4-AP a b) 231 nm y c) 297 nm con 1 ml de AuNPs como catalizador a distintas concentraciones de NaBH₄.

El comportamiento de la banda de 4-AP a 297 nm para todos los volúmenes de AuNPs y concentraciones de NaBH₄ sugiere que dicho fenómeno no depende de la cantidad de catalizador ni de agente reductor. En cambio, parece estar determinado por la composición del sistema, específicamente por presencia de las moléculas orgánicas del extracto acuoso, estas moléculas al actuar como agentes estabilizantes (*capping*), pueden modificar el entorno superficial de las nanopartículas e influir en la respuesta espectroscópica observada. Por tal motivo, aunque el NaBH₄ y las AuNPs contribuyen en acelerar la velocidad de reducción del 4-NP, la señal del extracto sigue ejerciendo una influencia notable en el comportamiento espectral final del sistema.

Con base en la información anterior, la Tabla 3 presenta la comparación de la reducción catalítica del 4-NP utilizando diferentes volúmenes de AuNPs como catalizador. La conversión catalítica se obtuvo tomando los valores de absorbancia al inicio (A_0) y al término de la reducción (A_t), para cada volumen de AuNPs, después estos valores se sustituyen en la ecuación 2.2.

Tabla 3 Conversión catalítica a distintos volúmenes de AuNPs

Concentración de NaBH ₄ (mM)	Volumen de AuNPs (mL)	Conversión catalítica (%)	Tiempo de reducción (min)
100	0.125	97	15
	0.25	95	10
	0.5	90	5
	1	84	8
200	0.125	97	12
	0.25	95	8
	0.5	92	5
	1	86	3

CONCLUSIONES

El enfoque de química verde para la síntesis de AuNPs representa una alternativa novedosa, accesible y sustentable que sustituye el uso de agentes reductores contaminantes, condiciones de operación elevadas y altos costos de producción por la implementación de extractos acuosos de plantas, los cuales poseen una diversidad de compuestos fitoquímicos que actúan como agentes reductores y estabilizantes durante la síntesis de las nanopartículas metálicas. El extracto de *Justicia Spicigera Schltdl* se desempeñó favorablemente durante la reducción de los iones de Au para obtener nanopartículas con morfología cuasi esférica y con un tamaño de partícula promedio de 13.5 nm, de acuerdo con los resultados obtenidos por espectroscopia UV-Visible y Dispersión de Luz Dinámica, respectivamente.

Las propiedades fisicoquímicas evidenciadas en cada técnica de caracterización destacaron el potencial de las AuNPs para aplicarse significativamente como catalizadores en la reducción del 4-NP. La reducción catalítica con NaBH₄ sin AuNPs demostró que es posible reducir el 68% del ion 4-NPO, no obstante, se requiere un elevado tiempo de reacción que, en términos energéticos el espectrofotómetro demanda un alto consumo de energía para complementar en su totalidad la reducción, lo cual es inadmisibles en la síntesis por ruta verde. Por su parte, al aplicarse 0.125 ml de AuNPs como catalizador se logró una reducción del 97% del 4-NP en 12 minutos, a diferencia de investigaciones reportadas se obtuvo un mayor porcentaje de producción de 4-AP en ambas longitudes de onda y no hubo AuNPs residuales después de la reacción.

Las AuNPs biosintetizadas utilizando el extracto acuoso de muicle poseen propiedades fisicoquímicas intrínsecas que aún necesitan ser exploradas empleando técnicas de caracterización avanzadas, no obstante, su desempeño en esta investigación traza nuevas líneas de investigación para su aplicación en biorremediación ambiental y su incursión en otras disciplinas de aplicación de la nanotecnología moderna.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] I. Jamil *et al.*, “A review of the gold nanoparticles’ Synthesis and application in dye degradation,” *Cleaner Chemical Engineering*, vol. 10, p. 100126, Oct. 2024, doi: 10.1016/j.clce.2024.100126.
- [2] A. O. Cardoso Juarez, E. I. Ocampo López, M. K. Kesarla, and N. K. Reddy Bogireddy, “Advances in 4-Nitrophenol Detection and Reduction Methods and Mechanisms: An Updated Review,” Jul. 25, 2024, *American Chemical Society*. doi: 10.1021/acsomega.4c04185.
- [3] N. K. Reddy Bogireddy, “Nuevos bio-nanomateriales para remediación ambiental,” Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, 2020. doi: 10.13140/RG.2.2.30330.93122.
- [4] E. Silva Beltrán, N. K. R. Bogireddy, and V. Agarwal, “Aplicación de nanopartículas para remoción de 4-nitrofenol en sistemas acuosos,” *Ingeniería Investigación y Tecnología*, vol. 25, no. 3, pp. 1–7, Jul. 2024, doi: 10.22201/fi.25940732e.2024.25.3.023.
- [5] K. Deka *et al.*, “Understanding the mechanism underlying the green synthesis of metallic nanoparticles using plant extract(s) with special reference to Silver, Gold, Copper and Zinc oxide nanoparticles,” Jun. 01, 2025, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.hybadv.2025.100399.
- [6] S. M. Ghoreishi and S. Mortazavi-Derazkola, “Eco-friendly synthesis of gold nanoparticles via tangerine peel extract: Unveiling their multifaceted biological and catalytic potentials,” *Heliyon*, vol. 11, no. 1, Jan. 2025, doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e40104.
- [7] M. Z. Lafta, R. R. Hameed Al-Samarrai, and M. Bouaziz, “Green synthesis of silver and gold nanoparticles using quercetin extracted from *Arctium lappa* by HPLC, Characterization and Estimation of antioxidant activity,” *Results Chem*, vol. 13, Jan. 2025, doi: 10.1016/j.rechem.2025.102028.
- [8] N. Tepale, E. Flores-Aquino, V. V. A. Fernández-Escamilla, L. A. Conde-Hernández, and Y. Estrada-Girón, “Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using Extracts of *Terminalia catappa*, *Hippocratea excelsa*, and Biodegradable Polymers (Pluronic F127 and P103),” *Egypt J Chem*, vol. 68, no. 6, pp. 91–102, Jun. 2025, doi: 10.21608/EJCHEM.2024.297606.9875.
- [9] A. Santos-Espinoza, F. Gutiérrez-Miceli, V. Ruíz-Valdiviezo, and J. Montes-Molina, “El papel de los compuestos polifenólicos en la síntesis verde de nanopartículas metálicas,” *BioTecnología*, vol. 24, no. 2, p. 46, 2020.
- [10] M. Ramli *et al.*, “Influence of various concentrations of chloroauric acid on the fabrication of gold nanoparticles: Green synthesis using *Elaeis guineensis* Jacq leaf extract and characterizations,” *Results in Surfaces and Interfaces*, vol. 17, Oct. 2024, doi: 10.1016/j.rsufi.2024.100317.
- [11] N. Hutchinson *et al.*, “Green synthesis of gold nanoparticles using upland cress and their biochemical characterization and assessment,” *Nanomaterials*, vol. 12, no. 1, Jan. 2022, doi: 10.3390/nano12010028.
- [12] A. Sett, M. Gadewar, P. Sharma, M. Deka, and U. Bora, “Green synthesis of gold nanoparticles using aqueous extract of *Dillenia indica*,” *Advances in Natural Sciences*:

Nanoscience and Nanotechnology, vol. 7, no. 2, Jun. 2016, doi: 10.1088/2043-6262/7/2/025005.

- [13] A. Rico-Moctezuma, A. R. Vilchis-Nestor, V. Sánchez-Mendieta, M. Avalos-Borja, and M. A. Camacho-López, “Biosíntesis de nanopartículas de oro mediante el extracto de *Opuntia ficus-indica*,” *Superficies y vacío*, vol. 23, pp. 94–97, Aug. 2010.
- [14] S. Baghel and M. Khurana, “Biosynthesis of Gold Nanoparticles using *Amomum subulatum* and Their Catalytic Properties,” *Bulletin of Chemical Reaction Engineering and Catalysis*, vol. 20, no. 1, pp. 20–34, 2025, doi: 10.9767/bcrec.20229.
- [15] K. P. T. Dang, V. Nguyen Ngo, H. Vu_Quang, and T. D. Nguyen, “Gold nanoparticles biosynthesized from flavonoid extract of *Hopea odorata* leaves and their catalytic activity for 4-nitrophenol reduction,” *Journal of Engineering Research (Kuwait)*, 2024, doi: 10.1016/j.jer.2024.09.011.
- [16] S. R. Alizadeh, P. Biparva, H. R. Goli, B. A. Khan, and M. A. Ebrahimzadeh, “Green Synthesis of AuNPs by *Crocus caspius*—Investigation of Catalytic Degradation of Organic Pollutants, Their Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity,” *Catalysts*, vol. 13, no. 1, Jan. 2023, doi: 10.3390/catal13010063.
- [17] R. Castro-Muñoz, E. León-Becerril, and O. García-Depraect, “Beyond the Exploration of Muicle (*Justicia spicigera*): Reviewing Its Biological Properties, Bioactive Molecules and Materials Chemistry,” *Processes*, vol. 10, no. 5, May 2022, doi: 10.3390/pr10051035.
- [18] F. L. Guzmán Gallardo, “Capacidad antioxidante y efecto hemolítico de metabolitos presentes en extractos de *Justicia spicigera*,” Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, San Agustín Tlaxiaca, 2023.
- [19] A. Steller Navarro, “Estudio comparativo del efecto hipoglicemiante y analgésico de cuatro especies de plantas: *Justicia spicigera*, *Justicia secunda* (insulina) y dos variedades de *Momordica charantia* (Sorosí y Bitter Melon) empleadas en medicina tradicional para tratamiento de la diabetes tipo II,” Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica, 2023.
- [20] S. D. C. Delgado Sandoval, “Propiedades hipoglucemiantes de la especie *Justicia spicigera* Schlechtendal (Scrophulariales: Acanthaceae),” *ResearchGate*, vol. 11, pp. 1–11, Apr. 2016, [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/304827928>
- [21] I. Baqueiro-Peña and J. Á. Guerrero-Beltrán, “Antioxidant and Coloring Characteristics of Muicle (*Justicia spicigera*),” Puebla, 2014.
- [22] C. A. Soto-Robles *et al.*, “Biosynthesis, characterization and photocatalytic activity of ZnO nanoparticles using extracts of *Justicia spicigera* for the degradation of methylene blue,” *J Mol Struct*, vol. 1225, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.molstruc.2020.129101.
- [23] E. Bernardo-Mazariegos *et al.*, “Silver nanoparticles from *Justicia spicigera* and their antimicrobial potentialities in the biocontrol of foodborne bacteria and phytopathogenic fungi,” *Rev Argent Microbiol*, vol. 51, no. 2, pp. 103–109, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.ram.2018.05.002.
- [24] M. E. Medina, L. E. Galván, and R. E. Reyes, “Las nanopartículas y el medio ambiente,” *Universidad, Ciencia y Tecnología*, vol. 19, pp. 49–58, Mar. 2015.
- [25] Y. Rojas-Aguirre, K. Aguado-Castrejón, and I. González-Méndez, “La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármacos: ¿la (r)evolución de la terapia contra el cáncer?,” *Educación Química*, vol. 27, no. 4, pp. 286–291, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.eq.2016.07.002.

- [26] Fundación para la prevención de riesgos laborales, “¿Son los nanomateriales un riesgo para mi salud y seguridad en el trabajo?,” 2015. [Online]. Available: <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/Riesgos%20derivados%20nanomateriales%20construccion.pdf>
- [27] E. Záyago-Lau and G. Foladori, “Nanotechnology in Mexico: an uncertain development,” 2010.
- [28] R. Álvarez-Chimal, J. Á. Arenas-Alatorre, F. Marichi-Rodríguez, R. Correa-Prado, and M. A. Álvarez-Pérez, “La química verde en la síntesis de nanopartículas y sus propiedades antibacterianas,” *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, vol. 18, no. 34, pp. 1e–20e, Jul. 2024, doi: 10.22201/ceiich.24485691e.2025.34.69826.
- [29] A. Corzo Lucioni, “Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de H[AuCl₄],” *Rev Soc Quím Perú*, vol. 78, no. 2, pp. 79–90, Mar. 27, 2012.
- [30] S. Navarro Espinoza, D. Meza-Figueroa, D. Soto-Puebla, B. Castañeda, and M. Pedroza-Montero, “Nanopartículas: efecto en la salud humana y el medio ambiente,” *EPISTEMUS*, vol. 15, no. 30, Nov. 2021, doi: 10.36790/epistemus.v15i30.166.
- [31] Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT), “Seguridad y salud en el trabajo con nanomateriales,” Madrid, Apr. 2015. [Online]. Available: <http://publicacionesoficiales.boe.eshttp://www.insht.es/catalogopublicaciones/>
- [32] C. L. Gómez Muñoz, P. Zaca-Morán, and O. Zaca-Moran, “Los nanomateriales y su importancia en la síntesis amigable con el ambiente,” 2023. [Online]. Available: <https://orcid.org/0000-0002-8768-5203https://orcid.org/0000-0002-8361-0466https://orcid.org/0000-0001-7882-9933>
- [33] H. W. Lin, J. Y. Wang, V. K. S. Hsiao, and C. C. Chu, “‘Green’ Synthesis and antioxidant activity of thermally stable gold nanoparticles encapsulated in carbon nanosheets,” *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 10, no. 7, Apr. 2020, doi: 10.3390/app10072272.
- [34] M. A. F. Al Shayeb, N. Y. Shetty, A. Al Jadaa, and S. Kuduruthullah, “Synthesis and characterisation of gold nanoparticles from acacia leaf and to evaluate anticariogenic activity,” *Indian Journal of Dental Research*, vol. 34, no. 2, pp. 196–198, Apr. 2023, doi: 10.4103/ijdr.ijdr_987_22.
- [35] D. Pellicer Rog, “Propiedades del oro (Au),” National Geographic ESPAÑA. Accessed: Dec. 03, 2025. [Online]. Available: https://www.nationalgeographic.com.es/ciencia/propiedades-oro-au_21715
- [36] N. T. K. Thanh, N. Maclean, and S. Mahiddine, “Mechanisms of nucleation and growth of nanoparticles in solution,” *Chemical Reviews*, vol. 114, no. 15, American Chemical Society, pp. 7610–7630, Jul. 08, 2014. doi: 10.1021/cr400544s.
- [37] H. Duman, E. Akdaşçi, F. Eker, M. Bechelany, and S. Karav, “Gold Nanoparticles: Multifunctional Properties, Synthesis, and Future Prospects,” *Nanomaterials*, vol. 14, no. 22, Nov. 2024, doi: 10.3390/nano14221805.
- [38] J. R. Chin, “Thermodynamic of gold nanoparticles,” in *Gold Nanoparticles: Advances in Research and Applications*, New York: Nova Science Publisher, 2019, ch. 1, pp. 1–99.
- [39] W. de J. Jiménez-Martínez and J. C. Vázquez-Lira, “Una revisión de nanopartículas de oro: características fisicoquímicas y su respuesta celular en macrófagos,” *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, vol. 17, no. 33, pp. 1e–16e, Jan. 2024, doi: 10.22201/ceiich.24485691e.2024.33.69801.

- [40] A. Timoszyk and R. Grochowalska, "Mechanism and Antibacterial Activity of Gold Nanoparticles (AuNPs) Functionalized with Natural Compounds from Plants," *Pharmaceutics*, vol. 14, no. 12, Dec. 2022, doi: 10.3390/pharmaceutics14122599.
- [41] A. López Jareño, "Nanopartículas de oro para biosensado colorimétrico de ácidos nucleicos. Sistemas, aplicaciones y perspectivas de futuro," Universitat Politècnica de València, Valencia, 2020.
- [42] A. Falahudin, N. Insin, S. Salprima Yudha, and M. Adfa, "Green Synthesis of Gold Nanoparticles using *Peronema canescens* Leaves Extract and Their Catalytic Performance for Dyes and Nitro Compounds," *Molekul*, vol. 18, no. 2, pp. 236–242, Jul. 2023, doi: 10.20884/1.jm.2023.18.2.6972.
- [43] J. R. Motilla Montes, "Caracterización físicoquímica de nanopartículas de oro sintetizadas en medio fisiológico y su evaluación biológica en la vasculatura," Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, 2019.
- [44] A. Rico Moctezuma, "Modificación del tamaño y de la forma de nanopartículas mono y bimetalicas de oro y plata inducida por láser, obtenidas mediante un método biológico," Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca de Lerdo, 2013.
- [45] T. Ishida, T. Murayama, A. Taketoshi, and M. Haruta, "Importance of Size and Contact Structure of Gold Nanoparticles for the Genesis of Unique Catalytic Processes," *Chem Rev*, vol. 120, no. 2, pp. 464–525, Jan. 2019, doi: 10.1021/acs.chemrev.9b00551.
- [46] P. Pongsanon, A. Kawamura, H. Kawasaki, and T. Miyata, "Effect of Gold Nanoparticle Size on Regulated Catalytic Activity of Temperature-Responsive Polymer–Gold Nanoparticle Hybrid Microgels," *Gels*, vol. 10, no. 6, Jun. 2024, doi: 10.3390/gels10060357.
- [47] N. Joudeh and D. Linke, "Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists," *J Nanobiotechnology*, vol. 20, no. 1, Dec. 2022, doi: 10.1186/s12951-022-01477-8.
- [48] R. Mofrad, R. Hadi, B. Tahmasebi, S. Farhoudian, M. Mehravar, and R. Nasiri, "Green synthesis of gold nanoparticles using plant extract: Mini-review," *Nanochem Res*, vol. 2, no. 1, pp. 8–19, 2017, doi: 10.22036/ncr.2017.01.002.
- [49] N. Muniyappan, M. Pandeewaran, and A. Amalraj, "Green synthesis of gold nanoparticles using *Curcuma pseudomontana* isolated curcumin: Its characterization, antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory activities," *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, vol. 3, pp. 117–124, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.enceco.2021.01.002.
- [50] B. Kumar, K. Smita, E. Sánchez, A. Debut, and L. Cumbal, "Phytosynthesis, characterization and catalytic activity of Sacha inchi leaf-assisted gold nanoparticles," *Chemical Papers*, vol. 76, no. 5, pp. 2855–2864, May 2022.
- [51] B. Gami *et al.*, "Leucophyllum frutescens mediated synthesis of silver and gold nanoparticles for catalytic dye degradation," *Front Chem*, vol. 10, Sep. 2022, doi: 10.3389/fchem.2022.932416.
- [52] M. Alcántara Melchor, "Obtención y evaluación de la actividad antioxidante de extractos de '*Justicia spicigera* schltl,'" Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, 2010.
- [53] Merck, "Kaempferitrin," Merck.

- [54] C. A. Soto-Robles *et al.*, “Biosynthesis, characterization and photocatalytic activity of ZnO nanoparticles using extracts of *Justicia spicigera* for the degradation of methylene blue,” *J Mol Struct*, vol. 1225, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.molstruc.2020.129101.
- [55] M. del R. Redón de la Fuente, “Nanopartículas catalíticas... ¿polvo mágico?,” vol. 8, Ciudad de México, pp. 1–38, Oct. 12, 2015. [Online]. Available: www.mundonano.unam.mx
- [56] J. N. Díaz de León and L. A. Zavala-Sánchez, “Catálisis en Baja California,” *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología*, vol. 10, no. 18, Universidad Nacional Autónoma de México, Ensenada, pp. 69–84, Jun. 08, 2017. doi: 10.22201/ceiich.24485691e.2017.18.60055.
- [57] R. Zanella, “Aplicación de los nanomateriales en catálisis*,” vol. 7, no. 12, pp. 1–17, 2014. [Online]. Available: www.mundonano.unam.mx
- [58] M. Mulu, M. Tefera, A. Guadie, and K. Basavaiah, “Biosynthesis, characterization and study of the application of silver nanoparticle for 4-nitrophenol reduction, and antimicrobial activities,” *Biotechnology Reports*, vol. 42, Jun. 2024, doi: 10.1016/j.btre.2024.e00838.
- [59] Y. Xia, Y. Liu, N. Shi, and X. Zhang, “Highly efficient reduction of 4-nitrophenolate to 4-aminophenolate by Au/ γ -Fe₂O₃@HAP magnetic composites,” *RSC Adv*, vol. 9, no. 18, pp. 10272–10281, 2019, doi: 10.1039/c9ra00345b.
- [60] Y. R. Mejía and N. K. Reddy Bogireddy, “Reduction of 4-nitrophenol using green-fabricated metal nanoparticles,” Jun. 24, 2022, *Royal Society of Chemistry*. doi: 10.1039/d2ra02663e.
- [61] A. Nabikhan, S. Rathinam, and K. Kandasamy, “Biogenic gold nanoparticles for reduction of 4-nitrophenol to 4-aminophenol: An eco-friendly bioremediation,” *IET Nanobiotechnol*, vol. 12, no. 4, pp. 479–483, Jun. 2018, doi: 10.1049/iet-nbt.2017.0210.
- [62] M. Sivakavinesan *et al.*, “Citrus limetta Risso peel mediated green synthesis of gold nanoparticles and its antioxidant and catalytic activity,” *J King Saud Univ Sci*, vol. 34, no. 7, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.jksus.2022.102235.
- [63] M. Tahir Khalil, P. Zhang, G. Han, X. Wu, B. Li, and M. Xiao, “Green Synthesis of Gold Nanoparticles for Catalytic Reduction of 4-Nitrophenol and Methylene Blue for Sustainable Development,” *Sustainable Polymer & Energy*, vol. 1, no. 1, p. 10002, Dec. 2023, doi: 10.35534/spe.2024.10002.
- [64] M. Hunde Gonfa and A. Lealem Birhanu, “Green synthesis, characterization and antibacterial evaluation of ZnO and Ag-doped ZnO nanoparticles using *Ruta chalepensis* leaf extract,” *Green Chem Lett Rev*, vol. 17, no. 1, 2024, doi: 10.1080/17518253.2024.2412613.
- [65] M. Asadipour and M. Taherkhani, “Extraction, Identification and Determination of Molecular Structure of Two Natural Compounds Along with Phytochemical Study of *Hymenocrater calycinus* Plant of the Lamiaceae Family Collected from Iran,” *Pharm Chem J*, vol. 56, no. 12, pp. 1650–1663, Mar. 2023, doi: 10.1007/s11094-023-02840-1.
- [66] F. Zhang, C. Gao, S. R. Zhai, and Q. Da An, “Nanosilver anchored alginate/poly(acrylic acid/acrylamide) double-network hydrogel composites for efficient catalytic degradation of organic dyes,” *Front Chem Sci Eng*, vol. 17, no. 7, pp. 893–905, Jul. 2023, doi: 10.1007/s11705-022-2290-8.

- [67] K. Gangwar and P. Jeevanandam, "Synthesis of SnO₂-Ag nanocomposites via thermal decomposition method and their application for catalytic reduction of 4-nitrophenol and photocatalytic degradation of congo red," *J Mol Struct*, vol. 1285, p. 135423, Aug. 2023, doi: 10.1016/j.molstruc.2023.135423.
- [68] J. S. Câmara *et al.*, "Behind the Scenes of Anthocyanins—From the Health Benefits to Potential Applications in Food, Pharmaceutical and Cosmetic Fields," *Nutrients*, vol. 14, no. 23, Dec. 2022, doi: 10.3390/nu14235133.
- [69] B. Enaru, G. Dreţcanu, T. D. Pop, A. Stănilă, and Z. Diaconeasa, "Anthocyanins: Factors affecting their stability and degradation," *Antioxidants*, vol. 10, no. 12, Dec. 2021, doi: 10.3390/antiox10121967.
- [70] S. Martínez-Flórez, J. González-Gallego, J. M. Culebras, M. J. Tuñón, and M. Jesús Tuñón, "Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes," *Nutr Hosp*, no. 6, pp. 271–278, Aug. 2002.
- [71] B. Benarba, A. Elmallah, and A. Pandiella, "Bryonia dioica aqueous extract induces apoptosis and G2/M cell cycle arrest in MDA-MB 231 breast cancer cells," *Mol Med Rep*, vol. 20, no. 1, pp. 73–80, 2019, doi: 10.3892/mmr.2019.10220.
- [72] O. S. Hernández Rodríguez, "Extracción y caracterización de compuestos fenólicos obtenidos del muicle (*Justicia spicigera* schl.)," Universidad Nacional Autónoma de México, Estado de México, 2014.
- [73] G. Suriyakala *et al.*, "Green synthesis of gold nanoparticles using *Jatropha integerrima* Jacq. flower extract and their antibacterial activity," *J King Saud Univ Sci*, vol. 34, no. 3, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.jksus.2022.101830.
- [74] A. E. F. Oliveira, A. C. Pereira, M. A. C. Resende, and L. F. Ferreira, "Gold Nanoparticles: A Didactic Step-by-Step of the Synthesis Using the Turkevich Method, Mechanisms, and Characterizations," *Analytica*, vol. 4, no. 2, pp. 250–263, Jun. 2023, doi: 10.3390/analytica4020020.
- [75] T. P. Patil, A. A. Vibhute, S. L. Patil, T. D. Dongale, and A. P. Tiwari, "Green synthesis of gold nanoparticles via *Capsicum annum* fruit extract: Characterization, antiangiogenic, antioxidant and anti-inflammatory activities," *Applied Surface Science Advances*, vol. 13, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.apsadv.2023.100372.
- [76] L. García-Hernández, J. Ramírez-Castro, B. Aguilar-Perez, P. A. Ramírez-Ortega, M. U. Flores-Guerrero, and D. Arenas-Islas, "Síntesis y estabilización de nanopartículas de oro (AuNPs) mediante técnicas de química verde," *Tópicos de Investigación en Ciencias de la Tierra y Materiales*, vol. 4, 2017.
- [77] G. Barman, S. Maiti, and J. K. Laha, "Bio-fabrication of gold nanoparticles using aqueous extract of red tomato and its use as a colorimetric sensor," *Nanoscale Res Lett*, vol. 8, pp. 1–9, 2013, doi: 10.1186/1556-276X-8-181.
- [78] U. Nobbman, "Polidispersidad: ¿qué significa para DLS y la cromatografía?," Malvern Panalytical . Accessed: Dec. 03, 2025. [Online]. Available: <https://www.malvernpanalytical.com/es/learn/knowledge-center/insights/dynamic-mine-column-in-dls-what-is-polyvariance-index-pdi>
- [79] N. Assad *et al.*, "Eco-friendly synthesis of gold nanoparticles using *Equisetum diffusum* D. Don. with broad-spectrum antibacterial, anticancer, antidiabetic, and antioxidant potentials," *Sci Rep*, vol. 15, no. 1, Dec. 2025, doi: 10.1038/s41598-025-02450-9.

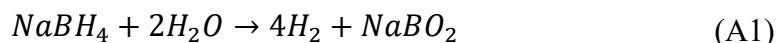
- [80] M. Kitching, S. Inguva, M. Ramani, Y. Gao, E. Marsili, and P. Cahill, "Biosynthesis of Gold Nanoparticles by Vascular Cells in vitro," *Front Microbiol*, vol. 13, Apr. 2022, doi: 10.3389/fmicb.2022.813511.
- [81] S. Gurunathan, J. W. Han, J. H. Park, and J. H. Kim, "A green chemistry approach for synthesizing biocompatible gold nanoparticles," *Nanoscale Res Lett*, vol. 9, no. 1, pp. 1–11, 2014, doi: 10.1186/1556-276X-9-248.
- [82] P. Elia, R. Zach, S. Hazan, S. Kolusheva, Z. Porat, and Y. Zeiri, "Green synthesis of gold nanoparticles using plant extracts as reducing agents," *Int J Nanomedicine*, vol. 9, no. 1, pp. 4007–4021, Aug. 2014, doi: 10.2147/IJN.S57343.
- [83] M. Danaei *et al.*, "Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems," *Pharmaceutics*, vol. 10, no. 2, May 2018, doi: 10.3390/pharmaceutics10020057.
- [84] A. Fouda *et al.*, "Green Synthesis of Gold Nanoparticles by Aqueous Extract of Zingiber officinale: Characterization and Insight into Antimicrobial, Antioxidant, and In Vitro Cytotoxic Activities," *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 12, no. 24, Dec. 2022, doi: 10.3390/app122412879.
- [85] I. Macovei *et al.*, "Biosynthesis of Silver and Gold Nanoparticles Using Geum urbanum L. Rhizome Extracts and Their Biological Efficiency," *J Inorg Organomet Polym Mater*, vol. 34, no. 12, pp. 5831–5853, Dec. 2024, doi: 10.1007/s10904-024-03189-y.
- [86] N. Assad *et al.*, "Eco-friendly synthesis of gold nanoparticles using Equisetum diffusum D. Don. with broad-spectrum antibacterial, anticancer, antidiabetic, and antioxidant potentials," *Sci Rep*, vol. 15, no. 1, Dec. 2025, doi: 10.1038/s41598-025-02450-9.
- [87] Z. Németh *et al.*, "Quality by Design-Driven Zeta Potential Optimisation Study of Liposomes with Charge Imparting Membrane Additives," *Pharmaceutics*, vol. 14, no. 9, Sep. 2022, doi: 10.3390/pharmaceutics14091798.
- [88] A. Carone, S. Emilsson, P. Mariani, A. Désert, and S. Parola, "Gold nanoparticle shape dependence of colloidal stability domains," *Nanoscale Adv*, vol. 5, no. 7, pp. 2017–2026, Feb. 2023, doi: 10.1039/d2na00809b.
- [89] A. Candreva, R. De Rose, I. D. Perrotta, A. Guglielmelli, and M. La Deda, "Light-Induced Clusterization of Gold Nanoparticles: A New Photo-Triggered Antibacterial against E. coli Proliferation," *Nanomaterials*, vol. 13, no. 4, Feb. 2023, doi: 10.3390/nano13040746.
- [90] Thermo Fisher Scientific, "Principles of Scanning Electron Microscopy," Scanning electron microscopy principles. Accessed: Dec. 03, 2025. [Online]. Available: https://www.thermofisher.com/mx/es/home/materials-science/scanning-electron-microscopy-materials-science/techniques.html?cid=msd_ms_aplind_xmkt_sem_2603493_na_pso_gaw_oygds7&gad_source=1&gad_campaignid=19227087283&gbraid=0AAAAADxi_GTxKLeJjVXN9J6nA4nYiG8Ni&gclid=Cj0KCQIA_8TJBhDNARIsAPX5qxTObWFMKrUQnNNvSsY9cmHLVTnl7p9opY5MdYLOFOK2PWXrpZw2G7waApduEALw_wcB
- [91] S. Pasieczna-Patkowska, M. Cichy, and J. Flieger, "Application of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy in Characterization of Green Synthesized Nanoparticles," *Molecules*, vol. 30, no. 3, Feb. 2025, doi: 10.3390/molecules30030684.

- [92] P. Mondragón Cortez, *Principios y aplicaciones de la espectroscopia de infrarrojo en el análisis de alimentos y bebidas*, 1st ed. Zapopan: CONACYT, 2020.
- [93] J. A. Aboyewa, N. R. S. Sibuyi, M. Meyer, and O. O. Oguntibeju, "Gold nanoparticles synthesized using extracts of cyclopia intermedia, commonly known as honeybush, amplify the cytotoxic effects of doxorubicin," *Nanomaterials*, vol. 11, no. 1, pp. 1–16, Jan. 2021, doi: 10.3390/nano11010132.
- [94] R. Castro-Muñoz, E. León-Becerril, and O. García-Depraect, "Beyond the Exploration of Muicle (*Justicia spicigera*): Reviewing Its Biological Properties, Bioactive Molecules and Materials Chemistry," May 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/pr10051035.
- [95] E. O. Mikhailova, "Gold nanoparticles: Biosynthesis and potential of biomedical application," *J Funct Biomater*, vol. 12, no. 4, Dec. 2021, doi: 10.3390/jfb12040070.
- [96] J. Santhoshkumar, S. Rajeshkumar, and S. Venkat Kumar, "Phyto-assisted synthesis, characterization and applications of gold nanoparticles – A review," *Biochem Biophys Rep*, vol. 11, pp. 46–57, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.bbrep.2017.06.004.
- [97] Universidad de Colorado, "Tutorial de espectroscopia IR: alquenos," Tutorial de espectroscopia IR.
- [98] BENCHCHEM, "4-nitrofenolato," 4-nitrofenolato. Accessed: Oct. 14, 2025. [Online]. Available: https://www.benchchem.com/product/b89219?utm_source=chatgpt.com
- [99] M. A. Malik, A. A. Alshehri, and R. Patel, "Facile one-pot green synthesis of Ag-Fe bimetallic nanoparticles and their catalytic capability for 4-nitrophenol reduction," *Journal of Materials Research and Technology*, vol. 12, pp. 455–470, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.jmrt.2021.02.063.
- [100] O. Jiménez-González, A. López-Malo, J. E. González-Pérez, N. Ramírez-Corona, and J. Á. Guerrero-Beltrán, "Thermal and pH stability of *Justicia spicigera* (Mexican honeysuckle) pigments: Application of mathematical probabilistic models to predict pigments stability," *Food Chemistry: Molecular Sciences*, vol. 6, p. 100158, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.fochms.2022.100158.
- [101] S. Das, B. G. Bag, and R. Basu, "Abroma augusta Linn bark extract-mediated green synthesis of gold nanoparticles and its application in catalytic reduction," *Applied Nanoscience (Switzerland)*, vol. 5, no. 7, pp. 867–873, Oct. 2015, doi: 10.1007/s13204-014-0384-4.
- [102] V. Choque Flores, "Estudio del mecanismo de reacción de la generación de hidrógeno a partir de borohidruro de sodio (cálculo teórico)," *Boliviano de Ciencias*, vol. 19, pp. 117–130, Jun. 2023.
- [103] Y. S. Seo *et al.*, "Catalytic reduction of 4-nitrophenol with gold nanoparticles synthesized by caffeic acid," *Nanoscale Res Lett*, vol. 12, no. 1, Dec. 2017, doi: 10.1186/s11671-016-1776-z.
- [104] S. R. Thawarkar, B. Thombare, B. S. Munde, and N. D. Khupse, "Kinetic investigation for the catalytic reduction of nitrophenol using ionic liquid stabilized gold nanoparticles," *RSC Adv*, vol. 8, no. 67, pp. 38384–38390, Oct. 2018, doi: 10.1039/c8ra07404f.

APÉNDICE

APÉNDICE A. Estabilidad de NaBH_4 mediante Espectroscopia UV-Visible

El NaBH_4 en solución acuosa libera H_2 (ver Ecuación A1) [102]:



El único producto de la reacción es el metaborato de sodio (NaBO_2) que es soluble en agua y no contaminante del medio ambiente. Para producir el H_2 se necesita transferir cuatro electrones, almacenados en los enlaces B-H utilizados para reducir el H_2O y formar el hidrógeno. El H_2 producido por esta reacción es controlable a temperatura ambiente sin formación de subproductos volátiles como suele ocurrir en otras reacciones, además es de alta pureza [102].

De acuerdo con lo anterior, se realizó una solución acuosa de NaBH_4 (200 mM) para analizar la longitud de onda de absorción máxima y determinar el tiempo óptimo para implementarlo como fuente de hidrógeno en las reacciones catalíticas. La solución mostró una apariencia transparente con burbujeo constante, la cual se dejó en reposo durante 15 minutos para evitar interferencias durante las mediciones espectroscópicas. El comportamiento espectral de la banda del NaBH_4 se monitoreó cada 15 minutos durante 2 h. El pH se midió al inicio (después de los 15 minutos de hidrólisis) y al término de la reacción (120 min).

La Figura A1 muestra al NaBH_4 utilizado para analizar la estabilidad y tiempo óptimo de implementación como fuente de H_2 , así como la medición del pH al inicio y al término de la reacción.

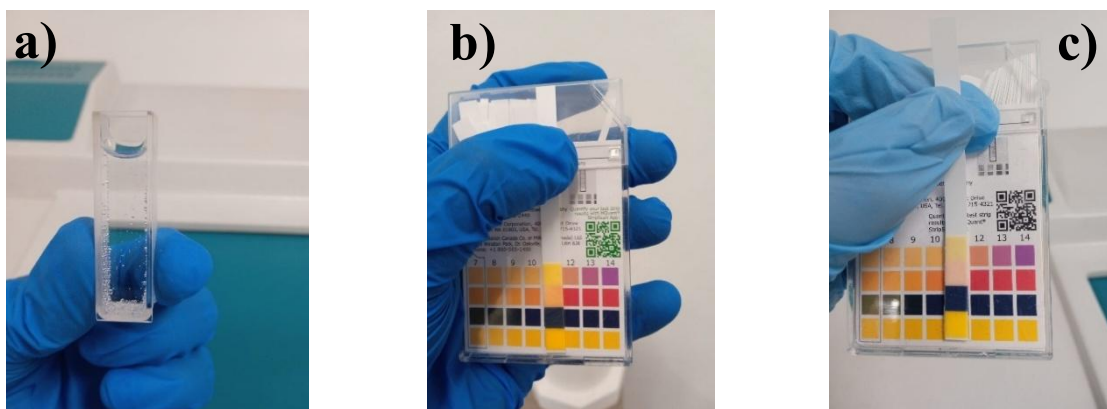


Figura A1 a) solución de NaBH_4 (200 mM), medición de pH b) al inicio y c) al término del monitoreo.

La Figura A2 muestra el comportamiento de la solución acuosa de NaBH_4 (200 mM). Durante la hidrólisis es posible identificar el desprendimiento de H_2 en forma de

burbujas. La absorbancia con respecto a la longitud de onda (Fig. A2a) exhibe la formación de una banda de absorción en 202 nm. Por otra parte, la absorbancia con respecto al tiempo (Fig. A2b) señala un crecimiento progresivo entre 15 y 45 minutos sugiriendo el tiempo óptimo de implementación de la solución de NaBH_4 como fuente de hidrógeno.

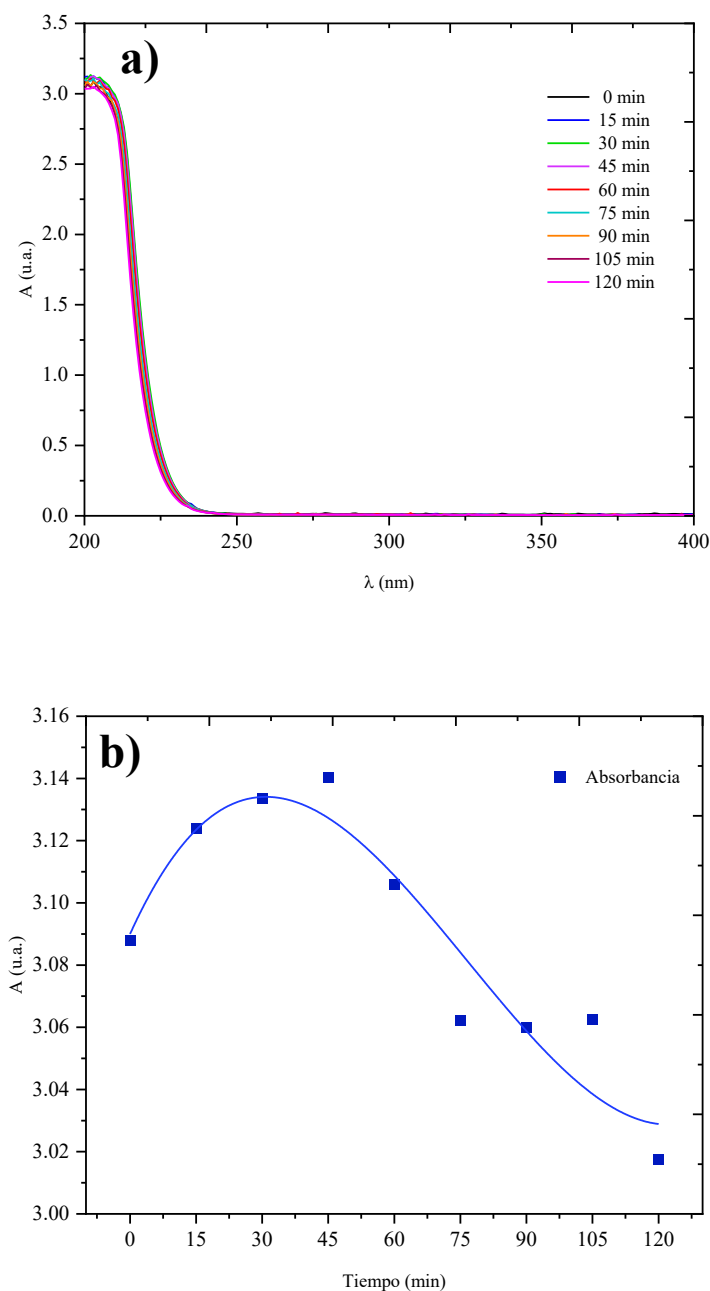


Figura A2 a) Absorbancia vs. Longitud de onda del NaBH_4 y b) determinación del tiempo óptimo para usarlo como fuente de hidrógeno.

Adicionalmente, se analizó el comportamiento de este agente reductor a tiempos más largos (Figura A3) y se observó la disminución de la absorbancia con el tiempo. Por lo tanto, es recomendable emplear el reactivo de forma inmediata. En este trabajo, la solución de NaBH_4 se empleó en los primeros 30 minutos para asegurar su rendimiento en la reducción del 4-NP.

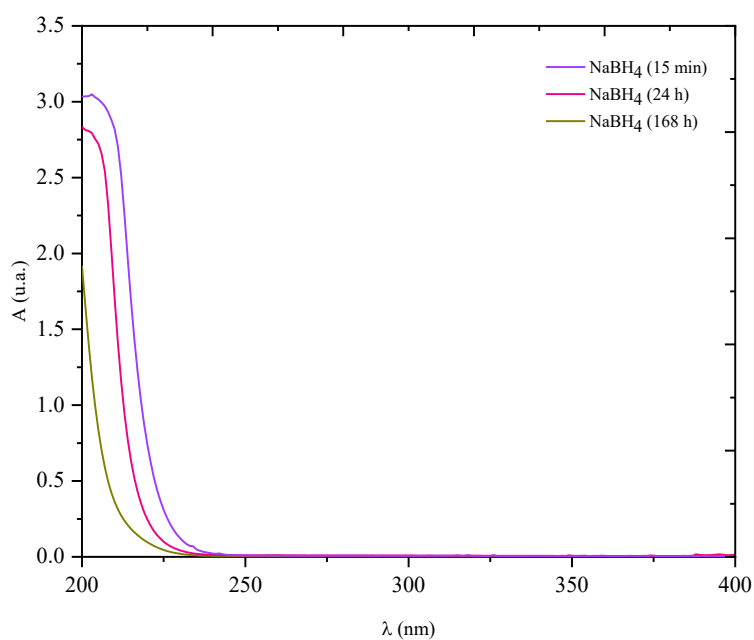


Figura A3 Hidrólisis de NaBH_4 en diferentes intervalos de tiempo

APÉNDICE B. Curvas de calibración UV-Vis para determinar la concentración de reducción del 4-NPO y producción del 4-AP

La ecuación B1 describe el modelo lineal empleado para calcular las concentraciones de los compuestos (4-NPO y 4-AP) involucrados en la reducción catalítica del 4-NP:

$$y = mx + b \quad (B1)$$

Donde:

y: absorbancia

m: pendiente

x: concentración (C) en unidades de mM.

b: ordenada al origen

De la ecuación B1 se despeja la variable “x” para obtener la concentración:

$$x = \frac{y - b}{m} \quad (B2)$$

A partir de los espectros UV-Vis, en la reducción catalítica del 4-NP + NaBH₄ + AuNPs, se recopilaban los valores de absorbancia (y) de cada muestra, además de la pendiente y ordenada al origen correspondiente. Por ejemplo, en la Fig. 3.15a, la absorbancia en t=0 min fue de 2.78 u.a. Cabe señalar que la banda localizada en 401 nm corresponde al ion 4-NPO. Como se desea calcular la concentración del 4-NPO, en esta longitud de onda, se toman los parámetros correspondientes (Tabla 2): b=0.03001, m=13.7105.

Nota 1: La variable “C₀” es la concentración inicial del 4-NP (0.2 mM), la cual permanece constante.

Considerando la ecuación B2, se sustituyen los datos para calcular la concentración de reducción del 4-NPO, como se muestra en la ecuación B3:

$$x = \frac{(2.78 - 0.03001)}{13.7105} = 0.2007 \text{ mM} \quad (B3)$$

A continuación, se realiza el cociente C/C₀ dividiendo el valor obtenido en la ecuación B3 sobre la concentración inicial (C₀) de 0.2 mM, como describe la ecuación B4:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{0.2007}{0.2} = 1.0037 \text{ mM} \quad (B4)$$

El procedimiento anterior se repite para cada tiempo de la reducción catalítica, en este ejemplo se realiza hasta t=12 minutos, tiempo en el que se obtuvo el mayor porcentaje de reducción, empleando 0.125 ml de AuNPs como catalizador.

Una vez calculados todos los cocientes (C/C_0) se grafican con respecto del tiempo como se muestra en la Figura 3.16a.

Nota 2: El procedimiento también se aplica para el cálculo de la concentración de la producción del 4-AP a 231 y 297 nm.

APÉNDICE C. Cinética de reducción del 4-NPO

La Figura C1 presenta la reducción del 4-NPO empleando 0.125 ml de AuNPs (Fig. 3.16a) como catalizador. Se calcularon las constantes de velocidad mediante el modelo de pseudo-primer orden para las concentraciones de NaBH_4 (100 y 200 mM), se utilizaron los valores de absorbancia obtenidos experimentalmente y se transformaron a $\ln(C/C_0)$.

El modelo de Langmuir-Hinshelwood establece que cuando el NaBH_4 está en exceso la reacción se vuelve aparentemente de primer orden [103], [104]. El comportamiento de ambas curvas muestra una relación lineal. La concentración de 200 mM tiene una constante de velocidad aparente (k_{app}) de 0.41 min^{-1} y decae más rápido que la concentración de 100 mM cuya constante de velocidad corresponde a 0.45 min^{-1} , en consecuencia, la concentración de NaBH_4 200 mM exhibe una conversión ligeramente mayor para el mismo intervalo de tiempo.

En condiciones de exceso, la concentración de NaBH_4 se mantiene constante durante la reacción [103], [104], por lo tanto, ambas curvas se ajustan adecuadamente al modelo de pseudo-primer orden.

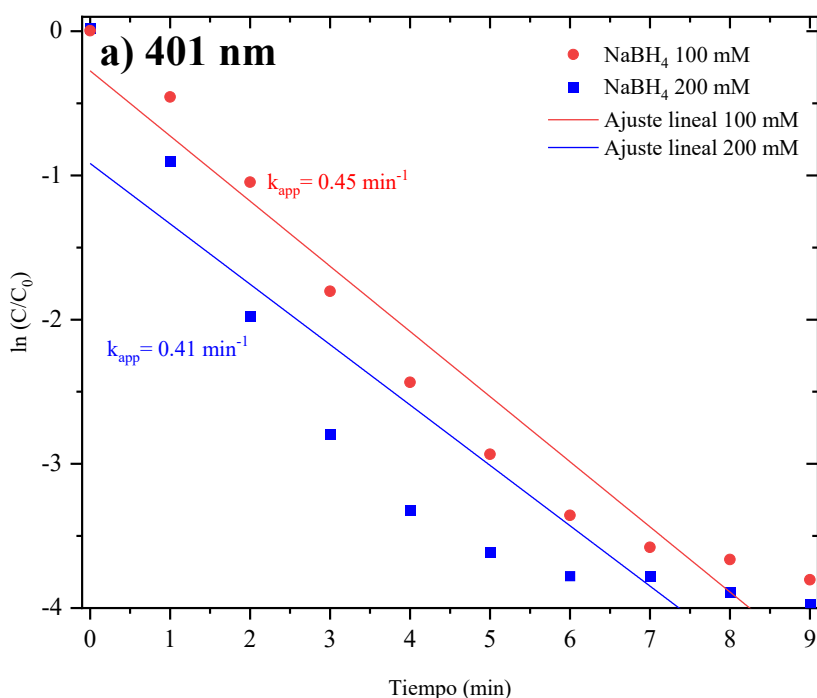


Figura C1 a) $\ln(C/C_0)$ vs tiempo para la determinación de k_{app} en la reducción del 4-NPO utilizando 0.125 ml de AuNPs como catalizador.