



**BUAP**

**BENÉMERITA UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DE PUEBLA**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE  
PLATA, ORO Y COBRE UTILIZANDO COMO AGENTES  
REDUCTORES EXTRACTOS DE *LAURUS NOBILIS*, *OCIMUM  
BASILICUM*, *TARAXACUM OFFICINALE* Y *THYMUS VULGARIS*.**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE  
LICENCIATURA EN QUÍMICA

PRESENTA

**JOSÉ MARTIN HERNÁNDEZ GIRÓN**

DIRECTORA DE TESIS

**M.C LIDIA MELÉNDEZ BALBUENA**

ASESOR EXTERNO

**M.C ERIC REYES CERVANTES**



## RESUMEN

En este trabajo se presenta la evaluación de las nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre Cu<sub>2</sub>ONPs, obtenidas mediante reacciones de óxido-reducción en presencia de extractos vegetales acuosos como agentes reductores. Se hizo uso de compuestos químicos de los extractos obtenidos a partir de las hojas *Laurus nobilis*(Laurel), *Ocimum basilicum* (Albahaca), *Taraxacum officinale* (Diente de León) y *Thymus vulgaris* (Tomillo). La reacción de reducción de los metales se llevó a cabo a diferentes pH y a temperatura ambiente. Se observó el cambio de color de las soluciones y se realizaron mediciones por espectrofotometría de UV-VISible, técnica basada en la presencia del plasmón de resonancia, y a través del escaneo de las muestras por medio de Microscopía de Fuerza Atómica AFM (*atomic force microscopy*), técnica que proporcionó información acerca de la distribución, tamaño y forma de las nanopartículas de plata preparadas con *Taraxacum officinale* (Diente de León) y *Thymus vulgaris* (Tomillo) a pH = 8 en ambos casos.

Los resultados muestran que los extractos de plantas favorecen la formación de nanopartículas en forma esféricas y polidispersas, siendo el parámetro de pH determinante en su formación y tamaño. Se determinó la actividad antimicrobiana de las soluciones coloidales de las nanopartículas frente a las bacterias de *Escherichia coli* (*bacteria gramnegativa*) y *Staphylococcus aureus* (*bacteria grampositiva*), por el método de difusión en pozos en agar Mueller-Hinton.

## AGRADECIMIENTOS

Aprovecho esta oportunidad para externar mi gratitud a quienes han tenido una influencia positiva en mi vida y han hecho posible la realización y conclusión de este trabajo.

**En primer lugar**, agradezco al “*Arquitecto del Universo*” por haberme puesto en este camino de la vida y relacionarme con las personas correctas para llevar a cabo este trabajo.

**A mis padres:** *Abogado, Notario y Actuario Martín Hernández Chong y Dir. “Josefina Girón Castellanos* por ser mi mayor ejemplo y las personas que más admiro en la vida. Me forjaron con reglas y algunas libertades para llegar hasta este momento, gracias por la confianza que depositaron en mí y su apoyo incondicional, mi deuda es eterna con ustedes.

**A mis hermanas:** *Maryjose y Lic. Maryana* por ser mis cómplices en la vida, por los grandes momentos de felicidad y diversas emociones que hemos vivido y quienes siempre confiaré.

**A mi sobrino** *Fernando* por haber llegado a mi vida y llenarla de alegría, risas, juegos y motivaciones.

A cada uno de *mis familiares* por sus palabras de aliento, cariño y consejos.

A mis amigos en particular a *Cristian E. Leal y V. Leonel Sánchez* por estar siempre en las buenas y en las malas, por aguantar mis días complicados y mi carácter, por pasar juntos muy buenos momentos que tendré siempre en mi memoria.

**En especial** al *M.C Eric Reyes Cervantes* del Centro Universitario de Vinculación y Transferencia de Tecnología BUAP por la realización de los estudios de Microscopia de Fuerza Atómica, y al *M.C Alejandro Ruiz Tagle* del Departamento de Microbiología de Facultad de Ciencias Químicas por la realización de las pruebas bacteriológicas.

**Muy especialmente** a la *M C Lidia Meléndez Balbuena* por su acertada guía, tiempo, motivación, y compartir todos sus conocimientos conmigo. Muchas gracias por depositar toda su confianza en mí.

Por último, agradezco a los *profesores* de la *Facultad de Ciencias Químicas* que me formaron a lo largo de la Licenciatura y a la *Benemérita Universidad Autónoma de Puebla*.

***Gracias a todos ustedes me he convertido en lo que hoy soy.***

## ÍNDICE

CAPÍTULO 1. ....	1
1.1 INTRODUCCIÓN .....	1
1.2 JUSTIFICACIÓN .....	4
1.3 OBJETIVOS .....	5
1.4 HIPÓTESIS .....	6
CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES .....	7
2.1. Nanociencia y Nanotecnología .....	7
2.2 Nanopartículas metálicas. ....	9
2.3 Nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre CuNPs. ....	12
2.3.1 Nanopartículas de plata AgNPs.....	12
2.3.2 Nanopartículas de oro AuNPs.....	13
2.3.3 Nanopartículas de cobre CuNPs.....	13
2.4 Propiedades ópticas de las nanopartículas metálicas. ....	15
2. 5 Propiedades ópticas de las nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre CuNPs. ....	17
2.5.1 Propiedades ópticas de las nanopartículas de plata AgNPs .....	17
2.5.2 Propiedades ópticas de las nanopartículas de oro AuNPs.....	19
2.5.3 Propiedades ópticas de las nanopartículas de cobre Cu .....	21
2.6 Síntesis química de Nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre CuNPs. ....	23
2.6.1. Síntesis de nanopartículas de plata AgNPs. ....	23
2.7. Síntesis de nanopartículas con extractos de plantas.....	32
2.8. Extractos vegetales empleados en la preparación de las nanopartículas de plata, oro y cobre.....	40
<i>Thymus vulgaris (Tomillo)</i> .....	41
<i>Taraxacum officinale (Diente de León)</i> .....	42
<i>Laurus nobilis (Laurel)</i> .....	42
<i>Ocimum basilicum (Albahaca)</i> .....	43
CAPÍTULO 3. PARTE EXPERIMENTAL .....	44

3.1 Métodos químico cualitativos en la identificación de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos. ....	45
Preparación de las muestras .....	45
Reactivo: gelatina-sal .....	45
Obtención y análisis de la fracción A.....	45
Ensayo para compuestos fenólicos: ensayo del FeCl <sub>3</sub> .....	45
Ensayo para Flavonoides: ensayo de Shinoda.....	46
Ensayo para taninos: ensayo de la gelatina-sal .....	46
3.2 Preparación de los extractos vegetales.....	46
3.3. Síntesis de las nanopartículas de plata NPsAg. ....	47
3.4. Síntesis de las nanopartículas de oro NPsAu.....	47
3.5. Síntesis de nanopartículas de cobre NPsCu .....	48
3.6 Caracterización de las nanopartículas .....	48
Espectroscopía UV-VISible.....	48
AFM (Microscopía de Fuerza Atómica). ....	48
3.7 Pruebas de bactericidas .....	48
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	49
4.1 Nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre CuNPs preparadas con el extracto de <i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo).....	49
4.1.1 Nanopartículas de plata AgNPs.....	49
4.1.2 Nanopartículas de oro AuNPs .....	51
4.1.3 Nanopartículas de cobre CuNPs.....	53
4.1.4 Caracterización de las nanopartículas de plata AgNPs por Microscopía de Fuerza Atómica AFM. ....	55
4.2 Nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre CuNPs preparadas con el extracto de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León). ....	56
4.2.1 Nanopartículas de plata AgNPs.....	56
4.2.2 Nanopartículas de oro AuNPs .....	58
4.2.3 Nanopartículas de Cu <sub>2</sub> ONPs. ....	60
4.2.4 Caracterización de las nanopartículas de plata AgNPs por Microscopía de Fuerza Atómica AFM. ....	62

4.3 Nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y CuNPs preparadas con el extracto de <i>Laurus nobilis</i> (Laurel).	65
4.3.1 Nanopartículas de plata AgNPs.	65
4.3.2 Nanopartículas de oro AuNPs.	67
4.3.3 Nanopartículas de cobre CuNPs.	70
4.4 Nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y CuNPs preparadas con el extracto de <i>Ocimum basilicum</i> (albahaca).	72
4.4.1 Nanopartículas de plata AgNPs.	72
4.4.2 Nanopartículas de oro AuNPs.	74
4.4.3 Nanopartículas de Cu <sub>2</sub> ONPs.	76
4.5 Pruebas de la actividad antimicrobiana.	76
4.5.1 Resultados de las pruebas como antibactericidas frente a <i>Escherichia coli</i> (bacteria gramnegativa).	77
4.5.2 Resultados de las pruebas como antibactericidas frente a <i>Staphylococcus aureus</i> (bacteria grampositiva).	82
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES	88
BIBLIOGRAFÍA.	91
ANEXO	99
Resultados de la identificación de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos en los extractos vegetales.	99
Ensayo para compuestos fenólicos	99
Ensayo para Flavonoides	100
Ensayo para taninos	101

# CAPÍTULO 1.

## 1.1 INTRODUCCIÓN

El interés sobre especies químicas de tamaño nanométrico es una de las áreas de trabajo más importantes de la investigación en química debido fundamentalmente a la gran variedad de nuevas propiedades y potenciales aplicaciones que se pueden explotar en diversos campos. Así el campo de la nanociencia ha florecido en los últimos veinte años y la necesidad de nanotecnología solo aumentará a medida que la miniaturización se vuelva más importante en áreas como la informática, los sensores y las aplicaciones biomédicas. Los avances en este campo dependen en gran medida de la capacidad de sintetizar nanopartículas de diversos materiales, tamaños y formas, así como de ensamblarlas eficientemente en arquitecturas complejas. Cabe resaltar que las propiedades físicas y químicas de las partículas y los compuestos en la escala nanométrica, se alteran significativamente, lo que crea una perspectiva completamente nueva para el diseño de materiales novedosos (Duncan, 2009).

Recientemente, la síntesis y caracterización de nanopartículas de especies químicas ha sido de gran interés científico e industrial puesto que se caracterizan por el aumento exponencial de su área en comparación con su volumen, lo que repercute en la mejora de sus propiedades por lo que en los últimos años, las nanopartículas de metales nobles como el oro y la plata han sido objeto de investigaciones específicas debido a sus propiedades electrónicas, ópticas, mecánicas, magnéticas y químicas, únicas que son significativamente diferentes a la de los materiales a granel. Estas propiedades especiales y únicas podrían atribuirse a su pequeño tamaño y gran superficie específica. Así, las propiedades únicas que muestran las nanopartículas metálicas provienen de la alta relación de superficie y volumen, del confinamiento cuántico del movimiento electrónico en nanopartículas (plasmones superficiales) (Monge, 2008).

En este contexto del gran desarrollo que ha experimentado la nanociencia y la nanotecnología en los últimos años se han desarrollado diferentes métodos físicos y químicos para la obtención de nanopartículas metálicas. En la actualidad estos materiales pueden ser sintetizados con diferentes formas, tamaños, composiciones y modificados con diferentes grupos funcionales que permitan a su vez, ampliar el citado rango de propiedades y potenciales aplicaciones. Para la producción de nanopartículas metálicas, como en el caso de

las nanopartículas de plata, oro y cobre se han propuesto diferentes estrategias de síntesis, entre las que se incluye, la síntesis química mediante microemulsión, reducción química, irradiación ultrasónica, síntesis electroquímica y más recientemente la aplicación de métodos biológicos que hacen uso de microorganismos, plantas y sus extractos (Guzmán et al., 2009), siendo la reducción química la técnica más empleada. Por otro lado, la síntesis biológica ha surgido como una opción nueva para obtener materiales a nanoescala, principalmente como resultado de la necesidad creciente de utilizar métodos de síntesis amigables con el ambiente. Esta ruta de la biosíntesis implica el uso de microorganismos (bacterias, levaduras, hongos) o extractos vegetales para lograr la reducción de iones metálicos, es considerada como química verde debido a que la síntesis y purificación de nanopartículas metálicas es simple, económicamente costeable, conveniente, compatible y ambientalmente segura, razón por la cual varios grupos de investigación se han enfocado hacia el uso de la síntesis verde para la fabricación de nanopartículas metálicas con diferente tamaño y morfología. Esta tendencia también se ha favorecido por la alta eficiencia y la enorme cantidad de recursos biológicos tales como plantas, hongos, algas, bacterias, etc., como fuente de agentes reductores (García, 2001; Irwin, 2010). El empleo de extractos vegetales como reductores para la síntesis de nanopartículas metálicas, cuya elección viene motivada por su alta disponibilidad y amplia distribución geográfica, no solo evita utilizar agentes reductores químicos en muchos casos caros y tóxicos, sino que también resulta un método más económico y ecológico. Extractos vegetales que poseen propiedades antioxidantes debidas a que contienen polifenoles, sustancias responsables de su actividad antioxidante, a este tipo de compuestos polifenoles se le atribuye el poder reductor de iones metálicos (Ignat, 2011).

Es de particular interés que los extractos de plantas que actúan como agentes reductores pueden proporcionar una vía rápida para la preparación de nanopartículas, método que tiene la posibilidad de tener un control del tamaño y la forma de las nanopartículas, además de reducir las sustancias contaminantes.

Algunos ejemplos incluyen la síntesis de nanopartículas metálicas que utilizan extractos de cilantro (Narayanan, 2008), cedrón (Cruz et al., 2010), cáscara de naranja (Kaviya, 2011), por mencionar algunos ejemplos.

Por todo lo mencionado anteriormente, en este trabajo se presentan los resultados obtenidos de la síntesis eco-amigable de nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre CuNPs,



empleando como agentes reductores de los metales extractos acuosos de plantas. Extractos obtenidos a partir de las hojas *Laurus nobilis*(Laurel), *Ocimum basilicum* (Albahaca), *Taraxacum officinale* (Diente de León) y *Thymus vulgaris* (Tomillo), vegetales de bajo costo, alta disponibilidad y que contiene en su estructura química polifenoles con propiedades antioxidantes. Las nanopartículas preparadas por este método fueron caracterizadas por su color, propiedad que caracteriza a las nanopartículas de plata, oro y cobre, a través de la técnica espectroscópica de UV-Visible para determinar la formación de las nanopartículas en estado cero de oxidación mediante la banda de absorción característica de cada uno de los metales (plasmones de resonancia) y a través del escaneo de las mismas por medio de Microscopía AFM (microscopía de fuerza atómica). Por último, se probó la actividad antimicrobiana de las nanopartículas frente a las bacterias *Escherichia coli* (gramnegativa) y *Staphylococcus aureus* (bacteria grampositiva).

## 1.2 JUSTIFICACIÓN

La generación de nuevas tecnologías y los avances en la ciencia han fomentado la necesidad de investigar nuevos métodos para la obtención de materiales a nivel nanométrico, que puedan aplicarse en las diferentes áreas de la ciencia y tecnología, y que permitan de cierto modo contribuir a la solución de problemas que se enfrentan en la vida cotidiana. Actualmente la demanda de productos y materiales en el área biomédica está incrementando, y con ello la necesidad de crear productos de mejor calidad, y con mejores propiedades, que reduzcan el costo de fabricación y que contribuyan a la innovación. Una alternativa a esto ha sido la aplicación de nanopartículas de plata, oro y cobre las cuales se caracterizan por sus excelentes propiedades antibacterianas y fungicidas, que por su amplio campo de aplicación existe un creciente interés en desarrollar procesos de síntesis amigables con el ambiente que eviten el uso de productos químicos tóxicos, por lo que los extractos vegetales acuosos resultan una opción promisoriosa dado que contienen entre sus componentes agentes reductores aptos para la síntesis de las nanopartículas. Por otra parte, la situación actual, exige la búsqueda de metodologías que no sean tóxicas y no perjudiquen el medio ambiente, además de que no requieran excesivos gastos en infraestructura y que de alguna u otra forma sean factibles. La búsqueda de nuevos métodos de síntesis de nanopartículas metálicas es una necesidad creciente debido a que se espera mejorar la eficiencia de los ya existentes, así como la minimización de sus efectos en el medio ambiente.

Es por ello que en este proyecto se realizó un estudio de la fabricación de nanopartículas de plata, oro y cobre mediante una síntesis verde, en la cual se emplearon como agentes reductores extractos acuosos de *Laurus nobilis* (Laurel), *Ocimum basilicum* (Albahaca), *Taraxacum officinale* (Diente de León) y *Thymus vulgaris* (Tomillo).

## 1.3 OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Preparar nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre CuNPs empleando como agentes reductores de los metales extractos de: *Laurus nobilis*(Laurel), *Ocimum basilicum* (Albahaca), *Taraxacum officinale* (Diente de León) y *Thymus vulgaris* (Tomillo).

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar por métodos analíticos el tipo y cantidad de polifenoles presentes en los extractos vegetales como: taninos, flavonoides y compuestos fenólicos.
- Determinar la influencia del pH en la síntesis de las nanopartículas metálicas.
- Determinar la formación de las nanopartículas a través del color y utilizando la técnica espectroscópica de UV-VIS, técnica basada en la presencia del plasmón de resonancia.
- A través del escaneo de las muestras por medio de microscopía de fuerza atómica AFM (*atomic force microscopy*) y a partir de imágenes topográficas 3D obtener información acerca de la distribución, tamaño y forma de las nanopartículas de plata, oro y cobre preparadas.
- Determinar la actividad antimicrobiana de las soluciones coloidales de las nanopartículas de AgNPs, AuNPs y CuNPs frente a las bacterias de *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa) y *Staphylococcus aureus* (bacteria grampositiva), por el método de difusión en pozos en agar Mueller-Hinton.

#### **1.4 HIPÓTESIS**

El uso de extractos de plantas como el *Laurus nobilis*(Laurel), *Ocimum basilicum* (Albahaca), *Taraxacum officinale* (Diente de León) y *Thymus vulgaris* (Tomillo) como agentes reductores en la síntesis de nanopartículas de plata, oro y cobre, es un método no convencional y amigable que brinda la posibilidad de preparar nanopartículas metálicas en solución acuosa en comparación con los métodos tradicionales, propiciando la minimización de sus efectos en el medio ambiente.

## CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Nanociencia y Nanotecnología

La Nanociencia es la disciplina encargada de la manipulación de estructuras químicas y biológicas cuyas dimensiones se encuentran dentro del rango nanométrico con el fin de obtener nuevas propiedades diferentes de las que se obtienen a nivel molecular o en estado masivo. La escala de medida nanométrica se utiliza para referirse a la milmillonésima parte de algo, es decir, que un nanómetro es la milmillonésima parte de un metro. Por lo tanto, dentro de este contexto, una nanopartícula será un conjunto ordenado de átomos cuyo diámetro, o al menos una de sus dimensiones, permanezca entre 1 y 100 nm y contenga entre decenas y miles de átomos de metal. En el ámbito de la química este rango de tamaño ha sido asociado con coloides, micelas, polímeros, moléculas de gran tamaño o agregados de varias moléculas. En las últimas décadas la nanociencia ha ido alcanzando un alto grado de desarrollo en el mundo científico y de investigación, así como presentando un impacto cada vez más apreciable en la sociedad actual. Muchos productos y aplicaciones basados en el empleo de los materiales han aparecido como resultado de los desarrollos en el ámbito de la nanociencia ya se han empezado a comercializar, principalmente en la tecnología. De manera particular, las aplicaciones actuales más exitosas de la nanotecnología se centran principalmente en los siguientes sectores: la microelectrónica, la informática, las comunicaciones, la automoción, la aeronáutica, la logística militar, la salud humana y animal, la cosmética y el medio ambiente (Grassian, 2008).

El término nanotecnología se refiere a una nueva manera de pensar sobre la construcción de materiales y dispositivos complejos mediante un control sobre la funcionalidad de la materia y su ensamblaje en esa escala de tamaño nanométrico. Ha tenido un desarrollo vertiginoso en los últimos años debido a que describe la creación y la explotación de materiales con características estructurales controladas, con al menos una dimensión en el rango nanométrico. La nanotecnología presenta un enorme potencial de aplicaciones en diferentes áreas científicas y tecnológicas; por ello, uno de sus objetivos es la obtención de nanopartículas de diversos elementos metálicos con formas y tamaños diferentes, puesto que presentan propiedades ópticas, electrónicas, magnéticas, catalíticas y en el plano de la medicina. Estos nanomateriales presentan propiedades muy interesantes y diferentes a los

materiales “en bulto” o a escala macroscópica; entre ellas, la conductividad eléctrica y las propiedades magnéticas, ópticas y de catálisis, propiedades que las hacen candidatas a innumerables aplicaciones en todos los campos de la tecnología (Duncan, 2009).

La forma de las nanopartículas es una característica importante que se toma en cuenta para las posibles aplicaciones en el área de la nanotecnología. Con base a su forma encontramos nanopartículas esféricas, cilíndricas, en barras y plaquetas y sus propiedades físicas y químicas están relacionadas con su tamaño y composición química. Las propiedades químicas de la superficie, incluyendo defectos e impurezas, contribuyen a su reactividad (Xia, et al, 2009).

Es por esto que en los últimos años se ha incrementado el interés por la nanoquímica, ciencia que se encarga de estudiar y generar nuevas rutas sintéticas para la producción de nanopartículas (dentro de la escala nanométrica) y para estudiar su forma, composición, superficie estructural, carga y funcionalidad, o para la construcción de procesos de autoensamblaje. Debido a las nuevas aplicaciones encontradas para las nanopartículas, se busca la preparación de nuevos métodos de síntesis con un mejor control en los parámetros de crecimiento, dirigidos a la producción de nanopartículas con propiedades a la medida para aplicaciones específicas, por lo que es fundamental la comprensión del mecanismo de formación, así como de su crecimiento.

Así en el campo de estudio de la nanotecnología encontramos las nanoestructuras metálicas, siendo importante señalar que son las nanopartículas que más han llamado la atención de los científicos ya que presenta un enorme potencial de aplicaciones en diferentes áreas científicas y tecnológicas; por ello, uno de sus objetivos es la obtención de nanopartículas de diversos elementos metálicos con formas y tamaños diferentes, puesto que presentan propiedades ópticas (Fendler y Hutter, 2004), electrónicas (Sudrik et al., 2006), magnéticas (Sun et al., 2000) y catalíticas (Sudrik et al., 2006) únicas. Cabe resaltar que, al manipular las sustancias, las partículas y los compuestos en la escala nanométrica, sus propiedades físicas y químicas se alteran significativamente, lo que crea una perspectiva completamente nueva para el diseño de materiales novedosos, propiedades que las hacen candidatas a innumerables aplicaciones en todos los campos de la tecnología.

## 2.2 Nanopartículas metálicas.

Dentro de este contexto general encontramos las nanoestructuras metálicas, que actualmente han llamado la atención de los científicos ya que representan las clases de nanomateriales más prometedoras en virtud de sus propiedades optoelectrónicas, térmicas, magnéticas y su alta capacidad catalítica y debido a sus fascinantes y diversas aplicaciones como en planos médicos, tecnológicos y sus aplicaciones en nanotecnología. A escala nanométrica las propiedades físicas y químicas, como la conductividad eléctrica, la reactividad, etc., de los metales cambian con respecto a los materiales macroscópicos, incrementándose el interés por su estudio. (Xiaohua, 2010)

Se han desarrollado diferentes métodos físicos y químicos para la obtención de nanopartículas de metales sintetizados con diferentes formas, tamaños, composiciones y modificados con diferentes grupos funcionales que permiten, a su vez, ampliar el citado rango de propiedades y potenciales aplicaciones. Así existen dos aproximaciones que permiten la síntesis de nanopartículas. La primera de ellas es la conocida como aproximación *top-down* (de arriba abajo), que consiste en dividir en pequeños fragmentos un material hasta llegar al tamaño nanométrico empleando energía química o física. La segunda, que se basa en la idea opuesta, es conocida como aproximación *bottom-up* (de abajo a arriba) y consiste en la formación de nanopartículas a través de la condensación de átomos en fase gas o en disolución mediante reacciones químicas (Ponce, 2011). La figura 2.1 muestra el esquema representativo de las dos rutas de síntesis de nanopartículas.

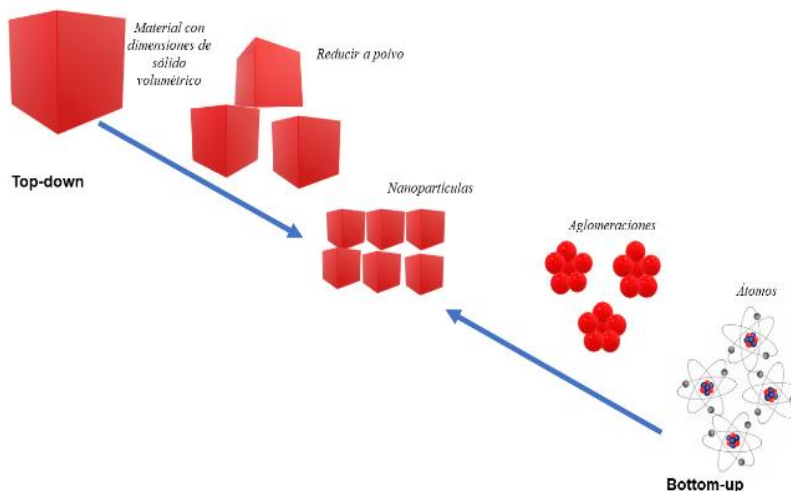


Figura 2.1. Esquema representativo de las dos rutas de síntesis de nanopartículas.

La aproximación *bottom-up* (de abajo a arriba), es la que presenta un mayor interés desde el punto de vista químico, ya que se basa en el empleo de pequeñas unidades a nivel molecular (átomos), obtenidos a través de un precursor adecuado, para dar lugar de forma controlada a sistemas de tamaño nanométrico a través de un proceso de agregación de los mismos, de forma que los componentes moleculares sean partes cruciales de estos sistemas, ha dado lugar al desarrollo de un gran número de métodos sintéticos de nanopartículas, la mayor parte de ellos implica la obtención de átomos metálicos en estado de oxidación cero a partir de iones metálicos. Así, entre los métodos de reducción en disolución más empleados se pueden destacar: la reducción química o electroquímica de sales metálicas, la descomposición térmica, sonoquímica de precursores moleculares, por microondas, la reducción y desplazamiento de ligantes de un compuesto organometálico, por mencionar algunos métodos (Burda, 2005). La reducción química de sales metálicas en disolución es el método más ampliamente extendido para la síntesis de nanopartículas metálicas.

Desde un punto de vista químico, la síntesis de nanopartículas en disolución (disolución coloidal) requiere del empleo de métodos que permitan obtener un control preciso sobre el tamaño y la forma de las nanopartículas para así obtener un conjunto de partículas monodispersas que presenten una propiedad determinada. En general, la síntesis de nanopartículas metálicas en disolución se lleva a cabo mediante el empleo de los siguientes componentes: i) precursor metálico; ii) agente reductor; iii) agente estabilizante. El mecanismo de formación de las disoluciones coloidales a partir de la reducción de iones metálicos consta de dos etapas diferentes: nucleación y crecimiento. El proceso de nucleación requiere una alta energía de activación mientras que el proceso de crecimiento requiere una baja energía de activación. El tamaño y la forma de las nanopartículas dependerá de las velocidades relativas de estos procesos que pueden ser controladas a través de la modificación de los parámetros de reacción (concentración, temperatura, pH, poder reductor, etc.) (Monge, 2009). Para lograr una muestra monodispersa, la etapa de nucleación, debe estar completa antes de que comience la etapa de crecimiento. La figura 2.2 muestra las etapas del mecanismo de formación de nanopartículas a partir de la reducción química.



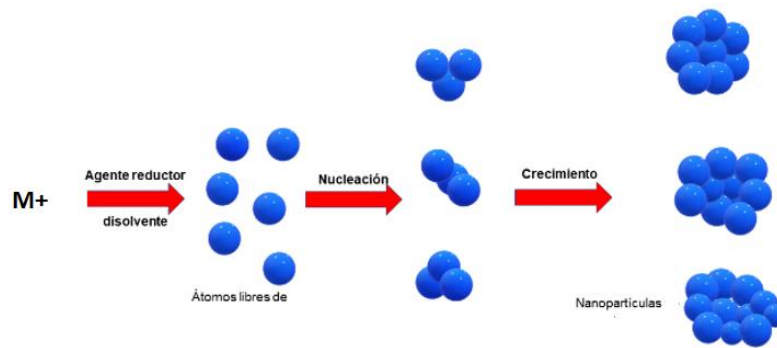


Figura 2.2. Mecanismo de formación de nanopartículas metálicas a partir de la reducción química.

El tamaño y la forma de las nanopartículas obtenidas depende de las velocidades relativas de cada una de estas etapas, que pueden ser controladas a través de la modificación de los parámetros de reacción (concentración, temperatura, pH, poder reductor, etc.).

Para partículas metálicas, la nucleación es el resultado de una compleja interacción de factores como la diferencia entre los potenciales redox de la sal metálica y el agente reductor, y las condiciones de reacción incluyendo la velocidad de adición, la temperatura de reacción e incluso la velocidad de agitación.

Por otro lado, encontramos la síntesis biológica o biosíntesis, es observada en forma continua, y merece mucha atención debido a una creciente necesidad de métodos de síntesis amigables para el medio ambiente, que utilizan agentes reductores y de terminación ecológicos. La biosíntesis involucra el empleo de microorganismos (bacterias, levaduras y hongos) o extractos de plantas, que tienden a oxidarse cediendo sus electrones con objeto de reducir el metal a valencia cero. La principal ventaja de la síntesis biológica sobre otros métodos es que evita los solventes orgánicos y reactivos tóxicos. Además, las nanopartículas biosintetizadas son más estables que aquellas producidas químicamente, y pueden permanecer estables durante un largo período de tiempo. La desventaja es que en el proceso de purificación puede llevar a que las bacterias patógenas contaminen el producto, por lo que se debe tener precaución en su aplicación médica (Mohd, 2013).

Durante la síntesis de nanopartículas, por cualquiera de los métodos anteriores, se busca conseguir un mejor control del tamaño y forma para así obtener un conjunto de partículas monodispersas, con forma o morfologías idénticas, igual composición química, igual estructura cristalina y ausencia de fenómenos de agregación de manera que presenten una propiedad determinada.

## **2.3 Nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre CuNPs.**

### **2.3.1 Nanopartículas de plata AgNPs**

La plata es un metal de transición con un potencial de reducción de  $\text{Ag}^{1+}/\text{Ag}^0 +0.8 \text{ E}^0/\text{V}$ , ha sido empleada durante miles de años como metal precioso por el ser humano en aplicaciones tan dispares como joyería, utensilios, moneda, fotografía o explosivos. De todos estos usos, uno de los más importantes es su empleo como agente desinfectante con fines higiénicos y médicos. Así, ya desde la antigüedad se empleaban vasijas de plata para almacenar agua o vino ya que se consideraba que preservaba sus condiciones. También Hipócrates, padre de la medicina moderna, describió el empleo de polvo de plata para su aplicación en la curación de heridas y en el tratamiento de úlceras. Posteriormente se han empleado sales y compuestos de plata en diferentes campos biomédicos, especialmente en el tratamiento de quemaduras (Klasen, 2000).

La plata en forma de nanopartículas se ha investigado ampliamente debido a la dependencia de su tamaño con las propiedades ópticas, eléctricas y magnéticas. En la escala nanométrica, la plata presenta inusuales propiedades físicas, químicas y biológicas, además de su actividad antimicrobiana (X. Chen, 2007). Actualmente la aplicación de las nanopartículas de plata se encuentra enfocada en su uso como agentes bactericidas o fungicidas en áreas tales como: la biotecnología, bioingeniería, medicina, ingeniería textil, tratamiento del agua y productos de consumo a base de plata. (Khaydarov, 2009).

Debido a su fuerte actividad bactericida, las nanopartículas de plata se utilizan ampliamente en el campo biomédico para el control de infecciones (Madhumathi, 2010), en recubrimientos de varios materiales textiles y en determinados implantes, además de usarse en el tratamiento de heridas y quemaduras, así como también se ha comercializado como un desinfectante para el agua. Algunos estudios con nanopartículas de plata realizados por Sondi y Salopek-Sondi, demostraron que las nanopartículas con un diámetro de 12 nm, muestran un fuerte efecto bactericida sobre cepas de la bacteria *E. coli* (Sondi, 2004). Aun con los métodos existentes para la producción de nanopartículas y materiales a base de plata, continúa la búsqueda de métodos que sean fáciles, económicos, eficientes, con buenas propiedades bactericidas y ambientalmente amigables al reducir el uso de temperaturas altas y reactivos tóxicos.

### **2.3.2 Nanopartículas de oro AuNPs.**

Aunque el oro es uno de los materiales más conocidos y utilizados desde la antigüedad, no ha dejado de atraer fuertemente la atención de la comunidad científica debido a sus excelentes propiedades, tiene potenciales de reducción estándar altos y positivos  $\text{Au}^{1+}/\text{Au}^0$  +01.70 E<sup>0</sup>/V, tiende a aparecer en su estado metálico, siendo en este estado poco reactivo, por lo cual presenta una gran estabilidad química y una notable resistencia a la corrosión. Por otro lado, es un excelente conductor de electricidad y calor y su baja reactividad lo convierte en el metal más inocuo para la salud humana (Chang, 2010).

Las nanopartículas de oro son preferiblemente el miembro más atractivo de las nanopartículas de metales nobles debido a sus aplicaciones potenciales en los campos que van desde la catálisis, la óptica no lineal, la nanoelectrónica, la expresión génica y el diagnóstico de enfermedades (Shankar, 2004). Exhiben excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, que son intrínsecas a su «tamaño nanométrico». Destacan especialmente sus peculiares e inesperadas propiedades fototérmicas, por las que, al ser activadas en presencia de luz láser, desprenden calor, actuando como auténticos «nanocalcificadores» (Han, 2006).

El interés por el oro en forma de partículas de tamaño nanométrico se ha visto renovado y fortalecido debido a los comportamientos físicos que exhiben estos sistemas, que son muy diferentes a los observados en el oro a escala macroscópica y los cuales presentan nuevas dependencias con el tamaño y forma del material. Con respecto a la preparación de las nanopartículas de oro AuNPs, la reducción química de sales metálicas en disolución es el método más ampliamente extendido, la obtención de átomos metálicos en estado de oxidación cero mediante un proceso químico se realiza a través del empleo de diferentes agentes reductores.

### **2.3.3 Nanopartículas de cobre CuNPs.**

El cobre es un metal de transición interna con un potencial de reducción  $\text{Cu}^{1+}/\text{Cu}^0$  de +0.3 E<sup>0</sup>/V, de color rojizo y brillante, posee propiedades muy similares a las de la plata. Es el segundo mejor conductor de la electricidad (el primero es la plata), sin embargo, es el metal más utilizado para aplicaciones eléctricas debido a su menor costo con respecto a la plata (Rayner, 2000).

El cobre en tamaño nanométrico ha sido utilizado en la microfabricación de conductores, tales como electrodos y líneas conductoras (C.P. Wong, 2007; Stephane Cuenot, 2004). En la tecnología de impresión por inyección de tinta que es recientemente aplicada como una alternativa de la tradicional litográfica. Rápidamente, metales nobles como el oro y la plata han sido utilizados en pinturas altamente conductoras en equipos electrónicos. Considerando el alto costo de estos metales, el cobre puede ser utilizado como una alternativa barata como material conductor (Cuenot, 2004; Cuyubamba, 2014). Tiene aplicaciones antimicrobiales al igual que la plata, pero aun cuando las nanopartículas de cobre no son efectivas como la de la plata, la ventaja principal es que el costo de las nanopartículas de cobre es mucho menor, además al tener tamaño nanométrico se espera que mejore las propiedades antimicrobiales de manera muy importante, dándole por lo tanto un valor agregado (España, 2014). Esto puede hacer las nanopartículas de cobre un producto de gran importancia en la industria de los plásticos, de la tinta, del papel, de las pinturas etc. (Carbajal, 2012).

## **2.4 Propiedades ópticas de las nanopartículas metálicas.**

Un aspecto interesante de las nanopartículas metálicas es que sus propiedades ópticas dependen fuertemente del tamaño y forma de la partícula. Como un ejemplo, el oro en bulto refleja una luz amarillenta, pero en películas delgadas se ve azul por transmisión. Este color azul cambia a naranja cuando el tamaño de la partícula decrece a 3 nm. Estos efectos son el resultado de cambios en el plasmón de resonancia en la superficie (T. Klar, M. Perner, S. Grosse, 1996).

Entre las fascinantes propiedades de las nanopartículas metálicas (NPs) destaca la aparición de plasmones de superficie localizados (banda de plasmón), característicos, cuya naturaleza cuántica es una consecuencia directa del pequeño tamaño de las nanopartículas NPs, del desarrollo de nanocaros cristalinas bien definidas y de que la mayoría de sus átomos están en la superficie, es decir, que la proporción de átomos en la superficie respecto al volumen es muy superior a la del seno del metal. Así los electrones de la superficie son capaces de interactuar con la radiación electromagnética en una manera muy compleja altamente dependiente de la forma, tamaño, cristalinidad y naturaleza química de las NPs y, además, de las condiciones físicas y químicas del medio circundante alrededor de las mismas. En los metales existe una gran cantidad de electrones (digamos del orden del número de Avogadro,  $\approx 10^{23}$ ) que no se encuentran ligados a un determinado núcleo atómico, de modo que se pueden mover libremente dentro del material formando un plasma.

Cuando un haz de luz incide sobre los electrones libres de la banda de conducción de la superficie de las nanopartículas metálicas se induce una excitación colectiva de estos electrones libres, como consecuencia de la fuerte interacción con la luz incidente; produciéndose una vibración de la nube electrónica para disipar energía, estas oscilaciones se denominan plasmones. Según la mecánica cuántica pueden comportarse como ondas con cierto valor de energía, que son las responsables del efecto de la resonancia denominadas plasmones, ya que es debido a la absorción de éstas por la nube electrónica. Este efecto es el que provoca el color característico de las nanopartículas de plata, oro y cobre. (Kelly et al., 2003).

Para que este fenómeno ocurra, la partícula tiene que ser mucho menor que la longitud de onda de la luz incidente. El campo eléctrico oscilante de la luz incidente induce un dipolo eléctrico en la partícula desplazando a una parte de los electrones móviles deslocalizados en

una dirección lejos del resto de la partícula metálica, generando así una carga neta negativa en un lado de la partícula. Como el resto de los núcleos y sus electrones internos no se han desplazado, constituyen una carga opuesta positiva (red catiónica). Esta separación de cargas actuará como una fuerza restauradora del equilibrio (Cruz et al., 2012). La energía de la luz para producir la banda de plasmón en una nanopartícula metálica, así como la posición y anchura de la banda depende de diversos factores: naturaleza del metal, tamaño y forma de la partícula y composición del medio circundante de la misma como índice de refracción del disolvente (García, 2011). Este fenómeno puede observarse en la figura 2.3.

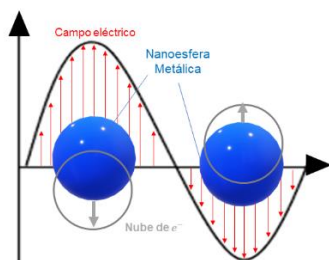


Figura 2.3. Representación esquemática de la interacción entre los electrones de conducción de las nanopartículas y el campo eléctrico de la luz.

La forma y el tamaño de las nanopartículas metálicas son factores importantes que determinan la posición de la banda de plasmones de superficie localizados. Así, para algunos metales como la plata, oro y cobre, la frecuencia del plasmón aparece en el rango de la región visible, esta es la razón por lo que las disoluciones coloidales de estos metales muestran colores intensos y espectaculares (Crespo, 2014). La figura 2.4, muestra las imágenes de soluciones coloidales de nanopartículas de plata y oro, en donde se aprecia los diferentes colores.

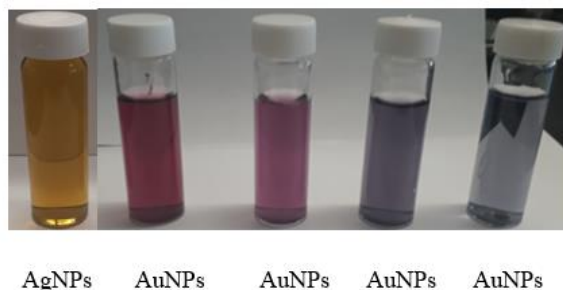


Figura 2.4. Soluciones coloidales de nanopartículas de plata y oro. (imágenes propias del autor)

De la observación y el estudio de plasmones en nanopartículas metálicas se deduce que se requiere seguir un protocolo de síntesis extremadamente riguroso con los reactivos usados, su pureza, la forma y el orden en que se mezclan y todo tipo de factores físicos y químicos, en especial la temperatura (que puede cambiarse o no de forma programada durante el proceso de síntesis), la forma e intensidad de la agitación, el pH, la fuerza iónica, etc. Esta propiedad óptica, el plasmón de resonancia, ha permitido caracterizar a las nanopartículas metálicas incluyendo las de plata, oro y cobre además de poder determinar mecanismos de formación y crecimiento de las mismas. (Monge 2009).

## **2. 5 Propiedades ópticas de las nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre CuNPs.**

Las nanopartículas, como las de la plata, oro y cobre, se diferencian de los materiales a granel debido a la respuesta óptica de la excitación de la resonancia de plasmón. Esta fenomenal propiedad como se mencionó anteriormente es una actividad de electrones de conducción en la superficie del metal excitado debido a la interacción con la radiación electromagnética. Estas oscilaciones proporcionan una banda de absorción en el rango del espectro infrarrojo, visible y ultravioleta, la posición (longitud de onda) y forma de esta banda va a depender del tipo de metal, tamaño y forma de las nanopartículas formadas, por lo que se considera que este fenómeno es muy sensible dependiendo de estos factores (Noginov, 2007). En el caso de las nanopartículas de los metales nobles como el oro y la plata, la banda del plasmón de resonancia cae dentro del espectro visible, de modo que estas nanopartículas presentan colores diferentes a los observados en sus análogos macroscópicos y que pueden variar según el tamaño de partícula. En la zona visible del espectro habrá parte absorbida y otra reflejada que será la responsable del color característico del material.

### **2.5.1 Propiedades ópticas de las nanopartículas de plata AgNPs.**

Para el caso de las nanopartículas de plata, el plasmón de resonancia aparece alrededor de los 400 nm (Murray & Barnes, 2007). Como se mencionó anteriormente la posición y forma de la banda del plasmón proporciona información importante sobre las características de las nanopartículas obtenidas como su tamaño, color, forma y polidispersidad.

Así, por ejemplo, la figura 2.5, muestra los espectros de absorción de nanopartículas de plata de forma esféricas de diferentes tamaños, se observa el corrimiento y ensanchamiento de la

banda a mayores longitudes de onda debido al incremento de tamaño de partícula (Majles, 2009, Ibarra, 2014).

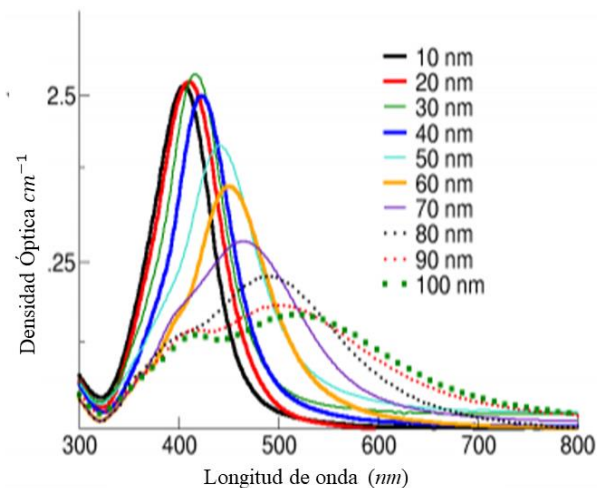


Figura 2.5. Espectros de absorción reportados para diferentes tamaños de AgNP's. (Fuente: nanocomposix.com)

Los espectros de absorción reportados en la literatura dan cuenta de picos de resonancia plasmónica alrededor de 430 nm para AgNP's de tamaños entre 30 nm y 50 nm de radio. Según el tamaño y forma de la nanopartícula de plata, toman diferentes colores, la figura 2.6 muestra los colores que toma una disolución coloidal de nanopartículas de plata de diversos tamaños (menores de 30 nm) y formas (esferas, varilla, triangulo, galletas etc., y la figura 2.7 los espectros UV-VIS de cada una de ellas.



Figura 2.6. Colores de diferentes de disoluciones coloidales de nanopartículas de plata (Cornejo, 2016).



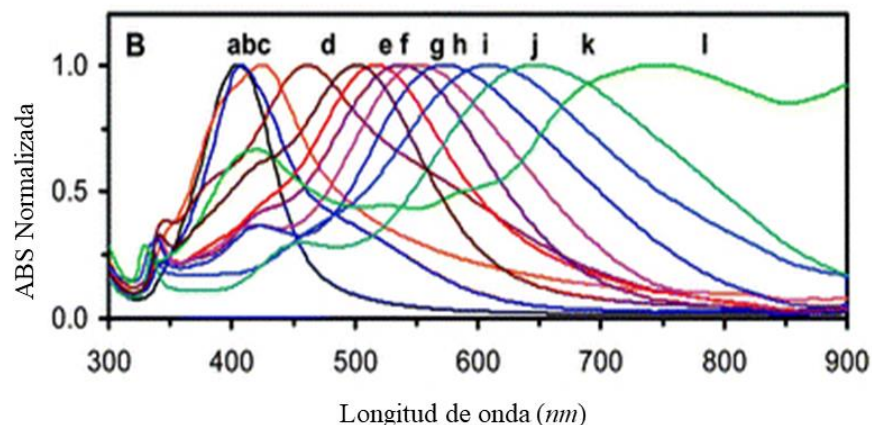


Figura 2.7. Espectros UV-VIS de las soluciones de la figura 2.6 (Cornejo, 2016).

### 2.5.2 Propiedades ópticas de las nanopartículas de oro AuNPs.

Para el caso de las nanopartículas del oro AuNPs el plasmón de resonancia se observa en la región visible alrededor de los 500-600 nm, de la misma forma su posición y forma depende del tamaño y forma de las nanopartículas de oro. Las AuNPs de pequeño tamaño absorben luz en la región verde-azul del espectro (400-500 nm) mientras que la luz roja (700 nm) es reflejada dando un color rojo intenso en las disoluciones de medio acuoso. Si el tamaño aumentara, la longitud de onda de la banda plasmón superficial se desplazaría a valores más altos, la luz roja sería absorbida y la azul sería reflejada dando lugar a un color azul-violeta, véase figura 2.8 (Cornejo, 2015b).

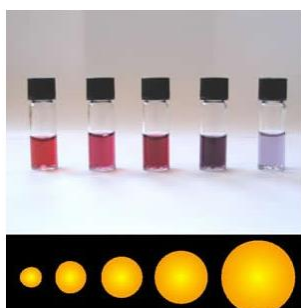


Figura 2.8. Soluciones coloidales de nanopartículas de oro de diferentes tamaños. Variaciones de color de la solución. (Cornejo, 2015b).

A medida que las nanopartículas de oro aumentan su tamaño, la longitud de onda donde aparece la banda de absorción del plasmón, relacionada con la luz absorbida, se desplaza hacia la zona visible del espectro electromagnético de longitudes de onda mayores (de menor

energía), que corresponden al color rojo; se absorbe la luz roja y se refleja la luz azul y la solución coloidal presentará una coloración azul (azul pálido o color púrpura).

Estudios realizados sobre la relación entre las variaciones de la forma y la posición de banda del plasmón superficial, respecto al tamaño de las AuNPs, ha llevado a la conclusión de que el ensanchamiento adicional de la banda y el desplazamiento hacia longitudes de ondas mayores a medida que aumenta el tamaño de las AuNPs está estrechamente relacionado con el tamaño de la misma (Lien, 2011). La figura 2.9 muestra los espectros de absorción de nanopartículas de oro de diferentes tamaños, se observa el corrimiento y ensanchamiento de la banda a mayores longitudes de onda debido al incremento de tamaño de partícula.

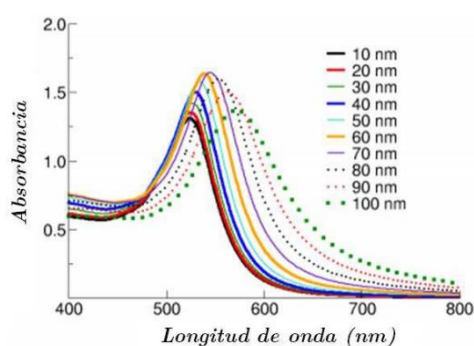


Figura 2.9. Movimiento del pico de máxima absorbancia en función del tamaño de partícula de las nanopartículas de oro. Fuente: nanocomposix.com.) (Ruiz, 2016).

Y en la figura 2.10, los espectros de UV-VIS muestran las bandas de absorción de nanopartículas de oro de diferentes formas (Cornejo, 2015b).

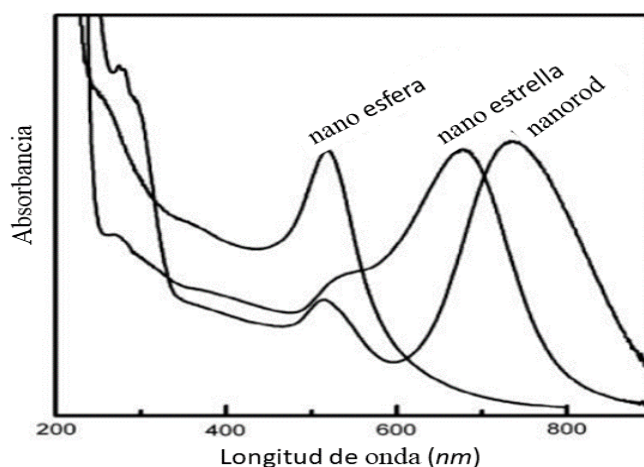


Figura 2.10. Variación de la longitud de onda absorbida con la forma de las nanopartículas (Cornejo, 2015b).

### 2.5.3 Propiedades ópticas de las nanopartículas de cobre Cu.

En el caso de las nanopartículas de cobre, son tres especies posibles que se pueden formar: NPs de Cu metálico, NPs de CuO y NPs de Cu<sub>2</sub>O. Por lo que es importante su caracterización para distinguir en tres las tres especies. Presentan soluciones coloidales de diferentes colores, así como las bandas del plasmón de resonancia aparece a diferentes longitudes de onda, el cambio de color se ve reflejado en el espectro electromagnético de UV-VIS.

*Nanopartículas de Cu metálico CuNPs:* las disoluciones de las nanopartículas de cobre metálico presentan un color rojizo, evidencia de su formación. La Figura 2.11 muestra este color característico, según el reactivo que se use éste puede ser más o menos intenso.



Figura 2.11. Color de las NPs de cobre metálicas (Dung, 2011).

El espectro de UV-VIS de esta disolución muestra una señal característica entre 500 y 600 nm, tal y como se muestra en la figura 2.12. Aunque ésta puede variar un poco en función del agente reductor que se utilice.

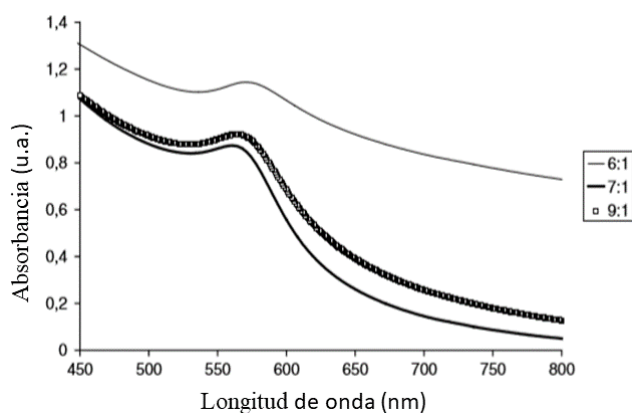


Figura 2.12. UV-VIS nanopartículas de cobre obtenidas a diferentes concentraciones (Dung, 2011).

*Nanopartículas de Cu<sub>2</sub>O:* se distinguen por un cambio de color durante el proceso de síntesis a un color ocre, su síntesis química hace que estas Cu<sub>2</sub>ONPs se obtengan generalmente en forma de sólido, tal y como se muestra en la figura 2.13, ya que no son solubles en agua ni

en etanol. Aunque cuando se mezclan con uno de estos dos reactivos se observa una mezcla homogénea, cuando se deja, reposar el sólido (las NPs) vuelve a precipitar formando una disolución heterogénea (Marcos, 2016; Khan, 2016).



Figura 2.13. Color de las Nanopartículas de  $\text{Cu}_2\text{O}$  (Marcos, 2016; Khan, 2016).

La caracterización mediante Espectroscopía de UV-VIS de éstas NPs de  $\text{Cu}_2\text{O}$  muestra que absorben a longitudes de onda entre 400-500 nm. Si el máximo de absorbancia está a longitudes de onda más bajas indica que las NPs formadas son de tamaño más pequeño, mientras que un desplazamiento a longitudes de onda más altas indicará que éstas tendrán un tamaño mayor (Arshadi, 2014).

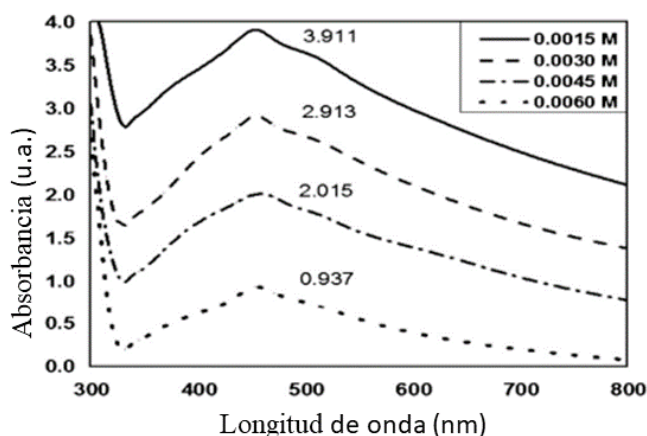


Figura 2.14. Espectros de UV-VIS de las NPs de  $\text{Cu}_2\text{O}$  a diferentes concentraciones (Arshadi, 2014).

*Nanopartículas de  $\text{CuO}$* : El color que caracteriza la formación de las NPs de  $\text{CuO}$  es un color muy oscuro, así podría considerarse negro, o un color marrón muy oscuro. (Zhang, 2012). La figura 2.15 muestra su color característico.



Figura 2.15. Color de las NPs de CuO (Zhang, 2012).

Las NPs de CuO se caracterizan por absorber a longitudes de onda entre 250 y 300 nm, tal y como se muestra en la figura 2.16, se aprecia una banda con un pico de absorbancia a los 278 nm. (Kumar, 2016)

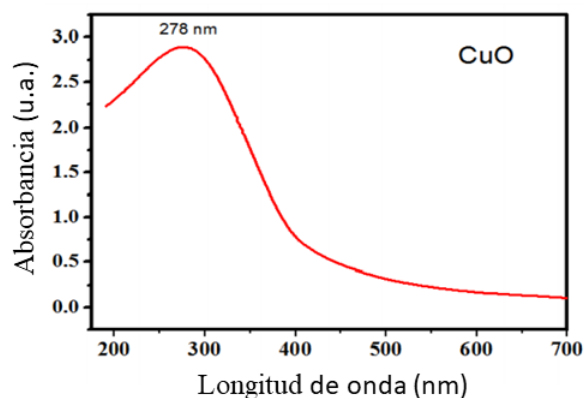


Figura 2.16. Espectro UV-VIS de nanopartículas de CUO (Kumar, 2016).

## 2.6 Síntesis química de nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre CuNPs.

### 2.6.1. Síntesis de nanopartículas de plata AgNPs.

El primer ejemplo de reconocimiento considerable es la Roman Lycurgus Cup, una copa de bronce forrada con vidrio coloreado que data del siglo IV d.C. El vidrio dispersa una luz verde opaca y transmite luz roja. Según un estudio encargado por el Museo Británico, que actualmente exhibe la copa, el vidrio contiene partículas de 70 nm que son una aleación de plata (70%) y oro (30%). Se sabe que las nanopartículas de plata de este tamaño dispersan el verde se enciende y transmite naranja, y la adición de Au desplaza la banda de absorción a longitudes de onda más largas. Aunque esta aplicación particular de nanopartículas puede haber sido involuntaria, pequeñas nanopartículas a menudo se usaron en siglos posteriores para crear vidrieras con pequeñas partículas de Au rojo rubí y Ag amarillo limón (David, 2005). Figura 2.17.



Figura 2.17. Copa romana de Lycurgo, con nanopartículas de oro y plata muestra un color diferente dependiendo si la luz pasa o no a través de ella.

Estudios de microscopía electrónica de transmisión han determinado que la copa de Lycurgus fabricada a base de vidrio durante el imperio romano, así como algunos vitrales de las catedrales de la Edad Media, poseen nanopartículas de oro y plata. En la figura 2.18 se aprecian las imágenes de nanopartículas de plata y oro obtenidas de estudios de TEM (Baeber, 1990).

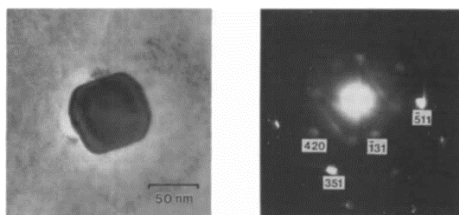


Figura 2.18. Imágenes de TEM de nanopartículas de 70 nm de oro y plata en copa romana de Lycurgo. (Baeber, 1990).

En el caso de las nanopartículas de plata los primeros métodos descritos son el método Lee-Meisel (Meisel, 1982) y el método Creighton (Creighton, 1979). El primero de ellos consiste en una variación del método Turkevich para la obtención de nanopartículas de oro, en el que se emplea  $\text{AgNO}_3$  en lugar de  $\text{HAuCl}_4$  como precursor metálico y citrato de sodio como agente reductor. En el método Lee-Meisel (Meisel, 1982) se obtienen nanopartículas de plata con una distribución amplia de tamaño de partícula (polidispersas). El método Creighton consiste en la reducción de  $\text{AgNO}_3$  con el agente reductor  $\text{NaBH}_4$ , este método es el más popular en la actualidad y da lugar a la obtención de nanopartículas de plata de aproximadamente 10 nm y con una distribución estrecha de tamaños (monodispersas). (Creighton, 1979).

A partir de los dos métodos anteriormente mencionados se han descrito un gran número de reacciones químicas que permiten la síntesis de nanopartículas de plata mediante la reducción

química de una sal de plata(I). Los métodos en los que las nanopartículas se sintetizan mediante el concurso de la sal metálica y un agente reductor químico son los que más variaciones presentan. De entre ellos se encuentra la formación de nanopartículas de plata a partir de  $\text{AgNO}_3$  empleando como agentes reductores ácido ascórbico, (Velikov, 2003), polioles o monosacáridos (Raveendran, 2003).

En el caso del empleo de ácido ascórbico como agente reductor se pueden obtener nanopartículas de plata de tamaño grande (hasta 1200 nm) variando las condiciones de reacción (Velikov, 2003).

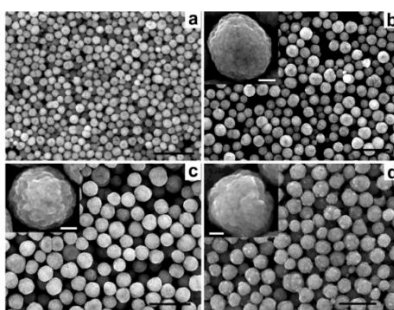


Figura 2.19. SEM de nanopartículas de plata monodispersas.

En el caso de los monosacáridos, se ha desarrollado un método denominado "verde" por su respeto por el medioambiente. En este método se provoca la reducción química de la sal  $\text{AgNO}_3$  mediante el empleo de  $\beta$ -D-glucosa como agente reductor en presencia de almidón como agente estabilizante, lo que da lugar a la obtención de nanopartículas de plata de aproximadamente 5 nm. (Raveendran, 2003). Figura 2.20

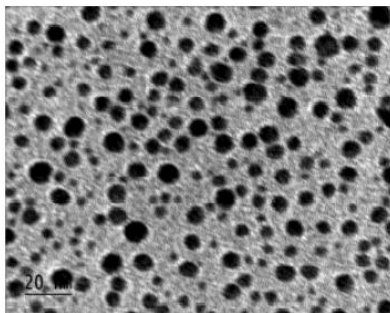


Figura 2.20 Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) de nanopartículas de plata almidonadas. La barra de escala corresponde a 20 nm.

Actualmente se preparan nanopartículas de diferentes materiales con diferentes formas y tamaños con aplicaciones importantes en el campo de la nanotecnología y de la salud. (Monge, 2009).

Morales et al, sintetizaron coloides de nanopartículas de plata de forma esférica por el método sol-gel, a partir de la reducción de nitrato de plata por etilenglicol en un proceso denominado poliol. El tamaño de las NPs se encontró en el rango de 20 a 40 nm. Para el análisis morfológico de las nanopartículas se usó un microscopio electrónico de transmisión. La figura 2.21, muestra la imagen de las nanopartículas de plata preparadas por este método (Morales et al, 2009).

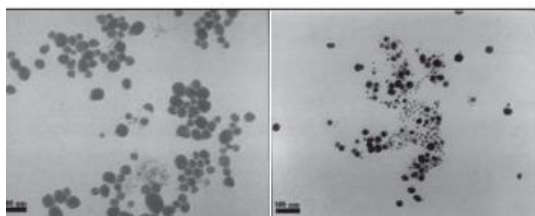


Figura 2.21. Micrografía TEM de las nanopartículas de plata preparadas con etilenglicol como agente reductor.

Yaqiong et al, reportaron la preparación de AgNPs cuasi esféricas, se sintetizaron usando ácido ascórbico como reductor y citrato como estabilizante en un baño de agua a 30 °C. El tamaño medio de las NPsAg disminuyó de 73 nm a 31 nm a medida que el pH del sistema de reacción aumentó. Los análisis cuantitativos indicaron que la reducción del precursor de plata se promovió a un pH elevado atribuido al aumento de la actividad del ácido ascórbico (Yaqiong et al, 2010). Figura 2.22.

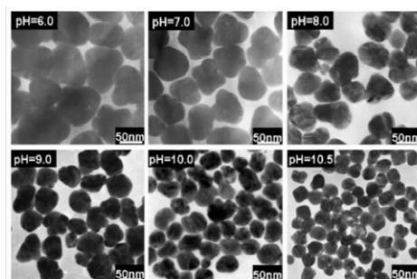


Figura 2.22. Las AgNPs cuasi esféricas preparadas a pH 6, 7, 8, 9, 10 y 10.5 después de 15 minutos de las reacciones a 30°C.



Malegowd et al, en su experimento con la ultrasonicación de una solución de  $\text{AgNO}_3$  y quitosano (10mM), identificaron estructuras cúbicas de plata (diámetro 120 a 450nm) junto con otras AgNPs dispersas. La temperatura influyó en la formación de las estructuras cúbicas. La formación de las estructuras cúbicas de plata se produjo por la formación inicial de una estructura de "cuatro pétalos como flor, sufrió transformación a la "morfología cúbica" en las últimas etapas (Raghavendra et al, 2016). Ver figura 2.23.

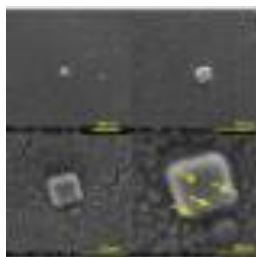


Figura 2.23. Estructura cúbica de las nanopartículas de plata.

Shi Yu et al, propuso el mecanismo de crecimiento de AgNPs de forma cúbica y con un tamaño  $50 \pm 20$  nm. En este estudio, se supone que los lípidos y los metabolitos secretados por el hongo (*M. circinelloides*) en el caldo podrían haber inducido la reducción de  $\text{Ag}^{1+}$  en AgNPs cúbica (Shi Yu et al, 2015). Figura 2.24

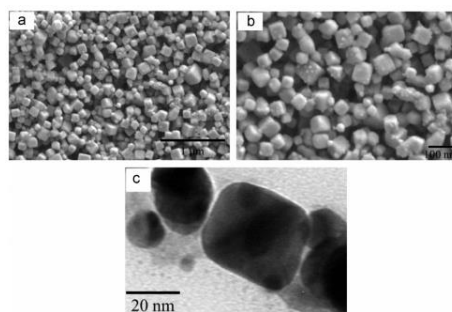


Figura 2.24. TEM morfología cubica de AgNPs (Yu, 2015).

Gu et al, describe una síntesis de nanobarras y nanoalambres de plata, mediante el uso de tartrato de potasio como reductor para reducir el nitrato de plata  $\text{AgNO}_3$  en presencia de poli (vinilpirrolidona) (PVP). Controlaron la forma de las NPs mediante el cambio de la relación en concentración de  $\text{AgNO}_3$  y PVP, obtuvieron nanopartículas de plata altamente irregulares con diámetros de 150-250 nm en solución. (Gu et al., 2006). Figura 2.25.

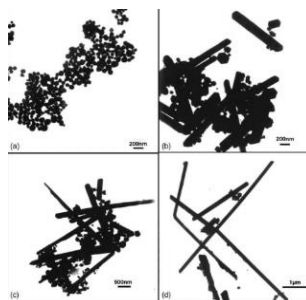


Figura 2.25. TEM imagen nanobarras y nanoalambres de plata.

### 2.6.2 Síntesis de nanopartículas de oro AuNPs.

Los diferentes métodos de síntesis de nanocristales de oro en solución acuosa han sido estudiados desde hace muchísimos años. Michael Faraday en 1857, publicó un estudio acerca de la preparación y propiedades del oro coloidal (Faraday, 1857). Desde entonces, y, especialmente en los últimos años, se han desarrollado un gran número de estudios sobre la síntesis de nanopartículas de oro prácticamente monodispersas y de forma y tamaño controlados.

En 1951, Turkevich introdujo la síntesis de nanopartículas de oro esféricas de 20 nm mediante la reducción con citrato de sodio del precursor  $\text{HAuCl}_4$  en agua. Desde entonces se han modificado distintos parámetros como la concentración del reductor, pH y tiempo de reacción, para entender el mecanismo de formación de las nanopartículas y controlar de manera efectiva su tamaño, forma y distribución de tamaño. De esta manera, es posible obtener nanopartículas de distintos tamaños variando la relación entre citrato de sodio y el precursor,  $\text{Na}_3\text{Ct}:\text{HAuCl}_4$  (Turkevich, 1951).

Lien et al sintetizaron nanopartículas de oro utilizando como precursor al ácido tetracloroaurico ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) y como agente reductor y estabilizante el citrato de sodio ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$ ). Estudiaron las diferentes condiciones de síntesis, tales como: concentración de agente reductor, concentración del ion áurico, pH, duración de reacción y tiempo de envejecimiento. Se obtuvieron soluciones coloidales monodispersas con nanopartículas de oro de 16 nm. La figura 2.26, muestra la presencia de las nanopartículas de oro, imagen obtenida del estudio de HSEM.

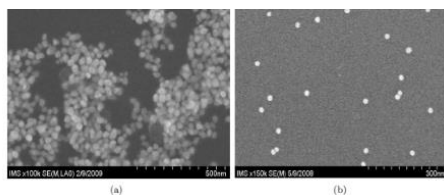


Figura 2.26. HSEM de nanopartículas de oro de diferente relación molar de iones cloroaurato a citrato r: a)  $r=2.5$ , b)  $r=6$ .

Alberto Corzo en el 2012, preparó nanopartículas AuNPs de oro mediante reacciones de óxido-reducción a temperatura de ebullición, partiendo de soluciones diluidas de ácido tetracloroáurico:  $H[AuCl_4] \cdot 3H_2O$  como precursor, en presencia de reductores orgánicos, como tartrato de sodio y potasio:  $KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$  y borohidruro sódico:  $NaBH_4$  como agente reductor inorgánico. Se determinó el efecto de la variación del pH con el tamaño de la nanopartícula de oro, manteniendo concentraciones de  $H[AuCl_4]$  y agente reductor constantes, a distintos valores de pH bajo las mismas condiciones. (Corzo, 2012). Figura 2.27.

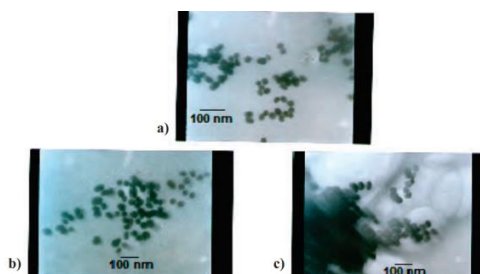


Figura. 2.27. Fotografías de las NPs de Au obtenidas de una solución precursora de 20 mL 0.25mM de  $H[AuCl_4]$  y 1 mL 17 mM de los agentes reductores. Donde a) corresponde a Na,Ct, b) corresponde a KNaTrt y c) corresponde a  $NaBH_4$ .

### 2.5.3 Síntesis de nanopartículas de cobre CuNPs.

Las nanopartículas de cobre han sido sintetizadas por diversas técnicas a partir de las cuales se puede tener un control en el tamaño y morfología de éstas, los parámetros más importantes a considerar son la relación molar, temperatura, pH, velocidad de agitación, entre otros (Kidwai et al., 2007).

Dung Dang et al, sintetizaron nanopartículas de cobre mediante la reducción química del sulfato de cobre con borohidruro de sodio en agua sin protección de gases inertes. En la ruta de síntesis, el ácido ascórbico (vitamina C natural) se empleó como agente protector para evitar que las nanopartículas de Cu nacientes se oxidaran durante el proceso de síntesis y

durante el almacenamiento. Los tamaños promedio de cristal de las partículas a temperatura ambiente fueron inferiores a 10 nm. El pico de resonancia del plasmón superficial cambia de 561 a 572 nm, mientras que el color aparente cambia de rojo a negro, lo que está en parte relacionado con el cambio en el tamaño de partícula. (Dang, 2011). Figura 2.28.

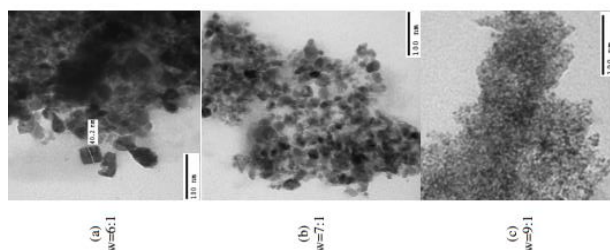


Figura 2.28. TEM de nanopartículas de Cu.

J. Ahmed et al, sintetizaron nanopartículas de cobre con morfología variable, nanocubos (50 nm), nanobarras (diámetro de 3 nm y longitud de 50 nm) y nanoesferas (5 nm) utilizando el método de microemulsión y posterior tratamiento a 400°C en atmósfera de hidrógeno. Utilizaron como agente reductor del cobre, hidrazina hidratada y como estabilizante bromuro de cetil trimetilamonio (CTAB). Así mismo, indicaron que la concentración desempeña un papel importante en el control de la forma y el tamaño del cobre nanocrystalino. Los estudios mostraron que, a baja concentración, las partículas esféricas (10 nm) se ensamblan en 3 dimensiones (cubos de borde 50 nm). A concentración intermedia hay un conjunto en una dimensión ordenado de partículas esféricas (~3 nm) que conduce a nanobarras (3 nm de diámetro y 50 nm de longitud), mientras que a alta concentración hay aleatoria aglomeración de partículas esféricas (5 nm). (J. Ahmed, 2011). Figura 2.29.

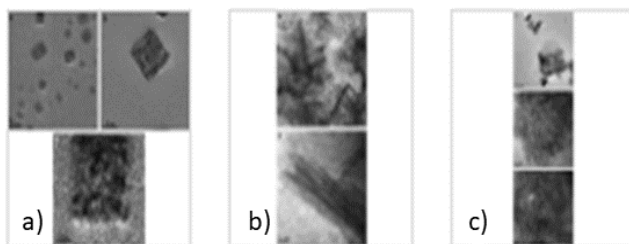


Figura 2.29. Nanopartículas de cobre nanocrystalino con morfología variable, a) nanocubos (w50 nm), b) nanobarras (diámetro de w3 nm y longitud de w50 nm) y c) nanoesferas (5 nm).

Rajesh et al, sintetizaron CuNPs por un método simple de reducción química y estudiaron el efecto de la disparidad de pH en la variación del tamaño de partícula. La morfología de los

CuNPs como se sintetizó fue examinada por medición por microscopía electrónica de barrido por emisión de campo (FESEM). Las imágenes típicas de FESEM muestra que el producto consiste principalmente en nanopartículas de forma esférica sin ninguna aglomeración. El análisis de DRX confirmó la formación de CuNPs de estructuras cúbicas con la naturaleza altamente cristalino (Rajesh, 2016). Figura 2.30.

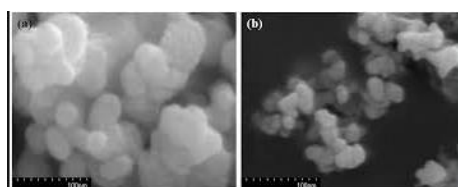


Figura 2.30. El análisis de DRX confirmó la formación de CuNPs de estructuras cúbicas con la naturaleza altamente cristalino.

Wen et al, sintetizaron CuNPs por el método de reducción química bajo una atmosfera de nitrógeno gaseoso inerte, en el que se utilizó dietanolamina (DEA) como agente reductor, disolvente, modificador de superficie y controlador de forma. Los resultados mostraron que las partículas de nano-cobre son cúbicas y con tamaños de 15 nm (Wen, 2012). Figura 2.31.

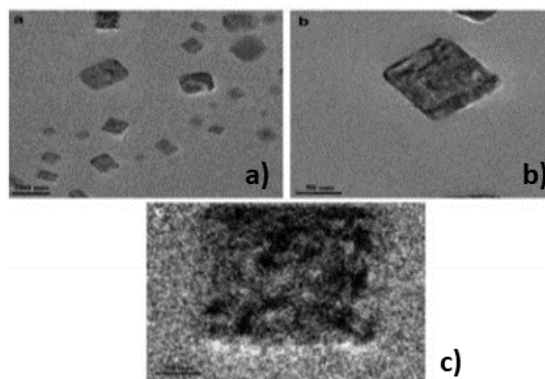


Figura 2.31. (a) TEM y (b) y (c) HRTEM de nanocubos obtenidos usando solución 0.1M de  $\text{Cu}^{2+}$ .

Wang et al, sintetizaron nanopartículas de Cu en forma de nanoalambres mediante un método hidrotérmico y reducción química, utilizando glucosa como agente reductor. Las dimensiones de estos nanoalambres de Cu fueron de 70  $\mu\text{m}$  de longitud y 65 nm de diámetro, estas estructuras son materiales adecuados para electrodos de nanored (Wang, 2015). Figura 2.32.

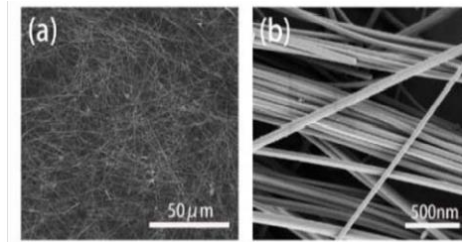


Figura 2.32 (a-b) Imágenes SEM de nanoalambres de cobre a diferentes escalas.

Chandra en su artículo publica la síntesis de nanopartículas de Cu, mediante un proceso de reducción con la benzildietilentiamina. La morfología y estructura de las nanopartículas de Cu sintetizadas se caracterizaron por microscopía electrónica de transmisión (TEM), difracción de rayos X en polvo (XRD), Espectroscopía infrarroja (IR) y estado sólido UV. El tamaño medio de las nanopartículas de forma esférica se encontró entre  $15 \pm 2$  nm (Candra, 2014). Figura 2.33.

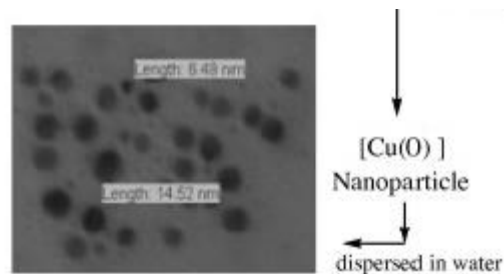


Figura 2.33. Formación de nanopartículas de  $\text{Cu}^0$  mediante el método de reducción a partir de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ .

## 2.7. Síntesis de nanopartículas con extractos de plantas.

Muchos de los efectos adversos de la síntesis de nanopartículas por métodos químicos han sido asociados con la toxicidad debido a la presencia de sustancias tóxicas absorbidas en la superficie de las nanopartículas metálicas siendo una alternativa eco-amigable los métodos biológicos para la síntesis de nanopartículas utilizando microorganismos, enzimas, hongos y extractos de plantas. El desarrollo de estos métodos respetuosos con el ecosistema para la síntesis de nanopartículas se ha convertido en una importante rama de la nanotecnología. Las plantas contienen en su estructura compuestos que tienen propiedades reductoras entre los que se encuentra los compuestos fenólicos como el ácido gálico, ácido benzoico y ácido caféico entre otros. Por lo que algunas plantas son conocidas por sus propiedades antioxidantes (Almajano, 2008).

El primer reporte de producción de nanopartículas mediante el uso de plantas se acreditó a Gardea-Torresdey y colaboradores, quienes encontraron que las plantas de alfalfa (*Medicago sativa*) crecían por dos semanas en un medio enriquecido en Au(III) y después reducían el Au(III) a Au (0), formando estructuras en la configuración cúbica centrada en las caras (FCC). Las imágenes de TEM del oro reducido dentro de los tejidos de las plantas mostraron una estructura icosaédrica (Gardea, 2002). La figura 2.34 muestra la existencia de nanopartículas de oro en un rango de tamaño entre 2 y 20 nm.

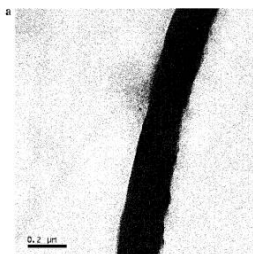


Figure 2.34. Imagen de TEM de la planta de alfalfa, muestra los agregados de nanopartículas de oro.

Subsecuentemente, se realizó el mismo cultivo en un medio enriquecido en plata, y se encontró que la planta también mostraba una capacidad para formar nanopartículas. Las imágenes de TEM de los arreglos de segmentos de las nanoestructuras de plata mostraron un intervalo de tamaño de partícula entre 2 y 20 nm distribuidos en todo el arreglo del segmento (Gardea, 2003). Figura 2.35.



Figura 2.35. Imagen TEM de bajo aumento del brote de alfalfa que muestra una matriz unidimensional de nanopartículas de plata.

K. Jagajjanani Rao y Santanu Paria, prepararon nanopartículas trimetálicas de Ag-Au-Pd tipo aleación utilizando  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{HAuCl}_4$ ,  $\text{PdCl}_2$ , mediante dos extractos de plantas hoja de *Aegle marmelos* y Brotes de *Syzygium aromaticum* (Clavo). Se sintetizaron fácilmente en 10 minutos en condiciones ambientales cambiando la composición de los fitoquímicos. Los diámetros promedio de las nanopartículas fueron aproximadamente entre 8 y 11 nm. Las nanopartículas obtenidas se caracterizaron por Espectroscopía UV-VIS y TEM. Además, el

potencial antimicrobiano de los NP de Ag-Au-Pd sintetizados también mostró una toxicidad significativa hacia la bacteria *E. coli* probada (Jagajjanani, 2015). Figura 2.36.

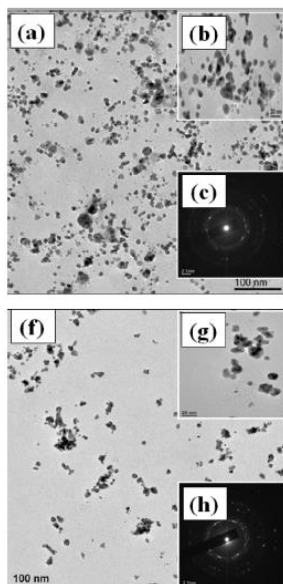


Figura 2.36. Análisis del TEM de NPs de Ag-Au-Pd preparadas con los extractos acuosos.

Jiale Huang et al, investigaron la biosíntesis de nanopartículas plata AgNPs a partir de  $\text{AgNO}_3$  por extracto de *Cacumen Platycladi* como agente reductor a diferentes temperaturas  $30^\circ\text{C}$ . Los AgNPs se caracterizaron por espectroscopía de absorción visible ultravioleta (UV-VIS), microscopía electrónica de transmisión (TEM), difracción electrónica de área seleccionada (SAED) y difracción de rayos X (XRD). Los resultados mostraron que los azúcares reductores y los flavonoides fueron los principales responsables de la bioreducción de los iones de plata, lo que lleva a la formación de AgNPs con tamaño entre los 18,4 - 4,6 nm. Las AgNPs exhibieron una excelente actividad antibacteriana contra *E. coli* y *S. aureus* a una concentración de Ag de 50 ppm. (Huang et al., 2010). La figura 2.37 muestra la imagen del TEM de las AgNPs por la reducción del extracto de *C Platycladi*, durante 3 h a  $90^\circ\text{C}$ .



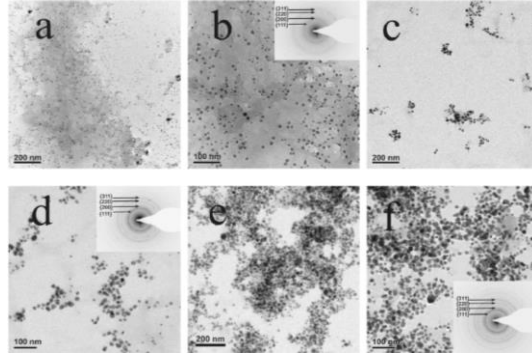


Figura 2.37. Imagen del TEM de las AgNPs por la reducción del extracto C Platycladi, durante 3 h a 90°C.

Ayman A et al, desarrollaron un método verde y fácil para la síntesis de nanopartículas bimetalicas Au, Ag y Au-Ag utilizando el extracto acuoso de alga marina de sagú (*Potamogeton pectinatus* L.) como agente reductor, preparada a un pH 12. Se investigaron el tamaño, la morfología, la cristalinidad, la composición, la capa de protección y la estabilidad de las nanopartículas sintetizadas a partir de la espectroscopía UV-VIS, TEM, rayos X. Los resultados mostraron que las nanopartículas sintetizadas eran en su mayoría de forma esférica, aunque ocasionalmente se observaron otras formas como nanotriángulos y hexágonos. (Ayman et al 2013). Se polidispersaron con un tamaño promedio de  $50,4 \pm 21,8$  nm. Figura 2.38.

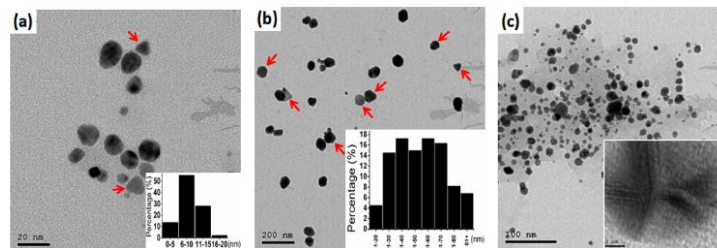


Figura 2.38. Imagen del TEM, muestra nanopartículas triangulares y hexagonales de a) Ag, b) Au y c) Ag-Au.

Hai Liu et al, investigaron el papel de las moléculas activas durante el proceso de síntesis de nanopartículas de oro a partir de  $\text{HAuCl}_4$  por extracto de hoja de *Catymen platycladi*. Las caracterizaciones de las nanopartículas de oro se llevaron a cabo por medio de la espectroscopía UV-VIS, TEM, producidas por cada muestra aislada con ácido cloroaurico (Hai Liu et al 2017). La imagen TEM se muestra en la figura 2.39.

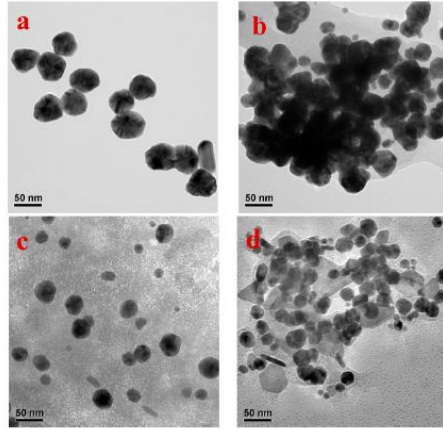


Figura 2.39. Imágenes TEM de NPs de oro biosintetizados.

Shi Yn Lee et al, realizaron un estudio con hojas de la planta *Ocimum sanctum* (albahaca morada) que fueron sometidas a fraccionamientos secuencial de solventes con diferentes polaridades (hexano, cloroformo, n-butanol y agua). En los pasos, las cuatro fracciones secas se extrajeron y se usaron para la síntesis biogénica de nanopartículas de oro. Los resultados reportan que los diferentes tipos de extractos en solventes pueden conducir a la formación de nanometales de diferente morfología. Específicamente, el extracto de hexano puede sintetizar nanopartículas de 1 a 100 nm de tamaño, mientras que los fenólicos en la fracción acuosa pueden sintetizar micro hojas altamente estructuradas. El metil eugenol, uno de los principales químicos identificados en el extracto de hexano, sintetizó nanopartículas esféricas bien dispersadas que varían de 1 a 20 nm (Shi Yn Lee, 2016). Figura 2.40.

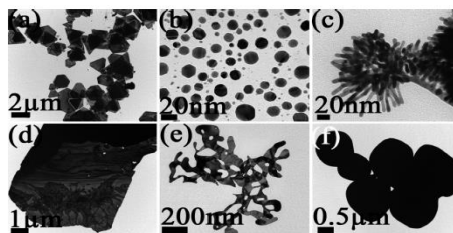


Figura 2.40. TEM representativo de las variaciones morfológicas de las nanopartículas utilizando la biosíntesis a) ácido ferúlico b) cariofileno, c) 1-metoxi-fenol d) ácido succínico e) ácido glicólico y f) glicerol.

Sajid Fazal et al, sintetizaron nanopartículas de oro anisotrópicas utilizando una ruta acuosa con extracto de cacao que sirvió tanto como agente reductor como estabilizante. A partir de las mediciones TEM se puede ver que la fracción de nanopartículas de oro anisotrópico tiene un rango de tamaño de 150-200 nm que se corrobora con los valores del diámetro hidrodinámico ( $150 \pm 20$  nm) obtenidos de la dispersión dinámica de la luz. La figura 2.41

demuestra claramente la mejora de la concentración de nanopartículas anisotrópicas sobre las nanopartículas esféricas tras la centrifugación en gradiente de densidad (Fazal et al., 2014).

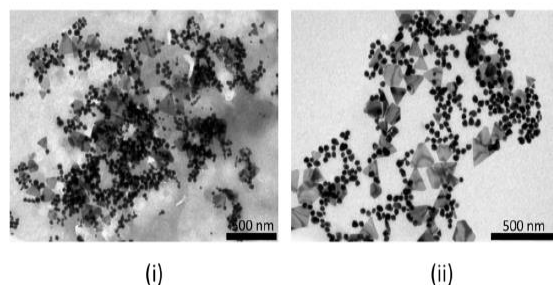


Figura 2.41. Imágenes de TEM i) nanopartículas de oro mezcladas y ii) nanopartículas de oro obtenidas de 40% a 50% de película de sucralosa.

Daria Podstawczyk et al, demuestra una ruta de síntesis de nanopartículas de cobre (CuNP), usando la solución de catequina para controlar su tamaño. Este estudio presenta una síntesis verde simple de CuNP con control de tamaño establecido por catequina como agente reductor y de protección. El método permite la síntesis de CuNP ultrafinas con un diámetro de menos de 5 nm. La alteración del pH de los parámetros del proceso permitió la formación de nanopartículas con tamaños que varían de 3 a 40 nm evaluados por microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (Podstawczyk, 2019).

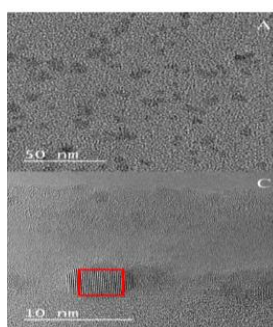


Figura 2.42. HRTEM de CuNPs, tamaño de partículas distribuidas en el histograma a pH 11.

Aarón D et al, sintetizaron nanopartículas de cobre usando té de hierba de limón como agente reductor y  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  como sal de cobre. Demuestran que el té de hierba de limón reduce los iones de cobre (II) para formar nanopartículas de cobre esféricas de diámetro promedio de  $2,90 \pm 0,64$  nm. Se usó microscopía electrónica de transmisión de alta resolución

(HRTEM) para confirmar que las nanopartículas son Cu. El análisis TEM confirma la presencia de cobre en las muestras de nanopartículas (Brumbaugh et al., 2014).

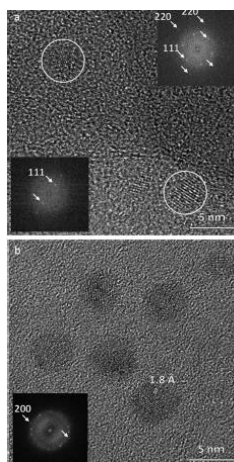


Figura 2.43. Imagen HRTEM muestra la estructura de las partículas.

También se ha publicado la formación de nanopartículas de plata con un tamaño de 55 a 80 nm y nanopartículas de oro triangulares o esféricas, a partir de biomasa seca del *Cinnamomum camphora* (árbol de alcanfor) con precursores de plata y oro a temperatura ambiente (Huang, 2007).

Shankar et al. informaron la síntesis de nanopartículas de plata altamente estables y cristalinas (16-40 nm) exponiendo el extracto acuoso de hojas de geranio a una solución de nitrato de plata. (Shankar, 2003). Figura 2.44.

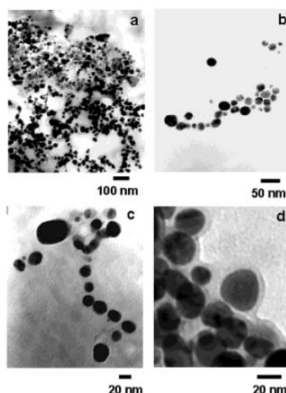


Figura 2.44 imágenes TEM de diferentes tamaños de nanopartículas de plata utilizando hoja de geranio.

Posteriormente, Shankar et al, continuaron su estudio de síntesis de nanopartículas de oro y plata, y nanopartículas bimetálicas de Au/ Ag, pero en esta ocasión su estudio se realizó con

extractos del caldo de hojas de Neem (*Azadirachta indica*). Durante el tratamiento de las soluciones acuosas de nitrato de plata y ácido cloroáurico con el extracto de la hoja de Neems, observaron una formación rápida de nanopartículas de plata y oro estables a altas concentraciones. Las nanopartículas de plata y oro que se obtuvieron fueron polidispersas, con un gran porcentaje de partículas de oro exhibiendo una interesante morfología plana tipo placa. Un análisis de TEM mostró que el tamaño de las nanopartículas sintetizadas mediante este método se encontraba en el intervalo de 50 a 100 nm, también se observaron nanopartículas entre 50-70 nm, con nanopartículas más pequeñas de 15 – 20 nm. (Shankar, 2004). Figura 2.45.

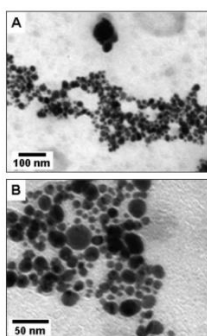


Figura 2.45. TEM de las nanopartículas de plata formadas por la reducción del ion  $\text{Ag}^+$  utilizando hoja de Neem.

Mientras que Satayavani et al. informaron la síntesis de nanopartículas de plata usando el extracto de callo derivado de la planta de la manzana amarga e ilustraron su tremenda actividad antibacteriana. Se confirmó la síntesis de nanopartículas de plata esféricas en el rango de 75 nm por AFM (Shankar, 2004). Figura 2.45.

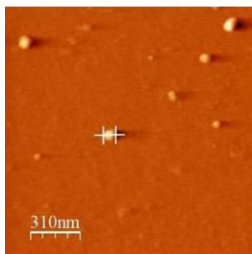


Figura 2.45. Imagen AFM de las nanopartículas de plata.

## 2.8. Extractos vegetales empleados en la preparación de las nanopartículas de plata, oro y cobre.

En la actualidad han surgido diversos métodos para la síntesis de nanopartículas metálicas como es el caso de la plata, oro y cobre, materiales de interés en este trabajo. Sin embargo, la mayoría de los métodos de síntesis son costosos y/o agresivos con el medio ambiente, por lo que se han buscado su síntesis con agentes reductores eco-amigables como los extractos vegetales, dado que contienen entre sus componentes agentes antioxidantes naturales que generalmente están constituidos por mezclas de compuestos con elevada diversidad molecular y funcionalidad biológica, bio-sintetizados por las plantas (sus frutos, hojas, tallos, raíces, semillas u otras partes, vegetales, entre los cuales los más importantes son los *compuestos polifenólicos*, que son un grupo de sustancias químicas encontradas en plantas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol unidos a uno o más anillos bencénicos, los cuales son responsables de su actividad como antioxidantes. La figura 2.46 muestra la estructura química de dos polifenoles presentes en las plantas, ácido gálico y la hidroquinona en donde se aprecia la presencia del grupo fenol.

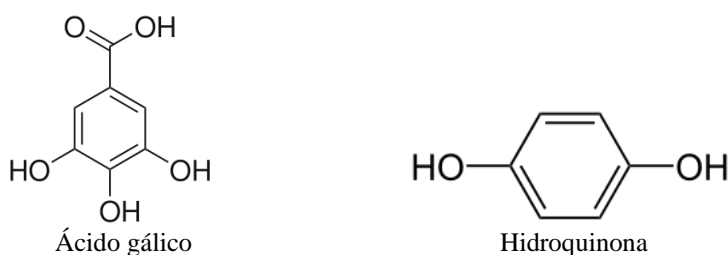


Figura 2. 46. Estructura química del ácido gálico y la hidroquinona.

Los bajos potenciales redox de estos antioxidantes hacen termodinámicamente favorable la reducción de la gran mayoría de radicales libres y algunos metales. Al estar unidos a un anillo bencénico, los grupos hidroxilo confieren al polifenol la habilidad para actuar, ya sea como donante de un átomo de hidrógeno o como donante de un electrón a un radical libre (o a otras especies reactivas) (Han, 2014).

A continuación, se presenta una descripción breve de la composición química de cada una de las plantas utilizadas en este trabajo para la elaboración de los extractos vegetales.

Los extractos vegetales empleados en este trabajo fueron las hojas de las plantas de *Laurus nobilis* (Laurel), *Thymus vulgaris* (Tomillo), *Ocimum basilicum* (Albahaca) y *Taraxacum officinale* (Diente de León). Su elección se basó en su alta disponibilidad y bajo costo, así como su alto contenido en su composición química de compuestos polifenólicos, por lo que es importante enfatizar que se ha demostrado que estos compuestos poseen estructura química ideal para secuestrar radicales libres, lo que les aporta una actividad antioxidante, siendo buenos candidatos para la reducción de metales de su estado iónico a estado metálico.

### ***Thymus vulgaris* (Tomillo).**

El *Thymus vulgaris*, pertenece a la familia Lamiaceae, es una planta aromática, vivaz, leñosa, muy polimorfa, de 10 a 40 cm de alto, las ramas del tomillo contienen una composición integrada por flavonoides, derivados del apigenol y del luteolol; ácidos fenólicos, cafeico, rosmarínico, clorogénico; ácidos triterpénicos, ursólico y oleanoico; saponinas, contiene también elementos minerales. El aceite esencial contiene carvacrol y timol en porcentaje del 20 al 70%, según las razas; también contiene *p*-cimeno, terpinenos, linalol, borneol y sus ésteres acéticos, cíñelo, geraniol, cariofileno. En la descripción de la composición química del tomillo se destacan el aceite esencial y los flavonoides, este debe contener un mínimo de 1,2 % (v/p) de aceite esencial y un 0,5 % (v/p) de fenoles volátiles. El aceite esencial (1,0-2,5%) está constituido principalmente por fenoles monoterpénicos, como timol, carvacrol, *p*-cimeno, gammaterpineno, limoneno, borneol y linalol (López, 2006). En la figura 2.47 se muestra la estructura química del Ácido cafeico un componente del *Thymus vulgaris* (Tomillo).

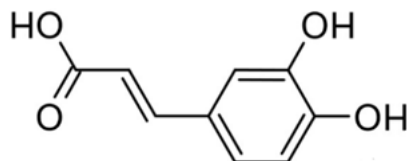


Figura 2.47. Estructura química del Ac. Caféico, componente del *Thymus vulgaris* (Tomillo).

### ***Taraxacum officinale* (Diente de León).**

Conocido como *Diente de León*, es una hierba perenne puede tener un tamaño de 10 a 50 cm de alto, el conjunto de los frutos forma una bola ligera cuyas semillas se desprenden y vuelan en el viento (Urretabiscaya, 2017). Dentro de su composición química se encuentran presentes un elevado porcentaje de polifenoles, especialmente derivados del ácido hidroxicinámico, flavonoides, lactonas sesquiterpénicas, triterpenos, fitosteroles, cumarinas, ácido cafeico y sales minerales, principalmente potásicas. Los ácidos hidroxicinámico es un grupo de compuestos presentes en la pared celular del vegetal (Schütz et al, 2006). Contiene polifenoles con alta capacidad antioxidante y bajos potenciales redox como la Luteolina que pertenece al grupo de flavonoides. Estos compuestos corresponden a un grupo de metabolitos secundarios polifenólicos que se encuentran formados por un anillo aromático unido por lo menos a un grupo oxhidrilo. En la Figura 2.48 se aprecia la estructura de la Luteolina (flavonoide).

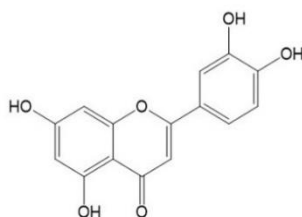


Figura 2.48. Estructura química de la Luteolina (flavonoide), componente del *Taraxacum officinale* (*Diente de León*)

### ***Laurus nobilis* (Laurel).**

Las hojas de *Laurus nobilis* contienen componentes aromatizados y bioactivos con propiedades biológicas relevantes para la salud humana que se atribuyen a la presencia abundante de metabolitos secundarios altamente bioactivos, como compuestos fenólicos.

Dada la importancia de esta planta, diversos estudios han publicado la identificación y aislamiento de compuestos químicos como: flavonoides, lignanos, proantocianidinas, alcaloides, aldehídos, terpenos, taninos, carbohidratos y fenoles (Osuna et al., 2005).



***Ocimum basilicum* (Albahaca).**

Las especies del género *Ocimum*, conocidas comúnmente como albahaca, son plantas aromáticas que tienen importancia económica y cuyos aceites esenciales son utilizados en la industria de cosméticos, alimentos y productos farmacéuticos. Estudios han demostrado que la albahaca "contiene una amplia gama de aceites esenciales, ricos en compuestos fenólicos y una amplia gama de otros productos naturales, incluidos los polifenoles como los flavonoides y las antocianinas, llegando a la conclusión de que, gracias a los fitoquímicos que contiene, incluidos eugenol, ácido rosmarínico, apigenina, myretenal, luteolina,  $\beta$ -sitosterol y ácido carnósico, puede ayudar a prevenir ciertos tipos de cáncer de piel, hígado, oral y pulmón. La figura 2.49 muestra la estructura química del ácido rosmarínico, uno de sus componentes que contiene grupos OH. (Rivas, 2015).



Figura 2.49. Estructura química del ácido rosmarínico.

### CAPÍTULO 3. PARTE EXPERIMENTAL

Los reactivos químicos usados y sus concentraciones para preparación de las nanopartículas de AgNPs, AuNPs y CuNPs fueron: nitrato de plata  $\text{AgNO}_3$   $1 \times 10^{-3}$  M (Sigma-Aldrich),  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  a  $1 \times 10^{-3}$  M (Sigma-Aldrich), sulfato de cobre (II) pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 0.001 M (Sigma-Aldrich), etilendiamina al 10 % (Sigma-Aldrich) y agua desionizada ( $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ). Para el ajuste de pH se adicionaron al extracto gotas de una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) (J. T. Baker) 0.5 M en agua hasta ajustar el valor deseado de pH. En la tabla 3.1 se resumen los reactivos empleados.

Tabla 3.1. Reactivos empleados.

REACTIVOS	FÓRMULA	MARCA
Nitrato de Plata	$\text{AgNO}_3$	Sigma-Aldrich
Tetracloroaurato de Hidrógeno	$\text{HAuCl}_4$	Sigma-Aldrich
Sulfato de Cobre (II) Pentahidratado	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Meyer
Hidróxido de Sodio	NaOH	J. T. Baker
Etilendiamina [10%]	$\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	J. T. Baker
Agua desionizada	$\text{H}_2\text{O}$	-
Etanol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	(Sigma-Aldrich)

Y como agentes reductores los extractos vegetales acuosos de hojas de *Thymus vulgaris* (Tomillo), *Taraxacum officinale* (Diente de León), *Laurus nobilis* (Laurel) y *Ocimum basilicum* (Albahaca). Tabla 3.2.

Tabla 3.2. Plantas utilizadas como agentes reductores de los iones metálicos de  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Au}^{3+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$ .

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN
<i>Laurus nobilis</i>	Laurel
<i>Thymus vulgaris</i>	Tomillo
<i>Taraxacum officinale</i>	Diente de León
<i>Ocimum Basilicum</i>	Albahaca

El trabajo experimental inició con la identificación de compuestos fenólicos presentes en los extractos vegetales empleados como agentes reductores en este trabajo de tesis. Los resultados de estas pruebas se encuentran en el apartado de ANEXO. A continuación, se describen las pruebas realizadas.

### **3.1 Métodos químico cualitativos en la identificación de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos.**

#### **Preparación de las muestras.**

Se colocan 1.0 g de hojas secas de planta y 350 mL de etanol al 100% en un vaso de precipitados. El vaso es cerrado y recubierto con papel aluminio para protegerlo de la luz. El conjunto se mantiene en agitación constante, con ayuda de una parrilla de agitación, durante 24 horas. Pasado el tiempo, el menstuo es decantado y reservado en un recipiente cerrado y protegido de la luz. Al marco sobrante se le adicionan otros 35 mL de etanol y se repite el proceso durante 24 horas. Esta maceración dinámica se repite hasta un total de 3 veces con aproximadamente 1 litro de volumen final. 100 mL de volumen final se destinan al tamizaje químico. (Alvarado et al., 2013)

#### **Reactivo: gelatina-sal.**

Preparar una solución saturada de NaCl, remojar por 1 hora 2.0 g de grenetina en la solución, calentar hasta disolver, aforar a 100 mL

#### **Obtención y análisis de la fracción A.**

El extracto se filtra y se toman 40 mL que serán la fracción A.

Los 40 mL de la fracción A se llevan a sequedad con un calentamiento no mayor a 40°C. El residuo es disuelto en 20 mL de agua caliente y filtrado. 10 mL del filtrado se utilizan en caliente para ensayar flavonoides, los 10 mL restantes se dejan enfriar a temperatura ambiente y se vuelven a filtrar. En el último filtrado se ensayan compuestos fenólicos y taninos.

#### **Ensayo para compuestos fenólicos: ensayo del FeCl<sub>3</sub>.**

De los 10 mL restantes que se dejan enfriar de la Fracción A, llevar a sequedad 3 mL, calentando a baño María (se puede hacer directamente sin llevar a seco). El residuo seco se disuelve en 1 mL de agua destilada y se le agregan 3 gotas de FeCl<sub>3</sub> al 1% acuoso. La aparición de coloración varía de acuerdo a la cantidad y posición de los oxhidrilos fenólicos presentes: amarilla indica la presencia de 1 -OH, verde grisáceo 2 -OH adyacentes y azul negro 3 -OH adyacentes.

**Ensayo para Flavonoides: ensayo de Shinoda.**

Tomar 0.5 mL de la Fracción A y agregar una granalla de Zn o Mg más 0.2 mL de ácido clorhídrico concentrado. Esperar la disolución de la granalla. Agregar 0.2 mL de alcohol amílico y luego 2 mL de agua destilada. Observar la aparición de coloración marrón, pardo rojiza o rosada en la fase orgánica. La aparición de una tonalidad desde rosado tenue hasta guinda indica la presencia de flavonoides.

**Ensayo para taninos: ensayo de la gelatina-sal.**

Reacción con gelatina Llevar a seco otros 3 mL de la Fracción A calentando a Baño María (se puede hacer directamente sin llevar a seco). El residuo seco se disuelve en 1 mL de agua destilada y se le agregan 10 gotas de una solución acuosa de gelatina al 2 % (preparada con agua tibia) (si no precipitara agregar unas gotas de solución ácida de cloruro de sodio). La aparición de turbidez hasta precipitado abundante indica la presencia de taninos. (Ardoino, 2013).

**3.2 Preparación de los extractos vegetales.**

Con bases a datos bibliográficos y teniendo en cuenta el fácil acceso a los mismos se seleccionaron los siguientes especímenes vegetales: *Taraxacum officinale* (Diente de León), *Thymus vulgaris* (Tomillo), *Ocimum basilicum* (Albahaca) y *Laurus nobilis* (Laurel). Como se dijo anteriormente, vegetales que cuentan con una gran variedad de metabolitos aprovechables en la síntesis de nanopartículas.

Se utilizaron las hojas de las especies antes mencionadas secas y trituradas y se procedió con la extracción de los mismos mediante una metodología tradicional denominada infusión que consiste en una simple extracción sólido-líquido. Se tomaron 1.0 g del material vegetal molido y se pusieron en contacto con 100 mL de agua desionizada a 80°C hasta obtener un volumen de 70 mL, se procedió con el filtrado con papel de poro fino. Por último, se preservó cada uno de los extractos en frascos a temperatura de 5°C hasta su uso en la síntesis de las nanopartículas metálicas.

### 3.3. Síntesis de las nanopartículas de plata AgNPs y oro AuNps.

Para la síntesis de las AgNPs y AuNPs con los extractos vegetales, se prepararon diluciones de 30 mL de cada extracto con agua desionizada, las relaciones (Extracto/Agua desionizada) utilizadas se presentan en la tabla 3.3, se reguló el pH de cada una de las disoluciones adicionando NaOH 0.5 M, hasta obtener pH 5, 7, 8 y 9.

Tabla 3.3 Diluciones de los extractos con agua desionizada

Extractos	Relación (Extracto/Agua desionizada)	Volumen total
<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)	0.5: 29.5 mL.	30 mL
<i>Ocimum basilicum</i> (Albahaca)	0.5: 29.5 mL	30 mL
<i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León)	0.5: 29.5 mL.	30 mL
<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)	0.15: 29.85 mL	30 mL

#### 3.3.1 Síntesis de las nanopartículas de plata AgNPs.

La síntesis de las nanopartículas de plata AgNPs con cada uno de los extractos acuosos se procedió de la siguiente forma: A cada una de las disoluciones preparadas conteniendo el extracto acuoso se les adicionó lentamente y en agitación constante 10 mL de solución de nitrato de plata  $\text{AgNO}_3$  0.001M, a temperatura ambiente, mostrando casi de manera inmediata un cambio de color a amarillo ámbar en todos los casos.

#### 3.3.2 Síntesis de las nanopartículas de oro AuNPs.

Para realizar la síntesis de las nanopartículas de oro con los extractos acuosos se procedió de la siguiente forma: A cada una de las disoluciones preparadas conteniendo el extracto acuoso se les adicionó lentamente y con agitación constante 10 mL de la solución de ácido cloroaurico (III).  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  0.001M, a temperatura ambiente, manteniendo la agitación por 15 minutos.

### **3.4. Síntesis de nanopartículas de cobre CuNPs.**

Para la síntesis de las nanopartículas de cobre se inició con la formación del complejo etilendiamina-cobre, el cual se preparó de la siguiente manera: a 4.0 mL de sulfato de cobre (II) pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 0.001 M, se le añadió 0.5 mL de etilendiamina al 10 %, a temperatura ambiente con agitación constante durante 5 minutos. Formado el complejo etilendiana-cobre se adicionó 10 mL del extracto vegetal, ajustando el pH de los extractos a valores de 5, 7, 8 y 9 con la adición de NaOH 0.5 M, manteniendo la agitación.

### **3.5 Caracterización de las nanopartículas.**

#### **Espectroscopía UV-Visible.**

A las muestras obtenidas de nanopartículas de plata, oro y cobre en los diferentes procesos, se realizaron mediciones por espectroscopía UV-Visible (Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 35), técnica más utilizada para la caracterización de las propiedades ópticas de las nanopartículas ya que permite obtener la banda de plasmones de superficie y evaluar la estabilidad de las nanopartículas. Además, a partir de la información proporcionada por los espectros UV-VIS es posible estimar la concentración y el tamaño de las nanopartículas formadas.

#### **AFM (Microscopía de Fuerza Atómica).**

Para confirmar el tamaño y distribución de las nanopartículas metálicas obtenidas se caracterizaron por microscopía de fuerza atómica AFM (Equipo JSPM-5200). El estudio topográfico realizado a las muestras permite a partir de imágenes determinar la presencia de las nanopartículas en forma de agregados, así como su morfología y sus intervalos de distribución de tamaño.

### **3.7 Pruebas de bactericidas.**

La actividad antimicrobiana de las soluciones coloidales de las nanopartículas preparadas se llevó a cabo por el método de difusión en pozos en agar Mueller-Hinton. El reto microbiano incluyó *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa) y *Staphylococcus aureus* (bacteria grampositiva). Las pruebas fueron desarrolladas con la colaboración del laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias químicas.

## CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan los resultados y discusión de la síntesis y caracterización de las nanopartículas de plata, oro y cobre utilizando como agentes reductores los extractos de hojas *Thymus vulgaris* (Tomillo), *Taraxacum officinale* (Diente de León), *Laurus nobilis* (Laurel) y *Ocimum basilicum* (Albahaca).

### 4.1 Nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre CuNPs preparadas con el extracto de *Thymus vulgaris* (Tomillo).

#### 4.1.1 Nanopartículas de plata AgNPs.

La síntesis de nanopartículas de plata AgNPs, se llevó a cabo a temperatura ambiente, a través de la reducción de iones plata  $\text{Ag}^{1+}$  a plata metálica  $\text{Ag}^0$  con el extracto vegetal de *Thymus vulgaris* (Tomillo). Los reactivos químicos usados y sus concentraciones, fueron: nitrato de plata  $\text{AgNO}_3$   $1 \times 10^{-3}$  M (Sigma-Aldrich), el extracto vegetal de *Thymus vulgaris* (Tomillo) y agua desionizada ( $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ). Para el ajuste de pH se adicionaron al extracto de *Thymus vulgaris* (Tomillo) gotas de una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) (J. T. Baker) 0.5 M en agua hasta ajustar el valor deseado de pH.

El método consiste en la preparación de una disolución de 30 mL del extracto de *Thymus vulgaris* (Tomillo)/agua desionizada (0.15:29.85 mL), esta disolución fue ajustada a diferentes valores de pH (5, 7, 8 y 9). A los 30 mL se adicionaron 10 mL de la solución de  $\text{AgNO}_3$  ( $1 \times 10^{-3}$  M) y se mantuvo bajo agitación suave a temperatura ambiente durante 15 minutos, de esta forma se promovió la formación de las nanopartículas de plata metálica por reducción de los iones  $\text{Ag}^{1+}$ .

Las disoluciones obtenidas de nanopartículas de plata mostraron coloraciones, rosas a pH=5 y amarillo ámbar para pH=7, 8 y 9, color característico reportado en la bibliografía (Frank *et al.*, 2010). Esta coloración se presenta pocos minutos después de haber agregado el extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*) y se mantiene sin cambio por más de tres meses.

La figura 4.1, muestra las coloraciones obtenidas a diferente pH, poniendo en evidencia la reducción del ion plata  $\text{Ag}^{1+}$  a  $\text{Ag}^0$  y en consecuencia la probable formación de las nanopartículas de plata AgNPs.



Figura 4.1. Soluciones de nanopartículas de plata de izquierda a derecha el extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*) seguido de las soluciones de AgNPs a pH, 5, 7, 8 y 9.

Las mediciones de la espectroscopía UV-VIS de la disolución acuosa de la plata después de entrar en contacto con el extracto vegetal de Tomillo (*Thymus vulgaris*) a pH= 5, pH = 7, pH = 8 y pH=9 mostraron una coloración amarilla ámbar y bandas intensas de absorción características de la resonancia del plasmón de nanopartículas de plata, resultado que se atribuye su formación.

La figura 4.2. muestra el espectro de UV-VIS de las soluciones de nanopartículas de plata a diferentes pH, para los casos de pH 5, 7, 8 y 9, se observa picos de absorbancia correspondiente al plasmón de resonancia entre los 350 nm y 450 nm, tal y como ha sido reportado en otros procesos de síntesis de nanopartículas de plata. Bandas consideradas como características de las soluciones de nanopartículas de plata, la forma y ancho de las bandas revelan que las nanopartículas de plata obtenidas son polidispersas y muy probablemente esféricas, siendo menos el efecto de polidispersidad para el caso de pH = 8 y 9 que son bandas menos anchas.

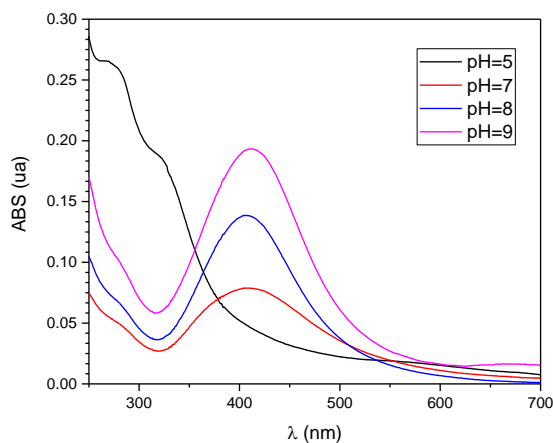


Figura 4.2. Espectro de UV-VIS de las nanopartículas de plata AgNPs, obtenidas con extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*) y  $\text{AgNO}_3$   $10^{-3}$  M a diferentes pH.



En la tabla 4.1 se especifican los resultados de UV-VIS, así como el tamaño probable de las nanopartículas de plata, según datos reportados en estudios anteriores.

Tabla 4.1. Longitudes de onda correspondiente al pico del plasmón y tamaño estimado de las nanopartículas de plata obtenidas a diferentes pH.

AgNPs con extracto de Tomillo ( <i>Thymus vulgaris</i> ) a diferentes pH.	Longitud de onda correspondiente al pico del plasmón. (nm)	Tamaño estimado en nanómetros (nm)	Forma estimada de la nanopartícula
pH = 5	0	-	Esférica
pH = 7	413	30-40	Esférica
pH = 8	405	25	Esférica
pH = 9	401	20	Esférica

#### 4.1.2 Nanopartículas de oro AuNPs.

La síntesis de AuNPs se llevó a cabo a temperatura ambiente, a través de la reducción de iones oro con el extracto vegetal Tomillo (*Thymus vulgaris*). Los reactivos químicos usados y sus concentraciones fueron: HAuCl<sub>4</sub> · 3H<sub>2</sub>O a 1x10<sup>-3</sup> M (Sigma-Aldrich), el extracto vegetal del Tomillo (*Thymus vulgaris*) y agua desionizada (18 MΩ cm<sup>-1</sup>). Para el ajuste de pH se adicionaron al extracto de Tomillo gotas de una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) (J. T. Baker) 0.5 M en agua hasta ajustar el valor deseado de pH.

El método consiste en la preparación de una dilución de 30 mL del extracto de *Thymus vulgaris* (Tomillo)/agua desionizada (0.15:29.85 mL), esta disolución fue ajustada a los valores de pH 5, 7, 8 y 9 con la adición de NaOH 0.5 M. A los 30 mL de la disolución del extracto preparado se adicionaron 10 mL de la solución de HAuCl<sub>4</sub> · 3H<sub>2</sub>O (1x10<sup>-3</sup> M) y se mantuvo bajo agitación suave a temperatura ambiente durante 15 minutos, de esta forma se promovió la formación de las nanopartículas de oro por reducción de los iones Au<sup>3+</sup>.

La adición del extracto de *Thymus vulgaris* (tomillo) a la solución de la sal de oro HAuCl<sub>4</sub> · 3H<sub>2</sub>O, se obtuvieron diluciones de diferentes coloraciones dependiendo fuertemente del pH, colores que van desde el rosa, azul y morado, reportados en la bibliografía (Cornejo, 2015b). Esta coloración se presenta pocos minutos después de haber agregado el extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*). Los diferentes colores obtenidos ponen de manifiesto que los tamaños de las nanopartículas obtenidas son diferentes y que es afectado fuertemente por el pH de la disolución. La figura 4.3, muestra las soluciones de las nanopartículas de oro a diferentes pH.



Figura 4.3. Soluciones de nanopartículas de oro preparadas con el extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*), de izquierda a derecha el extracto de Tomillo seguido las soluciones de AuNPs a pH, 5, 7, 8 y 9.

Las mediciones de la espectroscopía UV-VIS de la disolución acuosa de oro, después de entrar en contacto con el extracto vegetal de Tomillo (*Thymus vulgaris*) a pH=5, pH = 7, pH=8 y pH=9 mostraron diferentes coloraciones al variar el pH, y bandas intensas de absorción entre 500 nm y 600 nm, características de la resonancia del plasmón de nanopartículas de oro, resultado que se atribuye a su formación. La figura 4.4, muestra el espectro de UV-VIS de las soluciones de nanopartículas de oro a diferentes pH.

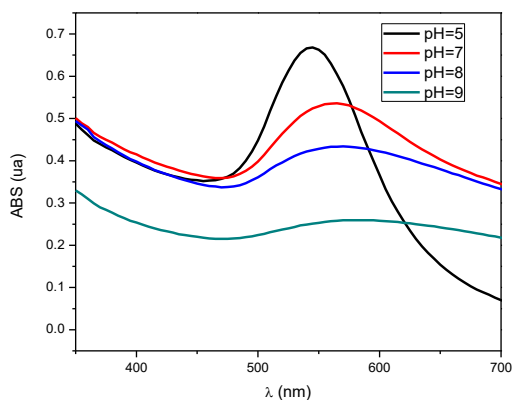


Figura 4.4. Espectro de UV-VIS de las nanopartículas de oro obtenidas con extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*) y  $\text{HAuCl}_4$   $10^{-3}$  M a diferentes pH.

Del espectro de UV-VIS se puede apreciar la influencia del pH, mostrando un corrimiento de la banda hacia longitudes de onda menores a medida que el pH disminuye, favoreciendo tamaños pequeños de nanopartículas de oro formadas. La tabla 4.2, muestra la longitud de onda a la que se lleva a cabo la máxima absorbancia para cada pH y su probable tamaño según estudios realizados en esta área. La forma y ancho de las bandas revelan que las nanopartículas de oro obtenidas son polidispersas y muy probablemente semiesféricas (Cornejo, 2015).

La Tabla 4.2, presenta un sumario de resultados de UV-VIS, así como el tamaño probable de las nanopartículas de oro, según datos reportados en estudios anteriores.

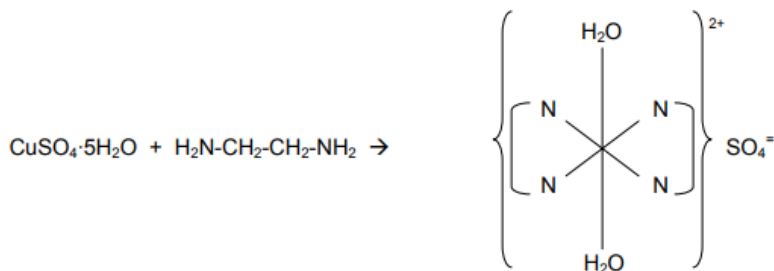
Tabla 4.2. Longitudes de onda y tamaño estimado de las nanopartículas de oro obtenidas a diferentes pH.

Extracto de Tomillo ( <i>Thymus vulgaris</i> ) a diferentes pH.	Longitud de onda correspondiente al pico del plasmón. (nm)	Tamaño estimado en nanómetros (nm) de las nanopartículas	Forma estimada de la nanopartícula
pH = 5	545	60	Esférica
pH = 7	565	70	Esférica
pH = 8	570	80	Esférica
pH = 9	580	90	Esférica

#### 4.1.3 Nanopartículas de cobre CuNPs.

La síntesis de NPs de cobre se llevó a cabo a temperatura ambiente, a través de la reducción de iones  $\text{Cu}^{2+}$  a cobre  $\text{Cu}^{1+}$  con el extracto vegetal de *Thymus vulgaris* (Tomillo). Los reactivos químicos usados y sus concentraciones, fueron: Sulfato de cobre (II)  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$   $1 \times 10^{-3}$  M (Sigma-Aldrich), etilendiamina al 10 %, extracto vegetal de *Thymus vulgaris* (Tomillo) y agua desionizada ( $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ). Para el ajuste de pH se adicionaron al extracto de *Thymus vulgaris* (Tomillo) gotas de una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) (J. T. Baker) 0.5 M en agua hasta ajustar el valor deseado de pH.

Para la síntesis de las nanopartículas de cobre se inició con la formación del complejo etilendiamina-cobre, el cual se preparó de la siguiente manera: a 4.0 mL de sulfato de cobre (II) pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 0.001 M, se le añadió 0.5 mL de etilendiamina ( $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ) al 10 %, a temperatura ambiente con agitación constante durante 5 minutos, tiempo en que tomo una coloración morada correspondiente al compuesto sulfato diacuobis(etilendiamina).



Esquema 1. Representación de la ecuación química de la reacción entre el  $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  y la etilendiamina ( $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{H}_2\text{N}$ ).

Formado el complejo etilendiana-cobre se adicionó 10 mL del extracto vegetal, ajustando el pH a 5, 7, 8 y 9 de las soluciones de los extractos con la adición de  $\text{NaOH}$  0.5 M, manteniendo la agitación. Durante la síntesis de las nanopartículas de cobre metálico se esperaba un cambio del color morado de la disolución del complejo de etilendiamina de cobre(II) a rojizo, prueba de que las nanopartículas de cobre  $\text{CuNPs}$  se han formado, sin embargo el color obtenido de la reacción de la disolución de cobre (II), al contacto con el extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*) se tornó en un color ocre, como se ilustra en la figura 4.5, este color es característico de la formación de nanopartículas de  $\text{Cu}_2\text{O}$ , que se caracterizan por un cambio de color durante el proceso de síntesis a un color ocre, esto es debido a que el cobre reacciona rápidamente con el oxígeno de la atmosfera. Su síntesis química hace que estas  $\text{Cu}_2\text{ONPs}$  se obtengan generalmente en forma de sólido ya que no son solubles en agua ni en etanol. Aunque cuando se mezclan con uno de estos dos reactivos se observa una mezcla homogénea, cuando se deja, reposar el sólido las  $\text{NPs}$  de  $\text{Cu}_2\text{O}$  vuelve a precipitar formando una disolución heterogénea (M. Esteban et al., 2016).

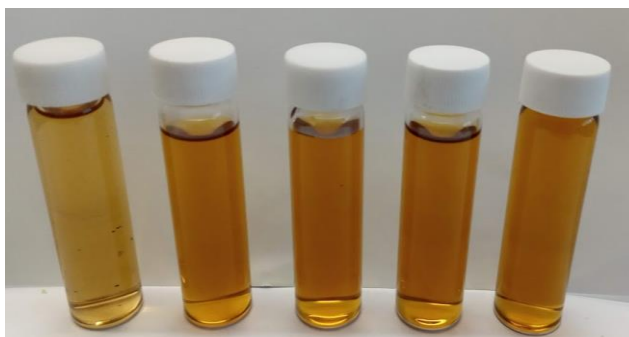


Figura 4.5. Soluciones de nanopartículas de  $\text{Cu}_2\text{O}$  preparadas con el extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*), de izquierda a derecha el extracto de Tomillo seguido de las soluciones de  $\text{Cu}_2\text{ONPs}$  a pH 5, 7, 8, 9.

Como se mencionó anteriormente las nanopartículas de cobre mostraron un color ocre característico de nanopartículas de  $\text{Cu}_2\text{O}$ , la caracterización mediante espectroscopía de UV-VIS de éstas  $\text{Cu}_2\text{ONPs}$  muestra que absorben a longitudes de onda entre 400-520 nm.

La figura 4.6, muestra el espectro de UV-VIS de las soluciones de cobre obtenidas a diferentes pH, se observa bandas de absorbancia correspondiente al plasmón de resonancia

entre los 400 nm y 520 nm, bandas consideradas como características de las soluciones de nanopartículas de  $\text{Cu}_2\text{O}$  (Khan, 2016). La forma y ancho de las bandas revelan que son polidispersas. El resultado corrobora que no se formaron nanopartículas de cobre, en su lugar se formaron las nanopartículas de  $\text{Cu}_2\text{O}$ .

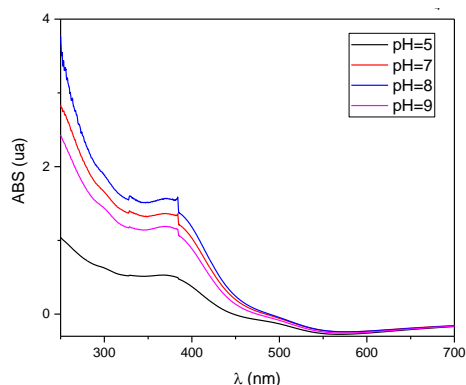


Figura 4.6. Espectro de UV-VIS de las nanopartículas de  $\text{Cu}_2\text{O}$  obtenidas con extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*) a diferentes pH.

Del espectro de UV-VIS se puede apreciar la influencia del pH, mostrando un corrimiento muy débil de la banda hacia longitudes de onda menores a medida que el pH aumenta, Por lo que se puede pensar que en este caso el pH, afecta muy débilmente al tamaño de las nanopartículas de cobre.

#### 4.1.4 Caracterización de las nanopartículas de plata AgNPs por Microscopía de Fuerza Atómica AFM.

Para confirmar el tamaño y distribución de las nanopartículas de plata obtenidas se caracterizaron por Microscopía de Fuerza Atómica AFM (Equipo JSPM-5200). El estudio topográfico realizado a las muestras permite determinar la presencia de las nanopartículas en forma de agregados, así como su morfología y sus intervalos de distribución de tamaño.

En la figura 4.7 y 4.8 se observa la imagen AFM topográfica ( $2.01 \mu\text{m} \times 2.01 \mu\text{m} \times 87.9 \text{nm}$ ) en modo “shaded” de las nanopartículas de plata obtenidas con el extracto Tomillo (*Thymus vulgaris*) a  $\text{pH} = 8$ . Se aprecian partículas semiesféricas, diseminadas heterogéneamente sobre la superficie de la oblea de silicio. Se observan zonas con agregados de nanopartículas de tamaño considerable, aunque también presenta zonas donde hay menor cantidad de agregados y tamaños menores de 25 nm. El análisis de polidispersidad mostró por su parte que las partículas obtenidas con dicha solución mostraron alta dispersión.

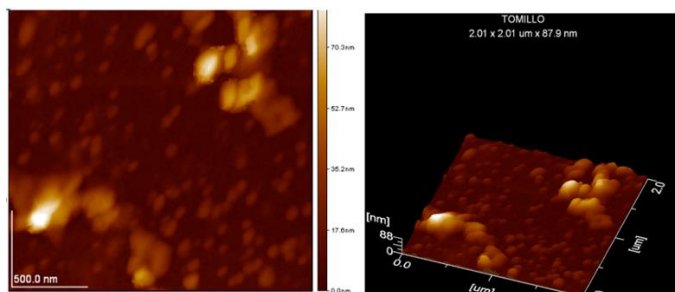


Figura 4.7. Imagen del escaneo de 2.01  $\mu\text{m}$  x 2.01  $\mu\text{m}$  x 87.9 nm, en modo “shaded” de las nanopartículas de plata AgNPs preparadas con el extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*).

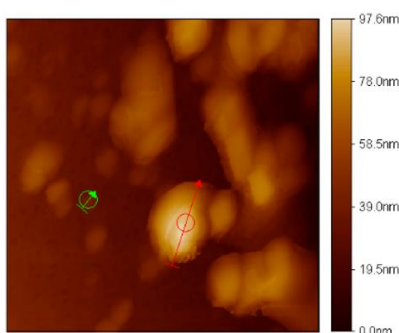


Figura 4.8. Imágenes del escaneo a 256.9 nm x 256 nm x 97.6 nm, modo “shaded” de las nanopartículas de plata preparadas con el extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*), mostrando el tamaño de una nanopartícula de alrededor de 25 nanómetros, en soporte de silicio incluso se observan partículas más pequeñas del orden de los 7 u 8 nanómetros de diámetro aproximadamente.

## 4.2 Nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre CuNPs preparadas con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León).

### 4.2.1 Nanopartículas de plata AgNPs.

La síntesis de nanopartículas de plata AgNPs se llevó a cabo a temperatura ambiente, a través de la reducción de iones plata con el extracto vegetal *Taraxacum officinale* (Diente de León). Los reactivos químicos usados y sus concentraciones fueron: nitrato de plata  $\text{AgNO}_3$   $1 \times 10^{-3}$  M (Sigma-Aldrich), el extracto vegetal del Diente de León y agua desionizada ( $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ).

El método consiste en la preparación de una dilución de 30 mL del extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León) /agua desionizada (0.5:29.5 mL), esta disolución fue ajustada a diferentes valores de pH, 5, 7,8 y 9 con la adición de gotas de una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) (J. T. Baker) 0.5 M en agua hasta ajustar el valor deseado de pH. A los 30

mL de la disolución del extracto, se adicionan 10 mL de la solución de  $\text{AgNO}_3$  ( $1 \times 10^{-3}$  M) y se mantuvo bajo agitación suave a temperatura ambiente durante 15 minutos, con la finalidad de promover la formación de las nanopartículas de plata por reducción de los iones  $\text{Ag}^{1+}$ . Las disoluciones obtenidas de nanopartículas de plata fueron de color amarillo ámbar, color característico reportado en la bibliografía (Frank *et al.*, 2010). Esta coloración se presenta pocos minutos después de haber agregado el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León). La figura 4.9 muestra las coloraciones obtenidas a diferente pH, poniendo en evidencia la reducción del ion plata  $\text{Ag}^{1+}$  a  $\text{Ag}^0$  y en consecuencia la probable formación de las nanopartículas de plata, excepto la disolución con pH = 5 que adquirió una tonalidad rosa tenue. Estas soluciones fueron sometidas a la prueba del efecto Tyndall para corroborar la presencia de coloides características de las soluciones de las nanopartículas metálicas.

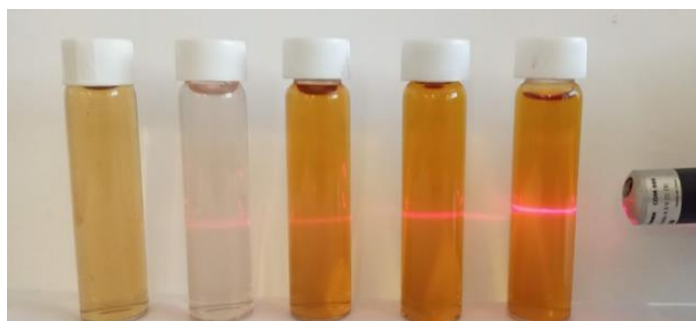


Figura 4.9. Se observa de izquierda a derecha primero el color del extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León) seguido de las soluciones de las AgNPs a pH 5, 7, 8, 9.

Las mediciones de la espectroscopía UV-VIS de la disolución acuosa de la plata después de entrar en contacto con el extracto vegetal de *Taraxacum officinale* (Diente de León) a pH = 7, 8 y 9 mostraron una coloración amarilla ámbar y bandas intensas de absorción características de la resonancia del plasmón de nanopartículas de plata, resultado que se atribuye su formación excepto la muestra a pH = 5. La figura 4.10 muestra el espectro de UV-VIS de las soluciones de nanopartículas de plata a diferentes pH, para los casos de pH 7, 8 y 9, se observa picos de absorbancia correspondiente al plasmón de resonancia entre los 350 nm y 450 nm, tal y como ha sido reportado en otros procesos de síntesis de nanopartículas de plata indicando su presencia. Bandas consideradas como características de las soluciones de nanopartículas de plata (Frank *et al.*, 2010). La forma y ancho de las bandas revelan que

las nanopartículas de plata obtenidas son polidispersas y muy probablemente esféricas, siendo menos el efecto de polidispersidad para el caso de las disoluciones preparadas a pH = 8 y 9. Así se puede apreciar que a medida que el pH aumenta, se favorece la formación de nanopartículas de plata AgNPs, más pequeñas y menos polidispersas.

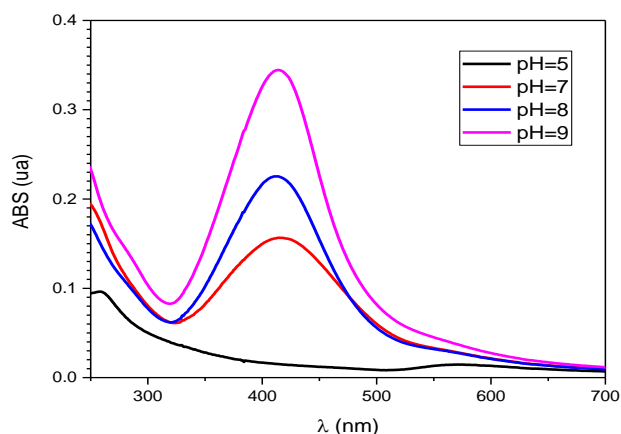


Figura 4.10. Espectro de UV-VIS de las nanopartículas de plata preparadas con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León).

En la tabla 4.4, se muestra en resumen los datos observados de los espectros de UV-VIS para las nanopartículas de plata preparadas con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León).

Tabla 4.4. Longitudes de onda correspondiente al pico del plasmón y tamaño estimado de las nanopartículas de plata AgNPs obtenidas a diferentes pH con el extracto de Taraxacum Officinale (Diente de León).

Extracto de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León) a diferentes pH.	Longitud de onda correspondiente al pico del plasmón. $\lambda$ (nm)	Tamaño estimado en nanómetros (nm) de las nanopartículas.	Forma estimada de la nanopartícula
pH = 5	-	-	-
pH = 7	415	50	Esférica
pH = 8	410	30	Esférica
pH = 9	403	20	Esférica

#### 4.2.2 Nanopartículas de oro AuNPs.

La síntesis de AuNPs se llevó a cabo a temperatura ambiente, a través de la reducción de iones oro  $\text{Au}^{3+}$  con el extracto acuoso de *Taraxacum officinale* (Diente de León).

Los reactivos químicos usados y sus concentraciones fueron:  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  a  $1 \times 10^{-3}$  M (Sigma-Aldrich), el extracto vegetal del Diente de León y agua desionizada ( $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ).

Para el ajuste de pH se adicionaron al extracto de Diente de León gotas de una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) (J. T. Baker) 0.5 M en agua hasta ajustar el valor deseado de



pH. El método consiste en la preparación de una dilución de 30 mL del extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León) /agua desionizada (0.5:29.5 mL), esta disolución fue ajustada a los valores de pH 5, 7, 8 y 9. A los 30 mL se adicionan 10 mL de la disolución de  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  ( $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ) y se mantiene bajo agitación suave a temperatura ambiente durante 15 minutos, de esta forma se promovió la formación de las nanopartículas de oro por reducción de los iones  $\text{Au}^{3+}$ .

De la adición de la sal de oro  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  al extracto de Diente de León, se obtuvieron diluciones de diferentes coloraciones dependiendo fuertemente del pH, colores que van desde el rosa, azul y morado, reportados en la bibliografía (Cornejo, 2015b). Estas coloraciones se presentan pocos minutos después de haber agregado el extracto. Los diferentes colores ponen de manifiesto que los tamaños de las nanopartículas obtenidas son diferentes y que es afectado por el pH. La figura 4.11, muestra las soluciones de las nanopartículas de oro a diferentes pH, se puede apreciar los diferentes colores de las disoluciones obtenidas, así como el efecto Tyndall característico de las soluciones coloidales.

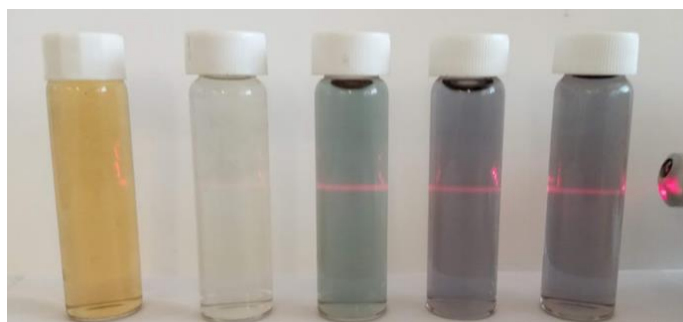


Figura 4.11. Se observa de izquierda a derecha primero el color del extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León) seguido de las soluciones de las AuNPs a pH 5, 7, 8, 9.

Las mediciones de la espectroscopía UV-VIS de la disolución acuosa de oro, después de entrar en contacto con el extracto vegetal de *Taraxacum officinale* (Diente de León) a pH = 5, 7, 8 y 9 mostraron diferentes coloraciones, pH =9 morada, pH =8 morada azulosa, pH =7 azul y pH = 5 rosa tenue, y bandas intensas de absorción características de la resonancia del plasmón de nanopartículas de oro AuNPs, resultado que se atribuye su formación (Cornejo, 2015b). La figura 4.12 muestra el espectro de UV-VIS de las soluciones de nanopartículas de oro AuNPs a diferentes pH, para los casos de pH 7, 8 y 9, se observa picos de absorbancia correspondiente al plasmón de resonancia entre los 500 nm y 600 nm, tal y como ha sido

reportado en otros procesos de síntesis de nanopartículas de oro indicando su presencia. La forma y ancho de las bandas revelan que las nanopartículas de oro obtenidas son polidispersas y muy probablemente esféricas y a medida que pH se incrementa, la curva se desplaza a longitudes de onda menores, evidencia de que el tamaño de la nanopartícula va disminuyendo.

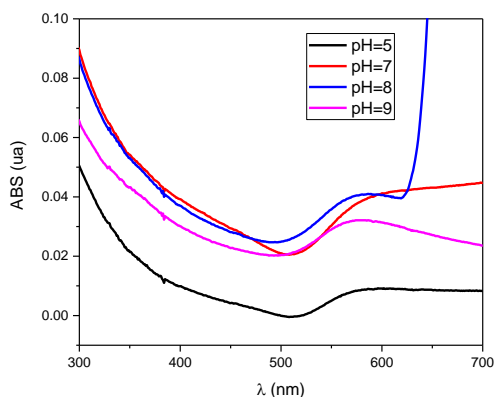


Fig.4.12 Espectros UV-VIS de las soluciones de AuNPs obtenidas con el extracto de Diente de León a diferentes pH.

La tabla 4.5, se muestra en resumen los datos observados de los espectros de UV-VIS para las nanopartículas de oro preparadas con extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León).

Tabla 4.5. Longitudes de onda y tamaño estimado de las nanopartículas de plata AgNPs obtenidas a diferentes pH con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León).

Extracto de Taraxacum Officinale (Diente de León) a diferentes pH.	Longitud de onda correspondiente al pico del plasmón. $\lambda$ (nm)	Tamaño estimado en nanómetros (nm) de las nanopartículas	Forma estimada de la nanopartícula
pH = 5	Mayor a 100	Mayor a 100	Esférica
pH = 7	586	90	Esférica
pH = 8	586	90	Esférica
pH = 9	581	80	Esférica

#### 4.2.3 Nanopartículas de Cu<sub>2</sub>ONPs.

La síntesis de NPs de cobre se llevó a cabo a temperatura ambiente, a través de la reducción de iones Cu<sup>2+</sup> a cobre Cu<sup>1+</sup> con el extracto vegetal de *Taraxacum officinale* (Diente de León). Los reactivos químicos usados y sus concentraciones, fueron: sulfato de cobre (II) CuSO<sub>4</sub>. 5H<sub>2</sub>O 1x10<sup>-3</sup> M (Sigma-Aldrich), etilendiamina al 10 %, el extracto vegetal de *Taraxacum officinale* (Diente de León) y agua desionizada (18 MΩ cm<sup>-1</sup>). Para el ajuste de pH se

adicionaron al extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León) gotas de una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) (J. T. Baker) 0.5 M en agua hasta ajustar el valor deseado de pH.

Para la síntesis de las nanopartículas de cobre se inició con la formación del complejo etilendiamina-cobre, el cual se preparó de la siguiente manera: a 4.0 mL de sulfato de cobre (II) pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 0.001 M, se le añadió 0.5 mL de etilendiamina ( $\text{NH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3$ ) al 10 %, a temperatura ambiente con agitación constante durante 5 minutos. Formado el complejo etilendiana-cobre se adicionó 10 mL del extracto vegetal, ajustando el pH de los extractos a un valor de pH 5, 7, 8 y 9 con la adición de NaOH 0.5 M, manteniendo la agitación.

Durante la síntesis de las nanopartículas de cobre metálico se esperaba un cambio del color de morado de la disolución del complejo de etilendiamina de cobre(II) a rojizo, prueba de que las NPs metálicas de cobre se han formado, sin embargo el color obtenido de la reacción de la disolución de cobre (II), al contacto con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León) se tornó en un color ocre, como se ilustra en la figura 4.13, este color es característico de la formación de nanopartículas de  $\text{Cu}_2\text{O}$  que se caracterizan por un cambio de color durante el proceso de síntesis a un color amarillo-ocre, esto es debido a que el cobre muy probablemente reaccionó rápidamente con el oxígeno de la atmosfera. Las disoluciones obtenidas de color ocre al dejarlas reposar se observó un precipitado amarillo ocre característico de la formación de nanopartículas de óxido de cobre(I) en todos los casos. (M. Esteban et al., 2016).



Figura 4.13. Efecto Tyndall de las soluciones de las  $\text{Cu}_2\text{ONPs}$  obtenidas con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León), de izquierda a derecha el extracto seguido de las soluciones de  $\text{Cu}_2\text{ONPs}$  a pH 5, 7, 8, 9.

La figura 4.14, muestra el espectro de UV-VIS de las soluciones de cobre obtenidas a diferentes pH, se observa bandas de absorbancia correspondiente al plasmón de resonancia entre los 400 nm y 520 nm, bandas consideradas como características de las soluciones de nanopartículas de Cu<sub>2</sub>O corroborando su formación, la forma y ancho de las bandas revelan que son polidispersas. El resultado corrobora que no se formaron nanopartículas de cobre, en su lugar se formaron las nanopartículas de Cu<sub>2</sub>O.

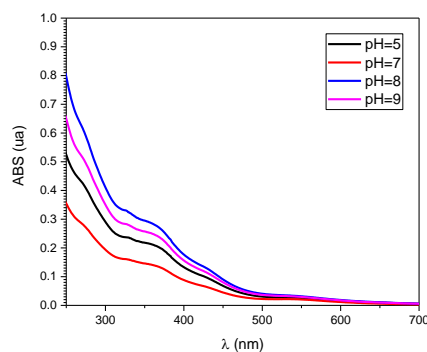


Figura. 4.14. Espectros UV-VIS de las soluciones de Cu<sub>2</sub>ONPs obtenidas con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León) a diferentes pH.

Tabla 4.6. Longitudes de onda y tamaño estimado de las nanopartículas de Cu<sub>2</sub>ONPs obtenidas a diferentes pH con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León).

Extracto de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León) a diferentes pH.	Longitud de onda correspondiente al pico del plasmón. λ(nm)	Forma estimada de la nanopartícula
pH = 5	347	Esférica
pH = 7	347	Esférica
pH = 8	556	Esférica
pH = 9	556	Esférica

#### 4.2.4 Caracterización de las nanopartículas de plata AgNPs por Microscopía de Fuerza Atómica AFM.

En la figura 4.15 se aprecia un escaneo de 5.5 μm<sup>2</sup>, y 170.4 nm de altura de la muestra denominada Diente de León, la imagen se obtuvo en modo *shaded*, en dicha imagen se observa una superficie homogéneamente recubierta por partículas semicúbicas y

semiesféricas, todas las partículas se muestran orientadas en forma horizontal respecto a la micrografía y su distribución de tamaño va de 700 nanómetros para las partículas más grandes las cuales poseen una morfología predominantemente semicúbica y ocupan un 20% del total de la superficie y están homogéneamente dispersas sobre ésta, de igual forma se muestran partículas más pequeñas de morfología semiesférica y de aproximadamente 100 nanómetros de diámetro, las cuales son las más abundantes y se encuentran depositadas sobre la oblea de silicio.

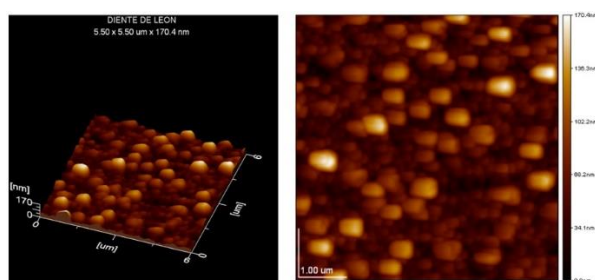


Figura 4.15 Imagen del escaneo de  $5.5 \mu\text{m} \times 5.5 \mu\text{m} \times 170.4 \text{ nm}$ , en modo “shaded” de las nanopartículas preparadas con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León).

En la figura 4.16 se observa la imagen AFM topográfica con una escala de escaneo de  $2.01 \mu\text{m} \times 2.01 \mu\text{m} \times 140 \text{ nm}$ , en la cual se observa una ampliación de la figura 4.15, en donde se aprecia con más detalle el conglomerado de partículas distribuidas en la oblea de silicio. En las imágenes se aprecian partículas semiesféricas y semiprimáticas, al parecer nanométricas.

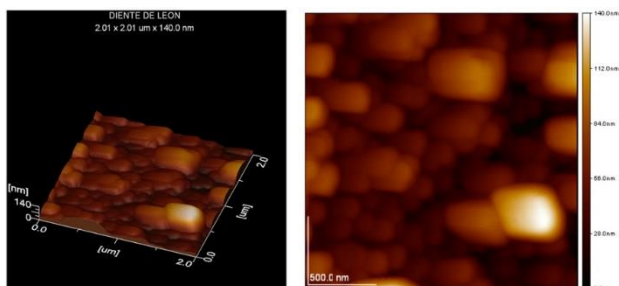


Figura 4.16. Imagen del escaneo a  $2.01 \mu\text{m} \times 2.01 \mu\text{m} \times 140.0 \text{ nm}$  modo “shaded” de las nanopartículas preparadas con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León).

De la figura 4.17, se presenta la imagen de AFM por topografía ( $1.00 \mu\text{m} \times 1.00 \mu\text{m} \times 73.0 \text{ nm}$ ), en una ampliación de aproximadamente  $1 \mu\text{m}^2$ , en donde se observan dos

morfologías, las que anteriormente se veían como semiprismáticas se pueden apreciar con mayor detalle en esta amplificación por lo que se puede determinar que poseen forma de hojuelas del orden de 180 a 200 nm de largo y 100 a 150 nm de ancho aproximadamente, y la segunda morfología consiste en partículas nanométricas semiesféricas del orden de 20 a 30 nm.

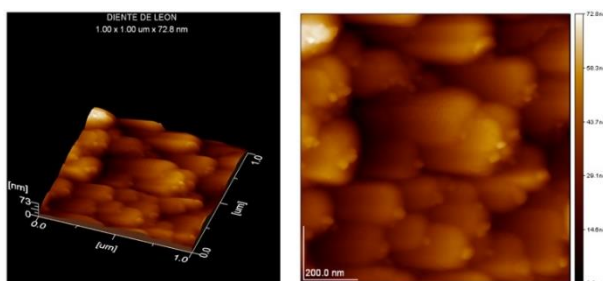


Figura 4.17. Imágenes del escaneo a  $1.0\ \mu\text{m} \times 1.0\ \mu\text{m} \times 72.8\ \text{nm}$  modo “shaded” de las nanopartículas de plata preparadas con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León).

La figura 4.18 se muestra una amplificación de la misma zona de la película ( $256\ \text{nm} \times 256\ \text{nm} \times 28.9\ \text{nm}$ ), en la que se observa con mayor detalle la morfología semiesférica de las partículas depositadas sobre una película conformada por hojuelas, probablemente debidas a algún otro componente de la disolución, por otra parte, se confirma que el diámetro de una de estas partículas es de 25.9 nanómetros. La imagen permite detectar la forma de partículas pequeñas semiesféricas como cabía de esperar según los resultados de los espectros de absorción electrónica en la región visible.

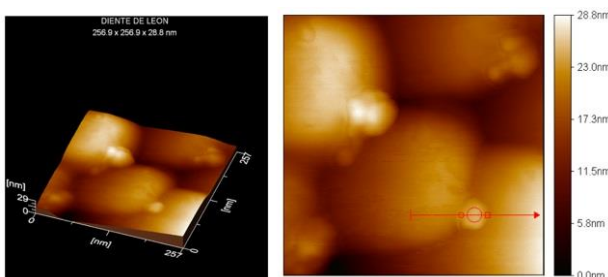


Figura 4.18. Imágenes del escaneo a  $256.9\ \text{nm} \times 256\ \text{nm} \times 28.8\ \text{nm}$ , modo “shaded” de las nanopartículas de plata preparadas con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León), mostrando el tamaño de una nanopartícula de 25.9 nm.

### **4.3 Nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y CuNPs preparadas con el extracto de *Laurus nobilis* (Laurel).**

#### **4.3.1 Nanopartículas de plata AgNPs.**

La síntesis de NPs de plata se llevó a cabo a temperatura ambiente, a través de la reducción de iones plata con el extracto vegetal *Laurus nobilis* (Laurel). Los reactivos químicos usados y sus concentraciones fueron: nitrato de plata  $\text{AgNO}_3$   $1 \times 10^{-3}$  M, el extracto vegetal del *Laurus nobilis* (Laurel) y agua desionizada ( $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ). Para el ajuste de pH se adicionaron al extracto gotas de una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) (J. T. Baker) 0.5 M en agua hasta ajustar el valor deseado de pH.

El método consiste en la preparación de una dilución de 30 mL del extracto de *Laurus nobilis* (Laurel)/agua desionizada (0.5:29.5 mL), esta disolución fue ajustada a diferentes valores de pH 5, 7, 8 y 9. A los 30 mL se adicionan 10 mL de la disolución de  $\text{AgNO}_3$   $1 \times 10^{-3}$  M y se mantuvo bajo agitación suave a temperatura ambiente durante 15 minutos, de esta forma se promovió la formación de las nanopartículas de plata por reducción de los iones  $\text{Ag}^{1+}$ .

De esta reacción de reducción se obtuvieron disoluciones de color amarillo ámbar, color reportado en la bibliografía como evidencia de la formación de las nanopartículas de plata, esta coloración se presenta pocos minutos después de haber agregado el extracto de *Laurus nobilis* (Laurel). (Frank *et al.*, 2010). La figura 4.19 muestra las coloraciones obtenidas a diferente pH, poniendo en evidencia la reducción del ion plata  $\text{Ag}^{1+}$  a  $\text{Ag}^0$  y en consecuencia la probable formación de las nanopartículas de plata, excepto la disolución con pH = 5 que tomo una coloración ligeramente rosada. Estas soluciones fueron sometidas a la prueba del efecto Tyndall, con la finalidad de comprobar la formación de coloides característicos de las nanopartículas metálicas.

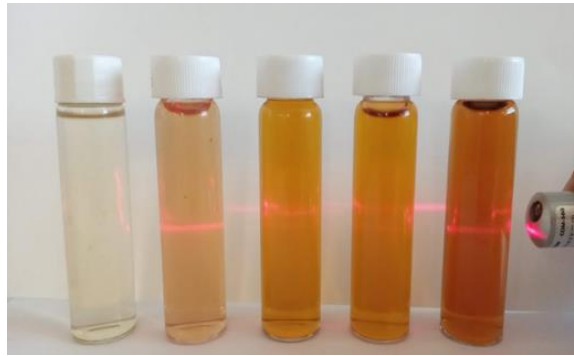


Figura 4. 19. De izquierda a derecha se observa el extracto obtenido del *Laurus nobilis* (Laurel) seguido de las soluciones de AgNPs a pH 5, 7, 8, 9.

Las mediciones de la espectroscopía UV-VIS de la disolución acuosa obtenidas, presumiblemente de nanopartículas de plata AgNPs a diferentes pH 5, 7, 8, 9, mostraron bandas intensas de absorción en el intervalo del espectro de la región visible, bandas características de la resonancia del plasmón de nanopartículas de plata, resultado que se atribuye su formación. La figura 4.20 se muestra el espectro de UV-VIS de las soluciones de nanopartículas de plata a diferentes pH, para los casos de pH 7, 8 y 9, se observa picos de absorbancia correspondiente al plasmón de resonancia entre los 350 nm y 450 nm, tal y como ha sido reportado en otros procesos de síntesis de nanopartículas de plata indicando su presencia.

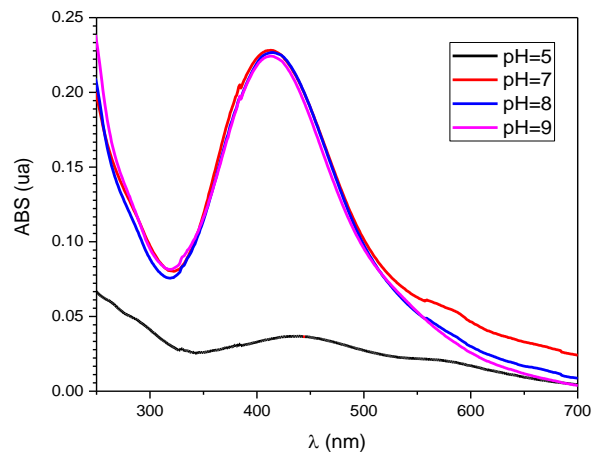


Figura. 4.20 Espectros UV-VIS de las soluciones de AgNPs obtenidas con el extracto de *Laurus nobilis* (Laurel) a diferentes pH.

En los espectros de la figura 4. 20, se muestran picos de absorbancia del plasmón, se aprecia que la longitud de onda en la que ocurre la absorbancia es de 413 nm para las soluciones con



pH = 7, 8, 9, la forma de la banda es igual en todos los casos, mostrando una sola absorbancia, evidencia de que la forma de las nanopartículas es muy probablemente esférica, con un tamaño estimado muy probablemente alrededor de 40 y 50 nm, Por otro lado, también se observa del espectro que las bandas no son muy amplias de lo que se puede concluir que las disoluciones son poco polidispersas es decir que los tamaños de las nanopartículas son muy cercanos. En el caso de la disolución a pH= 5 se observa una banda de absorbancia muy amplia, con un máximo de absorbancia 439 nm, evidencia del inicio de la formación de las nanopartículas de plata con un tamaño estimado de 10 nm, y probablemente son polidispersas En la tabla 4.7 se proporcionan datos de su tamaño estimado y forma, deducidos de los espectros UV-VIS y datos consultados en trabajos semejantes.

Tabla 4.7. Longitudes de onda y tamaño estimado de las nanopartículas de plata AgNPs obtenidas a diferentes pH con el extracto de *Laurus Nobilis* (Laurel) a diferentes pH.

Extracto de <i>Laurus nobilis</i> (Laurel) a diferentes pH.	Longitud de onda correspondiente al pico del plasmón. $\lambda$ (nm)	Tamaño estimado en nanómetros (nm) de las nanopartículas	Forma estimada de la nanopartícula
pH = 5	439	10	Esférica
pH = 7	413	40-50	Esférica
pH = 8	413	40-50	Esférica
pH = 9	413	40-50	Esférica

#### 4.3.2 Nanopartículas de oro AuNPs.

La síntesis de AuNPs se llevó a cabo a temperatura ambiente, a través de la reducción de iones oro con el extracto vegetal *Laurus nobilis* (Laurel). Los reactivos químicos usados y sus concentraciones fueron:  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  a  $1 \times 10^{-3}$  M (Sigma-Aldrich), el extracto vegetal de *Laurus nobilis* (Laurel) como agente reductor y agua desionizada ( $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ). Para el ajuste de pH se adicionaron al extracto gotas de una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) (J. T. Baker) 0.5 M hasta ajustar el valor deseado de pH.

El método consiste en la preparación de una dilución de 30 mL del extracto de *Laurus nobilis* (Laurel) /agua desionizada (0.5:29.5 mL), esta disolución fue ajustada a los valores de pH 5, 7, 8 y 9. A los 30 mL se adicionan 10 mL de la disolución de  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  ( $1 \times 10^{-3}$  M) y se

mantiene bajo agitación suave a temperatura ambiente durante 15 minutos, promoviéndose la formación de las nanopartículas de oro por reducción de los iones  $\text{Au}^{3+}$ .

De la adición de la sal de oro  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  al extracto de *Laurus nobilis* (Laurel), se obtuvieron diluciones de diferentes colores dependiendo fuertemente del pH. Para el caso de  $\text{pH} = 5$  adquiere un color rosa tenue,  $\text{pH} = 7$  morada,  $\text{pH} = 8$  morada azulosa y  $\text{pH} = 9$  azul. Estos colores han sido reportados en la bibliografía como evidencia de la reducción del ion  $\text{Au}^{3+}$  a oro metálico  $\text{Au}^0$  y la consecuente formación de las nanopartículas de oro AuNPs (Cornejo, 2015b). El color se presenta después de 24 horas de haber agregado el extracto de *Laurus nobilis* (Laurel). Los diferentes colores ponen de manifiesto que los tamaños de las nanopartículas de AuNPs obtenidas son diferentes y que es afectado por la variación del pH.

En la figura 4.21 se aprecian los diferentes colores de las disoluciones obtenidas a diferentes pH.

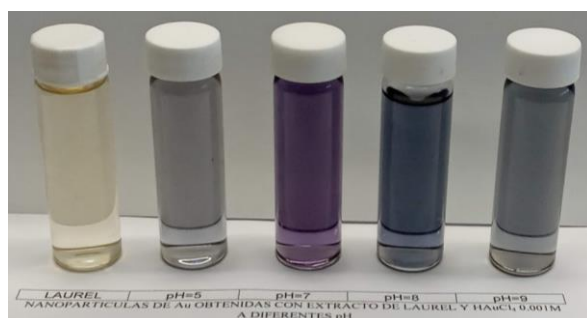


Figura 4.21. De izquierda a derecha el extracto de Laurel seguido de las soluciones de las AuNPs a  $\text{pH} = 5, 7, 8, 9$ .

Las mediciones de la espectroscopía UV-VIS de la disolución acuosa de oro después de entrar en contacto con el extracto vegetal de *Laurus nobilis* (Laurel) a  $\text{pH} = 5, 7, 8$  y  $9$  revelan bandas intensas de absorción características de la resonancia del plasmón de nanopartículas de oro alrededor de  $500 \text{ nm}$  y  $600 \text{ nm}$  evidencia de su probable formación. En la figura 4.22 se aprecia el espectro de UV-VIS de las soluciones de nanopartículas de oro AuNPs preparadas a diferentes pH. Las bandas de absorbancia aparecen a diferentes longitudes de onda dependiendo del pH, así para la disolución a  $\text{pH} = 5$  y  $\text{pH} = 7$  se aprecia la absorbancia a una longitud de  $588 \text{ nm}$ , para  $\text{pH} = 8$ ,  $586 \text{ nm}$  y  $\text{pH} = 9$ ,  $575 \text{ nm}$ . A medida que el pH se

incrementa, la longitud de onda en la que aparece el pico del plasmón es más pequeña, lo que significa que el tamaño de las nanopartículas va disminuyendo.

La forma y ancho de las bandas revelan que las nanopartículas de oro obtenidas son polidispersas y muy probablemente esféricas en todos los casos con un tamaño promedio entre 100 y 80 nm.

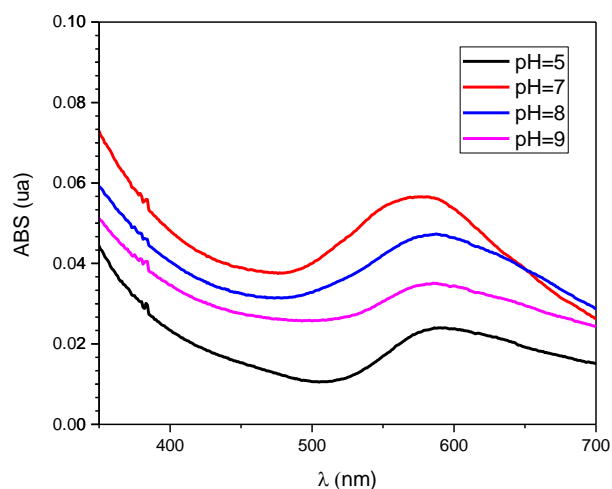


Figura 4.22. Espectros UV-VIS de las soluciones de AuNPs obtenidas con extracto de Laurel a diferentes pH.

En la tabla 4.8 se precisan los datos obtenidos de los espectros de UV-VIS.

Tabla 4.8. Longitudes de onda y tamaño estimado de las nanopartículas de oro AuNPs obtenidas a diferentes pH con extracto de *Laurus nobilis* (Laurel) a diferentes pH.

Extracto de <i>Laurus nobilis</i> (Laurel) a diferentes pH.	Longitud de onda correspondiente al pico del plasmón. $\lambda$ (nm)	Tamaño estimado en nanómetros (nm) de las nanopartículas	Forma estimada de la nanopartícula
pH = 5	588	100	Esférica
pH = 7	588	90	Esférica
pH = 8	586	90	Esférica
pH = 9	575	80	Esférica

### 4.3.3 Nanopartículas de cobre CuNPs.

La síntesis de NPs de cobre se llevó a cabo a temperatura ambiente, a través de la reducción de iones  $\text{Cu}^{2+}$  a cobre  $\text{Cu}^{1+}$  con el extracto vegetal de *Laurus nobilis* (Laurel) como agente reductor. Los reactivos químicos usados y sus concentraciones, fueron: sulfato de cobre (II)  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$   $1 \times 10^{-3}$  M, etilendiamina al 10 %, extracto vegetal de *Laurus nobilis* (Laurel) y agua desionizada ( $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ). Para el ajuste de pH se adicionaron al extracto gotas de una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) (J. T. Baker) 0.5 M en agua hasta ajustar el valor deseado de pH.

Para la síntesis de las nanopartículas de cobre se inició con la formación del complejo etilendiamina-cobre, el cual se preparó de la siguiente manera: a 4.0 mL de sulfato de cobre (II) pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 0.001 M, se le añadió 0.5 mL de etilendiamina al 10 %, a temperatura ambiente con agitación constante durante 5 minutos. Formado el complejo etilendiana-cobre de color morado se adicionó 10 mL del extracto vegetal a diferentes pH, 5, 7, 8 y 9, manteniendo la agitación constante.

Durante la síntesis de las nanopartículas de cobre metálico igual que en los casos anteriores se esperaba un cambio del color de morado de la disolución del complejo de etilendiamina de cobre (II) a rojizo, como evidencia de la formación las NPs metálicas de cobre, sin embargo, el color obtenido de la reacción de la disolución de cobre (II), al contacto con el extracto de *Laurus nobilis* (Laurel) se tornó a un color ocre en todos los casos, como se ilustra en la figura 4.23.

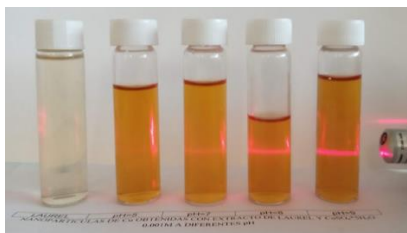


Figura 4.23. De izquierda a derecha el extracto de *Laurus nobilis* (Laurel) seguido de las soluciones de  $\text{Cu}_2\text{ONPs}$  a pH 5, 7, 8, 9.

El color de las soluciones obtenidas amarillo-ocre es característico de la formación de nanopartículas de  $\text{Cu}_2\text{O}$ , esto es debido a que muy probablemente el cobre reaccionó rápidamente con el oxígeno de la atmosfera formando el óxido de cobre(I)  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Las

disoluciones obtenidas de color ocre al dejarlas reposar se observó un precipitado amarillo ocre característico de la formación de nanopartículas, esto ocurrió en todos los casos. (M. Esteban et al., 2016).

La figura 4.24, muestra el espectro de UV-VIS de las soluciones de cobre obtenidas a diferentes pH, se observa bandas de absorbancia correspondiente al plasmón de resonancia entre los 400 nm y 520 nm, bandas consideradas como características de las soluciones de nanopartículas de Cu<sub>2</sub>O, la forma y ancho de las bandas revelan que son polidispersas. El resultado corrobora que no se formaron nanopartículas de cobre, en su lugar se formaron las nanopartículas de Cu<sub>2</sub>O.

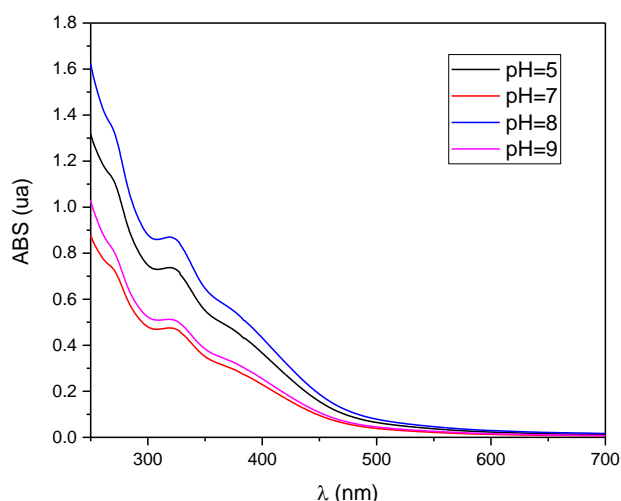


Fig.4.24. Espectros UV-VIS de las soluciones de CuONPs obtenidas con extracto de *Laurus nobilis* (Laurel) a diferentes pH.

En la tabla 4.9 se precisan los datos obtenidos de los espectros de UV-VIS.

Tabla 4.9. Longitudes de onda y tamaño estimado de las nanopartículas de CuONPs. obtenidas a diferentes pH con extracto de *Laurus nobilis* (Laurel) a diferentes pH.

Extracto de <i>Laurus nobilis</i> (Laurel) a diferentes pH.	Longitud de onda correspondiente al pico del plasmón. λ(nm)	Tamaño estimado en nanómetros (nm) de las nanopartículas	Forma estimada de la nanopartícula
pH = 5	320	40-50	Esférica
pH = 7	320	40-50	Esférica
pH = 8	318	40-50	Esférica
pH = 9	316	40-50	Esférica

#### 4.4 Nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y CuNPs preparadas con el extracto de *Ocimum basilicum* (albahaca).

##### 4.4.1 Nanopartículas de plata AgNPs.

La síntesis de las nanopartículas de plata AgNPs se llevó a cabo a temperatura ambiente, a través de la reducción de iones plata con el extracto vegetal *Ocimum basilicum* (albahaca).

El método consiste en la preparación de una dilución de 30 mL del extracto de *Ocimum basilicum* (albahaca)/agua desionizada (0.5:29.5 mL), esta disolución fue ajustada a diferentes valores de pH 7, 8 y 9. A los 30 mL se adicionan 10 mL de la disolución de  $\text{AgNO}_3$  ( $1 \times 10^{-3}$  M) y se mantuvo bajo agitación suave a temperatura ambiente durante 15 minutos, de esta forma se promovió la formación de las nanopartículas de plata por reducción de los iones  $\text{Ag}^{1+}$ .

Las disoluciones obtenidas de nanopartículas de plata son de color amarillo ámbar, color característico reportado en la bibliografía, el color se presenta pocos minutos después de haber agregado el extracto de *Ocimum basilicum* (albahaca). (Frank *et al.*, 2010). La figura 4.25 muestra las coloraciones obtenidas a diferente pH, poniendo en evidencia la reducción del ion plata  $\text{Ag}^{1+}$  a  $\text{Ag}^0$  y en consecuencia la probable formación de las nanopartículas de plata, excepto la disolución con  $\text{pH} = 7$ .

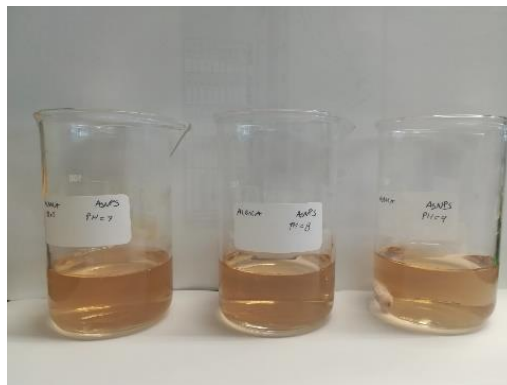


Figura 4.25. Soluciones de nanopartículas de plata preparadas con el extracto de *Ocimum basilicum* (albahaca) de izquierda a derecha las soluciones de AgNPs a pH 7, 8 y 9.

Las mediciones de la espectroscopía UV-VIS de la disolución acuosa de los iones plata  $\text{Ag}^{1+}$  después de entrar en contacto con el extracto vegetal de *Ocimum basilicum* (albahaca). a pH 7, 8 y 9 revelan bandas intensas de absorción características de la resonancia del plasmón de nanopartículas de plata alrededor de 350 nm y 450 nm resultado que se atribuye su formación.

En la figura 4.26 se aprecia el espectro de UV-VIS de las soluciones de nanopartículas de plata AgNPs preparadas a diferentes pH. Las bandas de absorbancia parecen a diferentes longitudes de onda dependiendo del pH, así para la disolución de pH = 7 se aprecia la absorbancia a una longitud de 415 nm, para pH = 8, 410 nm y pH = 9, 405 nm.

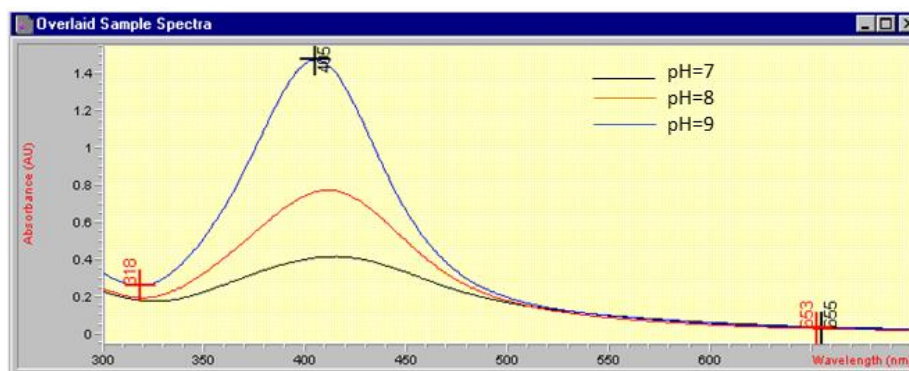


Figura 4.26. Espectros UV-VIS de las soluciones de AgNPs obtenidas con el extracto de *Ocimum basilicum* (albahaca) a diferentes pH.

A medida que el pH se incrementa, la longitud de onda en la que aparece el pico del plasmón es más pequeña, lo que significa que el tamaño de las nanopartículas va disminuyendo.

La forma y ancho de las bandas revelan que las nanopartículas de plata obtenidas son polidispersas y muy probablemente esféricas en todos los casos con un tamaño promedio entre 40 y 20 nm. En la tabla 4.10 se precisan los datos obtenidos de los espectros de UV-VIS.

Tabla 4.10. Longitudes de onda y tamaño estimado de las nanopartículas de AgNPs. obtenidas a diferentes pH con extracto de *Ocimum basilicum* (albahaca).

Extracto de <i>Occimum basilicum</i> (albahaca) a diferentes pH.	Longitud de onda correspondiente al pico del plasmón. $\lambda$ (nm)	Tamaño estimado en nanómetros (nm) de las nanopartículas	Forma estimada de la nanopartícula
pH = 5	-	-	-
pH = 7	415	40	Esférica
pH = 8	410	30	Esférica
pH = 9	405	20	Esférica

#### 4.4.2 Nanopartículas de oro AuNPs.

La síntesis de AuNPs se llevó a cabo a temperatura ambiente, a través de la reducción de iones oro con el extracto vegetal *Ocimum basilicum* (albahaca). El método consiste en la preparación de una dilución de 30 mL del extracto de *Ocimum basilicum* (albahaca) /agua desionizada (0.5:29.5 mL), esta disolución fue ajustada a los valores de pH (5, 7, 8 y 9). A los 30 mL se adicionan 10 mL de la disolución de  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  ( $1 \times 10^{-3}$  M) y se mantiene bajo agitación suave a temperatura ambiente durante 15 minutos, de esta forma se promovió la formación de las nanopartículas de oro por reducción de los iones  $\text{Au}^{3+}$ .

De la adición de la sal de oro  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  al extracto de *Ocimum basilicum* (albahaca), se obtuvieron diluciones de diferentes coloraciones dependiendo fuertemente del pH, colores que van desde el rosa, azul y morado, característicos de las disoluciones de nanopartículas de oro de diferentes tamaños (Cornejo, 2015b). Estas coloraciones se presentan pocos minutos después de haber agregado el extracto como se ve en la figura 4.27.



Figura 4.27. Soluciones de nanopartículas de oro AuNPs preparadas con el extracto de *Ocimum basilicum* (albahaca) a diferentes pH.

Las mediciones de la espectroscopía UV-VIS de la disolución acuosa de oro después de entrar en contacto con el extracto vegetal de *Ocimum basilicum* (albahaca) a pH = 5, 7, 8 y 9 revelan bandas intensas de absorción características de la resonancia del plasmón de nanopartículas de oro alrededor de 500 nm y 600 nm resultado que se atribuye su formación. En la figura 4.28 se aprecia el espectro de UV-VIS de las soluciones de nanopartículas de oro AuNps preparadas a diferentes pH. Las bandas de absorbancia a parecen a diferentes longitudes de onda dependiendo del pH, así para la disolución a pH = 5 se aprecia una absorbancia de longitud de onda de 565 nm, pH = 7 a una longitud de 545 nm, para pH = 8, 545 nm y pH = 9, 530 nm. A medida que el pH se incrementa, la longitud de onda en la que



aparece el pico del plasmón es más pequeña, lo que significa que el tamaño de las nanopartículas va disminuyendo.

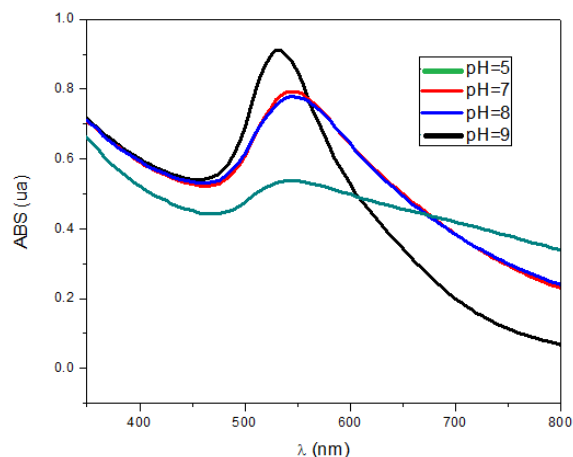


Fig.4.28 Espectros UV-VIS de las soluciones de AuNPs obtenidas con el extracto de *Ocimum basilicum* (albahaca) a diferentes pH.

La forma y ancho de las bandas revelan que las nanopartículas de oro obtenidas son polidispersas y muy probablemente esféricas en todos los casos con un tamaño promedio entre 70 y 40 nm.

En la tabla 4.11 se precisan los datos obtenidos de los espectros de UV-VIS.

Tabla 4.11. Longitudes de onda y tamaño estimado de las nanopartículas de AuNPs. obtenidas a diferentes pH con extracto de *Ocimum basilicum* (albahaca).

Extracto de albahaca a diferentes pH.	Longitud de onda correspondiente al pico del plasmón. $\lambda$ (nm)	Tamaño estimado en nanómetros (nm) de las nanopartículas	Forma estimada de la nanopartícula
pH = 5	565	70	Esférica
pH = 7	545	60	Esférica
pH = 8	545	60	Esférica
pH = 9	530	40	Esférica

#### 4.4.3 Nanopartículas de Cu<sub>2</sub>ONPs.

Debido a la contingencia sanitaria por COVID-19 (SARS-COV2), no fue posible llevar a cabo la síntesis de las nanopartículas de cobre con el extracto de *Ocimum basilicum* (Albahaca).

#### 4.5 Pruebas de la actividad antimicrobiana.

Se probó la actividad antimicrobiana de las soluciones coloidales obtenidas por el método de difusión en pozos en agar Mueller-Hinton. El reto microbiano incluyó *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa) y *Staphylococcus aureus* (bacteria grampositiva). Las pruebas fueron desarrolladas con la colaboración del laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas. Cabe mencionar que se realizó un solo intento de prueba y no fue posible reproducirla nuevamente debido a que se presentó el problema de la pandemia del covid-19.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos.

Se probó la actividad antimicrobiana de las soluciones coloidales de las nanopartículas AgNPs, AuNPs y CuONPs, obtenidas a pH = 8, así como también con las disoluciones de las sales metálicas de plata, oro y cobre y las disoluciones de los extractos de las plantas puros.

Las muestras de estudio se dividieron en dos grupos, *Muestras 1* y *Muestras 2*, en las tablas 4.12 y tabla 4.13 se muestra la forma en que fueron agrupadas y etiquetadas. Las tablas proporcionan información de cada grupo de *Muestras*, como son: el número de la etiqueta de la muestra, las soluciones de las sales metálicas, soluciones de los extractos puros y las soluciones coloidales de las nanopartículas preparadas con cada uno de los extractos vegetales a pH = 8.

Tabla. 4. 12. Soluciones y extractos vegetales empleados en las pruebas bactericidas (*Muestras 1*).

<i>Muestras 1</i>	Soluciones	Extracto empleado en la preparación de las NPs
1	Solución de AgNO <sub>3</sub>	-
2	Solución de H(AuCl <sub>4</sub> )	-
3	Solución de <i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)
4	Solución de <i>Laurus nobilis</i> (Laurel)	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)
5	Nanopartículas de plata AgNPs	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)
6	Nanopartículas de plata AgNPs	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)
7	Nanopartículas de oro AuNPs	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)

8	Nanopartículas de oro AuNPs	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)
9	Nanopartículas de cobre CuONPs	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)
10	Nanopartículas de cobre CuONPs	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)
11	Solución de CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	-

Tabla 4.13. Soluciones y extractos vegetales empleados en las pruebas bactericidas (*Muestras 2*).

<i>Muestras 2</i>	Soluciones	Extracto empleado en la preparación de las NPs
1	Solución de AgNO <sub>3</sub>	-
2	Solución de H(AuCl <sub>4</sub> )	-
3	Solución de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León)	<i>Taraxacum officinale</i> ( <i>Diente de León</i> )
4	Solución de <i>Ocimum basilicum</i> (Albahaca)	<i>Ocimum basilicum</i> ( <i>Albahaca</i> )
5	Nanopartículas de plata AgNPs	<i>Taraxacum officinale</i> ( <i>Diente de León</i> )
6	Nanopartículas de plata AgNPs	<i>Ocimum basilicum</i> ( <i>Albahaca</i> )
7	Nanopartículas de oro AuNPs	<i>Taraxacum officinale</i> ( <i>Diente de León</i> )
8	Nanopartículas de oro AuNPs	<i>Ocimum basilicum</i> ( <i>Albahaca</i> )
9	Nanopartículas de cobre CuONPs	<i>Taraxacum officinale</i> ( <i>Diente de León</i> )
10	Nanopartículas de cobre CuONPs	<i>Ocimum basilicum</i> ( <i>albahaca</i> )
11	Solución de CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	-

#### 4.5.1 Resultados de las pruebas como antibactericidas frente a *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa).

Se probó la actividad antimicrobiana de las soluciones coloidales de las nanopartículas de AgNPs, AuNPs y CuONPs obtenidas a un pH = 8 frente a la bacteria *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa) por el método de difusión en pozos en agar Mueller-Hinton.

La figura 4.29 Muestra las imágenes de los resultados obtenidos de la aplicación de las soluciones de las *Muestras 1* frente a la bacteria *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa). La placa 1E (E.coli/Tomillo) muestra los resultados de la aplicación de las nanopartículas obtenidas con el extracto *Thymus vulgaris* (Tomillo) y la placa 2E (E.coli/Laurel) los

resultados de la aplicación de las nanopartículas obtenidas con el extracto de *Laurus nobilis*(Laurel).



Placa 1E(E.coli/Tomillo)



Placa 2E (E.coli/Laurel)

Figura 4.29. Imágenes de los resultados de la aplicación las disoluciones de las *Muestras 1* frente a la bacteria *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa). Placa 1E (E.coli/Tomillo) y la placa 2E (E.coli/Laurel).

En la placa **1E(E.coli/Tomillo)** se aprecian los resultados obtenidos después de un día de la aplicación de las soluciones de las *Muestras 1*, soluciones de nanopartículas de plata AgNPs, de oro AuNPs y de Cobre CuONPs, preparadas con el extracto de *Thymus vulgaris* (Tomillo). Para la muestra depositada en el pozo 1 que corresponde a la disolución de los iones  $Ag^+$ , se observa un halo de inhibición de 10 mm, la muestra depositada en el pozo 2, solución de  $H(AuCl_4)$  también se observa un halo de 10 mm y la muestra depositada en el pozo 5 correspondiente a las nanopartículas de plata preparadas con el extracto de *Thymus vulgaris* (Tomillo), presenta un halo de 11 mm. Los halos de inhibición son evidencias de su efecto como bactericida. Las muestras 3, 7, 9 y 11 no presentan halos de inhibición y es considerado como efecto nulo de su actividad bactericida. En la tabla 4.14 se resumen las observaciones realizadas a la placa 1E(E.coli/Tomillo).

Tabla 4.14. Resultados de las observaciones realizadas a la placa **1E(E.coli/Tomillo)**

Placa 1E(E.coli/Tomillo)			
Número de pozo	Halo de inhibición- Diámetro (mm)	Solución	Extracto empleado en la preparación de las NPs
1	10	Solución de $AgNO_3$	-
2	10	Solución de $H(AuCl_4)$	-
3	0	Solución de <i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)

5	11	Nanopartículas de plata AgNPs	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)
7	0	Nanopartículas de oro AuNPs	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)
9	0	Nanopartículas de cobre CuONPs	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)
11	0	Solución de CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	

De la placa **2E**(*E.coli/Laurel*) se aprecian los resultados obtenidos después de un día de la aplicación de las soluciones de las *Muestras 1*, soluciones de nanopartículas de plata AgNPs, de oro AuNPs y de Cobre CuONPs preparadas con el extracto de *Laurus nobilis* (Laurel). La muestra que se depositó en el pozo 1, correspondiente a la solución de nitrato de plata AgNO<sub>3</sub> se aprecia un halo de inhibición de 12 mm, la muestra depositada en el pozo 2, solución de HAuCl<sub>4</sub> se observa un halo de 9 mm, y para la muestra del pozo 4 correspondiente a la solución de *Laurus nobilis* (Laurel) no se observa ningún halo de inhibición. La muestra del pozo 6 correspondiente a la solución de las nanopartículas de plata preparadas con el extracto de *Laurus nobilis* (Laurel), se aprecia un halo de 13 mm, y para la muestra del pozo 8 correspondiente a las nanopartículas de oro AuNPs un halo de 10 mm. Para el caso de la solución de la sal de cobre pozo 11, así como para las nanopartículas de cobre pozo 10, preparadas con el mismo extracto no se observó ningún halo de inhibición. Los halos de inhibición son evidencias de su efecto como bactericida. En la tabla 4.15 se resumen las observaciones realizadas de la placa 2E (*E.coli/Laurel*).

Tabla 4.15. Resultados de las observaciones realizadas a la placa **1E** (*E.coli/Laurel*)

Placa 2E ( <i>E.coli/Laurel</i> )			
Número de pozo	Halo de inhibición- Diámetro (mm)	Solución	Extracto empleado
1	12	Solución de AgNO <sub>3</sub>	-
2	9	Solución de H(AuCl <sub>4</sub> )	-
4	0	Solución de <i>Laurus nobilis</i> (Laurel)	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)
6	13	Nanopartículas de plata AgNPs	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)
8	10	Nanopartículas de oro AuNPs	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)
10	0	Nanopartículas de cobre CuONPs	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)
11	0	Solución de CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	-

La figura 4.30 muestra las imágenes de los resultados obtenidos con las disoluciones de las *Muestras 2*, después de 24 horas de su aplicación en la placa de la bacteria *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa). Pruebas realizadas con las nano partículas preparadas con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León) y el extracto de *Ocimum basilicum* (Albahaca). La placa 3E (*E.coli/ Diente de León*) muestra los resultados de la aplicación de las nanopartículas obtenidas con el extracto *Taraxacum officinale* (Diente de León) y la placa 4E (*E.coli/Albahaca*) los resultados de la aplicación de las nanopartículas obtenidas con el extracto de *Ocimum basilicum* (Albahaca).

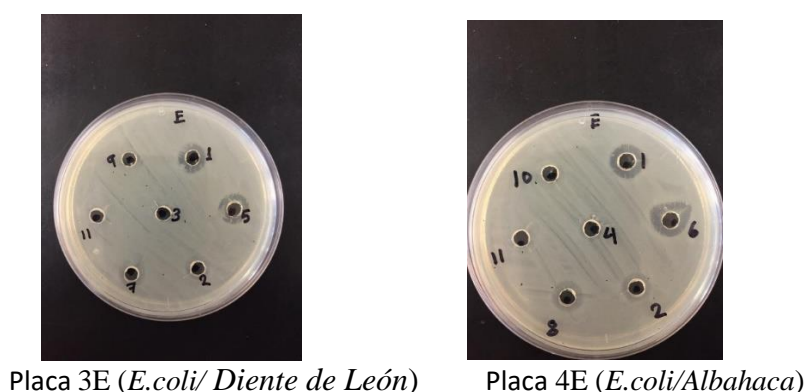


Figura 4.30 Imágenes de los resultados de la aplicación de las disoluciones de las *Muestras 2* frente a la bacteria *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa). Placa 3E (*E.coli/ Diente de León*) y Placa 4E (*E.coli/Albahaca*).

En la placa 3E (*E.coli/ Diente de León*) se aprecian los halos de inhibición, para la muestra depositada en el pozo 1, que corresponde a la disolución de los iones  $Ag^+$ , y un halo de 12 mm, en el pozo 5, correspondiente a la solución de las nanopartículas de plata preparadas con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León). También se puede apreciar en el pozo 2, solución de  $H AuCl_4$  un halo de 9 nm, y un halo de inhibición muy débil de 10 mm en el pozo 7 en donde fueron aplicadas las nanopartículas de AuNPs preparadas con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León).

Para la solución del extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León), depositada en el pozo 3, no se aprecia efecto alguno. Para el caso de la solución de la sal de cobre, así como para las nanopartículas de cobre preparadas con el mismo extracto no se observó ningún halo de inhibición.

En la tabla 4.16 se resumen las observaciones realizadas de la placa 3E (*E.coli*/ Diente de León).

Tabla 4.16. Datos compilados de las observaciones realizadas de la placa Placa 3E (*E.coli*/ *Diente de León*).

Placa 3E ( <i>E. coli</i> /Diente de León)			
Número de pozo	Diámetro (mm)	Solución	Extracto utilizado
1	10	Solución de AgNO <sub>3</sub>	-
2	9	Solución de H(AuCl <sub>4</sub> )	-
3	0	Solución de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León)	<i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León)
5	12	Nanopartículas de plata AgNPs	<i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León)
7	10	Nanopartículas de oro AuNPs	<i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León)
9	0	Nanopartículas de cobre CuONPs	<i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León)
11	0	Solución de CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	-

En la placa **4E (*E.coli*/Albahaca)** se aprecia un halo de inhibición de 11 mm, para la muestra depositada en el pozo1, que corresponde a la disolución de los iones Ag<sup>+</sup>, y un halo de 10 mm, en el pozo 2 correspondiente a la solución de H(AuCl<sub>4</sub>). El en el pozo 4, en donde fue aplicado el extracto de *Ocimum basilicum* (Albahaca) no se observa ningún efecto.

En el pozo 6, fue aplicada la solución coloidal de las nanopartículas de plata AgNPs preparadas con el extracto, se aprecia un halo de inhibición de 15 mm, así como en el pozo 8, correspondiente a la aplicación de la solución de nanopartículas de oro AuNPs se observa un halo de inhibición de 10 mm. Para el caso de la solución de la sal de cobre, pozo 10, así como para las nanopartículas de cobre CuONPs preparadas con el mismo extracto pozo 11 no se observó ningún halo de inhibición.

En la tabla 4.17 se resumen las observaciones realizadas de la placa 4E (*E.coli*/albahaca).

Tabla 4.17. Datos compilados de las observaciones realizadas de la placa **4E (*E-Coli*/Albahaca)**.

Placa 4E ( <i>E.coli</i> /albahaca)			
Número de pozo	Halo de inhibición- Diámetro (mm)	Disolución	extracto
1	11	Solución de AgNO <sub>3</sub>	-
2	10	Solución de H(AuCl <sub>4</sub> )	-
4	0	Solución de <i>Ocimum basilicum</i> (Albahaca)	<i>Ocimum basilicum</i> (Albahaca)
6	15	Nanopartículas de plata AgNPs	<i>Ocimum basilicum</i> (Albahaca)

8	10	Nanopartículas de oro AuNPs	<i>Ocimum basilicum</i> (Albahaca)
10	0	Nanopartículas de cobre CuONPs	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)
11	0	Solución de CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	-

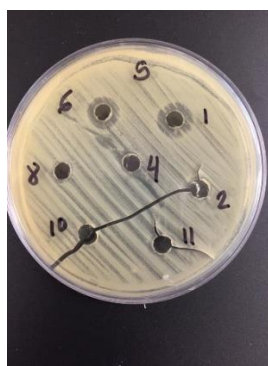
#### 4.5.2 Resultados de las pruebas como antibactericidas frente a *Staphylococcus aureus* (bacteria grampositiva).

Se probó la actividad antimicrobiana de las soluciones coloidales de las nanopartículas de AgNPs, AuNPs y CuONPs obtenidas frente a *Staphylococcus aureus* (bacteria grampositiva) por el método de difusión en pozos en agar Mueller-Hinton.

La figura 4.31 muestra las imágenes de los resultados obtenidos con las disoluciones de las *Muestras 1*, pruebas realizadas con las nanopartículas preparadas con el extracto de *Thymus vulgaris*, placa 1S(*Staphylococcus*/Tomillo) y el extracto de *Laurus nobilis*, placa 2S (*Staphylococcus* /Laurel).



Placa 1S (*Staphylococcus*/Tomillo)



Placa 2S (*Staphylococcus*/Laurel)

Figura 4.31 Imágenes de los resultados de las disoluciones del grupo de *Muestras 1* frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* (bacteria grampositiva). (Placa 1S(*Staphylococcus* /Tomillo) y (Placa 2S (*Staphylococcus* /Laurel)

En la placa **1S**(*Staphylococcus*/Tomillo), en el pozo 1 correspondiente a la aplicación de la solución de nitrato de plata se aprecia un halo de inhibición de 11 mm, así como para el caso del pozo 5 que corresponde a la aplicación de las nanopartículas de plata AgNPs preparadas con el extracto de *Staphylococcus*/Tomillo, se aprecia un halo de inhibición de 12 mm evidencia que revela su actividad como bactericida frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* (bacteria grampositiva). En el pozo 2 y 7, en donde fueron aplicadas la disolución de la sal de



oro HAuCl<sub>4</sub> y la solución de las nanopartículas de oro preparadas con el mismo extracto, no se aprecia ningún halo de inhibición, y para el caso del pozo 9 y 11 correspondiente a las nanopartículas de cobre y a la solución de la sal de cobre respectivamente, tampoco se aprecia ningún halo de inhibición.

En la tabla 4.18 se resumen los datos las observaciones realizadas de la placa 1S(*Staphylococcus/Tomillo*).

Tabla 4.18. Datos copilados de las observaciones realizadas de la placa **1S(*Staphylococcus/Tomillo*)**.

Placa 1S ( <i>Staphylococcus/Tomillo</i> )			
Número de pozo	Halo de inhibición- Diámetro (mm)	Disolución	Extracto empleado
1	11	Solución de AgNO <sub>3</sub>	-
2	0	Solución de H(AuCl <sub>4</sub> )	-
3	0	Solución de <i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)
5	12	Nanopartículas de plata AgNPs	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)
7	0	Nanopartículas de oro AuNPs	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)
9	0	Nanopartículas de cobre CuONPs	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)
11	0	Solución de CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	

De la placa **2S (*Staphylococcus/Laurel*)** se observa en el pozo 1 correspondiente a la aplicación del nitrato de plata un halo de inhibición de 11 mm, así como en el pozo 12 en el que fue aplicada la solución de nanopartículas de plata AgNPs obtenidas con el extracto de *Staphylococcus/Laurel*, se aprecia un halo de 12 mm, evidencia que revela su actividad como bactericida frente a la bacteria *Staphylococcus aureus*. En el pozo 2 y 8, en donde fueron aplicadas la disolución de la sal de oro HAuCl<sub>4</sub> y la solución de las nanopartículas de oro preparadas con el mismo extracto no se aprecia ningún halo de inhibición, y para el caso del pozo 10 y 11 correspondiente a las nanopartículas de cobre y a la solución de la sal de cobre respectivamente, no hay evidencia de la presencia de halo de inhibición.

En la tabla 4.19 se resumen los datos las observaciones realizadas de la placa 2S(*Staphylococcus/Laurel*).

Tabla 4.19. datos compilados de las observaciones realizadas de la placa 2S(*Staphylococcus/Laurel*)

Placa 2S ( <i>Staphylococcus/Laurel</i> )			
Número de pozo	Halo de inhibición- Diámetro (mm)	Solución	Extracto empleado
1	11	Solución de AgNO <sub>3</sub>	
2	0	Solución de H(AuCl <sub>4</sub> )	
4	0	Solución de <i>Laurus nobilis</i> (Laurel)	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)
6	12	Nanopartículas de plata AgNPs	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)
8	0	Nanopartículas de oro AuNPs	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)
10	0	Nanopartículas de cobre CuONPs	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)
11	0	Solución de CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	

La figura 4.32 muestra las imágenes de los resultados obtenidos con las disoluciones de las *Muestras 2*, pruebas realizadas con las nanopartículas preparadas con el extracto de *Thymus vulgaris* (Placa 1S (*Staphylococcus* /Tomillo), y el extracto de *Laurus nobilis*(Placa 2S (*Staphylococcus* /Laurel).



Placa 3S (*Staphylococcus/Diente de León*)



Placa 4S(*Staphylococcus/Albahaca*)

Figura 4.32 Imágenes de los resultados de la aplicación de las soluciones del grupo de las *Muestras 2* frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* (bacteria grampositiva). Placa 3S (*Staphylococcus/Diente de León*) y Placa 4S(*Staphylococcus/Albahaca*).

En la placa 3S (*Staphylococcus/Diente de León*), en el pozo 1 correspondiente a la aplicación de la solución de nitrato de plata se aprecia un halo de inhibición de 10 mm, así como para el caso del pozo 5 que corresponde a la aplicación de las nanopartículas de plata AgNPs preparadas con el extracto de *Staphylococcus/Diente de León*, se aprecia un halo de

inhibición de 13 mm evidencia que revela su actividad como bactericida frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* (bacteria grampositiva). En el pozo 2 y 7, en donde fueron aplicadas la disolución de la sal de oro  $\text{HAuCl}_4$  y la solución de las nanopartículas de oro preparadas con el mismo extracto no se aprecia ningún halo de inhibición, y para el caso del pozo 9 y 11 correspondiente a las nanopartículas de cobre y a la solución de la sal de cobre respectivamente, no se aprecia ningún halo de inhibición.

En la tabla 4.20 se resumen los datos las observaciones realizadas de la placa 3S(*Staphylococcus/Diente de León*)

Tabla 4.20. datos copilados de las observaciones realizadas de la placa **3S (*Staphylococcus/Diente de León*)**

Placa 3S ( <i>Staphylococcus/Diente de León</i> )			
Número de pozo	Halo de inhibición- Diámetro (mm)	Solución	Extracto empleado
1	10	Solución de $\text{AgNO}_3$	-
2	0	Solución de $\text{H}(\text{AuCl}_4)$	-
3	0	Solución de Taraxacun officianale (Diente de León)	Taraxacun officianale (Diente de León)
5	13	Nanopartículas de plata AgNPs	Taraxacun officianale (Diente de León)
7	0	Nanopartículas de oro AuNPs	Taraxacun officianale(Diente de León)
9	0	Nanopartículas de cobre CuONPs	Taraxacun officianale (Diente de León)
11	0	Solución de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	

De la placa 4S (*Staphylococcus/Albahca*), se observa en el pozo 1 correspondiente a la aplicación del nitrato de plata un halo de inhibición de 8 mm, así como en el pozo 6 en el que fue aplicada la solución de nanopartículas de plata AgNPs obtenidas con el extracto de *Staphylococcus/Laurel*, se aprecia un halo de 12 mm, evidencia que revela su actividad como bactericida frente a la bacteria *Staphylococcus aureus*. En el pozo 2 y 8, en donde fueron aplicadas la disolución de la sal de oro  $\text{HAuCl}_4$  y la solución de las nanopartículas de oro preparadas con el mismo extracto no se aprecia ningún halo de inhibición, y para el caso del pozo 10 y 11 correspondiente a las nanopartículas de cobre y a la solución de la sal de cobre respectivamente, no hay evidencia de la presencia de halo de inhibición.

En la tabla 4.21 se resumen los datos las observaciones realizadas de la placa 4S(*Staphylococcus/Albahaca*).

Tabla 4.21. datos copilados de las observaciones realizadas de la placa **4S** (*Staphylococcus/Albahaca*)

Placa 4S( <i>Staphylococcus/albahaca</i> )			
Número de pozo	Halo de inhibición- Diámetro (mm)	Solución	Extracto empleado
1	8	Solución de AgNO <sub>3</sub>	-
2	0	Solución de H(AuCl <sub>4</sub> )	-
4	0	Solución de <i>Ocimum basilicum</i> (Albahaca)	Ocimum basilicum (Albahaca)
6	12	Nanopartículas de plata AgNPs	Ocimum basilicum (Albahaca)
8	0	Nanopartículas de oro AuNPs	Ocimum basilicum (Albahaca)
10	0	Nanopartículas de cobre CuONPs	Ocimum basilicum (albahaca)
11	0	Solución de CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	-

De los resultados obtenidos se puede concluir que, para las dos bacterias empleadas en este trabajo, no se observó actividad antibacterial para los extractos puros, muy probablemente debido a que se utilizaron en forma de soluciones de baja concentración.

Para el caso de las soluciones de las sales metálicas AgNO<sub>3</sub>, HAuCl<sub>2</sub> y CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, empleadas como precursoras de las nanopartículas de AgNPs, AuNPs y CuONPs, se observa actividad bactericida para las soluciones de plata y oro, para el caso de la solución de cobre no se observa.

Las nanopartículas de plata AgNPs preparadas con los cuatro extractos vegetales, muestran evidencia de actividad bactericida frente a la bacteria *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa), esto no se observa para las nanopartículas de oro que únicamente se observa actividad bactericida para las nanoartículas de oro preparadas con el extracto de Laurel y albahaca frente a la bacteria de *E-coli* y no muestra ninguna actividad frente a la bacteria de *Stafilococcus*.

Para el caso de las nanopartículas de CuONPs, preparadas con los 4 extractos vegetales no se observa evidencia de la presencia de halos de inhibición.

Estas observaciones dependen de forma importante de la concentración de las disoluciones por lo que se sugiere realizar más pruebas a diferentes concentraciones de las nanopartículas sintetizadas.

Los resultados obtenidos de estas pruebas de las nanopartículas de plata, oro y cobre frente a las bacterias *E-coli* y *Staphylococcus*, como se mencionó anteriormente son resultado de un solo intento, ya no fue posible reproducir las pruebas a diferentes concentraciones debido al paro estudiantil y posteriormente la presencia de la pandemia por el Covic-19. Se espera en un futuro cuando regresemos a la normalidad y nos permitan ingresar a los laboratorios continuar con las pruebas como bactericidas.

En las tablas 4.22 y 4.23, se resumen las observaciones realizadas de la actividad antibacterial de las nanopartículas de plata AgNPs, oro AuNPs y cobre CuONPs frente a las bacterias *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa) y *Staphylococcus aureus* (bacteria grampositiva).

Tabla 4.22. Resultados obtenidos de las pruebas como bactericidas de las AgNPs, AuNPs y CuONPs frente a la bacteria *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa).

Soluciones de nanopartículas	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)	<i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León)	<i>Ocimum basilicum</i> (Albahaca)
AgNPs	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
AuNPs	-	Positivo	Positivo	Positivo
CuONPs	-	-	-	-

Tabla 4.23. Resultados obtenidos de las pruebas como bactericidas de las AgNPs, AuNPs y CuONPs frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* (bacteria grampositiva).

Soluciones de nanopartículas	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)	<i>Laurus nobilis</i> (Laurel)	<i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León)	<i>Ocimum basilicum</i> (Albahaca)
AgNPs	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
AuNPs	-	-	-	-
CuONPs	-	-	-	-

## CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES

La síntesis de las nanopartículas de plata AgNPs, Oro AuNPs y Cu<sub>2</sub>ONPs, se logró en un solo paso a temperatura ambiente, usando los extractos vegetales de hojas de plantas biodegradables: *Laurus nobilis* (Laurel), *Ocimum basilicum* (Albahaca), *Taraxacum officinale* (Diente de León) y *Thymus vulgaris* (Tomillo), sin ningún reductor especial ni agentes encapsulantes.

En esta reacción de reducción también intervino el pH de las soluciones favoreciendo la reducción junto con el extracto, dieron como resultado soluciones de diferentes colores característicos de las nanopartículas, como señal positiva de que la reacción de reducción se llevó a cabo generando las nanopartículas de los metales de Ag, Au y Cu.

Con respecto a la síntesis de CuNPs que se esperaba preparar, no fue posible debido a que el cobre reacciona rápidamente con el oxígeno de la atmósfera y en su lugar se obtuvieron nanopartículas de Cu<sub>2</sub>ONPs, estas nanopartículas se obtuvieron en forma sólida y presentan un color ocre.

Estudios de UV-VIS, técnica basada en la presencia del plasmón de resonancia muestran que los extractos de plantas favorecen la formación nanopartículas. La posición de la banda en el espectro corrobora su formación, bandas en el rango de 350-450 nm, se aprecian para el caso de las nanopartículas de plata AgNPs, para las de oro AuNPs alrededor de 500 nm y para las de cobre Cu<sub>2</sub>ONPs 350 nm. Por la forma y ancho de las bandas se estima que son de forma esféricas y polidispersas para todos los casos.

El pH es un parámetro muy importante; influye directamente sobre los potenciales de reducción del agente reductor, por cuanto incide en el proceso de nucleación y crecimiento de las nanopartículas, obteniendo así diversos tamaños. Así se aprecia en los gráficos de UV-

VIS que a medida que el pH se incrementa el corrimiento de la banda de plasmón longitudes de onda más bajas poniendo en evidencia tamaños menores de las nanopartículas formadas.

Otro parámetro importante en la preparación de las nanopartículas fue el extracto vegetal utilizado, el cual como se aprecia en los datos obtenidos, influye en su tamaño y en el grado de polidispersidad.

A través del escaneo de las muestras por medio de Microscopía de Fuerza Atómica AFM (*atomic force microscopy*), técnica que proporcionó información acerca de la distribución, tamaño y forma de las nanopartículas de plata preparadas con el extracto de *Taraxacum officinale* (Diente de León) y *Thymus vulgaris* (Tomillo) pH = 8 en ambos casos. Estudio que permitió corroborar la formación de las nanopartículas de plata, revelando las zonas donde se encuentran agregadas las nanopartículas, así como su morfología y sus variados tamaños.

Se determinó la actividad antimicrobiana de las soluciones coloidales de las nanopartículas de AgNPs, AuNPs y Cu<sub>2</sub>ONPs frente a las bacterias de *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa) y *Staphylococcus aureus* (bacteria grampositiva), por el método de difusión en pozos en agar Mueller-Hinton. Las nanopartículas de plata AgNPs preparadas con los cuatro extractos vegetales, muestran evidencia de actividad bactericida frente a la bacteria *Escherichia coli* (bacteria gramnegativa). Para las nanopartículas de oro se observa actividad bactericida para las nanopartículas de oro preparadas con el extracto de *Laurus nobilis* (Laurel), *Ocimum basilicum* (Albahaca) frente a la bacteria de E-Coli y no muestra ninguna actividad frente a la bacteria de Stafilococcus.

Para el caso de las nanopartículas de CuONPs, preparadas con los 4 extractos vegetales no se observa evidencia de la presencia de halos de inhibición.

Estas observaciones dependen de forma importante de la concentración de las disoluciones por lo que se sugiere realizar más pruebas a diferentes concentraciones de las nanopartículas sintetizadas.

Los resultados obtenidos de estas pruebas de las nanopartículas de plata, oro y cobre frente a las bacterias *E-Coli* y *Staphylococcus*, como se mencionó anteriormente son resultado de un

solo intento, ya no fue posible reproducir las pruebas a diferentes concentraciones debido al paro estudiantil y posteriormente la contingencia sanitaria por COVID-19. Se espera en un futuro cuando regresemos a la nueva normalidad y nos permitan ingresar a los laboratorios continuar con las pruebas como bactericidas y AFM.

A futuro es necesario optimizar los parámetros de síntesis para obtener nanopartículas monodispersas y de mejor tamaño.

Cabe resaltar la necesidad de un estudio posterior donde se evalúen de manera más exhaustiva la capacidad antimicrobial de las nanopartículas obtenidas y los efectos de cada uno de los parámetros de reacción, para así poder conocer el efecto de estos en el tamaño, la morfología y su efecto antimicrobiano.

Finalmente, a partir de los resultados obtenidos se puede concluir que es viable sintetizar nanopartículas a partir de este método reduciendo los costos de manufactura y el impacto negativo al medio ambiente debido a que el agente reductor usado es de carácter natural.



## BIBLIOGRAFÍA.

Ardoino, S.M, Boeris, M.A., Toso, R.E. (2013). Caracterización fitoquímica de *Prosopis flexuosa* var. *flexuosa* (algarrobo) y *Prosopis flexuosa* var. *depressa* (alpataco), plantas con acción farmacológica\* Revista Ciencias Veterinarias, Vol. 15, N° 1, 2013 (ISSN 1515-1883).

Almajano M. P., Carbo, J. R. López J. A., Michael H. Gordon. (2008). Food Chem. 108, 55-63.

Arroyo Cuyubamba, J., Guzmán Duxtán A., Cárcamo Cabrera H, Grandez Arias F. (2014). Silver-Copper Core-Shell nanoparticles as additives to functionalize plastics through extrusion process. *Theorema - UNMSM* Volumen 1 - N° 1.

Ayman A., Abdel Hamid, Medhat A. Al-Ghobashy, Manal Fawzy, Mona B. Mohamed, and Mohamed M.S.A. Abdel-Mottaleb. (2013). *Phytosynthesis of Au, Ag, and Au–Ag Bimetallic Nanoparticles Using Aqueous Extract of Sago Pondweed (Potamogeton pectinatus L.)*. ACS Sustainable Chem. Eng. 1, 1520–1529

Arshadi-Rastabi Shahrzad, Javad Moghaddam and Mohammad Reza Eskandarian. Synthesis, characterization and stability of Cu<sub>2</sub>O nanoparticles produced via supersaturation method considering operational parameters effect. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* [online]. 2015, 22, 34–40. ISSN 1226086X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jiec.2014.06.022.

Ahmed J., Trinh P., A. Mugweru M., and Ganguli A. K. Selfassembly of copper nanoparticles (cubes, rods and spherical nanostructures): Significant role of morphology on hydrogen and oxygen evolution efficiencies. (2011). *Solid State Sci.*, vol. 13, no. 5, pp. 855–861.

Barber D. J., Freestone I. C. (1990). *Archaeometry*. 32, 33 – 45.

Burda C., Chen X., Narayanan R., M. A. El-Sayed. (2005). Chemistry and Properties of Nanocrystals of Different Shapes. *Chem. Rev.*, 105, 1025–1102.

Brumbaugh A. D., Katelyn A., Cohen, and Sarah K. St. Angelo. (2014). *Ultrasmall Copper Nanoparticles Synthesized with a Plant Tea Reducing Agent*. ACS Sustainable Chem. Eng. 2, 1933–1939

Cartaya, O., E., Reynaldo Inés. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos tropicales*. 22. No 2. 5-14.

Creighton J. A., Blatchford C. G., Albrecht M. G. (1979). J. Chem. Soc. Farad. Trans. II, 75, 790–798.

Carvajal Guzmán Guillermo. (2012). Valuación de tintas de nano partículas de base cobre para paneles fotovoltaicos. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Físicas y matemáticas. Departamento de ing. Industrial. Tesis de grado.

Cruz D A, Rodríguez M, López J, Herrera V. (2012). Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: una relación profunda. *Avances en Ciencias e Ingeniería*: 3(2), 67-78.

Crespo Gutiérrez J. (2014) Síntesis de nanoestructuras metálicas de oro y plata a partir de precursores organometálicos : Propiedades plasmónicas y catalíticas. Tesis doctoral. Universidad de la Rioja.

Chang, Raymond. “Química” 10<sup>o</sup> Edición, McGraw Hill, México, 2010.

Cruz, D., Falé, P. L., Mourato, A., Vaz, P. D., Serralheiro, M. L., & Lino, A. R. (2010). Preparation and physicochemical characterization of Ag nanoparticles biosynthesized by *Lippia citriodora* (Lemon Verbena). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81(1), 67-73.

Cornejo L. (2015). Resonancia del plasmón de la superficie (RPS). 2015b [Internet]. [Consultado el 30 enero 2019]. Disponible en: <https://nuevastecnologiasymateriales.com/resonancia-del-plasmon-de-la-superficie-rps-propiedades-optoelectronicas/>

Chandra S., Synthesis and characterization of copper nanoparticles by reducing agent. *Journal of Saudi Chemical Society* 18, 149-153, Jun 2014.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319610311001281>

Chen, X., Schluesener, H. (2008). Nanosilver: A nanoproduct in medical application. *Toxicology Letters*, Vol. 176, pp. 1-12.

Corzo Lucioni A. (2012). Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de H [AuCl<sub>4</sub>]. *Rev Soc Quím Perú*, 78 (2).

Cun Wen, Yi Liu, and Franklin (Feng) Tao. (2001). Integration of Surface Science, Nanoscience, and Catálisis. *Pure Appl. Chem.*, Vol. 83, No. 1, pp. 243–252.

Cuenot Stephane, Fretigny Christian, Demoustier-Champagne Sophie and Bernard Nysten. (2004). Surface tension effect on the mechanical properties of nanomaterials measured by atomic force microscopy. *Physical Review b*, Vol. 69, 165410.

Damián Damián S. P., (2016). Evaluación del efecto de polifenoles *Thymus vulgaris* (Tomillo) y *Zingiber Officinale* (jengibre) en la alimentación de gallinas de campo. Escuela superior politécnica de chimborazo facultad de ciencias pecuarias carrera de ingeniería zootécnica. riobamba – ecuador. Tesis de grado.

Daniel, M. C. and Astruc, d. (2004). Gold nanoparticles: Assembly, supramolecular chemistry, quantum-size- related properties, and applications toward biology, catalysis and nanotechnology. *Chem. Rev.* Vol.104, pp.293-346.

Dang Dung Thi My, Thi Tuyet Thu Le, Eric Fribourg-Blanc and Mau Chien Dang. (2011). Synthesis and optical properties of copper nanoparticles prepared by a chemical reduction method. *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* 2, 015009 (6pp).

Duncan, T. (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1-24.

Synthesis and optical properties of copper nanoparticles prepared by a chemical reduction method. Thi My Dung Dang et al 2011 Adv. Nat. Sci: Nanosci. Nanotechnol. **2** 015009

Dang, Thi My Dung, Thi Tuyet Thu LE, Eric FRIBOURG-BLANC and Mau Chien DANG. (2011). Synthesis and optical properties of copper nanoparticles prepared by a chemical reduction method. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*. [online]. 2(1). ISSN 20436262. Dostupné z: doi:10.1088/2043-6262/2/1/015009.

David D. Evanoff Jr. George Chumanov Prof. (2005). Synthesis and Optical Properties of Silver Nanoparticles and Arrays. *ChemPhysChem*, 6, 1221–1231.

España-Sánchez, B. L., Rodríguez-González, J. A., González-Morones, P., Neira-Velázquez, M. G., Franco-Bárceñas, B., Anaya-Velázquez, F., Mendoza-Macías, C. L., Ávila-Orta, C. A. & Padilla-Vaca, F. (2014). Nanocompuestos de polipropileno con nanopartículas de cobre: preparación, activación superficial por plasma y actividad antibacteriana. *Acta Universitaria*, 24(3), 13-24. doi: 10.15174.au.2014.526.

Faraday Michael. (1857). Source: Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Vol. 147, pp. 145- 181 Published by: *Royal Society Stable* URL: <https://www.jstor.org/stable/108616> Accessed: 09-03-2020 19:34 UTC.

Fazal Sajid, Aswathy Jayasree, Sisini Sasidharan, Manzoor Koyakutty, Shantikumar V. Nair, and Deepthy Menon (2014). Green Synthesis of Anisotropic Gold Nanoparticles for Photothermal Therapy of Cancer. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 6, 8080–8089.

García, L., Rojo, D. M., & Sánchez, E. (2001). Plantas con propiedades antioxidantes. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*, 20(3): 231-235.

Garcia, M. (2011). Surface plasmons in metallic nanoparticles: fundamentals and applications. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 44, 1-20.

Gardea-Torresday J. L., Parsons J. G, Gomez E., J., Peralta Videa H. Troiani E., Santiago P. and Yacaman. (2002). Formation and Growth of Au Nanoparticles inside Live Alfalfa Plants. *J. Nano Lett.*, 2, 397.

Gardea-Torresday, J., Gomez., E., Peralta-Videa, J., Parsons, J., Troiani, H., Jose Yacaman, M. (2003). Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. *Langmuir*, Vol. 19, 4, pp. 1357-1361.

Grassian Vicki H. (2008). Nanoscience and Nanotechnology: Environmental and Health Impacts. 2008, Edition:1. pp:470 / 486

Guzman, M, Dille, J., & Gode, S. (2009). Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. *International Journal of Materials and Metallurgical Engineering*, 2(3).

Gu X., Nie C., Lai Y., and Lin C. (2006). Synthesis of silver nanorods and nanowires by tartrate-reduced route in aqueous solutions. *Mater. Chem. Phys.*, vol. 96, no. 2–3, pp. 217–222, Jul.

Han, G., Martín, C.T. & Rotello, V.M. (2006a). Stability of gold nanoparticle-bound DNA toward biological, physical, and chemical agents. *Chem. Biol. Drug Des.*, 67: 78-82.

Han R. M., Zhang, J.P., Skibsted, L. H. (2012). Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids as Antioxidants. *Molecules.*, 17: 2140-2160.

Hai Liu, Ting Lian, Yang Liu, Yingling Hong, Daohua Sun, and Qingbiao Li (2017). Plant-Mediated Synthesis of Au Nanoparticles: Separation and Identification of Active Biomolecule in the Water Extract of *Cacumen Platycladi*. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 56, 5262–5270.

**Huang J.**, Qingbiao Li, Daohua Sun, Yinghua Lu, Yuanbo Su, Xin Yang, Huixuan Wang, Yuanpeng Wang, Wenyao Shao, Ning He, Jinqing Hong and Cuixue. (2007). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf. *Chen Nanotechnology.*, 18, 105104.

Huang J., Guowu Zhan, Bingyun Zheng, Daohua Sun, Fenfen Lu, Yuan Lin, Huimei Chen, Zhouding Zheng, Yanmei Zheng, and Qingbiao Li (2011). Biogenic Silver Nanoparticles by *Cacumen Platycladi* Extract: Synthesis, Formation Mechanism, and Antibacterial Activity. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 50, 9095–9106.

Ignat I., Volf, I., Popa V.I. (2011). A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.*, 126, 1821-1835.

Irwin, N., & He, G. (2010). Antimicrobial activity of spherical silver nanoparticles prepared using biocompatible macromolecular capping agent: evidence for induction of greatly prolonged bacterial lag phase. *Journal of Nanobiotechnology.*, 8(34).

Ibarra Hurtado J. M. (2014). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por el método de reducción química: optimización del método. Tesis de grado. Centro de Investigación en Materiales Avanzados. Departamento de Estudios de Posgrado.

Jagajjanani Rao K. and Santanu Paria. (2015). Mixed Phytochemicals Mediated Synthesis of Multifunctional Ag–Au–Pd Nanoparticles for Glucose Oxidation and Antimicrobial Applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, 7, 14018–14025

Kaviyaa S., Santhanalakshmi J., Viswanathan B., Muthumary J., Srinivasan K. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using citrus *sinensis* peel extract and its antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular.*, Spectroscopy., 79, 594–598.

Khan Ayesha, Audil Rashid, Rafia Younas a Ren Chong. (2016). A chemical reduction approach to the synthesis of copper nanoparticles. *International Nano Letters* [online]., 6(1), 21–26. ISSN 2008-9295. Dostupné z: doi:10.1007/s40089-015-0163-6

Kidwai M., Mishra N. Bansal K., V., Kumar A., Mozumdar S. (2007). Cu-nanoparticle catalyzed O-arylation of phenols with aryl halides via Ullmann coupling. *Tetrahedron Letters.*, vol 48, 8883.

Klasen- Burns H. J. (2000). A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver. *Elsevier Science.*, 26, 131–138.

Khaydarov, R., Gapurova, O., Estrin, Y. (2009). Antimicrobial effects of silver nanoparticles synthesized by an electrochemical method. Nanostructured materials for Advanced Technological Applications, Springer Science., pp. 215-216.

Kim, J., Kuk, E., Yu, K., Kim, J., Park, S., Lee, H., Kim, S., Park, K., Park, J., D.H.Hwang, C., Cho, M. . (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine.*, Vol. 1, pp. 95-101.

Lance Kelly K., Coronado E, Lin Lin Zhao, and George C. Schatz\* (2003). The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment. *J. Phys. Chem. B.*, 107, 668-677.

Lien, N. T. H., Hoa, V. X., Duong, V. T. T., Tinh, N. V., y Nhung, T. H. (2011). Synthesis and optical properties of colloidal gold nanoparticles for biomedical applications. *Communications in Physics.*, 21(1): 63–69.

López Luengo M. T. (2006). Tomillo Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas, Fitoterapia. *Offarm: farmacia y sociedad.*, Vol. 25, Nº. 1, págs. 74-77.

**Meisel.** D. J., Lee P. C. (1982). Adsorption and Surface-Enhanced Raman of Dyes on Silver and Gold Sols. *Phys. Chem.*, **86**, 3391– 3395.

Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. Real Sociedad Española de Química. *An. Quím.*, 105(1), pp. 33–41.

Mohd Sayeed Akhtar, Jitendra Panwar, and Yeoung-Sang Yun. (2013). Biogenic Synthesis of Metallic Nanoparticles by Plant Extracts. *American Chemical Society.*, 1, 591–602.

Majles M., Dehghani Z., sahraei R. and Nabiyouni G. (2009). Non-linear optical properties of silver nanoparticles prepared by hydrogen reduction method. *Elsevier optics communications.*, 283: 1650-1653.

**Malegowd** G., J. Jung., D. Kim., K. Varaprasad. (2016). Identification of silver cubic structures during ultrasonication of chitosan AgNO<sub>3</sub> solution. *Carbohydrate Polymers.*, 152, 558- 565, Jul 2016.

Madhumathi, K., Kumar, P., Abhilash, S., Sreeja, V., Tamura, H., Manzoor, K., Nair, S., Jayakumar, R. (2010). Development of novel chitin/ nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. *J Mater Sci Mater Med.*, Vol. 21, pp. 807-813.

Marcos Esteban Raquel, Hajo Meyer, Jiyeon Kim, Christian Gemel, Roland A. Fischer a Christoph Janiak. (2016). Comparative Synthesis of Cu and Cu<sub>2</sub>O Nanoparticles from Different Copper Precursors in an Ionic Liquid or Propylene Carbonate. *European Journal of Inorganic Chemistry [online]*, (13–14), 2106–2113. ISSN 10990682. Dostupné z: doi:10.1002/ejic.201500969.

Morales J., Morán j., Quintana M., Estrada W. (2009). “síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por la ruta sol-gel a partir de nitrato de plata. *Sociedad Química Perú.*, 75, 2, 2009.

Muñoz Mario German Friederici. (2013). Nanopartículas de Au y Pd: síntesis, funcionalización y aplicaciones catalíticas. Tesis de grado. *Barcelona : Universitat de Barcelona.*

Murray W.A. & Barnes W.L. (2007). Plasmonic materials. *Adv. Mater.*, 19, 3771-3782.

Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2008). Coriander leaf mediated biosynthesis of gold nanoparticles. *Materials Letters.*, 62(30), 4588-4590. doi: 10.1016/j. matlet.2008.08.044.

Noginov M., Zhu G., Bahoura M., Adegoke J., Small C., Ritzo B., Drachev V. and Shalaev V. (2007). The effect of gain and absorption on surface plasmons in metal nanoparticles. *Applied physics B. Lasers and optics.*, 86: 455-460.

Osuna, L., Tapia M.E y Aguilar A. (2005). Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales. Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. España. Ed. Universidad de Barcelona. 173p.

Podstawczyk Daria, Agnieszka Pawłowska, Anna Bastrzyk, Monika Czeryba, and Jan Oszmianski (2019). Reactivity of (+)-Catechin with Copper(II) Ions: The Green Synthesis of Size-Controlled Sub-10 nm Copper Nanoparticles. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 7, 17535–17543.

Ponce Varela, M. Guadalupe. (2011) “Síntesis y caracterización de nanopartículas de Ni y NiMo en medio acuoso” Tesis de Posgrado. Altamira, Tamaulipas, México. Centro de Investigación en Tecnología Avanzada, Instituto Politécnico Nacional-Unidad Altamira.

Rajesh K, B. Ajitha, Y. Reddy, Y. Suneetha, P. Sreedhara. (2016). Synthesis of copper nanoparticles and role of pH on particle size control. *Materialstoday.*, 3, 1985-1991.

Rivas Karla, Rivas Carlos y Gamboa Luisa.( 2015). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum* L.). *Multiciencias*, Vol.15, N° 3, (281 - 289). ISSN: 1317-2255 / Deposito Legal: pp 20002FA828 / Dep. legal ppi 201502ZU4642

Ruiz I. (2016). UPV/EHU OCW-2016: Nanotecnología en Alimentos Idoia Ruiz de Larramendi. [https://ocw.ehu.es/pluginfile.php/12717/mod\\_resource/content/6/Practica%2001%20-%20Nanopart%20C3%ADculas%20de%20Au\\_rev.pdf](https://ocw.ehu.es/pluginfile.php/12717/mod_resource/content/6/Practica%2001%20-%20Nanopart%20C3%ADculas%20de%20Au_rev.pdf)

**Raveendran P.**, J. Fu, S. L. Wallen. (2003). Completely “Green” Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 13940–13941.

Rayner-Canham, Geoff. “Química Inorgánica descriptiva” 2º Edición, Pearson Prentice Hall, México, 2000.

Shankar, S. S.; Ahmad, A.; Sastry, M. (200b). Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. *Biotechnol. Prog.*, 2003b, 19 (6), 1627–1631.

Shankar, S. S.; Rai, A.; Ankamwar, B.; Singh, A.; Ahmad, A.; Sastry, M. (2004b). Biological synthesis of triangular gold nanoprisms. *Nat. Mater.* 2004b, 3 (7), 482–488.

Shankar, S. S.; Rai, A.; Ahmad, A.; Sastry, M. (2004a). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *J. Colloid Interface Sci.*, 2004a, 275 (2), 496–502.

Satyavani, K.; Ramanathan, T.; Gurudeekan, S. (2011). Green synthesis of silver nanoparticles using stem dried callus extract of bitter apple (*Citrullus colocynthis*). *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* Vol. 6, No 3, p. 1019 -1024.

Sondi, I., Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science.*, Vol. 275, pp. 177–182. 67.

Shi Yn Lee, Sneha Krishnamurthy, Chul-Woong Cho, and Yeoung-Sang Yun (2016). Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using *Ocimum sanctum* Extracts by Solvents with Different Polarity. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2016, 4, 2651–2659.

**Skergot** Mojka, Kotnik, P., Hadolin, M., Rizner Hras, A., Simonic, M., & Knez, Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavons and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry.*, 89. 191-198.

Turkevich J., Stevenson P. C., Hillier J. (1951). *Disc. Faraday Soc.*, **11**, 55– 75.

T. Klar, M. Perner, S. Grosse, G. von Plessen, W. Spirkl, and J. Feldmann. (1998). “Surface-Plasmon Resonances in Single Metallic Nanoparticles”. *Physical Review Letters*. Vol. 80, No. 19, p.p. 4249-4252.

**Urretabiscaya** Mariana García. (2016) Tesis de grado. Diente de León. Una maleza alternativa con multiples beneficios para la salud. Tesis de grado. Universidad de FASTA. Facultad de Ciencias Médicas.

**Vázquez**-Flores Alma., Alvarez-Parrilla Emilio., López-Díaz José Alberto., Wall-Medrano Abraham y De la Rosa Laura a.: Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia Chihuahua*. Vol. VI, No. 2, 84-93.

**Velikov** K., Zegers P., G. E., van Blaaderen A.(2003). Synthesis and Characterization of Large Colloidal Silver Particles. *Langmuir.*, 19, 1384–1389.

Wen Y., Huang W., Wang B., Fan J., Gao Z and Yin L. (2012). Synthesis of Cu nanoparticles for large-scale preparation. *Mater. Sci. Eng. B Solid-State Mater. Adv. Technol.*, vol. 177, no. 8, pp. 619– 624.

Wang R and Ruan H. (2016) Synthesis of copper nanowires and its application to flexible transparent electrode. *J. Alloys Compd.*, vol. 656, pp. 936–943.

Xia, Y., Xiong, Y., Lim, B., Skrabalak, S. (2009). Shape-controlled synthesis of metal nanocrystals: simple chemistry meets complex physics?. *Angew Chem Int Ed Engl.*, Vol. 48, 1, pp. 60-103. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2791829/>

Xiaohua Huang,b, Mostafa A. El-Sayed. (2010). Gold nanoparticles: Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. *University of Cairo Journal of Advanced Research.*, 1, 13-28.

Yaqiong Q., Xiaohui L., Jing, L. Hong, Hongli W. (2010). Size control over spherical silver nanoparticles by ascorbic acid reduction. *Colloids and Surfaces A.*, 372, 172-176.

Yu S., Sathishkumar Y., Devarayan K., Sun C., Chow G. (2015). Shape- controlled extracellular synthesis of silver nanocubes by *Mucor circinelloides*. *Materials Letters.*, 3-46.

Zhang, Zailei., Hongwei Che., Jiajian Gao., Yingli Wang, Xilin She, Jin Sun, Poernomo Gunawan, Ziyi Zhong and Fabing Su. (2012). Shape-controlled synthesis of Cu<sub>2</sub>O microparticles and their catalytic performances in the Rochow reaction. *Catalysis Science & Technology [online]*. 2012, 2(6), 1207.

Zailei Zhang, Hongwei Che, Jiajian Gao, Yingli Wang, Xilin She, Jin Sun, Poernomo Gunawan, Ziyi Zhong and Fabing Su. (2012). Shape-controlled synthesis of Cu<sub>2</sub>O microparticles and their catalytic performances in the Rochow reaction *Catalysis Science & Technology.*, 2, 1207-1212. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2012/cy/c2cy20070h>



## ANEXO

### **Resultados de la identificación de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos en los extractos vegetales.**

Se presenta en este apartado los resultados obtenidos de las pruebas cualitativas, a las que se les realizó a los extractos vegetales para la identificación de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos.

#### **Ensayo para compuestos fenólicos.**

Para la identificación de compuestos fenólicos se utilizó el Ensayo de  $\text{FeCl}_3$ , la cual se considera positiva cuando la solución muestra coloración rojo, azul, verde, marrón o púrpura ante la presencia de algún compuesto fenólico inmerso en la solución de estudio (Brewster, 1990). En la imagen se observa las soluciones de los extractos después de haberse realizado el Ensayo de  $\text{FeCl}_3$ , se puede ver que para el caso de Albahaca y Diente de León se mostró una coloración marrón que es uno de los colores característicos según la literatura que se considera positivo a la presencia de compuestos fenólicos y para el laurel y el tomillo una coloración púrpura, también característica de la presencia de compuestos fenólicos.

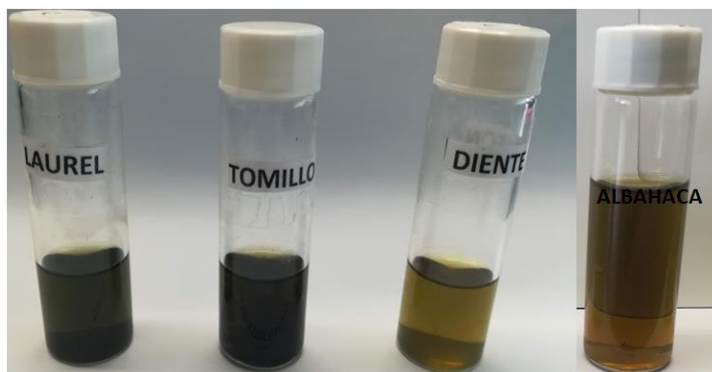


Figura 1. Prueba del Ensayo de  $\text{FeCl}_3$  para la identificación de compuestos fenólicos de izquierda a derecha las soluciones de los extractos de Laurel, Tomillo, Diente de León y Albahaca.

## Ensayo para Flavonoides.

Se utilizó para la identificación de flavonoides el “*Ensayo de Shinoda*” es una prueba cualitativa que permite el reconocimiento de flavonoides que contienen en su estructura un núcleo benzopirona, la cual se considera positiva cuando la solución de estudio presenta coloración rosa, roja, violeta, verde amarillento o naranja. (Martínez, 2014).

En la figura 1 se muestra las soluciones de los extractos vegetales después de haberse realizado el ensayo anteriormente mencionado, se puede observar que, para el caso de la solución del extracto de Laurel, presentó una coloración rojo escarlata la cual según la literatura se considera positiva de la presencia de flavonoides. Para el caso de los extractos de Diente de León, albahaca y tomillo presentaron una coloración verde amarillento indicando la presencia de los flavonoides. Figura 2.

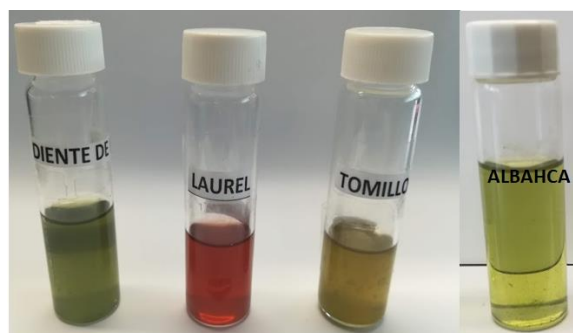


Figura 2. Prueba del Ensayo de Shinoda para la identificación de compuestos flavonoides de izquierda a derecha las soluciones de los extractos de Diente de León, Laurel, Tomillo y Albahaca.

En la reacción, el magnesio metálico es oxidado por el HCl concentrado, dando como productos al H<sub>2</sub>, que es liberado en forma de gas produciendo por reducción el ion flavilio (Badui, 2006), también llamado 2-fenil-benzopirilio (Wong, 1995) que normalmente funciona como catión dando como resultado de la reducción una coloración rojo escarlata, el MgCl<sub>2</sub> forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características.

El color que se muestra depende de varios factores intrínsecos, como son los sustituyentes químicos que contenga y la posición de estos en el grupo flavilio; por ejemplo, si se aumentan los hidroxilos del anillo fenólico se intensifica el color azul, mientras que la introducción de metoxilos provoca la formación del color rojo.

### **Ensayo para taninos.**

En la identificación los taninos presentes en los extractos se utilizó la prueba de “Ensayo de la gelatina-sal”, que se considera positiva para si se forma un precipitado en la solución de estudio. En el caso de los extractos utilizados en este trabajo la prueba fue positiva en todos los casos, mostrando el precipitado, prueba de la presencia de taninos (Brewster, 1990).  
Figura 3.

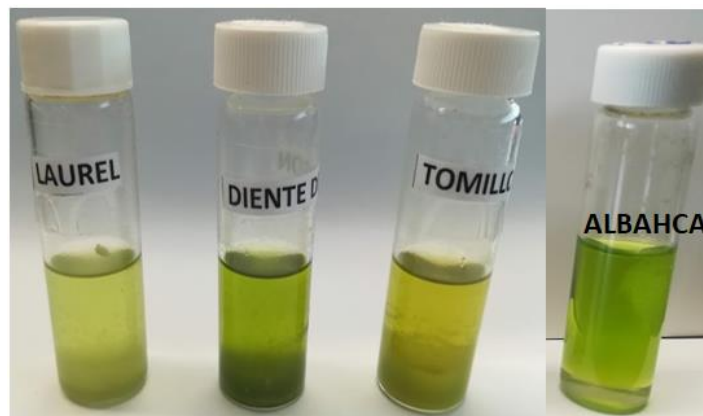


Figura 3. Prueba del Ensayo gelatina-sal para la identificación de taninos de izquierda a derecha las soluciones de los extractos de Laurel, Diente de León, Tomillo y Albahaca.

El precipitado se debe a que los taninos tienen la propiedad de reaccionar con las proteínas formando compuestos insolubles (Orantes, 2008) en este caso en la solución de gelatina-gel las proteínas están presentes en la gredina de la gelatina, reaccionando con los taninos presentes en las soluciones de los extractos vegetales.