



Universidad de Sonora

División de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Física

**Fitosíntesis y Caracterización de
Nanopartículas**

**Núcleo@Coraza Au@Ag empleando extracto
de *Rumex hymenosepalus***

Tesis

Que para obtener el título de

Licenciado en Física

P R E S E N T A

Jesús Mauro Adolfo Villalobos Noriega

Hermosillo, Sonora, México

Enero 2017

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

Agradecimientos a:

-Al Laboratorio de Biofísica del Departamento de Física por las facilidades otorgadas para la utilización del equipo de dispersión de luz BI-200SM, el cual sirvió para la determinación de tamaños de las nanopartículas en suspensión.

-Al programa PRODEP por la beca asociada al Proyecto DSA/103.5/14/10945.

-A la Universidad de Texas en San Antonio (UTSA) y al Dr. José Yacamán por el acceso y uso de los microscopios electrónicos de TEM y STEM.

-Al Laboratorio de Biomateriales por el apoyo en el uso del espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 45.

Índice

Lista de figuras	ii
Lista de tablas	iv
Resumen	1
Introducción	2
Referencias.....	3
Capítulo 1: Antecedentes	6
1.1 Definición de nanotecnología	6
1.2 Nanopartículas Metálicas.....	7
1.3 Rutas de Síntesis	8
1.4 Fitosíntesis de nanopartículas metálicas	11
1.5 Las nanopartículas bimetálicas	15
1.6 Fitosíntesis de nanopartículas bimetálicas Au y Ag	18
1.7 Descripción y propiedades de <i>Rumex hymenosepalus</i>	21
Referencias.....	22
Capítulo 2: Técnicas Experimentales	28
2.1 Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis).....	28
2.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	38
2.3 Dispersión dinámica de luz (DLS).....	46
Referencias.....	52
Capítulo 3: Resultados y discusión	54
3.1 Descripción de resultados de UV-Vis.....	54
3.2 Descripción de resultados de TEM y STEM	57
3.3 Descripción de resultados de DLS	71
Referencias.....	79
Capítulo 4: Conclusiones y perspectivas	80
Referencias.....	81
Apéndices	82
Metodologías de síntesis de nanopartículas metálicas	82
Referencias de fitosíntesis de nanopartículas monometálicas	86

Lista de figuras

Figura	Contenido	Página
1.1.1	Ubicación de la nanoescala	6
1.3.1	Procesos “Top down” y “Bottom up”	9
1.3.2	Rutas biosintéticas y aplicaciones	10
1.4.1	Catequinas del té verde	13
1.4.2	Reducción de iones plata por EGCG	14
1.4.3	Estabilización por EGCG	15
1.5.1	Representación de patrones de mezclado	17
1.6.1	Comportamiento LSPR de sistema bimetálico	19
1.6.2	Cambio de color y distintos recubrimientos	20
1.7.1	Trans-resveratrol glucosado	22
2.1.1	Energías relativas y transiciones orgánicas	29
2.1.2	Esquema LSPR nanopartícula metálica	32
2.1.3	Esquema geometría ley de Beer-Lambert	33
2.1.4	Esquema espectrofotómetro UV-Vis doble haz	35
2.1.5	Geometrías de celdas para UV-Vis	36
2.1.6	Gráfica típica ilustrativa UV-Vis	37
2.2.1	Diagrama TEM típico	38
2.2.2	Diagrama comparativo VLM-TEM	39
2.2.3	Esquema sección transversal	43
2.2.4	Esquema simplificado STEM y HAADF	45
2.2.5	Nanopartícula Au@Ag en STEM campo claro y HAADF	46
2.3.1	Esquema DLS	47
2.3.2	Gráfica típica ilustrativa intensidad de luz dispersada	48
2.3.3	Comportamiento de la correlación de intensidad	49
3.1.1	Aumento de la señal de LSPR	55
3.1.2	Espectros de absorción normalizados	56
3.2.1	TEM JEOL F2010	58
3.2.2	STEM JEOL JEM-ARM200F	59
3.2.3	Imagen TEM de nanopartículas Au	60
3.2.4	Morfologías de nanopartículas Au	60

3.2.5	Distribución de tamaños nanopartículas Au	61
3.2.6	Imagen TEM de nanopartículas Au-Ag	62
3.2.7	Imagen STEM de nanopartículas Au-Ag	63
3.2.8	Distribución de tamaños nanopartículas Au-Ag	64
3.2.9	Imagen TEM de nanopartículas Au@Ag	65
3.2.10	Imagen HRTEM de nanopartícula individual Au@Ag	66
3.2.11	Imagen STEM de nanopartículas Au@Ag	66
3.2.12	Imagen STEM de nanopartículas Au@Ag con ampliación	67
3.2.13	Imagen STEM nanopartícula individual Au@Ag	68
3.2.14	Imagen HRTEM y electrónica coraza de Au@Ag	68
3.2.15	Distribución de tamaños de nanopartículas Au@Ag	70
3.2.16	Distribución de tamaños de las corazas Au@Ag	71
3.3.1	Intensidad dispersada y promedios de 10 repeticiones	73
3.3.2	Correlación promedio normalizada	74
3.3.3	Histogramas pesados por número método NNLS	75
3.3.4	Resultados comportamiento difusivo	78

Lista de tablas

Tabla	Contenido	Página
1.4.1	Nanopartículas monometálicas por fitosíntesis	11
1.6.1	Tamaños de las nanopartículas Au@Ag en referencia	19
2.1.1	Disolventes ° espectroscópico y longitud de onda de corte	30
3.2.1	Distancias interplanares coraza de partícula Au@Ag	69
4.1.1	Integración de resultados de las técnicas	80

Resumen

*En la presente tesis se describe el proceso de síntesis de nanopartículas bimetálicas de oro-plata basado en el uso de un extracto de la raíz de *Rumex hymenosepalus* como agente bioreductor. En particular se plantea la síntesis de nanopartículas bimetálicas tipo núcleo@coraza (Au@Ag) para lo cual se abordan dos variaciones en el método de síntesis. En la primera de ellas los agentes precursores metálicos de oro y plata se agregan simultáneamente en el extracto. En la segunda propuesta primero se sintetizan las nanopartículas de oro durante 1 hora y después de ser eliminado el extracto remanente mediante ciclos de centrifugación-sonicación se incorpora el precursor metálico de plata. Los productos obtenidos por las dos rutas de síntesis son caracterizados por Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM), TEM de Barrido (STEM), Espectroscopía UV-VIS y Dispersión de Luz (DLS). Los resultados de TEM indican que las nanopartículas son principalmente cuasiesféricas con tamaños entre 35-40 nm. Por STEM se concluye que las estructuras núcleo@coraza se obtienen para el método de síntesis secuencial. Mediante UV-VIS se llevó a cabo la confirmación de la existencia de la banda de absorción características de las nanopartículas sintetizadas y mediante dispersión de luz fueron determinados los tamaños de las nanopartículas en suspensión.*

Introducción

Hace 150 años, cuando Michael Faraday preparó las primeras soluciones coloidales de nanopartículas de oro seguramente no dimensionó el gran impacto tecnológico que tendrían dichos materiales. Ahora las nanopartículas de metales nobles son empleadas extensivamente en nuestra vida diaria en productos como medicamentos, convertidores catalíticos, pastas dentales, cosméticos y alimentos por lo que resulta fundamental emplear rutas de síntesis que generen productos de baja citotoxicidad. En este esquema, en los últimos años ha surgido un corriente dentro de la síntesis de nanomateriales basada en el empleo de compuestos biocompatibles para generar productos nanométricos a lo que se la ha llamado “síntesis verde” de nanopartículas. La bibliografía relacionada con la fabricación de estos materiales metálicos empleando compuestos extraídos de plantas es abundante y generalmente se enfoca en la producción de nanopartículas monometálicas de oro, plata, paladio o platino [1, 5] mientras que pocas se orientan a la producción de partículas bimetalicas [6, 9]. Las nanopartículas bimetalicas son de especial relevancia para el sector catalítico pues presentan respuestas catalíticas más elevadas que sus contrapartes monometálicas debido a efectos sinérgicos entre los dos metales [11], además presentan una alta selectividad en las reacciones. Por ejemplo las nanopartículas bimetalicas Au-Pd permiten obtener de forma selectiva productos en varias reacciones de oxidación de alcoholes [12]. Las nanopartículas bimetalicas de Au y Ag presentan interesantes propiedades ópticas (bandas duales de absorción y absorción extendida al IR que permite la terapia de hipertermia) que dependen de la estructura geométrica y la presentación del material bimetalico ya sea como aleación o como estructura núcleo@coraza (core@shell) y que pueden ser entonables modificando la razón molar Au/Ag en la aleación, el espesor de la coraza y/o en tamaño del núcleo en las core@shell [13]. Además, algunos resultados muestran que la efectividad de las nanopartículas Au-Ag en forma de aleaciones obtenidas por fitosíntesis se manifiesta en una respuesta microbicida mayor que las monometálicas sintetizadas con el mismo extracto [14].

En el presente trabajo se propone sintetizar nanopartículas bimetalicas de oro y plata por dos rutas de síntesis diferentes: la síntesis simultánea y la síntesis paso a paso (o secuencial). La síntesis se lleva a cabo en el esquema de la química sustentable por lo que empleamos como agente reductor extractos de raíz de la planta *Rumex hymenosepalus* (o cañagria) la cual contiene una gran cantidad de antioxidantes naturales. Resultados previos obtenidos con

extractos de dicha planta muestran la viabilidad de utilizar los extractos como solución reductora en la cristalización de nanopartículas metálicas [15]. La idea de proponer este sistema bimetalico se basa en el hecho de la biocompatibilidad que presentan tanto el oro como la plata, así como el potencial uso que puedan darse a estos productos como antibióticos y/o en el tratamiento contra células cancerosas. Cabe señalar que no existen trabajos previos de biosíntesis de nanopartículas bimetalicas empleando extractos de *Rumex hymenosepalus*.

El trabajo se divide en 4 capítulos. El primero es **Antecedentes**, el cual brinda el contexto necesario y a la vez sirve de apoyo a la justificación. Se inicia con la definición de nanociencia y nanotecnología hasta llegar al tema central de este trabajo: la fitosíntesis de nanopartículas bimetalicas utilizando el extracto de *Rumex hymenosepalus*.

El segundo capítulo lleva el nombre de **Técnicas Experimentales**, en el cual se describen los fundamentos fenomenológicos de las diferentes técnicas utilizadas en la caracterización de las nanopartículas: espectroscopía ultravioleta visible, microscopía electrónica de transmisión y sus derivados de alta resolución y de barrido, así como la dispersión dinámica de luz.

El tercer capítulo es **Resultados**, en donde se presentan y discuten los resultados obtenidos con las técnicas mencionadas en el capítulo anterior.

Finalmente, en las **Conclusiones y Perspectivas**, se resumen los resultados obtenidos que permiten destacar las conclusiones más importantes, además se comentan algunas perspectivas del presente trabajo.

Referencias

- [1] CH. Ramamurthy, M. Padma, I. Daisy mariya samadanam, R. Mareeswaran, A. Suyavaran, M. Suresh Kumar, K. Premkumar, C. Thirunavukkarasu (2013) “The extra cellular synthesis of gold and silver nanoparticles and their free radical scavenging and antibacterial properties” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* Vol. 102, 808– 815.
- [2] Jun Sung Kim, Eunye Kuk, Kyeong Nam Yu, Jong-Ho Kim, Sung Jin Park (2007) “Antimicrobial effects of silver nanoparticles” *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* Vol. 3, 95– 101.
- [3] Siddhartha Shrivastava Tanmay Bera, Arnab Roy, Gajendra Singh, P Ramachandrarao and Debabrata Dash (2007) “Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles” *Nanotechnology* Vol. 18, 1-9.

- [4] Siddhartha Shrivastava Tanmay Bera, Arnab Roy, Gajendra Singh, P Ramachandrarao and Debabrata Dash (2007) “Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles” *Nanotechnology* Vol. 18, 1-9.
- [5] Virender K. Sharma, Ria A. Yngard, Yekaterina Lin (2009) “Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities” *Advances in Colloid and Interface Science* Vol. 145, 83–96.
- [6] Mahendra Rai, Alka Yadav, Aniket Gade (2009) “Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials” *Biotechnology Advances* Vol. 27, 76–83.
- [7] Mondala S, Roya N, Laskara RA, Ska I, Basub S, Mandalb D, Begum A (2011) “Biogenic synthesis of Ag, Au and bimetallic Au/Ag alloy nanoparticles using aqueous extract of mahogany (*Swietenia mahogani* JACQ) leaves” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* Vol. 82, 497–504.
- [8] Shen Y DS, Mathew J, Philip D (2011) “Phytosynthesis of Au, Ag and Au–Ag bimetallic nanoparticles using aqueous extract and dried leaf of *Anacardium occidentale*” *Spectrochimica Acta Part A* Vol. 79, 254–262.
- [9] Shankar S S, Rai A, Ahmad A, and Sastry M (2004) “Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth” *Journal of Colloid and Interface Science* Vol.275, 496–502.
- [10] Zhan G, Huang J, Du M, Abdul-Rauf I, Ma Y, Li Q (2011) “Green synthesis of Au-Pd bimetallic nanoparticles: Single-step bioreduction method with plant extract” *Material Letters* Vol. 65, 2989-2991.
- [11] Nitani, H., Nakagawa, T., Daimon, H., Kurobe, Y., Ono, T., Honda, Y., ... & Yamamoto, T. A. (2007). Methanol oxidation catalysis and substructure of PtRu bimetallic nanoparticles. *Applied Catalysis A: General*, 326(2), 194-201.
- [12] Madhumitha, G., & Roopan, S. M. (2013). Devastated crops: multifunctional efficacy for the production of nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, 2013, 3.
- [13] Nasrabadi, H. T., Abbasi, E., Davaran, S., Kouhi, M., & Akbarzadeh, A. (2016). Bimetallic nanoparticles: Preparation, properties, and biomedical applications. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(1), 376-380.
- [14] Yallappa, S., Manjanna, J., & Dhananjaya, B. L. (2015). Phytosynthesis of stable Au, Ag and Au–Ag alloy nanoparticles using *J. Sambac* leaves extract, and their enhanced antimicrobial activity in presence of organic antimicrobials. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 137, 236-243.

- [15] Rodríguez-León, E., Iñiguez-Palomares, R., Navarro, R. E., Herrera-Urbina, R., Tánori, J., Iñiguez-Palomares, C., & Maldonado, A. (2013). Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts). *Nanoscale research letters*, 8(1), 1.

Capítulo 1

Antecedentes

En este capítulo se introduce la noción de nanotecnología. Además, para el caso de las nanopartículas metálicas, menciona las posibles rutas de síntesis de éstas para enfatizar el caso particular de la fitosíntesis de éstas y de nanopartículas bimetálicas de Au y Ag. Finalmente, se establece la descripción y propiedades de la planta *Rumex Hymenosepalus*, dado su papel relevante como agente reductor en el presente trabajo.

1.1 Definición de nanotecnología

La nanociencia es un área de la ciencia que desde estos últimos años ha entrado en un auge de desarrollo. Esta rama de la ciencia se dedica al estudio de las propiedades de sistemas que tienen por lo menos una de sus dimensiones menor a 100 nm (1 nm equivale a 1×10^{-9} m, es decir, la mil millonésima parte de un metro). Muy cerca de la nanociencia se encuentra la nanotecnología, la cual se dedica al diseño, la producción y la aplicación de sistemas y dispositivos por medio del control de su forma y tamaño nanométricos.

Para tener una mejor ubicación a cerca de la nanoescala, cabe mencionar algunos objetos y materiales cuyas dimensiones caen dentro de ella. Éstos se muestran en la figura 1.1.1

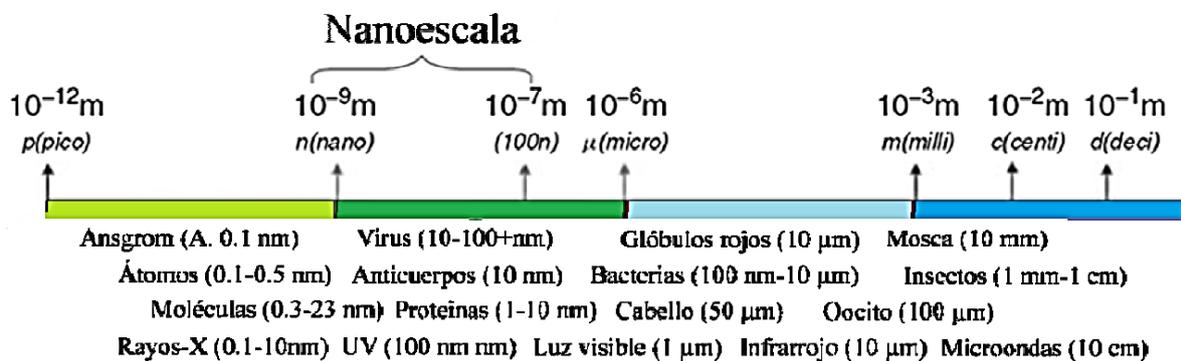


Figura 1.1.1 Nanoescala y su ubicación junto a otras escalas por medio de materiales pertenecientes a éstas.

1.2 Nanopartículas metálicas

Las nanopartículas metálicas pueden ser incorporadas en matrices sólidas a temperaturas relativamente bajas (como en el caso de polímeros) para crear recubrimientos con aplicaciones electrónicas en capacitores o para formar celdas fotovoltaicas orgánicas [1]. En particular, las nanopartículas de plata han mostrado una gran efectividad como agentes microbicidas y a diferencia de las soluciones de nitrato de plata, su baja citotoxicidad les permite ser empleadas para combatir infecciones producidas por bacterias, levaduras u hongos e incluso, en combinación con antibióticos permiten recuperar la efectividad de tratamientos hacia microorganismos que presentan resistencias a ciertos antibióticos [2]. Dado que las nanopartículas pueden viajar a través de vasos capilares, se ha buscado la funcionalización de ciertos tipos de nanopartículas (principalmente de oro y Fe_2O) recubriéndoles superficialmente con moléculas que sirvan como receptores específicos para ser direccionadas hacia un destino puntual como algún tumor canceroso, permitiendo con ello aumentar la efectividad del tratamiento y reducir la bioacumulación de nanomaterial. Además, si el nanomaterial empleado tiene respuesta a campos magnéticos y/o absorbe en la región infrarroja (IR) del espectro electromagnético puede emplearse como sensor para ubicar la distribución de las nanopartículas en el tejido mediante técnicas como Resonancia Magnética Nuclear (RMN), Tomografía Axial Computarizada (TAC) o Termografía y a la vez recibir el tratamiento correspondiente mediante terapias de hipertermia para la destrucción exclusiva del tejido marcado con las nanopartículas. Esta doble función que cumplen algunas nanopartículas, de diagnóstico y tratamiento, ha dado lugar a la línea de investigación conocida como Teragnosis (Terapia + Diagnóstico) [3].

Particularmente atractivo ha resultado la actividad catalítica que presentan algunas nanopartículas de metales nobles (Pd, Pt, Au). El impacto que la actividad catalítica industrial tiene en nuestra vida diaria es muy elevado, pues se estima que el 90% de todos los productos químicos producidos comercialmente involucran catalizadores en alguna etapa del proceso de su fabricación [4]. Ahora muchos de los catalizadores heterogéneos usados en la industria consisten en nanopartículas con tamaños entre 1-10 nm soportadas en una matriz porosa que suele tener tamaños de poros también nanométricos como en caso de las zeolitas. En la catálisis heterogénea las moléculas provenientes de los reactivos en fase líquida o gaseosa, se adsorben en la superficie sólida y catalíticamente activa de la nanopartícula. Los enlaces químicos son rotos en la superficie del nanomaterial generándose nuevos productos que son regresados a la fase de donde provenían los reactantes originales [5]. En este sentido se puede visualizar la

gran ventaja de las nanopartículas pues a menor tamaño de partículas se incrementa el área superficial total con lo que se tienen más sitios activos (átomos superficiales de nanopartículas) donde llevar a cabo la reacción catalítica incrementando la eficiencia del catalizador.

1.3 Rutas de síntesis

Podemos establecer en general dos grandes rutas en lo que respecta a la síntesis de nanopartículas metálicas. La primera de ellas implica la devastación física y/o química de un material inicialmente de tamaño macro o micrométrico hasta llevarlo a tamaños nanométricos. A esta alternativa se le conoce como “Top-Down” (traducido como “de arriba hacia abajo”) y algunos métodos dentro de esta categoría son la de molienda por molinos (mecánicos o de bolas), la pirólisis, ablación laser, ataque químico entre otros. Quizás el inconveniente más grande que presente esta ruta de síntesis consiste en la gran cantidad de imperfecciones generadas en la superficie de los productos nanométricos obtenidos lo cual repercute en sus propiedades físicas y principalmente en la respuesta reactiva catalítica de las nanopartículas, además los procesos son demandantes desde el punto de vista energético pues implican altas temperaturas, láseres de altas potencias o procesos prolongados de molienda, además del uso de reactivos adversos al medio ambiente como los ácidos y bases fuertes entre otros.

Por su parte, la ruta de síntesis llamada “bottom-up” (traducido como “de abajo hacia arriba”) consiste en la construcción de una estructura (nanopartícula) por el autoensamblamiento átomo por átomo, molécula por molécula o “clúster” por “clúster”, lo cual da lugar a nanopartículas con menos defectos y con mayor homogeneidad en su composición química y tamaños [1]. Dentro de la propuesta “bottom-up” los nanomateriales pueden ser sintetizados siguiendo métodos químicos o bien, mediante métodos basados en el uso de agentes bio-reductores (polifenoles, proteínas, DNA, polisacáridos como almidón o quitosano) extraídos de plantas o microorganismos, aunque también existe la posibilidad de usar directamente al agente biológico (planta, bacteria, hongo, alga) para llevar a cabo la síntesis de nanopartículas de forma intracelular. En la figura 1.3.1 se presenta un esquema de las distintas rutas de síntesis de nanopartículas basadas en métodos “top-down” y “bottom-up”.

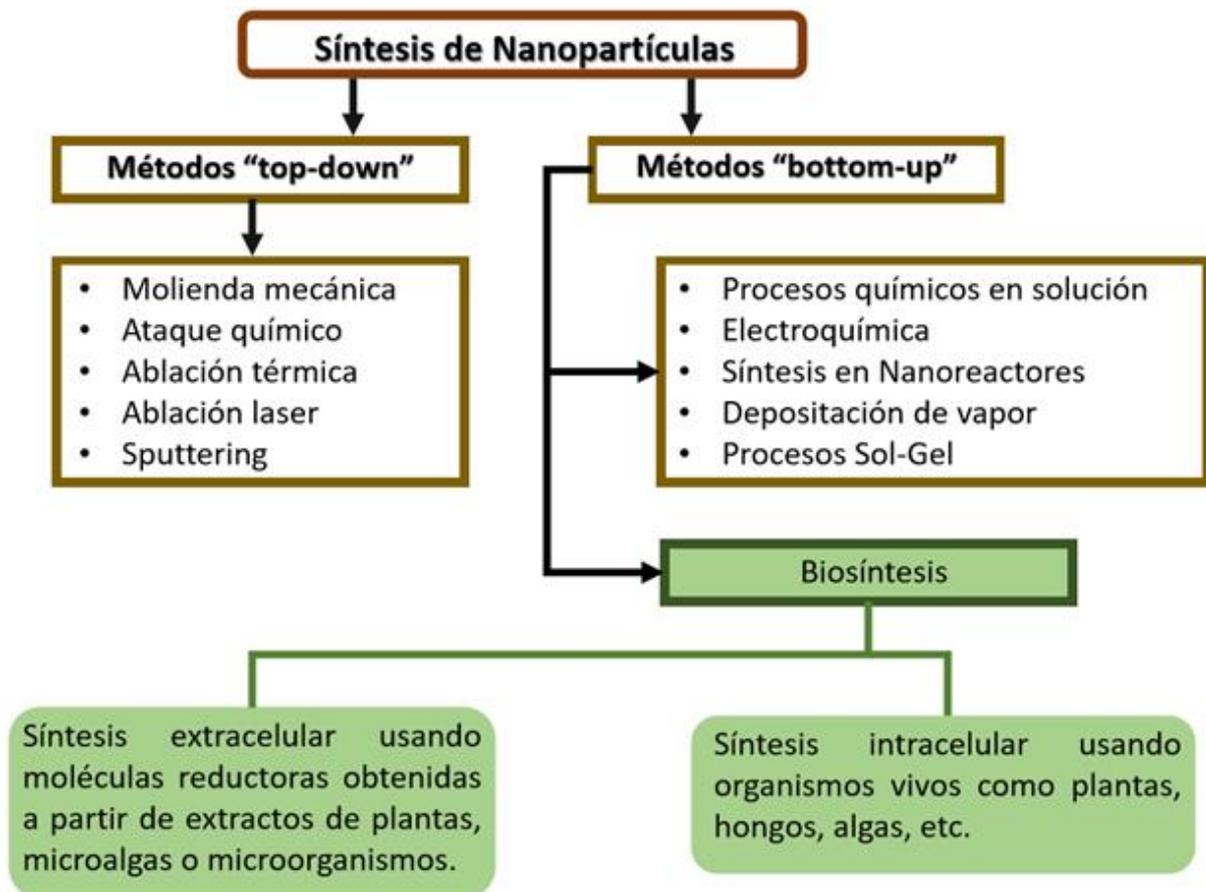


Figura 1.3.1 *Distintas propuestas de síntesis basadas en los procesos "top-down" o "bottom-up"* [6].

En este escenario las rutas basadas en métodos químicos ofrecen la posibilidad de controlar puntualmente los tamaños y morfologías de las nanopartículas generadas, sin embargo, en muchas ocasiones se emplean agentes químicos citotóxicos ya sea como agentes reductores en la síntesis (Borohidruro de Sodio, hidracina,) o como agentes estabilizantes (surfactantes o polímeros) de los productos obtenidos. Si lo que se desea es la aplicación biológica de los nanomateriales se procuran propuestas de síntesis que emplean agentes biocompatibles o de baja citotoxicidad como las ofrecidas por las rutas de biosíntesis. Si bien es cierto que la síntesis de nanopartículas metálicas basadas en el uso de compuestos reductores de origen biológico no ofrece el mismo grado de control de la geometría y dispersión de tamaños de los productos como puede conseguirse por la síntesis química, por el contrario, genera nanomateriales que en su mayoría de veces son estabilizados por moléculas orgánicas biocompatibles que los hacen idóneos para aplicaciones biomédicas. De entre todas las propuestas contempladas en la biosíntesis sobresale el uso de los extractos de plantas debido a que no requiere de mantenimiento de cultivos celulares como en los casos de microorganismos o microalgas y los

procesos de extracción son relativamente fáciles como el método Soxhlet o no implican consumo energético alguno como en la maceración. Lo anterior permite además que los procesos de extracción de los agentes bio-reductores y por lo tanto la síntesis de nanopartículas puedan ser llevados a grandes volúmenes con el mínimo impacto al medio ambiente. En la figura 1.3.2 se muestra un esquema donde se representan algunas opciones contempladas en la biosíntesis de nanopartículas metálicas y las aplicaciones de estos productos. Sobre esta figura se debe puntualizar que, aunque las moléculas de ADN (ácido desoxirribonucleico) no fungen como agentes reductores en la biosíntesis de nanopartículas, se ha empleado para modificar la morfología de nanopartículas de oro para obtener prismas hexagonales y nanoestrellas. Se ha detectado que las moléculas de ADN participan como moduladores del crecimiento de la semilla del cristal al influenciar la difusión de los iones de oro y/o clúster hacia la superficie de la semilla del cristal [7].

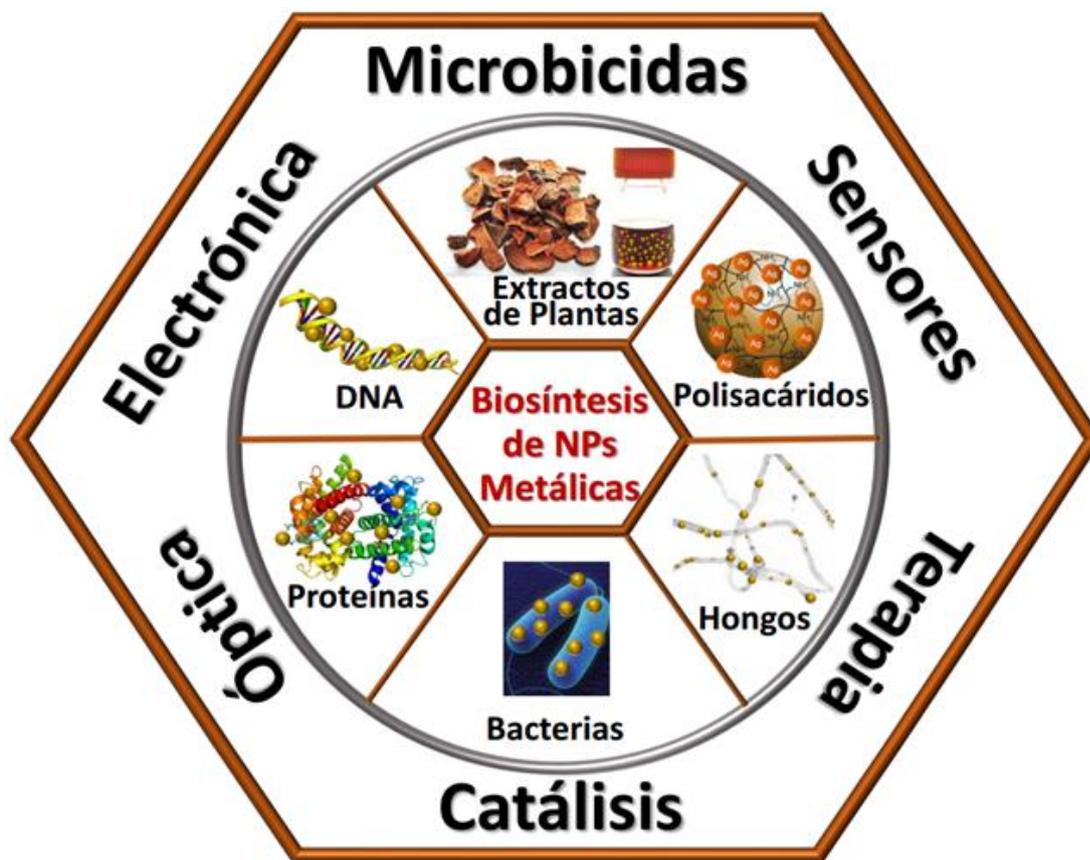


Figura 1.3.2 Rutas biosintéticas de nanopartículas metálicas y sus aplicaciones.

1.4 Fitosíntesis de nanopartículas metálicas

La síntesis de nanopartículas empleando extractos de plantas (o fitosíntesis) como agentes reductores es bastante sencilla de efectuar en el laboratorio pues simplemente se mezcla el extracto con la solución precursora metálica llevándose a cabo la reacción de oxidación-reducción donde los iones metálicos pasan a su estado de valencia cero (A^{+n} a A^0) por la transferencia de electrones que la molécula reductora del extracto proporciona. Los átomos metálicos se unen entre sí para formar agregados atómicos (clústeres) que dan lugar a una “semilla” cristalina estable conocido como núcleo crítico. A esta fase se le conoce como etapa de nucleación y es seguida por la fase de crecimiento de la nanopartícula hasta formar una solución coloidal estable en el solvente donde se lleva a cabo la reacción de síntesis [8]. Se dice que la fitosíntesis de nanopartículas es un proceso “de un solo paso” pues los compuestos de los extractos participan como agentes reductores, pero también son estabilizantes de las nanopartículas ya formadas evitando la coalescencia entre ellas al adsorberse sobre las superficies de estos materiales. Algunos de los parámetros que resultan críticos en las características de los nanomateriales (tamaños, geometrías, eficiencia de síntesis) obtenidos por fitosíntesis son la naturaleza del extracto de planta (moléculas bioactivas en el extracto), la concentración de las sales metálicas usadas como precursores de los iones metálicos, el pH, la relación extracto/precursor, la temperatura y las condiciones de iluminación durante la reacción entre otras variables. Sobre la naturaleza del extracto podemos decir que la síntesis de nanopartículas estará mediada por los distintos compuestos bio-reductores que pueden estar presentes tales como los grupos carbonilos, terpenoides, fenólicos, flavononas, aminas, amidas, proteínas, polisacáridos, pigmentos, alcaloides entre otros [9, 10]. El extracto preparado para realizar la síntesis puede ser obtenido de las distintas partes de la planta: hojas, flores, fruto, cáscara, raíz o corteza. Peralta *et al.* [11] efectúan una revisión actualizada de las distintas plantas empleadas para la síntesis de nanopartículas metálicas. En la tabla 1.4.1 se presentan algunos de los resultados mostrados por Peralta *et al.* en su trabajo de revisión bibliográfica. Se incluyen ejemplos que ilustran las diversas partes de la planta que pueden usarse como fuente de biomoléculas reductoras para la síntesis de nanopartículas.

Precursor	Planta	Condición de síntesis	Tamaño	Morfología	Aplicación	Referencia
HAuCl ₄	<i>Menta piperia</i> (planta entera)	1.5mL de extracto en 30mL de HAuCl ₄ (1mM)	> 150 nm	Esféricas	Antibacterial	MubarakAli <i>et al.</i> [12]

		incubado a 28°C por 24 h				
H ₂ AuCl ₄	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> (hojas)	4mL extracto en 30mL H ₂ AuCl ₄ (0.2mM)	25 nm	Esféricas	Marcaje celular y biosensores	Smitha <i>et al.</i> [13]
H ₂ AuCl ₄	<i>Musa paradisiaca</i> (cáscara de fruto)	10mg de polvo de cáscara seca en 2ml H ₂ AuCl ₄ 1mM	300 nm	---	Antibacterial y antifúngico	Bankar <i>et al.</i> [14]
H ₂ AuCl ₄	<i>Sapindus Mukorossi</i> (pericarpio del fruto)	10mL extracto en 1mL H ₂ AuCl ₄ (1mM)	9 – 19 nm	Esféricas, triangular y decahedral	Reducción de p-nitroanilina	Reddy <i>et al.</i> [15]
AgNO ₃	<i>Chelidonium majus</i> (hojas)	Proporción vol/vol 1:1 extracto: 1mM AgNO ₃	90 nm	Esféricas	Antioxidante Microbicida	Barbinta-Patrascu <i>et al.</i> [16]
AgNO ₃	Almidón de papa (<i>Solanum tuberosum</i>)	85 mg de almidón soluble + 15mL de solución glucosa (0.06 o 0.12 M) en 10mL 1% AgNO ₃	20-50nm	Esféricas	Microbicida Biomedicina Sensores	Cheviron <i>et al.</i> [17]
AgNO ₃	<i>Sambucus nigra</i> (extracto de fruta)	16.6mL extracto en 6.6 mL 1% AgNO ₃	20-80 nm	Esféricas	Anti-inflamatoria	David <i>et al.</i> [18]
AgNO ₃	Cáscara de cacahuete (<i>Arachis hypogaea</i>)	5mL extracto en 45mL AgNO ₃ 10mM	10-50 nm	Esféricas	Antifúngicas	Velmurugan <i>et al.</i> [19]
AgNO ₃	<i>Rosa Andeli</i> (pétalos)	1.6mL extracto en 20mL 1mM AgNO ₃	0.5-1.4 nm	Esféricas	Fotocatálisis	Suarez-Cerda <i>et al.</i> [20]
CuSO ₄	<i>Magnolia kobus</i> (hojas)	30mL extracto en 170mL CuSO ₄ 1mM	50-250 nm	Esféricas	Antibacterial	Lee <i>et al.</i> [21]
CuCl ₂	Fruto de limón (<i>Citrus sp.</i>)	10mL extracto en 10mL CuCl ₂ 1mM	60-100 nm	Esféricas	Antibacterial	Jayandran <i>et al.</i> [22]
Acetato de Zinc Zn(O ₂ CCH ₃) ₂	Fruto de limón (<i>Citrus sp.</i>)	0.004mol precursor+0.002mol sacarosa en 5-70mL extracto	21.5 nm	Hexagonal	Fotocatálisis	Davar <i>et al.</i> [23]
TiO ₂	<i>Morinda citrifolia</i> (raíz)	20mL extracto en 80mL TiO(OH) ₂ 0.1 mM	20-39 nm	Esféricas	Antiparásitos	Suman <i>et al.</i> [24]
FeCl ₃ (Producto: Nanopartícula de Hierro)	<i>Camelia sinensis</i> (hojas)	0.1 M FeCl ₃ en extracto (20 g/L) en proporción 2:1 vol/vol	5-15 nm	Esféricas	Fotocatálisis	Hoag <i>et al.</i> [25]
Fe(NO ₃) ₃ (Producto: Nanopartícula de α-Fe ₂ O ₃)	<i>Cúrcuma</i> y extracto de hoja de té	10 mL de extracto en 100mL Fe(NO ₃) ₃ 0.01mM a 50°C agitando 24h	4-5 nm	Esféricas	Fotocatálisis	Alagiri y Hamid [26]

Tabla 1.4.1: Ejemplos de nanopartículas monometálicas obtenidas por fitosíntesis (adaptada de [11]).

De las moléculas extraídas de plantas que más capacidad presentan para actuar como bio-reductores en la síntesis de nanopartículas se encuentran los polifenoles, las cuales son moléculas antioxidantes naturales que han mostrado tener actividad antitumoral importante [27]. En el caso del té verde se sabe que la familia de las catequinas son los antioxidantes más abundantes y a quienes se les atribuyen las propiedades benéficas de esta bebida. Las estructuras de las cuatro catequinas presentes en el té verde se representan en la figura 1.4.1.

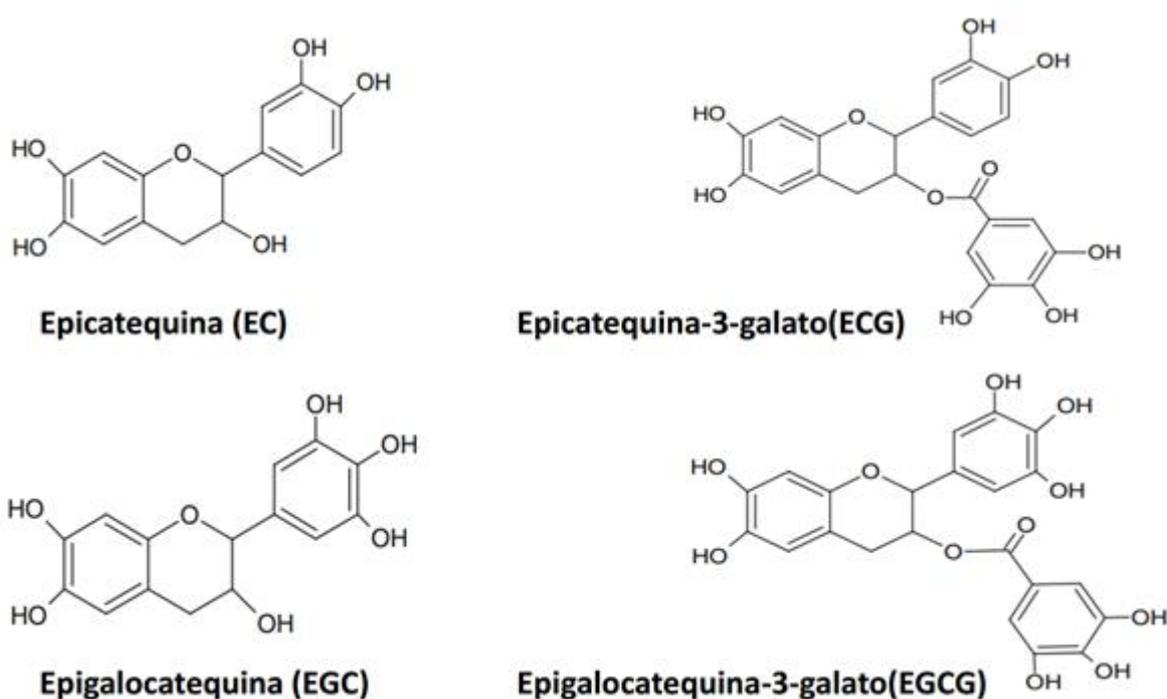


Figura 1.4.1 Catequinas presentes en el té verde.

Las moléculas de catequinas se caracterizan por la presencia de sus anillos fenólicos ricos en grupos hidroxilos (-OH) los cuales son susceptibles a desprotonarse con facilidad promoviendo la reacción óxido-reducción con que se inicia la síntesis de las nanopartículas metálicas. Tochi *et al.* [28] han observado que la actividad antioxidante del té verde es mayor mientras más alto es el contenido de EGC y EGCG por lo que se ha identificado al grupo galato como el que mayoritariamente contribuye en la reacción óxido-reducción de estos compuestos. En la figura 1.4.2 se muestra el mecanismo de reacción propuesto por Hussain y Khan [29] para la reducción del ión Ag^+ en presencia de una molécula de EGCG, lo cual se indica en el inciso A,

donde el proceso se ilustra considerando solamente la contribución reductora de un grupo galato (resaltado en el sombreado gris). En B el grupo galato se ha desprotonado en uno de sus grupos -OH originándose un radical EGCG y el electrón se ha transferido al ión metálico obteniéndose plata metálica (Ag^0). En C otro de los grupos hidroxilos se desprotona en presencia de otro ión Ag^+ a quien le transferirá el electrón remanente dándose un re-arreglo de los enlaces la molécula aromática para dar lugar a los productos señalados en D, una molécula EGCG oxidada (conocida como quinona) y un nuevo átomo metálico Ag^0 .

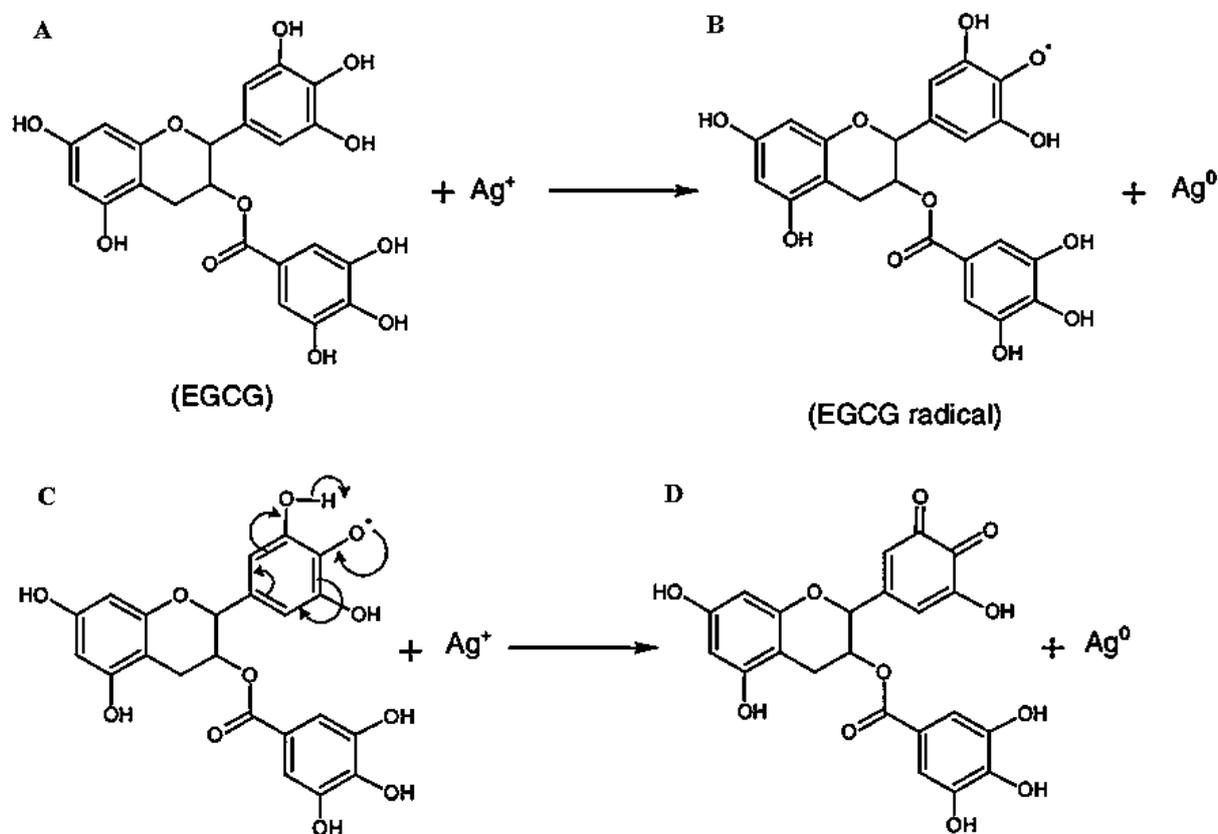
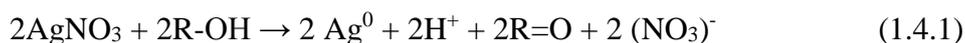
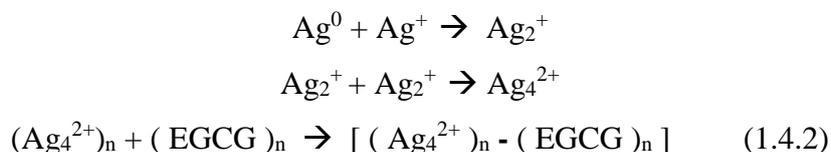


Figura 1.4.2 Reducción de los iones Ag^+ por los grupos -OH de la EGCG [29]

Podemos resumir el proceso ilustrado en la figura 1.4.2 en la siguiente reacción:



Además, Hussain y Khan plantean una ruta de nucleación en la síntesis de nanopartículas de plata donde los tetrámeros son estabilizados por la EGCG



y señalan que la estabilización de las nanopartículas formadas es por interacción electrostática con la EGCG mediante el par de electrones no enlazantes de los grupos hidroxilos de la molécula. En este contexto, Wu *et al.* [30] sugieren que también las formas oxidadas de la EGCG intervienen en la estabilización de la nanopartícula resultante brindando estabilidad al sistema. En la figura 1.4.3 se presentan los esquemas de estabilización de las nanopartículas por la molécula EGCG sin oxidar (en B) y por la forma oxidada de la EGCG (en C). En A se muestra una micrografía de nanopartículas de Ag sintetizadas con EGCG, resaltando la cubierta adyacente a los nanomateriales la cual corresponde a las moléculas de EGCG que están adsorbidas a la superficie actuando como agente estabilizador [29].

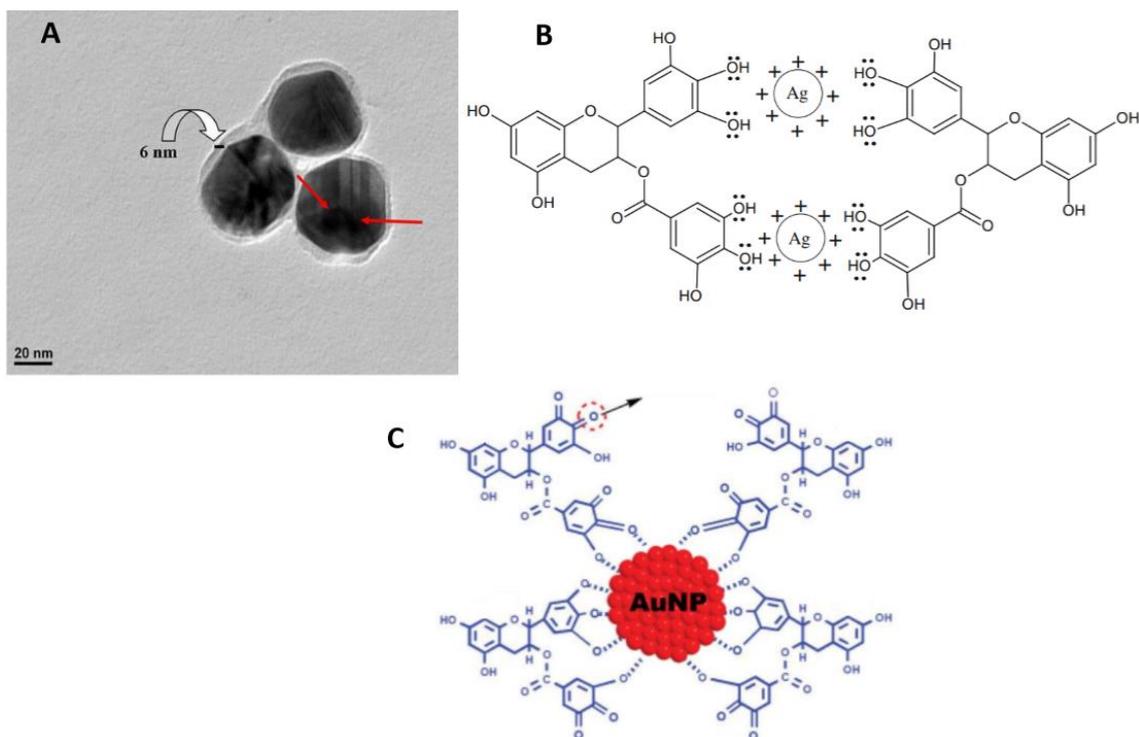


Figura 1.4.3 En A se muestran nanopartículas de plata estabilizadas con EGCG. B corresponde al mecanismo de estabilización propuesto por Hussain y Khan. En C se ilustra el mecanismo de estabilización propuesto por Wu *et al.*

1.5 Las nanopartículas bimetálicas

La cantidad de propiedades de los sistemas metálicos puede ser ostensiblemente más extensa cuando consideramos las mezclas de elementos para formar compuestos intermetálicos y aleaciones. Generalmente existe una mejora notable de las propiedades cuando los metales se

combinan para formar aleaciones debido a efectos sinérgicos, y la rica variedad de composiciones, estructuras y propiedades de las aleaciones metálicas ha llevado a extender las aplicaciones de estos materiales al sector electrónico, ingenieril y hacia el campo de los catalizadores, de tal forma que en los últimos años se ha buscado fabricar materiales de nanoaleaciones bimetálicos y trimetálicos por rutas de síntesis que permitan controlar puntualmente la estructura de estos materiales y por ende sus propiedades. Gran parte del interés que ha despertado las nanopartículas de aleaciones se debe al hecho de que sus propiedades físicas y químicas pueden ser “entonadas” variando la composición, el ordenamiento atómico o el tamaño de estos materiales. Las nanoaleaciones pueden presentar propiedades que son distintas a las mismas aleaciones en bulto debido a los efectos de tamaño finito (confinamiento cuántico), por ejemplo, el hierro y la plata son inmiscibles en el bulto suelen mezclarse en tamaños nanométricos formando nanoaleaciones [31].

Las nanoaleaciones pueden clasificarse de acuerdo a su patrón de mezclado (llamado también ordenamiento químico) y estructura geométrica. Existen cuatro tipos de patrones de mezclado (Figura 1.5.1) que pueden identificarse como nanoaleación. En la figura 1.5.1 (a) tenemos una nanoaleación segregada en estructura core-shell, la cual consiste de una cubierta o coraza de un tipo de átomo (B) rodeando a un núcleo de otro tipo de átomo (A). Este patrón de mezclado es común a una gran variedad de sistemas y estas estructuras suelen denotarse A@B (núcleo@coraza).

Las nanoaleaciones de “clusters” segregados de la figura 1.5.1 (b) consisten de subclusters A y B, los cuales pueden compartir una interface (izquierda) o pueden tener solamente un pequeño número de enlaces A-B (derecha).

Las nanoaleaciones mezcladas A-B en la figura 1.5.1 (c) pueden ser ordenadas (como en la izquierda) o aleatoria, formando una solución sólida (derecha). Las nanoaleaciones mezcladas aleatoriamente son llamadas comúnmente “nanopartículas de aleación”, pero es más apropiado llamarlas nanoaleaciones mezcladas al azar o nanoaleaciones mezcladas ordenadamente. Los patrones mezclados (o intermezclados) son comunes en muchos sistemas bimetálicos.

Las nanoaleaciones multicapas, representada en la figura 1.5.1 (d) pueden presentar estructuras tipo cebolla alternando las capas -A-B-A-. Estructuras metaestables de este tipo son reportadas en simulaciones del crecimiento de los clusters bimetálicos Cu-Ag, Ni-Ag y Pd-Ag [32]. También se han obtenido experimentalmente nanopartículas tri-coraza Pd-Au, con un núcleo intermezclado, una coraza intermedia rica en Au y una coraza externa rica en Pd. [33]

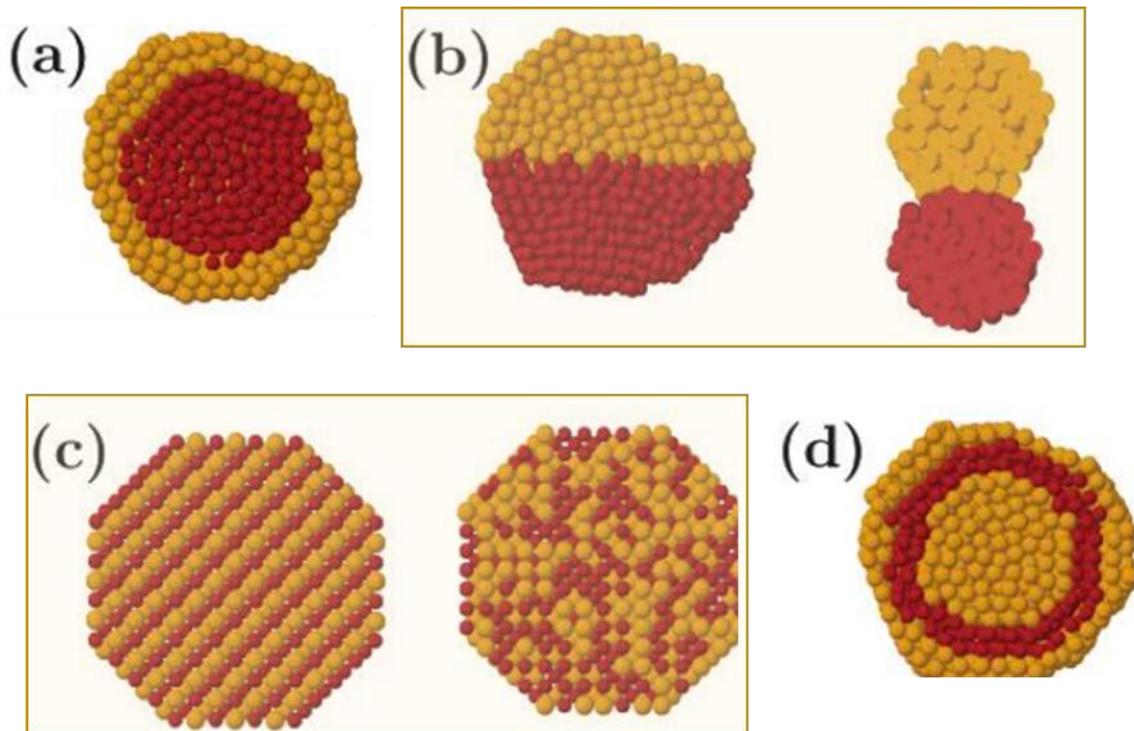


Figura 1.5.1 Representación esquemática de posibles patrones de mezclado: (a) core-shell, (b) segregación de clusters, (c) mezclado, (d) corazas múltiples. [34]

El grado de segregación, de mezclado y de ordenamiento atómico en una nanoaleación bimetalica A_mB_n dependerá de los siguientes factores.

a) La intensidad relativa de los enlaces A-A, B-B y A-B. A una primera aproximación, si los enlaces A-B son fuertes entonces se favorece el mezclado, de otra manera se favorece la segregación.

b) La energía de superficie de bulto de los elementos A y B. El elemento con la energía de superficie más baja tiende a segregarse hacia la superficie.

c) Transferencia de carga. La transferencia de electrones de los átomos de elementos de menor electronegatividad hacia los elementos más electronegativos favorece el mezclado.

d) Intensidad de la unión con los ligandos en la superficie. Para nanoaleaciones estabilizadas por moléculas adsorbidas superficialmente (polímeros, surfactantes, biomoléculas), el elemento que se une más fuertemente al ligando puede ser sacado hacia la superficie.

En general, el arreglo atómico que puede tener una nanoaleación A-B depende sustancialmente del balance existente entre los factores señalados arriba, así como de los métodos de síntesis y de las condiciones experimentales.

1.6 Fitosíntesis de nanopartículas bimetálicas Au y Ag

En los procesos de fitosíntesis de nanopartículas core@shell un tipo de ion metálico se reduce primero dando origen a las nanopartículas que formarán el núcleo interno; posteriormente el otro precursor metálico es reducido en presencia de las nanopartículas formadas al inicio (los núcleos) originando un recubrimiento metálico (coraza) sobre ellas con lo que se obtienen los nanomateriales core@shell. Aunque la mayoría de los protocolos de síntesis de las estructuras nucleo@coraza implican una serie de pasos (síntesis de núcleos → recuperación y limpieza de núcleos → síntesis de coraza) [35-37], algunos autores señalan haber obtenidos en un solo paso estructuras tipo core@shell por la síntesis simultánea de los precursores metálicos. Song y Kim [38] reportaron la obtención de nanopartículas bimetálicas Au@Ag por la exposición simultánea de iones Au^{3+} y Ag^+ con extractos de hojas de pérsimo obteniendo tamaños de partículas entre 50-500 nm. Shankar *et al.* [39] reportan la síntesis de nanopartículas Au@Ag en un solo paso empleando extractos de hojas de Neem (*Azadirachta indica*) como agente bio-reductor obteniendo productos entre 50-100 nm. En ambos trabajos los autores argumentan que la obtención de las estructuras core@shell se generan gracias a la reducción competitiva de iones favoreciéndose la rápida reducción $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^0$ sobre la $\text{Ag}^+ \rightarrow \text{Ag}^0$ de tal forma que primero se origina la nanopartícula de oro retardándose la síntesis las partículas de plata, la cual empieza a darse sobre la superficie de las partículas de oro ya formadas originando las estructuras Au@Ag. Sugieren que las moléculas bio-reductoras del extracto unidas a las nanopartículas metálicas mediante interacciones electrostáticas son las mediadoras para la formación del producto final.

La técnica de espectroscopía UV-vis es una herramienta útil en la caracterización de los productos obtenidos por la fitosíntesis de nanopartículas bimetálicas y aunada a la caracterización nanoestructural mediante la microscopía electrónica nos permite asociar el comportamiento de los plasmones de resonancia de superficie localizados (PRSL o LSPR en inglés) de los productos nanometálicos obtenidos con la forma en que se agregan los átomos de los distintos metales en las partículas. En la figura 1.6.1 se muestra el comportamiento de los plasmones de resonancia de superficie de nanopartículas bimetálicas de oro y plata. En A, la síntesis de los metales se lleva a cabo simultáneamente obteniéndose una aleación donde los átomos de ambos metales se distribuyen aleatoriamente dentro de cada nanopartícula como se representa en el inset de 1.6.1. Las absorciones asociadas a la aleación Au-Ag poseen una sola banda donde el máximo de la absorción se desplaza sistemáticamente entre las posiciones

correspondientes a la plata (400 nm) y el oro (525 nm) en este sistema de acuerdo a la proporción Au:Ag [40].

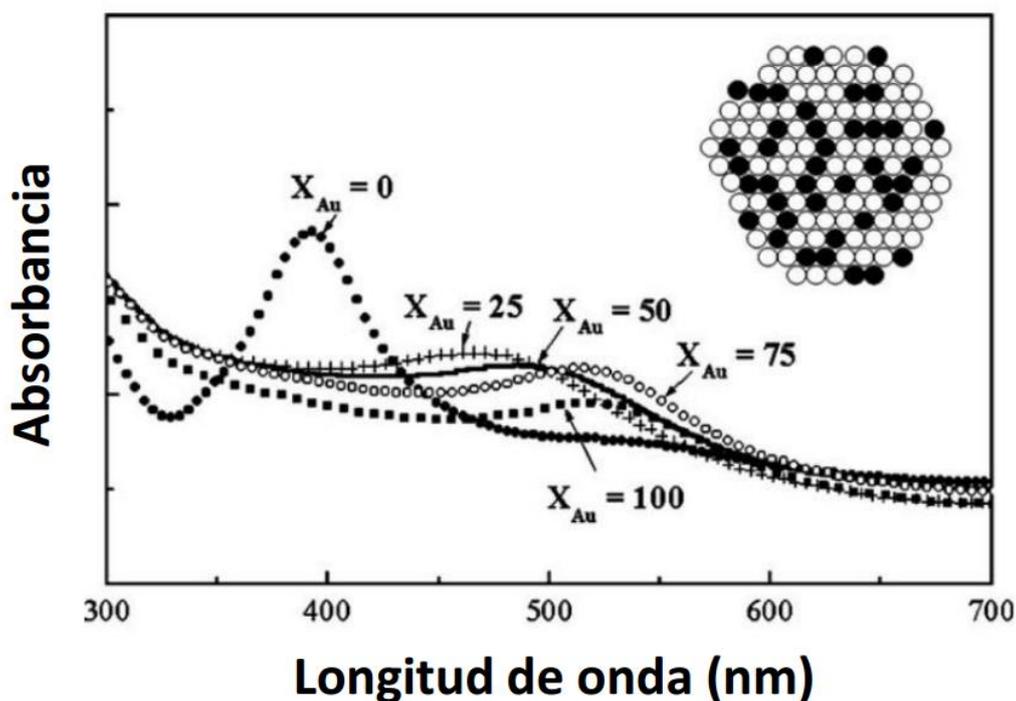


Fig. 1.6.1 Comportamiento de los LSPR para el sistema bimetalístico la aleación Au-Ag con distintas proporciones Au:Ag. [40]

Samal *et al.* [41] realizaron la síntesis secuencial de un sistema bimetalístico de oro y plata con distribución core@shell (Au@Ag). En la síntesis del sistema primeramente obtienen las nanopartículas de oro con tamaños monodispersos y producen, en 3 síntesis diferentes, nanopartículas de oro cuasiesféricas con tamaños de 15 nm, 32 nm y 55 nm preparando con ellas las correspondientes soluciones coloidales metálicas. A cada una de estas soluciones de nanopartículas de oro se les agregan distintas cantidades de AgNO₃ para obtener cubiertas o recubrimientos de plata con distintos espesores sobre los núcleos de oro. En la tabla 1.6.1 se muestran los tamaños obtenidos por las distintas condiciones de síntesis.

Núcleos de Oro (nm)	3 ^{era} adición	5 ^{era} adición	10 ^{era} adición
14.6 ± 1.1	21.4 ± 1.5	24.3 ± 2.2	32.3 ± 2.9
32.5 ± 3.8	45.3 ± 5.2	61.5 ± 5.4	77.1 ± 6.9
54.6 ± 5.8	79.5 ± 7.4	89 ± 8.7	110 ± 11.3

Tabla 1.6.1 Tamaños de las nanopartículas Au@Ag dependiendo del tamaño del núcleo original de oro y de las cantidades de AgNO₃ empleadas para su recubrimiento con Ag. [41]

Este trabajo es particularmente importante dado que estudian el comportamiento del plasmón de resonancia (LSPR) de las partículas bimetálicas producidas en relación a la proporción de tamaños entre núcleo (Au) y coraza (Ag). En la figura 1.6.2 se muestran las fotografías de las soluciones coloidales bimetálicas Au@Ag para núcleos de oro con tamaños de 15 nm, 32 nm y 55 nm (fig. A, B y C respectivamente). En D, E y F se muestran los espectros de absorción que corresponden (respectivamente) a los materiales mostrados en A, B y C. Los números 0, 3, 5 y 10 se asocian a la cantidad de nitrato de plata agregada en la síntesis del recubrimiento o coraza de Ag.

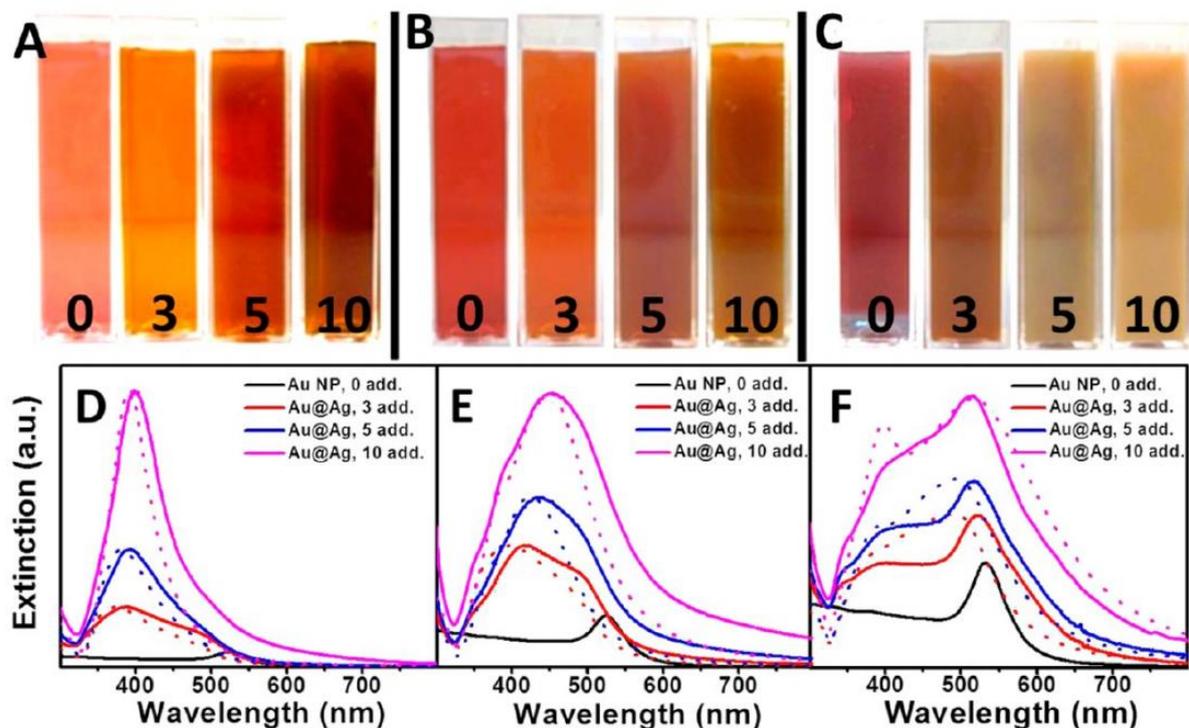


Fig. 1.6.2 Cambio de color debido a los distintos recubrimientos de plata sobre los núcleos de oro de 15 nm (A), 32 nm (B) y 55 nm (C). Los números 0, 3, 5 y 10 se refieren a las distintas cantidades de AgNO_3 con que son recubiertos los núcleos. En D, E y F se muestran los espectros de absorción que corresponden (respectivamente) a los materiales mostrados en A, B y C. Las líneas discontinuas corresponden a los cálculos teóricos (mediante la teoría de Mie) de los espectros de absorción. [41].

Un aspecto interesante del trabajo de Samal *et al.* es el hecho de que la respuesta del LSPR asociado al núcleo (Au) desaparece cuando el recubrimiento de Ag tiene espesor de 5 nm para los núcleos de Au pequeños (~15 nm) obteniéndose una sola banda de absorción centrada en la posición de la plata (400 nm) tal como se ilustra en la curva azul de la figura 1.6.2 (D). Por

su parte, cuando los núcleos de oro son grandes (~55 nm) la respuesta del LSPR de las nanopartículas Au@Ag siempre se compone de dos bandas de absorción, una asociada al oro ubicada entre 500-540 nm y la correspondiente a la plata cercana a 400 nm como se ve en la figura 1.6.2 (F); inclusive para el caso en que la coraza de plata tiene un espesor igual al tamaño del núcleo de oro (55 nm) la banda de absorción del Au se resuelve claramente, esto es, para núcleos de oro mayores de 55 nm el LSPR del Au no se apantalla completamente por efecto de la coraza de Ag sin importar el espesor de ésta, contrario a lo que sucedía para núcleos de Au pequeños.

1.7 Descripción y propiedades de *Rumex hymenosepalus*

De las plantas regionales del Norte de México y sur de los Estados Unidos empleadas para fines medicinales, la *Rumex hymenosepalus*, conocida ordinariamente con el nombre de cañagria, es una de las de mayor contenido de antioxidantes naturales [42] siendo los taninos condensados o catéquicos los compuestos antioxidantes más importantes en esta planta presentes en forma polimérica y cuyos extractos se han empleado tradicionalmente en la industria del curtido de pieles [43]. En este sentido, existen varios trabajos de síntesis de nanopartículas de metales nobles empleando compuestos catéquicos en forma de reactivo puro o bien obtenidos de extractos de plantas como el té verde o del pepino amargo entre otros, [44, 45]. En la literatura científica existen algunos estudios referentes a plantas del género *Rumex* de especies distintas a la aquí señalada [46, 47] y solamente un grupo de investigación ha reportado la síntesis de nanopartículas metálicas empleando extractos obtenidos de la raíz de esta planta donde los autores reportaron haber detectado la presencia del compuesto trans-resveratrol glucosado (Figura 1.7.1) como constituyente del extracto, además de las cuatro catequinas de la figura 1.4.1 [48]. Cabe mencionarse que la molécula t-resveratrol es uno de los antioxidantes naturales más comercializados como suplemento nutrimental y se ha demostrado también (actuando como reactivo puro) su capacidad para la biosíntesis de nanopartículas metálicas [49] por lo que suponemos que junto a las catequinas presentes en el extracto de la *Rumex hymenosepalus* forman un coctel de moléculas reductoras disponibles para una síntesis eficiente de nanopartículas.

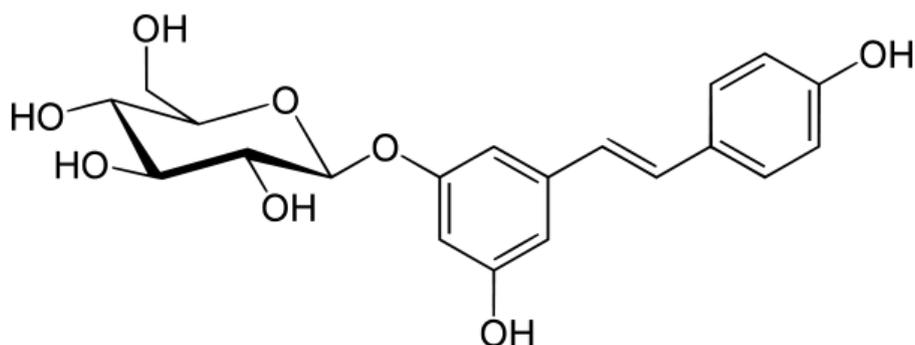


Figura 1.7.1 Molécula de t-resveratrol glucosado

Referencias

- [1] Thakkar, K. N., Mhatre, S. S., & Parikh, R. Y. (2010). Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(2), 257-262.
- [2] Rai, M. K., Deshmukh, S. D., Ingle, A. P., & Gade, A. K. (2012). Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *Journal of applied microbiology*, 112(5), 841-852.
- [3] Lee, D. E., Koo, H., Sun, I. C., Ryu, J. H., Kim, K., & Kwon, I. C. (2012). Multifunctional nanoparticles for multimodal imaging and theragnosis. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2656-2672.
- [4] Herves, P., Pérez-Lorenzo, M., Liz-Marzan, L. M., Dzubiella, J., Lu, Y., & Ballauff, M. (2012). Catalysis by metallic nanoparticles in aqueous solution: model reactions. *Chemical Society Reviews*, 41(17), 5577-5587.
- [5] Hvolbæk, B., Janssens, T. V., Clausen, B. S., Falsig, H., Christensen, C. H., & Nørskov, J. K. (2007). Catalytic activity of Au nanoparticles. *Nano Today*, 2(4), 14-18.
- [6] Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology advances*, 31(2), 346-356.
- [7] Tan, L. H., Yue, Y., Satyavolu, N. S. R., Ali, A. S., Wang, Z., Wu, Y., & Lu, Y. (2015). Mechanistic Insight into DNA-Guided Control of Nanoparticle Morphologies. *Journal of the American Chemical Society*, 137(45), 14456-14464.
- [8] Thanh, N. T., Maclean, N., & Mahiddine, S. (2014). Mechanisms of nucleation and growth of nanoparticles in solution. *Chemical Reviews*, 114(15), 7610-7630.

- [9] Huang, J., Li, Q., Sun, D., Lu, Y., Su, Y., Yang, X., ... & Hong, J. (2007). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf. *Nanotechnology*, 18(10), 105104.
- [10] Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638-2650.
- [11] Peralta-Videa, J. R., Huang, Y., Parsons, J. G., Zhao, L., Lopez-Moreno, L., Hernandez-Viezcas, J. A., & Gardea-Torresdey, J. L. (2016). Plant-based green synthesis of metallic nanoparticles: scientific curiosity or a realistic alternative to chemical synthesis? *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 1(1), 4.
- [12] MubarakAli, D., Thajuddin, N., Jeganathan, K., & Gunasekaran, M. (2011). Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 85(2), 360-365.
- [13] Smitha, S. L., Philip, D., & Gopchandran, K. G. (2009). Green synthesis of gold nanoparticles using *Cinnamomum zeylanicum* leaf broth. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 74(3), 735-739.
- [14] Bankar, A., Joshi, B., Kumar, A. R., & Zinjarde, S. (2010). Banana peel extract mediated synthesis of gold nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 80(1), 45-50.
- [15] Reddy, V., Torati, R. S., Oh, S., & Kim, C. (2012). Biosynthesis of gold nanoparticles assisted by *Sapindus mukorossi* gaertn. Fruit pericarp and their catalytic application for the reduction of p-nitroaniline. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 52(2), 556-564.
- [16] Barbinta-Patrascu, M. E., Badea, N., Ungureanu, C., Constantin, M., Pirvu, C., & Rau, I. (2016). Silver-based biohybrids “green” synthesized from *Chelidonium majus* L. *Optical Materials*, 56, 94-99.
- [17] Cheviron, P., Gouanvé, F., & Espuche, E. (2014). Green synthesis of colloid silver nanoparticles and resulting biodegradable starch/silver nanocomposites. *Carbohydrate polymers*, 108, 291-298.
- [18] David, L., Moldovan, B., Vulcu, A., Olenic, L., Perde-Schrepler, M., Fischer-Fodor, E., ... & Filip, G. A. (2014). Green synthesis, characterization and anti-inflammatory activity of silver nanoparticles using European black elderberry fruits extract. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122, 767-777.

- [19] Velmurugan, P., Sivakumar, S., Young-Chae, S., Seong-Ho, J., Pyoung-In, Y., Jeong-Min, S., & Sung-Chul, H. (2015). Synthesis and characterization comparison of peanut shell extract silver nanoparticles with commercial silver nanoparticles and their antifungal activity. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 31, 51-54.
- [20] Suárez-Cerda, J., Alonso-Nuñez, G., Espinoza-Gómez, H., & Flores-López, L. Z. (2015). Synthesis, kinetics and photocatalytic study of “ultra-small” Ag-NPs obtained by a green chemistry method using an extract of Rosa ‘Andeli’ double delight petals. *Journal of colloid and interface science*, 458, 169-177.
- [21] Lee, H. J., Song, J. Y., & Kim, B. S. (2013). Biological synthesis of copper nanoparticles using Magnolia kobus leaf extract and their antibacterial activity. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 88(11), 1971-1977.
- [22] Jayandran, M., Haneefa, M. M., & Balasubramanian, V. (2015). Green synthesis of copper nanoparticles using natural reducer and stabilizer and an evaluation of antimicrobial activity. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(2), 251-259.
- [23] Davar, F., Majedi, A., & Mirzaei, A. (2015). Green synthesis of ZnO nanoparticles and its application in the degradation of some dyes. *Journal of the American Ceramic Society*, 98(6), 1739-1746.
- [24] Suman, T. Y., Ravindranath, R. R. S., Elumalai, D., Kaleena, P. K., Ramkumar, R., Perumal, P., ... & Chitrarasu, P. S. (2015). Larvicidal activity of titanium dioxide nanoparticles synthesized using Morinda citrifolia root extract against Anopheles stephensi, Aedes aegypti and Culex quinquefasciatus and its other effect on non-target fish. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(3), 224-230.
- [25] Hoag, G. E., Collins, J. B., Holcomb, J. L., Hoag, J. R., Nadagouda, M. N., & Varma, R. S. (2009). Degradation of bromothymol blue by ‘greener’ nano-scale zero-valent iron synthesized using tea polyphenols. *Journal of Materials Chemistry*, 19(45), 8671-8677.
- [26] Alagiri, M., & Hamid, S. B. A. (2014). Green synthesis of α -Fe₂O₃ nanoparticles for photocatalytic application. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 25(8), 3572-3577.
- [27] Fujiki, H., Suganuma, M., Imai, K., & Nakachi, K. (2002). Green tea: cancer preventive beverage and/or drug. *Cancer letters*, 188(1), 9-13.
- [28] Toschi, T. G., Bordoni, A., Hrelia, S., Bendini, A., Lercker, G., & Biagi, P. L. (2000). The protective role of different green tea extracts after oxidative damage is

- related to their catechin composition. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(9), 3973-3978.
- [29] Hussain, S., & Khan, Z. (2014). Epigallocatechin-3-gallate-capped Ag nanoparticles: preparation and characterization. *Bioprocess and biosystems engineering*, 37(7), 1221-1231.
- [30] Wu, H., Huang, X., Gao, M., Liao, X., & Shi, B. (2011). Polyphenol-grafted collagen fiber as reductant and stabilizer for one-step synthesis of size-controlled gold nanoparticles and their catalytic application to 4-nitrophenol reduction. *Green Chemistry*, 13(3), 651-658.
- [31] Andrews, M. P., & O'Brien, S. C. (1992). Gas-phase "molecular alloys" of bulk immiscible elements: iron-silver (Fe_xAg_y). *The Journal of Physical Chemistry*, 96(21), 8233-8241
- [32] Baletto, F., Mottet, C., & Ferrando, R. (2003). Growth of three-shell onionlike bimetallic nanoparticles. *Physical review letters*, 90(13), 135504.
- [33] Ferrer, D., Torres-Castro, A., Gao, X., Sepulveda-Guzman, S., Ortiz-Mendez, U., & Jose-Yacaman, M. (2007). Three-layer core/shell structure in Au-Pd bimetallic nanoparticles. *Nano letters*, 7(6), 1701-1705.
- [34] Ferrando, R., Jellinek, J., & Johnston, R. L. (2008). Nanoalloys: from theory to applications of alloy clusters and nanoparticles. *Chemical reviews*, 108(3), 845-910.
- [35] Nagaonkar, D., & Rai, M. (2015). Sequentially reduced biogenic silver-gold nanoparticles with enhanced antimicrobial potential over silver and gold monometallic nanoparticles. *Adv. Mater. Lett*, 6(4), 334-341.
- [36] Shaheen, T. I., El-Naggar, M. E., Hussein, J. S., El-Bana, M., Emara, E., El-Khayat, Z., ... & Hebeish, A. (2016). Antidiabetic assessment; in vivo study of gold and core-shell silver-gold nanoparticles on streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 83, 865-875.
- [37] Kumari, M. M., Jacob, J., & Philip, D. (2015). Green synthesis and applications of Au–Ag bimetallic nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 137, 185-192.
- [38] Song, J. Y., & Kim, B. S. (2008). Biological synthesis of bimetallic Au/Ag nanoparticles using Persimmon (*Diopyros kaki*) leaf extract. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 25(4), 808-811.

- [39] Shankar, S. S., Rai, A., Ahmad, A., & Sastry, M. (2004). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of colloid and interface science*, 275(2), 496-502.
- [40] Chen, H. M., Liu, R. S., Jang, L. Y., Lee, J. F., & Hu, S. F. (2006). Characterization of core–shell type and alloy Ag/Au bimetallic clusters by using extended X-ray absorption fine structure spectroscopy. *Chemical Physics Letters*, 421(1), 118-123.
- [41] Samal, A. K., Polavarapu, L., Rodal-Cedeira, S., Liz-Marzán, L. M., Pérez-Juste, J., & Pastoriza-Santos, I. (2013). Size Tunable Au@ Ag core–shell nanoparticles: synthesis and surface-enhanced raman scattering properties. *Langmuir*, 29(48), 15076-15082.
- [42] VanderJagt, T.J., Ghattas, R., VanderJagt, D.J., Crossey, M., Glew, R.H., (2002). Comparison of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of new mexico. *Life Sci Vol 70 (9)*, pp 1035-40.
- [43] León Paz, G.E., “Obtención de extracto curtiente libre de almidón de la cañagria (*rumex hymenosepalus*)”, Tesis de Licenciatura, 1966, Escuela de Ciencias Químicas, UniSon.
- [44] Goutam, K., Chandra, D., Ranjan T., Swagata D., and Anushree R., (2012). Interaction of epigallocatechin gallate with lysozyme-conjugated silver nanoparticles , *Applied Spectroscopy*, Vol. 66 (7), pp. 744-749.
- [45] Satyavani, K., Ramanathan, T., and Gurudeban, S., (2011). Green synthesis of silver nanoparticles by using stem derived callus extract of bitter (*citrullus colocynthis*); *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures Vol. 6 (3)*, pp. 1019 - 1024.
- [46] Wegiera, M., Grabarczyk, P., Baraniak, B. and Danuta-Smolarz, H., (2011). Antiradical properties of extracts from roots, leaves and fruits of six *rumex l.* species, *Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica 53 (1)*, pp. 125-131.
- [47] Wahid-Hawas, U., Fadel-Ahmed, E., Fadel-Abdelkader, A., and Anwar-Taie, H., (2011). Biological activity of flavonol glycosides from *rumex dentatus* plant, an egyptian xerophyte, *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 5(17), pp. 4239-4243.
- [48] Rodríguez-León, E., Iñiguez-Palomares, R., Navarro, R. E., Herrera-Urbina, R., Tánori, J., Iñiguez-Palomares, C., & Maldonado, A. (2013). Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts). *Nanoscale research letters*, 8(1), 1.

- [49] Preethi, R. y Padma, R., R., (2016). Biocompatibility of Silver Nano Bio-Conjugates from *Vitis vinifera* seeds and its major Component Resveratrol. *International Journal of Drug Delivery Technology*, 6(3), 99-109.

Capítulo 2

Técnicas experimentales

En este capítulo se lleva a cabo la descripción de las técnicas experimentales utilizadas para caracterizar los sistemas de nanopartículas. La descripción consiste en presentar un esquema del equipo utilizado en cada técnica, así como el o los principios físicos involucrados en su operación.

2.1 Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis)

En esta sección se presenta la descripción de la técnica de UV-Vis y las generalidades de la técnica. Después se comenta sobre la relación entre el espectro y las transiciones moleculares de las moléculas aromáticas. En seguida se establece brevemente de la definición y origen del plasmón de superficie localizado. Por último, se bosqueja el esquema general del espectrómetro de UV-Vis, así como de su fundamento en la ley de Beer-Lambert y la interpretación de la información que proporciona.

Abarca longitudes de onda 200—800 nm. Determina cambios en la energía electrónica de las moléculas debidos a transferencia de electrones de los orbitales π u orbitales no enlazantes. Provee información acerca de sistemas de electrones π , insaturaciones conjugadas, compuestos aromáticos y sistemas de electrones no enlazantes conjugados, entre otros. En particular es de interés para estudiar compuestos aromáticos presentes en el extracto y los electrones no enlazantes pertenecientes a las nanopartículas a caracterizar.

Naturaleza de las transiciones electrónicas

La energía total de una molécula es la suma de sus energías electrónica, vibracional, rotacional y traslacional. La energía absorbida en la región UV produce cambios en la energía electrónica de la molécula. Mientras ésta absorbe energía, un electrón pasa de un orbital ocupado (de un orbital no enlazante n o un π) a un orbital desocupado (de antienlace σ^* o π^*) de mayor energía. Los enlaces σ son los de menor energía. Le siguen los π y n . Los orbitales moleculares de antienlace σ^* y π^* son los de mayor energía. En la siguiente figura se muestran las energías relativas y algunas posibles transiciones.

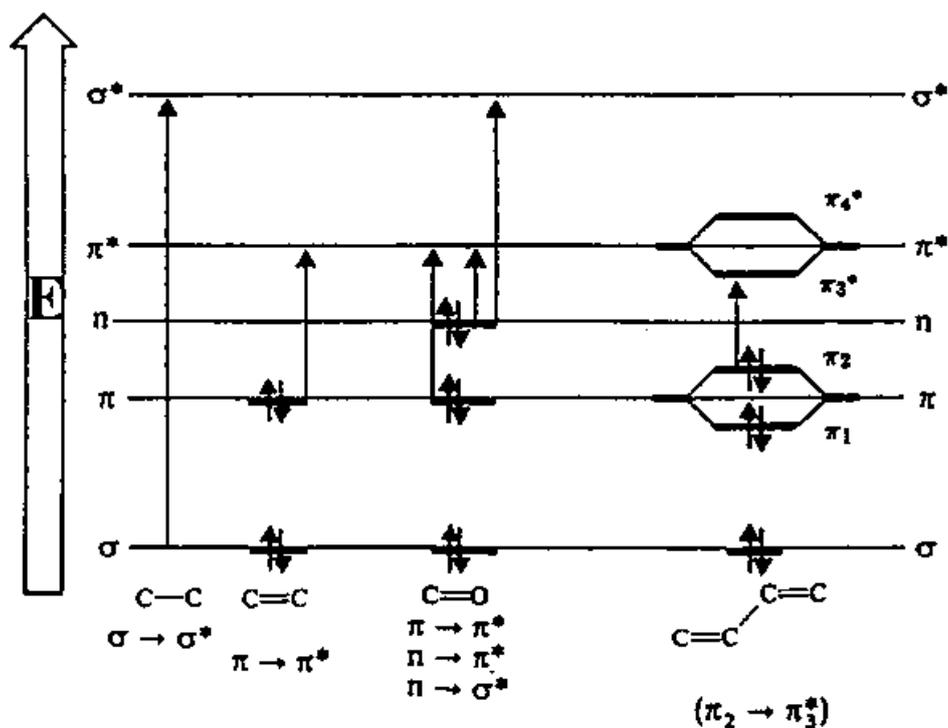


Figura 2.1.1 Energías relativas de algunos enlaces presentes en moléculas orgánicas y sus posibles transiciones [1].

Si la molécula tiene un grupo funcional orgánico, ésta puede tener transiciones dependiendo de su naturaleza en el siguiente orden de energías: $n \rightarrow \pi^* < n \rightarrow \sigma^* < \pi \rightarrow \pi^* < \sigma \rightarrow \pi^* < \sigma \rightarrow \sigma^*$. Como todas las transiciones requieren una cantidad fija de energía (pues están cuantizadas), se esperaría que el espectro UV—Vis presente uno o más máximos definidos correspondientes a cada transición electrónica. Pero debido a que cada transición de este tipo está asociada a varias energías rotacionales y vibracionales, una transición electrónica viene acompañada de varias de éstas, por lo que muchas radiaciones de frecuencias cercanas son absorbidas y como resultado se tiene una banda.

Cuando una molécula absorbe energía en el UV—Vis, se asume que solo un electrón se excita de un orbital enlazante o no enlazante a un orbital antienlace y los demás no se alteran. En consecuencia, este estado excitado dura alrededor de 10^{-15} segundos. De acuerdo al principio de Franck—Condon [2] durante este fenómeno la molécula no se mueve.

La transición más probable sería del orbital molecular más alto ocupado (conocido en inglés como HOMO) al orbital molecular más bajo desocupado (conocido en inglés como LUMO), pero en muchos casos se pueden observar varias transiciones, dando lugar a varias bandas en el espectro.

Mediciones espectrales

El espectro UV—Vis se mide por lo general en soluciones muy diluidas y el criterio más importante para elegir el solvente es que este sea transparente en la región que se vaya a examinar. La tabla 2.1.1 muestra algunos de los solventes más comunes con sus límites de corte. Debajo de estos límites, los solventes muestran abundantes absorbancias por lo que no se recomienda su uso para esta técnica. El agua y el etanol son los más usados por ser transparentes en la región UV—Vis.

Solvente	Longitud de onda de corte (nm)
Ácido acético	260
Acetona	330
Acetonitrilo	190
Cloroformo	245
Ciclohexano	210
Etanol	210
Metanol	210
Tolueno	286
Metil-etil cetona	330
Agua	191

Tabla 2.1.1 Disolventes grado espectroscópico con su longitud de onda de corte en la región ultravioleta [3].

Efectos del solvente

Solventes de alta pureza y no polares tales como hidrocarburos saturados no interactúan con las moléculas de soluto, ya sea en el estado base o excitado y el espectro de absorción de un

compuesto disuelto en ellos es similar al de su estado gaseoso puro. Sin embargo, disolventes polares tales como agua, alcoholes, etc. pueden estabilizar o desestabilizar los orbitales moleculares de una molécula, ya sea en el estado fundamental o en estado excitado y el espectro de un compuesto en estos disolventes puede variar bastante del mismo disuelto en un hidrocarburo.

Términos y definiciones importantes

Cromóforo: grupo de átomos con electrones responsables de la absorción.

Auxocromo: grupos funcionales que por sí solos no presentan absorción, pero su presencia desplaza el máximo de absorción.

Compuestos aromáticos: son aquellos cuyo grupo básico es el benceno. Estos muestran dos bandas primarias en 184 ($\epsilon = 47,000$) y 202 ($\epsilon = 7400$) nm y (ϵ : coeficiente de absorción molar [(mol/L)⁻¹cm⁻¹]) una banda secundaria a 255 nm ($\epsilon = 230$ in ciclohexano). La presencia de sustituyentes en el benceno hace que los máximos se desplacen, pero a diferencia de otros compuestos orgánicos, los efectos no son predecibles.

El plasmón de resonancia de superficie localizado

El plasmón de resonancia de superficie localizado (LSPR, por sus siglas en inglés) es un fenómeno óptico generado por una onda de luz incidente en nanopartículas conductoras más pequeñas que la longitud de onda de la luz. El fenómeno es un resultado de las interacciones entre el campo electromagnético incidente y los electrones de la banda de conducción localizados en la superficie del material.

La frecuencia a la que se localiza el plasmón depende fuertemente de las propiedades de las nanopartículas involucradas. Los materiales usados para fabricar las nanopartículas involucradas en este trabajo son el oro y la plata, cuyos plasmones para nanopartículas monometálicas se ubican en la región visible del espectro.

Al ubicarse en esta región, los plasmones pueden aparecer junto con las bandas de los compuestos orgánicos en un espectro UV—Vis, como en el caso de este trabajo: tanto la banda del compuesto que estabiliza a las nanopartículas como el plasmón perteneciente a éstas aparece en la gráfica de una muestra recién sintetizada. Sin embargo, como se explicó anteriormente, los máximos debidos a ambos fenómenos son de naturaleza distinta. Las diferencias salen a la luz al comparar otras propiedades, como por ejemplo la sección

transversal, la cual puede ser varios órdenes de magnitud mayores para una simple nanopartícula en comparación al mismo volumen ocupado por un compuesto orgánico.

Origen del LSPR [4]

Tras la excitación de una nanopartícula debido a una onda de luz, el campo eléctrico oscilante causa una oscilación coherente de los electrones de conducción. Dicha oscilación desplaza la nube electrónica relativa al núcleo, dando lugar a una fuerza restauradora coulombica resultando en la oscilación de la nube electrónica respecto al núcleo. El campo de resonancia aumentado dentro de la nanopartícula lleva a un campo dipolar exterior a ésta. Dicho campo es el responsable de la absorción aumentada y de la sección transversal de dispersión, así como de fuertes campos electromagnéticos aumentados cercanos a la superficie de la nanopartícula. Las oscilaciones dependen de la forma y tamaño de la distribución electrónica, la densidad de electrones y la masa efectiva del electrón.

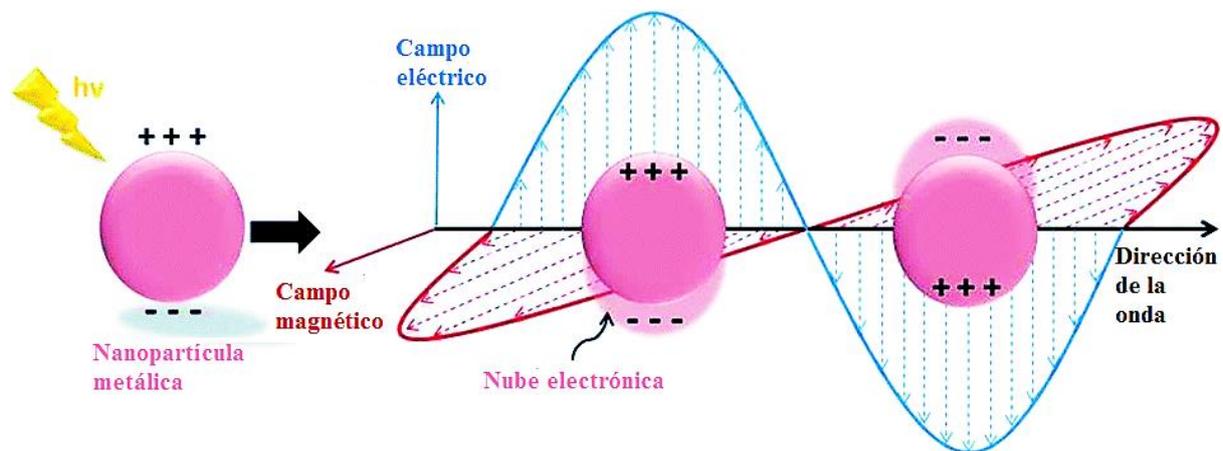


Figura 2.1.2 Esquema simplificado que explica el LSPR para una nanopartícula metálica [5].

La figura 2.1.2 resume lo dicho en el párrafo anterior. Como se comentó en el pie de imagen, el esquema está simplificado, esto es, se considera la interacción de la onda electromagnética con una sola nanopartícula esférica. Una consideración realista del sistema toma en cuenta el metal (índice de refracción) que se trata, el tamaño de la nanopartícula y forma, así como si están o no en suspensión.

Ley de Beer-Lambert y sus limitaciones

Para caracterizar el sistema de nanopartículas metálicas es necesario conocer a qué longitud de onda alcanza un máximo de absorción. Para esto, habrá que tener una muestra del sistema e incidir radiación electromagnética en el rango del ultravioleta al visible (200—800 nm) para encontrar dicho máximo. Este proceso de absorción puede describirse mediante la ley de Beer—Lambert, la cual establece que, cuando la radiación incide en un medio puede absorber energía, la intensidad de la radiación disminuye en forma proporcional a la longitud de medio absorbente y a la concentración de la especie en el medio que absorbe la radiación.

Para obtener la expresión de la ley de Beer—Lambert puede considerarse una geometría como la siguiente:

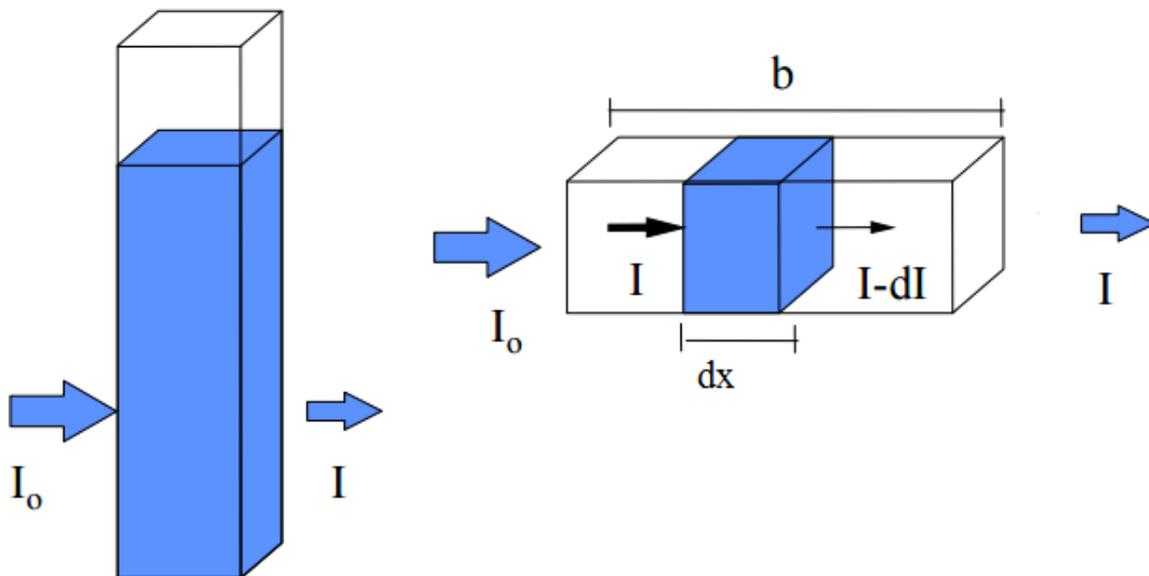


Figura 2.1.3 Esquema de la geometría para la ley de Beer-Lambert.

Donde:

I : número de fotones de radiación que pasan por área de sección transversal por segundo

I_0 : intensidad de la luz antes de entrar a la celda

I : intensidad de la luz después de salir de la celda

dx : diferencial de longitud

b : longitud de la celda o camino óptico (cm)

De acuerdo a la ley de Beer—Lambert, sería

$$-N \sim cdx$$

2.1.1

Siendo N el número de especies absorbentes. O bien, en términos de la intensidad del haz

$$-dl = \alpha c l dx \quad 2.1.2$$

Donde α es el coeficiente de absorción. Separando las variables e integrando desde el inicio al final de lo largo de la celda (por donde pasa el haz) se tiene

$$-\int_{I_0}^I \frac{dI}{I} = \int_0^b \alpha c dx \quad 2.1.3$$

$$-\ln \frac{I}{I_0} = \alpha c b \quad 2.1.4$$

Se definen la transmitancia y la absorbancia (ambas unidades adimensionales) respectivamente como

$$T = \frac{I}{I_0} \quad 2.1.5$$

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \log \frac{1}{T} = -\log T \quad 2.1.6$$

Así, el resultado de la integral puede expresarse de la forma

$$-2.303 \log T = \alpha c b \quad 2.1.7$$

Lo cual lleva a la sencilla expresión de la ley de Beer—Lambert

$$A = \epsilon b c \quad 2.1.8$$

Con c la concentración (mol/L). Relacionando las variables importantes

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon b c \quad 2.1.9$$

Esta expresión es usada ampliamente en la química para conocer la concentración de sustancias. En este trabajo su uso será un poco distinto, pues se tomará un continuo de longitudes de onda para saber en cuál de ellas la suspensión de nanopartículas tendrá un máximo en la absorbancia. Esto es, en lugar de aplicar la expresión para conocer la concentración de un soluto en solución, se requiere saber el máximo de la absorbancia para nanopartículas en suspensión. Aquí el solvente no juega un papel importante porque gracias al equipo (espectrómetro UV-Vis de doble haz) se puede eliminar su influencia del espectro.

Es muy importante tener en cuenta que, ya que la ley de Beer-Lambert es lineal, ésta se encuentra limitada por factores químicos e instrumentales. Se incluyen

- Desviaciones en el coeficiente de absorción a altas concentraciones (>0.01 M) debidas a las interacciones electrostáticas entre moléculas muy cercanas.
- Las partículas de la muestra dispersan luz.
- Fluorescencia o fosforescencia de la muestra.

- Cambios en el índice de refracción a altas concentraciones del analito.
- Desplazamientos del equilibrio químico como función de la concentración.
- Radiación no monocromática. Las desviaciones pueden minimizarse usando una parte relativamente estrecha del espectro de absorción, tal como el máximo de la banda de absorción.
- Luz parásita (aquella que proviene de una fuente que no está ligada con la muestra).

El espectrómetro de UV-Vis

Para estudiar este fenómeno de absorción se utilizan equipos especiales llamados espectrofotómetros, los cuales existen de haz sencillo (en éstos se coloca primero una muestra blanco, se retira y luego se mete la muestra) y los de doble haz (puede medir la absorbancia a blanco y muestra al mismo tiempo). En este trabajo se utilizó un aparato de doble haz, cuyo diseño esquemático es el siguiente:

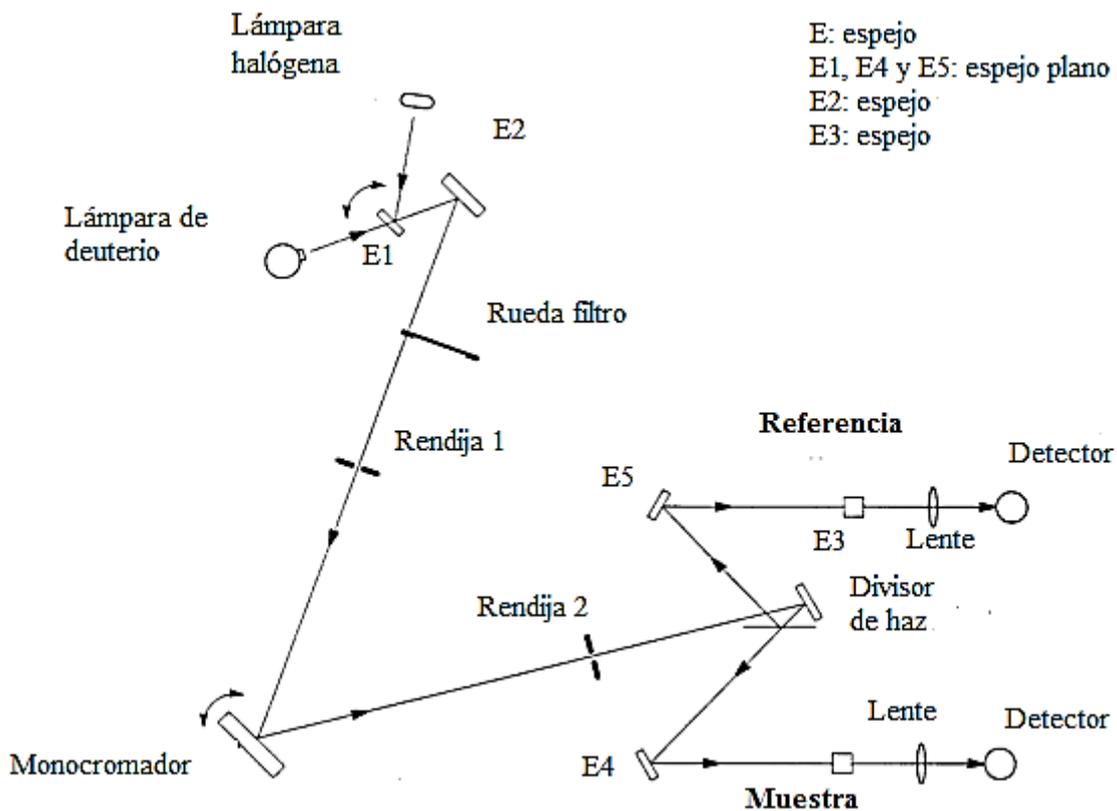


Figura 2.1.4 Esquema de un espectrómetro de UV-Vis doble haz.

Los principales componentes de un espectrofotómetro se mencionan a continuación.

Fuente de luz. Proporciona la radiación electromagnética en el rango de longitudes de onda antes mencionado. Ésta debe cumplir con las condiciones de estabilidad, distribución de energía espectral continua y larga vida. Las fuentes empleadas son una lámpara halógena y una lámpara de deuterio (D_2).

Monocromador. Separa el haz de luz que proviene de la fuente para obtener luz de una sola longitud de onda (monocromática). Esto lo logra mediante unas rejillas de difracción, que separan la luz que llega a ellas en diferentes haces con diferentes longitudes de onda.

Rendijas. Las rendijas son aberturas por las que pasan los haces incidente y monocromado. Sirven para dividir el haz, de tal manera que llegue una menor intensidad a la muestra y no ocurran anomalías por calentamiento de la muestra.

Divisor de haz. Consta de un espejo que refleja la luz hacia otro espejo que es dicróico: éste refleja y transmite parcialmente, generando así dos haces que pueden dirigirse al blanco y a la muestra.

Celda. Contiene al sistema y está hecha de un material transparente que no absorbe la luz. Si se trabaja solo en la región visible se pueden utilizar celdas de vidrio pyrex; si se trabaja en ambas regiones (o solo en el ultravioleta) se debe utilizar celdas de cuarzo, ya que el vidrio absorbe en región ultravioleta. La longitud y capacidad de las celdas varía según el equipo y diseño. Las hay de paredes cilíndricas y también de paredes planas. En este trabajo se eligieron celdas de cuarzo de base cuadrada (segunda de izquierda a derecha en la figura 2.1.5), ya que así se puede tener más control de la intensidad del haz que llega al sistema.

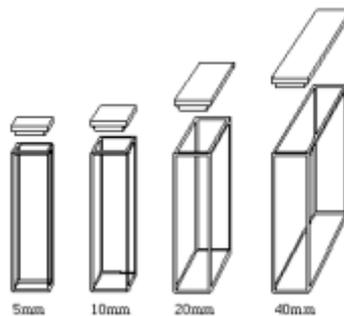


Figura 2.1.5 Ejemplos de geometrías de celdas para el espectrómetro de UV-Vis.

- **Detector.** A éste llega la radiación después de pasar por la muestra. Se trata de un fotodetector.

Como se mencionó antes, la utilidad de esta técnica para la caracterización de las nanopartículas será la de obtener la longitud de onda de máxima absorbancia, para lo cual se hará un barrido de longitudes de onda de la muestra. Con los datos obtenidos se podrá hacer una gráfica como la siguiente:

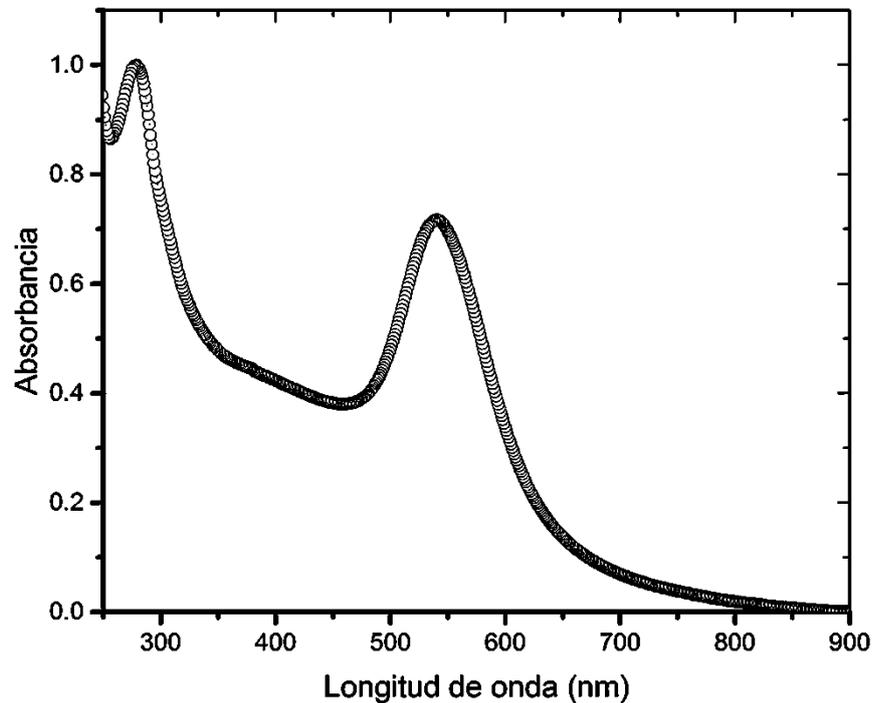


Figura 2.1.6 Gráfica típica ilustrativa de un espectro de UV-Vis perteneciente a nanopartículas Au sintetizadas con *Rumex hymenosepalus*.

En la gráfica de la figura 2.1.6 se tienen como ejes horizontal y vertical a la longitud de onda y a la absorbancia, respectivamente. Se muestran dos máximos a longitudes de onda: uno cerca de los 300 nm y otro cerca de los 550 nm. Éstos máximos son de naturalezas diferentes debido a que el primero tiene origen en las transiciones electrónicas de los compuestos fenólicos presentes en el extracto de *Rumex hymenosepalus* mientras que el segundo se trata de la banda debida a la presencia del LSPR de las nanopartículas de Au en suspensión.

2.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

En esta sección se presenta la descripción de la técnica de TEM. Se describen las generalidades de la técnica, enseguida se establecen los parámetros o propiedades importantes para la técnica, así como sus expresiones. Finalmente se describen las dos variaciones de esta técnica que se usaron en el proceso de caracterización: TEM convencional y TEM en modo barrido (STEM).

El microscopio electrónico de transmisión (transmission electron microscope o TEM en inglés) es un equipo de suma utilidad en las biociencias y nanotecnología. Con él se pueden examinar muestras en una (como capas individuales, nanotubos, nanocables y nanopartículas), dos (interfaces) y tres (multicapas, semiconductores y estructuras con nanoporos) dimensiones. En la figura 2.2.1 se muestra un diagrama de las partes de un microscopio electrónico de transmisión.

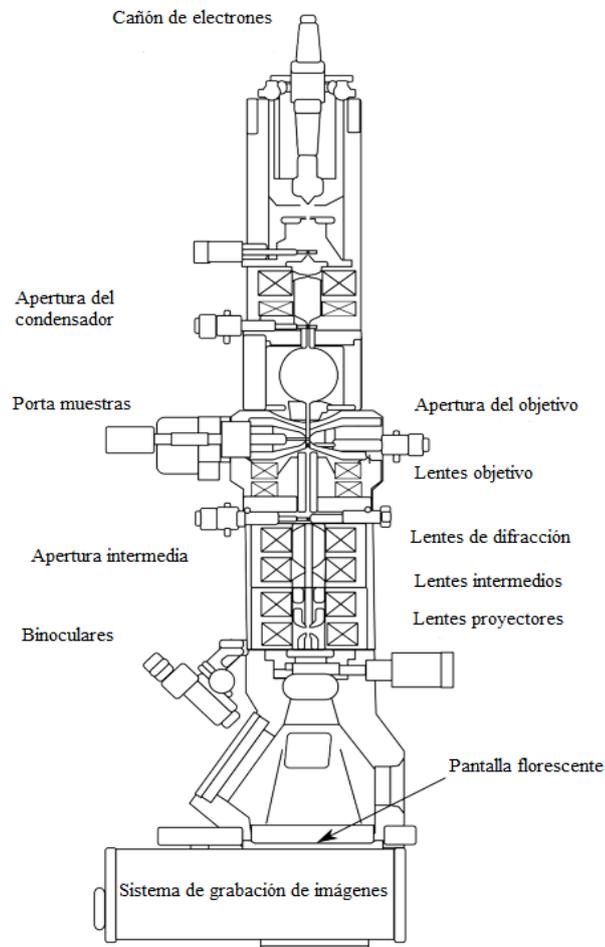


Figura 2.2.1 Diagrama de un TEM típico.

En la siguiente figura 2.2.2 se muestra una imagen comparativa entre un microscopio de luz visible (VLM en inglés) y un microscopio electrónico de transmisión. La diferencia más importante entre ambos es lo que se usa para *ver* la muestra (luz visible o electrones) y lo que se usa para controlar dicho medio.

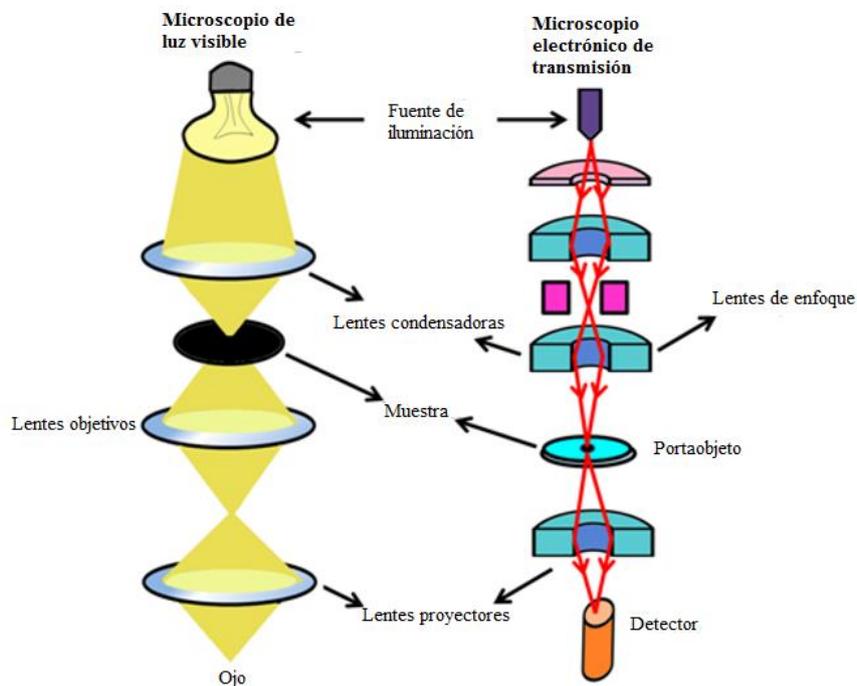


Figura 2.2.2 Diagrama comparativo entre las partes de un VLM (izquierda) y un TEM (derecha).

La distancia más corta entre dos puntos que puede resolverse es la resolución o el poder de resolución de un microscopio, ya sea de luz visible o TEM. Es más fácil pensar en la resolución de una imagen TEM en términos del criterio de Rayleigh clásico para los VLM, que establece que la distancia más pequeña que se puede resolver, δ , viene dada aproximadamente por [6]

$$\delta = \frac{0.61\lambda}{\mu \text{sen } \theta} \quad 2.2.1$$

Donde λ es la longitud de onda de la radiación, μ el índice de refracción del medio de visualización, y θ el semi-ángulo de la recopilación de la lente de aumento. En aras de la simplicidad podemos aproximar $\mu \text{sen } \theta$ (llamada a veces la apertura numérica) a la unidad por lo que la resolución es igual a la mitad de la longitud de onda de la luz.

La famosa ecuación de Louis de Broglie muestra que la longitud de onda de los electrones está relacionada con su energía E , y si ignoramos los efectos relativistas, podemos mostrar que aproximadamente (ignorando la inconsistencia en unidades):

$$\lambda = \frac{1.22}{E^{1/2}} \quad 2.2.2$$

En esta ecuación E se encuentra en eV y λ en nm.

Esta relación muestra que al aumentar la energía podemos reducir la longitud de onda de la radiación emitida y, por ende, lograr una mejor resolución. El problema es que aún no se han construido microscopios capaces de obtener enormes resoluciones (menores a 0.1 nm) debido a la imperfección actual de las lentes de electrones. Igual que en los VLM, aquí también se presentan aberraciones esféricas y cromáticas, sobre las cuales se trabaja para obtener mejores imágenes.

Los electrones son un tipo de radiación ionizante, que es el término general que se da a la radiación que es capaz de eliminar los electrones fuertemente unidos por el campo atractivo del núcleo, mediante la transferencia de parte de su energía a los átomos individuales en la muestra.

Una de las ventajas del uso de la radiación ionizante es que produce una amplia gama de señales secundarias de la muestra, algunas de ellas utilizadas en la microscopía electrónica analítica (analytical electron microscopy o AEM en inglés) que utiliza la espectrometría de rayos X de dispersión de energía (X-ray energy-dispersive spectrometry o EDS en inglés) y la espectrometría de pérdida de energía de electrones (electron energy-loss spectrometry o EELS en inglés).

Con el fin de obtener la mejor señal de nuestras muestras que tenemos que poner la mejor señal, y por esto la fuente de electrones es crítica. En consecuencia, los TEM modernos son muy buenos instrumentos generadores de señal. Algunos hasta combinan TEM y la tecnología del microscopio electrónico de barrido (scanning electron microscope o SEM en inglés) para crear el microscopio electrónico de transmisión de barrido (scanning transmission electron microscope o STEM en inglés). El STEM es la base para los AEM y un microscopio de barrido de imágenes único propio.

La profundidad de campo de un microscopio es una medida de la cantidad qué tanto del objeto que estamos mirando permanece enfocado al mismo tiempo; el término profundidad de foco se refiere a la distancia sobre la que la imagen puede moverse con respecto al objeto y todavía permanecer enfocada. Las lentes del TEM gobiernan estas propiedades tal como lo determina la resolución. Una forma de mejorar su rendimiento es insertar muy pequeñas aberturas limitantes, estrechando el haz hasta un 'lápiz' de electrones fino a lo sumo de unos pocos micrómetros de diámetro.

Si bien esta gran profundidad de campo se utiliza principalmente en el SEM para producir imágenes 3D de las superficies de las muestras con grandes cambios en la topografía, esto también es fundamental en el TEM. Resulta que en el TEM, la muestra está por lo general enfocada de la superficie superior e inferior, al mismo tiempo, independientemente de su topografía, siempre y cuando sea transparente a los electrones.

Además, se puede grabar la imagen final en diferentes posiciones por debajo de la lente final del instrumento y todavía estará enfocada. Con el VLM, a menos que la superficie de la muestra sea plana dentro de la longitud de onda de la luz, no estará todo enfocado al mismo tiempo.

La difracción de electrones es una parte indispensable del TEM y es sin duda el aspecto más útil para los científicos de materiales y nanotecnólogos para quienes la estructura cristalina es una característica esencial cuando se trata de controlar las propiedades. Una de las ventajas es que el patrón de difracción puede ser vinculado a la imagen del área de la muestra de la que procede, y si se converge el haz del TEM paralelo a una sonda centrada, entonces se pueden producir patrones convergentes de haces aún más llamativos del que se puede realizar un análisis de simetría cristalino completo de los cristales minúsculos.

El precio a pagar por cualquier técnica de formación de imágenes de alta resolución es que sólo se mira a una pequeña parte de la muestra en un momento dado. Cuanto mayor sea la resolución, peor es la capacidad de muestreo del instrumento.

Otro problema es que el TEM nos presenta imágenes en 2D de muestras 3D, vistos en la transmisión. Es decir, una imagen TEM no tiene sensibilidad de profundidad como otras técnicas que son sensibles a la superficie o a lo profundo. Se requieren técnicas adicionales si se requiere la caracterización completa de la muestra.

Un efecto perjudicial de la radiación ionizante es que puede dañar las muestras, particularmente polímeros o ciertos minerales y cerámicas. Algunos aspectos de los daños del haz se acentúan a voltajes más altos, y mientras que instrumentos comerciales que ofrecen hasta 400 kV, los daños causados pueden limitar mucho de lo que hacemos en el TEM, incluso con metales refractores.

Sin embargo, se pueden combinar fuentes de electrones más intensos con detectores de electrones más sensibles y utilizar la ampliación del equipo de imágenes con ruido para minimizar la dosis total que recibe la muestra a niveles por debajo del umbral de daño. Las técnicas de microscopía de dosis mínima, combinadas con el enfriamiento de las muestras (criomicroscopía) y cámaras de dispositivo de carga acoplada (charge coupled device o CCD, en inglés) de bajo ruido, son enfoques estándar en la TEM biológica y permiten obtener

imágenes incluso cuando sólo unos pocos cientos de electrones por nanómetro cuadrado están golpeando la muestra.

Las muestras tienen que ser transparentes a los electrones. Para que una muestra sea transparente a los electrones, tiene que ser lo suficientemente delgada como para transmitir suficientes electrones de tal manera que suficiente intensidad caiga en la pantalla, CCD o placa fotográfica para dar una imagen interpretable en un tiempo razonable.

En TEM se requiere utilizar muestras con espesores menores a 100 nm. En casos extremos, como HRTEM o espectrometría de electrones, son esenciales espesores <50 nm (incluso <10 nm). Estas exigencias se vuelven menos estrictas a medida que aumenta el voltaje del haz, pero produce daños a causa del haz.

Un TEM moderno es esencialmente una columna de electro-óptica en la que se puede mantener un buen vacío, pero las lentes y la mayoría de otras funciones pueden ser controladas por una o más computadoras. Una máquina de 200 o 300 KeV puede combinar aspectos de HRTEM, HVEM, IVEM, STEM y AEM.

De hecho, el TEM demuestra de rutina características de partícula y de onda del electrón. Primero, podemos relacionar el momento p de la partícula con su longitud de onda λ a través de la constante de Planck mediante

$$\lambda = \frac{h}{p} \quad 2.2.3$$

En el TEM se imparte un momento al electrón para acelerarlo mediante una caída de potencial V , dándole una energía cinética eV . Esta energía potencial debe ser igual a la energía cinética, por lo tanto

$$eV = \frac{m_0 v^2}{2} \quad 2.2.4$$

Despejando la velocidad de la ecuación anterior y sustituyendo en la definición de momento lineal mv

$$p = m_0 v = (2m_0 eV)^{1/2} \quad 2.2.5$$

Estas ecuaciones definen la relación entre la longitud de onda del electrón λ , y el potencial de aceleración del microscopio electrónico V , mediante

$$\lambda = \frac{h}{(2m_0 eV)^{1/2}} \quad 2.2.6$$

Aunque el tratamiento anterior fue no relativista, es necesario considerar que para energías mayores de alrededor de 100 keV los electrones viajan a un poco más de la mitad de la

velocidad de la luz. Por esta razón, es necesario modificar la ecuación anterior para transformarla en la siguiente

$$\lambda = \frac{h}{[2m_0eV(1 + \frac{eV}{2m_0c^2})]^{1/2}} \quad 2.2.7$$

Sección transversal de interacción y su diferencial [6]

La probabilidad de que un electrón en particular se encuentra sometido a algún tipo de interacción con un átomo se determina mediante una sección transversal de interacción. Este concepto no representa un área física. Más bien representa la probabilidad de que ocurra un evento de dispersión cuando se divide por el área del átomo.

Dispersión de un átomo aislado primero se considerará la sección transversal de un átomo aislado para luego extender el concepto a una muestra. Siguiendo a Heindenreich, se puede definir la sección transversal en términos del radio efectivo de un solo átomo aislado, r

$$\sigma_a = \pi r^2 \quad 2.2.8$$

Como lo que interesa en el TEM es si los electrones no pasan por la apertura de los lentes o no llegan al detector de electrones, hay que definir un diferencial de sección transversal, que describe la distribución angular de dispersión de un átomo.

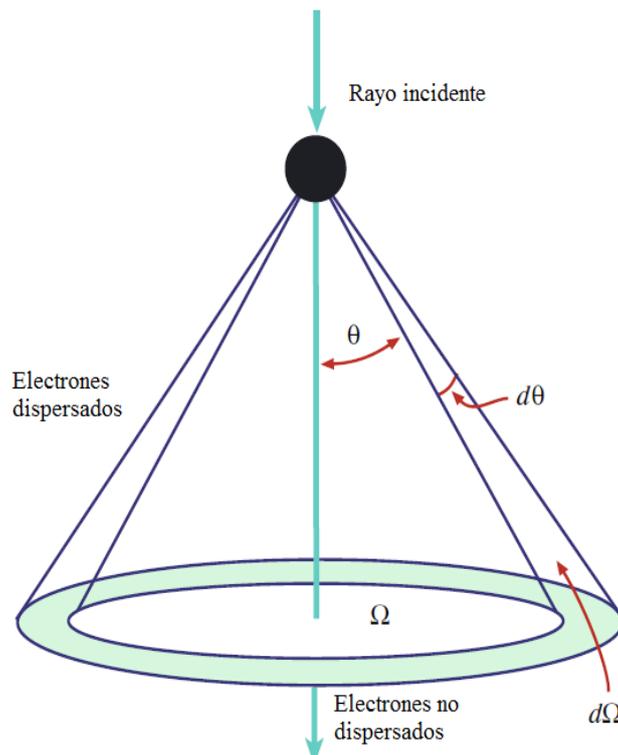


Figura 2.2.3 Esquema para el cálculo de la sección transversal de interacción [6].

Como se puede apreciar en la figura 2.2.3, los electrones se dispersan desde un ángulo θ hasta un ángulo sólido Ω y la relación geométrica entre ellos es

$$\Omega = 2\pi(1 - \cos \theta) \quad 2.2.9$$

Por lo tanto

$$d\Omega = 2\pi \sin \theta d\theta \quad 2.2.10$$

Por lo que el diferencial de sección transversal de un solo átomo puede escribirse como

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{1}{2\pi \sin \theta} \frac{d\sigma}{d\theta} \quad 2.2.11$$

Entonces, para obtener la sección se integra de 0 a π (esto debido a los diferentes tipos de dispersión) para obtener

$$\sigma_a = \int_0^\pi d\sigma = 2\pi \int_0^\pi \frac{d\sigma}{d\Omega} \sin \theta d\theta \quad 2.2.12$$

Para la dispersión total de la muestra, si se considera que ahora hay N átomos por unidad de volumen, se puede definir la sección transversal total de la muestra

$$\sigma_T = N\sigma_a \quad 2.2.13$$

Expresando a N en términos de cantidades conocidas, se obtiene

$$\sigma_T = N\sigma_a = \frac{N_0 \sigma_a \rho}{A} \quad 2.2.14$$

Con N_0 el número de Avogadro, A el peso atómico de la muestra (en kg/mol) y ρ la densidad del material (en kg/m³). Para tomar en cuenta el grosor de la muestra solo hace falta multiplicarlo por la expresión anterior.

Detector Anular para Dispersión a Grandes Ángulos-Campo Oscuro (HAADF)

En la técnica HAADF empleado en un equipo STEM, un gran detector con geometría anular es colocado en un sitio lejano respecto a la muestra, como se ilustra en la figura 2.2.4.

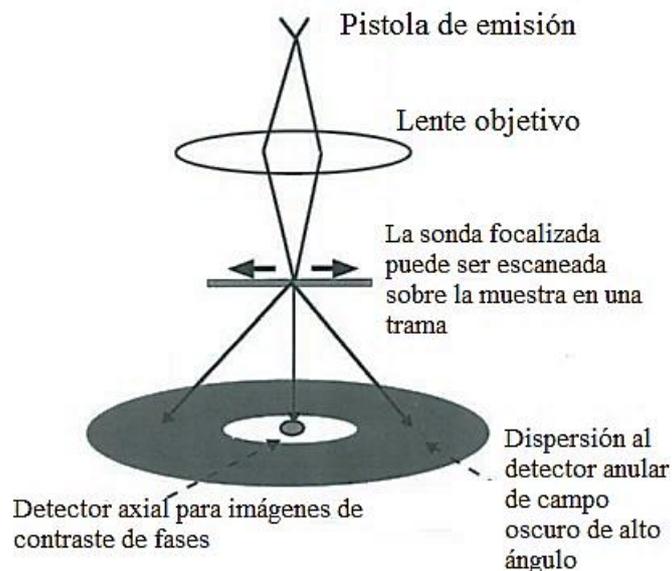


Figura 2.2.4 Esquema simplificado de un equipo STEM mostrando la geometría de un detector HAADF (campo oscuro) y el detector para imágenes de campo claro. [7]

La intensidad recabada en todo el detector es guardada y desplegada como una función de la posición de la sonda de iluminación. Debido a que el detector procesa solo los electrones dispersados entonces cuando no hay muestra (solo el vacío) no habrá señal detectada a lo que corresponderá una “imagen” oscura y de ahí el nombre de campo oscuro. Cuanto más pesado es el átomo del elemento químico que está en la muestra mayor será la intensidad de dispersión lo cual lleva a un contraste por número atómico (contraste Z) en la imagen, apareciendo más brillantes a mayor Z cuando utilizamos HAADF. Como es de suponerse esta técnica es idónea para la identificación de elementos químicos de grandes números atómicos dentro de la muestra o bien, para contrastar elementos químicos que cumplan $Z_1 \gg Z_2$ para un apropiado contraste. En la práctica, la muestra es caracterizada procesando simultáneamente la señal en campo oscuro (HAADF) y en campo claro para fines de comparación, tal como se muestra en la figura 2.2.5 para una muestra de nanopartículas bimetálicas de Au ($Z=79$) y Ag ($Z=47$).

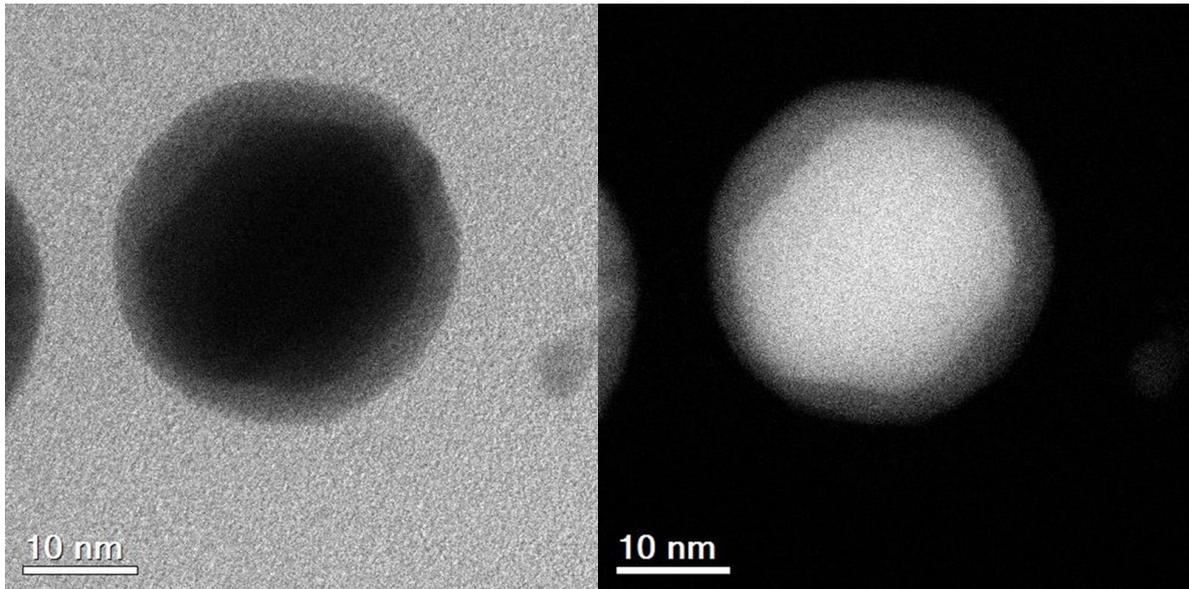


Figura 2.2.5 Nanopartícula bimetálica de Au y Ag procesadas en un equipo STEM con detectores para campo claro (izquierda) y HAADF (derecha).

Para finalizar podemos mencionar que en un detector típico de campo claro los electrones que llegan provienen de una dispersión menor de 10 mrad ($\sim 0.6^\circ$) mientras que en detector HAADF la señal proviene de electrones dispersados a ángulos mayores de 50 mrad ($\sim 3^\circ$) medidos respecto al eje del haz incidente. [8]

2.3 Dispersión dinámica de luz (DLS)

En esta sección se presenta la descripción de la técnica de DLS, además del montaje experimental, para con ello describir el fenómeno de dispersión de la luz. Por último, se explica la obtención y la interpretación de la información que proporciona esta técnica con ayuda de modelos conocidos.

En un montaje experimental típico de dispersión de luz se tiene una fuente de luz láser que incide sobre una muestra que dispersa la luz incidente en todas direcciones. Un detector colocado a un ángulo θ respecto a la dirección del haz incidente recoge la luz que se dispersa en esa dirección del detector, tal como se ilustra en la figura 2.3.1, donde el volumen de dispersión se define por la intersección del haz incidente con el haz dispersado. Este esquema corresponde al equipo utilizado BI-200SM.

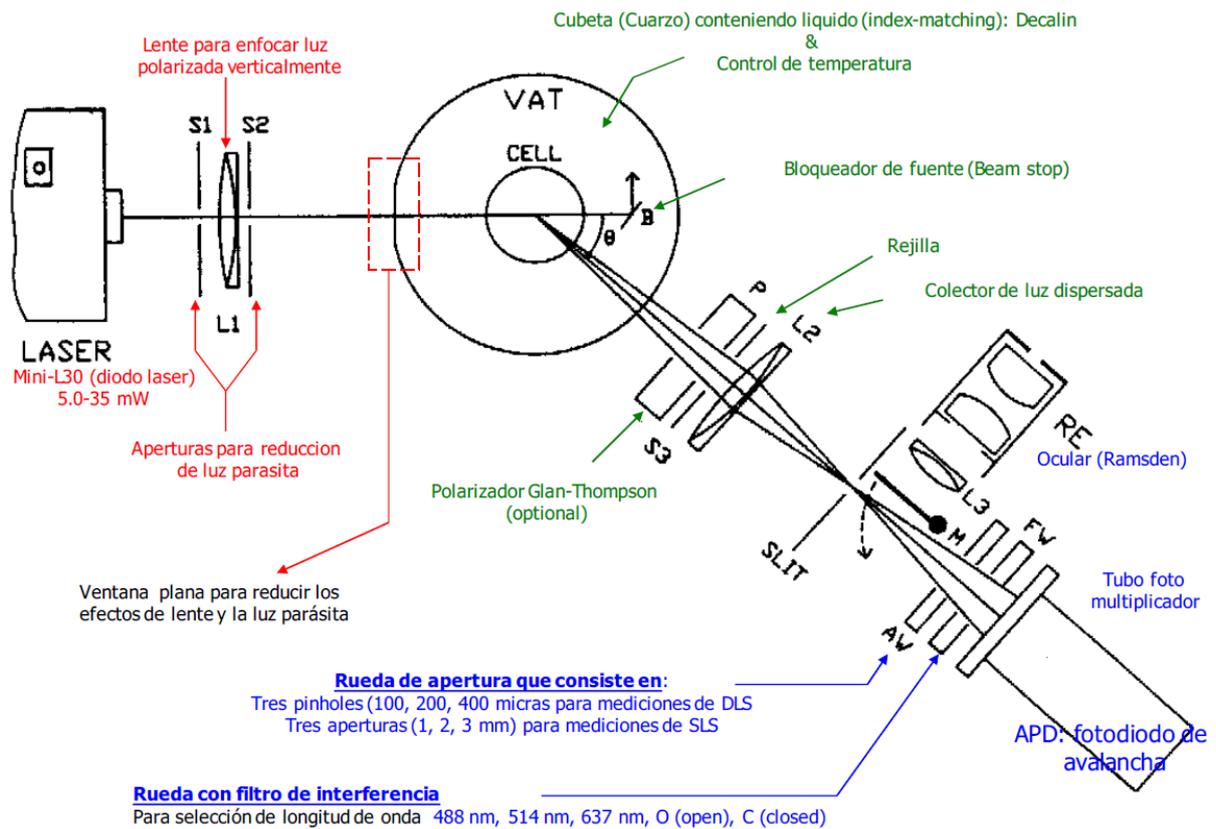


Figura 2.3.1 Esquema de la técnica de dispersión de luz.

Al incidir el campo eléctrico del haz láser sobre las partículas contenidas dentro del volumen de dispersión las cargas eléctricas (libres o ligadas) de las partículas son aceleradas por lo que deben de emitir radiación. Esta luz radiada por las partículas corresponde a la luz dispersada que llega al detector y es la contribución de todos los campos eléctricos radiados por todas las cargas contenidas dentro del volumen de dispersión, lo cual a su vez dependerá de las posiciones de las partículas y sus cargas. Dado que las partículas se desplazan dentro del volumen de dispersión por movimiento Browniano, entonces las posiciones de ellas y sus cargas cambian constantemente en el tiempo de tal manera que el campo eléctrico total que llega al detector también fluctúa temporalmente y es en estas fluctuaciones donde se encuentra la información estructural y dinámica asociada a las posiciones de las partículas que integran la muestra. En la figura 2.3.2 se muestra un comportamiento típico de la fluctuación de la intensidad de la luz dispersada, proporcional al número de kilocuentas por segundo (Kcps).

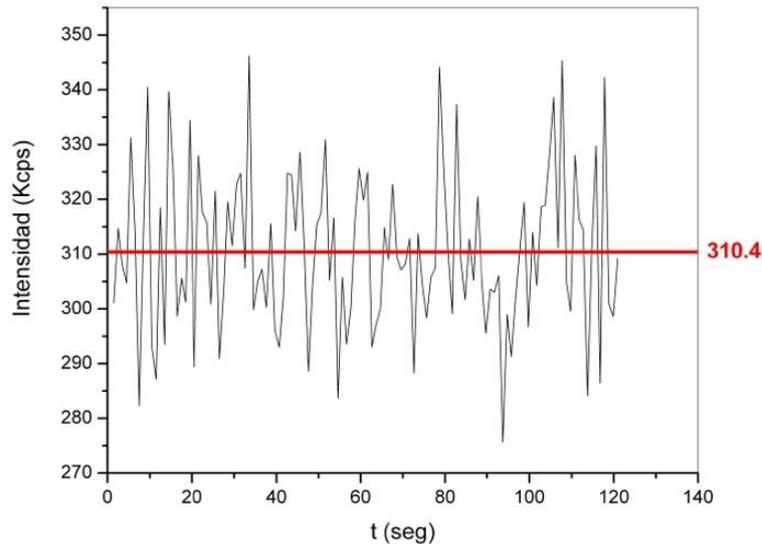


Figura 2.3.2 Gráfica típica ilustrativa de intensidad de luz dispersada de un sistema en suspensión.

En dispersión de luz podemos diferenciar entre dos tipos de experimentos: dispersión estática de luz y dispersión dinámica de luz (DLS por sus siglas en inglés). En el primer caso la información se obtiene al estudiar el comportamiento del valor medio de la intensidad posicionando el detector en diferentes ángulos. En el caso de la dispersión dinámica se estudia la autocorrelación de la intensidad en el tiempo de medición y a partir de ella se extrae la información correspondiente a los procesos difusivos en el sistema de estudio.

El análisis de la función de autocorrelación de la luz dispersada en un experimento de DLS se efectúa con la ayuda de un correlador digital. La función de autocorrelación de intensidad normalizada para un tiempo de retraso τ está dada como:

$$g^{(2)}(\tau) = \frac{\langle I(t)I(t + \tau) \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} \quad 2.3.1$$

Donde $I(t)$ y $I(t+\tau)$ son las intensidades de la luz dispersada a los tiempos t y $t+\tau$, respectivamente y los paréntesis indican promedio temporal. La figura 2.3.3 ilustra el comportamiento de la correlación de intensidad dispersada en el tiempo resultado de procesar la señal de la figura 2.3.2.

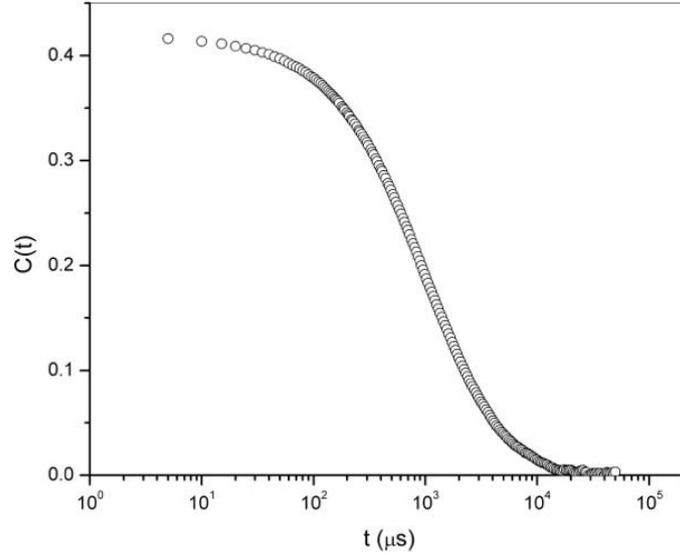


Figura 2.3.3 Comportamiento de la correlación de intensidad correspondiente a la figura 2.3.2. En este caso el eje vertical corresponde a la función de correlación no normalizada.

La función de autocorrelación de intensidad puede expresarse en términos de la función de autocorrelación de campo eléctrico como

$$g^{(2)}(\tau) = B + \beta [g^{(1)}(\tau)]^2 \quad 2.3.2$$

Donde

$$g^{(1)}(\tau) = \frac{\langle E(t)E(t + \tau) \rangle}{\langle |E(t)|^2 \rangle} \quad 2.3.3$$

Donde $E(t)$ y $E(t+\tau)$ son los campos eléctricos dispersados en los tiempos t y $t+\tau$ respectivamente y β es un factor que depende del arreglo experimental. La ecuación es conocida como la relación de Siegert. El factor base comúnmente llamado línea base (baseline en inglés) es el valor a tiempos largos de $g^{(2)}(\tau)$. Aunque el factor B debe ser igual a 1, en la práctica, el ruido medido hace que se obtengan valores que difieren de 1 (aproximadamente en 10^{-4}).

Para partículas coloidales monodispersas, diluidas y a tiempos cortos, la función de autocorrelación de campo decae exponencialmente $g^{(1)}(\tau) = \text{Exp}(-\Gamma\tau)$, con una razón de decaimiento $\Gamma = Dk^2$, donde D es el coeficiente de difusión de las partículas y k el vector de onda. El coeficiente de difusión se relaciona con el radio hidrodinámico de las partículas mediante la relación de Stokes-Einstein que se puede expresar como sigue

$$R = \frac{k_B T}{6\pi\eta D} \quad 2.3.4$$

Con R el radio hidrodinámico, k_B la constante de Boltzman, T la temperatura absoluta y η la viscosidad del solvente.

En el caso general, los datos se interpretan en términos de un coeficiente de difusión efectivo, D_{eff} , que se define como

$$D_{eff} = \frac{\langle \Gamma \rangle}{k^2} \quad 2.3.5$$

Hay que destacar que toda la teoría anterior está cimentada sobre la base de que el sistema una suspensión de partículas monodispersas muy diluídas (o en general no interactuantes). En realidad muchos sistemas (incluyendo el de este trabajo) son polidispersos o están en condiciones en las que los componentes del soluto interactúan entre sí. Para estas situaciones existe el método de cumulantes, el cual descansa en la idea de que si existen más de un solo tipo de partículas, entonces cada tipo contribuye a $g^{(1)}(\tau)$ con diferentes pesos y con diferentes tiempos de decaimiento.

Si se quiere cubrir un intervalo continuo de tiempos de decaimiento (coeficientes de difusión/tamaños) podemos expresar lo descrito en el párrafo anterior como

$$g^{(1)}(\tau) = \int G(\Gamma) e^{-\Gamma\tau} d\Gamma \quad 2.3.6$$

Donde la función en el integrando es la distribución de tiempos de decaimiento.

Con esta ecuación el problema está bien definido: puesto que el lado izquierdo se obtiene del experimento y usando la relación de Siegert, el problema es encontrar la función que aparece en el integrando, para lo cual hay diversos métodos. En particular en este trabajo es de interés el llamado método de cumulantes, el cual es descrito a continuación.

En primer lugar, el factor exponencial dentro del integrando se reescribe de la siguiente forma

$$e^{-\Gamma\tau} = e^{\bar{\Gamma}\tau} e^{-(\Gamma-\bar{\Gamma})\tau} \quad 2.3.7$$

Con

$$\bar{\Gamma} = \int \Gamma G(\Gamma) d\Gamma \quad 2.3.8$$

Entonces

$$g^{(1)}(\tau) = \int G(\Gamma) e^{-\Gamma\tau} d\Gamma = \int G(\Gamma) e^{\bar{\Gamma}\tau} e^{-(\Gamma-\bar{\Gamma})\tau} d\Gamma = e^{\bar{\Gamma}\tau} \int G(\Gamma) e^{-(\Gamma-\bar{\Gamma})\tau} d\Gamma \quad 2.3.9$$

Utilizando la expansión en serie para la función exponencial, se tiene

$$e^{-(\Gamma-\bar{\Gamma})\tau} = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n!} (\Gamma - \bar{\Gamma})^n \tau^n = 1 - (\Gamma - \bar{\Gamma})\tau + \frac{1}{2} (\Gamma - \bar{\Gamma})^2 \tau^2 - \dots \quad 2.3.10$$

Lo que permite reescribir

$$g^{(1)}(\tau) = e^{\bar{\Gamma}\tau} \int G(\Gamma) \left[1 - (\Gamma - \bar{\Gamma})\tau + \frac{1}{2} (\Gamma - \bar{\Gamma})^2 \tau^2 - \dots \right] d\Gamma \quad 2.3.11$$

Esta expresión puede escribirse en términos de los momentos, ya que

$$g^{(1)}(\tau) = e^{\bar{\Gamma}\tau} \left\{ \int G(\Gamma) d\Gamma - \int G(\Gamma) (\Gamma - \bar{\Gamma}) d\Gamma + \frac{\tau^2}{2} \int G(\Gamma) (\Gamma - \bar{\Gamma})^2 d\Gamma - \frac{\tau^3}{3!} \int G(\Gamma) (\Gamma - \bar{\Gamma})^3 d\Gamma + \dots \right\} \quad 2.3.12$$

Con los momentos centrales de la distribución de tiempos de decaimiento (momentos alrededor de la media)

$$\mu_n = \int (\Gamma - \bar{\Gamma})^n G(\Gamma) d\Gamma \quad 2.3.13$$

Se puede expresar finalmente

$$g^{(1)}(\tau) = e^{-\bar{\Gamma}\tau} \left[1 + \frac{\mu_2}{2!} \tau^2 - \frac{\mu_3}{3!} \tau^3 + \frac{\mu_4}{4!} \tau^4 - \dots \right] \quad 2.3.14$$

Reescalando el tiempo se obtiene

$$g^{(1)}(\tau) = e^{-\bar{\Gamma}\tau} \left[1 + \frac{\mu_2}{2! \bar{\Gamma}^2} (\bar{\Gamma}\tau)^2 - \frac{\mu_3}{3! \bar{\Gamma}^3} (\bar{\Gamma}\tau)^3 + \frac{\mu_4}{4! \bar{\Gamma}^4} (\bar{\Gamma}\tau)^4 - \dots \right] \quad 2.3.15$$

Esta expresión muestra que la varianza normalizada (coeficiente del término cuadrático) de $G(\Gamma)$ es la medida de la desviación de la exponencial simple. Dicho término es conocido como índice de polidispersidad.

Para el análisis de datos se reescribe

$$\begin{aligned} \ln \sqrt{g^{(2)} - 1} &= \ln \sqrt{\beta [g^{(1)}(\tau)]^2} = \frac{1}{2} \ln(\beta) + \ln[g^{(1)}(\tau)] \\ &= \frac{1}{2} \ln(\beta) - \bar{\Gamma}\tau + \ln \left[1 + \frac{\mu_2}{2!} \tau^2 - \frac{\mu_3}{3!} \tau^3 + \frac{\mu_4}{4!} \tau^4 - \dots \right] \end{aligned} \quad 2.3.16$$

Utilizando la aproximación

$$\ln(1+x) \approx x - \frac{x^2}{2} + \frac{x^3}{3} - \frac{x^4}{4} + \dots \quad 2.3.17$$

Se obtiene que

$$\ln \sqrt{g^{(2)} - 1} = \frac{1}{2} \ln(\beta) - \bar{\Gamma}\tau + \frac{1}{2} \mu_2 \tau^2 - \frac{1}{3!} \mu_3 \tau^3 + \frac{1}{4!} [\mu_4 - 3\mu_2^2] \tau^4 - \dots \quad 2.3.18$$

En términos de la función de correlación del software utilizado

$$\ln[C(\tau)] = \ln(\beta) - 2\bar{\Gamma}\tau + \mu_2 \tau^2 - \frac{1}{3} \mu_3 \tau^3 + \frac{1}{12} [\mu_4 - 3\mu_2^2] \tau^4 - \dots \quad 2.3.19$$

Referencias

- [1] Kalsi, P. S. (2007). *Spectroscopy of organic compounds*. New Age International.
- [2] Lax, M. (1952). The Franck-Condon Principle and Its Application to Crystals. *The Journal of Chemical Physics*, 20(11), 1752-1760.
- [3] Presentación electrónica: Curso Básico de Espectroscopía Ultravioleta-Visible. Amézquita L. Fernando, Mendoza O. Diana. Universidad de Guanajuato, Facultad de Química, 2008. <http://www.dzne.ugto.mx/Contenido/revista/numeros/12/A9.pdf>
- [4] Petryayeva, E., & Krull, U. J. (2011). Localized surface plasmon resonance: nanostructures, bioassays and biosensing—a review. *Analytica chimica acta*, 706(1), 8-24.
- [5] Peiris, S., McMurtrie, J., & Zhu, H. Y. (2016). Metal nanoparticle photocatalysts: emerging processes for green organic synthesis. *Catalysis Science & Technology*, 6(2), 320-338.
- [6] Pennycook, S. J., David, B., & Williams, C. B. (2010). Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science. *Microscopy and Microanalysis*, 16(1), 111.
- [7] Nellist, P. D., & Pennycook, S. J. (2000). The principles and interpretation of annular dark-field Z-contrast imaging. *Advances in imaging and electron physics*, 113, 147-203.
- [8] Williams, D. B., & Carter, C. B. (1996). The transmission electron microscope. In *Transmission electron microscopy* (pp. 3-17). Springer Us.
- [9] Tesis de licenciatura: “Dispersión Dinámica de luz en suspensiones coloidales”, José Manuel Nápoles Duarte, Universidad de Sonora, 2004.
- [10] Berne, B. J., & Pecora, R. (1976). *Dynamic light scattering: with applications to chemistry, biology, and physics*. Courier Corporation.
- [11] Koppel, D. E. (1972). Analysis of macromolecular polydispersity in intensity correlation spectroscopy: the method of cumulants. *The Journal of Chemical Physics*, 57(11), 4814-4820.
- [12] Frisken, B. J. (2001). Revisiting the method of cumulants for the analysis of dynamic light-scattering data. *Applied Optics*, 40(24), 4087-4091.
- [13] Hassan, P. A., & Kulshreshtha, S. K. (2006). Modification to the cumulant analysis of polydispersity in quasielastic light scattering data. *Journal of colloid and interface science*, 300(2), 744-748.

- [14] Mailer, A. G., Clegg, P. S., & Pusey, P. N. (2015). Particle sizing by dynamic light scattering: non-linear cumulant analysis. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 27(14), 145102.
- [15] Roger, V., Cottet, H., & Cipelletti, L. (2016). A new robust estimator of polydispersity from dynamic light scattering data. *Analytical chemistry*, 88(5), 2630-2636.

Capítulo 3

Resultados y discusión

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos con las técnicas descritas en el capítulo anterior para la caracterización de las nanopartículas metálicas fitosintetizadas en este trabajo.

3.1 Resultados de UV-Vis

Para los resultados de esta técnica se utilizaron alícuotas de menos de 1 mL en todos los casos. Las muestras originales (O) se refieren a la medición de las nanopartículas recién obtenidas. El resuspendido 1 (R_1) se refiere a la medición que se tomó después de haber centrifugado una vez a 12000 rpm por media hora, sustituyendo el sobrenadante por alcohol y sonicando por 15 minutos. El resuspendido 2 (R_2) se refiere a la medición que se tomó después de haber procesado la muestra R_1 de la misma forma que en el caso anterior.

La figura 3.1.1 muestra los resultados para el espectro de absorción de los sistemas de nanopartículas en las diferentes etapas de limpieza para remover el extracto remanente o las sales precursoras en exceso. Primero, la línea base se fijó llevando a cero la absorción de todas las muestras en 900 nm para poder establecer una comparación relativa entre las absorciones experimentales. Posteriormente los resultados en cada caso fueron normalizados usando el máximo de absorción del extracto a la longitud de onda de 278 nm para cada espectro. Por esta razón puede apreciarse que la intensidad del máximo asociado a los plasmones de resonancia de superficie de cada metal crece respecto a la absorción del extracto conforme se limpia en cada paso al nanomaterial. Esto indica que al ir centrifugando y resuspendiendo se retira gradualmente parte del extracto no acomplejado a las nanopartículas. Por ejemplo, en el caso del sistema obtenido por síntesis simultánea (Au-Ag) no hay casi diferencia entre la absorción en el primer y segundo paso de limpieza indicando que estamos cerca del límite de remoción de extracto que podemos efectuar pues debe existir un mínimo de moléculas acomplejadas sobre el nanomaterial para lograr estabilizarlo. En este sentido, Metz *et al.* [1] evalúan la eficiencia catalítica de nanopartículas de Pd y de Ag sintetizadas empleando café como agente reductor y concluyen mediante espectroscopía infrarroja que aún después de un protocolo de limpieza de sus nanomateriales similar al nuestro, las nanopartículas metálicas seguían estando

acomplejadas (y estabilizadas) por las moléculas presentes en el café formando una coraza alrededor de las partículas [1].

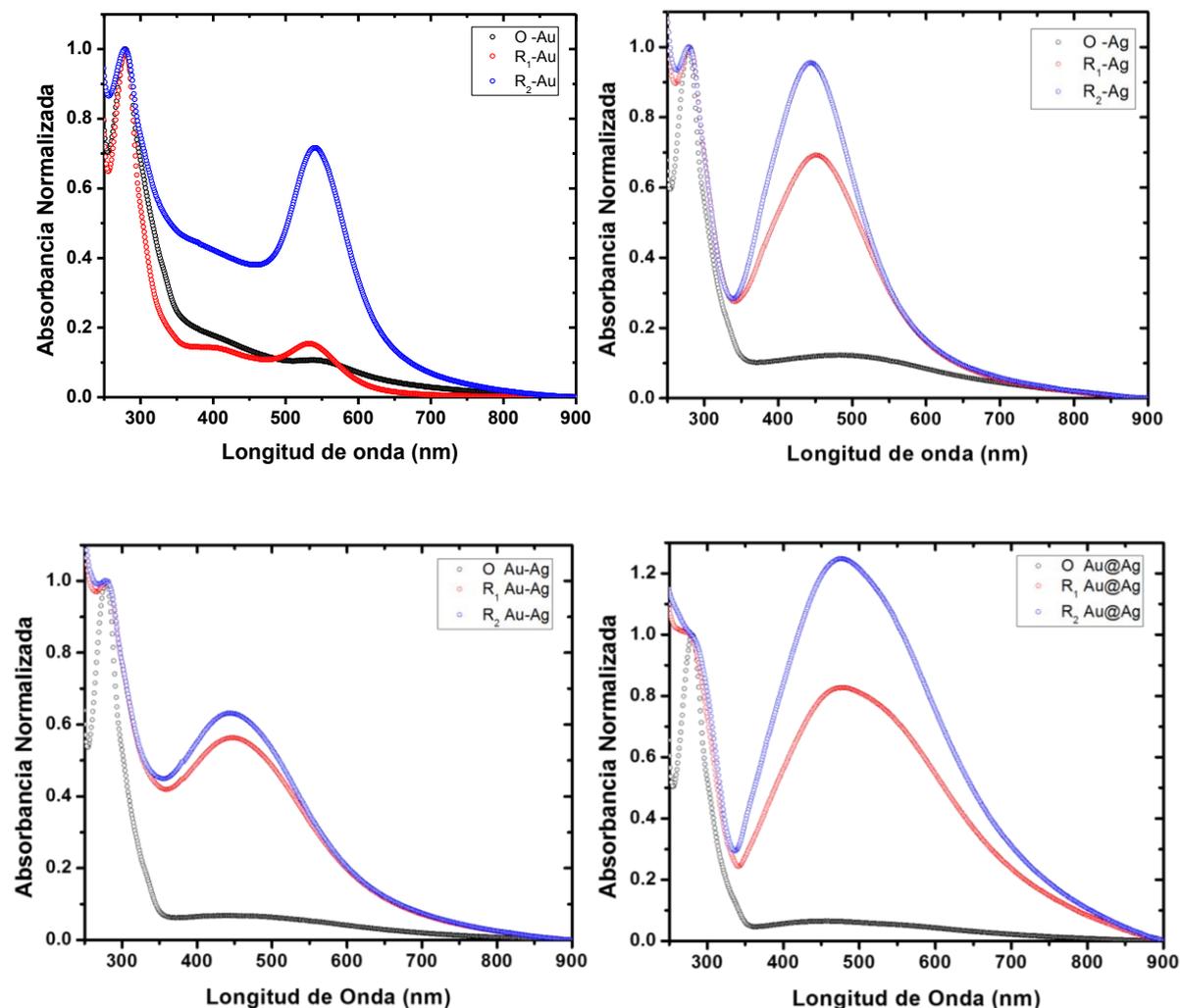


Figura 3.1.1. Aumento de la señal al realizar centrifugaciones y resuspensiones consecutivas. Sistemas de nanopartículas individuales.

De lo anterior puede inferirse que la comparación del plasmón de las nanopartículas con el máximo del extracto es un indicio de la presencia relativa de las primeras: si la intensidad del plasmón está debajo de la unidad hay menos nanopartículas que extracto, si la intensidad del plasmón está muy cercana a la unidad hay aproximadamente la misma cantidad de extracto y de nanopartículas y si la intensidad del plasmón rebasa la unidad hay más nanopartículas que extracto.

En la figura 3.1.2 la absorción óptica se ha normalizado respecto al máximo de la absorción asociada al plasmón de resonancia de superficie para cada material. Como se observa, las nanopartículas monometálicas presentan un solo pico bien definido ubicados en 445 nm para la plata y en 544 nm para el oro lo cual sugiere morfologías isotrópicas (cuasiesferas). Es de

esperar que las bandas de absorción asociadas a las nanopartículas bimetálicas obtenidas por las dos rutas de síntesis den máximos ubicados entre 445 nm-544 nm si la morfología de los productos sigue siendo esférica [2]. En la síntesis simultánea o de co-precipitación los iones Au^{3+} y Ag^{+1} son reducidos simultáneamente por las moléculas antioxidantes del extracto de la raíz de la planta *Rumex hymenosepalus*. El producto generado de esta reacción de óxido-reducción son nanopartículas bimetálicas Au-Ag en forma de aleaciones, lo cual se puede confirmar por el hecho de que el espectro UV-vis de este material muestra solamente una banda de plasmón de resonancia en vez de dos bandas correspondientes a las nanopartículas monometálicas de Au y de Ag que aparecerían en caso de estar los materiales segregados entre sí formando una mezcla de nanopartículas de Ag más nanopartículas de Au.

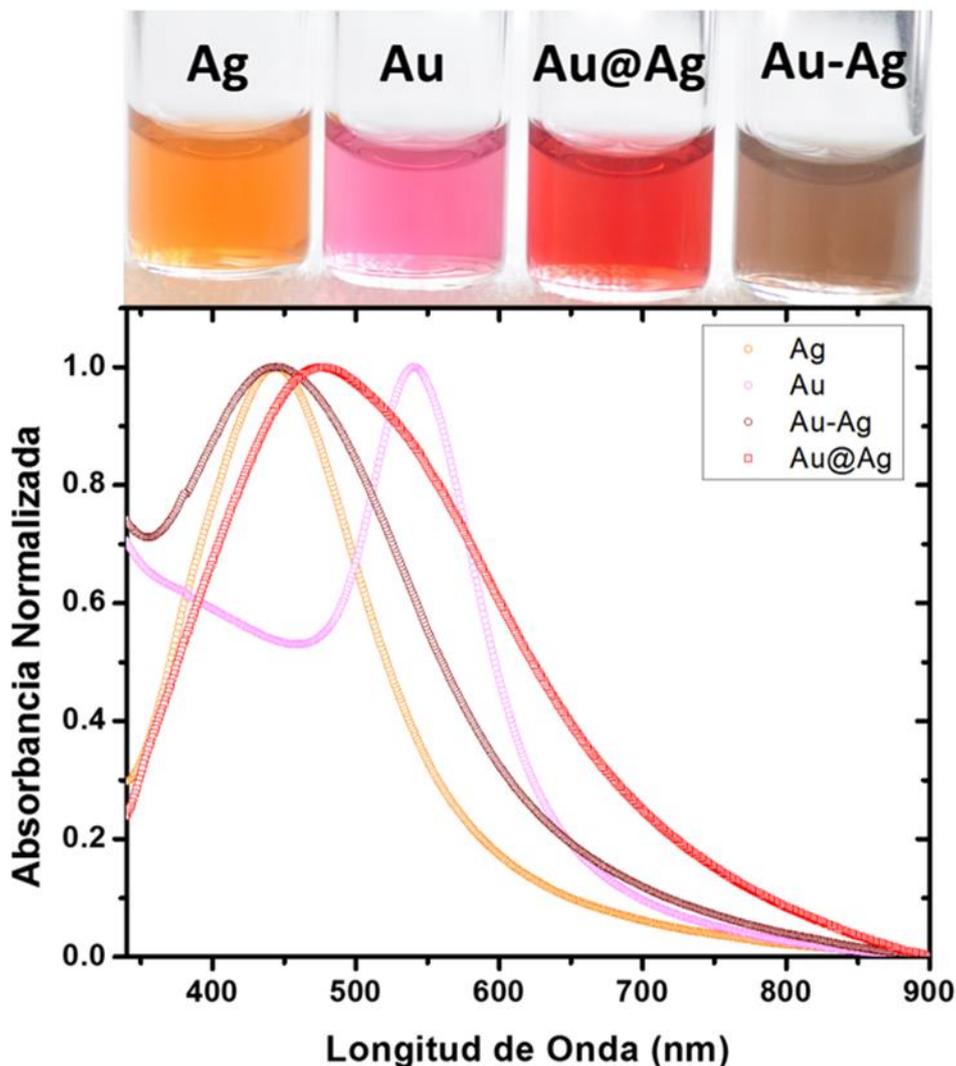


Figura 3.1.2 Espectros de absorción normalizados de los distintos nanomateriales sintetizados con el extracto de *Rumex hymenosepalus*. Arriba se muestran las soluciones coloidales de cada producto sintetizado.

En la figura 3.1.2 se observa que la ubicación del plasmón de la aleación Au-Ag prácticamente coincide con el de las nanopartículas de plata; ello puede explicarse si tomamos en cuenta que al momento de llevar a cabo la reacción de la síntesis simultánea la proporción molar empleada fue 1:10 (Au:Ag) de tal forma que la respuesta óptica debería provenir prácticamente de los átomos de plata de acuerdo a la estequiometría de la síntesis. También de la comparación entre ambos espectros (Ag y Au-Ag) vemos un ensanchamiento de la banda de absorción de la aleación respecto a la plata monometálica donde los anchos medios son 240 nm (Au-Ag) respecto a 150 nm (Ag) indicando que la población de tamaños es más polidispersa en la aleación, lo que se verificará con la información obtenida por otras técnicas de caracterización (TEM y DLS).

Por su parte, en la síntesis secuencial de las nanopartículas bimetálicas el espectro de absorción presenta también una sola banda centrada en 474 nm y que prácticamente abarca toda la región del espectro comprendida en el experimento. La ubicación del máximo del PSRL cercano al de la plata sugiere que los nanomateriales obtenidos por síntesis secuencial son estructuras core@shell, donde no es posible detectar alguna banda de absorción asociada al oro que se encuentra en el núcleo. En este sentido algunos autores argumentan que para sistemas core@shell bimetálicos los espectros de absorción se componen de dos bandas asociadas a cada uno de los metales para espesores de coraza entre 3-4 nm y para espesores mayores la absorción asociada al metal del núcleo desaparece obteniéndose un solo espectro de absorción donde la ubicación del máximo depende de la relación de tamaños espesor/núcleo de la partícula bimetálica. [3,4]

3.2 Resultados de Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM), HRTEM y STEM

En la caracterización estructural de los nanomateriales sintetizados se emplearon dos microscopios electrónicos de transmisión. El primero de ellos es un TEM de emisión de campo, marca JEOL y modelo F2010, mostrado en la figura 3.2.1. Este equipo cuenta con un corrector de aberración esférica permitiendo una resolución espacial de 1.2 Å. Con este equipo, aun voltaje de operación de 200 KV se obtuvieron las micrografías de alta resolución (HRTEM, por sus siglas en inglés) que permitió caracterizar la estructura cristalina de las nanopartículas.



Figura 3.2.1 Microscopio Electrónico de Transmisión JEOL F2010 (Universidad de San Antonio, Texas).

El otro microscopio empleado es un Microscopio Electrónico de Transmisión de emisión de campo en modo barrido (STEM) de la compañía Jeol, modelo JEM-ARM200F equipado con detector anular HAADF. Este equipo ofrece una resolución sub-Amstrong de 80 picómetros 0.08 nm para muestras caracterizadas con el detector HAADF. El equipo se muestra en la figura 3.2.2. Para el estudio por microscopía electrónica de transmisión (TEM) se depositaron $10 \mu\text{L}$ de las muestras en rejillas para TEM, de cobre (300 mesh) y con soporte “Lacey-Carbon”. Después de depositadas las muestras, las rejillas se dejan secar por 1 hora en el ambiente del laboratorio y después se colocan en una cámara de vacío por 12 horas para su posterior estudio por TEM y STEM.

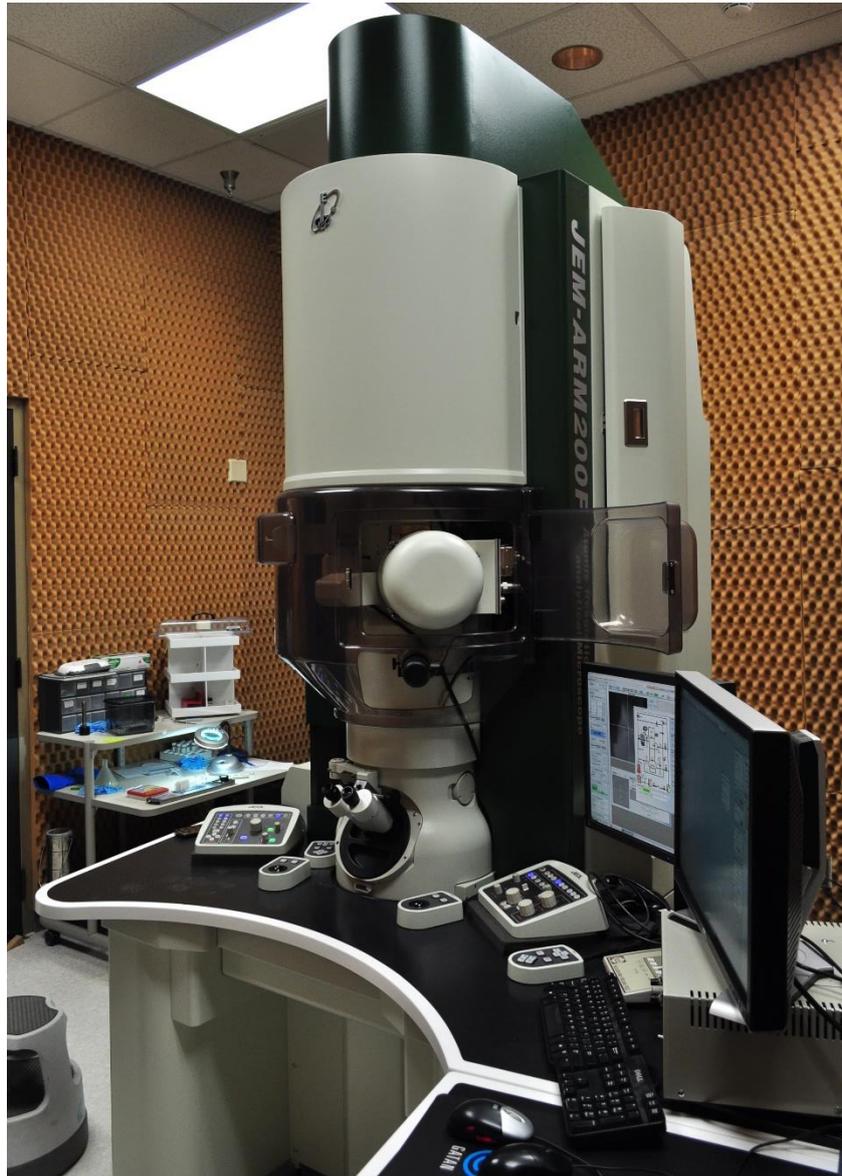


Figura 3.2.2 Microscopio Electrónico de Transmisión JEOL JEM-ARM200F (Universidad de San Antonio, Texas).

Sistema de nanopartículas Au

La síntesis de las nanopartículas de Au da lugar a un sistema que cambia de color en forma gradual mientras se produce el material en el recipiente de la reacción. La solución pasa de tener un color amarillento al inicio a tornarse rojo oscuro con el aumento de nanopartículas sintetizadas. El cambio de color de la mezcla de reactantes originales hasta obtener el color característico de una dispersión coloidal de oro se da al cabo de los 15 minutos de iniciada la reacción. Aquí es importante recalcar que la condición de iluminación fue la prevaleciente en

el laboratorio (2 lámparas de luz halógena de techo 39 W c/u) y que se procuró fuese la misma en la preparación de los distintos materiales.

En la figura 3.2.3 se puede apreciar el nanomaterial de Au disperso en el soporte de carbono de la rejilla. Es visible que las partículas aquí mostradas tienen tamaños similares, pero no las mismas formas. Aparecen como esferas, triángulos truncos, pentágonos y decaedros (círculos rojos).

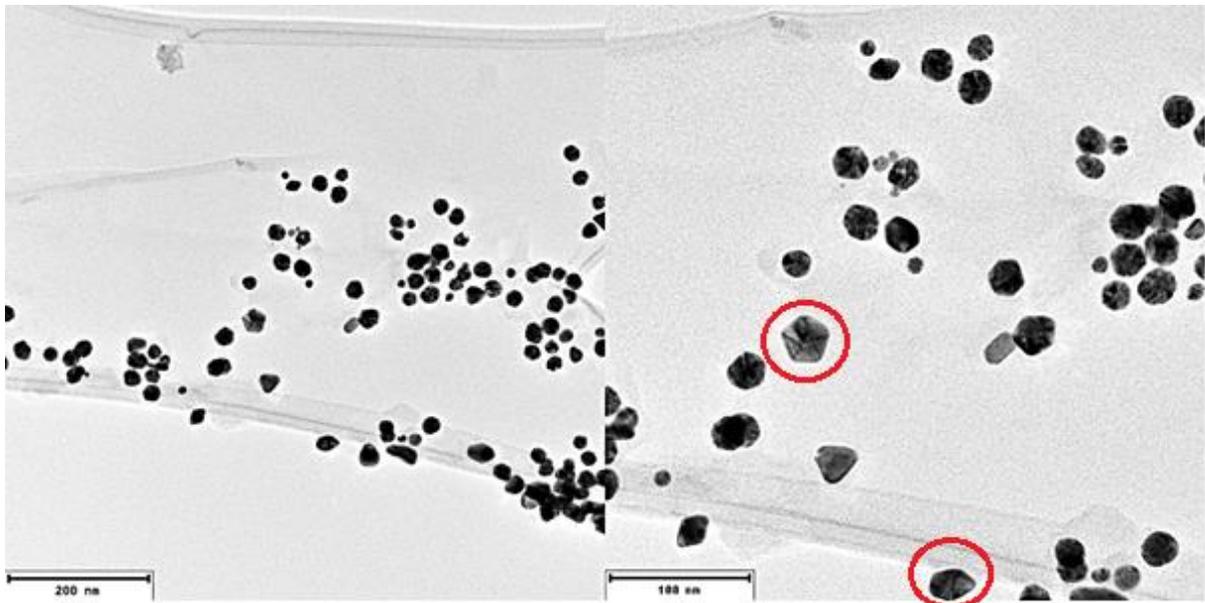


Figura 3.2.3 Dispersión de nanopartículas Au sintetizadas con *Rumex hymenosepalus*.

En la figura 3.2.4 se muestran las formas en detalle de nanopartículas individuales: en la imagen izquierda las nanopartículas muestran diferentes caras (delimitadas por las líneas más oscuras) y sus planos. En la figura del centro destaca un triángulo trunco y en la imagen a la derecha se aprecian dos caras de una nanopartícula con forma de decaedro vista lateralmente.

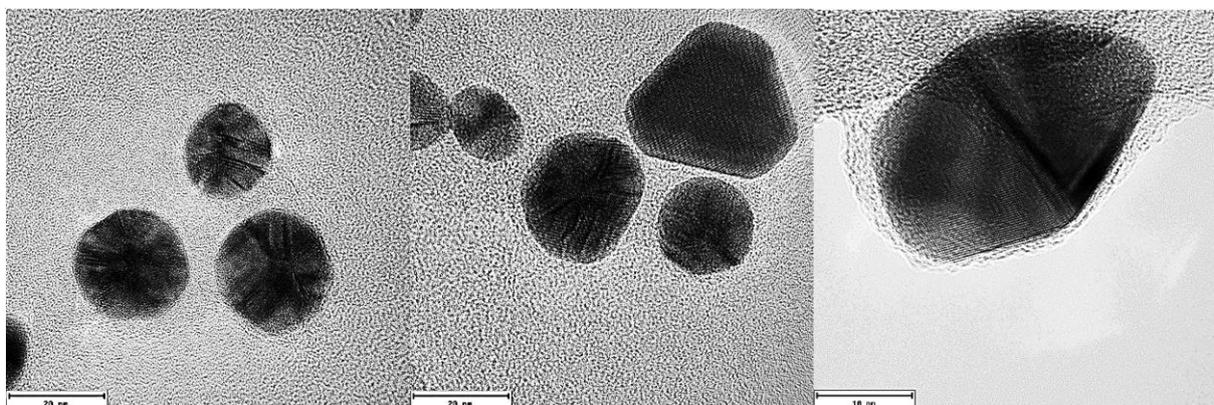


Figura 3.2.4 Diferentes morfologías de las nanopartículas Au.

La figura 3.2.5 muestra el histograma correspondiente a la distribución de tamaños de las nanopartículas de oro obtenidas de la síntesis con Rumex. Para la estadística se contaron 300 partículas de las micrografías de TEM usando el software ImageJ. Como se observa, la mayoría de la población de partículas presenta un diámetro de entre 24 y 26 nm. Esto es, el 65% de las partículas medidas tiene un tamaño entre 20 y 28 nm y el resto presenta tamaños mayores, hasta 38 nm y menores, desde 6 nm. En promedio el tamaño es $Au_{Nps} = 23.4 \pm 5nm$.

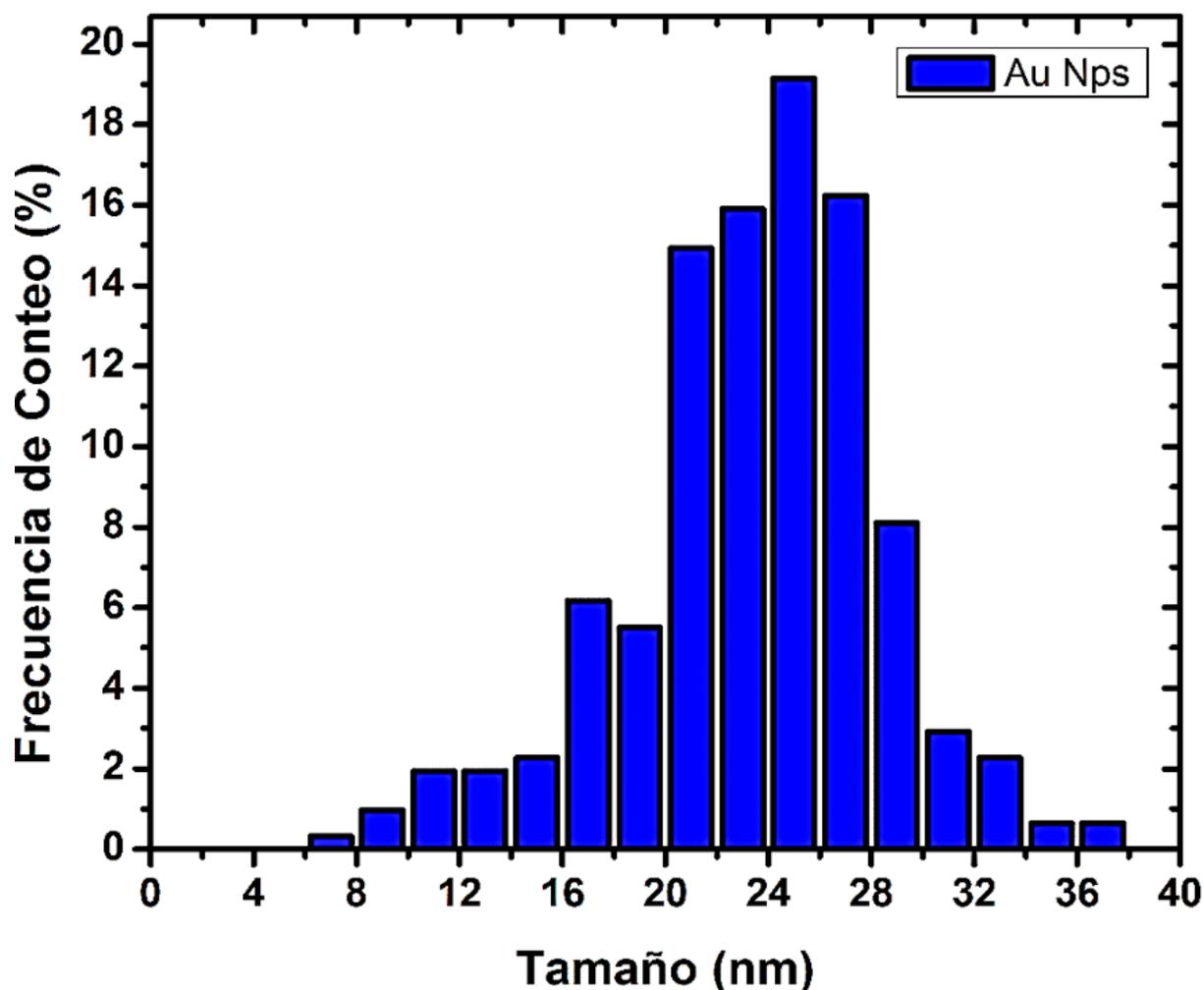


Figura 3.2.5 Dispersión de tamaños de nanopartículas Au.

Sistema Au-Ag Síntesis Simultánea (Aleación Au-Ag)

La síntesis simultánea de los metales Au-Ag dan lugar a un sistema que cambia al instante de color al combinarse las soluciones precursoras metálicas de oro ($H AuCl_4$ 0.01M) y de plata ($AgNO_3$ 0.1M) en presencia del agente reductor, dentro del recipiente donde se lleva a cabo la

reacción, obteniéndose una suspensión de color negro muy oscuro y precipitándose los sólidos al dejar de agitar.

En primer lugar, las imágenes de TEM muestran un nanomaterial que no se encuentra disperso. La figura 3.2.6a muestra una imagen y su amplificación mientras que la figura 3.2.6b es una amplificación mayor. Ahí se puede observar que el material está conglomerado y con la posibilidad de formar aleaciones.

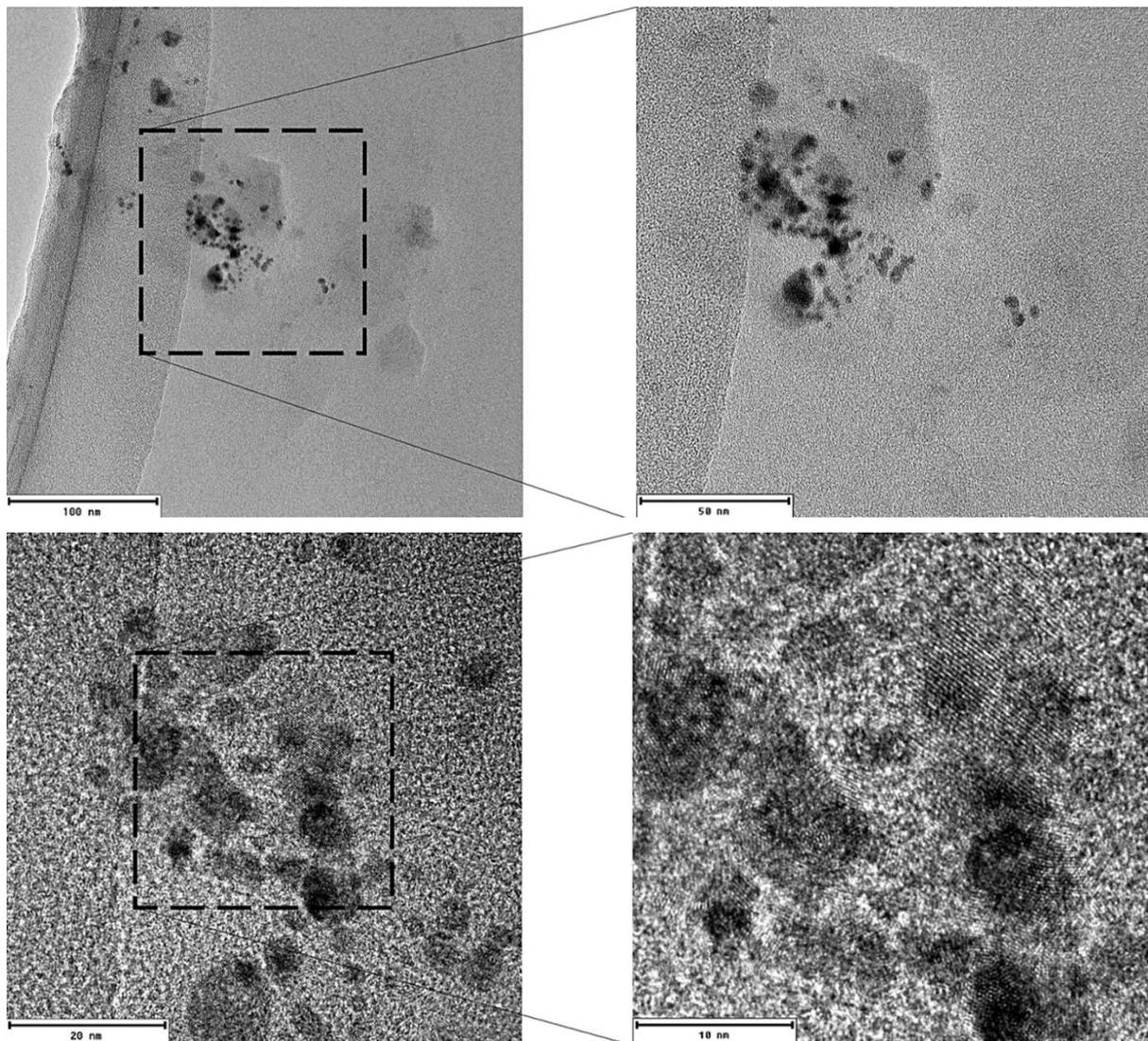


Figura 3.2.6 a (superior) Imagen TEM de nanopartículas Au-Ag obtenidas por síntesis simultánea y b (inferior) amplificación de una sección de la imagen en a.

A continuación, vienen las imágenes de STEM en las que se pueden apreciar dos detalles. El primero es que se presentan una gran diversidad de tamaños que van desde 10 nm hasta 300 nm aproximadamente. Lo segundo es que los metales del nanomaterial se encuentran dispersos

y no siempre en la forma core@shell que se esperaba que tuvieran. En las figuras 3.2.7 se observa al oro (más negro a la izquierda y más blanco a la derecha) en mayor cantidad y diversidad de tamaños al contrario de la plata (en gris) que en algunos casos se encuentra recubriendo al oro y en otros formando partículas/agregados por sí sola.

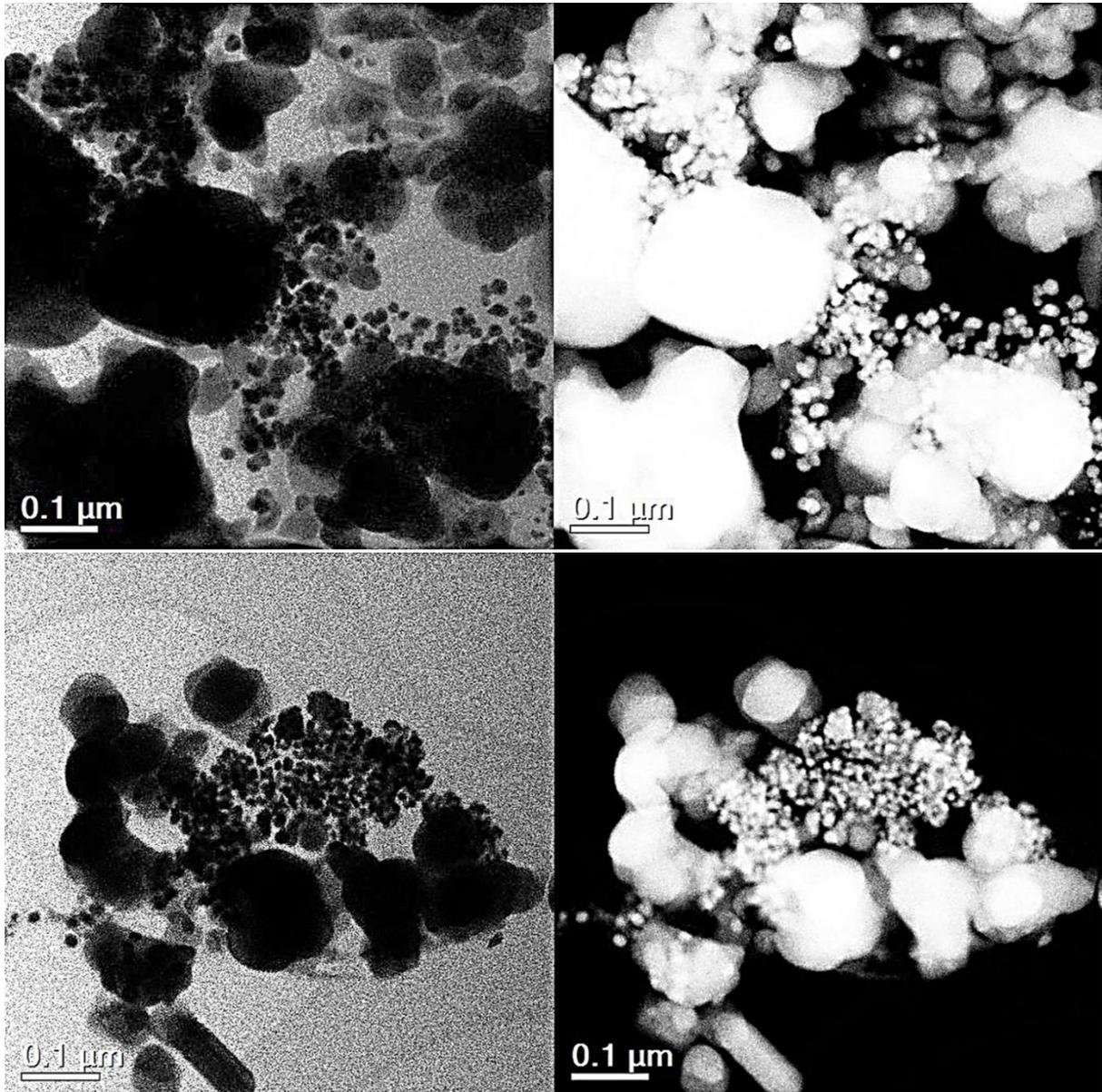


Figura 3.2.7 Imagen STEM de nanopartículas Au-Ag obtenidas por síntesis simultánea. (Izquierda: campo claro, derecha: campo oscuro)

A partir de las imágenes de TEM y STEM se construyó la gráfica de distribución de tamaños considerando la estadística de tamaños de 250 partículas mediante el software Image J. Los resultados se presentan en la figura 3.2.8. Se consideraron en el conteo las imágenes en las que se permitía llevar a cabo dicho proceso hasta cierto punto, considerando que se podía distinguir

entre partículas. De la figura 3.2.8 se observa que la mayoría de la población de partículas presenta un diámetro de entre 20 y 30 nm. Esto es, que tres cuartos del total de partículas medidas tiene un tamaño igual o menor a 30 nm y el cuarto restante presenta tamaños mayores, llegando hasta los 300 nm.

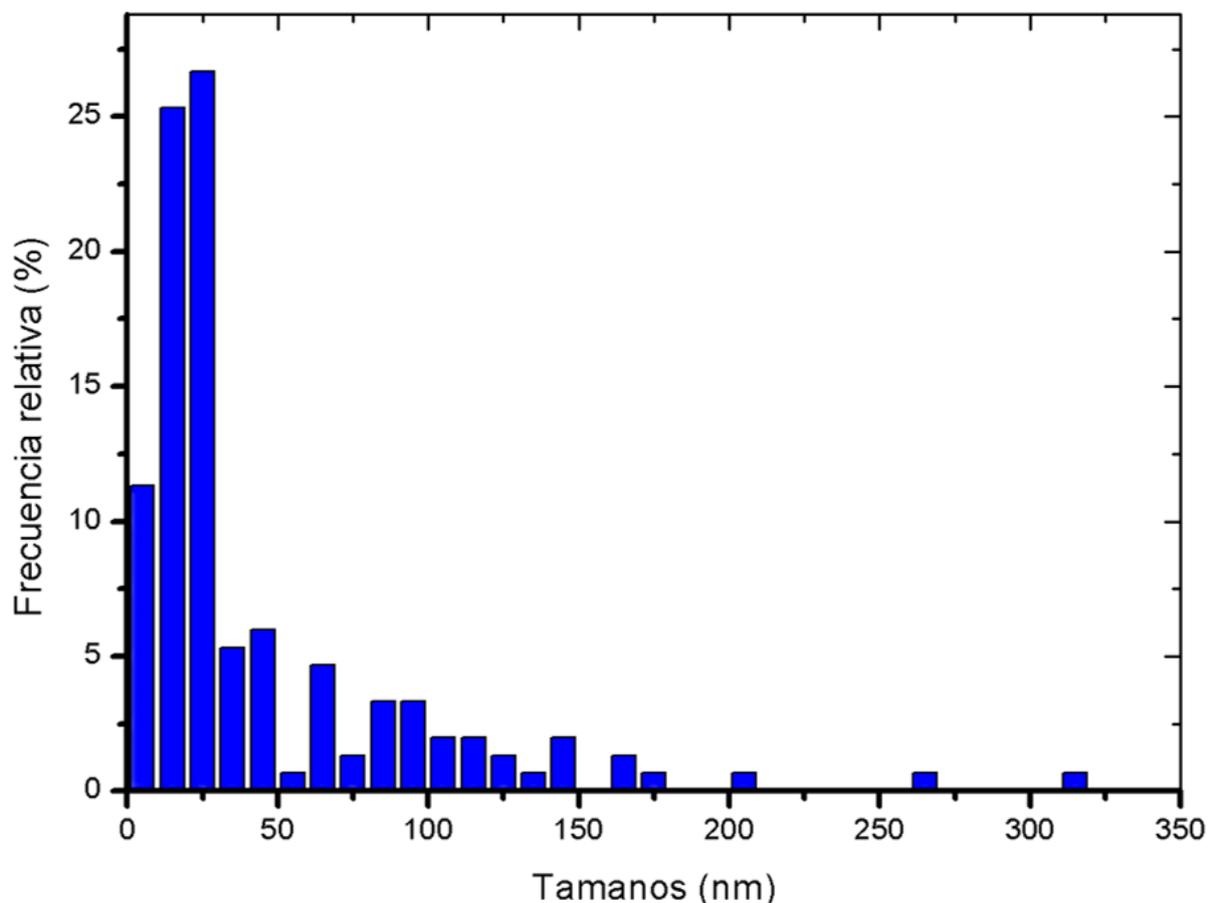


Figura 3.2.8 Distribución de tamaños de nanopartículas Au-Ag obtenidas por síntesis simultánea.

Sistema Au@Ag Síntesis secuencial

En este caso se tienen las mismas concentraciones de soluciones precursoras metálicas de oro (HAuCl_4 0.01M) y de plata (AgNO_3 0.1M). La diferencia con la síntesis anterior está en que primero se sintetizaron nanopartículas de oro, las cuales se lavaron y secaron para luego ser redispersadas y agregarles la plata en un paso posterior. Para el estudio por TEM y STEM se utilizó la misma configuración en cuanto a rejillas, volumen de muestra y tiempo de preparación. Las imágenes de TEM de las figuras 3.2.9 muestran al nanomaterial disperso a través de la matriz del compuesto reductor en forma de nanopartículas solas o conglomerados

de algunas cuantas partículas. También es apreciable la forma irregular que el material obtenido presenta y la presencia en la mayoría de los casos de un contraste de tonos en las nanopartículas, indicio de que en efecto son core@shell.

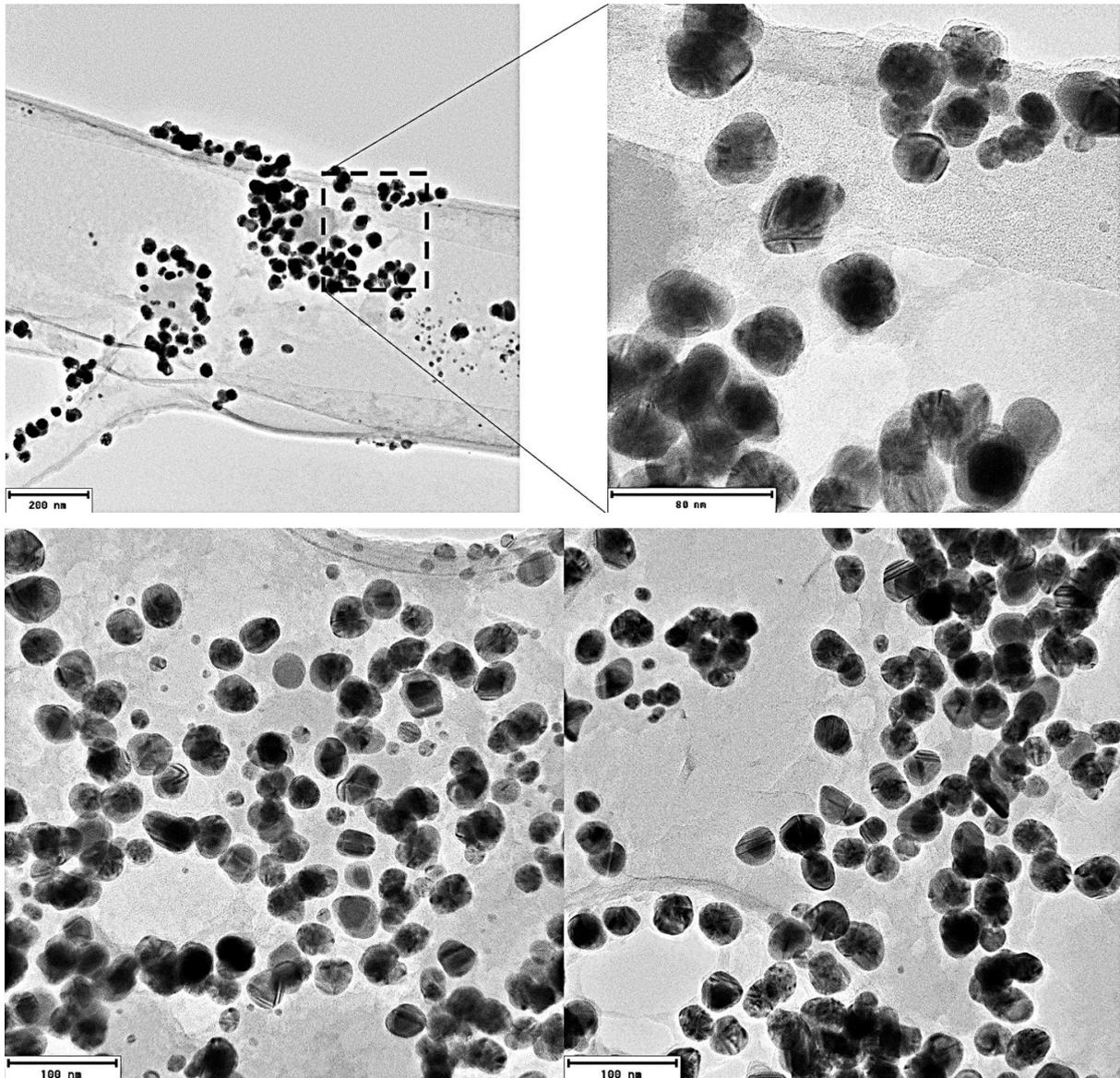


Figura 3.2.9 Imagen TEM de nanopartículas Au@Ag obtenidas por síntesis secuencial.

Además, en la figura 3.2.10 se muestra la presencia del core@shell con más detalle: las fotografías TEM de una nanopartícula individual permiten distinguir entre el núcleo oscuro de oro y la coraza más clara de plata.

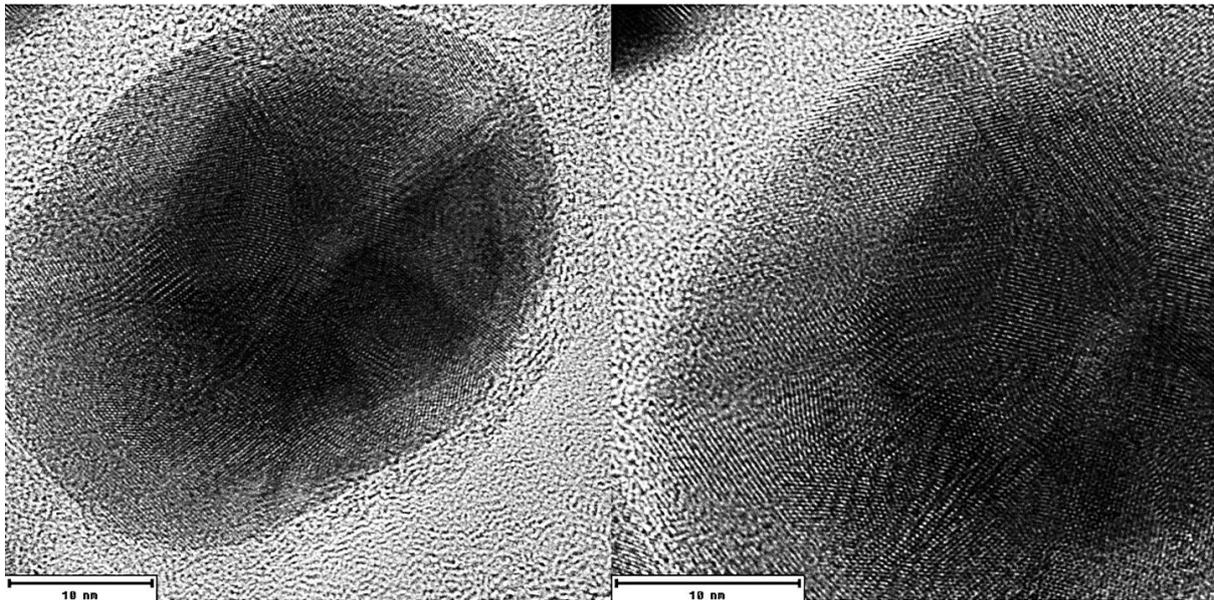


Figura 3.2.10 Imagen HRTEM de una nanopartícula individual Au@Ag obtenida por síntesis secuencial.

En las imágenes de la figura 3.2.11 de campo claro (izquierda) y de contraste Z por STEM (derecha) se pueden apreciar a las nanopartículas dispersas a través de la matriz y con tamaños muy parecidos entre sí. En campo claro solo se aprecia el oro como único elemento presente, pero al pasar a campo oscuro se puede ver al material de plata formando los shells o también partículas de plata individuales.

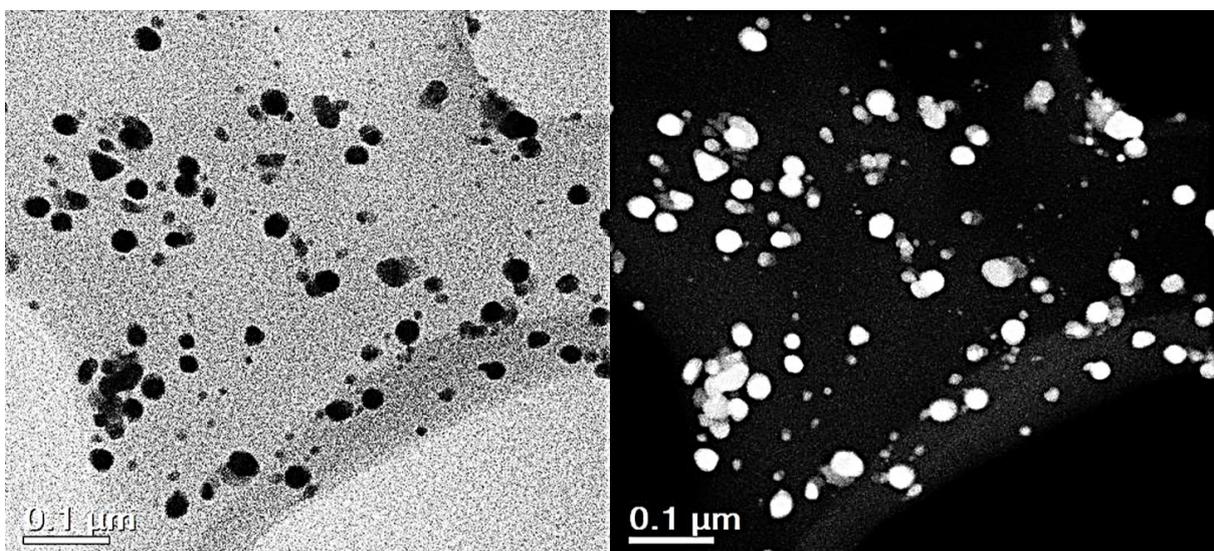


Figura 3.2.11 Imagen STEM de nanopartículas Au@Ag obtenidas por síntesis secuencial. A la izquierda imagen en campo claro y en la derecha imagen campo oscuro o de Contraste Z.

En la figura 3.2.12 se muestran otra región de la muestra. La imagen corresponde tanto al campo claro como campo oscuro. Se ha seleccionado una región que aparece ampliada al lado derecho donde se aprecia un grupo de cinco nanopartículas individuales bien dispersas entre sí de tamaños entre 30-40 nm. Por contraste Z obtenida por HAADF se distingue claramente que las nanopartículas están cubiertas por una delgada capa de plata la cual posee menor brillo que los núcleos de oro de mayor número atómico.

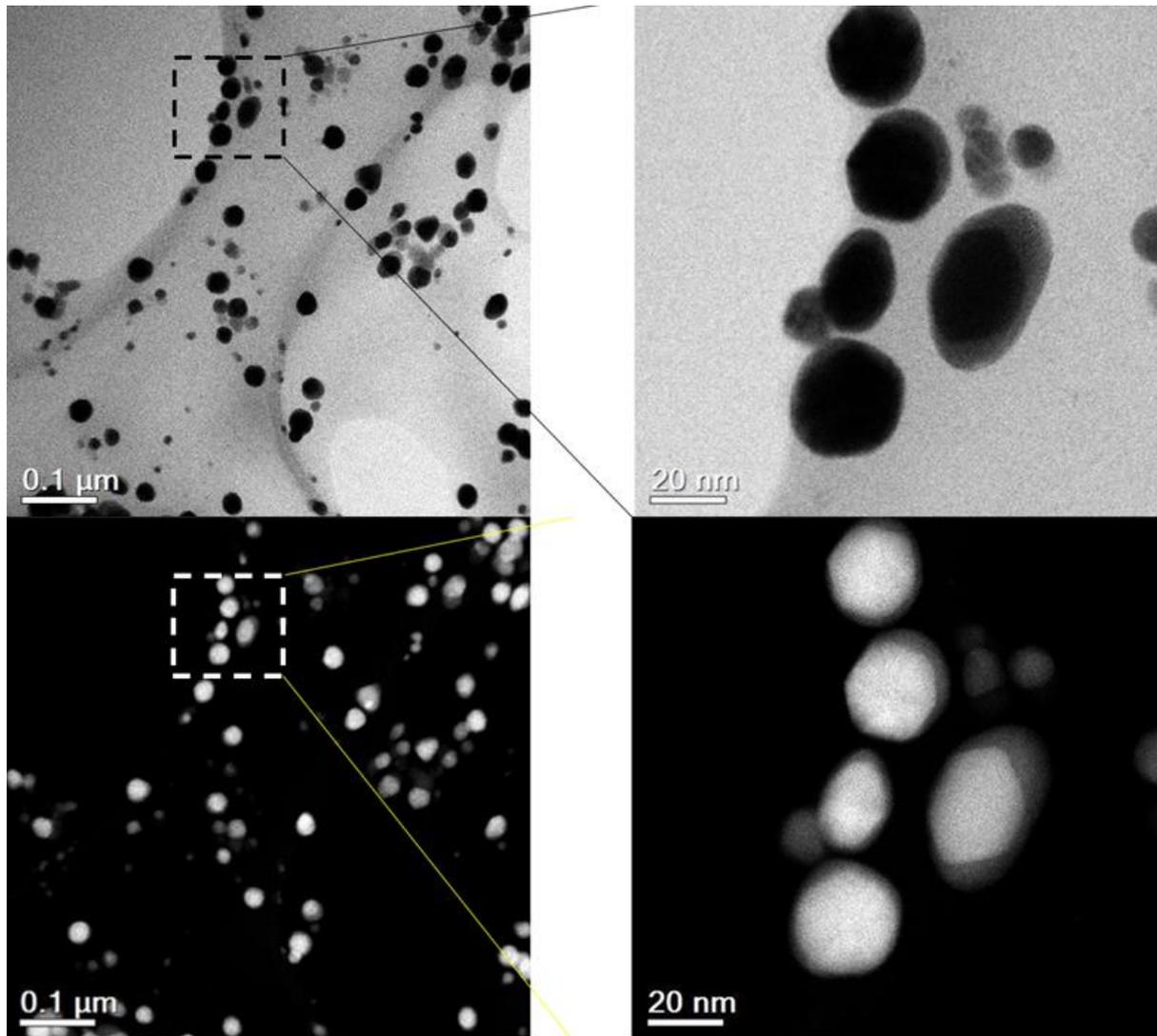


Figura 3.2.12 Imagen STEM de nanopartículas Au@Ag obtenidas por síntesis secuencial. Mostradas en campo claro (arriba) y campo oscuro (abajo).

Igual que en el caso TEM, en la figura 3.2.13 se muestra, ahora en STEM, la presencia del core@shell con más detalle: las fotografías STEM de una nanopartícula individual permiten

distinguir en campo claro y en campo oscuro entre el núcleo (negro en campo claro y blanco en campo oscuro) de oro y la coraza (gris) de plata.

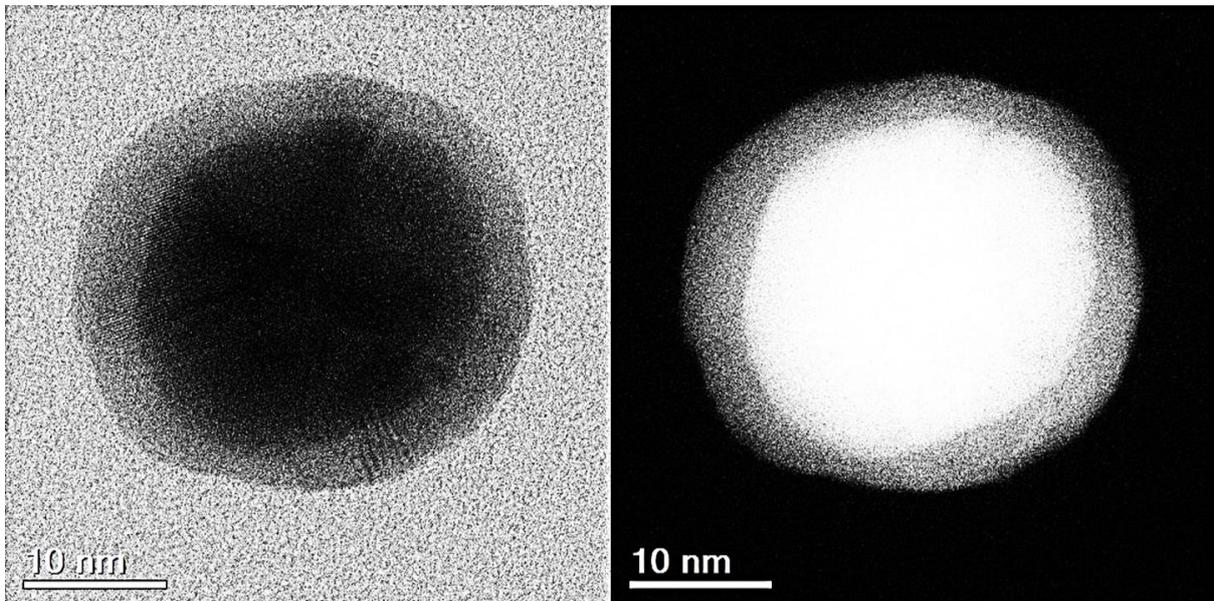


Figura 3.2.13 Imagen STEM de una nanopartícula individual Au@Ag obtenida por síntesis secuencial.

En la figura 3.2.14 se muestra una micrografía de alta resolución (HRTEM) correspondiente a una partícula obtenida por la síntesis secuencial que arroja una partícula Au@Ag.

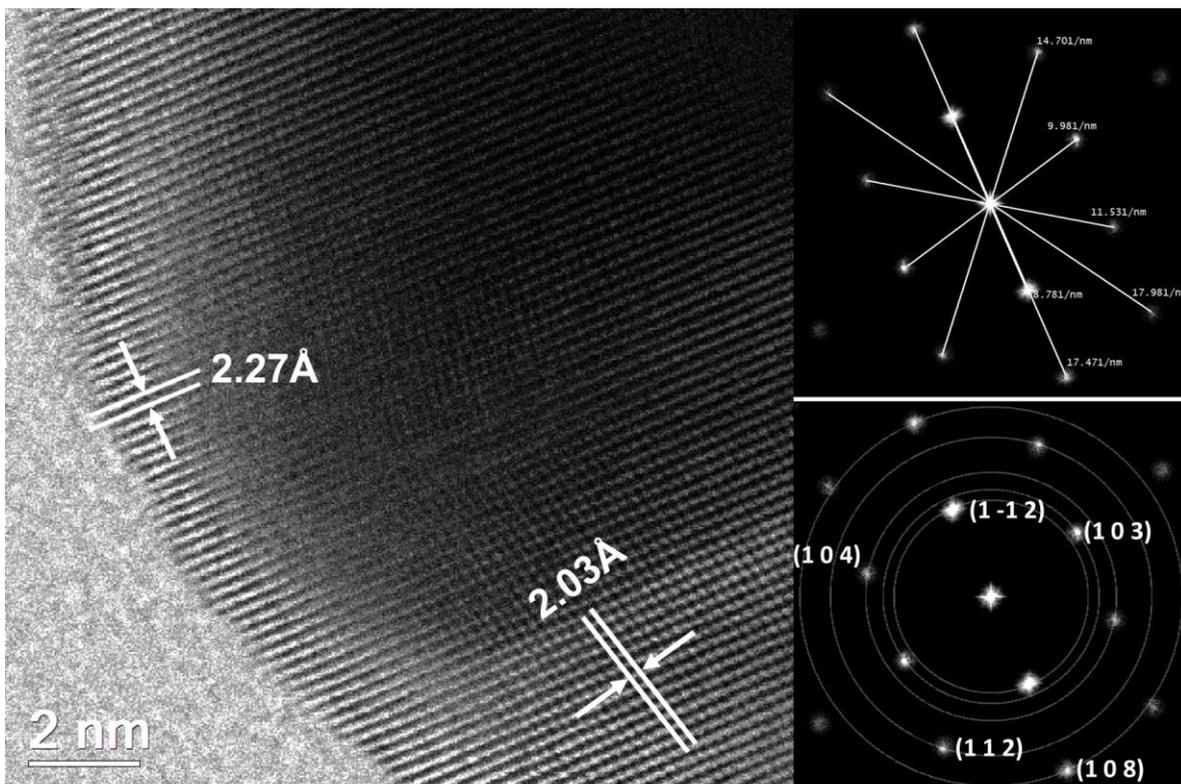


Fig. 3.2.14 Imagen HRTEM y su difracción electrónica correspondiente a la coraza de una nanopartícula Au@Ag sintetizada con *Rumex hymenosepalus*.

Para verificar la estructura cristalina de la coraza se analizó la región de la periferia de la nanopartícula. Las imágenes de la derecha corresponden a la transformada inversa de Fourier de la micrografía (izquierda) obtenida mediante el procesamiento de la imagen con el software Digital Micrograph 3.0 (Gatán). Las distancias interplanares obtenidas del experimento se muestran en la tabla 3.2.1 las cuales coinciden con la reportada para la plata con estructura hexagonal en la ficha cristalográfica 00-401-1402. Resultados similares se han reportado para la síntesis de nanopartículas monometálicas de plata con extractos de la *Rumex hymenosepalus* donde la presencia de nanopartículas de plata con estructura hexagonal estaban presentes en un 30% de la población total de los productos [5].

Distancia recíproca (1/nm)	Distancia interplanar (experimento) (Å)	Distancia interplanar (Plata estructura Hexagonal) (Å)	Índices de Miller
17.471	1.11	1.11	(1 0 8)
14.701	1.36	1.38	(1 1 2)
11.531	1.73	1.76	(1 0 4)
9.981	2.00	2.00	(1 0 3)
8.781	2.27	2.23	(1 -1 2)

Tabla 3.2.1 Distancias interplanares de la coraza de partícula Au@Ag

A partir de las imágenes de TEM y STEM se construyó la gráfica de distribución de tamaños que se presenta en la figura 3.2.15. La mayoría de la población de partículas presenta un diámetro de entre 35 y 40 nm. La mitad de las partículas se encuentra en el rango de los 30 a 50 nm y casi el resto tiene un diámetro menor a 30 nm.

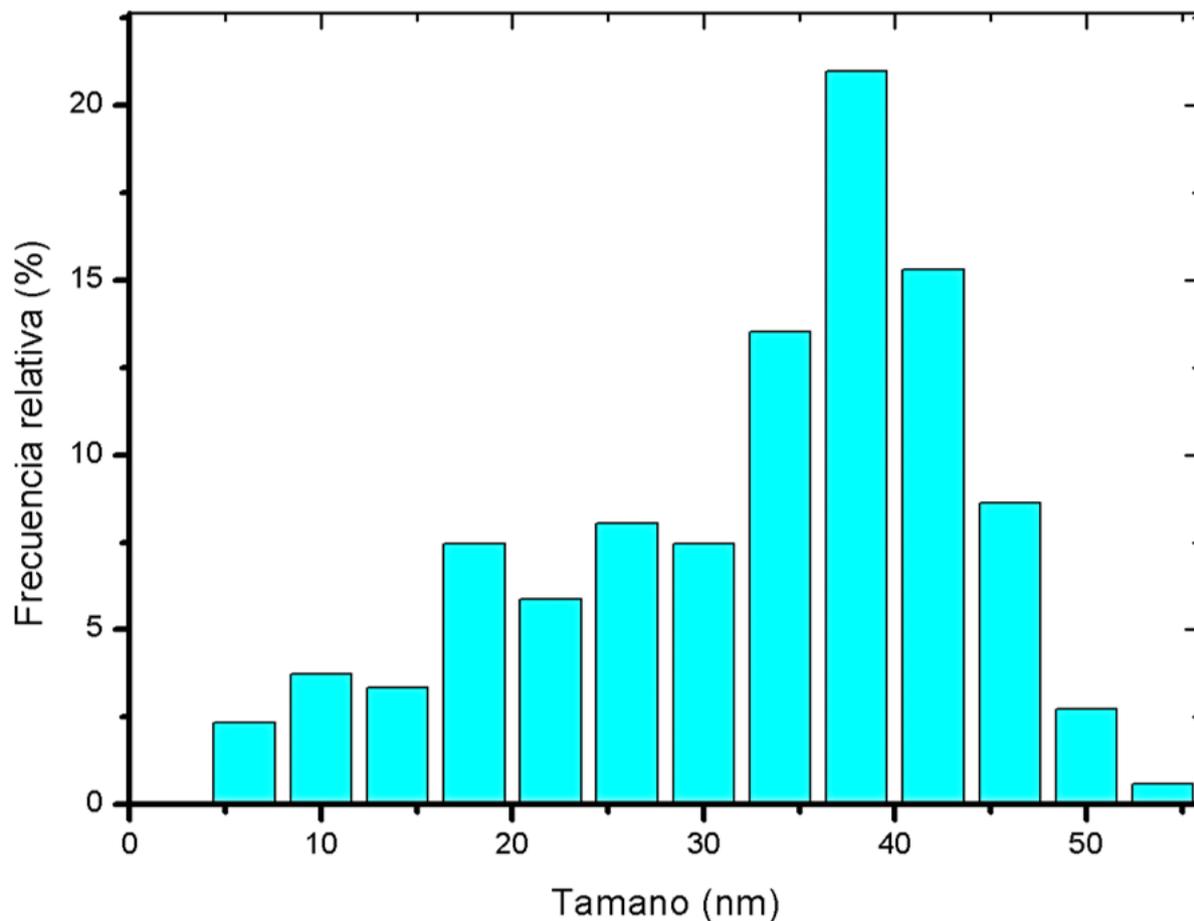


Figura 3.2.15 Distribución de tamaños de nanopartículas Au@Ag obtenidas por síntesis secuencial.

Además, en la figura 3.2.16 se muestra un conteo de frecuencias del grosor de la coraza. Dicha medición se llevó a cabo haciendo la resta del largo de la partícula de oro (el núcleo) al largo de la partícula entera. Con esto, se obtuvieron grosores de coraza en su mayoría variando de 4 a 10 nm. Los tamaños promedios tanto de las partículas core@shell como del espesor de las mismas son los siguientes: Au@Ag = 33.8 ± 10.4 (núcleo + coraza) y Au@Ag = 8.2 ± 3.8 (coraza).

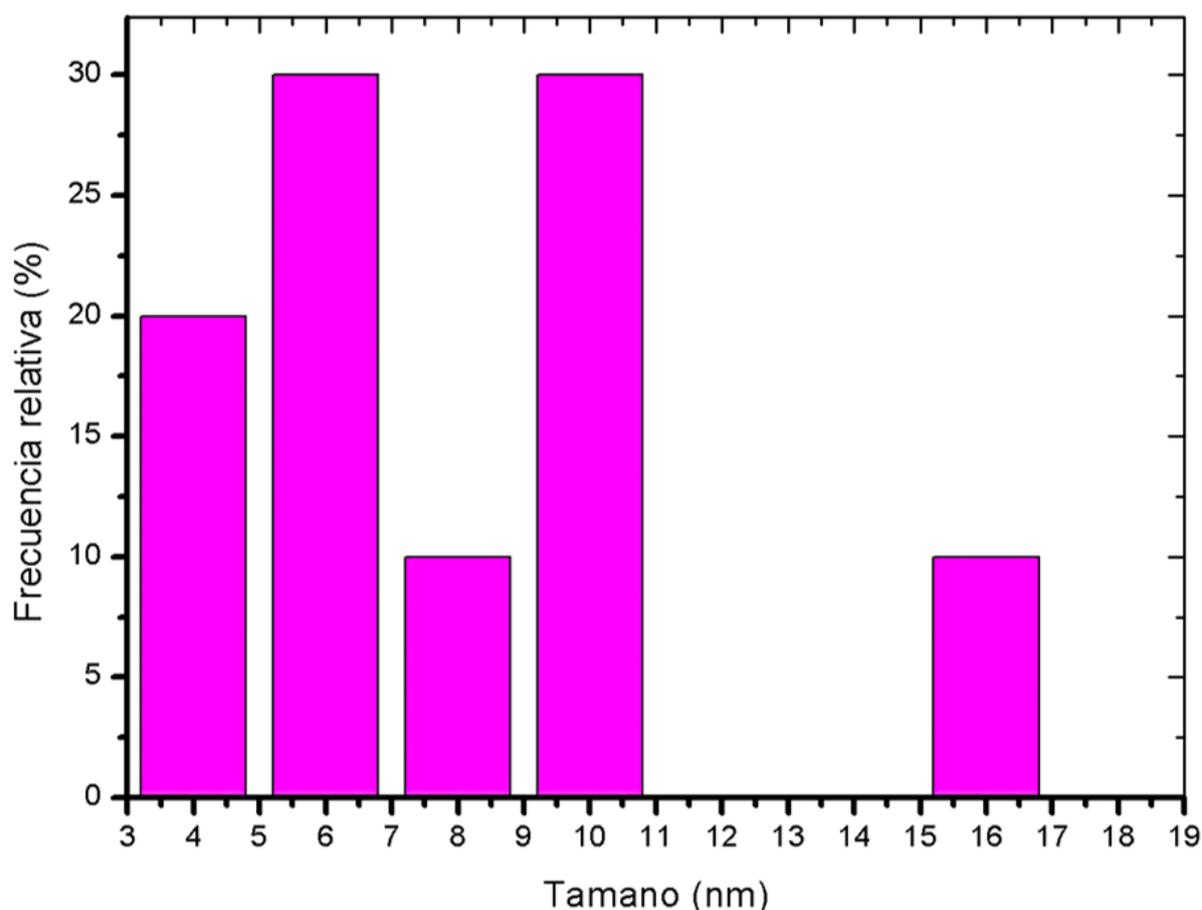


Fig. 3.2.16 Distribución de espesores de las corazas de nanopartículas Au@Ag obtenidas por síntesis secuencial.

Comparando los productos de nanopartículas bimetálicas Au y Ag sintetizados con extractos de Rumex vemos que la ruta secuencial (o paso a paso) permiten la producción de estructuras núcleo@coraza (core@shell) de Au@Ag donde as nanopartículas se muestran bien dispersas entre sí y con espesores pequeños de coraza (< 10nm). Por el contrario, la reducción simultanea de los precursores metálicos de Au y Ag generan productos de tamaños polidispersos donde los metales no presentan una distribución core@shell como algunos reportes por fitosíntesis simultanea indican.

3.3 Resultados de DLS

En esta sección se presentan los resultados obtenidos mediante la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS). Los resultados se obtuvieron utilizando el equipo de dispersión de luz BI-200SM. Con el objetivo de que el detector del equipo pudiera medir la intensidad de la luz

dispersada, se aseguró de tener los sistemas en condiciones de dilución suficiente por lo que se llevó a cabo la dilución consecutiva de las muestras: se tomó un volumen cada vez menor de la muestra original y se diluyó en un volumen cada vez mayor del solvente: etanol. Este proceso se aplicó varias veces hasta que las muestras quedaron con claridad suficiente para ser examinadas. La recomendación técnica para cualquier muestra que se pretenda estudiar por dispersión de luz es que a un ángulo de 90 grados la intensidad de luz dispersada tenga un valor entre 100 y 200 Kcps.

La viscosidad del solvente (etanol) y su temperatura se tomaron como 1.084 mPa s y 298.15 K respectivamente. La temperatura se controló por medio de un baño recirculador que mantiene un flujo constante de agua en el exterior del sistema para regular la temperatura. Otros valores igual de importantes requeridos fueron los índices de refracción de los materiales. En este caso se tomaron los del oro y la plata en bulto, pues como estamos tratando con nanopartículas metálicas aún no se dispone de los valores para estos sistemas en la literatura científica. Denotando las partes real e imaginaria de este valor como n y k , se utilizaron los respectivos valores de $n = 0.2$ y $k = 3.32$ para el oro y $n = 0.135$ y $k = 3.99$ para la plata.

Con esta técnica se llevaron a cabo: (a) un análisis de la estabilidad de cada sistema a 90° , (b) la distribución de tamaños del sistema de nanopartículas y (c) determinación del comportamiento difusivo de las nanopartículas variando el ángulo de dispersión. En (a) se hicieron diez repeticiones consecutivas para cada muestra y se obtuvieron los datos de la intensidad dispersada, con la cual se determina la correlación de intensidades y la distribución de tamaños para cada corrida. En el caso de las nanopartículas bimetálicas (tanto la síntesis simultánea como la secuencial) se hizo la comparación de correlaciones con los dos índices de refracción con las nanopartículas monometálicas, encontrando que la intensidad dispersada de las primeras coincide en mayor medida cuando se usa el índice para la plata, por lo que en lo que concierne a toda esta sección se utilizó el índice de refracción de la plata para todos los casos de nanopartículas bimetálicas.

Los resultados de la intensidad de luz dispersada se muestran en la figura 3.3.1. Se puede observar que en los tres sistemas el promedio temporal de la señal se mantiene constante y los valores de los promedios de las repeticiones presentan muy poca desviación ante el promedio total, lo cual refleja la estabilidad y repetibilidad del experimento. Calculando el promedio y la desviación estándar (en kilocuentas por segundo o Kcps) para cada sistema se obtiene para el

oro los valores de 283.1 Kcps y 0.96 Kcps, para la síntesis simultánea 127.09 Kcps y 1.01 Kcps y para la síntesis secuencial 178.18 Kcps y 0.43 Kcps respectivamente.

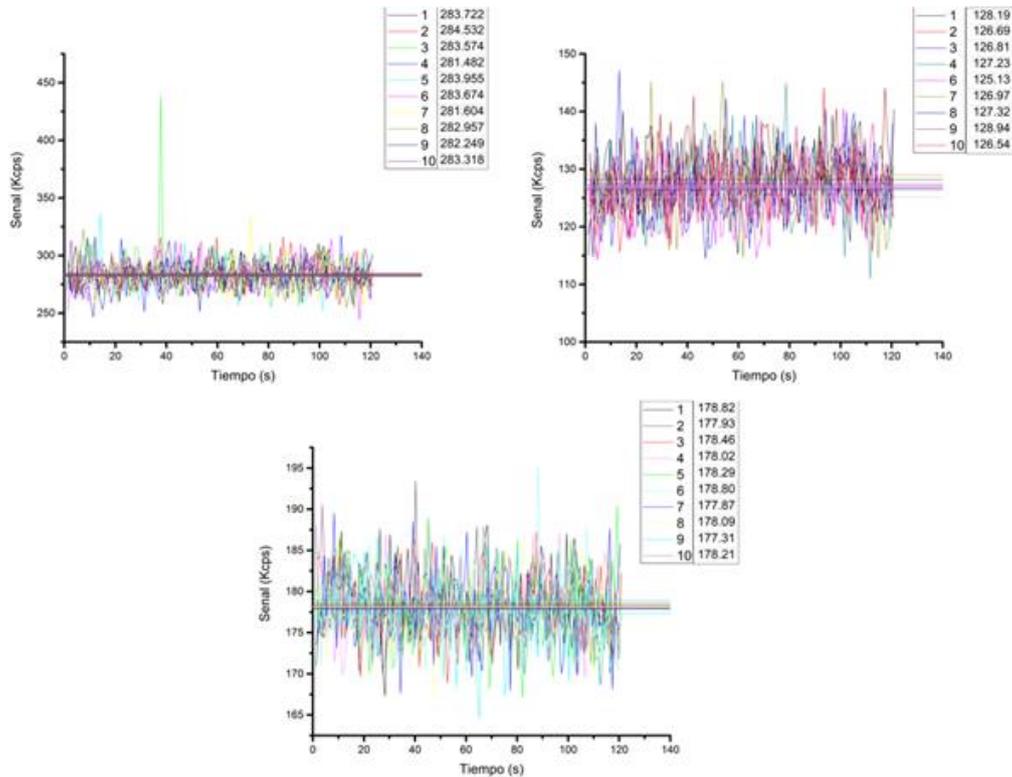


Figura 3.3.1: Intensidad dispersada y sus promedios para los tres sistemas y las 10 repeticiones.

Los resultados para las correlaciones normalizadas se presentan en la figura 3.3.2. Para normalizar los datos se realizó el cociente con el valor máximo (que regularmente es el valor al tiempo más corto). Se puede observar que la correlación entre las partículas de la síntesis simultánea es la que disminuye más lento y que la de la síntesis secuencial, la cual decae más rápido que todas. A partir de lo anterior se puede concluir que: las nanopartículas de la síntesis simultánea son las más grandes, seguidas de las monometálicas de oro y las más pequeñas las de la síntesis secuencial.

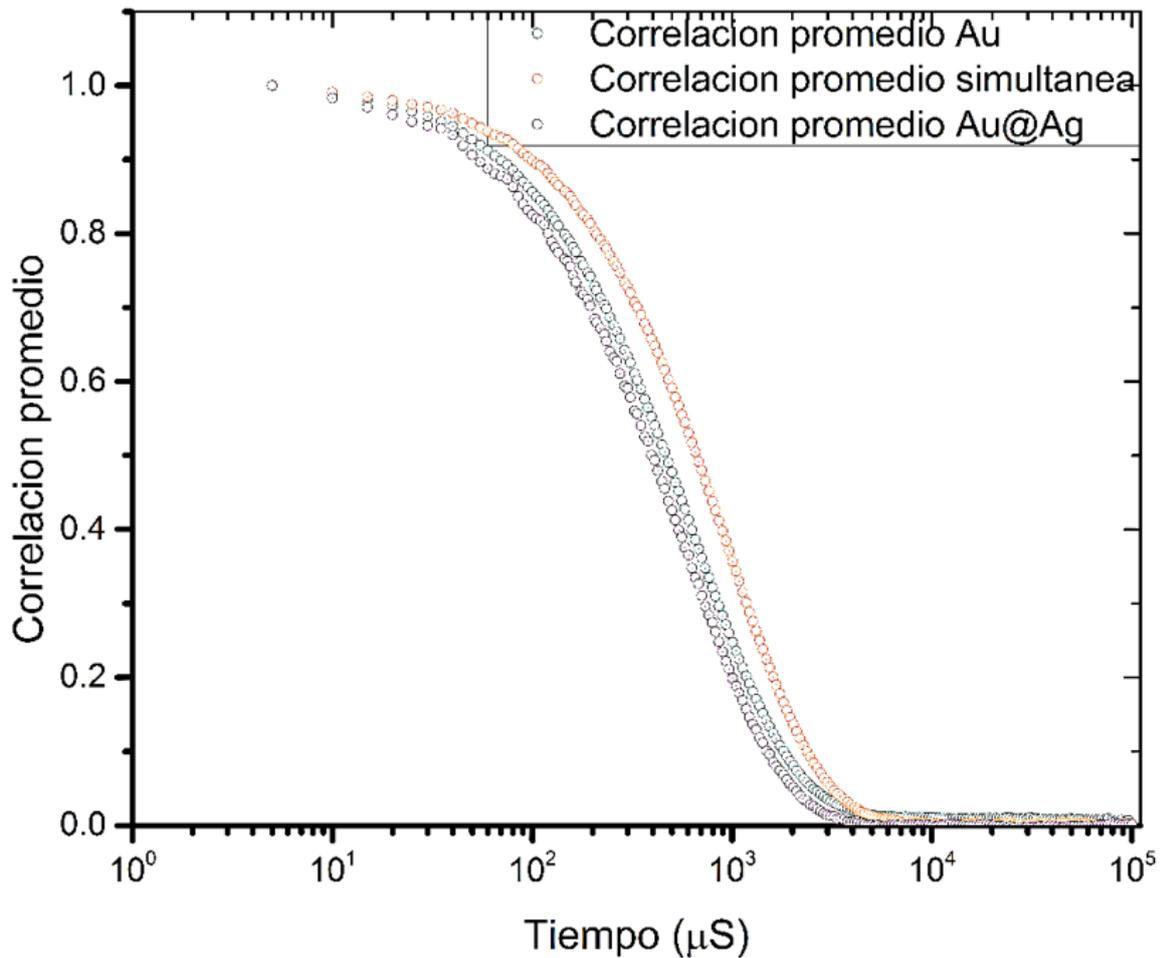


Figura 3.3.2 Correlación promedio normalizada de los tres sistemas.

A continuación, se muestran las diferentes distribuciones de tamaño obtenidas. El software del equipo ofrecía cuatro posibilidades: distribución pesada por intensidad o por número y métodos CONTIN y NNLS. De estos se eligió el NNLS (que viene del inglés Non-Negatively constrained Least Squares) por ser el que mejor se ajustaba a la correlación y de aquellas la pesada por número por ser la distribución que representa mejor a la mayoría de la población. Esto debido a que la distribución por intensidad presenta el inconveniente de dar preferencia a las partículas que dispersan más (las más grandes) las cuales no siempre son las más abundantes. Es importante remarcar que la confiabilidad en la distribución pesada por número depende es la certeza de los valores real e imaginario del índice de refracción de las nanopartículas.

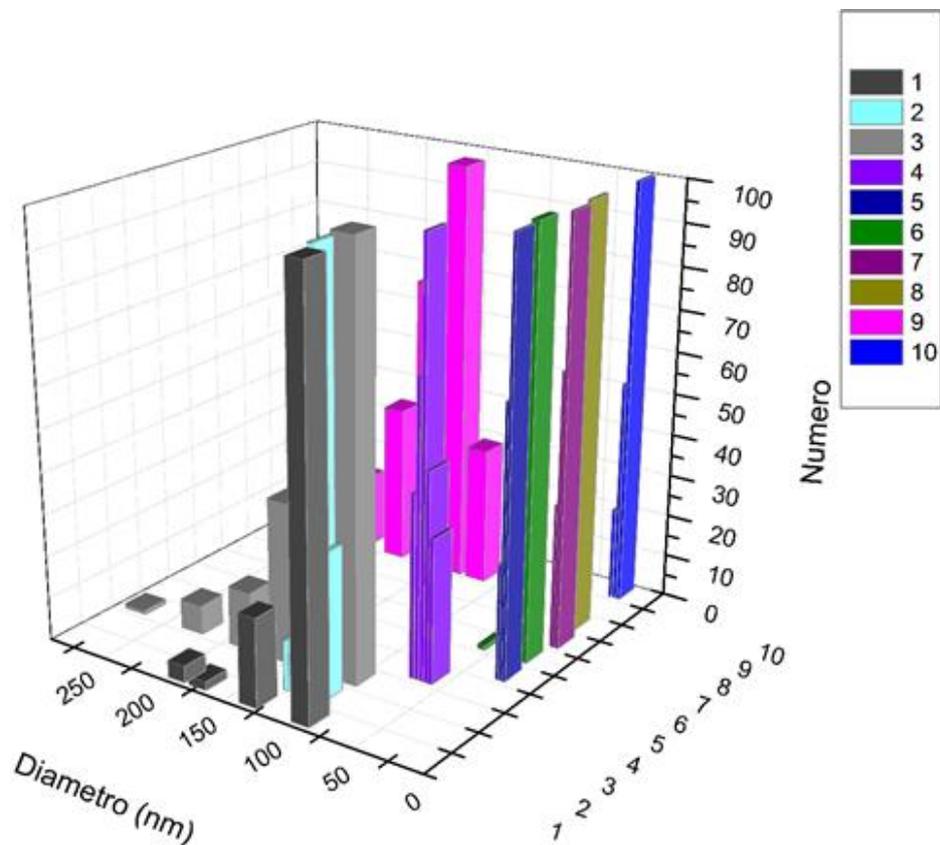
La figura 3.3.3 muestra los histogramas para cada sistema de la elección con base en el criterio del párrafo anterior. Las barras del mismo color representan a una de las repeticiones, por lo que cada color es el histograma de una corrida individual.

Del histograma de las nanopartículas de oro (figura 3.3.3 A) se puede observar que los máximos de tamaños varían: en una mitad de las repeticiones aparece aproximadamente a los 50 nm y en la otra mitad varían desde los 100 hasta los 200 nm.

Las nanopartículas de la síntesis simultánea (figura 3.3.3 B) son más grandes que las anteriores, pero presentan mayor variedad de tamaños: aunque la mayoría de los máximos se encuentran entre los 250 y 350 nm, existen repeticiones en las que las poblaciones secundarias se extienden fuera de este intervalo e incluso existen tres repeticiones en las que el máximo es mucho menor.

Por último, están las nanopartículas de la síntesis secuencial (figura 3.3.3 C) presentan los tamaños muy similares, pues no hay mucha diferencia entre los máximos ubicados cerca de los 10 nm con los que están entre 20 y 60 nm.

(A)



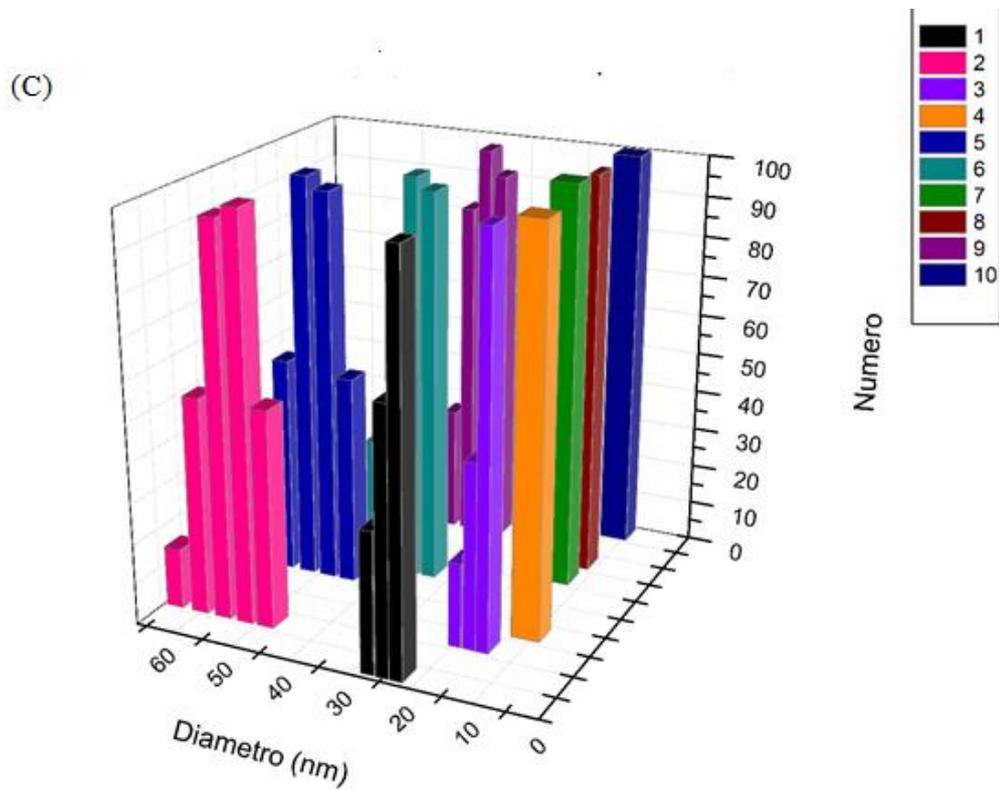
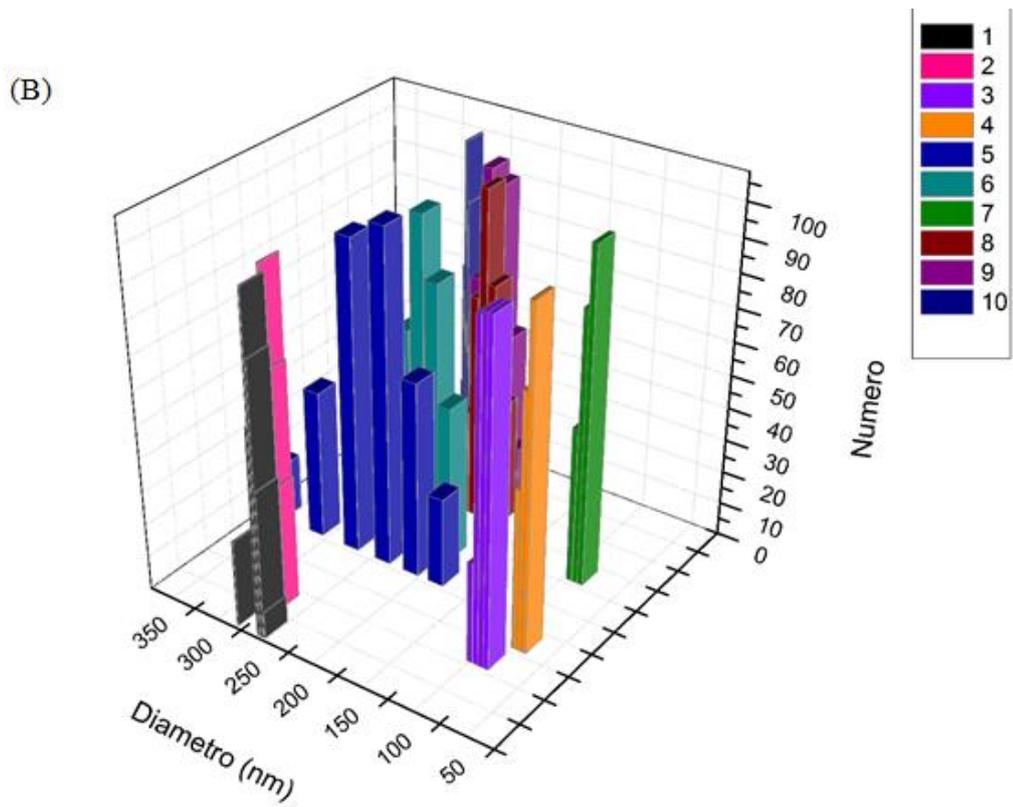


Figura 3.3.3 Histogramas de las diferentes síntesis: (A) nanopartículas Au, (B) síntesis simultánea y (C) síntesis secuencial.

Para el caso de la determinación del comportamiento difusivo de las nanopartículas variando el ángulo de dispersión, se realizaron mediciones de la intensidad dispersada a diferentes ángulos con el propósito de determinar el tiempo de decaimiento de la correlación.

Primero, se ajusta la función de correlación de campos con la aproximación de cumulantes y se toma el valor de Γ (ver ecuación 2.3.19) del ajuste a segundo orden. Dicho proceso se lleva a cabo con las mediciones a diferentes ángulos (vectores de onda). Al graficar Γ vs. k^2 se observa un comportamiento lineal, lo que significa que existe un comportamiento difusivo y el valor de la pendiente es el coeficiente de difusión, y mediante la relación de Stokes-Einstein

$$D = \frac{K_B T}{6\pi\eta R} \quad 3.3.1$$

Permite determinar el radio hidrodinámico efectivo de las nanopartículas.

Dos aspectos importantes. *Primero*: el valor de Γ es obtenido directamente del análisis de cumulantes a segundo orden y *segundo*: el valor de k^2 se obtuvo mediante la relación

$$k = \frac{4\pi\eta}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \quad 3.3.2$$

Donde θ , η y λ son el ángulo de dispersión, la viscosidad del disolvente y la longitud de onda de la radiación incidente, respectivamente.

En resumen, al fijar un ángulo de medición se obtuvo indirectamente k^2 y al término de cada corrida se obtuvo el valor de Γ a segundo orden necesario para hacer el ajuste que determina el coeficiente de difusión y con ello el diámetro hidrodinámico efectivo de las nanopartículas.

En la figura 3.3.4 se muestran los resultados del comportamiento difusivo, además del ajuste lineal. El intervalo angular en el cual fue realizado el análisis anterior fue de 30° al 140° para todos los sistemas, tomando mediciones cada 5° excepto en la síntesis simultánea, donde se tomaron cada 10° (dado que no se detectó ninguna diferencia apreciable al hacer mediciones cada 5° o 10° entre cada sistema).

En las figuras se puede observar que tanto la síntesis simultánea como la secuencial presentan una relación lineal, contrastando con las nanopartículas de oro que presentan cierta irregularidad, principalmente para ángulos mayores a 90 grados.

Al aplicar la relación de Stokes—Einstein con el valor obtenido del coeficiente de difusión para cada sistema se obtuvieron los diámetros de 178.26 nm para el oro, 270.7 nm para la síntesis simultánea y 138.51 nm para la síntesis secuencial.

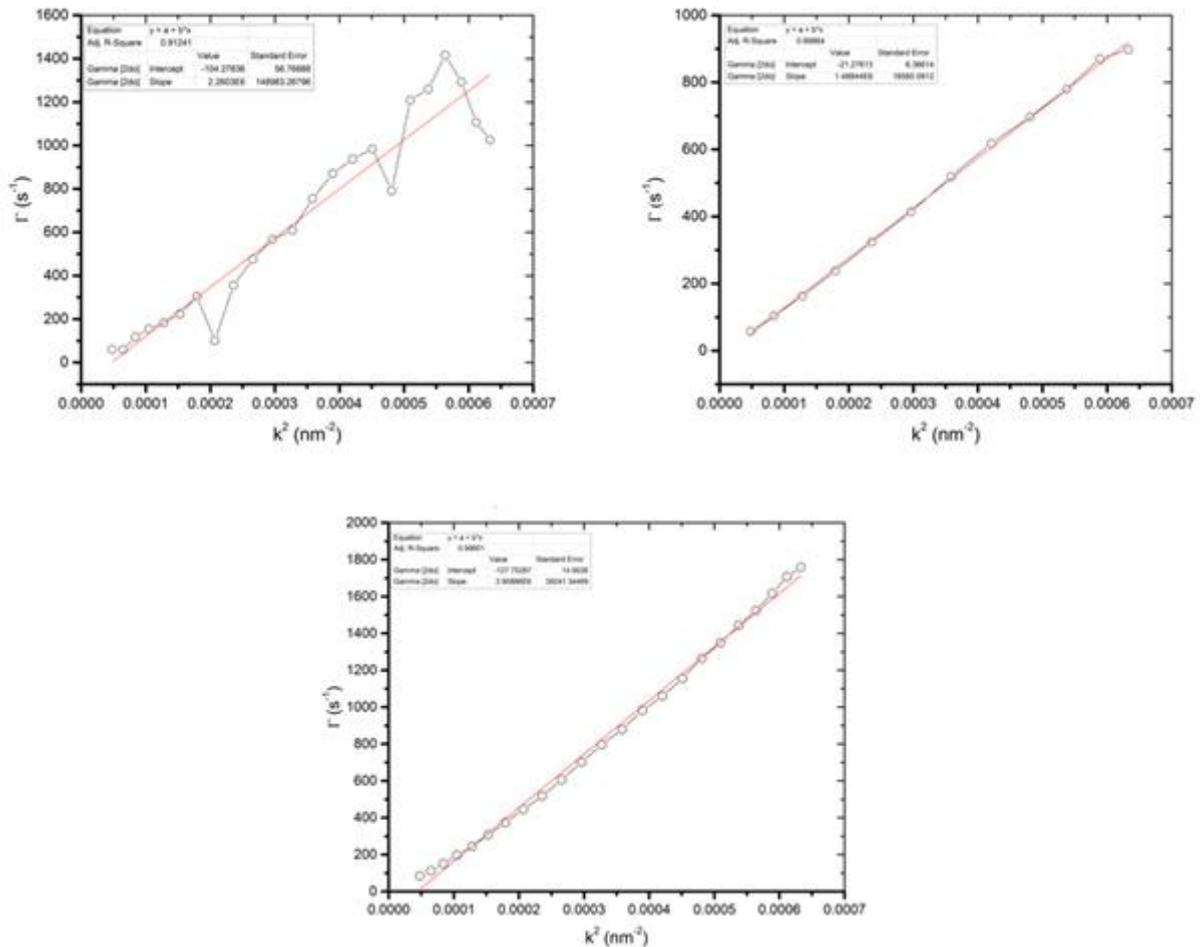


Figura 3.3.4 Resultados para el comportamiento difusivo de las nanopartículas para los diferentes sistemas.

Comparando estos resultados con los obtenidos en TEM se puede observar una clara diferencia en los tamaños obtenidos en las dos técnicas. Como lo muestran los histogramas de TEM, las poblaciones mayoritarias en los tres sistemas no rebasan los 50 nm, mientras que en DLS todos los promedios obtenidos superan por mucho esta cantidad.

Una explicación razonable a este suceso es la diferencia en las condiciones de la muestra de ambas técnicas. En TEM la muestra está seca y en DLS en suspensión líquida. En aquella

técnica la matriz del extracto no interfiere en la obtención de la imagen, sin embargo, en esta técnica la matriz, al envolver por completo a las nanopartículas, las hace más grandes.

Referencias

- [1] Metz, K. M., Sanders, S. E., Pender, J. P., Dix, M. R., Hinds, D. T., Quinn, S. J., ... & Colavita, P. E. (2015). Green synthesis of metal nanoparticles via natural extracts: the biogenic nanoparticle corona and its effects on reactivity. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 3(7), 1610-1617.
- [2] Tang, X., & Tsuji, M. (2011). Synthesis of Au core Au/Ag alloy shell nanoparticles using branched Au nanoparticles as seeds. *CrystEngComm*, 13(1), 72-76.
- [3] Sinha, T., & Ahmaruzzaman, M. (2015). A novel and greener approach for shape controlled synthesis of gold and gold–silver core shell nanostructure and their application in optical coatings. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 145, 280-288.
- [4] Chen, H. M., Liu, R. S., Jang, L. Y., Lee, J. F., & Hu, S. F. (2006). Characterization of core–shell type and alloy Ag/Au bimetallic clusters by using extended X-ray absorption fine structure spectroscopy. *Chemical Physics Letters*, 421(1), 118-123.
- [5] Rodríguez-León, E., Iñiguez-Palomares, R., Navarro, R. E., Herrera-Urbina, R., Tánori, J., Iñiguez-Palomares, C., & Maldonado, A. (2013). Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts). *Nanoscale research letters*, 8(1), 1.

Capítulo 4

Conclusiones y perspectivas

En este capítulo se resumen los resultados presentados en el capítulo anterior. De forma adicional, se agregan comentarios útiles para mejorar la caracterización del sistema de nanopartículas metálicas.

Los extractos obtenidos de la raíz de la planta *Rumex hymenosepalus* es un buen agente reductor para la síntesis de nanopartículas de metales nobles y que mediante un procedimiento secuencial es posible generar nanomateriales bimetalicos con estructuras core@shell los cuales forman dispersiones coloidales estables. La espectroscopía UV-vis indica que aún después de dos ciclos de limpieza de estos materiales sintetizados las moléculas del extracto seguían presentes en las nanopartículas por lo que se sugiere juegan un rol en la estabilidad del sistema. El plasmón de resonancia de superficie correspondiente a los materiales obtenidos en la síntesis simultanea sugieren la distribución de los dos metales en forma de aleación, aunque el estudio por TEM y STEM de estos materiales no permite corroborar este aspecto y se sugiere el estudio sistemático de estos materiales por la técnica de difracción de rayos X para dilucidar la estructura cristalina de los mismos. De igual forma se sugiere un estudio sistemático por síntesis secuencial para este sistema, controlando los tamaños de los núcleos y los espesores de las corazas e invirtiendo el sistema bimetalico (Ag@Au) e incursionar en las evaluaciones de los productos bimetalicos en el área de catálisis y biomedicina.

La tabla 4.1.1 resume los resultados obtenidos en la caracterización de los productos generados en el presente trabajo.

Materiales	Máximo de PRSL (nm)	Tamaño en TEM (nm)	Tamaño en DLS 90° (nm)
Au	544	23.4 ± 5	69
Ag	445	9.6 ± 2.7 (*)	190
Au-Ag	447	<50nm (75%) 50-300 (25%)	206
Au@Ag	474	33.8 ± 10.4 (núcleo+coraza) 8.2 ± 3.8 (coraza)	27

Tabla 4.1.1 Integración de los resultados obtenidos con las diferentes técnicas.

(*) Nanopartículas de plata sintetizadas con extractos de *Rumex hymenosepalus*. Resultados reportados en [1].

Para el caso de las nanopartículas metálicas en suspensión, estudiadas por dispersión de luz, es recomendable en futuros trabajos, implementar un procedimiento de separación de tamaños para disminuir la polidispersidad, además de contar con estándares de diferente tamaño y material que permitan un estudio más sistemático.

Referencias

- [1] Virgen-Ortiz, A., Limon-Miranda, S., Soto-Covarrubias, M. A., Apolinar-Irbe, A., Rodriguez-Leon, E., & Iniguez-Palomares, R. (2015). Biocompatible silver nanoparticles synthesized using *rumex hymenosepalus* extract decreases fasting glucose levels in diabetic rats. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 10(3), 927-933.

Apéndices

Apéndice 1: Metodologías de síntesis de nanopartículas metálicas

El siguiente es el procedimiento adoptado para llevar a cabo la producción de las nanopartículas, dividido en varias partes. Empezando primero por el extracto que estabiliza a las nanopartículas, después los precursores metálicos y las nanopartículas y por último la preparación para cada técnica.

Obtención del extracto

Obtención del extracto de la planta *Rumex hymenosepalus* (Rh) por medio de la técnica de extracción por maceración. La concentración del extracto será de 15 g Rh/100 mL de solución EtOH/H₂O al 70/30 en volumen.

Estrado de la planta Rh: raíz deshidratada y cortada en rodajas. Se adquirió en una tienda comercial.

Procedimiento de la extracción.

1. Pesar 15 g de Rh y depositar la masa en un frasco de vidrio color ámbar.
2. Preparar la mezcla de solventes para la extracción: medir con probeta 30 mL de agua ultrapura y depositarla en el frasco. En seguida, medir con probeta 70 mL de etanol y depositarlo en el frasco.
3. Almacenar el frasco para una maceración eficiente en un lugar oscuro y a temperatura ambiente (25 °C) por 21 días.
4. Filtrar la solución de la extracción con filtro de papel Whatman 40 (retención de hasta 8 µm. Filtrado por gravedad.

Preparación de los precursores metálicos

Precursor I. Preparación de una solución de ácido tetracloroáurico, H₂AuCl₄ (PM = 339.79 g/mol) 0.01 M. Reactivo adquirido de Sigma—Aldrich, pureza 99.999 %.

Ø Se pesaron 0.3398 g del reactivo (polvo granuloso naranja) y se colocó en un matraz aforado de 100 mL.

Ø Se completó el volumen con agua ultrapura Millipore (18.2 MΩ).

Ø Se cubrió el matraz con papel aluminio para evitar cualquier fotoreacción.

Ø Se colocó un imán en el matraz y éste sobre una placa agitadora. Se agitó a 700 rpm durante una hora a temperatura ambiente.

Ø Al término, se depositó la solución en un frasco de vidrio recubierto con papel aluminio.

Precursor II. Preparación de una solución de nitrato de plata, AgNO_3 , (PM = 169.87 g/mol) 0.1 M. Reactivo adquirido de Sigma—Aldrich, pureza 99.99 %.

Ø Se pesaron 1.6987 g del reactivo (polvo semifino blanco) y se colocó en un matraz aforado de 100 mL.

Ø Se completó el volumen con agua ultrapura Millipore (18.2 M Ω).

Ø Se cubrió el matraz con papel aluminio para evitar cualquier fotoreacción.

Ø Se colocó un imán en el matraz y éste sobre una placa agitadora. Se agitó a 700 rpm durante una hora a temperatura ambiente.

Ø Al término, se depositó la solución en un frasco de vidrio recubierto con papel aluminio.

Procedimiento para la preparación de muestras (nanopartículas)

Lote registrado 1

Proporciones:

* R = 0.5

2 mL AuCl_3 0.01 M, 1 mL Rumex, 17 mL agua ultrapura

** R = 1.0

2 mL AuCl_3 0.01 M, 2 mL Rumex, 16 mL agua ultrapura

*** R = 1.5

2 mL AuCl_3 0.01 M, 3 mL Rumex, 15 mL agua ultrapura

Donde R es el cociente del volumen de Rumex utilizado entre el volumen de AuCl_3 .

Se colocaron los reactivos en un frasco de vidrio utilizando micropipetas de 1 mL y 5 mL. El orden fue: agua ultrapura—Rumex— AuCl_3 . Se tomó la cantidad adecuada de cada reactivo y se depositó en el frasco lentamente y tocando primero la orilla de éste. Ya depositados se colocó un agitador magnético a cada muestra y se puso a agitar en una placa a velocidad media por dos horas. Al término se colocaron en un refrigerador. Un día después de preparadas se colocaron en una centrifugadora por 45 minutos a 10,000 rpm. Después del centrifugado se les retiró el sobrenadante y se pesó cada sólido obtenido:

* m = 0.0123 g

** m = 0.136 g

*** m = 0.0092 g

Las muestras de sólido pesado se redispersaron en 5 mL de agua ultrapura.

De esta redispersión se tomó 1 mL de cada muestra para las pruebas de UV—Vis y 1 mL para las pruebas de TEM. Por otro lado, A la muestra con $R = 0.5$ se separó en cuatro conteniendo 1 mL cada una y se agregaron 50, 100, 200 y 500 μL de AgNO_3 0.1 M a cada muestra.

Lote registrado 2 y 3 (preparados en las mismas condiciones)

Proporciones

Muestra: β Au@Ag I

AuCl_3 0.01 M (1 mL), Rumex (1 mL), agua ultrapura (17 mL), AgNO_3 0.1 M (1 mL).

Muestra: γ Au@Ag II

AuCl_3 0.01 M (1 mL) + AgNO_3 0.1 M (1 mL), Rumex (1 mL), agua ultrapura (17 mL).

Muestra: Φ Au@Ag

AuCl_3 0.01 M (2 mL), Rumex (2 mL), agua ultrapura (34 mL), AgNO_3 0.1 M (1 mL) + Rumex (1 mL).

Muestra: Θ AuRh núcleo

AuCl_3 0.01 M (1 mL), Rumex (1 mL), agua ultrapura (17 mL).

Se colocaron los reactivos en un frasco de vidrio utilizando micropipetas de 1 mL y 5 mL. El orden fue: agua ultrapura—Rumex— AuCl_3 , excepto para la muestra γ donde fue AuCl_3 + AgNO_3 al mismo tiempo. Se tomó la cantidad adecuada de cada reactivo y se depositó en el frasco lentamente y tocando primero la orilla de éste. En las muestras β , Φ y Θ se colocó un agitador magnético y se pusieron a agitar en una placa por 15 minutos antes de agregar el AgNO_3 . Se retiraron un momento de la placa, se vertió el AgNO_3 y se regresaron a agitar a la placa a velocidad media por una (β y γ) y dos horas (Φ y Θ). Al término se colocaron en un refrigerador y se dejaron por un día antes de realizar las pruebas.

De Θ se formaron Θ_1 , Θ_2 y Θ_3 con $R^*(\Theta_1) = 5/2$, $R^*(\Theta_2) = 4$ y $R^*(\Theta_3) = 6$, donde R^* es el volumen de AuCl_3 entre el volumen de AgNO_3 .

Técnicas experimentales

UV—Vis

Para obtener los espectros UV-vis se siguen los siguientes pasos:

- 1) Se define las condiciones en que se realizarán las mediciones: a) la longitud de onda inicial (900 nm) y la longitud de onda final (200 nm); b) se define el slit (0.5); se define la velocidad de barrido para el experimento (240 nm/min). A toda esta información se le conoce como el método del experimento.

- 2) A continuación se efectúa la corrida del “blanco” o solvente para fijar en cero la señal de referencia. Para ello se utilizan dos celdas de cuarzo para UV-vis donde se colocaron 3 mL del solvente empleado para dispersar las nanopartículas. En este caso es agua. La celda de referencia se coloca en la posición más alejada del usuario y la celda de la muestra en la posición más cercana.
- 3) Una vez tomada la señal del blanco o referencia se procede a tomar los espectros de las muestras en cuestión. La celda de referencia ya no se mueve de su lugar y solo la celda para la muestra es la que se retira para colocar la muestra correspondiente. Antes de colocar la nueva muestra, la celda de cuarzo debe enjuagarse con etanol y agua ultrapura.

Al finalizar las mediciones se procede a guardar los espectros generados y exportar los datos en formato ascii para su posterior tratamiento.

Proceso de limpieza de las nanopartículas

En primer lugar, se toma la muestra de nanopartículas previamente preparadas y se redispersa por medio de agitación con imán durante un minuto. De aquí se agarra el volumen necesario para la celda y se realiza un primer UV—Vis. A continuación, se traspasan 25 mL de muestra a un tubo de cultivo cónico de plástico de 50 mL y se centrifuga a 10,000 rpm durante una hora. De aquí se obtienen dos productos: el primer sobrenadante (cuyo solvente fue agua) al que se le realizó la prueba y las nanopartículas sólidas que fueron redispersadas en etanol (sonicación durante 10 minutos en tina, 42 kHz; 100 W, luego vortex, un minuto) para después tomar una muestra para el UV—Vis. Después, dicho redispersado se centrifugó de nuevo a 10,000 rpm durante una hora y al igual que antes se obtuvieron dos productos: el segundo sobrenadante (cuyo solvente fue el etanol usado para redispersar) que también se llevó al UV—Vis y de nuevo las nanopartículas sólidas, las cuales se llevaron a un desecador con bomba de vacío. La película obtenida se llevó para realizarle pruebas de difracción de rayos X.

Apéndice 2: Referencias de fitosíntesis de nanopartículas monometálicas

Nanopartículas Ag. Relación de morfologías, tamaños, máxima λ de UV—Vis de distintas referencias.

Referencia	Morfología	Tamaños (nm)	Max. UV—Vis (nm)
[1]	Esférica	9 ± 4	407
[1]	Esférica	14 ± 5	418
[1]	Esférica	23 ± 4	445
[1]	Irregular	32 ± 8	462
[2]	Esférica	15—30	460
[4]	Esférica	23 ± 2	450
[6]	Irregular	59.52	426
[7]	Esférica	20—50	418
[8]	Triangular y hexagonal	35	¿?
[10]	Esférica	10—30	430
[12]	Esférica	50—70	450

Referencias que no muestran valores de UV—Vis

Referencia	Morfología	Tamaños (nm)
[9]	Esférica	4463
[9]	Esférica	263
[9]	Esférica	276
[9]	Esférica	105

[9]	Esférica	186
[9]	Esférica	73
[9]	Esférica	62
[9]	Esférica	123
[9]	Varillas	25—80
[11]	Esférica	20—30
[11]	Esférica	4—22
[11]	Esférica, triangular	50—350
[11]	Triangular, pentagonal, hexagonal	35—60
[11]	Esférica, triangular	25—80
[11]	Esférica	29—92
[11]	Esférica	5—20
[11]	Esférica	25—40

Referencias

- [1] Kravets, V., Almemar, Z., Jiang, K., Culhane, K., Machado, R., Hagen, G., ... & Pinchuk, A. (2016). Imaging of Biological Cells Using Luminescent Silver Nanoparticles. *Nanoscale research letters*, 11(1), 1-9.
- [2] Sundaravadivelan, C., Padmanabhan, M. N., Sivaprasath, P., & Kishmu, L. (2013). Biosynthesized silver nanoparticles from *Pedilanthus tithymaloides* leaf extract with anti-developmental activity against larval instars of *Aedes aegypti* L.(Diptera; Culicidae). *Parasitology research*, 112(1), 303-311.
- [3] Atomssa, T., & Gholap, A. V. (2015). Characterization and determination of catechins in green tea leaves using UV-visible spectrometer. *Journal of Engineering and Technology Research*, 7(1), 22-31.

- [4] Perugu, S., Nagati, V., & Bhanoori, M. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of medicinally potent plant *Saraca indica*: a novel study. *Applied Nanoscience*, 1-7.
- [5] Ghaffari-Moghaddam, M., Hadi-Dabanlou, R., Khajeh, M., Rakhshanipour, M., & Shameli, K. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 31(4), 548-557.
- [6] Marimuthu, S., Rahuman, A. A., Santhoshkumar, T., Jayaseelan, C., Kirthi, A. V., Bagavan, A., ... & Velayutham, K. (2012). Lousicidal activity of synthesized silver nanoparticles using *Lawsonia inermis* leaf aqueous extract against *Pediculus humanus capitis* and *Bovicola ovis*. *Parasitology research*, 111(5), 2023-2033.
- [7] Gopinath, K., Gowri, S., & Arumugam, A. (2013). Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Pterocarpus santalinus* leaf extract and their antibacterial properties. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 3(1), 1-7.
- [8] Velmurugan, P., Lee, S. M., Iydroose, M., Lee, K. J., & Oh, B. T. (2013). Pine cone-mediated green synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activity against agricultural pathogens. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(1), 361-368.
- [9] Borase, H. P., Salunke, B. K., Salunkhe, R. B., Patil, C. D., Hallsworth, J. E., Kim, B. S., & Patil, S. V. (2014). Plant extract: a promising biomatrix for ecofriendly, controlled synthesis of silver nanoparticles. *Applied biochemistry and biotechnology*, 173(1), 1-29.
- [10] Salunke, B. K., Shin, J., Sawant, S. S., Alkotaini, B., Lee, S., & Kim, B. S. (2014). Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using *Kalopanax pictus* plant extract and their antimicrobial activity. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 31(11), 2035-2040.
- [11] Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, 31(2), 346-356.
- [12] Swamy, M. K., Sudipta, K. M., Jayanta, K., & Balasubramanya, S. (2015). The green synthesis, characterization, and evaluation of the biological activities of silver nanoparticles synthesized from *Leptadenia reticulata* leaf extract. *Applied nanoscience*, 5(1), 73-81.

Nanopartículas Au. Relación de morfologías, tamaños, máxima λ de UV—Vis de distintas referencias.

Referencia	Morfología	Tamaños (nm)	Max. UV—Vis (nm)
[1]	Esférica	30.4 ± 14.9	535
[2]	Esférica, triangular, triangular truncada, hexagonal, decaédrica	20.5 ± 11.45	536
[3]	Esférica	20—50	550—560
[4]	Cuasiesférica	6.5 (@ 300 K) 17 (@ 373 K)	529
[5]	Cuasiesférica	20—50	555
[6]	Esférica, triangular	8.4 ± 3	542
[7]	¿?	15.3	530
[8]	Triangular	50—350	560
[9]	Esférica	2.2—42.8	535
[10]	Triangular, hexagonal	50—70	543

Referencias

- [1] Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., Camacho, J., Hernández-Gallegos, E., de Guadalupe Chávez-López, M., ... & Andrade, K. (2016). One pot phyto-synthesis of gold nanoparticles using *Genipa americana* fruit extract and its biological applications. *Materials Science and Engineering: C*, 62, 725-731.
- [2] Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2010). Phyto-synthesis of gold nanoparticles using leaf extract of *Coleus amboinicus* Lour. *Materials characterization*, 61(11), 1232-1238.

- [3] Yallappa, S., Manjanna, J., Dhananjaya, B. L., Vishwanatha, U., Ravishankar, B., & Gururaj, H. (2015). Phytosynthesis of gold nanoparticles using *Mappia foetida* leaves extract and their conjugation with folic acid for delivery of doxorubicin to cancer cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 26(9), 1-12.
- [4] Shen, D. S., Mathew, J., & Philip, D. (2011). Phytosynthesis of Au, Ag and Au–Ag bimetallic nanoparticles using aqueous extract and dried leaf of *Anacardium occidentale*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79(1), 254-262.
- [5] Yallappa, S., Manjanna, J., & Dhananjaya, B. L. (2015). Phytosynthesis of stable Au, Ag and Au–Ag alloy nanoparticles using *J. Sambac* leaves extract, and their enhanced antimicrobial activity in presence of organic antimicrobials. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 137, 236-243.
- [6] AbdelHamid, A. A., Al-Ghobashy, M. A., Fawzy, M., Mohamed, M. B., & Abdel-Mottaleb, M. M. (2013). Phytosynthesis of Au, Ag, and Au–Ag bimetallic nanoparticles using aqueous extract of sago pondweed (*Potamogeton pectinatus* L.). *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1(12), 1520-1529.
- [7] Husen, A., & Siddiqi, K. S. (2014). Phytosynthesis of nanoparticles: concept, controversy and application. *Nanoscale research letters*, 9(1), 1-24.
- [8] Chandran, S. P., Chaudhary, M., Pasricha, R., Ahmad, A., & Sastry, M. (2006). Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloevera* plant extract. *Biotechnology progress*, 22(2), 577-583.
- [9] Zhan, G., Huang, J., Lin, L., Lin, W., Emmanuel, K., & Li, Q. (2011). Synthesis of gold nanoparticles by *Cacumen Platycladi* leaf extract and its simulated solution: toward the plant-mediated biosynthetic mechanism. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(10), 4957-4968.
- [10] Reddy, G. R., Morais, A. B., & Gandhi, N. N. (2013). Green synthesis, characterization and in vitro antibacterial studies of gold nanoparticles by using *senna siamea* plant seed aqueous extract at ambient conditions. *Asian Journal of Chemistry*, 25(15), 8541.