

**ENSAYOS PRELIMINARES PARA LA OBTENCIÓN DE
NANOPARTÍCULAS DE PLATA: LA IMPORTANCIA DEL MÉTODO
QUÍMICO**



JERSON STEVE TOVAR ROA

Código: 20131150021

BERTA INÉS DESLIGADO FAJARDO

Directora

**UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSE DE CALDAS
FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÓN
PROYECTO CURRICULAR DE LICENCIATURA EN QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.**

2019

NOTA DE ACEPTACIÓN

FIRMA DEL JURADO

FIRMA DEL DIRECTOR DEL PROYECTO

Bogotá D.C, 11 de febrero del 2019

Agradecimientos

A la universidad Distrital Francisco José de Caldas

Por permitirme el crecer adquiriendo distintos conocimientos, pensamiento crítico y valores con lo cual llegue a formarme como persona, investigador y docente.

Al semillero de investigación Nanotox y al grupo de Química Ambiental

Por permitirme el desarrollo óptimo del trabajo y así mismo brindar los recursos necesarios para completarlo, además de acompañarme en el proceso con los consejos y ayudas necesarias.

A la profesora Berta Inés Delgado Fajardo

Por encaminar y dirigir este trabajo de investigación, además de motivarme y apoyarme en las dificultades que han llegado a presentarse durante en el desarrollo del mismo.

Al personal de los almacenes de química

Por brindar los reactivos y equipos necesarios para la culminación del trabajo.

A mi familia

Por su apoyo en los momentos más difíciles, su comprensión en cuanto a mis problemas limitaciones y por sobre todo por el amor brindado cada día.

CONTENIDO

RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN	11
1. JUSTIFICACIÓN	14
2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	16
3. ANTECEDENTES	17
3 MARCO TEÓRICO.....	20
3.1 Nanopartículas de plata	20
3.2 Clusters de plata	23
3.3 Diferencias entre nanopartículas (NPs) y Clusters (QCs)	25
3.4 Propiedades de las nanopartículas de plata	26
3.4.1 Propiedades físicas.....	27
3.4.2 Propiedades químicas:	31
3.4.3 Propiedades biológicas:	32
3.5 Métodos para la síntesis de nanopartículas.....	33
3.5.1 Método top-down (“de arriba hacia abajo”).....	33
3.5.2 Método bottom-up (de abajo hacia arriba).....	34
3.6 Mecanismo para la síntesis de NPs.....	44
3.7 Caracterización de NPs	53
3.7.1 Espectrofotometría Uv/vis	53
3.7.2 Microscopía de transmisión electrónica (TEM).....	55
3.7.3 Microscopía de fuerza atómica (AFM).....	55
3.8 Toxicidad de las AgNP.....	56
4 OBJETIVOS	60
4.1 Objetivo general:	60
4.2 Objetivos específicos:.....	60
5 DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA	61
5.1 Ensayos preliminares.....	61
5.2 Optimización de condiciones de reacción.....	62
5.2.1 Cantidad de sal precursora (S.P).....	62
5.2.2 Clase y cantidad de agente reductor	62
5.2.2.1 Citrato de sodio.....	63

5.2.2.2	Borohidruro de sodio	63
5.2.2.3	Glucosa	64
5.2.2.4	Extracto de pétalos de rosa	65
5.2.3	Agente estabilizante	67
5.3	Caracterización de las Nanopartículas de Plata Obtenidas	67
6	ANÁLISIS Y EVALUACIÓN DE RESULTADOS	67
6.1	Análisis de los ensayos preliminares	68
6.2	Análisis de las condiciones óptimas para la síntesis de AgNPs	72
6.2.1	Cantidad de sal precursora	72
6.2.2	Cantidad de agente reductor	73
6.2.3	Agente estabilizante	76
6.3	Análisis Estadístico	78
6.3.1.	ANOVA para establecer la mejor sal precursora y el mejor agente reductor	78
6.3.2.	ANOVA para establecer el mejor agente estabilizante	82
7	CONCLUSIONES	84
8	RECOMENDACIONES	85
	BIBLIOGRAFÍA	85

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales diferencias entre nanopartículas (NP) y clusters (QC) (Buceta 2012, Rodriguez 2012).	25
Tabla 2. Relación entre el diámetro de las AgNPs (nm) y su punto de fusión (°C) (Tomado de: http://nuevastecnologiasymateriales.com/propiedades-de-las-nano-particulas/).	28
Tabla 3. Relación color-tamaño de partícula a partir de datos teóricos y experimentales (Mie, 1908)	29
Tabla 4. Variación de las condiciones con respecto a las condiciones iniciales para la síntesis de AgNPs en los ensayos preliminares.	61
Tabla 5. Cambios en las condiciones con respecto al método de Lee y Meisel.	64
Tabla 6. Cambios en las condiciones con respecto a las establecidas por Ravendraan, Fu y Wallen.	65
Tabla 7. Cambio en las condiciones con respecto a las establecidas por Logeswari, Silambarasan, & Abraham	66
Tabla 8. Resultados más relevantes en los ensayos preliminares	71
Tabla 9. Resultados en la síntesis de AgNPs al variar la cantidad de sal precursora*.	73
Tabla 10. Absorbancia de las AgNPs al variar el volumen de agente reductor*	74
Tabla 11. Proporciones de volumen de sal reductora con respecto al volumen del agente reductor	76
Tabla 12. Evaluación en el uso de distintos agentes estabilizantes para la pasivación de AgNPs al cabo de 0,1, 2, 6 y 15 días.	76
Tabla 13. ANOVA condiciones óptimas: agente reductor	79
Tabla 14. Concentración de agentes reductores en g/ml	80
Tabla 15. Criterios para el análisis estadístico de la estabilidad	83
Tabla 16. ANOVA condiciones óptimas: Agente estabilizante.	83
Tabla 18. Tamaño de partícula aproximado de acuerdo a la longitud de onda de máxima absorción (Pradeep 2012)	84

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Inversión en nanotecnología en millones de dólares por año de regiones líderes (Roco, 2005) (Zágalu-Lau & Foladori, 2010)	11
Figura 2. Distribución de los materiales según su morfología o composición dentro en las publicaciones sobre materiales en artículos indexados por ISI (en azul) y en NPD (en verde) en los últimos 5 años (Stat Nano 2017)	14
Figura 3. Copa de Licurgo: A) La copa de Licurgo en el museo británico iluminada desde el exterior (izquierda) y B) desde el exterior (derecha), C) Observación en el microscopio de transmisión electrónica (TEM), de un acoplado de nanopartículas de oro y plata (tamaño 50nm). (Miranda 2016).....	17
Figura 4. morfología de algunas AgNP observadas en microscopia de transmisión electrónica (TEM) (Sanchez Moreno, 2017)	20
Figura 5. Clasificación de los nanomateriales según la norma ISO (ISO/TS 8004:2010)	22
Figura 6. Espectro Uv/Vis de a) una solución de AgQC grandes y b) una solución de AgQCs pequeños. Tomado de (Buceta Fernández, 2011)	23
Figura 7. Estructura de clusters anionicos y neutros de plata por estudio DFT. (Matulis, Ivashkevich &Gurin 2003).....	24
Figura 8. Evolución en la densidad de estados (DOS) y bandgaps a partir del tamaño de partícula (Roduner 2006).....	26
Figura 9. Espectro Uv/Vis de a) una solución de AgNPs y b) una solución de AgQCs. Tomado de (Buceta Fernández, 2011).....	26
Figura 10. Relación entre la dispersión y el número de átomos (n) en una nanopartícula cubica (Roduner 2016).....	27
Figura 11. Variación del punto de fusión (Tm) en relación al diámetro para InNPs. La línea punteada es el punto de fusión para el material bulk (Roduner 2016).....	28
Figura 12. esquema de la oscilación conjunta de la nube de electrones al interactuar con el campo eléctrico de la luz (Oliva 2010).	30
Figura 13. Rangos de absorción en el espectro Visible para distintas morfologías de AgNPs y AuNPs (Sánchez 2017).....	30
Figura 14. Variación del factor de cualidad para distintas nanopartículas metálicas según a distintas longitudes de onda (Rycenga et al., 2011).....	31
Figura 15. Esquema de los mecanismos bactericidas de las AgNPs (Valle 2014).....	32
Figura 16. Esquema de síntesis top-down (izquierda) y bottom-up (derecha) de nanomateriales. Tomado de (http://nanothewera.blogspot.com.co/2016/02/synthesis-routes-of-nanopartciles.html)	34
Figura 17. Esquema para la formación de AgNPs a partir de la termólisis de un alquilcarboxilato de plata y una alquilamida (Kashiwagi, Yamamoto &Nakamoto, 2006).....	35
Figura 18. Síntesis de AgNPs empleando micelas inversas de AOT (Monge 2009).....	36
Figura 19. Mecanismo de síntesis de AgNPs con citrato de sodio (Pillai y Kamat 2004)	39
Figura 20. Síntesis de AgNPs a partir del borohidruro de sodio. (J Polte et al., 2012)	40
Figura 21. Distintas morfologías de AgNPs obtenidas por el método poliol observadas a través de microscopia de transmisión electrónica TEM tales como A) esferas, B) cubos, C) cubos truncados, D) bipirámides rectas, E) barras, F) esferoides, G) platos triangulares y H) alambres. (Rycenga et al 2011)	41

Figura 22. Los 12 principios de la química verde	42
Figura 23. Relación entre la energía libre de Gibbs y el radio del cluster formado a partir de la teoría CNT(Jörg Polte, 2015)	46
Figura 24. Nucleación/Crecimiento en la formación de partículas coloidales según LaMer (Polte 2015)	47
Figura 25. Transferencia de masa entre gotas en emulsiones (Hernández Zarazua, 2009)	48
Figura 26. Fuerzas de atracción-repulsión entre partículas coloidales según la concentración de agente reductor (Polte 2015)	49
Figura 27. Fuerzas de Van der Waals entre 2 partículas coloidales (imagen propia)	50
Figura 28. Doble capa eléctrica (Polte 2015)	51
Figura 29. Potencial de interacción de atracción, repulsión y total entre dos partículas. (Polte 2015)	52
Figura 30. Energía potencial total al variar: a) la concentración de iones y b) el radio de la partícula (Polte 2015)	53
Figura 31. Esquema del espectrofotómetro Uv/vis (Escobar Falconí, 2015)	54
Figura 32. Mecanismos de citotoxicidad de las AgNPs sobre la célula (Ávalos, Haza, Mateo y Morales, 2013)	57
Figura 33. Metodología empleada para la síntesis de AgNPs con citrato de sodio	63
Figura 34. Metodología empleada para la síntesis de AgNPs con borohidruro de sodio	64
Figura 35. Metodología empleada para la síntesis de AgNPs con glucosa	65
Figura 36. Metodología para la síntesis de AgNPs con extractos de pétalos de rosa	66
Figura 37. Síntesis de AgNPs en distintas condiciones	68
Figura 38. Forma ionizada del ácido cítrico (izquierda) y forma no ionizada a pH ácido(derecha). (Imagen hecha con el programa ACD/Chemsketch)	69
Figura 39. Espectro Uv/vis para las muestras más relevantes	71
Figura 40. Absorbancia de las AgNPs al variar la cantidad de AgNO₃ (derecha) y Ag₂SO₄ (izquierda) utilizando como agente reductor al extracto acuoso de pétalos de rosa	72
Figura 41. Absorbancia de las AgNPs al variar la cantidad de extracto acuoso de pétalos de rosa como agente reductor empleando AgNO₃ (derecha) y Ag₂SO₄ (izquierda) como sal precursoras	75
Figura 42. Absorbancias de las AgNPs según la proporción de volúmenes de sal precursora/ agente reductor	75
Figura 43. Síntesis de AgNPs con AgNO₃ y distintos agentes reductores y estabilizantes luego de 0, 1, 2, 6 y 15 días	77
Figura 44. Síntesis de AgNPs con Ag₂SO₄ y distintos agentes reductores y estabilizantes luego de 0, 1, 2, 6 y 15 días	77
Figura 45. Variación del espectro Uv/vis variando las cantidades de sal precursora	79
Figura 46. Diagrama de medias de absorbancia de las AgNPs obtenidas a partir de distintos agentes reductores	80
Figura 47. Espectros Uv/vis para las AgNPs obtenidas con distintos agentes reductores	81
Figura 48. Diagrama de medias para la longitud de onda de máxima absorbancia de las AgNPs	82
Figura 49. a) Absorbancia de las AgNPs variando las sales precursoras con respecto a la proporción de volúmenes de sal precursora/ agente reductor	82

Figura 51. Celda electroquímica (tomado de: https://www.uv.es/tunon/pdf_doc/QAIBtema3.pdf)	86
Figura 52. Potencial estándar de reducción para algunas especies químicas (tomado de: http://www.quimitube.com/limpiar-plata-metodo-casero)	86
Figura 53. Esquema del microscopio de fuerza atómica. (Tomado de: http://nptel.ac.in/courses/102103015/module3/lec2/3.html)	86
Figura 54.(a) Fotodetector de cuatro cuadrantes. Se utilizan distintos segmentos del fotodetector para generar imágenes por AFM (Imagen cortesía de Veeco Inc.); (b) esquema del sistema de retroalimentación.	86

RESUMEN

Actualmente el uso y producción de soluciones coloidales de plata ha aumentado dadas sus propiedades ópticas por parte de la plasmónica en el desarrollo de nanoestructuras que permitan la manipulación de la luz y en el desarrollo de telas, pinturas, geles y recubrimientos antibactericidas, con la finalidad de obtener ambientes estériles evitando la proliferación de organismos que puedan causar daños graves al organismo en distintos campos tales como el deporte, la medicina y los alimentos. Por ello, actualmente las investigaciones en este campo se han enfocado en controlar el tamaño y la forma de las nanopartículas de plata a partir del empleo de distintos tipos de sustancias, pero aún no se han comparado las distintas metodologías con la finalidad de satisfacer la demanda en el mercado.

En este proyecto de investigación se compararán y evaluarán dos métodos de síntesis tradicional comprendidos por la síntesis con citrato basado en la metodología propuesta por (Pillai & Kamat, 2004) y borohidruro de sodio basado en la metodología propuesta por (Lee & Meisel, 1982) y dos métodos no tradicionales basados en los principios de la química “verde” comprendidos por la síntesis con glucosa basado en la metodología propuesta por (Raveendran, Fu, & Wallen, 2003) y extracto acuoso de pétalos de rosa basado en la metodología para la síntesis fitoquímica propuesta por (Logeswari, Silambarasan, & Abraham, 2015). Para ello se establecieron condiciones que influyen directamente en la síntesis como lo son la temperatura de calentamiento, concentración y cantidad de los reactantes, agitación, pH, velocidad de adición del agente reductor y el uso de distintos agentes reductores para cada metodología junto con los costos de los reactivos y la toxicología de los agentes reductores. La identificación de las nanopartículas de plata (AgNPs) se llevó a cabo por medio de indicaciones tales como la intensidad de la coloración amarillenta o marrón, turbidez y efecto Tyndall junto a indicadores cuantitativos como la absorbancia y el λ en rangos de 400nm-450nm a través de espectrofotometría UV/Vis. Encontrándose que, utilizando nitrato de plata como sal precursora, el extracto acuoso de pétalos de rosa como agente estabilizante en medio básico a una proporción de 7:15, presencia de agitación, adición del agente reductor por goteo, temperatura cercana a los 40°C, tiempo de reacción de 15 minutos y el uso de un biopolímero como agente estabilizante en una concentración mayor a los 1,2% obteniéndose bajo este método una media de absorbancia de 2,42 junto a un λ entre 400-410nm recomendando el uso de métodos instrumentales como lo son la microscopía de transmisión electrónica (TEM) y fuerza atómica (AFM) para la caracterizar el tamaño y morfología de las nanopartículas sintetizadas.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas la nanotecnología ha sido una de las principales metas en el desarrollo tecnológico del mundo ya que permite la manipulación de la materia a escala nanométrica involucrando el estudio continuo de los beneficios y consecuencias que podría llegar a tener, por ello la inversión de los distintos países en la investigación y desarrollo nanotecnológico crece al pasar los años tal como se evidencia en la *Figura 1*.

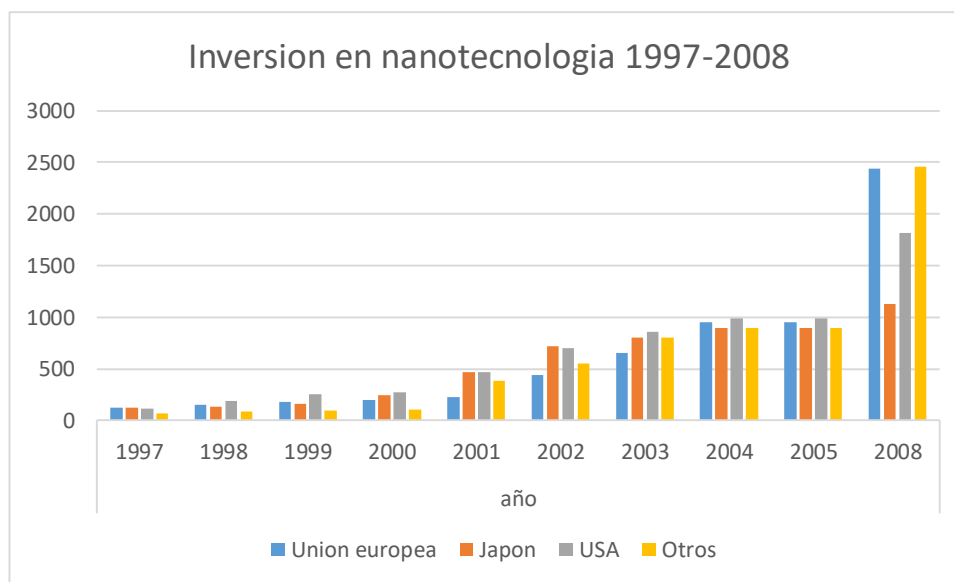


Figura 1. Inversión en nanotecnología en millones de dólares por año de regiones líderes (Roco, 2005) (Zágalu-Lau & Foladori, 2010)

Colombia no se ha caracterizado por ser líder en la inversión en la investigación y desarrollo de ciencia y tecnología. Aunque en 2010 se hiciese la inversión de un estimado de 25.2 millones de dólares en equipos e infraestructura para la investigación, desarrollo y enseñanza de la tecnología por parte del servicio nacional de aprendizaje SENA¹ (Mora Mendoza, 2014) aún hay un gran déficit en cuanto a la investigación y desarrollo de nanomateriales.

En cuanto a las nanopartículas de plata (AgNPs), estas se estudian ampliamente tanto por sus usos potenciales en campos tan diversos como lo pueden ser la medicina, la catálisis y la electrónica (entre otras) como por sus posibles efectos tóxicos para los seres vivos y en general para los ecosistemas. Lo anterior deriva de sus propiedades ópticas, eléctricas y térmicas que adquieren a escala nanométrica (Rodríguez Cobo, 2012). Es así como sus propiedades permiten que puedan ser incorporadas a productos que van desde las celdas fotovoltaicas hasta los sensores biológicos y químicos. Otras aplicaciones incluyen diagnósticos moleculares y dispositivos fotónicos, recubrimientos antimicrobianos; teclados; apósitos para heridas y dispositivos biomédicos por lo cual se está pensando en usar estas nanopartículas en el tratamiento contra el cáncer. En estos productos se aprovecha que las nanopartículas de plata que se encuentran incorporadas liberan de forma

¹ SENA: por sus siglas Servicio Nacional de Aprendizaje

continúa un bajo nivel de iones de plata para proporcionar protección contra las bacterias (Wei, 2015 y Zhang, 2016).

Las importantes y diversas aplicaciones de las AgNPs dependen de su tamaño, de su distribución y de la forma que se presenten en la escala nanométrica (1 a 100 nm). Su tamaño está asociado al número de átomos que las conforman encontrándose dos grandes categorías: a) los Clusters Cuánticos, QCs, formados por agrupaciones de entre 2 a 100 átomos y b) las nanopartículas, NPs, propiamente dichas conformadas por grupos de más de 100 átomos. Esto conlleva cambios importantes en sus propiedades y en su estabilidad como consecuencia del confinamiento al cual están sometidos los electrones (Buceta Fernández, 2011). Las investigaciones actuales están orientadas a controlar el tamaño y la distribución de tamaño de las AgNPs, variando los métodos de síntesis, los agentes reductores y los estabilizantes. Con este fin la comunidad científica continúa estudiando métodos físicos y métodos químicos para optimizar la producción de AgNPs. Los métodos físicos comprenden evaporación – condensación y ablación láser y los métodos químicos comprenden el método coloidal (métodos sol-gel); la reducción fotoquímica y radioquímica; la radiación con microondas y la síntesis solvotermal. El método coloidal presenta la ventaja de que se pueden obtener partículas de tamaño controlado y baja dispersión, pero aún existe incertidumbre acerca de los agentes reductores y estabilizantes más apropiados para favorecer la formación de las AgNPs (Zanella, 2012). Por lo anterior el presente trabajo está orientado a optimizar condiciones de obtención de AgNPs mediante la formación de estados coloidales sol-gel, posterior eliminación del solvente y caracterización final del producto obtenido utilizando análisis UV.

Las AgNPs tienen alta demanda en el mercado (el uso industrial de plata aumentó un 4% en el 2017), sus aplicaciones diversas comprenden: películas basadas en AgNPs que pueden contener más de 1.000 veces los datos que un disco virtual digital (DVD); su aplicación en suelos para mejorar la calidad; nanocápsulas que estimularían a los fotocatalizadores, facilitando la catálisis del agua para la obtención de oxígeno. Por otra parte, su amplia acción bactericida relacionada con partículas de tamaño entre 1 – 10 nm, las cuales se unen a la membrana celular de la bacteria modificando su permeabilidad. Estas AgNPs, también liberan iones Ag^+ que reaccionan con grupos funcionales (carboxilo, tiol, entre otros) en las proteínas y también con el ADN, causando disfunción en el metabolismo de la misma. El interés en el uso de AgNPs se ha incrementado por su posible interacción con el virus HIV-1, donde las AgNPs se unen a la glicoproteína gp120 impidiendo que esta pueda unirse a células receptoras. También en la E.coli desestabilizan la membrana celular disminuyendo el potencial de membrana y la producción de ATP. (Escobar Falconí, 2015) Estas propiedades hacen que su uso se extienda a la producción de otros materiales, como recubrimientos para pisos y paredes de quirófanos con el fin de prevenir y disminuir los efectos mortales de bacterias en estos espacios. Es por esto que los estudios se dirigen a establecer métodos de síntesis cada vez más eficientes y sostenibles ambientalmente, por lo que el presente trabajo se orienta a encontrar las condiciones óptimas que cumplan con estos requerimientos; Este trabajo se encuentra en desarrollo.

Dentro de las nanopartículas metálicas las nanopartículas metálicas (AgNP) son las más comúnmente usadas. Tienen un amplio rango de aplicaciones que incluyen recubrimientos para la absorción de la energía solar, catálisis química, agentes antibacteriales y otras aplicaciones en el campo de la electrónica. También las AgNPs se adicionan a diferentes productos de consumo tales como textiles, suplementos alimenticios, pinturas y componentes de algunos medicamentos. Es por ello que la

demanda en el mercado de las AgNPs aumento un 4% en el año 2017 (Escobar Falconí, 2015) Las importantes y diversas aplicaciones de las AgNPs dependen de su tamaño (1 - 100 nm), de su distribución y de su forma. Es por esto que la comunidad científica continúa estudiando métodos físicos y métodos químicos para optimizar la producción de AgNPs. Entre los métodos físicos están la descomposición térmica, la deposición en fase de vapor, la vaporización laser, el método de molienda, el bombardeo iónico, entre otros. Pero tienen el inconveniente del uso de procesos complejos y equipos costosos que produce un tamaño de partícula bastante heterogéneo, mientras que entre los métodos químicos se estudian el solvotermal, dendrítico, sol-gel y el método coloidal. Este último método es un método sencillo que se fundamenta en un proceso de reducción y estabilización de nanopartículas obtenidas, pero todavía existen interrogantes acerca de cuáles son los mejores agentes reductores, los agentes estabilizantes más adecuados, así como las condiciones relacionadas con velocidades de reacción, temperatura, tiempo de agitación, con el propósito de mejorar el rendimiento del proceso y viabilicen la producción de estos nanomateriales. En nuestro medio la producción de nanomateriales es un campo de estudio que requiere el aporte de diferentes trabajos para optimizar los distintos procesos de producción de estos nanomateriales y hacerlos viables a escala industrial. Esto con el fin de proveer materia prima suficiente para cubrir las necesidades y requerimientos en diferentes campos de aplicación. Adicionalmente se requieren procesos ambientalmente sostenibles teniendo en cuenta de las AgNPs a pesar de sus valiosas aplicaciones también se pueden presentar varios efectos adversos. Por lo anterior se plantean las siguientes preguntas: ¿Cuáles son las condiciones óptimas que permiten la obtención ambientalmente sostenible de las AgNPs? O ¿Cuáles condiciones de reacción se pueden precisar con un 95% de confianza para la síntesis de AgNPs por el método coloidal?

1. JUSTIFICACIÓN

La importante participación de la producción de nanopartículas de plata ha sido analizada por StatNano (2017) quien ha estudiado la proporción de varios nanomateriales que, según la *Base de Datos de Productos de Nanotecnología (NPD)*², presentan los mayores porcentajes de utilización en los productos disponibles en los mercados internacionales, según los artículos indexados y publicados por la revista del *Instituto para la Investigación Científica, ISI*³, actualmente conocida como revista Web of Science (WoS⁴), la proporción de nanomateriales utilizados en artículos indexados por ISI, en relación con la información reportada por NPD para las nanopartículas de plata, relaciona un porcentaje de participación mayor que lo relacionado por ISI, sin embargo, puede resaltarse que las nanopartículas de plata son uno de los tres nanomateriales que mayor porcentaje de participación comparten, aproximadamente 11% y 6,5% respectivamente, en relación con los otros nanomateriales analizados como los nanotubos de carbono y las nanoarcillas entre otros (*Figura 2*).

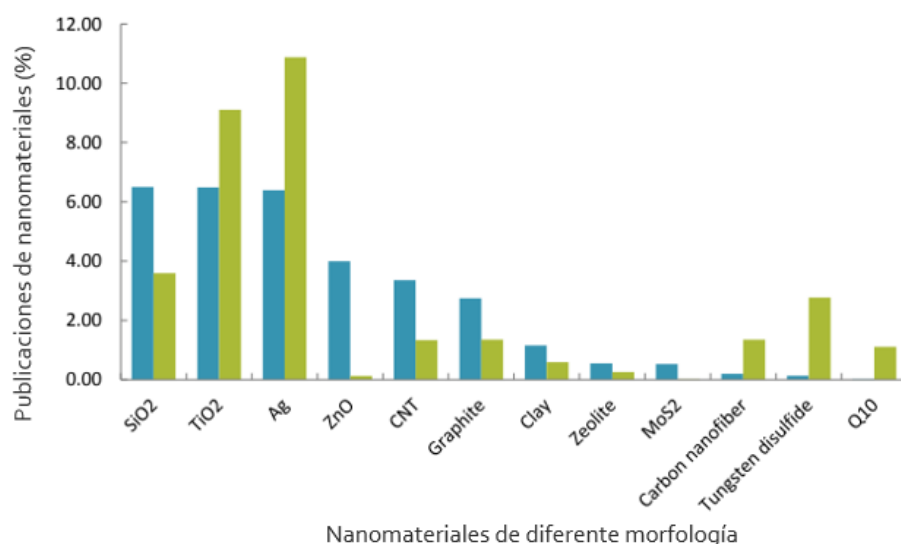


Figura 2. Distribución de los materiales según su morfología o composición dentro en las publicaciones sobre materiales en artículos indexados por ISI (en azul) y en NPD (en verde) en los últimos 5 años (Stat Nano 2017)

Esta participación de las AgNPs como uno de los tres nanomateriales más utilizados, junto con el dióxido de silicio, SiO₂ y el dióxido de titanio, TiO₂, se atribuye a sus diferentes campos de aplicación como la electrónica, en el cual se usa en la mejora de la potencia de algunos circuitos gracias al campo eléctrico generado en estas al interactuar con la luz tal como muestra Tominaga et al, donde al usar películas delgadas que constan de nanopartículas de plata (<30nm) mejoran la potencia de un láser rojo de 1,5 a 3,5 mW (Tominaga et al., 2001), en utilización para descontaminar aguas se aprovecha su capacidad como antibacteriano para su adición a materiales cerámicos porosos para la eliminación de la *E.coli* de las cañerías y otros tales como la incorporación en técnicas de imagen como la espectroscopia Raman SERS⁵, nanosensores electroquímicos e imágenes para células cancerosas (Escobar Falconí, 2015).

²NPD: por sus siglas en inglés Nanotechnology Products Database

³ ISI: por sus siglas en inglés Institute for Scientific Information

⁴ Web of Science" (WoS), de la empresa Thomson Reuters.

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642013000500001

⁵ SERS: por sus siglas en inglés Surface-enhanced Raman spectroscopy

También es utilizado en películas de plata basadas en nanopartículas que pueden contener más de 1.000 veces los datos en un espacio reducido (DVD); su aplicación en suelos para mejorar la calidad; nanocápsulas que estimularían los fotocatalizadores, facilitando un sistema para separar el hidrógeno del agua, obteniendo sólo oxígeno. Por otra parte, su amplia acción bactericida relacionada con partículas con tamaños entre 1 – 10 nm que se unen a la membrana celular de la bacteria modificando su permeabilidad. Estas AgNPs, también liberan iones Ag⁺ que reaccionan con grupos funcionales (carboxilo, tiol, entre otros) en las proteínas y también con el aADN, causando disfunción en el metabolismo de la misma. El interés en la utilización de AgNPs se ha incrementado por su posible interacción con el virus HIV-1, donde las AgNPs se unen a la glicoproteína gp120 impidiendo que esta pueda unirse a células receptoras. También en la E. coli desestabilizan la membrana celular disminuyendo el potencial de membrana y la producción de ATP. Estas propiedades hacen que su uso se extienda a la producción de otros materiales, como recubrimientos para pisos y paredes de quirófanos con el fin de prevenir y disminuir los efectos mortales de bacterias en estos espacios. (Escobar Falconí, 2015).

2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Puesto que las investigaciones actuales están orientadas a controlar el tamaño y la distribución de tamaño de las AgNPs, variando los métodos de síntesis, los agentes reductores y los estabilizantes se evidencia la necesidad de realizar estudios con el fin de comparar dichos métodos. Es por esto que el presente trabajo se dirige a la optimización de las condiciones de reacción de la síntesis con la finalidad de establecer métodos de síntesis más eficientes y sostenibles ambientalmente que permitan ser universalmente fiables y eficientes para satisfacer la demanda del mercado.

3. ANTECEDENTES

Durante el siglo IV d.c los artesanos construyeron materiales vítreos usando nanopartículas de plata y oro (tal vez sin saberlo) que otorgaban colores característicos a los vitrales utilizados en la decoración de las grandes catedrales tal como la de Limoges a mediados del siglo XIV, por lo que se considera que la utilización de estas nanopartículas de amplio uso. Igualmente se emplearon en la fabricación de otros artículos de decoración con lustre de tonalidad amarillenta (Larrea & Pérez-Arantegui, 2003).

Como un ejemplo de lo anterior se encuentra la copa de Licurgo que fue fabricada por los romanos (S.IV d.c), en esta copa se hallaron por microscopia de transmisión electrónica (TEM) pequeñas nanopartículas cuyo tamaño era entre 50-100nm, Estas partículas se identificaron por rayos X evidenciándose la presencia de nanopartículas de oro y plata en proporciones 7:3 dispersas en forma coloidal producidas por su reducción con el antimonio (al 0,3%) que estaba contenido en la copa (Oliva Montero, 2010). Al ser expuestas a la luz en su interior emiten un color rojizo pero si se ilumina desde el exterior, se observa de color verde como efecto de la luz reflejada y transmitida (*Ver Figura 3*) (Barber & Freestone, 1990).

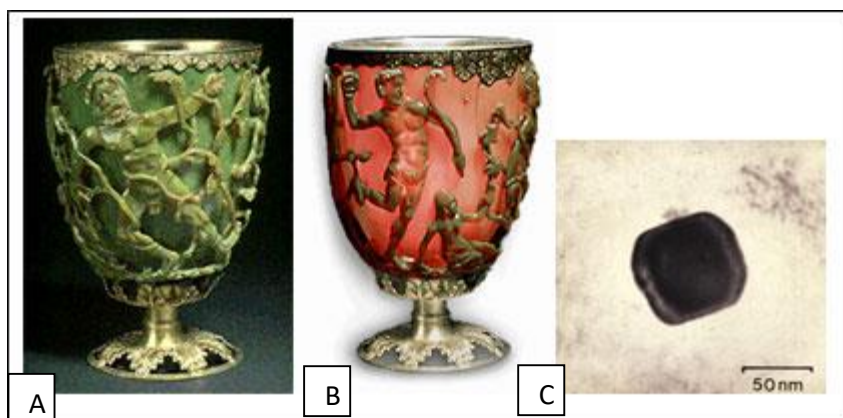


Figura 3. Copa de Licurgo: A) La copa de Licurgo en el museo británico iluminada desde el exterior (izquierda) y B) desde el exterior (derecha), C) Observación en el microscopio de transmisión electrónica (TEM), de un acoplado de nanopartículas de oro y plata (tamaño 50nm). (Miranda 2016)

Paracelso fue el primero en describir la síntesis de oro coloidal a partir de la reducción del cloruro de oro (III) con el extracto alcohólico de plantas junto a la adición de azúcar. Las nanopartículas obtenidas en medio acuoso poseían color rojo característico y por ello paso a ser usado en la ornamentación. En 1718 Hans Heinrich Helcher descubrió que el adicionar almidón al oro coloidal mejoraba su estabilidad siendo este el primer agente estabilizante o dispersor documentado (Saenz Alvear, 2013). En el trabajo titulado *Minerología Determinativa: Ensayos Químicos*, publicado por Trujillo Uribe en 1984, relaciona como en 1685 Cassius realizo otra síntesis de nanopartículas de oro disolviendo dicho metal en agua regia para su posterior reducción con cloruro de estaño (SnCl_2), el producto obtenido se conoció con el nombre de púrpura de Cassius del cual no se tuvo conocimiento de su estabilidad.

También la plata en forma de sales como el nitrato se utilizó junto a ácidos tales como el clorhídrico o el nítrico (conocido como luna caustica) desde los siglos XVII y XVIII para el tratamiento de úlceras y enfermedades venéreas en lo llamado como *Lapis infernalis* y su contra parte básica *Lapis causticus* para el tratamiento de abscesos. En el siglo XIX se descubrió su propiedad como antibacteriano y el tratamiento de quemaduras (incluyendo las de 3er grado) (Klasen , 2000) , en 1940 con la invención de los antibióticos el uso de sales se vio altamente disminuido (Monge, 2009). Sin embargo, los investigadores estiman que, con los materiales de plata que no se encuentran en la escala nanométrica (materiales a granel), las AgNPs tienen mayor actividad antimicrobiana debido a su alta superficie específica y alta fracción de átomos de superficie, por lo que existe una alta demanda para ser utilizadas como antibacteriales.

La primera síntesis de nanopartículas de plata se realizó en 1828 por Rose, en forma de hidrosol donde burbujeó fosgeno⁶ en una solución de óxido de plata (Ag_2O), en el mismo periodo Frick sintetizó un coloide de plata de color púrpura similar al púrpura de Cassius. En 1839 Wöhler reportó la síntesis de una sustancia roja soluble, la cual creía era “sub-citrato de plata” a partir de la reducción parcial del citrato de plata con hidrógeno a 100°C , Newberry demostraría que dicho “sub-citrato⁷” no existía y que dicha coloración rojiza era consecuencia de las partículas de plata coloidal. En 1889 Carey Lea sintetiza lo que llamaba *modificación alotrópica de la plata* a partir del uso de nitrato de plata como sal precursora y citrato de hierro como agente reductor en medio básico. El producto fue un hidrosol que contenía entre 98-99% de plata y 1-2% de citrato de hierro que ejerció su acción como agente estabilizante. Lo cual en 1890 fue reconocido por Prange como plata coloidal (Weiser, 1933).

En 1903 Siedentopf y Zsigmondy identificaron el tamaño nanométrico de las soluciones coloidales, por lo que estas pasarían a ser llamadas posteriormente como “nanopartículas metálicas”. En 1908 Mie explicó la coloración de las nanopartículas metálicas a partir de lo que denominó como *plasmones* (Mie, 1908).

En 1985 Turkevich sintetizó nanopartículas de oro con la reducción del ácido cloroáurico (HAuCl_4) con el ion citrato (Turkevich, Cooper, & Hillier, 1951), lo que se conocería como el método de Turkevich y sería el método por el cual se derivarían los demás métodos de síntesis de nanopartículas metálicas (Saenz Alvear, 2013) sin embargo, este proceso tiende a producir soluciones polidispersas de distinta morfología (Sanchez Moreno, 2017).

Pillai y Kammat reformularon el método de Turkevich para la síntesis de nanopartículas de plata con el fin de observar los distintos factores que afectan la forma y tamaño de las NPs. Para ello,

⁶ Fosgeno: El fosgeno es un gas incoloro, no inflamable, que huele a heno recién cortado. Su fórmula química es COCl_2 . Es una sustancia química manufacturada, aunque pequeñas cantidades ocurren naturalmente provenientes de la degradación de compuestos clorados. (https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts176.html) El fosgeno es un intermediario en la fabricación de importantes compuestos químicos industriales, como los isocianatos, carbamatos, carbonatos orgánicos y las resinas, plaguicidas y colorantes que de ellos se derivan. Se utilizó como gas de guerra. (http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/Valores_Limite/Doc_Toxicologica/FicherosSerie2/DLEP%2034.pdf)

⁷ Subcitrato o subóxido: Compuesto que contiene menor cantidad de oxígeno que su forma de óxido o cuyo metal electropositivo se encuentra en exceso al óxido normal, u ejemplo de esto es el subóxido de carbono (C_3O_2) donde la carga de los átomos de carbono (+1,33) es menor a la de su óxido común ósea, el dióxido de carbono (CO_2) donde la carga de los átomos de carbono es de +2 (<https://es.thefreedictionary.com/sub%C3%B3xidos>).

utilizaron distintas concentraciones de citrato de sodio (1mM, 4mM y 10mM) encontrando que al aumentar la proporción de concentración del citrato de sodio con respecto a la de nitrato plata y el tiempo de calentamiento se podía obtener una mayor concentración de AgNPs, (Pillai & Kamat, 2004). El método de Turkevich es ampliamente utilizado ya que es bastante sencillo y da a lugar a la obtención de soluciones ya estabilizadas que a diferencia del método de Carey Lea permite la obtención de una solución monodispersa⁸

En 1908 Kohlschütter describió la síntesis de hidrosoles de plata a partir de la reducción de una solución saturada de óxido de plata burbujando hidrogeno a 50°C. Este método es bastante complejo puesto que depende de la temperatura de calentamiento ya que esta solo es viable en el rango de 50°C-60°C⁹, y adicionalmente se producen soluciones coloidales con gran cantidad de sal de plata sin reaccionar. En 1910 Gutbier sintetizó dichos hidrosoles a partir de la reducción de nitrato de plata con hidracina (NH₂-NH₂) en medio básico a temperatura ambiente, las soluciones producidas eran bastante estables y más aun con el uso de una solución amoniacal de nitrato de plata. En 1926 Voigt y Heuman formularon un método de síntesis a partir de la síntesis más popular de oro coloidal por el momento, la cual se daba por la reducción con formaldehído en medio básico usando óxido de plata como sal precursora llevando la reacción a calentamiento entre 50-60°C, la reducción era bastante rápida, pero se obtenía una solución amarillenta polidispersa (Weiser, 1933).

Los métodos anteriores se basaron en la amplia capacidad que tiene la plata de reducirse por acción de distintas sustancias, la mayoría de estas son solventes orgánicos, por lo cual en la actualidad se siguen investigando las distintas sustancias para ser usadas como agentes reductores, aun así, son pocas las investigaciones que se encargan de establecer como distintos factores (Temperatura, pH, tiempo de calentamiento, velocidad de agregado, sal precursora, agente reductor, entre otros) influyen en la síntesis.

En cuanto a establecer un mecanismo de formación de las nanopartículas por reducción química en medio acuoso, en 1935 Becker y Döring desarrollan la teoría clásica de nucleación (CNT¹⁰), la cual fue reforzada por LaMer en 1950, proponiendo el mecanismo de formación para hidrosoles monodispersos que solo llegó a ser aplicable a algunos fenómenos, aunque fue ampliamente aceptada. Polte en el 2012 estableció un mecanismo a partir de la síntesis de AgNPs con borohidruro de sodio y citrato de sodio como agentes reductores y nitrato de plata como sal precursora utilizando equipos *in situ* que le permitían monitorear el desarrollo de la reacción (Jörg Polte, 2015).

Actualmente se han realizado diversos estudios para remplazar los métodos tradicionales (en los cuales se usa citrato o borohidruro de sodio como agentes reductores) por otros que son planteados desde los principios de la “química verde” cuyo objetivo principal es reducir efecto nocivo que puedan llegar a tener estos agentes reductores o sus subproductos sobre los seres vivos y el ambiente. Por ello, la siguiente investigación se enfoca en comparar y evaluar 2 métodos tradicionales (Método de Turkevich y el método de Creighton) junto a 2 métodos no tradicionales (síntesis con glucosa y fitoquímica) estableciendo las condiciones óptimas para la síntesis de AgNPs.

⁸ Monodispersidad: Solución cuyo tamaño de partículas es homogéneo, esto es importante puesto que el tamaño difiere de su reactividad.

⁹ Si la temperatura era menor a 50°C la reacción era demasiado lenta y si era superior a 60°C era bastante inestable.

¹⁰ CNT: Por sus siglas en inglés Classical Nucleation Theory

3 MARCO TEÓRICO

3.1 Nanopartículas de plata

La Comisión Europea (2011) define a los nanomateriales como: “*material que tenga cualquier dimensión externa en la nanoescala o con una estructura interna o superficial en la nanoescala. El término «nanoescala» se define como intervalo de tamaños entre aproximadamente 1 nm y 100 nm*”. Así mismo las nanopartículas de plata (AgNPs) se pueden definir como aglomerados mayores a 200 átomos que se encuentran dentro de la nanoescala. Al disminuir el tamaño de partícula aumenta de manera proporcional su relación área-volumen (conocido como área superficial), esta característica le confiere propiedades distintas al del material masivo o *bulk*¹¹; además de ello la mayoría tiene una estructura cor-corona que consta de un núcleo denso de átomos rodeado por un exterior de átomos desordenados débilmente atraídos hacia dicho núcleo (Ver Figura 28) explicado a partir de la teoría de doble capa eléctrica (EDL) las cuales se aglomeran en diversas formas geométricas como las que se muestran en la Figura 4 (Buceta Fernández, 2011).

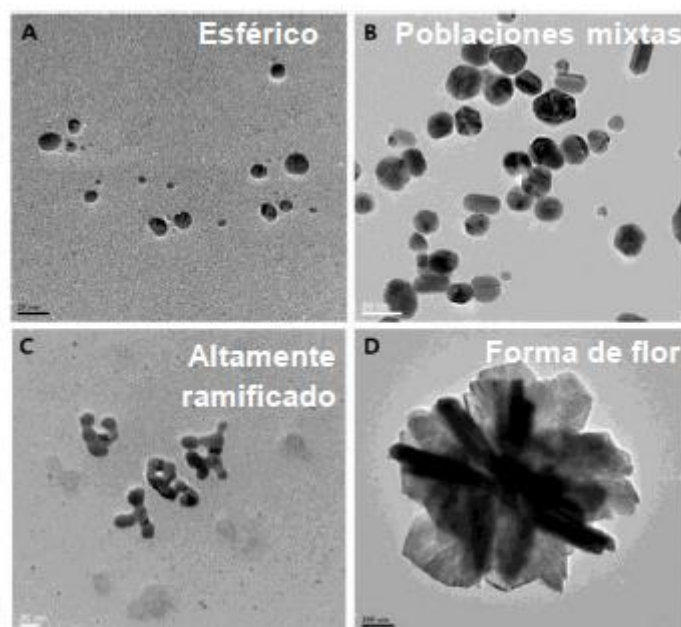


Figura 4. morfología de algunas AgNP observadas en microscopia de transmisión electrónica (TEM) (Sanchez Moreno, 2017)

La clasificación de los nanomateriales considera diferentes criterios¹²: según la naturaleza química; de acuerdo con las dimensiones de los nanomateriales en la nanoescala; por su tamaño. A continuación, se relacionan las diferentes clasificaciones y se especifica la clasificación correspondiente a las AgNP:

¹¹ Bulk: Material que no tiene dimensiones en la escala nanométrica (1-100nm) también se denomina como material a granel o como material volumétrico.

¹² <http://nuevastecnologiasmateriales.com/clasificacion-de-los-nano-materiales/>

- **Según la naturaleza química:** los nanomateriales se clasifican en orgánicos e inorgánicos y las nano partículas de plata son de naturaleza inorgánica, que pertenecen al sub grupo de nanopartículas de oro plata platino y aluminio.
- Por sus **dimensiones** los nanomateriales se clasifican en:
 - Cero-dimensionales (0D): son nanomateriales con las tres dimensiones (x,y,z) en la nanoescala, es decir menores a 100nm, lo cual quiere decir que los electrones están confinados en las tres dimensiones. A este grupo pertenecen las nanopartículas de plata, también las de oro, las partículas coloidales, los fullerenos, los puntos cuánticos y los nanoclusters.
 - Uni-dimensionales (1D): dos dimensiones en la nanoescala y en estas dos dimensiones están confinados los electrones. En esta clasificación se encuentran los nanoalmbres, los nanotubos de carbono, las nanofibras, las fibras poliméricas y las nanovarillas.
 - Bi-dimensionales (2D): una dimensión menor a 100 nm y en esta única dimensión están confinados los electrones. Son materiales bidimensionales las superficies con espesor menor a 100 nm las monocapas, los nanorecubrimientos, las nanopelículas poliméricas
 - Tri-dimensionales (3D): ninguna de sus dimensiones se encuentra en la escala nanometrica, por lo tanto, sus electrones no se encuentran confinados y pueden moverse con total libertad
- **Por su tamaño:** las nanopartículas de plata comprenden rangos entre 1 – 100 nm; los puntos cuánticos presentan tamaños comprendidos entre 1 -50 nm; los fullerenos C60 tiene tamaños entre 0,88 – 1,1 nm y las partículas coloidales de 1 – 100 nm.
- Según la Organización Internacional de Estandarización (ISO¹³) los nanomateriales se clasifican como nano-objetos (poseen alguna de sus dimensiones externas en la nanoescala) y como materiales nanoestructurados (poseen alguna de sus dimensiones internas o su superficie dentro de la nanoescala).

Atendiendo a la anterior clasificación las nanopartículas de plata objeto de este trabajo se clasifican como nano-objetos en la subcategoría de nanoparticulas, dado que todas sus dimensiones externas se encuentran dentro de la nanoescala y dichas dimensiones no difieren significativamente entre sí¹⁴ (Ver Figura 5)

¹³ ISO: por su sigla en inglés International Standardization Organization. Fuente: ISO / TS 27687: 2008(E) ISO / TS 80004-4: 2011.

¹⁴ Si la medida de la dimensión más larga es 3 veces superior a la más corta pasa a ser considerada como nanofibra o nanoplaca.

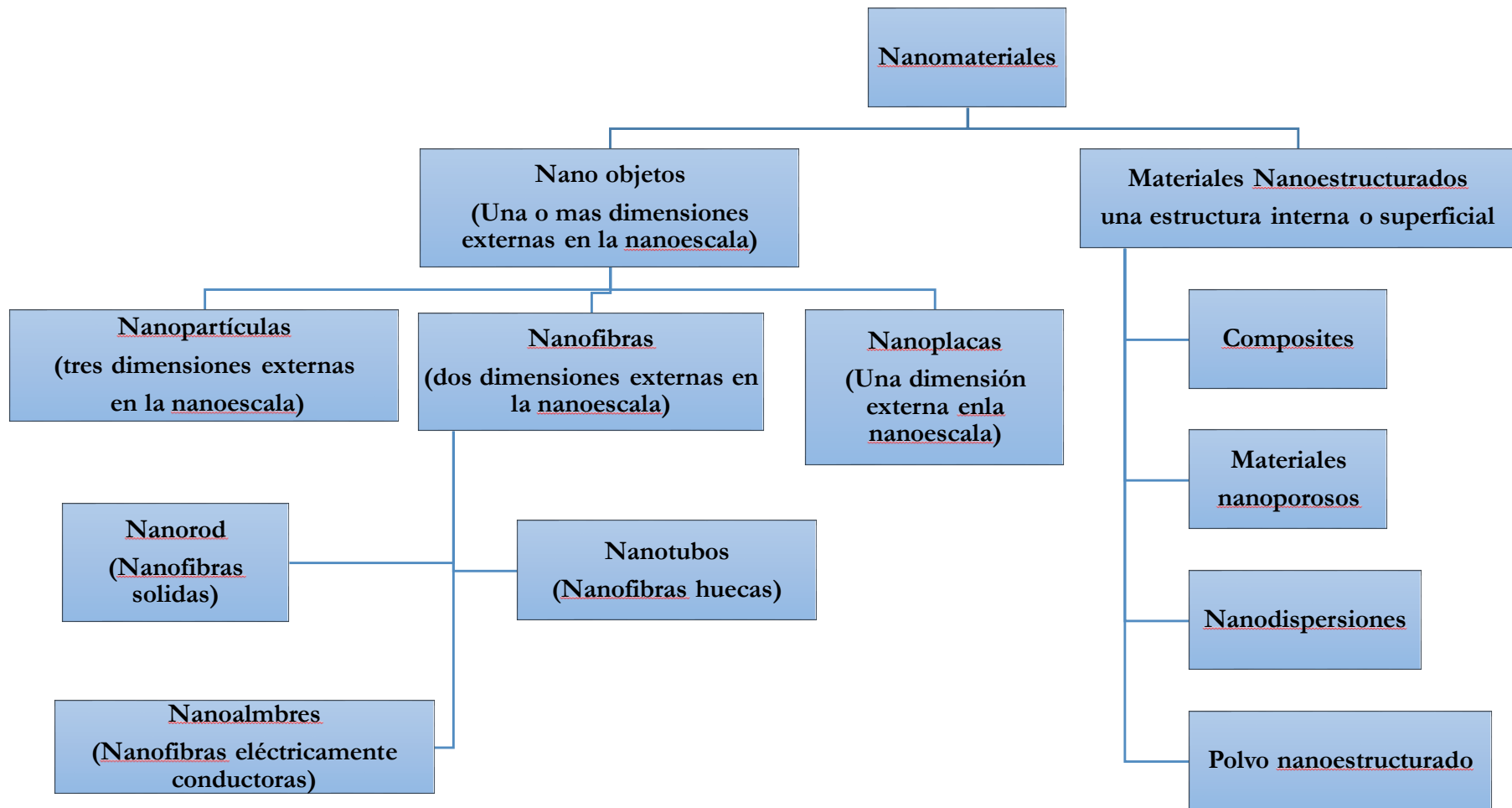


Figura 5. Clasificación de los nanomateriales según la norma ISO (ISO/TS 8004:2010)

3.2 Clusters de plata

Los clusters son aglomerados con un tamaño menor al de 1 nanómetro, por ello son independientes de los nanomateriales y son llamados como clusters cuánticos los cuales comprenden entre 2 a 100 átomos, que se encuentran organizados en formas geométricas bien definidas, las cuales han sido calculadas teóricamente (*Ver Figura 7*) la mayor dificultad se da en saber la estructura de los clusters grandes, puesto que al aumentar el número de átomos aumenta la cantidad de “isómeros energéticos” (Matulis, Ivashkevich, & Gurin, 2003).

Los clusters se clasifican en:

- **Clusters grandes:** esta denominación se da a los clusters de 20-60 o 100 átomos, generalmente su estabilidad depende de una capa protectora de ligandos fuertes tales como las fosfinas o tioles, estas sustancias se les conoce como agentes estabilizantes (Rodríguez Cobo, 2012).
- **Clusters pequeños:** esta consideración se da a los clusters de 2-20 átomos, esta división no es bastante clara y otros autores pueden delimitar la cantidad de átomos de otra manera. Estos a diferencia de los clusters grandes no necesitan de ligandos estabilizantes y tienen todos sus átomos en superficie, lo que les confiere un área superficial muy elevada (Rodríguez Cobo, 2012).

Otra diferencia clave es que los clusters grandes no presentan una banda de absorción bien definida mientras que los clusters pequeños si la tienen como se muestra en la *Figura 6*. Donde se observa que el espectro de los clusters grandes es similar al de los semiconductores (esto es dado que los clusters grandes tienen bandas HOMO¹⁵-LUMO¹⁶ bastante definidas) mientras que los clusters pequeños tienen un espectro similar al de átomos y moléculas (Buceta Fernández, 2012).

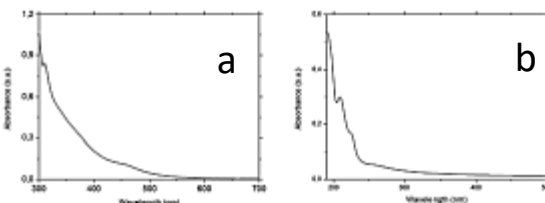


Figura 6. Espectro Uv/Vis de a) una solución de AgQC grandes y b) una solución de AgQCs pequeños. Tomado de (Buceta Fernández, 2011)

La estabilidad de un cluster depende del número de átomos por el que está compuesto, ya que, si existe un exceso o déficit de átomos en el mismo, inmediatamente aumenta su energía potencial de

¹⁵ HOMO: (de sus siglas en inglés *Highest Occupied Molecular Orbital*) En teoría de orbitales moleculares es el nivel de energía más alto ocupado por un par electrónico, como consecuencia este es el orbital que puede ceder más fácil sus electrones (Alvarado Ramírez, 2017).

¹⁶ LUMO: (de sus siglas en inglés: *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) En teoría de orbitales moleculares es el nivel de energía más bajo sin ser ocupado por electrones, como consecuencia este es el orbital que puede aceptar más fácil electrones de otro átomo en un enlace químico (Alvarado Ramírez, 2017).

superficie (PES) con lo cual estos pasan a formar clusters de mayor estabilidad, el número de átomos que le otorgan a un cluster su estabilidad está directamente relacionado con los “números mágicos” ($n = 8, 18, 20, 34, 40, 58, 92, 138, \text{etc.}$). (Buceta Fernández, 2011)

En este caso los clusters de plata (AgQCs) exhiben propiedades que los hacen distintos tanto del *bulk* como de las nanopartículas, entre los cuales destacan:

- **Fotoluminiscencia:** esta es dada a partir de las transiciones electrónicas que se logran en los *gaps* que se dan entre los átomos que la componen por lo que generan longitudes de onda que se encuentran en el rango del UV-Vis, dicha transición depende de la configuración geométrica que asumen los átomos en el clúster (Buceta Fernández, 2012).
- **Catálisis:** la gran densidad de electrones que presentan los clusters provee la suficiente energía de activación para la catálisis de distintas sustancias siendo los clusters de menor tamaño los más reactivos dado el aumento en su área superficial (Buceta Fernández, 2011).

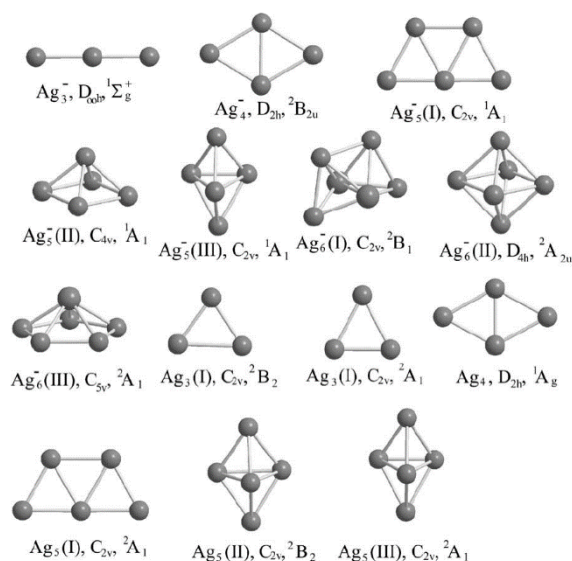


Figura 7. Estructura de clusters aniónicos y neutros de plata por estudio DFT. (Matulis, Ivashkevich & Gurin 2003)

Debido a las propiedades expuestas anteriormente los AgQC tienen distintos usos entre los cuales destacan:

- **Marcadores:** dadas sus propiedades fotoluminiscentes los clusters se usan como marcadores biológicos en su capacidad de realizar conjugados con diversas proteínas lo que le permite tener biocompatibilidad y siendo su coeficiente de fotoextinción muy bajo le permite ser un marcador duradero (Buceta Fernández, 2012).
- La gran capacidad de catálisis de estos clusters permiten la investigación en el uso de catalizadores para reacciones metabólicas y de síntesis orgánica (Buceta Fernández, 2012).

3.3 Diferencias entre nanopartículas (NPs) y Clusters (QCs)

Como se había mencionado anteriormente, la principal diferencia existente entre NPs y QCs es su tamaño, mientras que los NPs tienen tamaños mayores a 1 nm los clusters tienen tamaños inferiores a 1 nm. Por lo que podemos tener una clasificación de las sustancias en: materiales masivos o *bulk*, nanopartículas, clusters y átomos en los cuales aquella diferencia de tamaños les confiere propiedades particulares (Peinnetti, 2016).

A medida que disminuye el tamaño de partícula así mismo aumenta su relación superficie-área lo cual significa un aumento en la reactividad de las mismas, en consecuencia, todas aquellas propiedades en las cuales influye el área superficial cambian drásticamente cuando reducimos el tamaño de la partícula, por ello no podemos asumir que las NPs y los QCs tienen las mismas propiedades. en la tabla se muestran las principales diferencias existentes entre clusters y nanopartículas (Buceta Fernández, 2011).

Tabla 1. Principales diferencias entre nanopartículas (NP) y clusters (QC) (Buceta 2012, Rodriguez 2012).

Característica	Nanopartícula (NP)	Cluster cuántico (QC)
Tamaño	1-100nm	< 1nm
Estructura	Cor-corona para cada NP (fig 14)	Geométrica (Figura 7)
Numero de átomos (aproximado)	>200 átomos	2-200 átomos
<i>Bandgaps</i>	Ligeramente continuas	Discretas, con los cuales se puede hablar de niveles de energía HOMO y LUMO que le dan un comportamiento como semi-conductor (Figura 8)
Resonancia de plasmones (Figura 9)	Movimiento oscilatorio en los electrones de conducción.	Ausencia de movimiento por confinamiento de los electrones, en clusters pequeños se presenta un leve pico de absorbancia (310nm) por sus bandas HOMO-LUMO.
Estabilidad	Estabilidad coloidal	De acuerdo al número de átomos que lo conforman en relación a los “números mágicos”

Otra diferencia importante son las *bandgaps*¹⁷ de NPs y QCs, en un *bulk* cada átomo aporta sus orbitales atómicos a una banda que se conoce como densidad de estados (DOS), al tener gran cantidad de átomos su banda será continua mientras que al disminuir la cantidad de átomos las distinciones entre estas bandas se hacen más evidentes ó sea son niveles más discretos de energía (Ver Figura 8) los QCs no presentan bandas tal como las nanopartículas por lo que el espacio entre los *bandgap* de

¹⁷ Bandgap: en teoría de bandas, es el espacio que existe entre 2 bandas de conducción entre 2 átomos metálicos que no se solapan, característico de solidos aislantes (Whitten, Davis, & Peck, 1998).

estos es tan grande que se podría hablar de niveles de energía HOMO y LUMO que le permiten alejarse de su carácter lumínico para comportarse tal como un semi-conductor.

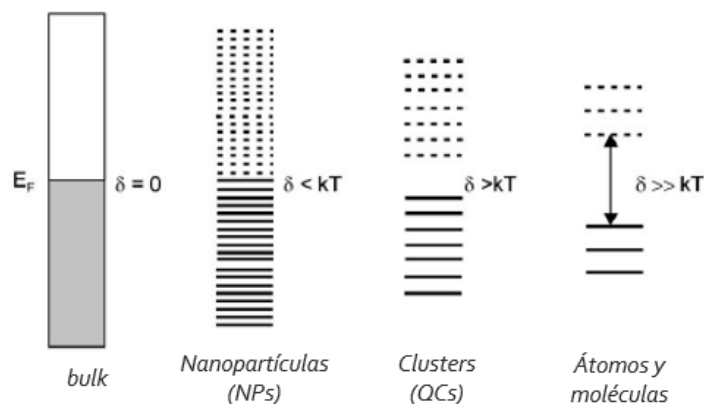


Figura 8. Evolución en la densidad de estados (DOS) y *bandgaps* a partir del tamaño de partícula (Roduner 2006).

El fenómeno conocido como la resonancia de plasmones superficiales, es otra diferencia de interés entre NPs y QCs. En tamaños menores a 1nm los electrones se encuentran “atrapados” o confinados en *bandgaps* por lo cual no pueden ejercer un movimiento oscilatorio, en la *Figura 9* se puede evidenciar como la resonancia de plasmones de superficie permite diferenciar a través del análisis Uv/Vis las soluciones de nanopartículas de las de clusters cuánticos ya que la solución de AgNPs presenta un pico de absorción cercano a los 420nm mientras que los AgQCs presentan un leve máximo de absorción cerca a los 310nm.

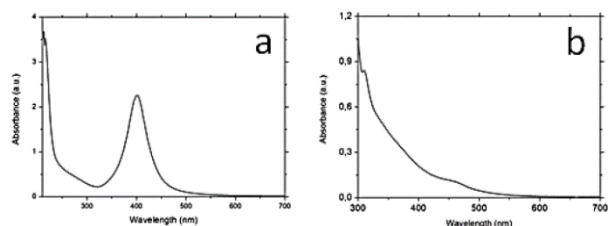


Figura 9. Espectro Uv/Vis de a) una solución de AgNPs y b) una solución de AgQCs. Tomado de (Buceta Fernández, 2011).

3.4 Propiedades de las nanopartículas de plata

Las nanopartículas exhiben propiedades distintas a las del *bulk* esto es debido a que al disminuir número de átomos, aumenta así mismo la cantidad de átomos en su superficie (dispersión) (Ver *Figura 10*) incrementando la reactividad de las mismas (Roduner, 2006).

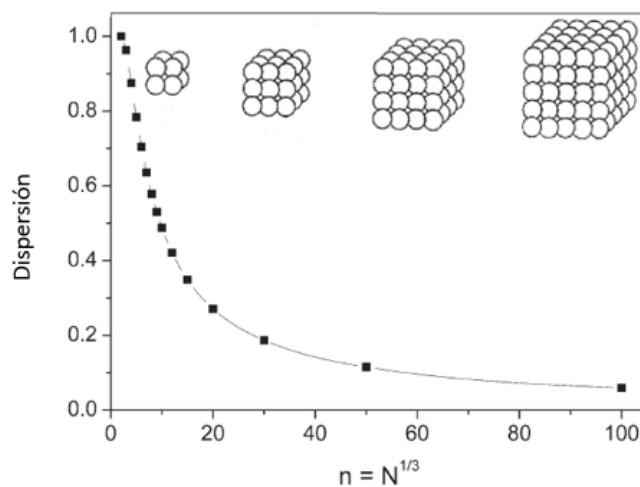


Figura 10. Relación entre la dispersión y el número de átomos (n) en una nanopartícula cúbica (Roduner 2016)

Debido a lo anterior las AgNPs se caracterizan por poseer propiedades físicas como: tamaño, forma, punto de fusión, propiedades ópticas y resonancia de plasmones. Entre las propiedades químicas importantes están: las propiedades coloidales y la fotocatalisis.

3.4.1 Propiedades físicas

Tamaño: La reactividad de las NPs depende de su tamaño, criterio que las diferencia de los del *bulk*, por lo que no es de esperar que dentro de las NPs el tamaño sea un factor fundamental. Las nanopartículas al disminuir su tamaño así mismo incrementa la cantidad de átomos en superficie por lo cual son más reactivas, pero como consecuencia su energía potencial total (Ver numeral 3,6 y Figura 30) disminuye con lo que estas tenderán a precipitar por coalescencia.

Forma: La forma que presenta una nanoestructura también se relaciona con su reactividad, las formas que contienen un mayor número de esquinas y bordes como por ejemplo las nanoestructuras de forma tetraédrica. Lo anterior es debido al exceso de energía que presentan los átomos en los bordes ya que presentan un menor número de átomos vecinos con los cuales compartir dicha energía.

Punto de fusión: Una de las mayores diferencias entre las NPs y los *bulks* es su dispersión ya que mientras que en el *bulk* los átomos superficiales se encuentran rodeados de varios vecinos con los cuales comparten su energía de enlace o energía de cohesión entre átomos (coordinación), existe un mayor número de átomos en la superficie y un menor número al interior, entonces los átomos internos ejercerán menores fuerzas de atracción y los átomos externos se moverán más libremente por lo que los puntos de fusión disminuyen al requerir menos energía para vencer las fuerzas de atracción molecular¹⁸, especialmente si su morfología cuenta con bordes o esquinas, ya que estas son las que se encuentran menormente coordinadas,

¹⁸ <http://nuevastecnologiasymateriales.com/propiedades-de-las-nano-particulas/>

por ello estos átomos son menos estables y de allí el aumento de sus propiedades catalíticas. Sin embargo, esta característica no solo afecta a la reactividad de la nanopartícula, sino que también interviene en su punto de fusión dado que la cantidad de energía necesaria para que se dé el cambio de fase en las NPs es mucho menor, puesto que las partículas en superficie contienen energía en exceso. y en la *Figura 11* se observa como al disminuir el diámetro en un material de indio, su punto de fusión disminuye en comparación al del material *bulk* (Roduner, 2006) al igual que en la *Tabla 2* donde se relacionan los puntos de fusión de las AgNPs respecto a su tamaño.

Tabla 2. Relación entre el diámetro de las AgNPs (nm) y su punto de fusión (°C) (Tomado de: <http://nuevastecnologiasymateriales.com/propiedades-de-las-nano-particulas/>)

Diámetro (nm)	Punto de fusión (°C)
<i>Bulk</i>	1234
1.6	400
2	680
10	1050
>20	>1120

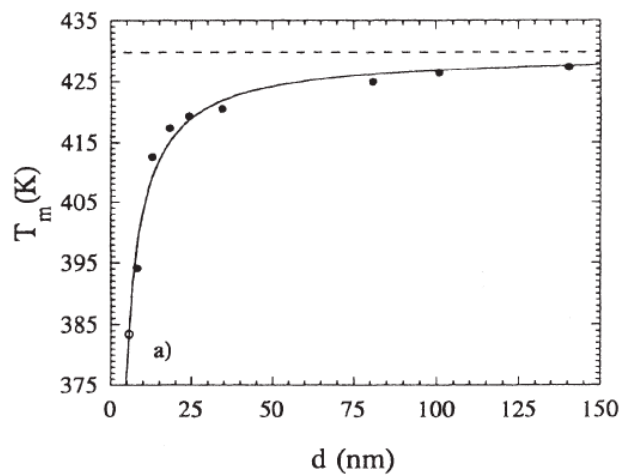


Figura 11. Variación del punto de fusión (T_m) en relación al diámetro para InNPs. La línea punteada es el punto de fusión para el material *bulk* (Roduner 2016)

En la siguiente ecuación conocida como la ecuación Gibbs-Thomson, se evidencia como el radio de partícula es inversamente proporcional al punto de fusión de un cluster de radio r (Roduner, 2006) :

$$\frac{\Delta T_m}{T_m^*} = \frac{2V_m(\ell)\gamma_{s\ell}}{\Delta H_m r}$$

Donde:

T_m : Punto de fusión del cluster de radio r

T_m^* : punto de fusión del *bulk*

$V_m (\ell)$: Volumen molar del liquido

$\gamma_{s\ell}$: tensión interfacial entre fase liquida-solidida

ΔH_m : Calor latente de fusión del *bulk*

r : radio del cluster

Propiedades Ópticas: Las AgNPs Presentan una amplia gama de coloraciones que van desde el amarillo al rojo, la cual varía según la morfología y el tamaño de las mismas. Mie (1907) relaciona la coloración de las nanopartículas en soluciones coloidales con su tamaño asumiendo que estas tienen formas perfectamente esféricas (*Ver Tabla 3*), este fenómeno se explica a partir de la resonancia de plasmones.

Tabla 3. Relación color-tamaño de partícula a partir de datos teóricos y experimentales (Mie, 1908)

Color	Tamaño de partícula en nm
Amarillo-Naranja	0,6
Naranja	0,7-0,8
Naranja-Rojo	0,9
Rojo	0,9-1
Purpura	1,1-1,2
Violeta	1,5
Azul-Violeta	1,37-1,4
Azul	1,6
Azul-Verde	1,8

Resonancia de plasmones superficiales: Este fenómeno se presenta en nanopartículas metálicas dado que su banda de conducción y su banda de valencia se encuentran muy próximas entre si y consiste en la producción de un plasmón la cual es resultado de la interacción de la luz con la nanopartícula y así mismo con sus electrones. Al incidir la luz sobre esta partícula el campo eléctrico de la luz genera un dipolo en la partícula desplazando los electrones hacia un polo de la misma, inmediatamente los electrones (conocidos como electrones de conducción) intentaran regresar a su estado fundamental por lo que el movimiento de los electrones de conducción (de forma conjunta) en forma

oscilatoria da a lugar a la producción de cuasipartículas llamadas plasmones superficiales (Ver Figura 12) (Sanchez Moreno, 2017).

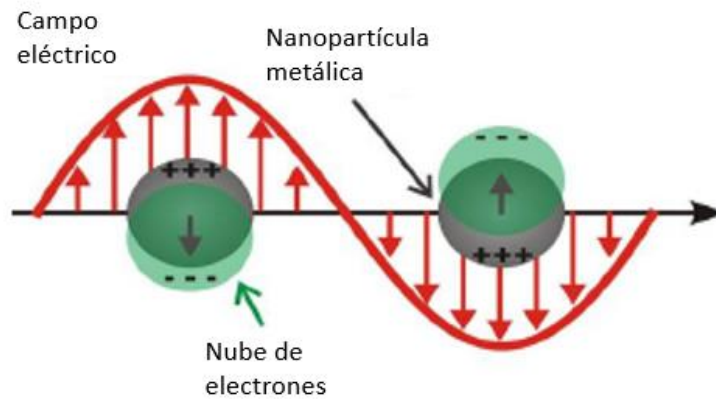


Figura 12. esquema de la oscilación conjunta de la nube de electrones al interactuar con el campo eléctrico de la luz (Oliva 2010).

A determinada frecuencia se acoplan tanto las frecuencias de longitud de onda incidente como la de las oscilaciones de plasmones de superficie, dicha frecuencia es la longitud de onda de máxima absorción de la solución y este fenómeno se conoce como resonancia de plasmones superficiales y es el responsable de la coloración característica de las soluciones de nanopartículas metálicas, la longitud de onda máxima de la solución depende tanto del tamaño como de la forma de la partícula (Figura 13) y es un método efectivo por el cual caracterizar las nanopartículas metálicas así mismo para poder medir su concentración a partir de sus absorbancia. En el caso de las AgNPs su pico de absorción máxima se encuentra entre 400-450nm en el que las partículas menores a 5nm se encuentran cerca de los 400nm y si este se encuentra cercano a los 420nm este valor rondaría los 20nm (Sanchez Moreno, 2017) .



Figura 13. Rangos de absorción en el espectro Visible para distintas morfologías de AgNPs y AuNPs (Sánchez 2017).

Esta propiedad es extremadamente importante puesto que en la plasmónica¹⁹ las AgNPs se diferencian de otros nanomateriales metálicos como las AuNPs o CuNPs por su fuerza de plasmón superficial definida desde el factor de calidad²⁰, en la *Figura 14* se muestra como las AgNPs muestran mayor factor de calidad, por lo tanto su resonancia de plasmón es más fuerte y tiene mayor importancia en el campo de la plasmónica (Rycenga et al., 2011).

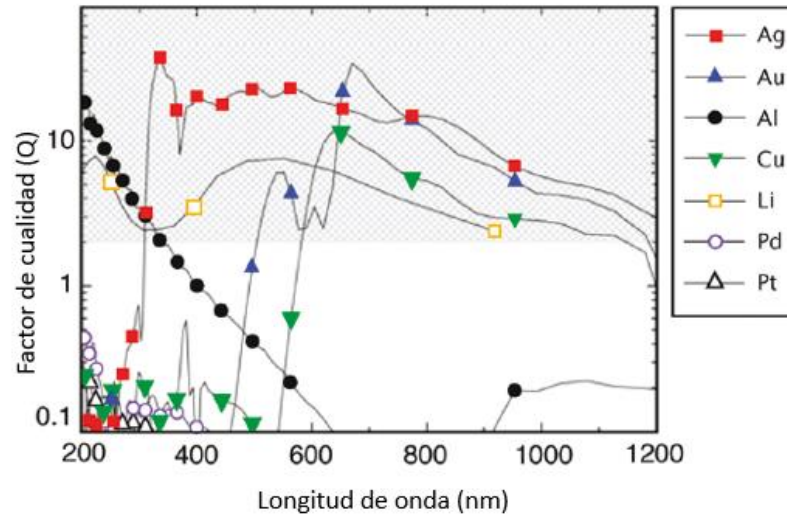


Figura 14. Variación del factor de calidad para distintas nanopartículas metálicas según a distintas longitudes de onda (Rycenga et al., 2011).

3.4.2 Propiedades químicas:

Al presentar el mismo tamaño que las partículas en suspensión en una solución coloidal pueden presentar las mismas *propiedades que los coloides*, tales como el efecto Tyndall²¹, movimiento browniano²², coagulación²³, entre otras.

¹⁹ Plasmónica: Campo de estudio de la física que se encarga del estudio de la localización, guía y manipulación de plasmones producto de la difracción de la luz electromagnética en materiales de escala nanométrica (Rycenga et al., 2011).

²⁰ Factor de calidad (Q): Relación entre las constantes dieléctricas de una partícula, su valor cambia según la longitud de onda y permite conocer que materiales son mejores para aplicaciones en plasmónica (generalmente se usan materiales de $Q > 10$) (Rycenga et al., 2011).

²¹ Efecto Tyndall: Efecto físico en el cual se da la dispersión de la luz debido al tamaño de las partículas coloidales ($> 1\text{nm}$), con lo cual manifiestan turbidez, descrito por el físico John Tyndall en 1869. (Whitten, Davis, & Peck, 1998)

²² Movimiento Browniano: Movimiento irregular y en zig-zag que sufre una partícula pequeña ($> 1\text{nm}$) al estar inmersa dentro de un fluido, observado por el biólogo Robert Brown en 1827 al detallar en el microscopio el movimiento de un grano de polen en el agua. (http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/13/htm/sec_4.html)

²³ Coagulación: Desestabilización de un coloide producto de la eliminación de la doble capa eléctrica de las partículas coloidales en suspensión con soluciones electrolíticas. (http://www3.uclm.es/profesorado/giq/contenido/dis_procesos/tema5.pdf)

Fotocatálisis: Esta se da en la interacción que tienen las nanopartículas con la luz incidente con la energía necesaria para excitar a los electrones desde la banda de valencia hacia la banda de conducción, la cual pasa a ser negativa por exceso de electrones y necesita ceder estos hacia otra molécula con lo cual pasa a actuar como agente reductor. esta propiedad se ve en nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) en la gestión de contaminantes orgánicos e inorgánicos, puesto que los electrones en exceso de las bandas de conducción son atraídos a moléculas de oxígeno (O_2) para la formación de superóxidos (O_2^-) que por su alta reactividad pueden descomponer y degradar dichos contaminantes²⁴.

La actividad catalítica de las NPs no solo depende de su tamaño por su gran área superficial, sino que también depende de su forma; puesto que las partículas que presentan mayor cantidad de caras presentan una mayor cantidad de átomos en superficie, además que como se había dicho anteriormente aquellas NPs que presentan bordes y esquinas presentan menor número de coordinación por lo tal estas tienden a participar activamente en procesos de catálisis (Roduner, 2006).

3.4.3 Propiedades biológicas:

Se ha encontrado que las AgNPs tienen actividad bactericida, aunque existen aspectos que aún no son claros. Uno de ellos es el mecanismo de acción de las AgNPs y otro es si dicha actividad es atribuida a la liberación de iones plata o a las nanopartículas de plata *per se*; aun así, se ha encontrado que la interacción existente entre las AgNPs y la membrana plasmática bacteriana es fundamental, puesto que estas pueden ser permeables en condiciones de humedad y así interferir con el proceso de cadena de transporte de electrones que tiene como consecuencia la muerte de la bacteria (Cardoso, 2016). Existen características intrínsecas en las soluciones de AgNPs que aumentan su capacidad bactericida, una es su tamaño, no solo sirve para atravesar con facilidad los poros de la membrana plasmática exterior, sino que al disminuir su tamaño aumenta su relación superficie-volumen con lo cual aumenta la cantidad de iones plata quimioabsorbidos y la superficie de contacto con las bacterias. Otra es su forma, siendo las formas que manifiestan caras las que mejor comportamiento bactericida manifiestan ya que estas son las que tienen mayor superficie de contacto (Valle & Concepci, 2014).

Además de la interrupción en la respiración bacteriana, se han propuesto otros mecanismos de acción, como lo es el unirse a grupos sulfhidrilo en proteínas encargadas de la fosforilación

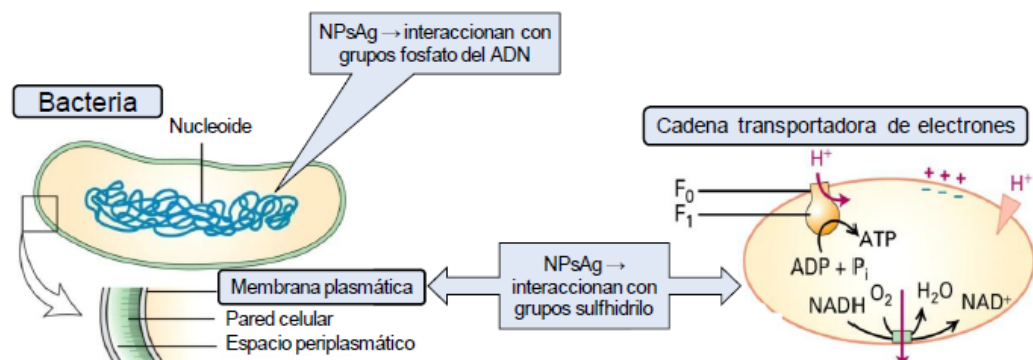


Figura 15. Esquema de los mecanismos bactericidas de las AgNPs (Valle 2014).

²⁴ <http://nuevastecnologiasymateriales.com/propiedades-de-las-nano-particulas/>

oxidativa que como consecuencia tiene la producción de especies reactivas de oxígeno que pueden atacar al ADN, también pueden unirse a los grupos fosfato del ADN con lo que impide el proceso de replicación (*Ver Figura 15*) (Valle & Concepci, 2014).

3.5 Métodos para la síntesis de nanopartículas

La síntesis de nanocompuestos comprende una gran variedad de métodos, lo cuales se han agrupado en métodos *top-down* y *bottom-up*. La diferencia entre estos dos tipos es: el tamaño del precursor sintético y la metodología de síntesis, además de ello hay que tener en cuenta que estos métodos permiten la obtención de nanocompuestos de tamaño y morfología determinados.

3.5.1 Método top-down (“de arriba hacia abajo”)

Este método tiene como punto de partida el material macizo o *bulk* (*top*) que a partir de distintas metodologías (principalmente métodos físicos) es dividido en partículas de menor tamaño (*down*) (Zanella, 2012). Entre estos destacan los siguientes:

- **Evaporación/ Descomposición térmica:** el material *bulk*, en este caso la plata metálica, se calienta en un ambiente de vacío (horno en forma de cilindro) a altas temperaturas y presión atmosférica, llevando a cabo la evaporación o sublimación de la plata, obteniéndose partículas de menor tamaño que son llevadas por el flujo de un gas hacia una lámina fría en la cual son depositadas (Arribas Pardo, 2012). Los principales inconvenientes del proceso son el alto consumo de energía y los tiempos prolongados que requiere la estabilización térmica de las nanopartículas de plata (Cardoso, 2016).
- **Ablación por láser pulsado (PLD²⁵):** El *bulk* se encuentra sumergido en una mezcla de precursores, al irradiar con un láser hacia este inmediatamente se calentará propiciando la reacción con dichos precursores en solución, formando un precipitado esférico con un tamaño entre 2-5nm. La mayor desventaja para este método es que su eficacia depende de bastantes factores, tales como la energía del láser, su frecuencia, la longitud de onda, la duración de pulsos, entre otros (Sanchez Moreno, 2017).
- **Elaboración de clusters gaseosos o vaporización láser:** El *bulk* es sometido a un láser de alta potencia en un ambiente de ultra vacío, dicho vapor compuesto de clusters se deposita en una lámina de óxido monocristalino a partir de una corriente de gas inerte (Zanella, 2012).
- **Implementación de iones o pulverización por bombardeo iónico:** Consta de la adición o “implantación” de iones (no necesariamente deben de tener la misma identidad que el *bulk*) que pueden afectar la estructura cristalina del *bulk*, así como afectar sus propiedades químicas o físicas. La implementación de iones se hace por un bombeo de estos mismos

²⁵ PLD: por sus siglas en inglés Pulse Laser Ablation.

a altas energías acelerados electrostáticamente, luego la atomización de este se hace reaccionar con un gas para su posterior deposición produciendo así una capa delgada del nanomaterial sobre una lámina (Zanella, 2012).

- **Molienda:** Este proceso implica la adición del *bulk* en un contenedor cilíndrico con una resistencia mayor al del material a moler, posterior a ello se da la fracturación y división del *bulk* causada por sucesivos y continuos impactos y colisiones de este contra bolas de molienda que son capaces de resistir los impactos y son del mismo material que el contenedor cilíndrico, con este método se obtienen nanocompuestos que poseen formas y tamaños distintos cuya mayor desventaja es la contaminación de la muestra producto del desgaste de las bolas a través del tiempo y el uso que tiene como consecuencia la adición de fragmentos del material de las bolas (Garduño Zavala, 2011).

3.5.2 Método bottom-up (de abajo hacia arriba)

Este método tiene como punto de partida un conjunto de átomos o iones del material provenientes de sales (*bottom*) que a partir de distintas metodologías (principalmente métodos de reacciones de reducción) son agrupados en partículas de mayor tamaño (*up*), en la *Figura 16* se puede evidenciar como tanto el método *top-down* como el *bottom-up* contribuyen al ensamblaje de nanopartículas; En cuanto a esta metodología se realizará un énfasis sobre la reducción metálica.

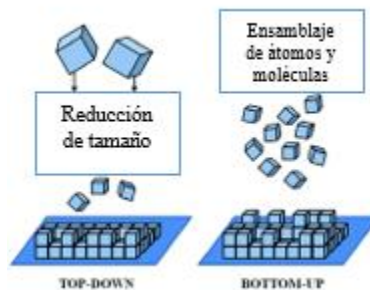
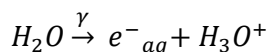


Figura 16. Esquema de síntesis *top-down* (izquierda) y *bottom-up* (derecha) de nanomateriales. Tomado de (<http://nanothenevewera.blogspot.com.co/2016/02/synthesis-routes-of-nanopartciles.html>)

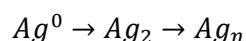
Son diversos los métodos por los cuales se puede llegar a la reducción de un metal entendiendo este proceso como la obtención de partículas de metal de estado de oxidación cero (0) partiendo de una solución del mismo donde se encuentra como ion con un estado de oxidación positivo. Como ejemplo de los mecanismos de reducción para la obtención de nanopartículas se tienen.

- **Reducción sonolítica:** se emplean frecuencias de ultrasonido que generan electrones acuosos para la reducción del metal de forma similar a la reducción radiolítica, además de condiciones de temperatura y presión elevadas (hasta 5000K y 1800atm) en este proceso se puede mejorar la estabilidad de las partículas restantes al añadir un agente estabilizante (Sanchez Moreno, 2017).

- **Reducción Fotolítica:** por efecto fotoeléctrico los electrones son excitados por la luz lo que provoca que estos para su desexcitación reaccionen con el ion metálico para su posterior reducción, el cual es llevado a cabo por la aplicación de distintos tipos de radiación electromagnética, a diferencia de las demás técnicas esta podría utilizarse para cambiar la morfología de las AgNP (Sanchez Moreno, 2017).
- **Reducción radiolítica:** se emplea la emisión de rayos gamma, quienes son capaces de reaccionar con el agua en la solución produciendo el desprendimiento de electrones acuosos en una reacción conocida como radiólisis del agua, como se muestra en la siguiente ecuación:



Estos electrones solvatados reaccionan con el ion metálico y lo reducen, el átomo metálico reducido por coalescencia²⁶ forma agregados de mayor tamaño como se muestra en las siguientes ecuaciones:



como ventaja este método tiene la síntesis inofensiva y limpia de nanopartículas ya que los rayos gamma tienen poca afectación y no se producen residuos de agentes reductores (Cabrera, López, & Santiago, 2008).

- **Termólisis:** Se emplean solventes con un muy alto punto de ebullición para la descomposición del material *bulk*, para el caso de las AgNPs, se pueden usar cadenas largas de alquilcarboxilatos o alquilaminas para su síntesis (Ver Figura 17) (Sanchez Moreno, 2017), estos tienen un comportamiento dual tal como agentes reductores y como estabilizantes obteniendo AgNPs de 2,8-15,4nm (Escobar Falconí, 2015).

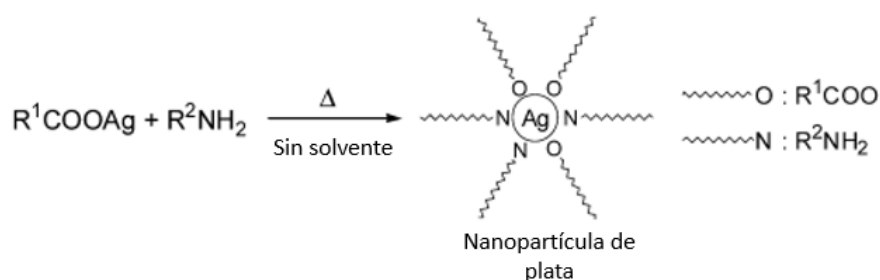


Figura 17. Esquema para la formación de AgNPs a partir de la termólisis de un alquilcarboxilato de plata y una alquilamida (Kashiwagi, Yamamoto & Nakamoto, 2006).

²⁶ Coalescencia: Proceso por el cual 2 partículas de la misma composición se unen para la formación de una de mayor tamaño. (tomado de: <https://definicion.de/coalescencia/>)

- **Deposito químico en fase de vapor (CVD²⁷):** aquí el precursor es un material volátil que contiene al *bulk*, este se coloca en una cámara o reactor de vacío y se calienta (típicamente en condiciones de 2000°C y 1 Torr de presión) para que el material volátil se vaporice para luego hacerlo reaccionar con gases de naturaleza reductora (se usa principalmente una mezcla de hidrogeno con halogenuros metálicos y carbonilos) junto a gases inertes (principalmente se usa nitrógeno o argón), el precipitado de dicha reacción es depositado en una lámina para la formación de capas finas del nanocompuesto sobre su superficie (Arribas Pardo, 2012) (Garduño Zavala, 2011), el espesor de la película de sustrato puede ser controlado manipulando la temperatura y la duración del proceso (Arenas Ramos, 2017) aunque se obtengan productos de alta pureza, los reactantes de este tipo de reacciones son peligrosos ya sea por su toxicidad, corrosividad o inflamabilidad (Sanchez Moreno, 2017).
- **Método micelar:** las micelas²⁸ tienen la capacidad de concertar reacciones en su núcleo, este método de reducción se da al mezclar microemulsiones²⁹ tanto de la sal precursora como de la sustancia reductora, al mezclarse las gotas de solución acuosa atrapada en el surfactante por colisiones, se juntan en una micela de mayor tamaño en donde dará a lugar la reacción y la síntesis de la nanopartícula. Esta misma suspensión micelar también estabiliza a las nanopartículas generadas en su interior, para la síntesis de AgNPs se utiliza como surfactante el AOT el cual es una mezcla dodecano/agua. En la *Figura 18* se muestra el proceso de síntesis micelar de AgNPs (Sanchez Moreno, 2017)(Monge, 2009).

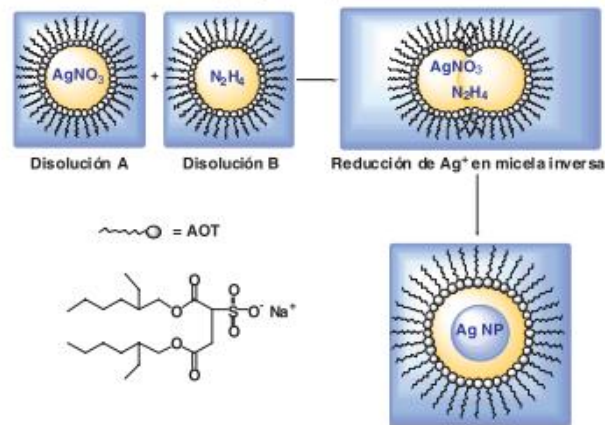


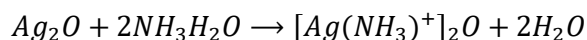
Figura 18. Síntesis de AgNPs empleando micelas inversas de AOT (Monge 2009)

²⁷ CVD: por sus siglas en ingles Chemical Vapor Deposition

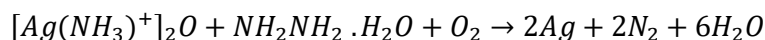
²⁸ Micela: Conjunto de moléculas o iones de surfactante con sus colas hidrofílicas dispuestas hacia afuera del núcleo mientras que sus cabezas hidrofóbicas se encuentran dirigidas hacia el centro de la misma (Whitten, Davis, & Peck, 1998).

²⁹ Microemulsión: sistema aceite/agua (W/O u O/W por sus siglas en ingles) que por acción de surfactantes se mantiene estable termodinámicamente (<https://www.crodacropcare.com/es-mx/products-and-applications/microemulsion>)

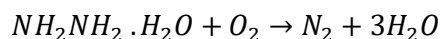
- **Técnica sol-gel:** esta técnica permite sintetizar suspensiones coloidales de AgNPs, pero a diferencia del método coloidal este método requiere de una serie de pasos específicos y no de una reacción directa entre reactivos, este método se explicará con la síntesis de AgNPs patentada por Jixiong y Cheng a partir de óxido de plata e hidracina (Sanchez Moreno, 2017). Primero se realiza un mezclado tanto de la sal metálica con el agente complejante (que además de reducir al ion plata, también forma un complejo de coordinación con el) que en este caso es el amoníaco tal como se muestra en la siguiente reacción:



Lo siguiente es la adición de un polímero natural como el almidón o artificial como el PVP llamado agente gelificador (0,2%-5% p/v), el cual será el medio en donde estarán suspendidas las AgNPs y así mismo se encargará de estabilizarlas, lo cual se conoce como gelificación, posteriormente se añade el agente desacomplejante que en este caso es la hidracina, esta se encargará de producir las AgNPs que inmediatamente quedaran suspendidas en el gel, dicho paso se llama envejecimiento y se realiza con agitación y con una temperatura menor a los 40°C tal como se muestra en la siguiente reacción:



La siguiente fase es la de secado y se realiza en este caso para eliminar la hidracina hidratada ya que esta es tóxica, por lo tanto, se deja la solución en presencia de aire entre 1 a 5 horas en la cual la hidracina se descompone tal como muestra la siguiente reacción (China Patente nº 106,053, 2002):



- **Reducción química (Método coloidal):** Consta de la reacción de una solución salina del metal precursor³⁰ con un agente reductor³¹, como producto se obtienen suspensiones coloidales, la mayor ventaja de este método es (Sanchez Moreno, 2017):
 - la obtención de nanopartículas de tamaño y forma definida, así como de poder trabajar en condiciones de temperatura y presión ambiente, las cuales dependen de las condiciones en las cuales se desarrolle la reacción y el agente estabilizante³² que ha sido empleado.

³⁰ Sal precursora: Este será la sustancia que suministrara los iones metálicos a reducir, es importante tener en cuenta la electronegatividad entre el metal y el átomo del anión al cual este unido, así como la relación molar entre los mismos. No solo se usan sales inorgánicas para la síntesis de nanopartículas metálicas, también se han empleado compuestos de coordinación que a excepción de las sales requieren de la eliminación de los ligandos que pueden llegar a intervenir en la reacción por lo que aumenta la complejidad de la misma (Ponce Varela, 2011)

³¹ Agente reductor: Sustancia que cederá electrones al ion plata para reducirlo (ver Anexo 1), su característica principal es tener un potencial de reducción mucho menor que el del metal para que esta reacción sea termodinámicamente espontánea, en caso contrario, el agente reductor debe ser muy fuerte y la presión y/o temperatura de reacción serían extremas (Ponce Varela, 2011).

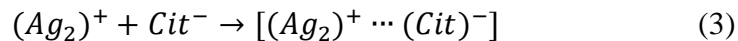
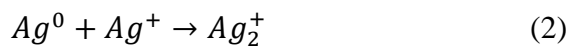
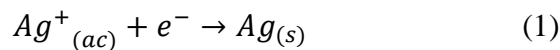
³² Agente estabilizante: Sustancia usada para evitar la coalescencia entre 2 partículas en suspensión envolviéndolas” a través de enlaces de coordinación entre el estabilizante y el metal que contiene pares libres

- Control eficiente de forma y tamaño de las nanopartículas
- Evita el uso de equipos complejos y costosos para la síntesis
- Es simple y reproducible
- Permite la obtención de nanopartículas y clusters metálicos
- Las dispersiones coloidales obtenidas son bastante estables
- Permite la obtención de nanopartículas multimetálicas (con más de un metal en la molécula).

A continuación, se muestran los principales métodos por los cuales se sintetizan AgNPs a partir de la reducción química en medio acuoso:

- **Método Lee-Meisel (síntesis con citrato de sodio)**

El mecanismo de esta síntesis comienza con la formación de centros de nucleación para la respectiva reducción rápida de los iones plata tal como se muestra en la ecuación 1, luego de la reducción estos forman dímeros con los iones libres en solución tal como se muestra en la ecuación 2 quienes por inestabilidad coloidal y fuerzas de van der Waals forman partículas de mayor tamaño con lo cual se reduce la velocidad de reducción. Posteriormente el ion citrato ejerce su rol como agente estabilizante formando un complejo con el dimer de plata tal como se muestra en la ecuación 3 (Pillai & Kamat, 2004), con lo cual consigue envolver a la partícula (capping) impidiéndole la interacción con otras partículas por lo que por difusión la partícula toma los átomos libres generados por la reducción que al final da a lugar a la reducción rápida de los iones sin reaccionar con los iones citrato en exceso en la solución. (Jörg Polte et al., 2010)



Estos dos últimos pasos se dan de forma específica de la siguiente manera: al generarse los clusters que aumentan de tamaño por coalescencia se forma la primera capa o capa concreta correspondiente al citrato como agente estabilizante, por consiguiente, los iones plata se verán atraídos hacia las cargas negativas de los iones citrato en donde se verán reducidos en el exterior del núcleo de la partícula formando la capa difusa y así mismo atribuir al crecimiento de la partícula (Ver Figura 19) (Jörg Polte, 2015).

disminuyendo la fuerza iónica total de la solución (Sanchez Moreno, 2017). Una de las características principales del agente dispersor es ser rico en átomos que tengan pares libres tales como el oxígeno y el azufre; además de contar con largas cadenas poliméricas que permitan “envolver a la partícula” (Monge, 2009). Su segundo uso es como pasivador con lo cual es usado para la gestión y neutralización de residuos de nanopartículas metálicas. Por último se utiliza en la liberación controlada de iones metálicos para ya sea su acción bactericida o como catalizador, para ello se utilizan sustancias que tengan atracciones débiles con las nanopartículas pero que aun así eviten su coalescencia, con el fin de que puedan ser atraídas por un nuevo medio o solvente de reacción (Peinetti, 2016).

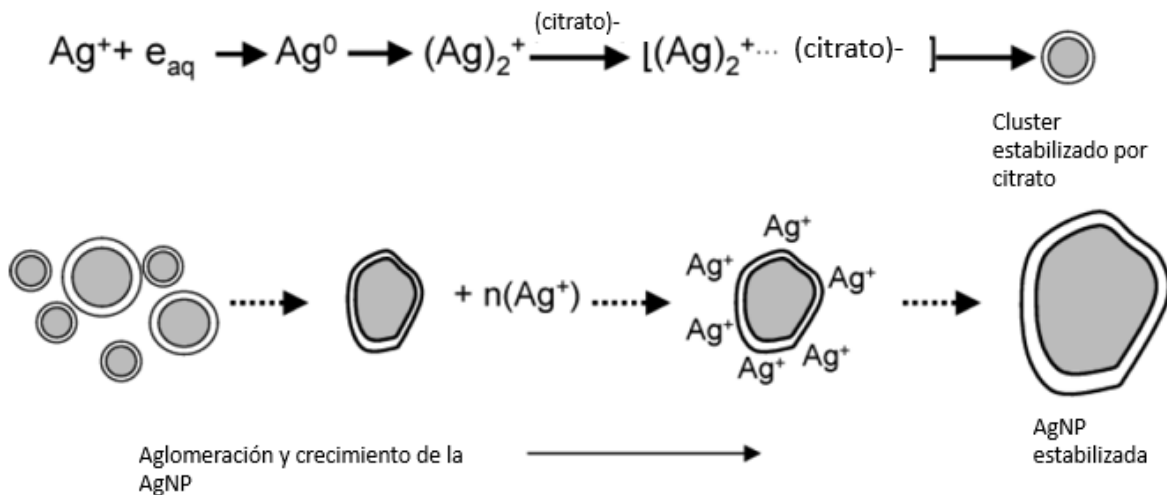
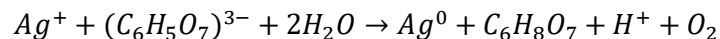


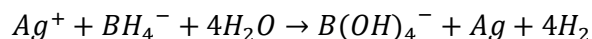
Figura 19. Mecanismo de síntesis de AgNPs con citrato de sodio (Pillai y Kamat 2004)

En cuanto a la reducción de los iones de plata, esta se da por la siguiente ecuación:

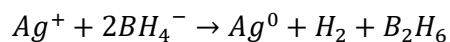


- **Método Creighton (Síntesis con borohidruro de sodio)**

Esta síntesis se da en 4 estados muy bien definidos tal como se evidencia en la *Figura 20* en donde antes de los primeros 200ms se lleva a cabo la reducción de los iones de plata en solución y así mismo la formación de los primeros clusters de tamaño pequeño, dichos clusters por fuerzas de atracción se unen por coalescencia para formar nanopartículas para entrar en un estado metaestable provocado por la formación de $B(OH)_4^-$ generando la coalescencia de las mismas por inestabilidad coloidal, la adición de agentes estabilizantes retardan la formación de aquel estado metaestable pero no al mecanismo en sí (J Polte et al., 2012). La reacción química para esta síntesis es la siguiente:



El procedimiento prosigue con el calentamiento de la solución, con lo cual se elimina el $B(OH)_4^-$ y por coalescencia se generan las nanopartículas finales de alta estabilidad de 10nm aproximadamente (Escobar Falconí, 2015), con lo cual la ecuación global para esta síntesis es la siguiente:



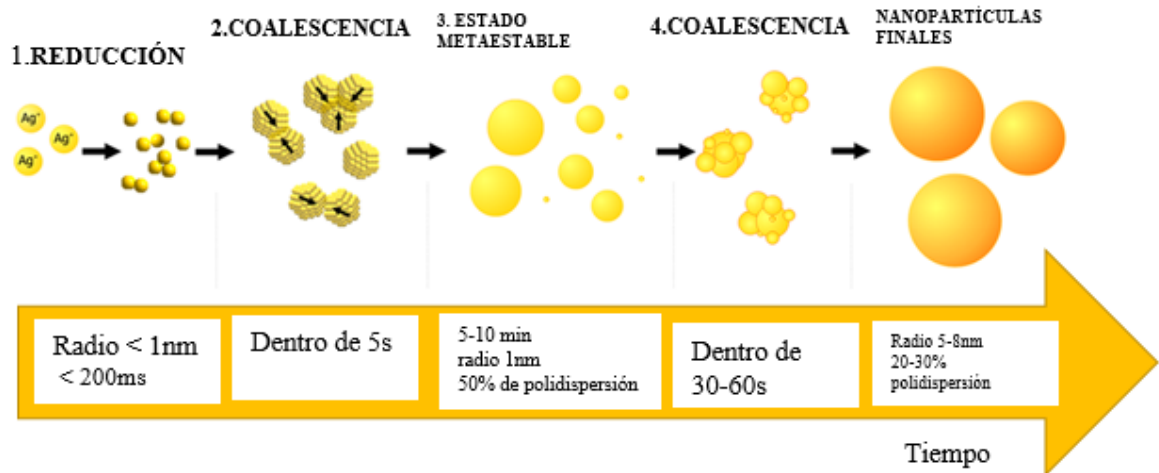
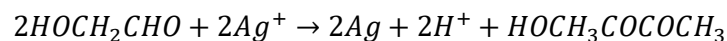
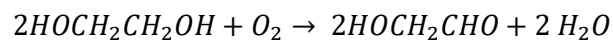


Figura 20. Síntesis de AgNPs a partir del borohidruro de sodio. (J Polte et al., 2012)

- **Método Poliol**

Esta síntesis permite obtener soluciones polidispersas y de distinta morfología según las condiciones de reacción (agente reductor, temperatura, pH, entre otros) cuyo agente reductor representativo es el etilenglicol (OHCH₂CH₂CH₂OH) quien también funciona como agente estabilizante, aun así en este tipo de síntesis se utiliza como agente estabilizante a la polivinilpirrolidona (PVP) que propicia el crecimiento y aglomeración de distintas morfologías (Ver Figura 21). La principal característica de esta síntesis es que esta debe realizarse a altas temperaturas, ya que el etilenglicol se oxida a altas temperaturas en presencia de oxígeno para la formación de glicolaldehído, quien es capaz de reducir a los iones de plata de forma más eficiente de lo que lo puede hacer el etilenglicol a temperatura ambiente (Morales, Morán, Quintana, & Estrada, 2009) (Sanchez Moreno, 2017) Sin embargo al tratarse de un reductor débil, esta reacción necesita de reflujo y logra sintetizar AgNPs de 40nm (Escobar Falconí, 2015). Las reacciones para este método son las siguientes:



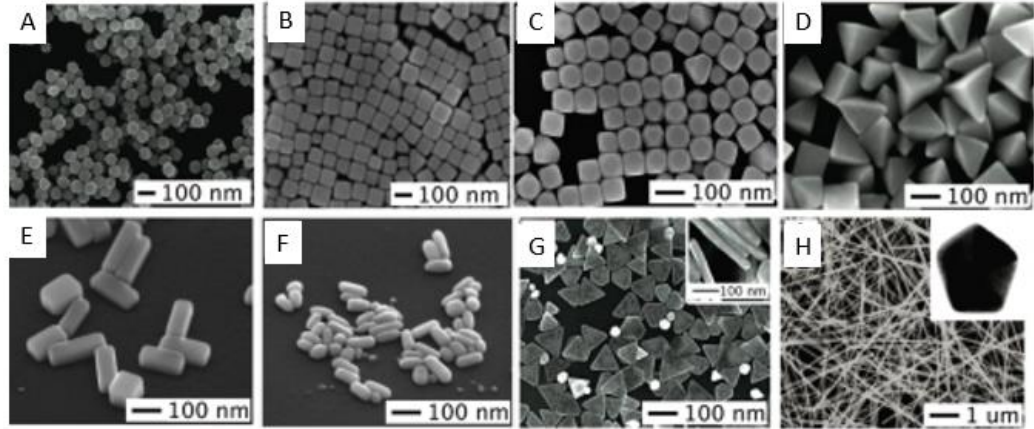


Figura 21. Distintas morfologías de AgNPs obtenidas por el método polirol observadas a través de microscopia de transmisión electrónica TEM tales como A) esferas, B) cubos, C) cubos truncados, D) bipirámides rectas, E) barras, F) esferoides, G) platos triangulares y H) alambres. (Rycenga et al 2011)

- **Metodologías no tradicionales (Química verde)**

La química verde se basa en 12 principios (Ver Figura 22) cuya intención es la del diseño de procedimientos químicos en los cuales se elimine o reduzca el uso de sustancias químicas que pueden llegar a atentar contra los seres vivos o el ambiente y se consuma el mínimo de energía posible con la mínima producción de residuos.

Dado que en la síntesis tradicional de AgNPs se hace uso de procesos térmicos y agentes químicos que dan a lugar a procesos de consumo de energía y la eliminación de materiales peligrosos para el ambiente, es de principal prioridad la aplicación de la química verde sobre estos procesos.



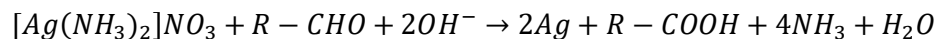
Figura 22. Los 12 principios de la química verde

- **Reducción biológica:**

Este método consiste en el uso de extractos que pueden contener biomoléculas (lípidos, proteínas y carbohidratos) o microorganismos que tengan la capacidad de reducir a los iones plata en solución, así como el uso de biopolímeros usados como agentes estabilizantes. Estos métodos se consideran seguros, sencillos y amigables con el medio ambiente puesto que no suponen el uso de reactivos con efectos tóxicos y la obtención de subproductos inocuos, otra de sus ventajas es que el uso de biopolímeros para la estabilización de las AgNPs es que estos pueden ser recuperables y que son buenas alternativas para la gestión de nanopartículas metálicas. Los métodos basados en microorganismos tienen como inconveniente el no poder controlar el tamaño y la morfología del nanomaterial producido junto a que carece de utilidades para ser empleado en gran escala, aun así, se sigue estudiando este campo (Arenas Ramos, 2017).

Los siguientes métodos (síntesis con carbohidratos y ácido ascórbico) son los más utilizados como alternativas a la síntesis tradicional de AgNPs

- **Síntesis con azúcares reductores y Método de Tollens:** El reactivo de Tollens, el cual contiene al nitrato de diaminoplatina (I) ($[Ag(NH_3)_2]NO_3$) en medio básico se ha empleado como prueba cualitativa para el reconocimiento de aldehídos por la aparición del “espejo de plata” compuesto de plata metálica tal como muestra la siguiente reacción:

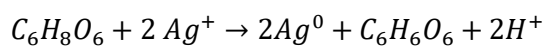


Sin embargo, el añadir un agente estabilizante la reacción impedirá la formación del precipitado de plata, con lo cual podemos sintetizar AgNPs de forma sencilla, el inconveniente de este método es el mismo reactivo de Tollens puesto que debe de ser preparado *in situ* por su facilidad de degradarse (Pinto, Martín, María Hernández, & Teresa Martín, 2015) este proceso permite la obtención de películas de AgNPs que tienen entre 50-200nm de espesor e hidrosoles cuyo tamaño de partícula oscila entre los 20-50nm (Arenas Ramos, 2017) .

Por ello, se ha desarrollado una metodología en la cual se puede reducir la plata a partir de su reacción directa con un azúcar reductor³³ con lo cual no había necesidad de tener que preparar los reactivos *in situ* para poder sintetizar AgNPs, así mismo ofrece una alternativa “verde” al hacer uso de agentes estabilizantes tales como el almidón o la celulosa, aun no se ha establecido un mecanismo específico para esta reacción (Sanchez Moreno, 2017) en la cual se da la producción de AgNPs aproximadamente de 5nm (Escobar Falconí, 2015). La reacción para la reducción por glucosa es la siguiente:



- **Síntesis con ácido ascórbico:** El ácido ascórbico o vitamina C ha sido empleado como agente reductor para la “síntesis verde” de nanopartículas, teniéndose para este proceso la siguiente reacción:



Matijevic et al establecieron un modelo para esta síntesis, lo primero es la supersaturación crítica de átomos metálicos con lo que daría inicio a la nucleación, en esta el núcleo formado un cluster (aglomerado de átomos menor a un nanómetro) crece tomando a los átomos difundidos por la solución en un proceso que tiene similitud a la maduración de Ostwald y que se conoce como difusión. El siguiente paso es la interacción entre las mismas AgNPs por fuerzas de Van der Waals para la formación de aglomerados esféricos cuyo tamaño depende de las condiciones de reacción como el pH, el radio de las esferas aumento al disminuir el pH puesto que el acercamiento al punto isoelectrónico del agente reductor causó que las partículas fuesen más inestables y como consecuencia la producción de procesos de agregación (Velikov, Zegers, & Blaaderen, 2003) con este método se consiguen AgNPs de gran tamaño (hasta 1200nm) variando las condiciones de reacción (Escobar Falconí, 2015).

³³ Azúcar reductor: Carbohidrato que tiene 1 o más carbonos anoméricos disponibles para su oxidación (Bailey 1998)

- **Síntesis fitoquímica**

Este método es cada vez más popular dentro de la síntesis verde de AgNPs que utiliza como agente reductor los metabolitos secundarios extraídos de material vegetal, en la síntesis fitoquímica se utilizan los metabolitos secundarios tales como la hidroquinona, el ácido gálico y los polifenoles extraídos utilizando distintos solventes (siendo el agua el solvente ideal para una síntesis verde) para la reducción de los iones plata en solución.

Una fuente de interés de metabolitos secundarios con carácter reductor es la rosa (*Rosa spp.*) es una especie de arbusto o trepadoras generalmente espinosos cuya altura llega a ser entre 2-5m, esta gran longitud es producto de su acción como trepadoras de otras plantas. Posee tallo semileñoso de textura rugosa con varias formaciones epidérmicas en forma de agujones con hojas perennes o caducas, pecioladas e imparipinnadas con entre 5 a 9 folíolos de borde aserrado y estípulas basales cuyas especies nativas pertenecen principalmente a Asia puesto que bajo esta especie se encuentran más de 100 ejemplares que se encuentran en aumento por la creación de varios híbridos con las características necesarias que varían según el cultivador. Estas flores se usan tanto como para ornamentación por sus variados colores y aromas agradables como para recetas culinarias en las cuales los colores y los aromas de sus pétalos estimulan los sentidos de quienes las consumen (Martínez Guzmán & Ocampo Bustos, 2015).

En la composición química del aceite esencial de los pétalos de rosa se encuentra el fenil etanol, citronelol y geraniol, como característica principal tiene su coloración que se da gracias a las antocianinas y su actividad antioxidante por su concentración de compuestos polifenólicos el cual es atribuido al color de la flor. (Valencia Villacís, 2012)

Martínez y Ocampo en el 2015 analizaron la composición y el rendimiento en la extracción de metabolitos secundarios en los pétalos de rosa, donde encontraron que las extracciones de mayor rendimiento eran las acuosas con un 9,10% y en cuanto a su composición encontraron la presencia de flavonoides entre los que se encuentra principalmente la epicatequina y leucoantocianidina, al igual también se encontró una baja concentración de taninos.

Eficiencia de la síntesis: Para evaluar la eficiencia de la síntesis debe atenderse a la relación en la concentración de iones metálicos pre y post síntesis: este indica cuantos iones fueron reducidos, si no hay precipitado en la solución podremos decir que todos estos iones pasaron a ser nanopartículas metálicas, teniendo como porcentaje de rendimiento:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{(C_i - C_f)}{C_i} * 100$$

3.6 Mecanismo para la síntesis de NPs

La síntesis de nanopartículas metálicas a partir de la reducción en solución acuosa es un tema de amplio estudio, sin embargo, la falta de estudios experimentales *in situ* es la principal causa por la que no puede establecerse con claridad un modelo predictivo del proceso de síntesis de NPs por lo que para predecir la concentración, morfología y tamaño de las NPs se utilizan modelos teóricos.

La síntesis de NPs comprende dos aspectos importantes: la nucleación y el crecimiento. El primero explica el cómo se inicia la formación de clusters y de nanopartículas y el segundo explica el cómo se reúnen los átomos metálicos para formar aquellos agregados (Jörg Polte, 2015).

La Nucleación: Este proceso es principalmente termodinámico y explica la formación de un estado intermedio entre dos fases, en este caso el paso de iones metálicos en solución a agregados sólidos, otro ejemplo es la condensación de un líquido que se encontraba en fase de vapor, el primer modelo teórico de nucleación fue la teoría clásica de nucleación (CNT) la cual fue desarrollada por Becker y Döring en 1935, en esta teoría se explica como el método de formación de coloides metálicos por reducción tendía minimizar la energía libre de Gibbs, ósea tiende a aumentar la entropía del mismo sistema. (Jörg Polte, 2015). Dentro de este podemos distinguir:

- **Nucleación Homogénea:** En este sistema de nucleación se da entre dos superficies que se encuentran en la misma fase que se encuentran en un estado supercrítico tal como la supersaturación, dicho proceso ocurre de forma espontánea y aleatoria, matemáticamente la energía libre de Gibbs para este proceso es la sumatoria de: un término positivo el cual describe cuan desfavorable puede ser la atracción entre las partículas y un término negativo que indica la energía necesaria para un enlace favorable entre los monómeros que en este caso son los átomos que formarían parte de la nanopartícula o cluster en cuestión, para partículas esféricas se tiene:

$$\Delta G = -\frac{4}{3}\pi r^3 |\Delta G_v| + 4\pi^2 \gamma$$

Donde:

ΔG : variación en la energía libre de Gibbs (kJ/mol)

ΔG_v : diferencia en la energía libre de Gibbs por unidad de volumen (kJ/mol * m³)

r: radio del cluster (m)

γ : energía superficial por unidad de área (J/m²)

En la *Figura 23*. Se muestra la relación entre la energía libre de Gibbs del sistema y el radio de cluster del mismo donde r_c es el radio crítico, ósea el radio máximo y su correspondiente energía de activación ΔG_c siendo la formación de cluster más favorable para cluster de radio mayor al radio crítico, mientras que los más pequeños son menos favorables y por lo tanto van a ser disueltos en solución (Jörg Polte, 2015).

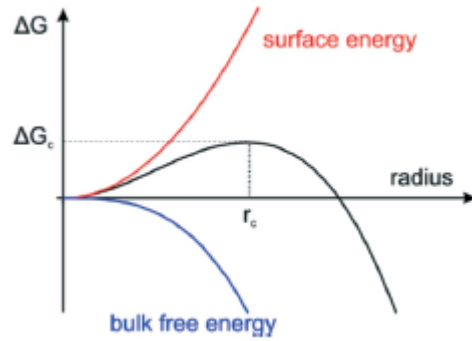


Figura 23. Relación entre la energía libre de Gibbs y el radio del cluster formado a partir de la teoría CNT (Jörg Polte, 2015)

- **Nucleación Heterogénea:** En este sistema de nucleación se da entre dos superficies que se encuentran en distinta fase, por ejemplo, la formación de sitios de nucleación en la superficie de un sólido en contacto con un líquido o vapor, en la síntesis de NPs este se da en la superficie de las partículas en solución, al contrario de la nucleación homogénea, esta se da en sitios definidos, este mecanismo de nucleación ocurre con mayor frecuencia que el homogéneo en la formación de semillas o centros de nucleación, aunque en la síntesis de NPs se asume que ambos mecanismos ocurren de forma paralela (Jörg Polte, 2015).

En 1950 LaMer y sus colegas contribuyeron a la CNT a través de la investigación de aerosoles de aceite e hidrosoles de azufre empleando el concepto de “nucleación en ráfaga” esto implica que mientras que a la vez que se genera el núcleo tal como en la nucleación homogénea, también se da el crecimiento del cluster. Esta teoría explica la formación de las nanopartículas de la siguiente forma: primero aumentan la concentración de los monómeros, en este caso de átomos de plata con estado de oxidación cero productos de la reacción de reducción, el cual alcanza luego de cierto tiempo un nivel crítico de supersaturación (C_s); luego de ello este nivel se saturación supera la barrera energética o energía de activación para el proceso de nucleación, dado que existen varios monómeros se genera una rápida auto nucleación o nucleación en ráfaga y por ultimo con la formación de los primeros clusters por nucleación en ráfaga estos por difusión inmediatamente llevaran a cabo el proceso de crecimiento de las partículas. El anterior proceso descrito se puede evidenciar en la *Figura 24* en la cual se hace la relación del nivel de saturación (ósea de concentración de cluster/ nanopartícula) en momento dado. Este modelo y algunas modificaciones a este mismo son los modelos que han sido ampliamente aceptados, sin embargo, este modelo no permite predecir el tamaño ni la forma de las partículas obtenidas.

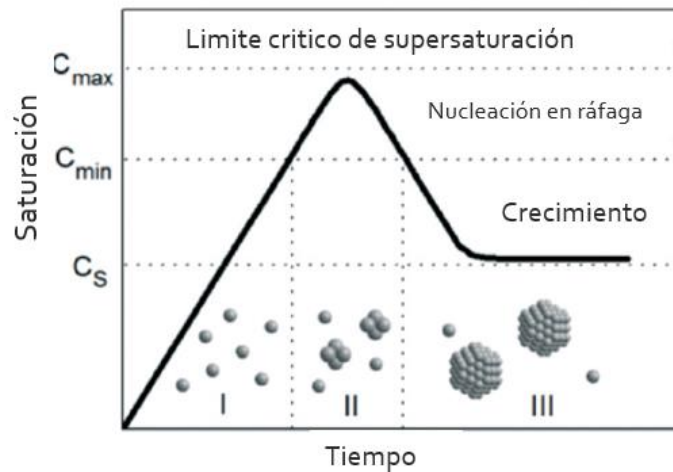


Figura 24. Nucleación/Crecimiento en la formación de partículas coloidales según LaMer
(Polte 2015)

En cuanto a ello este modelo intenta a explicarlo de la siguiente manera: niveles altos de supersaturación implican la formación de alto número de núcleos por lo tanto la obtención de partículas de menor tamaño mientras que niveles bajos de saturación conllevan a la formación de pocos núcleos que por difusión formaran partículas grandes (Jörg Polte, 2015).

El Crecimiento: Este proceso se define como el aumento de tamaño en una partícula (en este caso una partícula manométrica o coloidal) por consecuencia de la adición de monómeros de la misma. El estudio del crecimiento en la formación de nanopartículas se ha basado en postulados teóricos puesto que para establecer modelos experimentales se necesita de un estudio in situ, el cual no puede realizarse con la tecnología actual. Para este proceso se han definido 2 modelos explicativos los cuales son:

- **Crecimiento por difusión:** Como se había descrito con anterioridad LaMer establece a la nucleación y el crecimiento como 2 procesos distintos pero que se dan de forma simultánea. En 1951 Reiss desarrolla el modelo de “Crecimiento por difusión” en el cual la velocidad de crecimiento en partícula depende del flujo de monómeros hacia las partículas.

Según este modelo, las partículas pequeñas crecerían de gran manera si estas están en presencia de otras partículas más grandes, lo cual conlleva a definir una forma en la cual se puede delimitar el tamaño de una partícula y además de ello la velocidad de crecimiento aumentaría con respecto al tiempo. Sin embargo, este modelo no considera aspectos tales como la agregación, la coalescencia entre partículas o la disolución de las mismas, Sugimoto y colaboradores en 1987 relacionan el efecto de disolución al crecimiento de las partículas relacionando la concentración de monómeros con la distribución en la forma de las partículas

Se han establecido otros modelos en los cuales se utilizan ecuaciones de velocidad para explicar el crecimiento mientras que la combinan con la CNT para obtener un proceso de formación de dos pasos, sin embargo, la falta de evidencias experimentales in situ impide

establecer con claridad un modelo claro de este proceso, además de que este se sujeta a otras condiciones como concentración, pH, temperatura y estabilizantes.

- **Maduración de Ostwald:** Según este modelo, una partícula crece a costa de otras de menor tamaño producto de la diferencia entre la solubilidad de la fase dispersa y la fase continua de 2 gotas (comparando las partículas coloidales con las gotas de aceite en emulsiones), este proceso se dirige mediante la ley de Laplace, la cual establece que la presión interna de una gota es mayor a la presión externa de la misma.

La solubilidad de una gota es inversamente proporcional al radio de la misma por lo que este efecto no genera algún tipo de inestabilidad en partículas de mayor tamaño y explica como la diferencia de solubilidad entre las 2 gotas produce un gradiente de concentración entre la interface de ambas y da a lugar a la transferencia de masa que se da entre gotas de menor tamaño hacia las que son más grandes (*Ver Figura 25*). La velocidad de este proceso disminuye a medida que aumenta la diferencia de tamaño de las mismas (Hernández Zarazua, 2009).



Figura 25. Transferencia de masa entre gotas en emulsiones (Hernández Zarazua, 2009)

Este proceso es importante en la estabilidad coloidal puesto que, al reducir la velocidad de este proceso, esto se realiza mediante el uso de solventes de menor solubilidad que el medio continuo; otra característica es la tensión superficial de cada partícula, ya que al disminuirla también estaríamos disminuyendo la diferencia entre las presiones de Laplace de las mismas y con ello ralentizar el proceso (Forginiari, Marquez, & Salager, 2006).

Dado que estas partículas tienen un tamaño que comprende de 1-100nm, se clasifican como partículas coloidales, con lo cual presentan las mismas propiedades que éstas. En general un coloide se define como una solución en la cual se pueden encontrar partículas suspendidas sobre un agente dispersor o medio dispersante. Es importante entonces considerar la estabilidad de la solución coloidal.

Estabilidad coloidal: Un factor primordial en la síntesis de NPs es la estabilidad de las mismas ya que generalmente tienden a aglomerarse por efecto de fuerzas de atracción que mediante coalescencia forman precipitados del respectivo metal. Las NPs se estabilizan mediante el conjunto de fuerzas electrostáticas que comprenden a las fuerzas de atracción (Fuerzas de Van der Waals) y de repulsión (doble capa eléctrica) que pueden ser controladas a partir del efecto que tiene el agente estabilizante sobre las mismas

Las atracciones electrostáticas están mediadas por el radio de partícula y la distancia entre estas, para explicar la repulsión entre dichas partículas se emplea la teoría de doble capa eléctrica de Stern-Gouy-Chapman en la cual se forma una doble capa sobre la partícula que comprende los iones solvatados que se encuentran alrededor de estas partículas, la capa interior, la cual está fuertemente atraída hacia el núcleo de la partícula se conoce como capa compacta, mientras que la segunda capa que es débilmente atraída hacia el núcleo se le conoce como capa difusa.

Tanto las fuerzas de repulsión como las de atracción se caracterizaron a partir de la teoría DLVO (cuyas iniciales son de los científicos que la formularon: Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek) donde se asume que la fuerza total entre partículas coloidales es la suma entre las fuerzas de atracción y de repulsión cuyo resultado es el potencial de interacción total (TIP) en el cual como se observa en la *Figura 26* se muestra como al aumentar la concentración de iones en solución ósea de la concentración de agente reductor, priman las fuerzas de oposición entre partículas lo cual se había explicado ya en el efecto de la concentración de agente reductor, mientras que a baja concentración priman las fuerzas de atracción, además de ello la distancia entre partículas es importante ya que al ser interacciones electrostáticas que no son suficientemente fuertes tanto las fueras de atracción como de repulsión se debilitan, esta es la base del efecto que tiene el agente estabilizante al permitir el crecimiento de la nanopartículas pero así mismo rodear la partícula resultante para que no sufra alguna de las fuerzas mencionadas anteriormente, el punto en el cual hay un equilibrio y por lo tanto estabilidad es aquel que se muestra cómo n_i (Polte 2015).

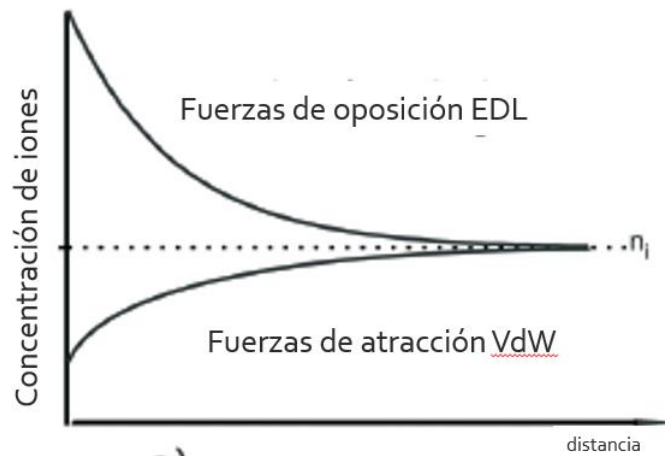


Figura 26. Fuerzas de atracción-repulsión entre partículas coloidales según la concentración de agente reductor (Polte 2015).

Algunas de las nanopartículas sintetizadas presentan inestabilidad coloidal; por ende, sufrirán de coalescencia (unión de 2 partículas para dar a lugar una de mayor tamaño) y consecuentemente precipitarán por gravedad. Por ello, es importante el uso de una sustancia que evite la coalescencia de las mismas “envolviéndolas” a partir de la atracción de las cargas

parciales de las nanopartículas con los pares libres de lo que se conoce como agente estabilizante o dispersor ya que su acción permite que las nanopartículas se distribuyan por la solución. Como características particulares el agente dispersor debe de ser rico en átomos que tengan pares libres tales como el oxígeno y el azufre; Por último, debe contar con largas cadenas que permitan “envolver a la partícula” por lo que generalmente se utilizan polímeros y que para usos prácticos este debería de ser capaz tanto de liberar con facilidad las nanopartículas como de protegerlas de la oxidación. Las fuerzas que intervienen en la estabilidad coloidal son las siguientes:

- **Fuerzas de Van der Waals:** Como se mencionó anteriormente las partículas coloidales son atraídas entre sí por fuerzas de Van der Waals, las cuales son responsables del fenómeno de coalescencia. La principal causa para estas fuerzas electrostáticas es la existencia de una carga parcial en las partículas coloidales, esta se da por ionización, adsorción de tensoactivos o fricción, en la primera las partículas coloidales están compuestas de iones o aniones que atraen iones solvatados de solución o que en sus últimos niveles de energía presenten orbitales desapareados con lo cual presenten una leve carga parcial; en la segunda los tensoactivos al ser sustancias de cabeza hidrofílica y largas cadenas hidrófobas pueden en caso de la cabeza hidrofílica que tiene grupos funcionales con momentos dipolares permanentes y por último la fricción causada por los choques entre partículas que continuamente se encuentran bajo el efecto del movimiento Browniano (*Ver Figura 27*).

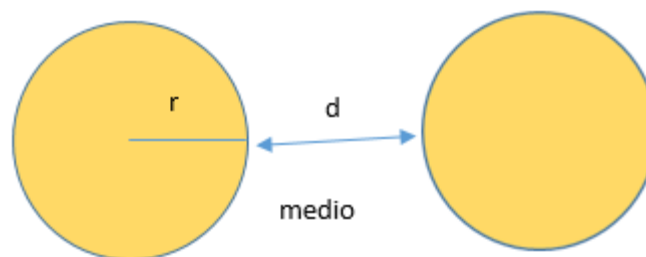


Figura 27. Fuerzas de Van der Waals entre 2 partículas coloidales (*imagen propia*)

A partir de lo anterior las partículas ya sea de forma inducida o permanente presentan un doblete eléctrico del mismo valor, pero de carga distinta conocido como dipolo, esta fuerza de atracción está definida por la distancia el radio de las partículas a interactuar como se muestra en la siguiente ecuación.

$$W_a(d) = \frac{Ar}{12d}$$

Donde:

$W_a(d)$ = energía de atracción a una distancia determinada

A= constante de Hamaker (>0)

d = distancia entre partículas

r = radio de partícula (suponiendo que estas sean esféricas)

Por ende, las fuerzas de atracción son mayores para la interacción de dos partículas grandes en cortas distancias y débiles para dos partículas pequeñas a mediana distancia (Salager, 2007).

- **Doble capa eléctrica (EDL³⁴):** Dado que existen fuerzas atractivas, también existen fuerzas repulsivas causadas por la existencia de carga en las partículas coloidales que atrae a los iones en solución (en este caso la forma iónica del agente reductor) y así formar alrededor de estas 2 capas que difieren de carga. La primera, la cual se encuentra atraída fuertemente hacia el núcleo (partícula coloidal) es conocida como capa compacta mientras que los iones atraídos por la primera capa forman una segunda débilmente atraída hacia el núcleo, por lo que dicha capa se le conoce como capa difusa (Ver Figura 28).

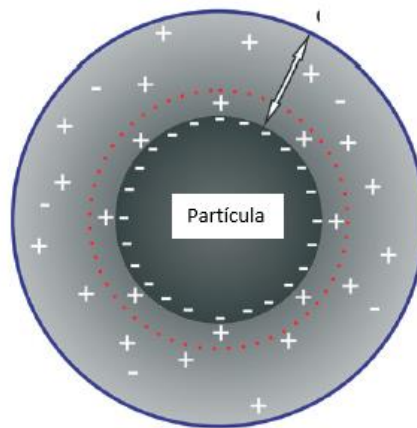


Figura 28. Doble capa eléctrica (Polte 2015)

Las cargas de las capas alrededor de la nanopartícula son las encargadas de ejercer repulsión hacia las partículas vecinas que también tienen una doble capa eléctrica en su exterior, el espesor de estas capas y su fuerza de repulsión están mediadas por la concentración de agente reductor. Ya que la capa difusa pasa a tener una carga eléctrica casi neutra las fuerzas de repulsión por EDL se manifiestan a muy corta distancia y son responsables de que no se dé la sedimentación de las mismas, las capas difusas se repelen entre sí a causa de la pequeña diferencia de cargas entre las mismas capas y estas se calculan a partir de la siguiente ecuación (Salager, 2007):

$$W_r(d) = 2\pi\epsilon\epsilon_0 r\psi^2 \delta \exp(-kd)$$

Donde:

$W_r(d)$ = energía de repulsión a una distancia determinada

ϵ = constante dieléctrica

³⁴ EDL: por sus siglas en ingles Electric Double Layer

ϵ_0 = permitividad de espacio libre

r = radio de partícula (suponiendo que estas sean esféricas)

- **Fuerza estérica:** La estabilización estérica se realiza con el fin de evitar la sedimentación de las partículas coloidales producto de procesos de coalescencia, esto se realiza a partir de la adsorción de moléculas de largas cadenas que proveen una capa protectora que como consecuencia aumenta la distancia entre las partículas en contacto así mismo reduce el potencial de las fuerzas de atracción entre moléculas. Termodinámicamente esto implica la disminución en la entropía con lo cual disminuye la energía de Gibbs haciendo del proceso de coalescencia un proceso termodinámicamente no favorable, esta depende de la longitud del polímero, su naturaleza y la solubilidad del mismo (Polte 2005).

Para unificar todas las fuerzas descritas anteriormente en la explicación de las propiedades de las suspensiones de las NPs metálicas se desarrolló la teoría DVLO. Esta teoría cuyo nombre es la inicial de sus 4 autores reúne a las fuerzas de repulsión y atracción y asume que la fuerza total entre las partículas coloidales es igual a la sumatoria de las fuerzas que sufren las mismas, es decir fuerzas estéricas, de atracción (Van der Waals) y de repulsión (EDL). Por lo que el cálculo de la fuerza total es el siguiente:

$$W_{total}(d) = W_r(d) + W_a(d)$$

$$W_{total}(d) = 2\pi\epsilon\epsilon_0r\psi^2\delta\exp(-kd) + \frac{Ar}{12d}$$

A este total se le conoce como el potencial de interacción total (TIP) entre 2 partículas, en la *Figura 29* se evidencia como tanto las fuerzas de atracción como de repulsión decaen de forma exponencial a medida que aumenta la distancia entre las partículas confirmando que estas fuerzas electrostáticas son bastante débiles y se dan cuando estas entran en contacto, además de ello se muestra el máximo del TIP conocido como barrera de agregación el cual es la energía necesaria para que se lleve a cabo la coalescencia de las partículas.

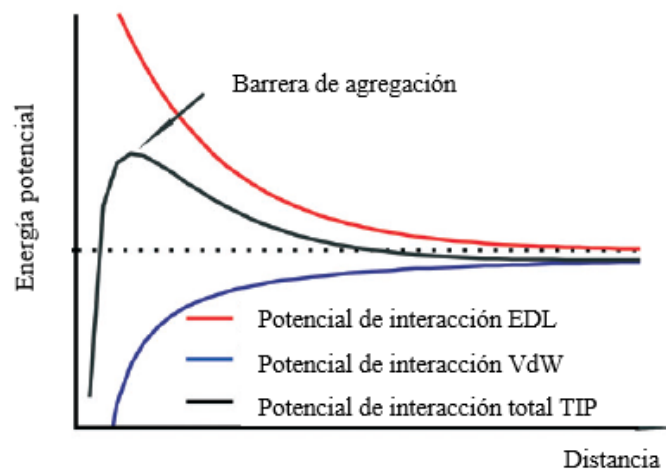


Figura 29. Potencial de interacción de atracción, repulsión y total entre dos partículas. (Polte 2015)

A diferencia de las fuerzas de repulsión, las fuerzas de atracción no dependen del solvente ya que las fuerzas de repulsión dependen de los contra y co-iones que se encuentran en solución, por ello el cambiar la concentración (Salager 2007), valencia y naturaleza del agente reductor influye directamente en la misma, en las *Figura 30 a y 30b* muestra cómo influyen la concentración de iones y el tamaño de partícula en el TIP.

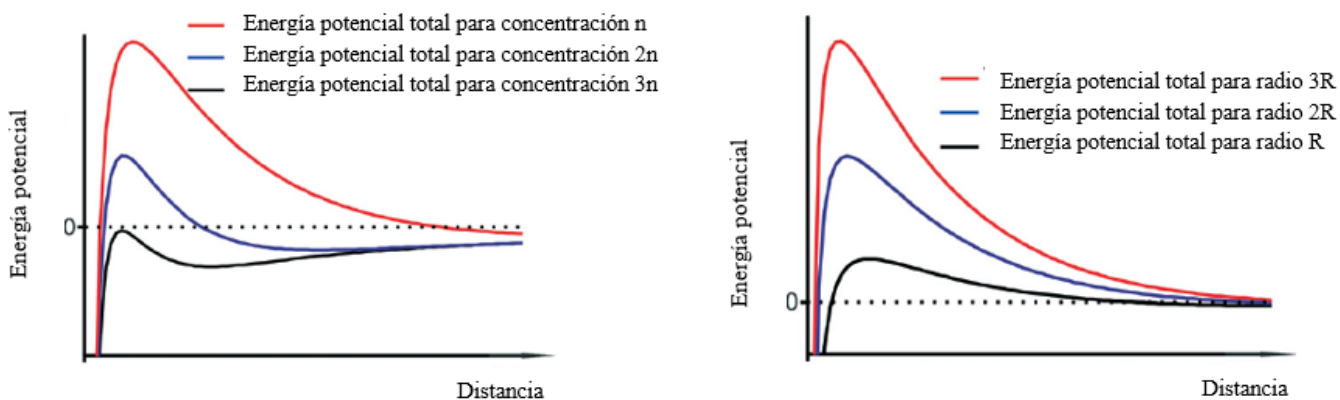


Figura 30. Energía potencial total al variar: a) la concentración de iones y b) el radio de la partícula (Polte 2015)

3.7 Caracterización de NPs

Para caracterizar las nanopartículas existen diferentes técnicas nanoscópicas y espectrofotométricas. En este trabajo se presentan algunos aspectos fundamentales de las técnicas que se utilizan para identificar las nanopartículas de plata: Espectrofotometría Uv / Vis, microscopia de transmisión electrónica, TEM y microscopia de fuerza atómica, AFM.

3.7.1 Espectrofotometría Uv/vis

Esta técnica instrumental que puede ser utilizada en la caracterización preliminar de nanopartículas metálicas, además de obtener valores de concentración de las partículas en suspensión. Se basa en la absorción de ondas de luz por parte de las sustancias a analizar, dado que al absorber la luz en una longitud de onda determinada los electrones de dicha molécula adquieren suficiente energía como para estar en un estado fundamental a un estado excitado, para volver a su estado fundamental esta libera fotones de una longitud de onda determinada la cual le da la propiedad de expresar coloración perceptible para el ojo humano.

Este método se basa en la absorción de luz por parte de la materia partiendo de la emisión de un haz de luz de intensidad I_0 que atraviesa la muestra, posteriormente un lector que mide la intensidad de luz recibida I la cual será menor a I_0 ya que parte de la luz emitida es absorbida por la muestra, el cociente de la intensidad emitida y recibida es conocida como transmitancia (T).

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

Existe otra manera de relacionar la intensidad de luz emitida y recibida y es mediante el logaritmo negativo de la transmitancia, la cual se conoce como absorbancia (A).

$$A = -\log T$$

Actualmente se usa la absorbancia puesto que con ella podemos hallar la concentración de una solución desconocida a partir de un patrón de concentración conocida y un blanco cuya función es la de la calibración del espectrofotómetro. La relación entre la absorbancia de una solución y su concentración fue descubierta por Johann Lambert en 1760 y August Beer en 1852 y la cual se conoce como la ley de Lambert-Beer en la que sustenta que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a su concentración a través de la siguiente ecuación:

$$A = C\epsilon l$$

Donde:

A: Absorbancia

C: concentración (M)

ϵ : Absortividad molar (L/mol*cm)

l: ancho de la celda (cm)

El espectrofotómetro UV/Vis funciona a partir de una fuente de energía radiante, la cual genera radiación en el espectro UV/Vis, posteriormente el filtro permite el paso de la luz en la longitud de onda seleccionada por el usuario que es desviada por el monocromador para redirigirlo de forma paralela hacia la muestra y al detector asociado que lee la intensidad de luz resultante luego de atravesar la muestra, en la *Figura 31* se muestra el esquema del equipo (Escobar Falconí, 2015).

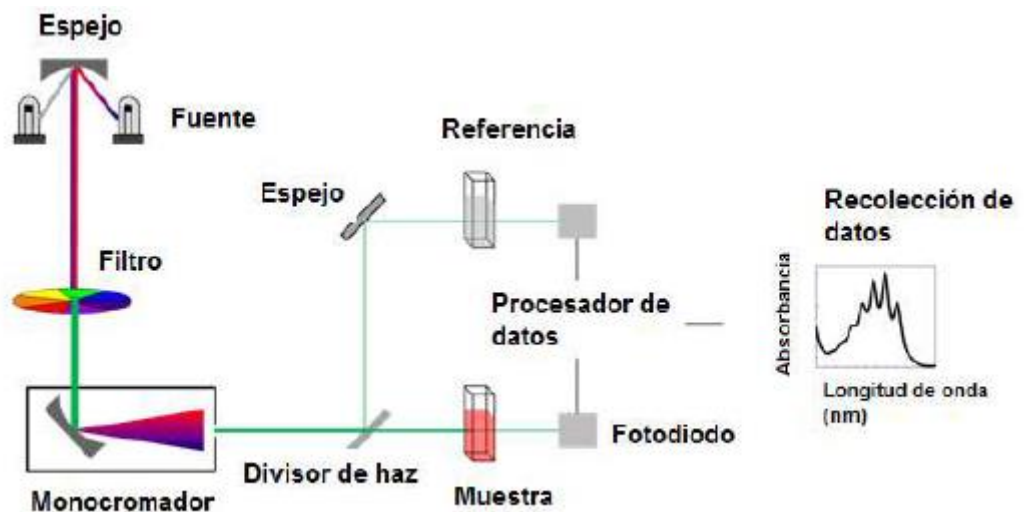


Figura 31. Esquema del espectrofotómetro Uv/vis (Escobar Falconí, 2015).

Todas las sustancias absorben en distintas longitudes de onda, sin embargo, existen longitudes de onda en las cuales las sustancias presentan mayor absorbancia en el espectro Uv/visible de luz (que comprende desde 190-380nm para el Uv y desde 380-750nm para el visible) esta longitud es como la longitud de onda de absorción máxima (λ) y a esta longitud es en la cual se hace la medición de la absorbancia para hallar la concentración de una solución puesto que a esta longitud la mayoría de moléculas en la solución se encuentran absorbiendo el haz de luz. Y para obtener el valor de aquel pico de absorción se realiza una gráfica absorbancia vs longitud de onda cuyo pico máximo representa la longitud de onda de absorción máxima la cual es característica para cada tipo de sustancia (Buceta Fernández, 2012).

3.7.2 Microscopia de transmisión electrónica (TEM)

La microscopia TEM³⁵ es una técnica instrumental que se usa para la caracterización estructural o morfológica de los nanomateriales, se realiza al vacío con el fin de evitar que el haz de electrones utilizado en el análisis pueda interactuar con las partículas de aire. Funciona a partir de un haz de electrones de alta energía (80-300 keV) con longitudes de onda bastante pequeñas (0,001 y 0,1nm) emitidos desde un cañón de electrones. Este método de microscopia se utiliza para aquellas muestras que no alcanzan a observarse en la microscopia óptica ya que las longitudes de onda incidente son muy grandes (Garduño Zavala, 2011).

Con este método se logra una mejor resolución. El haz de electrones emitidos es enfocado hacia la muestra (analito con espesor menor a los 200nm) por una serie de lentes magnéticas. Al impactar la muestra los electrones se dispersan y son captados por el detector (pantalla fluorescente) donde se obtiene la imagen que caracteriza la muestra, informando acerca de su morfología. Para este análisis se requiere de la preparación previa de la muestra, la cual se deja secar con un solvente sobre una rejilla de cobre con recubrimiento de carbono (Sanchez Moreno, 2017).

3.7.3 Microscopia de fuerza atómica (AFM)

La microscopia AFM³⁶ es una técnica instrumental capaz de detectar fuerzas del orden de los nanonewtons. Al analizar una muestra, se registran las diferencias de altura entre el objeto de estudio y una punta cristalina de forma piramidal acoplada a un cantilever (listón microscópico), muy sensible al efecto de las fuerzas y de sólo unos 200 μm de longitud. La fuerza atómica es detectada cuando la punta está muy próxima a la superficie de la muestra, entonces es posible registrar la pequeña flexión del listón mediante un haz láser reflejado en su parte posterior (Ver Anexo 4).

Un sistema auxiliar piezoeléctrico desplaza la muestra tridimensionalmente, mientras que la punta recorre ordenadamente la superficie. Todos los movimientos son controlados a través de una computadora. La resolución del instrumento es de aproximadamente 0.2 nm (10⁻⁹ m), y la

³⁵ TEM: de sus siglas en inglés, Transmission Electron Microscopy

³⁶ AFM: de sus siglas en inglés: Atomic Force Microscopy

pantalla de visualización permite distinguir detalles en la superficie de la muestra con una amplificación de varios millones de veces (Wilson & Bullen, 2006).

El fundamento de su operación consiste en acercar el cantilever a la superficie de la muestra, las fuerzas entre la punta (Las puntas generalmente son de nitruro de silicio, Si₃N₄ o de silicio, Si) y la muestra deflecan el cantilever según la ley de Hooke:

$$F = - k x$$

Las fuerzas pueden ser: mecánicas de contacto, de Van der Waals, electrostáticas, magnéticas, de enlace químico. Estas fuerzas son las que causan la flexión del cantiléver. En general se consideran dos fuerzas:

- **Repulsión:** En distancias de muestra de punta muy pequeñas (unos pocos angstroms) aparece una fuerza de repulsión muy fuerte entre la punta y los átomos de muestra. Su origen son las llamadas interacciones de intercambio debido a la superposición de los orbitales electrónicos a distancias atómicas. Cuando estas fuerzas de repulsión son predominantes, la punta y la muestra se consideran en "no contacto".
- **Atracción (Van der Waals):** Una interacción de polarización entre átomos: una polarización instantánea de un átomo induce una polarización en los átomos cercanos y, por lo tanto, una interacción atractiva.

La detección se realiza mediante la reflexión de un láser por el cantiléver hacia un arreglo de fotodiodos. El fotodetector es un fotodiodo doble que mide la diferencia de intensidades de luz entre los fotodetectores alto y bajo y la convierte en voltaje. En el anexo 4B, se amplía la imagen del fotodetector de cuatro cuadrantes. El láser incide sobre la punta de barrido. A medida que se hace el barrido correspondiente, se producirá una deflexión de la punta que se traducirá en un cambio en la posición de incidencia del láser en el fotodetector. El sistema rectifica, subiendo o bajando el tubo de barrido, de forma que el haz vuelva a incidir en el centro del fotodetector. El sistema también permite detectar movimientos laterales del haz del láser, monitorizándose así los fenómenos asociados a procesos de fricción que tienen lugar entre la punta y la superficie de barrido (Eaton & West, 2010).

3.8 Toxicidad de las AgNP

La toxicidad de las AgNP se encuentra asociada a su efecto oxidante e inflamatorio, dicho efecto es consecuencia de la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (EROs) y de la unión de las AgNPs a los sitios activos de proteínas encargadas de metabolizar a las EROs, tal como superóxido dismutasa o la peroxidasa de tiorredoxina, con lo cual se da la acumulación de las EROs y finalmente daños al metabolismo por estrés oxidativo tales como la apoptosis celular y destrucción de las mitocondrias. En la *Figura 32* se muestra el mecanismo de citotoxicidad de las AgNPs donde se puede observar que las AgNPs penetran los poros de la membrana celular de dos formas: liberando iones Ag⁺ que ingresan por gradiente de concentración al citosol o ingresando directamente por su tamaño nanométrico por los poros de la membrana celular para interactuar

con la mitocondria estimulando la liberación del citocromo c al citosol, el cual activa la caspasa 3 y 9 quienes son responsables de la activación de los procesos de apoptosis celular. Las AgNPs también producen daños sobre el ADN, primero con la interrupción de la respiración mitocondrial que propicia a la generación de EROs e inhibe la producción de ATP y segundo con la unión de las AgNPs al centro activo de proteínas cuya función es la de la reparación del ADN. Ejemplo las proteínas: p53, Rad-51 y la H2AX (Ávalos, Haza, Mateo y Morales, 2013).

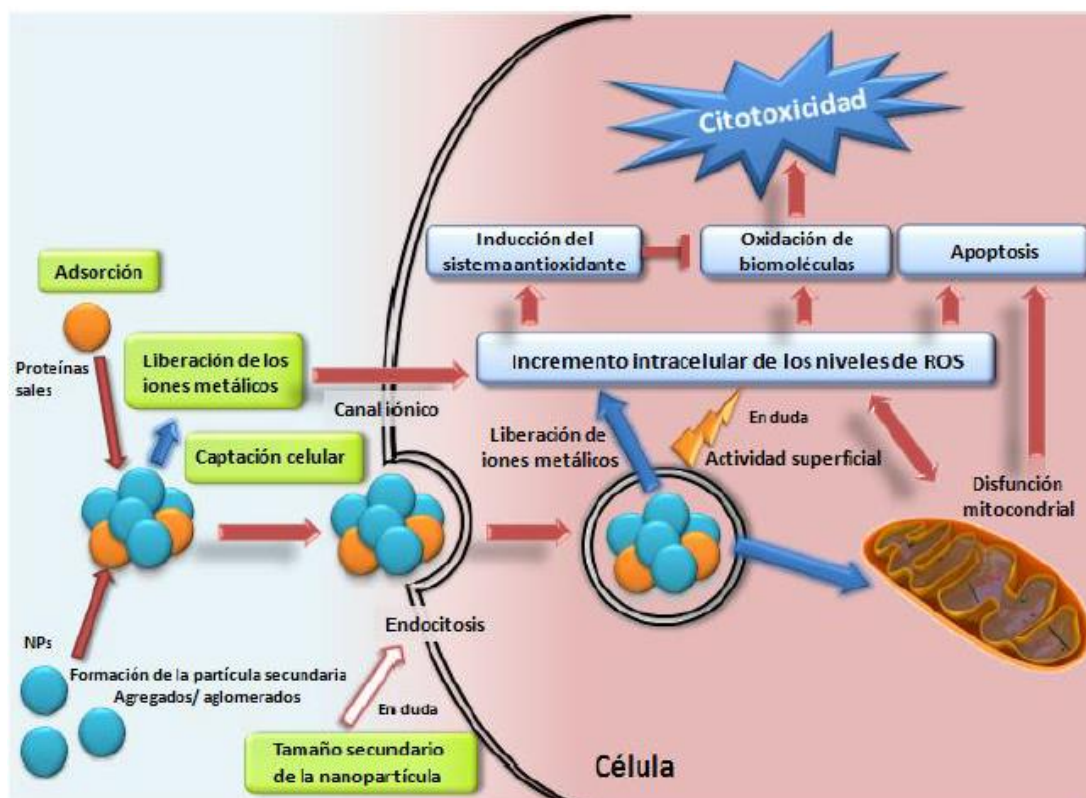


Figura 32. Mecanismos de citotoxicidad de las AgNPs sobre la célula (Ávalos, Haza, Mateo y Morales, 2013).

Por los amplios usos de las AgNPs la exposición humana a las mismas se puede dar por vías de exposición oral, respiratoria y dérmica.

Para la **vía oral** las AgNPs pueden ingresar tanto por ingestión en su uso en los alimentos como las que pueden ser dispensadas por el sistema respiratorio hacia el sistema gastrointestinal. Aunque no existe un mecanismo cinético claro de cómo son absorbidas las AgNPs por dicho sistema, se ha demostrado que el tejido linfóide del intestino puede retenerlas y así trasladarlas hacia el torrente sanguíneo con lo que puede causar argiria³⁷ o algún tipo de lesión grave en el órgano diana de las AgNPs que es el hígado. También se ha

³⁷ Enfermedad que producida por la exposición prolongada a sales de plata que conlleva al cambio de la coloración de la piel del paciente en tonos grises o azulados (<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1538§ionid=102303860&jumpsectionID=102303875>).

establecido que los macrófagos del sistema reticuloendotelial son quienes son responsables de eliminar a las AgNPs de la circulación, además se han encontrado contenidas en otros órganos tales como riñones o cerebro (Ávalos, Haza, Mateo y Morales, 2013).

Por **vía respiratoria** las AgNP puede llegarse a depositar en la cavidad nasal, en la región alveolar y en los ganglios linfáticos, al interactuar con los macrófagos alveolares pueden provocar la liberación de quimiocinas, citoquinas y especies reactivas de oxígeno que producen una respuesta inflamatoria, la eliminación de las AgNPs de la región pulmonar puede dar por el sistema mucociliar del tracto traqueobronquial, el sistema linfático y su disolución hacia el torrente sanguíneo con lo cual puede llegar a afectar otros órganos (Ávalos, Haza, Mateo y Morales, 2013).

A través de la **vía dérmica** las AgNP pueden ingresar a través de productos textiles y apósitos para heridas en las cuales estén integradas, un ejemplo de estas se da en los vendajes utilizaos para el tratamiento de quemaduras cuyo componente principal es la plata nanocristalina (conocido comercialmente como “Acticoat”) en el cual se ha encontrado una relación entre el uso de este vendaje y la aparición de síntomas de decoloración reversible en la piel causadas por el incremento en la concentración sérica de plata (0,107 g/ml) (Cardoso, 2016). Se han encontrado depósitos de AgNPs en la piel así como los queratinocitos epidérmicos pueden fagocitarlas produciendo una respuesta inflamatoria, en los pacientes tratados con AgNPs por vía dérmica se han encontrado lesiones en el hígado con lo cual puede que las NPs ingresen al torrente sanguíneo a través de los capilares dermales(Ávalos, Haza, Mateo y Morales, 2013).

Cuando las AgNPs son liberadas al medio ambiente su disolución hace que estas retornen a su forma iónica con la cual pueden formar distintas sales tales como el cloruro y el sulfuro de plata (AgCl y Ag₂S respectivamente). En bajas concentraciones la plata en estado iónico es bastante toxica y la liberación de los mismos implica en daño tanto a cuerpos acuáticos como terrestres, al ser liberado sobre sistemas acuáticos las AgNPs producen daños sobre los organismos presentes en ellos, principalmente del tipo cito y genotóxico descritos con anterioridad como consecuencia de procesos de estrés oxidativo, como ejemplo de esto se encuentran las anomalías morfológicas encontradas sobre embriones de pez cebra (*Danio rerio*) producto del contacto con AgNPs (Cardoso, 2016).

La toxicidad de un material depende de sus características fisicoquímicas, en el caso de las AgNPs existen varios factores que se relacionan con el efecto nocivo que pueden llegar a tener sobre los organismos vivos y sobre el ambiente, entre los cuales esta:

- **Tamaño:** al disminuir el tamaño de una partícula, así mismo aumenta el porcentaje de átomos en la superficie de esta (Superficie específica) y por lo tanto aumentar su reactividad, otro aspecto importante es que las AgNP de menor tamaño pueden penetrar con mayor facilidad los tejidos dérmicos e intestinales(Ávalos, Haza, Mateo y Morales, 2013).
- **Estado de aglomeración:** Dado que las AgNPs son agregados, es decir un grupo de partículas que se encuentran enlazadas mediante fuerzas relativamente débiles, en este caso fuerzas de Van der Waals, con lo cual pueden disociarse con facilidad a diferencia de un aglomerado en el cual sus partículas se encuentran fuertemente unidas o asociadas. Esto se relaciona con su toxicidad, puesto que los agregados pueden dispersarse por

distintos sistemas metabólicos, mientras que los aglomerados se depositan en un órgano en específico (Ávalos, Haza, Mateo y Morales, 2013).

- **Forma:** tal como en su efecto bactericida, se ha encontrado que las AgNPs de forma triangular llegan a ser las más tóxicas puesto que el tener mayor número de caras le hace ser más reactiva siendo las esféricas las menos tóxicas (Ávalos, Haza, Mateo y Morales, 2013).
- **Solubilidad:** al solubilizarse las AgNPs pierden su estructura de nanopartícula para volver a su forma iónica, aunque aún se desconoce el mecanismo por el cual esto sucede y además faltan evidencias que confirmen si la toxicidad de las AgNPs es resultado de la liberación de iones Ag^+ o a ella misma como tal (Ávalos, Haza, Mateo y Morales, 2013).

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general: Sintetizar nanopartículas de plata por reducción metálica en medio acuoso utilizando diferentes agentes reductores.

4.2 Objetivos específicos:

- Establecer las condiciones óptimas para la obtención de nanopartículas de plata.
- Caracterizar los nanomateriales de plata obtenidos
- Evaluar y comparar los procesos utilizados

5 DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA

La metodología para el logro de los objetivos del presente trabajo comprendió cuatro etapas:

- Ensayos preliminares
- Optimización de condiciones de reacción
- Caracterización de nanopartículas de plata

5.1 Ensayos preliminares

Los ensayos preliminares comprendieron la variación de condiciones de reacción como: análisis exploratorio de cantidad y clase de sal precursora, manteniendo constante la clase de agente reductor. Se utilizó el citrato de sodio por su comportamiento como agente reductor y a la vez estabilizante, pero variando su cantidad. Otras condiciones que se consideraron en estos ensayos fueron: agitación, temperatura y pH.

Se utilizaron como sales precursoras al nitrato de plata y al sulfato de plata de concentración 0,001M y 0,0001M, como agente reductor y estabilizante al citrato de sodio al 0,01M, 0,001M y 0,0001M. Se realizaron diez (10) ensayos adaptando el procedimiento de Pillai y Kamat (2004) como se describe a continuación:

Para cada síntesis se colocaron 10ml de sal precursora (AgNO_3 o Ag_2SO_4) de concentración 0,001M ($1,7 \times 10^{-3}\text{g}$ y $3,12 \times 10^{-3}\text{g}$ respectivamente) en un Beaker y se calentó a una temperatura cercana a la temperatura de ebullición del solvente, en este caso el agua (cerca de los 90°C) luego se adicionaron desde una bureta (por gotas) 30 mililitros de agente reductor 0,01M (0,077g) con agitación constante hasta que se evidenció coloración amarillenta acompañada de turbidez, se suspendió la agitación y se prosiguió con el calentamiento por 20 minutos caracterizando las nanopartículas obtenidas mediante un análisis Uv/vis a una λ de 420nm (pico de absorción máxima). A continuación, se variaron las condiciones como la concentración de agente reductor y sal precursora, la temperatura de calentamiento y el tiempo de calentamiento (Ver **Tabla 4**)

Tabla 4. Variación de las condiciones con respecto a las condiciones iniciales para la síntesis de AgNPs en los ensayos preliminares.

Condición	Condición inicial		Nueva condición			
	AgNO ₃		AgNO ₃		Ag ₂ SO ₄	
Sal precursora	Concentración molar	Peso (g)	Concentración molar	Peso (g)	Concentración molar	Peso (g)
Concentración de sal precursora	0,001	Sin información	0,01	0,025	0,01	0,047
			0,001	$2,55 \times 10^{-3}$	0,001	$4,68 \times 10^{-3}$
Concentración de agente reductor	0,01	Sin información	0,01M		0,077g	
			0,001M		$7,74 \times 10^{-4}\text{g}$	
			0,0001M		$7,74 \times 10^{-3}\text{g}$	
Volumen de agente reductor	Sin información		15ml			
Temperatura de reacción	Temperatura de ebullición (Sin información)		Cercanos a los 90°			
			Cercanos a los 80°C			
Tiempo de calentamiento	Sin información		10 minutos			

Con estas variables y utilizando las condiciones de concentración, temperatura, tiempos de agitación y de reacción, se evidenció cualitativamente la obtención de AgNPs mediante los indicadores siguientes. coloración amarillenta, turbidez y efecto Tyndall.

5.2 Optimización de condiciones de reacción

Para alcanzar los objetivos del presente trabajo se utilizaron como métodos base (en los que varía el agente reductor utilizado) los propuestos por Pillai y Kamat (2004) (Síntesis con citrato de sodio); Lee y Meissel (1992) (Síntesis con borohidruro de sodio); Ravendraan, Fu y Wallen (2002) (Síntesis con glucosa); Logeswari, Silambarasan & Abraham (2015) (Síntesis con diversos extractos acuosos vegetales). La metodología para cada método antes mencionados comprendió tres etapas:

- Optimización de condiciones de reacción
- Caracterización de las nanopartículas de plata obtenidas
- Análisis, comparación y evaluación de resultados

El propósito de esta etapa fue establecer la clase y concentración tanto del precursor como del agente reductor óptimos, así como las mejores condiciones de síntesis como son: temperatura, velocidad de adición de reactivos, temperatura y tiempos de reacción con el fin de obtener las AgNPs. Además de establecer las mejores sales precursoras y agentes reductores que produzcan una mayor concentración de AgNPs (lo cual se evidencia a partir de los espectros Uv/vis).

5.2.1 Cantidad de sal precursora (S.P)

Con el fin de seleccionar los mejores agentes reductores para las síntesis se realizaron ensayos en los cuales solamente se cambió la cantidad de sal precursora de concentración 0,001M adicionando diferentes volúmenes correspondientes a: $3,4 \times 10^{-4}$ g, $8,49 \times 10^{-4}$ g, $1,19 \times 10^{-3}$ g y $1,7 \times 10^{-3}$ g para el nitrato de plata y $6,23 \times 10^{-4}$ g, $1,56 \times 10^{-3}$ g, $2,18 \times 10^{-3}$ g y $3,12 \times 10^{-3}$ g para el sulfato de plata) y se mantuvo constante la cantidad de los otros reactivos³⁸. Cada síntesis se hizo por triplicado y se caracterizó mediante un barrido por Uv/vis entre 400nm a 500nm.

5.2.2 Clase y cantidad de agente reductor

Adicional al citrato de sodio, utilizado en los ensayos preliminares, se utilizaron también los agentes reductores³⁹: borohidruro de sodio, glucosa y metabolitos reductores presentes en el extracto acuoso de pétalos de Rosa. Con este fin se utilizaron $1,7 \times 10^{-3}$ g para el AgNO₃ y $3,12 \times 10^{-3}$ para el Ag₂SO₄ y se variaron las cantidades de agente reductor aplicando los métodos de síntesis descritos a continuación:

³⁸ El diseño metodológico para cada agente reductor se muestra en los numerales 5.2.2.1 hasta el numeral 5.2.2.2

³⁹ Se excluyó al citrato de sodio por su bajo desempeño en el procedimiento anterior.

5.2.2.1 Citrato de sodio

Para esta síntesis se utilizó el procedimiento planteado por Pillai y Kamat (2004) y fue realizado por triplicado para volúmenes de 2, 5, 7 y 10 mililitros de solución de sal precursora 0,001M ($3,4 \times 10^{-4}$ g, $8,49 \times 10^{-4}$ g, $1,19 \times 10^{-3}$ g y $1,7 \times 10^{-3}$ g respectivamente para el nitrato de plata y $6,23 \times 10^{-4}$ g, $1,56 \times 10^{-3}$ g, $2,18 \times 10^{-3}$ g y $3,12 \times 10^{-3}$ g respectivamente para el sulfato de plata) y un volumen de agente reductor de 10ml de concentración 0,001M ($2,58 \times 10^{-3}$ g). En la *Figura 33* se muestra el esquema para este proceso.

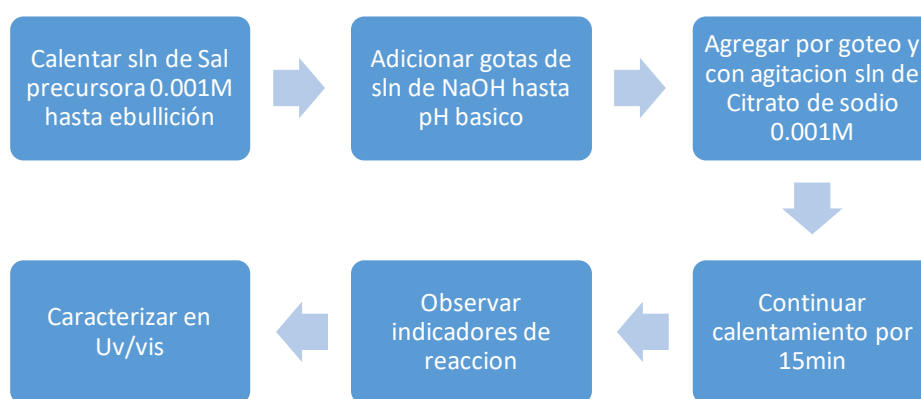


Figura 33. Metodología empleada para la síntesis de AgNPs con citrato de sodio.

5.2.2.2 Borohidruro de sodio

Este procedimiento fue adaptado de Lee y Meisel (1982). y fue realizado por triplicado para volúmenes de 2, 5, 7 y 10 mililitros de solución de agente reductor de concentración 0,001M ($7,57 \times 10^{-5}$ g, $1,89 \times 10^{-4}$ g, $2,65 \times 10^{-4}$ g y $3,78 \times 10^{-4}$ g respectivamente) y 10ml de agente precursor de concentración 0,001M ($1,7 \times 10^{-3}$ g para el nitrato de plata y $3,12 \times 10^{-3}$ g para el sulfato de plata) y se caracterizó por Uv/vis entre 350nm-450nm. En la *Figura 34* se muestra el esquema para este proceso y en la

Tabla 5 las condiciones que se cambiaron respecto al procedimiento original.

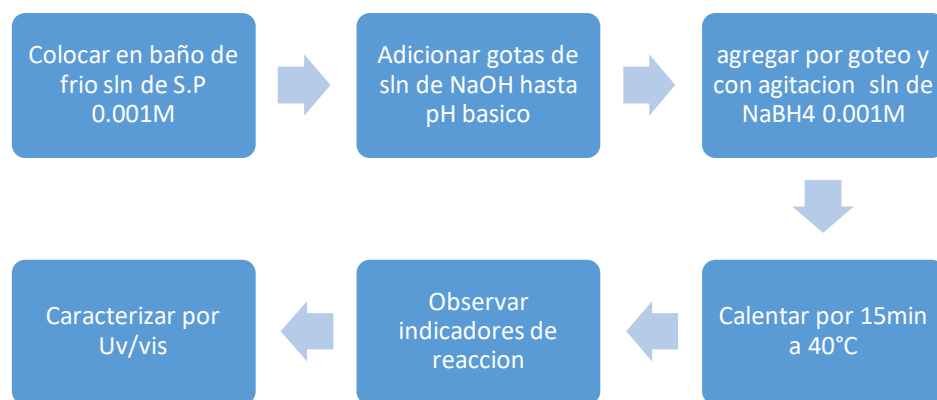


Figura 34. Metodología empleada para la síntesis de AgNPs con borohidruro de sodio.

Tabla 5. Cambios en las condiciones con respecto al método de Lee y Meisel.

Condición	Lee y Meisel (2004)		Condiciones empleadas en este trabajo			
	AgNO ₃		AgNO ₃		Ag ₂ SO ₄	
Sal precursora utilizada	Concentración molar	Peso (g)	Concentración molar	Peso (g)	Concentración molar	Peso (g)
Concentración de sal precursora	0.005	0,085	0.001	1,7x10 ⁻³	0.001	3,12x10 ⁻³
Concentración de NaBH ₄	0.002	0,045	0.001M		7,57x10 ⁻⁵ g para 2ml	
					1,89 x10 ⁻⁴ g para 5ml	
					2,65 x10 ⁻⁴ g para 7ml	
					3,78x10 ⁻⁴ g para 10ml	
Volumen de sal precursora (ml)	100		10			
Volumen de agente reductor (ml)	600		2, 5, 7 y 10			
Agente estabilizante	PVA 1% (50ml)		Ninguno			
Tiempo de calentamiento	1 hora		15 minutos			

5.2.2.3 Glucosa

Este procedimiento fue adaptado de Ravendraan, Fu y Wallen (2002). y fue realizado por triplicado para volúmenes de 2, 5, 7 y 10 mililitros de solución de glucosa de concentración de 0,001M (3,6x10⁻⁴g, 9x10⁻⁴g, 1,26x10⁻³g y 1,8x10⁻³g respectivamente) y 10ml de sal precursora de concentración 0,001M (1,7x10⁻³g para el nitrato de plata y 3,12x10⁻³g para el sulfato de plata) y se caracterizó por Uv/vis entre 350nm-450nm.

en la *Figura 35* se muestra el esquema para este proceso y en la *Tabla 6* las condiciones que se cambiaron respecto al procedimiento original.

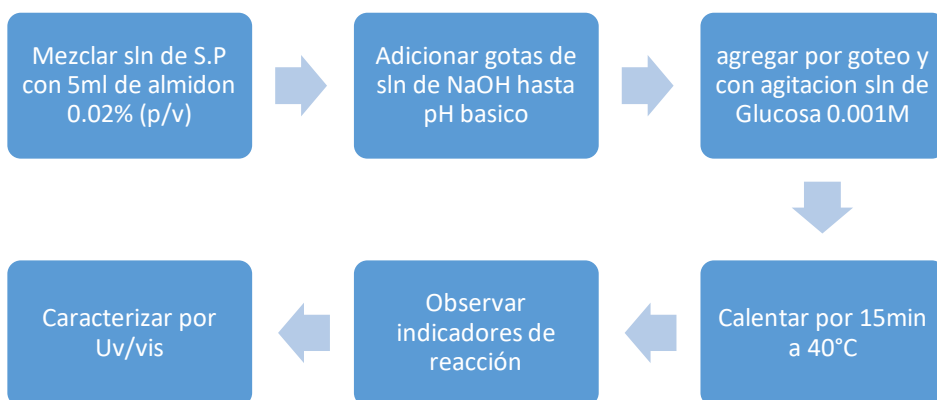


Figura 35. Metodología empleada para la síntesis de AgNPs con glucosa

Tabla 6. Cambios en las condiciones con respecto a las establecidas por Ravendraan, Fu y Wallen.

Condición	Ravendraan, Fu y Wallen (2002)		Condiciones empleadas en este trabajo			
	AgNO ₃		AgNO ₃		Ag ₂ SO ₄	
Sal precursora utilizada	Concentración molar	Peso (g)	Concentración molar	Peso (g)	Concentración molar	Peso (g)
Concentración de sal precursora	0.1	1,7 x10 ⁻³	0.001	1,7x10 ⁻³	0.001	3,12x10 ⁻³
Concentración de Glucosa	0.1	2,7 x10 ⁻³	0,001M		3,6x10 ⁻⁴ g para 2ml	
					9x10 ⁻⁴ g para 5ml	
					1,26x10 ⁻³ g para 7ml	
					1,8x10 ⁻³ g para 10ml	
Volumen de sal precursora (ml)	0.1		2, 5, 7 y 10			
Volumen de agente reductor (ml)	0.15		15			
Tiempo de calentamiento	20 horas		15 minutos			
Volumen de agente estabilizante (ml)	6		5			
Concentración del agente estabilizante (%p/v)	0.17		0.002			

5.2.2.4 Extracto de pétalos de rosa

Este procedimiento fue adaptado de Logeswari, Silambarasan, & Abraham (2015) fue realizado por triplicado para volúmenes de 2, 5, 7 y 10 mililitros de solución de agente reductor y se caracterizó por Uv/vis entre 350nm-450nm. En la *Figura 36* se muestra el esquema para este proceso y en la *Tabla 7* las condiciones que se cambiaron respecto al procedimiento original.

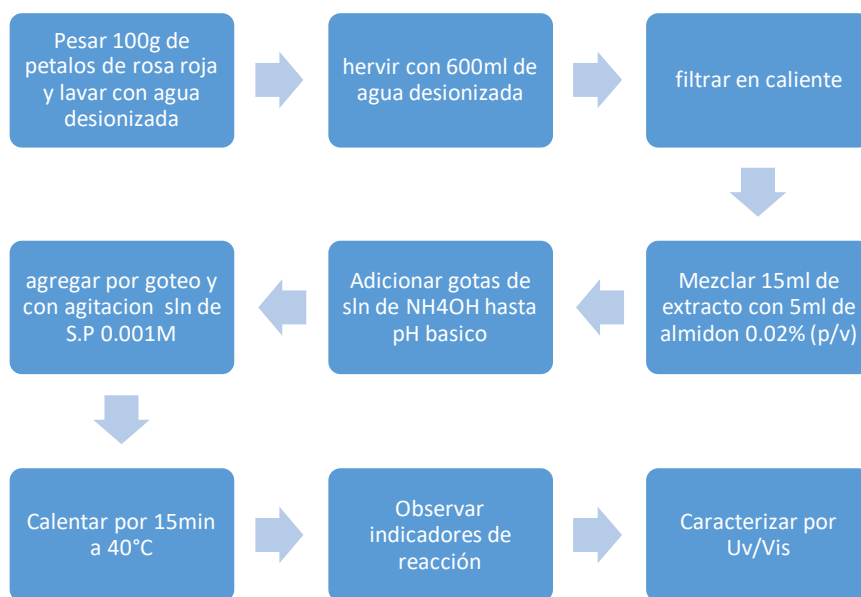


Figura 36. Metodología para la síntesis de AgNPs con extractos de pétalos de rosa.

Tabla 7. Cambio en las condiciones con respecto a las establecidas por Logeswari, Silambarasan, & Abraham

Condición	Logeswari, Silambarasan, & Abraham (2015)	Condiciones empleadas en este trabajo	
Especie vegetal empleada	Hojas: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Ocimum tenuiflorum</i> (Albahaca morada) - <i>Solanum trilobatum</i> (Thuthuvalai) - <i>Syzygium cumini</i> (Jambul) - <i>Centella asiática</i> (Vallarai keeran) Cascara: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Citrus x sinensis</i> (Naranja) 	Pétalos: <i>Rosa spp.</i> (Rosa roja común)	
Peso de material vegetal (g)	1.5	100	
Volumen de agua utilizado (ml)	100	600	
Sal precursora utilizada	AgNO ₃	AgNO ₃	Ag ₂ SO ₄

	Concentración molar	Peso (g)	Concentración molar	Peso (g)	Concentración molar	Peso (g)
	0,001	$8,49 \times 10^{-3}$	0.001	$1,7 \times 10^{-3}$	0.001	$3,12 \times 10^{-3}$
Volumen de sal precursora (ml)	5		2, 5, 7 y 10			
Volumen de agente reductor (ml)	10		15			
Tiempo de calentamiento	24 horas		15 minutos			
Agente estabilizante	ninguno		Almidón 5ml (0,02 %p/v)			
Temperatura de agitación (°C)	37		40			

5.2.3 Agente estabilizante

Con el fin de seleccionar el mejor agente estabilizante se utilizaron el citrato de sodio, celulosa y almidón en concentración de 1,2% realizándose los métodos de síntesis antes mencionados con todos los agentes reductores agregando o cambiando el agente estabilizante antes del tratamiento térmico y posterior a el cambio de pH de la solución.

5.3 Caracterización de las Nanopartículas de Plata Obtenidas

Para caracterizar las AgNPs se utilizó un espectrofotómetro UV-Visible marca SAFAS monaco 320 del Laboratorio de Instrumentación en Química del PCLQ de la Facultad de Ciencias y Educación de la universidad distrital Francisco José de Caldas para el análisis primero se realizó un espectro de absorbancia entre 400 y 500 nm para las soluciones en que se varió el volumen de la sal precursora y un espectro de absorbancia entre 350-450nm para las soluciones en el cual se varió el volumen del agente reductor Las mediciones se realizaron en las soluciones coloidales obtenidas por los métodos antes relacionados.

6 ANÁLISIS Y EVALUACIÓN DE RESULTADOS

Para el análisis de los resultados se consideraron cada una de las etapas mencionadas en la metodología y se realizaron comparaciones de los resultados con los obtenidos por los autores de las metodologías usadas y se soportaron con las teorías expuestas en el marco teórico. Finalmente se realizó un análisis estadístico, ANOVA multifactorial en el programa STATGRAPHICS Centurión, en el cual se tuvo como variable dependiente a la absorbancia y como factores los siguientes: cantidad

de sal precursora, clase de sal precursora, el agente reductor utilizado y la longitud de onda con un orden de interacción máximo de 3^{40} .

6.1 Análisis de los ensayos preliminares

De acuerdo a la metodología planteada para estos ensayos, los resultados permitieron obtener indicadores cualitativos (color, efecto Tyndall y turbidez) e indicadores cuantitativos como absorbancia y longitud de onda de absorción máxima de las AgNPs, que mostraron la evidencia de su formación.

Inicialmente se utilizó como indicador de la síntesis efectiva de AgNPs la intensidad de la coloración obtenida. En la *Figura 37* se muestran las diferentes coloraciones observadas en la producción de las AgNPs coloidales cuando se cambiaba la concentración del agente reductor. Se observa que la intensidad del color amarillo-naranja, es mayor cuando hay menor concentración de agente reductor el cual influye en el tamaño de la nanopartícula sintetizada. Al aumentar la concentración del agente reductor se producen partículas de menor tamaño por lo cual se generan una mayor cantidad de núcleos de crecimiento y como consecuencia todas las partículas metálicas se ven atraídas a los muchos núcleos generados en la solución, en las cuales prima las fuerzas de repulsión entre los muchos clusters formados por cada núcleo, mientras que al disminuir la concentración del agente reductor se dan pocos núcleos de reducción que aglomeran a partículas por coalescencia generando partículas de mayor tamaño en las cuales prima las fuerzas de atracción entre los pocos clusters formados (Lucioni, 2012).



Figura 37. Síntesis de AgNPs en distintas condiciones

Como se mencionó anteriormente, el agente reductor debe tener un potencial de reducción mucho menor que el del metal para que esta reacción sea termodinámicamente espontánea, dado que el potencial de celda o de reacción ΔE (que comprende la suma de los potenciales de reducción del agente reductor y del metal) al adquirir valores positivos posibilita que aquella reacción tenga la

⁴⁰ Este orden se utilizó para observar como la relación existente entre los factores afecta los valores de absorbancia de la solución de AgNPs

energía suficiente como para que esta pueda darse. Ello se explica producto de su relación con ΔG^{41} (variación de energía libre).

Las reacciones de reducción para la formación de coloides metálicos se explican según LaMer (1950) por una sobresaturación de los átomos reducidos (producto de la reacción) en este caso las AgNPs, requiriendo de un agente estabilizante sin el cual ocurriría una precipitación. (LaMer y Dinegar 1950).

En cuanto al **pH** éste permitió establecer la viabilidad de formación o no de las AgNPs. Cuando se realizó la síntesis a un pH neutro, se necesitaba de un calentamiento mayor a los 5 minutos para manifestar una leve coloración amarillenta (indicador de formación de las AgNPs), mientras que al realizarse con un pH básico la solución mostro un leve cambio de coloración, sin calentamiento. Coloración que se iba haciendo más oscura luego del calentamiento. Mientras que en las soluciones acidas no se obtuvo reducción de los iones plata, sino que inmediatamente procedieron a formar precipitado de su sal correspondiente.

La razón por la cual el pH de la solución es una condición importante en la optimización de la síntesis es que en soluciones es la siguiente: mientras que a pH básico el agente reductor se encuentra en forma iónica, a pH ácido se encuentra en forma de ácido como se muestra como ejemplo para el ion citrato en la *Figura 38*. Al estar en forma de ion este es mucho más reactivo debido a que se produce una mayor fuerza de interacción ion-ion (ion citrato-ion plata) que cuando predomina la forma no iónica del agente reductor ácido, como consecuencia a pH ácido los iones plata reaccionarían fácilmente con los iones de ácido empleado formando su sal correspondiente.

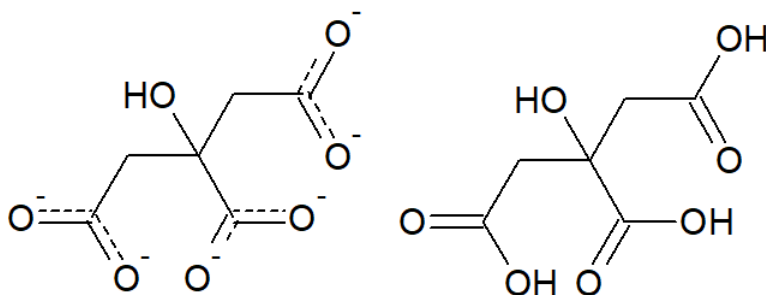


Figura 38. Forma ionizada del ácido cítrico (izquierda) y forma no ionizada a pH ácido(derecha). (Imagen hecha con el programa ACD/Chemsketch)

Dado que el extracto acuoso de pétalos de rosa posee como uno de sus principales metabolitos secundarios a las antocianinas (específicamente la Leucoantocianidina) su comportamiento frente a los cambios de pH es el cambio en su coloración, por lo que podemos definir el pH de estas soluciones frente al cambio de coloración

⁴¹ La relación entre el potencial de celda (ΔE) y la variación en la energía libre (ΔG) se da por la siguiente ecuación:

$$\Delta E = \frac{-(\Delta G)}{nF}$$

Por lo cual, los valores en la variación de energía libre deben de ser negativos para la obtención de valores de ΔE positivos al igual que termodinámicamente los procesos espontáneos se dan cuando la variación en la energía libre es negativa (Garritz, 2005).

Velocidad de adición del Agente Reductor: influye en la velocidad con la cual se da la reacción. Cuando la adición se realiza por goteo, la formación de centros de nucleación en solución se ralentiza (Puesto que aparecen pocos centros de nucleación) y por ende la velocidad de reacción se ralentiza también. Aun así, se maneja la adición por goteo debido a que con ello podemos controlar la dispersión de las partículas producidas puesto que se puede controlar la nucleación y con ello tener uniformidad en el tamaño de las AgNPs producidas, así como evitar que ocurra la reducción espontánea de los iones plata que conlleva a su precipitación.

Temperatura de reacción: La reacción de reducción de iones plata es bastante lenta a temperatura ambiente, con lo cual el calentamiento incrementa la velocidad de reacción. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la temperatura de reacción para la síntesis de AgNPs depende del agente reductor empleado. En la síntesis con borohidruro de sodio, esta de manera preliminar se realiza en baño de hielo cuyo propósito es el evitar la formación de vapores de esta misma sustancia que pueden llegar a ser tóxicas y así mismo reducir las probabilidades de explosión por emisión de gases de hidrógeno (H₂), por la misma razón se calentó posteriormente a 40°C, mientras que para los demás agentes reductores no se presentaron inconvenientes que generaran un cambio en la temperatura de reacción.

Cuando calentamos la reacción nos aseguramos también que el agente reductor reaccione a totalidad, por ello también es importante regular el tiempo de calentamiento o de reacción (excepto en el caso del borohidruro donde la reacción ya se da desde que se agrega en frío y su calentamiento tiene por objetivo la eliminación del hidróxido de boro) ya que si calentamos en un breve periodo de tiempo obtendremos una menor concentración de AgNPs puesto que los reactivos no reaccionaron con totalidad y si nos excedemos podemos favorecer a la formación de precipitado por coalescencia.

En cuanto a la **agitación**, tal como para las demás reacciones en laboratorio la agitación es un factor que busca incrementar la probabilidad de choques efectivos para la formación de nuevas especies químicas, sin embargo, para este caso la agitación además de mejorar la velocidad con las cuales fueron obtenidas las AgNPs también puede favorecer los procesos de coalescencia entre partículas de mayor tamaño, aun así, al efectuar las distintas síntesis la presencia o no de no resultó en la aparición de precipitado.

Los resultados de los ensayos preliminares que fueron más relevantes se muestran en la *Tabla 8* y en la *Figura 39*. A partir del espectro Uv/vis se permitió establecer que el mayor valor de absorbancia (1,77) se obtuvo con el experimento codificado como E5 (ver *Tabla 8*) en el cual se disminuyó en 10 minutos la temperatura de reacción y se aumentó el volumen de sal precursora de AgNO₃ 0,001M en relación con el propuesto por Pillai y Kamat (experimento codificado como E1). En el experimento codificado como E2 se reflejó como cuando se utilizó 3,12x10⁻³g de la sal precursora Ag₂SO₄ (0,001M) obtuvo una absorbancia de 1,24. Estos valores de absorbancia indican una concentración mayor de nanopartículas obtenidas. Cuando se realiza el cálculo estequiométrico se encontró que la cantidad de AgNPs obtenidas corresponde a 6,85x10⁻⁴g para cada uno de los experimentos codificados como E1 y E5, lo que demuestra que la producción de las AgNPs contenidas depende directamente de las condiciones de reacción como en este caso el tiempo de reacción. Además, la variación en el λ puede ocasionarse por la diferente morfología que puede presentarse entre las nanopartículas de cada solución producto del uso de distintas condiciones de reacción.

Tabla 8. Resultados más relevantes en los ensayos preliminares

Condiciones/ ensayo	E1 *	E2	E5
[Ag ₂ SO ₄]		0,001	
[AgNO ₃]	0,001		0,001
Volumen sal precursora	10ml	10ml	10ml
[Citrato de sodio]	0,01	0,01	0,01
Volumen de agente reductor añadido	30ml	30ml	30ml
Temperatura de adición	90°C	90°C	90°C
Tiempo de calentamiento luego de la adición (temperatura de reacción)	20 min	20 min	10 min
Absorbancia	0,46	1,24	1,77
Longitud de onda máxima de absorción (nm)	426	431	435
Dispersión de la luz laser	Alta	Alta	Máxima
Coloración de la solución / dispersión con la fotografía en flash	Amarilla con turbidez	Amarilla oscura con turbidez	Amarilla-Naranja con turbidez
Cantidad a partir de cálculos estequiométricos (g)	$6,85 \times 10^{-4}$	$2,16 \times 10^{-3}$	$6,85 \times 10^{-4}$
pH	Neutro		

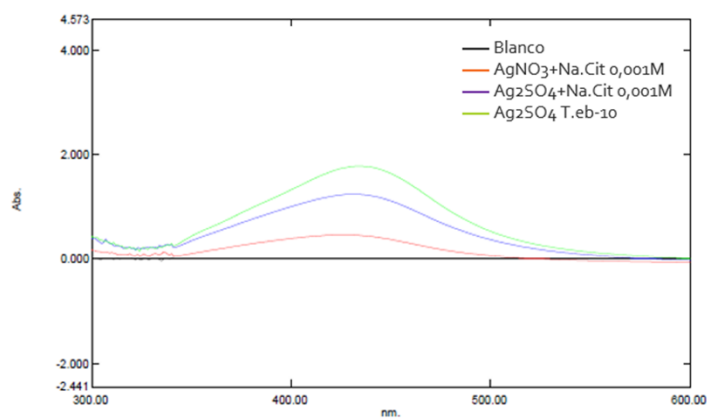


Figura 39. Espectro Uv/vis para las muestras más relevantes

6.2 Análisis de las condiciones óptimas para la síntesis de AgNPs

Para establecer las condiciones óptimas se analizaron la temperatura y tiempo de reacción, la necesidad de agitación y el pH. Con estas condiciones definidas se estableció la cantidad de sal precursora, la cantidad de agente reductor y el agente estabilizante. A continuación, se relacionan los resultados para cada una de estas condiciones

6.2.1 Cantidad de sal precursora

A continuación, se muestran los resultados obtenidos para la síntesis de AgNPs variando el volumen de sal precursora añadida (*Ver Tabla 9*), en estos se puede evidenciar la importancia que tiene la proporción molar utilizada, especialmente en la síntesis en la que fue usada la glucosa como agente reductor y sulfato de plata como sal precursora en la adición de 7×10^{-6} y 1×10^{-5} moles de sulfato de sodio ($1,19 \times 10^{-3}$ g y $1,7 \times 10^{-3}$ g respectivamente) no se encuentra ningún dato disponible puesto que para relaciones menores de 15:7 (moles de agente reductor y sal precursora respectivamente) las partículas fueron inestables y precipitaron por coalescencia, en la *Figura 40* se muestra como se producen mayores absorbancias al utilizar $8,49 \times 10^{-4}$ g y $1,56 \times 10^{-3}$ g de AgNO_3 y Ag_2SO_4 como sal precursora y al extracto acuoso de pétalos de rosa (ya que este fue el agente reductor con el que se produjo una mayor absorbancia) y como al utilizar una mayor cantidad tenía como por consecuencia una menor cantidad de AgNPs producidas.

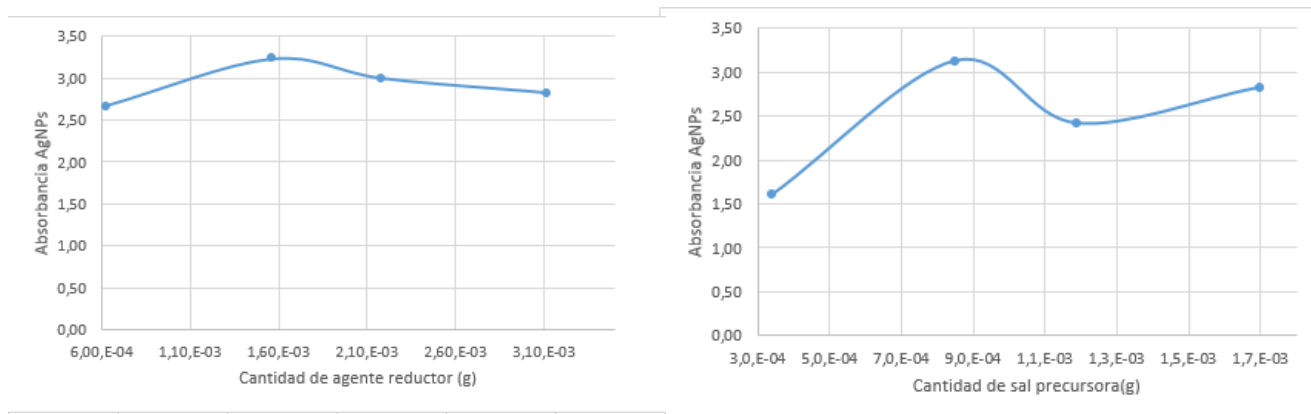


Figura 40. Absorbancia de las AgNPs al variar la cantidad de AgNO_3 (derecha) y Ag_2SO_4 (izquierda) utilizando como agente reductor al extracto acuoso de pétalos de rosa.

Tabla 9. Resultados en la síntesis de AgNPs al variar la cantidad de sal precursora*.

Agente reductor	Volumen de agente reductor (ml)	Peso de agente reductor (g)	Sal precursora	Volumen de sal precursora (ml)	Peso de sal precursora (g)	Indicadores de reaccion								
						Absorbancia a 400nm	Color	Efecto Tyndall	Turbidez	Cantidad estequiometrica				
Citrato de sodio	15	3,87E-03	AgNO3	2	3,4,E-04	0,03	Incoloro	Ausente	Baja	2,16,E-04				
				5	8,49,E-04	0,29	Grisaceo	Ausente	Baja	5,39,E-04				
				7	1,19,E-03	0,36	Grisaceo	Presente	Media	7,55,E-04				
				10	1,7,E-03	0,56	Grisaceo	Presente	Alta	1,08,E-03				
			Ag2SO4	2	6,23,E-04	0,29	Incoloro	Ausente	Baja	4,31,E-04				
				5	1,56,E-03	0,67	Amarillento claro	Ausente	Baja	1,08,E-03				
				7	2,18,E-03	0,95	Amarillento	Presente	Media	1,51,E-03				
				10	3,12,E-03	1,18	Amarillento	Presente	Alta	2,16,E-03				
				Borohidruro de sodio	15	5,67,E-04	AgNO3	2	3,4,E-04	1,72	Amarillento	Presente	Alta	2,16,E-04
								5	8,49,E-04	0,82	Amarillento	Presente	Alta	5,39,E-04
7	1,19,E-03	1,46	Amarillento					Presente	Alta	7,55,E-04				
10	1,7,E-03	1,95	Amarillento					Presente	Alta	1,08,E-03				
Ag2SO4	2	6,23,E-04	0,84				Amarillento claro	Ausente	Baja	4,31,E-04				
	5	1,56,E-03	1,44				Naranja oscuro	Presente	Muy alta	1,08,E-03				
	7	2,18,E-03	1,76				Naranja oscuro	Presente	Muy alta	1,51,E-03				
	10	3,12,E-03	2,33				oscuro	Presente	Muy alta	1,62,E-03				
	Glucosa	15	2,7,E-03				AgNO3	2	3,4,E-04	0,87	Amarillento	Presente	Alta	2,16,E-04
								5	8,49,E-04	1,84	Amarillento	Presente	Alta	5,39,E-04
7				1,19,E-03	1,81	Amarillento		Presente	Alta	7,55,E-04				
10				1,7,E-03	2,57	Amarillento		Presente	Alta	1,08,E-03				
Ag2SO4				2	6,23,E-04	1,03	Amarillento	Presente	Alta	4,31,E-04				
				5	1,56,E-03	1,63	oscuro	Presente	Alta	1,08,E-03				
				7	2,18,E-03	0	Grisaceo	Ausente	Baja	1,51,E-03				
				10	3,12,E-03	0	Grisaceo	Ausente	Media	2,16,E-03				
				Extracto de Rosa	15	2,5	AgNO3	2	3,4,E-04	1,61	Roja	Ausente	Baja	
								5	8,49,E-04	3,12	Marron	Presente	Alta	
7	1,19,E-03	2,42	Marron					Presente	Alta					
10	1,7,E-03	2,82	Marron					Presente	Alta					
Ag2SO4	2	6,23,E-04	2,66				Marron	Presente	Alta					
	5	1,56,E-03	3,23				Marron	Presente	Alta					
	7	2,18,E-03	3,00				Marron	Presente	Alta					
	10	3,12,E-03	2,82				Marron	Presente	Alta					

*La ausencia de datos para la cantidad estequiometrica de AgNPs para el extracto acuoso de pétalos de rosa es producto de la mezcla de distintos agentes reductores con lo cual no se tiene una ecuación química para realizar los cálculos estequiometricos correspondientes.

6.2.2 Cantidad de agente reductor

Para el siguiente análisis en el cual se mantuvo la cantidad de sal precursora constante (Ver Tabla 10), se puede evidenciar que los mayores valores de absorbancia se dan para las soluciones en las cuales se utilizó mayor cantidad de agente reductor, mientras que los menores valores se dieron en las soluciones en las cuales con sulfato de plata se utilizó un menor cantidad de agente reductor.

Al comparar lo obtenido en los resultados con respecto al marco teórico podemos denotar que las bajas cantidades en el agente reductor aseguran una menor cantidad de centros de nucleación formados en la solución, en las cuales priman las fuerzas de atracción presentadas en la Figura 26 y por ello la obtención de nanopartículas de mayor tamaño las cuales son estables, sin embargo si se

utilizan cantidades muy reducidas del mismo las fuerzas de atracción conllevarían a la coalescencia y esto fue lo que sucedió para todos los agentes reductores, cantidades en peso equivalentes a la adición de volúmenes menores a 5ml dan a lugar a la poca producción o a la sedimentación de las AgNPs. En la literatura se recomienda el uso de una mayor proporción de agente reductor respecto a la sal precursora (Pillai & Kamat, 2004). en la *Figura 41* se muestra como se producen mayores absorbancias al utilizar 0,83g que comprenden 5ml de concentración de 16,67% p/v de extracto acuoso de pétalos de rosa como agente reductor (ya que este fue el agente reductor con el que se produjo una mayor absorbancia) y AgNO₃ como sal precursora, mientras que en el caso del Ag₂SO₄ se necesitan de cantidades mayores a 1,67g para la obtención de una solución más concentrada, por lo que para obtener información certera sobre la cantidad de sal precursora y agente reductor a utilizar es primordial el analizar las proporciones molares.

Tabla 10. Absorbancia de las AgNPs al variar el volumen de agente reductor*

Sal precursora	Volumen de sal precursora (ml)	Peso de sal precursora (g)	Agente reductor	Volumen de agente reductor (ml)	Peso de agente reductor (g)	Indicadores de reaccion					
						Absorbancia a 410nm	Color	Efecto Tyndall	Turbidez	Cantidad estequiometrica	
AgNO ₃	10	1,7E-03	Borohidruro de sodio	2	7,6,E-05	1,86	Grisaceo	Presente	Alta	2,16,E-04	
				5	1,89,E-04	2,50	Grisaceo	Presente	Alta	5,39,E-04	
				7	2,65,E-04	2,30	Grisaceo	Presente	Alta	7,55,E-04	
				10	3,8,E-04	1,98	Amaliento	Presente	Alta	1,08,E-03	
			Glucosa	2	3,60,E-04	2,38	Naranja	Presente	Alta	8,64,E-04	
				5	9,01,E-04	3,00	Amarillo oscuro	Presente	Alta	1,08,E-03	
				7	1,26,E-03	1,95	Amarillento	Presente	Alta	1,08,E-03	
				10	1,80,E-03	2,52	Amarillento	Presente	Alta	1,08,E-03	
				Extracto de petalos de Rosa	2	0,33	1,57	Marron	Presente	Alta	
					5	0,83	2,46	Marron	Presente	Alta	
					7	1,17	2,63	Marron	Presente	Alta	
					10	1,67	2,88	Marron	Presente	Alta	
Ag ₂ SO ₄	10	3,12,E-03	Borohidruro de sodio	2	3,4,E-04	1,92	Grisaceo	Presente	Alta	9,69,E-04	
				5	8,49,E-04	1,10	Grisaceo	Presente	Alta	2,16,E-03	
				7	1,19,E-03	2,07	Grisaceo	Presente	Alta	2,16,E-03	
				10	1,7,E-03	3,00	Grisaceo	Presente	Alta	2,16,E-03	
			Glucosa	2	6,23,E-04	1,09	Grisaceo	Presente	Alta	1,49,E-03	
				5	1,56,E-03	1,32	Grisaceo	Presente	Alta	2,16,E-03	
				7	2,18,E-03	1,05	Grisaceo	Presente	Alta	2,16,E-03	
				10	3,12,E-03	0,83	Grisaceo	Presente	Alta	2,16,E-03	
				Extracto de petalos de Rosa	2	0,33	1,61	Marron	Presente	Alta	
					5	0,83	3,12	Marron	Presente	Alta	
			7		1,17	2,42	Marron	Presente	Alta		
			10		1,67	2,82	Marron	Presente	Alta		

*La ausencia de datos para la cantidad estequiometrica de AgNPs para el extracto acuoso de pétalos de rosa es producto de la mezcla de distintos agentes reductores con lo cual no se tiene una ecuación química para realizar los cálculos estequiometricos correspondientes.

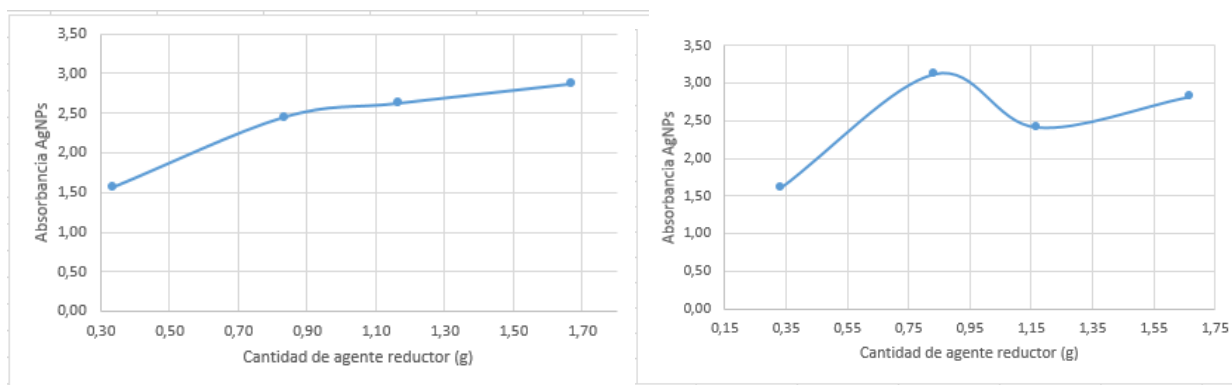


Figura 41. Absorbancia de las AgNPs al variar la cantidad de extracto acuoso de pétalos de rosa como agente reductor empleando AgNO₃ (derecha) y Ag₂SO₄ (izquierda) como sal precursoras.

Proporción Molar de Sal Precursora / Agente Reductor

La proporción molar de reacción es un factor importante en la optimización de la reacción. Utilizando las proporciones mostradas en la *Tabla 11*⁴². Se presenta como al disminuir o aumentar en la proporción molar disminuye la absorbancia de las AgNPs relacionadas en la *Figura 42.*, al aumentar la cantidad de sal precursora para una cantidad fija de agente reductor la absorbancia aumenta hasta un valor máximo cuando la relación sal precursora/ agente reductor es de 7:15. Si a continuación se mantiene constante la sal precursora y se disminuye el agente reductor la absorbancia de las AgNPs producidas disminuye. En consecuencia la relación molar óptima es 7:15. Esto se explica a través de la *Figura 26* donde al aumenta la cantidad de agente reductor (concentración de iones solvatados) con respecto a la de sal precursora incrementa el grosor de la EDL primando así las fuerzas de oposición entre partículas impidiendo su crecimiento y al aumentar la cantidad de sal precursora respecto a la de agente reductor el núcleo se vería más expuesto por lo que actuarían las fuerzas de Van der Waals y darían a lugar a la precipitación por coalescencia. Otro beneficio de ello es que este método procede a minimizar la cantidad de sal precursora a utilizar con lo cual este es más sostenible.

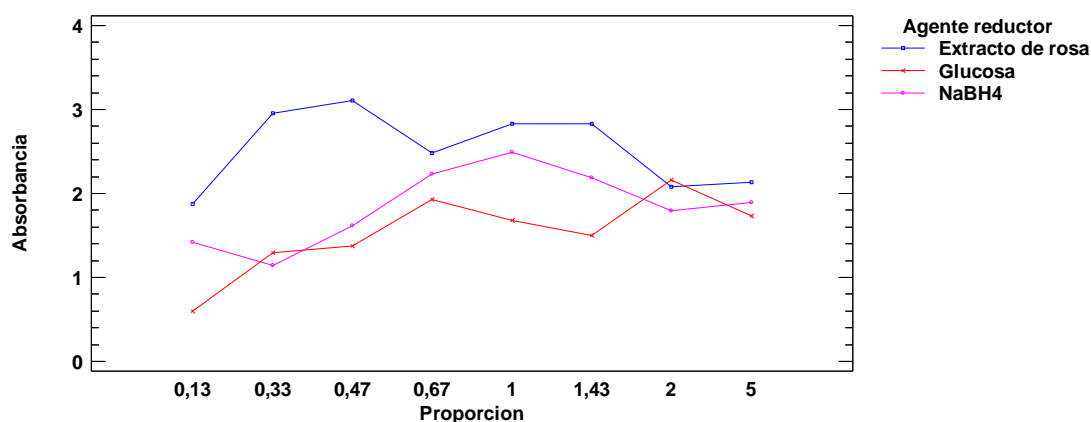


Figura 42. Absorbancias de las AgNPs según la proporción de volúmenes de sal precursora/ agente reductor

⁴². Sin embargo, cabe aclarar que, en el caso del extracto acuoso de pétalos de rosa, aunque no se haga una relación molar, en este caso se realizara una relación de proporción volumétrica.

Tabla 11. Proporciones de volumen de sal reductora con respecto al volumen del agente reductor

Proporción	Moles de sal precursora	Moles de agente reductor
0,13	2×10^{-6}	$1,5 \times 10^{-5}$
0,33	5×10^{-6}	$1,5 \times 10^{-5}$
0,47	7×10^{-6}	$1,5 \times 10^{-5}$
0,67	1×10^{-5}	$1,5 \times 10^{-5}$
1	1×10^{-5}	1×10^{-5}
1,43	1×10^{-5}	7×10^{-6}
2	1×10^{-5}	5×10^{-6}
5	1×10^{-5}	2×10^{-6}

6.2.3 Agente estabilizante

Para el análisis de la estabilidad se tuvo en cuenta el cambio en la coloración de la solución y la existencia o no de precipitado en el tiempo (0, 1, 2, 6, 15 días) eliminando aquellas soluciones que tuviesen tanto pérdida de coloración junto con la evidencia de precipitado. Los resultados se muestran en la *Tabla 12*.

Tabla 12. Evaluación en el uso de distintos agentes estabilizantes para la pasivación de AgNPs al cabo de 0,1, 2, 6 y 15 días.

Sal precursora	Agente reductor	Agente estabilizante	# tubo	Días				
				0	1	2	6	15
AgNO ₃	Na.Cit	-----	1		P	P	P	P
		Almidón	2		P	P	P	P
		Celulosa	3		P	P	P	P
	NaBH ₄	-----	4			P	P	P
		Na.Cit	5		P	P	P	P
		Almidón	6		P	P	P	P
		Celulosa	7		P	P	P	P
	Glucosa	-----	8	P	P	P	P	P
		Na.Cit	9		P	P	P	P
		Almidón	10	P	P	P	P	P
		Celulosa	11	P	P	P	P	P
	Extracto Rosa	-----	12		P	P	P	P
		Na.Cit	13		P	P	P	P
		Almidón	14		P	P	P	P
		Celulosa	15		P	P	P	P
Ag ₂ SO ₄	Na.Cit	-----	16		P	P	P	P
		Almidón	17	P	P	P	P	P
		Celulosa	18				P	P
	NaBH ₄	-----	19					
		Na.Cit	20					
		Almidón	21					
		Celulosa	22					P

	Glucosa	-----	23		P	P	P	P
		Na.Cit	24					P
		Almidón	25			P	P	P
		Celulosa	26			P	P	P
	Extracto Rosa	-----	27		P	P	P	P
		Na.Cit	28		P	P	P	P
		Almidón	29		P	P	P	P
		Celulosa	30		P	P	P	P

P: Presencia de precipitado de plata metálica

Recuadros amarillos: coloración amarilla-naranja clara u oscura en la solución

Recuadros blancos: pérdida de coloración (incolora, coloración plateada o coloración rojiza en caso de las soluciones sintetizadas con extracto de rosa)

En las *Figura 43* y *Figura 44*, tomando como base el indicador color (intensidad de color amarillo o marrón en el caso del extracto de rosa), se evidencia que hay una mayor formación de AgNPs cuando se obtienen a partir del precursor Ag_2SO_4 que del AgNO_3 . Esto puede ser consecuencia de un aumento en la proporción relativa de iones plata en solución (2 a 1).

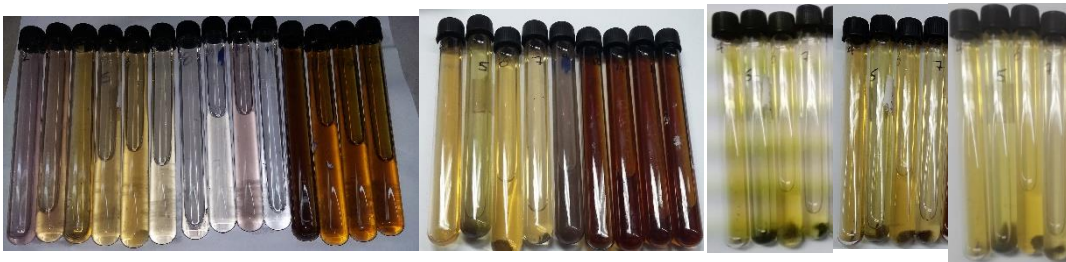


Figura 43. Síntesis de AgNPs con AgNO_3 y distintos agentes reductores y estabilizantes luego de 0, 1, 2, 6 y 15 días



Figura 44. Síntesis de AgNPs con Ag_2SO_4 y distintos agentes reductores y estabilizantes luego de 0, 1, 2, 6 y 15 días

Respecto a las sintetizadas con el extracto de rosa se puede decir que, ya que es una mezcla global de distintos compuestos que presentan comportamiento reductor como la cianidina, epicatequina y leucoantocianidina. Aun así, no se puede garantizar que tanto estos como otros metabolitos no puedan reaccionar con los reactantes, con el agente estabilizante o las mismas nanopartículas. Prueba de ello se evidencia en las demás síntesis que no involucran dicho extracto, las cuales manifiestan precipitados p mientras que estos producen precipitados de color rojizo o blancuzco.

También es importante relacionar otros factores como el costo de los reactivos (Ver anexo 2) y los riesgos sobre la salud y el ambiente que pueden llegar a tener los compuestos a utilizar (Ver anexo 3). Para los costos de los reactivos en cada síntesis se evidencio como en los métodos no tradicionales al requerir de un agente estabilizante implicaban la compra del mismo y el uso de agua desionizada para preparar su solución. Mientras tanto al realizar el análisis de la toxicología de las sustancias utilizadas se evidencia como al comparar la dosis letal media de los agentes reductores encontramos que el menor valor corresponde al borohidruro de sodio (50 mg/kg) por vía oral utilizando como modelo experimental a la rata. Esto quiere decir que se requiere una menor dosis de borohidruro de sodio para matar a la mitad de un grupo de ratas expuestas a esta sustancia, además de ello al consultar en las fichas de seguridad para este reactivo encontramos primero su capacidad explosiva al generar hidrogeno al reducirse (por eso esta reacción se hace en frio) y segundo su alta capacidad corrosiva que puede llegar a afectar todo tipo de tejido con el cual entra en contacto, por lo que dicha síntesis se recomienda hacer bajo cabina de gases y con los implementos de protección recomendados en las fichas de seguridad.

6.3 Análisis Estadístico

El Análisis de Varianza multifactorial ANOVA consideró como variable dependiente a la absorbancia y como factores la cantidad de sal precursora (en términos de moles), clase de sal precursora y cantidad el agente reductor utilizado y la longitud de onda con un orden de interacción de factores máximo de 3 (se utilizaron como factores la cantidad de sal precursora, la cantidad de agente reductor y la longitud de onda). También se realizó de forma independiente un análisis de ANOVA para establecer el mejor agente estabilizante en el que se consideraron como variable dependiente la estabilidad de las soluciones y como factores el tiempo, la clase de agente reductor y sal precursora.

6.3.1. ANOVA para establecer la mejor sal precursora y el mejor agente reductor

Para este análisis se plantearon las siguientes hipótesis nula e hipótesis alternativa:

H₀: no existen variaciones en la absorbancia de las soluciones de AgNPs con respecto a la variación de la longitud de onda, cantidad de sal precursora, agente reductor y sal precursora utilizadas. Por lo tanto, estas características no son significativas para las absorbancias.

H_A: existen variaciones en la absorbancia de las soluciones de AgNPs con respecto a la variación de la longitud de onda, cantidad de sal precursora, agente reductor y sal precursora utilizadas. Por lo tanto, estas características son significativas para las absorbancias.

En la *Tabla 13* se muestra como para un 95% de confianza el valor-P⁴³ para las interacciones de la longitud de onda con los demás factores a excepción de la sal precursora son menores a 0,05 por lo cual entra en el rango de rechazo de la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa en la cual la variación de la longitud de onda, cantidad de sal precursora, agente reductor y sal precursora tienen repercusión sobre la absorbancia de la solución.

Las interacciones de las variables como: longitud de onda-Cantidad de sal precursora, longitud de onda-Cantidad de sal precursora-Agente reductor y longitud de onda-Cantidad de sal precursora-Sal precursora no inciden sobre la variación de la absorbancia tal como lo muestra la *Figura 45*, en donde, aunque se dé la variación en los valores de longitud de onda y la cantidad de sal precursora, la absorbancia simplemente llega a ser más alta al aumentar dicha cantidad.

Tabla 13. ANOVA condiciones óptimas: agente reductor

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Longitud de onda	38,3994	10	3,83994	87,44	0,0000
B:Cantidad de sal precursora	10,6361	3	3,54535	80,74	0,0000
C:Agente reductor	84,5109	3	28,1703	641,50	0,0000
D:Sal precursora	1,61898	1	1,61898	36,87	0,0000
INTERACCIONES					
AB	1,03856	30	0,0346187	0,79	0,7667
AC	13,9811	30	0,466037	10,61	0,0000
AD	1,46391	10	0,146391	3,33	0,0010
BC	14,6128	9	1,62364	36,97	0,0000
BD	2,28732	3	0,76244	17,36	0,0000
CD	14,6503	3	4,88342	111,21	0,0000
ABC	5,00579	90	0,0556198	1,27	0,1321
ABD	1,28462	30	0,0428207	0,98	0,5136
ACD	4,53165	30	0,151055	3,44	0,0000
BCD	12,6472	9	1,40524	32,00	0,0000
RESIDUOS	3,95221	90	0,0439134		
TOTAL (CORREGIDO)	210,621	351			

Gráfico de Interacciones

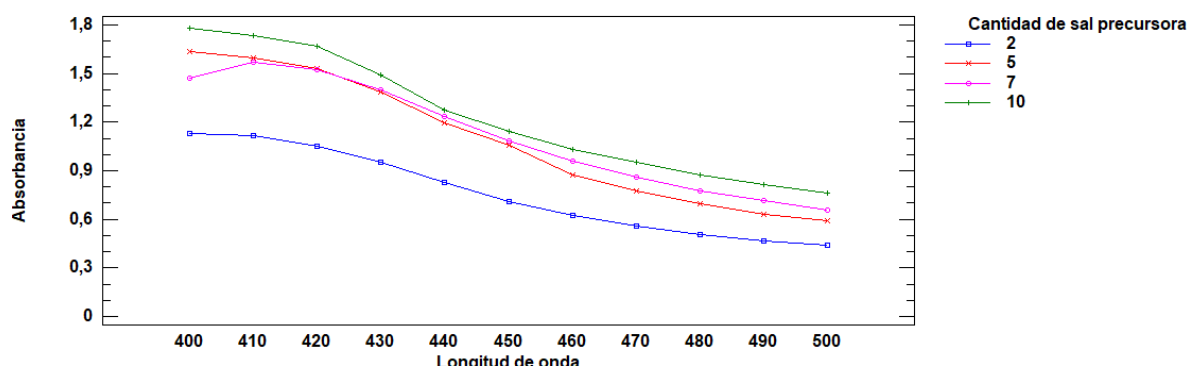


Figura 45. Variación del espectro Uv/vis variando las cantidades de sal precursora.

⁴³ Valor P: medida de la probabilidad en la que la diferencia de un resultado al contrastar 2 hipótesis sea producto del azar, si este valor es menor que el rango de aceptación (en este caso 0,05 ya que se maneja el 95% de confianza, este valor es el que suele emplearse en análisis estadístico) implica que la diferencia no es producto del azar con lo cual se rechaza la hipótesis nula (la cual se da como cierta desde el inicio) mientras que de ser mayor implica que hay probabilidad de que la diferencia sea producto del azar y que este resultado no sea significativo para el análisis, por lo tanto no se puede rechazar la hipótesis nula (Arias, 2014).

Para establecer los criterios necesarios para las síntesis posteriores se utilizó el diagrama de medias por método Fisher con 95% de confianza para una media de 24 síntesis realizadas con cada agente reductor en el cual se puede evidenciar que la mayor media de absorbancias es para las síntesis en la que se usó los pétalos de rosa como agente reductor con lo cual puede definirse como el agente reductor más óptimo. Lo anterior se puede atribuir fundamentalmente a:

- La presencia de varios agentes reductores, principalmente antocianinas, flavonas y taninos entre los cuales se encuentra la cianidina, epicatequina y leucoantocianidina (Martínez Guzmán & Ocampo Bustos, 2015)
- A una mayor concentración de los agentes reductores en los pétalos de rosa que las concentraciones de los otros agentes reductores utilizados en este trabajo. Al comparar las concentraciones de los agentes reductores en unidades de g/ml, se puede observar, según lo relacionado en la *Tabla 14* como la concentración de extracto neto del reductor obtenido de los pétalos de rosa (el cual no solo está compuesto por reductores, sino también por otras sustancias) es mucho mayor a las concentraciones utilizadas para los demás reactivos.
- A la propia reactividad de los metabolitos dentro del extracto acuoso de pétalos de rosa.

Tabla 14. Concentración de agentes reductores en g/ml

Agente reductor	Concentración (g/ml)
Citrato de sodio	$2,6 \times 10^{-4}$
NaBH ₄	4×10^{-5}
Glucosa	$1,8 \times 10^{-4}$
Pétalos de rosa	0,16

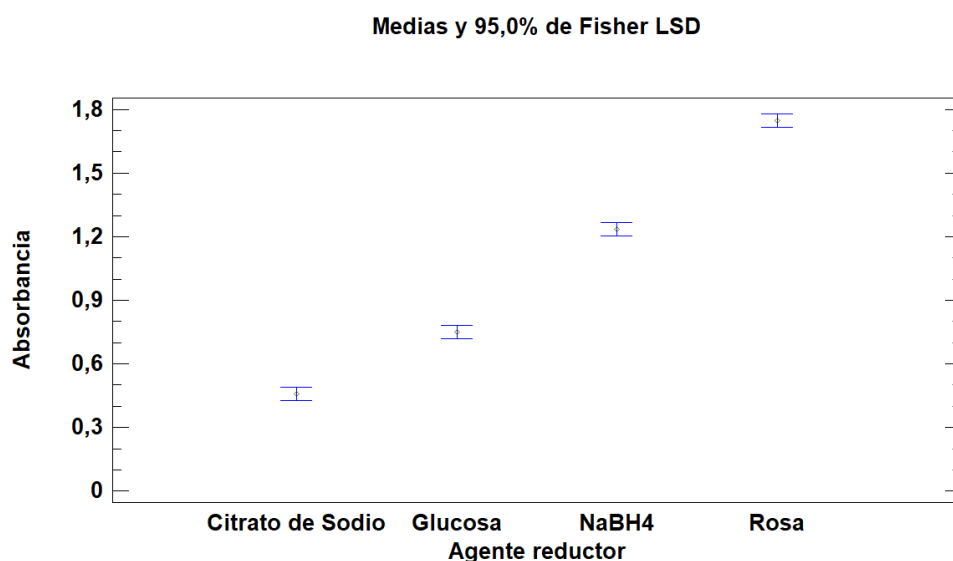


Figura 46. Diagrama de medias de absorbancia de las AgNPs obtenidas a partir de distintos agentes reductores.

Lo anterior se corrobora por el espectro de absorción Uv/vis para las AgNPs obtenidas con cada agente reductor. En este espectro se encuentran longitudes de absorción máximas entre el rango de 400nm-410nm (*Ver Figura 47*) la cual coincide con lo reportado por la literatura (Sanchez Moreno, 2017), en la *Figura 47* se evidencia que a estas longitudes de onda se obtienen las mayores absorbancias por parte de las AgNPs cuando se utilizaron como agentes reductores el extracto de pétalos de rosa y el borohidruro de sodio (curvas representadas por los colores verde y rosa respectivamente).

Sin embargo, debe tenerse en cuenta que en la selección del agente reductor se debe considerar el menor riesgo ambiental y para la salud. En este caso el menor riesgo es para el extracto acuoso proveniente de los pétalos de rosa, puesto que es un extracto natural, compuesto de una mezcla de distintas sustancias que presentan carácter reductor entre las que se encuentran la cianidina, epicatequina y leucoantocianidina.

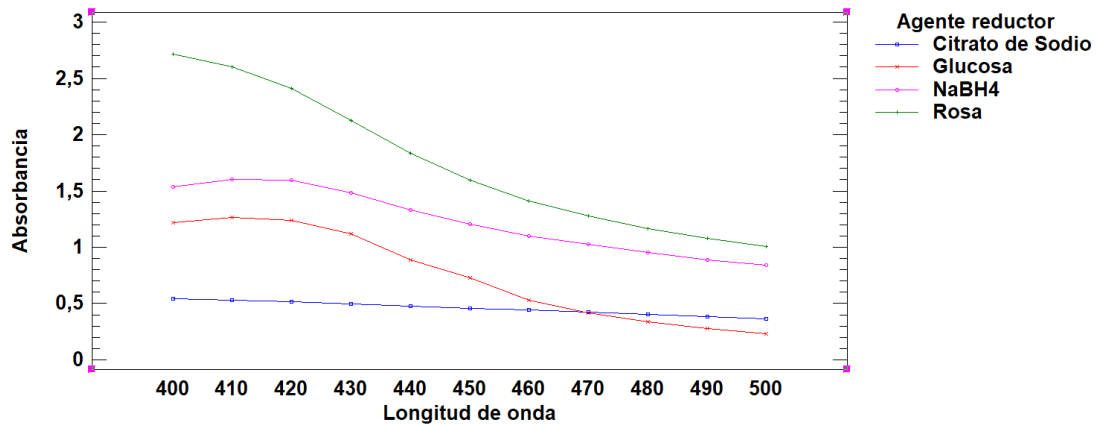


Figura 47. Espectros Uv/vis para las AgNPs obtenidas con distintos agentes reductores

En la *Figura 48* se muestra el diagrama de medias para las 72 síntesis en las cuales se analizó las proporciones molares entre la sal precursora y el agente reductor, en este diagrama se puede evidenciar como la longitud de absorción máxima media se encuentran en el rango de 400-410nm característico en AgNPs esféricas.

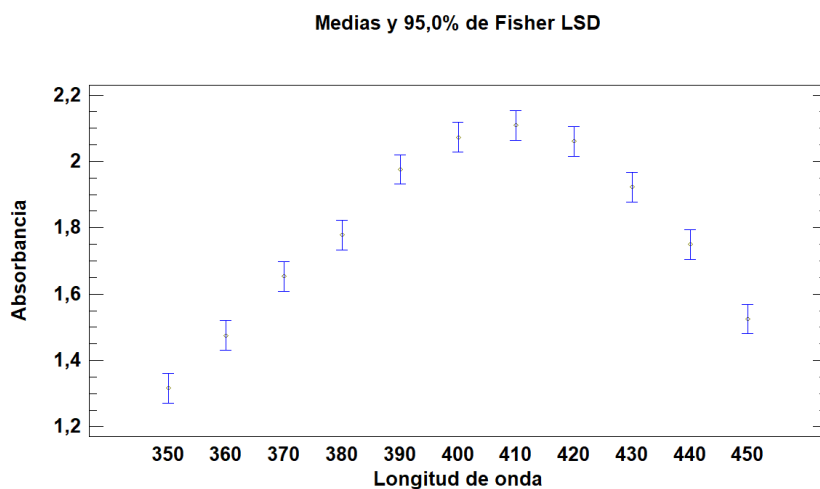


Figura 48. Diagrama de medias para la longitud de onda de máxima absorbancia de las AgNPs.

Para las sales precursoras se realizó el mismo procedimiento, el cual se muestra en la *Figura 49* se evidencia como en la mayoría de proporciones el AgNO_3 fue quien tuvo mayores valores de absorbancia dentro de la proporción 0,47 (línea representada de rosa) con lo que puede definirse que esta sal es la más óptima.

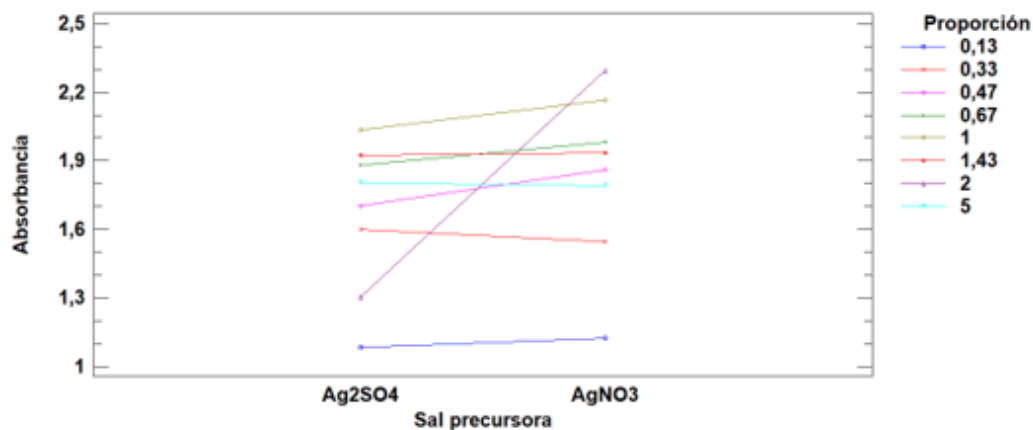


Figura 49. a) Absorbancia de las AgNPs variando las sales precursoras con respecto a la proporción de volúmenes de sal precursora/ agente reductor.

6.3.2. ANOVA para establecer el mejor agente estabilizante

Para evaluar la influencia del agente estabilizante en la estabilidad de las soluciones producidas se realizó una ANOVA tomando como variable dependiente la estabilidad a la cual se le asignaron

valores de 0, 1 y 2 según la intensidad de color y la presencia o ausencia de precipitado de la siguiente manera (Ver Tabla 15).

Tabla 15. Criterios para el análisis estadístico de la estabilidad

Estabilidad	Intensidad de color	Presencia o ausencia de precipitado
2	Amarillenta o marrón	Ausencia
1	Amarillenta o marrón	Presencia
0	Plateada, rojiza o incolora	Presencia

Con estos valores se contrastaron las siguientes dos hipótesis:

H₀: no existen variaciones en los valores de estabilidad para las soluciones de AgNPs con respecto al uso de distintos agentes estabilizantes.

H_A: existen variaciones en los valores de estabilidad para las soluciones de AgNPs con respecto al uso de distintos agentes estabilizantes.

En la *Tabla 16* se muestra como para un 95% de confianza el valor-P para el agente estabilizantes es mayor a 0,05 por lo cual entra en el rango de aceptación de la hipótesis nula en la cual no existe variaciones en los valores de estabilidad de las AgNPs obtenidas con respecto al uso de distintos agentes estabilizantes que puede corregirse realizándose la adición de los mismos en una mayor concentración.

Tabla 16. ANOVA condiciones óptimas: Agente estabilizante.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Sal precursora	12,3267	1	12,3267	45,19	0,0000
B:Agente reductor	27,4278	3	9,14259	33,52	0,0000
C:Agente estabilizante	2,17778	3	0,725926	2,66	0,0506
D:Día	32,9067	4	8,22667	30,16	0,0000
RESIDUOS	37,6389	138	0,272746		
TOTAL (CORREGIDO)	113,073	149			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Así mismo Pradeep (2012) relaciono el tamaño de las nanopartículas metálicas con su longitud de onda de máxima absorción, realizando un aproximado. Tomando los datos de la *Tabla 17* y relacionándolo con la *Figura 48* en la cual se puede evidenciar que todas las soluciones de AgNPs sintetizadas a partir de distintos agentes reductores llegaron a tener longitudes de absorción máxima entre los 400-410nm, con lo cual se puede estimar que su tamaño se encuentra entre 10-14nm que es cercano a los valores mostrados previamente en la literatura. Entonces se puede inferir que las nanopartículas obtenidas por los métodos anteriores son altamente reactivas y así mismo bastante inestables.

Tabla 17. Tamaño de partícula aproximado de acuerdo a la longitud de onda de máxima absorción (Pradeep 2012)

Tamaño de partícula (nm)	Longitud de absorción máxima (nm)
10-14	~ 400
35-50	430
60-80	438

7 CONCLUSIONES

- Las condiciones óptimas para la obtención de AgNPs fueron: Temperatura: 40°C; tiempo de reacción: 15 min; pH entre 11-13; sal precursora: 7ml de AgNO₃ 0,001 M (8,49 x 10⁻⁴ g); agente reductor: 15ml extracto de componentes reductores presentes en pétalos de rosa (antocianinas, epicatequina y leucoantocianidina); adición del agente reductor por goteo y agitación; agente estabilizante almidón y celulosa obteniéndose una absorbancia de 2,42 para estas condiciones.
- En el análisis de ANOVA se realizó el diagrama de medias por método Fisher con 95% de confianza para una media de 24 síntesis realizadas con cada agente reductor y se evidenció que la mayor media de absorbancia es para las síntesis en la que se usó pétalos de rosa como agente reductor.
- Del análisis estadístico de las proporciones molares entre la sal precursora y el agente reductor realizado para las 72 síntesis, se evidenció como la longitud de absorción máxima de las AgNPs se encuentran en el rango de 400-410nm característico para éstas nanopartículas esféricas.
- Teniendo en cuenta el análisis de medias, se encontró que los agentes reductores que generan mayor cantidad de AgNPs son los extractos de pétalos de rosa y el borohidruro de sodio, con proporción 7:15 respecto de la sal precursora.
- Para un 95% de confianza el valor-P para el agente estabilizante (comparando citrato de sodio, almidón y celulosa) es mayor a 0,05 por lo cual entra en el rango de aceptación de la hipótesis nula en la cual no existe variaciones significativas en los valores de estabilidad de las AgNPs obtenidas con respecto al uso de distintos agentes estabilizantes.
- En relación con las sales precursoras analizadas se encontró que el AgNO₃ produce AgNPs con mayor absorbancia que las obtenidas a partir de Ag₂SO₄. Esto se corroboró con el análisis estadístico realizado.
- De acuerdo con el espectro de absorción realizado a las AgNPS obtenidas, estas absorben a una λ de 410 nm, valor que permitió inferir que su tamaño aproximado es de 10 - 14 nm.
- Para la obtención de soluciones monodispersas de AgNPs, la velocidad de adición del agente reductor debe de realizarse por goteo y con presencia de agitación

- Se confirmó que cuando se trabajó a pH menor de 11 a 13, la absorbancia y en consecuencia la concentración de AgNPs disminuía debido a la disminución de la reactividad del agente reductor.

8 RECOMENDACIONES

El estudio de las propiedades de las nanopartículas metálicas ha sido un gran tema de interés en la actualidad, pero dicho enfoque se da principalmente hacia las AuNPs como las AgNPs, por lo que se recomienda explorar en las propiedades de nanopartículas de otros metales. Además de aplicar la optimización producto de este trabajo en su síntesis. Aunque las AgNPs actualmente se emplean con fines bactericidas, aun no existe un producto de uso doméstico que las contenga como ingrediente activo y permita así la desinfección de superficies de contacto, por lo tanto, se recomienda la investigación de las AgNPs en geles o spray para productos comerciales además de la investigación de las propiedades bactericidas para otras nanopartículas metálicas.

La química verde se enfoca en la transformación de distintos procesos químicos hacia enfoques más sustentables y amigables con el medio ambiente no solo para proyectos de investigación sino que también buscando llevar dichos procesos al entorno industrial, ello ha sido motivo para la implementación de biopolímeros tales como el almidón y la celulosa para ser usados como agentes estabilizantes y la búsqueda de extractos fitoquímicos en su uso como agentes reductores; actualmente se ha empleado gran variedad de sustancias para este fin, por lo cual se recomienda separar y purificar los componentes en dichos extractos y evaluar su capacidad como agente reductor, con ello se pueden escoger las especies ricas en dicho metabolito y estudiarlas en la optimización de la síntesis de AgNPs. Así mismo también se recomienda cuantificar la cantidad de los metabolitos presentes en el extracto, definir su capacidad reductora, su interacción tanto con las sales precursoras como con otros metabolitos para la validación de una metodología producto de este análisis y así optimizar lo establecido en la anterior investigación.

Otro problema relacionado a las AgNPs es que aún no es clara la gestión de sus residuos, puesto que sus propiedades y su comportamiento son distintos que el de la plata a granel. Por lo tanto, su gestión no puede ser la misma que la de las soluciones que contienen metales pesados por consiguiente se recomienda el diseño de un plan de manejo para residuos de nanopartículas metálicas junto a un plan de recuperación de la plata presente como residuo o precipitado del proceso.

BIBLIOGRAFÍA

Arias, M. M. (2014). Lectura crítica en pequeñas dosis. *Pediatría de Atención Primaria*, 16, 275–279. Retrieved from http://archivos.pap.es/files/1116-1825-pdf/pap63_16.pdf

Arribas Pardo, V. (2012). *Formación de nanoestructuras de silicio por evaporación térmica y pulverización catódica*. Tesis, Universidad autónoma de Barcelona, Bellaterra.

Ávalos, A, Haza, AI, Mateo, D y Morales, P. (2013). Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 7(2), 1–23. https://doi.org/10.5209/rev_RCCV.2013.v7.n2.43408

- Barber, D. J., & Freestone, I. C. (1990). AN INVESTIGATION OF THE ORIGIN OF THE COLOUR OF THE LYCURGUS CUP BY ANALYTICAL TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY. *Archaeometry*, 1(32), 33-45.
- Buceta Fernández, D. (2012). Caracterización y propiedades catalíticas de clústeres cuánticos subnanométricos. Retrieved from <http://www.tdx.cat/handle/10803/67107>
- Buceta Fernández, D. (2011). *Caracterización y propiedades catalíticas de clústeres cuánticos subnanométricos*. Tesis doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, Departamento de Química Física, Santiago de Compostela.
- Cabrera, J., López, A., & Santiago, J. (2008). SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN MATRICES POLIMÉRICAS MEDIANTE RADIACIÓN GAMMA. *Revista mexicana de ingeniería química*, 11(1), 16-20.
- Cardoso, P. (2016). Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud. *Revista Pediatría*, 58(260), 19–28. <https://doi.org/10.1109/TPAMI.2011.66>
- Dorato, M. A., & Engelhardt, J. A. (2005). The no-observed-adverse-effect-level in drug safety evaluations: Use, issues, and definition(s). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 42(3), 265–274. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2005.05.004>
- Eaton, P., & West, P. (2010). *Atomic Force Microscopy*. New York, EUA: Oxford University Press.
- Escobar Falconí, V. E. (2015). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por espectroscopia de infrarrojos (FT-IR), UV-Vis, absorción atómica de llama (FAAS) y microscopía de barrido electrónico (SEM)*. Pontificia universidad católica del Ecuador, Facultad de ciencias exactas y naturales, Quito.
- Forginiari, A., Marquez, L., & Salager, J.-L. (2006). Nanoemulsiones. *Cuadernos FIRP*, 31.
- Hernández Zarazua, L. A. (2009). *Estudio de la estabilidad y evolución de emulsiones de tipo O/W mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) y dispersión dinámica de luz*. Tesis de maestría, Instituto politecnico nacional, México D.F.
- ISO/TS 80004-2:2015 *Nanotechnologies — Vocabulary — Part 2: Nano-objects*
- ISO/TS 80004-4:2011 *Nanotechnologies — Vocabulary — Part 4: Nanostructured materials*
- Klasen, H. (2000). A historical review of the use of silver in the treatment of burns. *Burns*, 26(2), 131-138. doi:10.1016/S0305-4179(99)00116-3
- Larrea, A., & Pérez-Arantegui, J. (2003). The secret of early nanomaterials is revealed, thanks to transmission electron microscopy. *Trends in Analytical Chemistry*, 2(25). doi:10.1016/S0165-9936(03)00502-8
- Lee, P. C., & Meisel, D. (1982). Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. *Journal of Physical Chemistry*, 86(17), 3391–3395. <https://doi.org/10.1021/j100214a025>
- Lide, D. (2005). Hardness of Minerals and Ceramics. En D. Lide, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*.

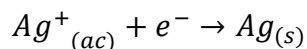
- Logeswari, P., Silambarasan, S., & Abraham, J. (2015). Synthesis of silver nanoparticles using plants extract and analysis of their antimicrobial property. *Journal of Saudi Chemical Society*, 19(3), 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2012.04.007>
- Lucioni, A. C. (2012). Summary of Gold Nanoparticles Obtained By. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 78(2), 79–90.
- Martínez Guzmán, M. Y., & Ocampo Bustos, A. L. (2015). *APROVECHAMIENTO DE ALGUNOS COMPONENTES BIOACTIVOS DE PETALOS COMO AGENTES*. Universidad de la Salle, Facultad de ingeniería, Bogotá D.C.
- Matulis, V. E., Ivashkevich, O. A., & Gurin, V. S. (2003). DFT study of electronic structure and geometry of neutral and anionic silver clusters. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 664–665, 291–308. <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2003.10.003>
- Melchor Aléman, M. A., Mesta Torres, L., & Martel Estrada, S. A. (10 de Febrero de 2016). Aplicaciones de nanopartículas en textiles para el diseño de interiores. *Espacio I+D*, V(10), 153-180. Obtenido de <http://www.espacioimasd.unach.mx/articulos/num10/pdf/nanopartículas.pdf>
- Mie, G. (1908). Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen der Physik*, 330(3). doi:<https://doi.org/10.1002/andp>
- Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata : métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Investigación Química*, (August), 33–41. <https://doi.org/ISSN 1575-3417>
- Oliva Montero, J. M. (2010). Copa de Licurgo: Cuando la ciencia y arte se dan la mano para hacer historia, 1–2.
- Peinetti, A. S. (2016). Uso de matrices nanoporosas como molde para la síntesis de nanopartículas/clusters metálicos. Aplicaciones a sensores y catálisis, 203.
- Peinetti, A. S. (2016). *Uso de matrices nanoporosas como molde para la síntesis de nanopartículas/clusters metálicos. Aplicaciones a sensores y catálisis*. Tesis doctoral, Universidad Buenos Aires, Química inorgánica, analítica y química física INQUIMAE, Buenos Aires.
- Pillai, Z. S., & Kamat, P. V. (2004). What Factors Control the Size and Shape of Silver Nanoparticles in the Citrate Ion Reduction Method? *The Journal of Physical Chemistry B*, 108(3), 945–951. <https://doi.org/10.1021/jp037018r>
- Pinto, G., Martín, M., María Hernández, J., & Teresa Martín, M. (2015). El reactivo de Tollens: de la identificación de aldehídos a su uso en nanotecnología. Aspectos históricos y aplicaciones didácticas. *An. Quím*, 111(3), 173–180. Retrieved from www.rseq.org
- Polte, J. (2015). Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles – a new perspective. *CrystEngComm*, 17(36), 6809–6830. <https://doi.org/10.1039/C5CE01014D>
- Polte, J., Ahner, T. T., Delissen, F., Sokolov, S., Emmerling, F., Thünemann, A. F., & Kraehnert, R. (2010). Mechanism of gold nanoparticle formation in the classical citrate synthesis method derived from coupled in situ XANES and SAXS evaluation. *Journal of the American Chemical Society*, 132(4), 1296–1301. <https://doi.org/10.1021/ja906506j>

- Polte, J., Tuae, X., Wuithschick, M., Fischer, A., Thuenemann, A. F., Rademann, K., ... Emmerling, F. (2012). Formation mechanism of colloidal silver nanoparticles: analogies and differences to the growth of gold nanoparticles. *ACS Nano*, 6(7), 5791–5802. <https://doi.org/10.1021/nn301724z>
- Ponce Varela, M. G. (2011). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de Ni y NiMo en medio acuoso*. Tesis de maestría, Instituto politécnico nacional, Altamira.
- Raveendran, P., Fu, J., & Wallen, S. L. (2003). Completely “Green” Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, 125(46), 13940–13941. <https://doi.org/10.1021/ja029267j>
- Roco, M. C. (2005). International perspective on government nanotechnology funding in 2005. *Journal of Nanoparticle Research*, 7(6), 707–712. doi:10.1007/s11051-005-3141-5
- Rodríguez Cobo, E. (2012). *Síntesis, propiedades y funcionalización de clústeres metálicos*. . Tesis Doctoral, Universidad Santiago de Compostela, Departamento de química orgánica, Santiago de Compostela.
- Roduner, E. (2006). Size matters: Why nanomaterials are different. *Chemical Society Reviews*, 35(7), 583–592. <https://doi.org/10.1039/b502142c>
- Rycenga, M., Cobley, C. M., Zeng, J., Li, W., Moran, C. H., Zhang, Q., ... Xia, Y. (2011). Controlling the synthesis and assembly of silver nanostructures for plasmonic applications. *Chemical Reviews*, 111(6), 3669–3712. <https://doi.org/10.1021/cr100275d>
- Saenz Alvear, G. N. (2013). *SÍNTESIS ACUOSA DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS Y FABRICACIÓN DE NANOCOMPUESTOS POLÍMERO/METAL*. Universidad Simón Bolívar, Ingeniería de materiales.
- Salager, J. (2007). Teorías relativas a la Estabilidad de Coloides Liofobicos. *Cuaderno FIRP S614-A*, 3.
- Sanchez Moreno, M. (2017). *Nanopartículas de plata: preparación, caracterización y propiedades con aplicación en inocuidad de los alimentos*. Universidad nacional de educación a distancia, Departamento de química inorgánica y química técnica.
- Tominaga, J., Mihalcea, C., Büchel, D., Fukuda, H., Nakano, T., Atoda, N., ... Kikukawa, T. (2001). Local plasmon photonic transistor. *Applied Physics Letters*, 78(17), 2417–2419. <https://doi.org/10.1063/1.1367905>
- Trujillo Uribe, G. (1984). Minerología determinativa: ensayos quimicos. *Anales de la facultad nacional de minas*(59), 66.
- Tuñón García de Vicuña, I. (2010) Tema 3: Termodinámica de procesos electroquímicos. Universidad de valencia. Recuperado el 03 de agosto del2018, https://www.uv.es/tunon/pdf_doc/QAIBtema3.pdf
- Turkevich, J., Cooper, P., & Hillier, J. (1951). A study of the nucleation and growth process in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society*, 55(c), 55-75. doi:10.1039/df9511100055

- Valencia Villacís , M. F. (2012). *Aprovechamiento de los pétalos de rosa comestible para la producción de licor*. Universidad central del Ecuador, Facultad de ingeniería química, Quito.
- Valle, A., & Concepci, Z. (2014). Preparación , caracterización y actividad antibacteriana de compositos hidrogel-nanoplatina basados en copolímeros de 2-acrilamido-2-metilpropanosulfonato de sodio Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Química CONCEPCIÓN-CHILE Agrad.
- Varnavski, O. P., Goodson III, T., Mohamed, M. B., & El-Sayed, M. A. (15 de Diciembre de 2005). Femtosecond excitation dynamics in gold nanospheres and nanorods. *Physical Review B*, 72(23). doi:<https://doi.org/10.1103/PhysRevB.72.235405>
- Velikov, K., Zegers, G., & Blaaderen, a Van. (2003). Synthesis and characterization of large colloidal silver particles. *Langmuir*, 19(4), 1384–1389. <https://doi.org/10.1021/la026610p>
- Weiser, H. B. (1933). *Inorganic Colloid Chemistry* (Vol. I). Nueva York, USA: JOHN WILEY & SONS, INC.
- Whitten, K. W., Davis, R. E., & Peck, M. L. (1998). *Química general* (Quinta ed.). (C. F. Madrid, Ed.) Madrid, España: Mc Graw-Hill.
- Wilson, R. A., & Bullen, H. A. (2006). *Introduction to Scanning Probe Microscopy (SPM) : Atomic Force Microscopy (AFM)*. Northern Kentucky University, Department of Chemistry.
- Zágalu-Lau, E., & Foladori, G. (2010). La nanotecnología en México: un desarrollo incierto. *Economía, sociedad y territorio*, 10(32), 143-178. doi:oa?id=11112509006
- Zanella, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano*, 5(1). doi:<http://dx.doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2012.1>

ANEXO 1. Agente reductor y reducción química

El agente reductor se define como la especie química que en una reacción redox (Las reacciones Redox (Reducción - oxidación) implican el intercambio de electrones entre 2 especies: una que cede electrones que es quien se oxida (ósea que incrementa su estado de oxidación a cantidades más positivas) y una que acepta dichos electrones que es quien se reduce (ósea que incrementa su estado de oxidación a cantidades más negativas)) tiende a ceder sus electrones provocando así la reducción de la otra especie (la cual tendría un estado de oxidación más negativo) a reaccionar. En este caso la plata actúa como agente oxidante ya que recibe aquellos electrones cedidos por el agente reductor (citrato de sodio) cambiando su estado de oxidación a valores más negativos (de 1 a 0) siguiendo la siguiente semireacción:



Para que se lleve a cabo la reducción del ion plata, se debe de tener en cuenta la energía (el trabajo) requerido para el transporte de dicha carga por parte del agente reductor, esta energía se mide en Joules (J) la cual se define como la fuerza necesaria (N) para ejecutar un trabajo en una distancia definida (m) y la cantidad de cargas eléctricas (medida en Coulombios) transportadas, la relación entre esta energía y la carga transportada se conoce como potencial la cual se mide en Voltios (V) e indica la capacidad de un sistema para conducir dichas cargas eléctricas. Dichos potenciales se han establecido utilizando celdas electroquímicas comparando el potencial de la sustancia desconocida en una celda en la cual se encuentra con una semicelda de hidrogeno la cual se toma como referente y se le asigna como valor arbitrario 0V, estos valores son conocidos como potenciales de reducción estándar y se dan para concentraciones de 1M y temperaturas de 25°C, en la *Figura 51* se muestran los valores para la reducción de distintas especies.

Estas celdas electroquímicas constan de dos electrodos sumergidos en solución electrolítica, la cual está unida a través de un puente conductor o puente salino como se muestra en *Figura 50*.

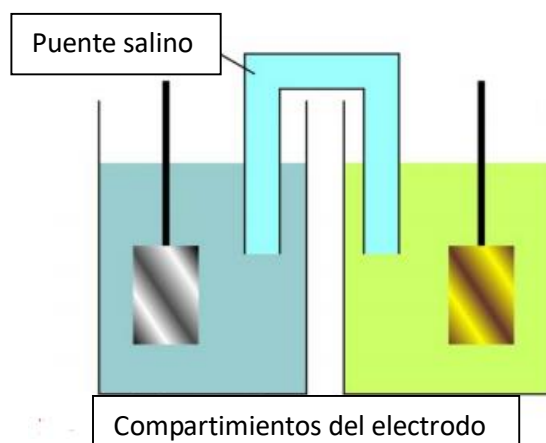


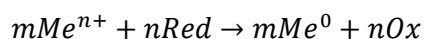
Figura 50. Celda electroquímica (tomado de: https://www.uv.es/tunon/pdf_doc/QAIBtema3.pdf)

Aquellos potenciales de reducción estándar de valores positivos con respecto a la semicelda de hidrogeno tienen mayor poder oxidante, es decir son más afines a recibir electrones, mientras que los valores más negativos con respecto a la semicelda de hidrogeno indican la capacidad de cederlos, en el caso de la plata su potencial de reducción es de 0,8 V por lo cual todas aquellas sustancias que manifiesten potenciales de reducción más negativos a este van a tender a reducirla y así mismo en cuanto más negativo sea el valor, mayor poder reductor poseerá sobre el mismo (Tuñón 2010).

Figura 51. Potencial estándar de reducción para algunas especies químicas (tomado de: <http://www.quimitube.com/limpiar-plata-metodo-casero>)

Semirreacción producida en el electrodo	Potencial estándar reducción, E° (V)
F ₂ + 2e ↔ 2F ⁻	2,87
Co ³⁺ + 1e ↔ Co ²⁺	1,82
H ₂ O ₂ + 2H ⁺ + 2e ↔ 2H ₂ O	1,78
MnO ₄ ⁻ + 4H ⁺ + 3e ↔ MnO ₂ + 2H ₂ O	1,68
Ce ⁴⁺ + 1e ↔ Ce ³⁺	1,61
MnO ₄ ⁻ + 8H ⁺ + 5e ↔ Mn ²⁺ + 4H ₂ O	1,49
ClO ₄ ⁻ + 8H ⁺ + 8e ↔ Cl ⁻ + 4H ₂ O	1,37
Cl ₂ + 2e ↔ 2Cl ⁻	1,36
Cr ₂ O ₇ ²⁻ + 14H ⁺ + 6e ↔ 2Cr ³⁺ + 7H ₂ O	1,33
Au ³⁺ + 3e ↔ Au	1,31
O ₂ + 4H ⁺ + 4e ↔ 2H ₂ O	1,23
MnO ₂ + 4H ⁺ + 2e ↔ Mn ²⁺ + 2H ₂ O	1,21
2IO ₃ ⁻ + 12H ⁺ + 10e ↔ I ₂ + 6H ₂ O	1,19
IO ₃ ⁻ + 6H ⁺ + 6e ↔ I ⁻ + 3H ₂ O	1,08
Br _{2(l)} + 2e ↔ 2Br ⁻	1,06
NO ₃ ⁻ + 4H ⁺ + 3e ↔ NO + 2H ₂ O	0,96
2Hg ²⁺ + 2e ↔ Hg ₂ ²⁺	0,90
ClO ⁻ + H ₂ O + 2e ↔ Cl ⁻ + 2OH ⁻	0,90
Hg ₂ ²⁺ + 2e ↔ Hg	0,85
Ag ⁺ + e ↔ Ag	0,80
Hg ₂ ²⁺ + 2e ↔ 2Hg	0,80
NO ₃ ⁻ + 2H ⁺ + 1e ↔ NO ₂ + H ₂ O	0,78
Fe ³⁺ + 1e ↔ Fe ²⁺	0,77
O ₂ + 2H ⁺ + 2e ↔ H ₂ O ₂	0,68
MnO ₄ ⁻ + 1e ↔ MnO ₄ ²⁻	0,56
I ₂ + 2e ↔ 2I ⁻	0,53
Cu ⁺ + 1e ↔ Cu	0,52
Cu ²⁺ + 2e ↔ Cu	0,34
Cu ²⁺ + 1e ↔ Cu ⁺	0,16
Sn ⁴⁺ + 2e ↔ Sn ²⁺	0,15
2H ⁺ + 2e ↔ H ₂	0,00
Fe ³⁺ + 3e ↔ Fe	-0,04
Pb ²⁺ + 2e ↔ Pb	-0,13
Sn ²⁺ + 2e ↔ Sn	-0,14
Ni ²⁺ + 2e ↔ Ni	-0,23
Co ²⁺ + 2e ↔ Co	-0,28
Cd ²⁺ + 2e ↔ Cd	-0,40
Cr ³⁺ + 1e ↔ Cr ²⁺	-0,41
Fe ²⁺ + 2e ↔ Fe	-0,44
Cr ³⁺ + 3e ↔ Cr	-0,74
Zn ²⁺ + 2e ↔ Zn	-0,76
Mn ²⁺ + 2e ↔ Mn	-1,03
Al ³⁺ + 3e ↔ Al	-1,67
Ce ³⁺ + 3e ↔ Ce	-2,33
Mg ²⁺ + 2e ↔ Mg	-2,37
Na ⁺ + 1e ↔ Na	-2,71
Ca ²⁺ + 2e ↔ Ca	-2,76
Ba ²⁺ + 2e ↔ Ba	-2,90
K ⁺ + 1e ↔ K	-2,92
Li ⁺ + 1e ↔ Li	-3,04

En el caso de las nanopartículas metálicas el agente reductor es capaz de brindarle los electrones necesarios para que este alcance el estado monovalente tal como se muestra en la siguiente ecuación (Whitten, Davis, & Peck, 1998):



La fuerza motriz de la reacción es la diferencia existente entre los potenciales de reducción de cada elemento en la reacción (Agente reductor y oxidante) ΔE. Este valor nos ayuda tanto a determinar si

la reacción es termodinámicamente posible como para poder calcular la constante de equilibrio de la reacción K_e siguiendo la siguiente ecuación.

$$\ln K_e = \frac{nF\Delta E}{RT}$$

Donde:

F: constante de Faraday, 96.485 J/V* mol e^-

R: Constante de los gases, 8,314 J/mol*K

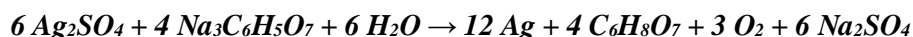
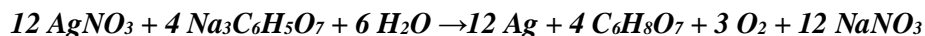
n: número de moles de electrones transferidos en la reacción

T: temperatura absoluta

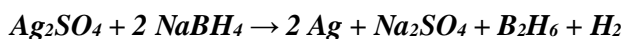
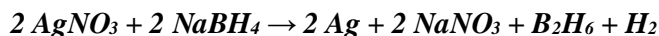
Como se mencionó anteriormente el valor de ΔE nos permite evidenciar si esta reacción es posible o no termodinámicamente. Cuando ΔE adquiere valores positivos (mayores a 0,3 o 0,4 V), es decir que la especie reductora tenga un potencial de reducción menor a quien se va a oxidar es indicativo de una reacción que es posible termodinámicamente (Whitten, Davis, & Peck, 1998).

Para los métodos empleados en esta investigación se emplearon las siguientes reacciones de reducción:

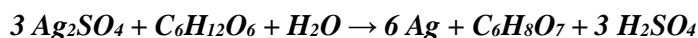
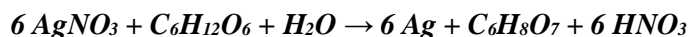
Método Lee-Meisel



Método Creighton



Método de Azúcares reductores



ANEXO 2. Costos de síntesis

En el siguiente se muestran las tablas de costos para los métodos utilizados en el análisis de condiciones óptimas de AgNP del numeral 5.2 de la descripción metodológica, estos valores fueron obtenidos de la base de datos Sigma aldrich (ahora Merck) (a excepción de las rosas las cuales se compró la unidad a 1.000 COP). En este análisis se omitirán costos en análisis instrumentales puesto

que estos son subsiguientes a la síntesis de las AgNPs y en elementos de laboratorio puesto que se usaron los mismos para todas las síntesis.

- Síntesis a partir del citrato de sodio

Elemento	Costo aproximado por gramo (COP)	Cantidad usada en 1 síntesis (g)	Costo por cada síntesis (COP)
Citrato de sodio (99,5% pureza)	1.000	0,003	3
Nitrato de plata (99% pureza) / Sulfato de plata (99,5% pureza)	19.050 /36.400	0,002 / 0,005	48,54 / 170,2
Hidróxido de sodio (granulado 98% pureza)	100	0,1	10
Agua desionizada	100	35	3500
Total	20.250 (nitrato) /37.600 (sulfato)		3.561,54 (nitrato) /3.683,2 (sulfato)

- Síntesis a partir del borohidruro de sodio

Elemento	Costo aproximado por gramo (COP)	Cantidad usada en 1 síntesis (g)	Costo por cada síntesis (COP)
Borohidruro de sodio (granular fino 98% pureza)	8.950	0,0006	5,08
Nitrato de plata (99% pureza) / Sulfato de plata (99,5% pureza)	19.050 /36.400	0,002 / 0,005	48,54 / 170,2
Hidróxido de sodio (granulado 98% pureza)	100	0,1	10
Agua desionizada	100	35	3.500
Total	28.200 (nitrato) /45.550 (sulfato)		3.563,54 (nitrato) /3.685,2 (sulfato)

- Síntesis a partir de la glucosa

Elemento	Costo aproximado por gramo (COP)	Cantidad usada en 1 síntesis (g)	Costo por cada síntesis (COP)
Glucosa	850	0,003	2,3
Nitrato de plata (99% pureza) / Sulfato de plata (99,5% pureza)	19.050 /36.400	0,002 / 0,005	48,54 / 170,2
Hidróxido de sodio (granulado 98% pureza)	100	0,1	10
Almidón (polvo soluble 98% pureza)	1.750	0,001	1,75
Agua desionizada	100	40	4.000
Total	21.850 (nitrato) /39.200 (sulfato)		4.062,59 (nitrato) /4.184,25 (sulfato)

- Síntesis a partir de pétalos de rosa

Elemento	Costo aproximado por gramo (COP)	Cantidad usada en 1 síntesis (g)	Costo por cada síntesis (COP)
Rosa	50	2,5	125
Nitrato de plata (99% pureza) / Sulfato de plata (99,5% pureza)	19.050 /36.400	0,002 / 0,005	48,54 / 170,2
Hidróxido de amonio (28% pureza)	200	0,5	100
Almidón (polvo soluble 98% pureza)	1.750	0,001	1,75
Agua desionizada	100	40	4.000
Total	21.050 (nitrato) /38.500 (sulfato)		4.275,29 (nitrato) /4.396,95 (sulfato)

ANEXO 3. Información toxicológica

En la siguiente tabla se compararán los distintos agentes reductores utilizados con el fin de evaluar el más óptimo según los efectos nocivos que pueden llegar a tener sobre los seres vivos y el ambiente. Esta información fue tomada de las bases de datos de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA⁴⁴), el Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS⁴⁵) y el Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI⁴⁶) a través de los portales comtox, InChem y PubChem respectivamente.

Sustancia	Parámetro Humano
Citrato de sodio	NOAEL ⁴⁷ 2.500 mg/kg-día (oral-rata)
Borohidruro de sodio	-
glucosa	900 mg/L (oral-humano) 15.000 mg/kg-día (oral-rata)

⁴⁴ EPA: de sus siglas en inglés *Environmental Protection Agency*.

⁴⁵ IPCS: de sus siglas en inglés *International Programme on Chemical Security*.

⁴⁶ NCBI: de sus siglas en inglés *National Center for Biotechnology Information*.

⁴⁷ NOAEL: de sus siglas en inglés *No Observed Adverse Effect Level*, refiere al mayor nivel de exposición en el cual ni estadísticamente o biológicamente se da el incremento de la severidad o de la frecuencia de un efecto adverso entre un grupo expuesto y un grupo control (Dorato & Engelhardt, 2005).

LOAEL ⁴⁸	LD50 ⁴⁹	Sistema	Efectos de exposición
4.450 mg/kg-día (oral-rata)	1.548 mg/kg (intraperitoneal-rata)	Conducta: Convulsiones Respiración: Cianosis ⁵¹ Gastrointestinal: Cambio en la estructura de las glándulas salivales	Irritación en los ojos tracto respiratorio.
-	50 mg/kg (oral-rata)	Conducta: Convulsiones. Respiración: Cambios estructurales o funcionales en la tráquea o bronquios (Agudo)	Alto corrosivo con los ojos, piel y trato respiratorio.
8.107,02 mg/L (oral-humano) 40.000 mg/kg-día (oral-rata)	25.800 mg/g-día (oral rata)	Conducta: Coma Respiración: Cianosis Gastrointestinal: Hipermotilidad ⁵⁰ , diarrea (Agudo)	Aumento de glucosa en sangre: >120 mg/dl hiperglicemia >500 mg/dl diabetes mellitus

⁴⁸ LOAEL: de sus siglas en inglés *Lowest Observed Adverse Effect Level*, refiere al menor nivel de exposición en el cual ni estadísticamente o biológicamente se da el incremento de la severidad o de la frecuencia de un efecto adverso entre un grupo expuesto y un grupo control (tomado de: https://www.chemsafetypro.com/Topics/CRA/Toxicology_Dose_Descriptors.html).

⁴⁹ LD50: de sus siglas en inglés *Lethal Dosis 50*, es la dosis (medida en mg/kg-día) en la cual se espera que el 50% de individuos de un grupo expuesto mueran (tomado de: https://www.chemsafetypro.com/Topics/CRA/Toxicology_Dose_Descriptors.html).

⁵⁰ Hipermotilidad: Contracciones excesivas de los músculos y en caso del sistema gástrico movimiento excesivo de los músculos gastrointestinales (tomado de: http://www.esacademic.com/dic.nsf/es_medioclopedia/39291/hipermotilidad)

⁵¹ Cianosis: Coloración azulada de la piel y en el caso del tracto respiratorio de las membranas mucosas producto de la saturación de hemoglobina como consecuencia de bajo contenido de oxígeno en sangre (tomado de: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003215.htm>).

		Ambiente
Síntomas de exposición	Riesgos	
Respiratorio: Tos, dolor de garganta producto de la dispersión de partículas en el aire Ojos: enrojecimiento	Químicos: Se comporta como base débil al contacto con agua Fuego: Combustible Solubilidad: 42,5 g/100ml agua a 25°C	
Respiratorio: Falta de aliento, Tos, Dolor de garganta, Sensación de quemazón, Dificultad para respirar por rápida dispersión de partículas en el aire. Piel: enrojecimiento, quemaduras leves. Ojos: Enrojecimiento, Quemaduras severas.	Fuego/ Químico: Combustible, explosivo en contacto con ácidos, alcoholes, agentes oxidantes y agua por la liberación de hidrogeno y calor que puede resultar siendo explosiva. Solubilidad: 55 g/100ml agua a 25°C	
	Fuego: Combustible, puede formar mezclas explosivas en el aire Químicos: reacciona violentamente con agentes oxidantes fuertes Solubilidad: 5.460 g/100ml agua a 30°C	

NOAEL	LOAEL	Efecto
16,000 ppm (Levadura de cerveza, <i>saccharomyces cerevisiae</i>)	-	Genotóxico
25 ppm (Salmonella entérica, <i>salmonella typhimurium</i>)		
258, 058 ppm (<i>tradesantia</i>)		
-	-	Formación de óxidos de boro no volátiles fácilmente absorbidos por los suelos.
19,997.3 mg/kg (Pez cebra, <i>danio rerio</i>)	10,000 ppm (mosquito)	Genotóxico, daños reproductivos, altamente biodegradable tanto en aguas como en suelos (vida media de 1 día)

Referencia

EPA: U.S. Environmental Protection Agency. Chemistry Dashboard.
<https://comptox.epa.gov/dashboard/DTXSID2026363> (accessed Nov 26th, 2018), Trisodium citrate

PubChem: (NIOOSH) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6224#section=NIOOSH-Toxicity-Data&fullscreen=true>

InChem: (IPCS) <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics1218.htm>

PubChem: (NIOOSH)
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4311764#section=NIOOSH-Toxicity-Data&fullscreen=true>

InChem: (IPCS)
<http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics1670.htm>

TOXNET: (NIH)
<https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?db=s+hsdb:@term+@m+16940-66-2>

EPA: U.S. Environmental Protection Agency. Chemistry Dashboard.
<https://comptox.epa.gov/dashboard/DTXSID7022910> (accessed Nov 26th, 2018), D-Glucose

PubChem: (NIOOSH)
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/107526#section=NIOOSH-Toxicity-Data&fullscreen=true>

InChem: (IPCS)
<http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0865>

Atomic Force Microscopy (AFM)

Componentes generales y sus funciones

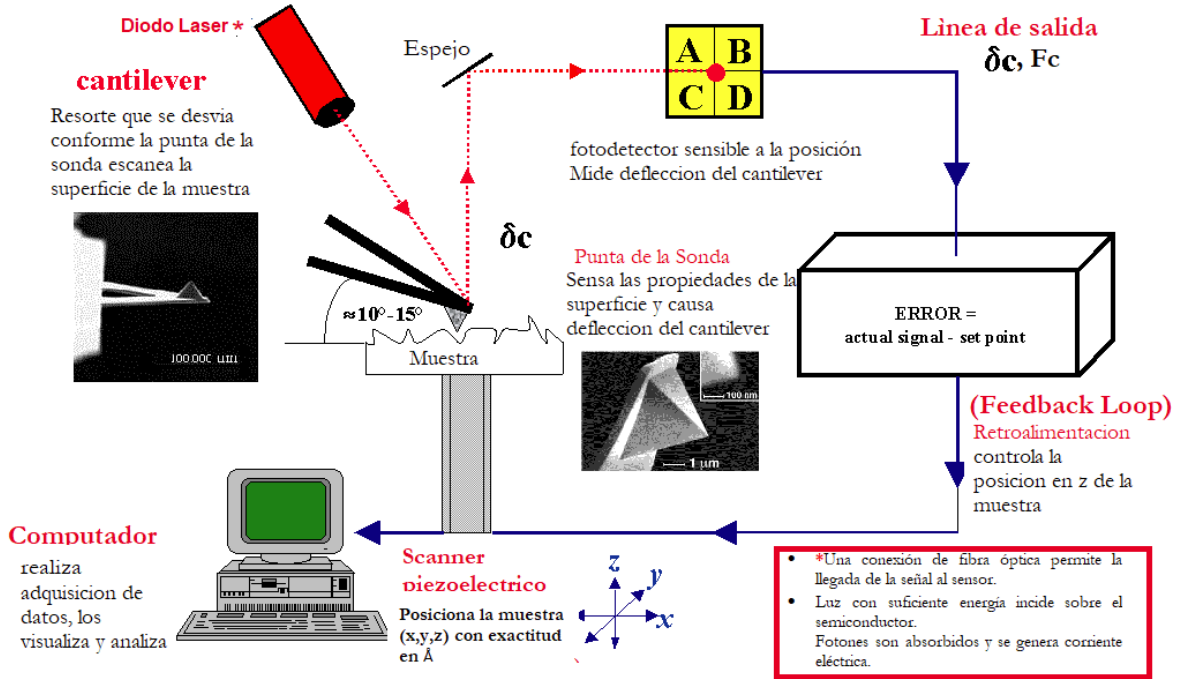


Figura 52. Esquema del microscopio de fuerza atómica. (Tomado de: <http://nptel.ac.in/courses/102103015/module3/lec2/3.html>)

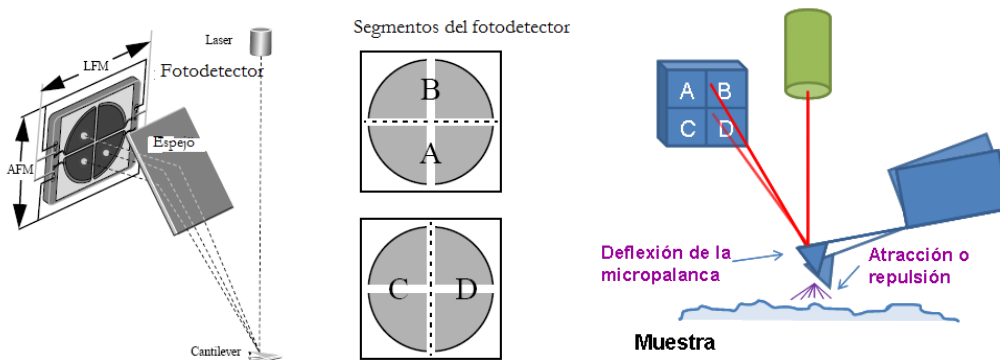


Figura 53.(a) Fotodetector de cuatro cuadrantes. Se utilizan distintos segmentos del fotodetector para generar imágenes por AFM (Imagen cortesía de Veeco Inc.); (b) esquema del sistema de retroalimentación.