

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

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)

Disertación previa a la obtención del título de  
Licenciada en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica

VANESSA ESTEFANÍA ESCOBAR FALCONÍ

Quito, 2015



# **CERTIFICACIÓN**

## **CERTIFICACIÓN DE LA TERMINACIÓN DE LA DISERTACIÓN POR PARTE DEL DIRECTOR DE LA DISERTACIÓN**

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica, del candidato Vanessa Estefanía Escobar Falconí ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Fecha: 28 de octubre de 2015

Firma del Director de la Disertación

Mtr. María Fernanda Pilaquina

*A mis papuchos.*

## **AGRADECIMIENTO**

A todas las personas que me han acompañado en el transcurso de esta carrera, gracias por su apoyo incondicional.

A mi mami, por ser mi guía, mi ejemplo de trabajo y dedicación. A mi papucho por alegrarme la vida. A mi papi y a toda mi familia por ser mi soporte. A mis hermanas, Day, Andre y Gata, por estar siempre para mí.

A mi directora de tesis, María Fernanda, por darme la oportunidad de entrar en el mundo nano y descubrir su magia.

A varios queridos profesores que conocí a lo largo de mi vida estudiantil, Eli Jara, Gaby Cueva, Mtr. Gladys Acurio, Dr. Ramiro Gallegos, Pablito Pozo y Augusto Oviedo, por compartir sus conocimientos y por ayudarme a salir de algunas dudas relacionadas con la tesis.

A la Dra. Lorena Meneses, directora de la Escuela por su apoyo en este trabajo.

A otros químicos, con los que comparto el gusto por la ciencia, Ju, Marce, Vale, Ferni y Danny.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por contribuir con mi formación académica y personal.

A la Escuela de Ciencias Químicas por la disponibilidad para el uso de los laboratorios y equipos.

Al Laboratorio de Materiales de la empresa española AIMPLAS – Instituto Tecnológico del Plástico y a las personas que permitieron llevar a cabo todos los análisis, Moni, Amador y Adolfo.

## TABLA DE CONTENIDOS

PORTADA .....	i
CERTIFICACIÓN .....	ii
AGRADECIMIENTO .....	iv
TABLA DE CONTENIDOS.....	vi
LISTA DE TABLAS .....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
LISTA DE ANEXOS.....	xvi
RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	3
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>5</b>
1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA.....	5
1.2. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA .....	8
1.2.1. MÉTODOS TRADICIONALES .....	10
1.2.2. MÉTODOS NO TRADICIONALES.....	13
1.3. PROPIEDADES DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA .....	16
1.3.1. ÁREA SUPERFICIAL .....	16

1.3.2.	PROPIEDADES ÓPTICAS .....	16
1.4.	APLICACIONES DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA .....	17
1.4.1.	DESINFECCIÓN DEL AIRE .....	20
1.4.2.	DESINFECCIÓN DEL AGUA .....	21
1.4.2.1.	AGUA POTABLE .....	21
1.4.2.2.	AGUAS SUBTERRÁNEAS .....	22
1.4.3.	DESINFECCIÓN DE SUPERFICIES .....	23
1.4.3.1.	PINTURAS ANTIMICROBIANAS .....	23
1.4.3.2.	REVESTIMIENTOS DE PLÁSTICO .....	24
1.4.3.3.	GELES ANTIMICROBIANOS PARA USO TÓPICO .....	24
1.4.3.4.	ENVASADO DE ALIMENTOS .....	25
1.4.3.5.	TEXTILES .....	25
1.4.4.	OTRAS .....	26
<b>CAPÍTULO II .....</b>		<b>28</b>
2.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	28
2.1.	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA .....	29
2.1.1.	MÉTODO 1 .....	29
2.1.2.	MÉTODO 2 .....	30
2.1.3.	MÉTODO 3 .....	30

2.1.3.1.	PREPARACIÓN DEL EXTRACTO DE AJO .....	31
2.1.3.2.	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON EXTRACTO DE AJO .....	31
2.2.	CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA .....	32
2.2.1.	ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE .....	32
2.2.1.1.	INSTRUMENTACIÓN .....	35
2.2.1.2.	PREPARACIÓN DE MUESTRAS .....	35
2.2.2.	ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR) .....	36
2.2.2.1.	INSTRUMENTACIÓN .....	40
2.2.2.2.	PREPARACIÓN DE MUESTRAS .....	41
2.2.3.	MICROSCOPIA DE BARRIDO ELECTRÓNICO (SEM) .....	41
2.2.3.1.	INSTRUMENTACIÓN .....	43
2.2.3.2.	PREPARACIÓN DE MUESTRAS .....	44
2.3.	DETERMINACIÓN DE PLATA POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA (FAAS) .....	44
2.3.1.	INSTRUMENTACIÓN .....	47
2.3.2.	PREPARACIÓN DE MUESTRAS .....	48
2.3.3.	ACONDICIONAMIENTO DEL MÉTODO .....	48
2.3.3.1.	CURVA DE CALIBRACIÓN .....	48

2.3.3.2.	REGRESIÓN LINEAL DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN, LINEALIDAD Y LÍMITES DE CONFIANZA .....	49
2.3.3.3.	LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN .....	53
2.3.3.3.1.	LÍMITE DE DETECCIÓN.....	53
2.3.3.3.2.	LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.....	53
2.3.3.4.	FORTIFICACIONES EMPLEANDO UN ESTÁNDAR DE REFERENCIA .....	54
<b>CAPÍTULO III.....</b>		<b>55</b>
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	55
3.1.	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA .....	55
3.1.1.	MÉTODO 1 .....	55
3.1.2.	MÉTODO 2 .....	57
3.1.3.	MÉTODO 3 .....	58
3.2.	CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA .....	60
3.2.1.	ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE .....	60
3.2.2.	ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR) .....	65
3.2.3.	MICROSCOPIA DE BARRIDO ELECTRÓNICO (SEM) .....	70
3.2.3.1.	ANÁLISIS ELEMENTAL (SEM-EDX) .....	74

3.2.4.	ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA (FAAS)	80
3.2.4.1.	ACONDICIONAMIENTO DEL MÉTODO	80
3.2.4.1.1.	CURVA DE CALIBRACIÓN	80
3.2.4.1.2.	REGRESIÓN LINEAL DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN, LINEALIDAD Y LÍMITES DE CONFIANZA	81
3.2.4.1.3.	DETERMINACIÓN DE LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN	82
3.2.4.1.4.	FORTIFICACIONES DE PLATA	84
3.2.4.2.	DETERMINACIÓN DE PLATA POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA (FAAS)	86
<b>CAPÍTULO IV</b>		89
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	89
4.1.	CONCLUSIONES	89
4.2.	RECOMENDACIONES	91
BIBLIOGRAFÍA		92
ANEXOS		99

## LISTA DE TABLAS

Tabla 3.1. Espectros UV-Vis obtenidos en las síntesis realizadas por el Método 1 .....	60
Tabla 3.2. Espectros UV-Vis obtenidos en las síntesis realizadas por el Método 2 .....	61
Tabla 3.3. Espectros UV-Vis obtenidos en las síntesis realizadas por el Método 3 .....	62
Tabla 3.4. Posición de los picos de absorción de nanopartículas de plata de diferente tamaño en el espectro UV-Vis .....	64
Tabla 3.5. Resultados del análisis de nanopartículas de plata por espectroscopia UV-Vis y tamaño de partículas aproximados .....	64
Tabla 3.6. Comparación de los tamaños de partícula obtenidos mediante espectroscopia UV-Vis con los resultados del análisis por SEM.....	73
Tabla 3.7. Análisis elemental Puntos 1 y 2 – Método 1.....	75
Tabla 3.8. Análisis elemental Puntos 1 y 2 – Método 2.....	76
Tabla 3.9. Análisis elemental Puntos 1 y 2 – Método 3.....	78
Tabla 3.10. Datos de la curva de calibración para la determinación de Plata (Ag) en las nanopartículas sintetizadas .....	81
Tabla 3.11. Componentes de la ecuación de la recta de regresión lineal e intervalo de confianza de la recta para la determinación de plata en nanopartículas sintetizadas .....	81
Tabla 3.12. Datos para la determinación de límites de detección y cuantificación .....	82
Tabla 3.13. Mediciones de blancos reactivos para el Método 1 .....	83
Tabla 3.14. Mediciones de blancos reactivos para el Método 2 .....	84
Tabla 3.15. Mediciones de blancos reactivos para el Método 3 .....	84
Tabla 3.16. Recuperación de plata (nivel bajo de la curva de calibración) .....	85

Tabla 3.17. Recuperación de plata (nivel alto de la curva de calibración) .....	85
Tabla 3.18. Concentración de plata según el Método 1 y rendimiento de la reacción ...	86
Tabla 3.19. Concentración de plata según el Método 2 y rendimiento de la reacción ...	87
Tabla 3.20. Concentración de plata según el Método 3 y rendimiento de la reacción ...	88

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Copa de Licurgo .....	7
Figura 1.2. Métodos generales de síntesis de nanopartículas .....	8
Figura 1.3. Mecanismo de formación de nanopartículas de plata a partir de la reducción de nitrato de plata.....	9
Figura 1.4. Tendencia de artículos publicados sobre la investigación de nanopartículas de plata (ISI Web of Science) .....	18
Figura 2.1. Esquema de la metodología del trabajo experimental .....	28
Figura 2.2. Formación de nanopartículas de plata mediante reducción con borohidruro de sodio .....	29
Figura 2.3. Esquema del espectrofotómetro UV-Vis .....	34
Figura 2.4. Espectrofotómetro UV-Vis, Cary 60.....	35
Figura 2.5. Tipos de vibraciones moleculares .....	37
Figura 2.6. Esquema del espectrómetro infrarrojo .....	38
Figura 2.7. Esquema del espectrómetro infrarrojo por transformadas de Fourier (FT-IR) .....	39
Figura 2.8. Espectrofotómetro FT-IR, Perkin Elmer Spectrum BX FT IR .....	40
Figura 2.9. Partes del microscopio de barrido electrónico .....	42
Figura 2.10. Microscopio de Barrido Electrónico (SEM), Phenom ProX .....	43
Figura 2.11. Metalizador, Q150R ES .....	44
Figura 2.12. Esquema del espectrofotómetro de absorción atómica de llama (FAAS) ..	45

Figura 2.13. Espectrofotómetro de Absorción Atómica de Llama (FAAS), Perkin Elmer modelo AAnalyst 400 .....	47
Figura 3.1. Nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1 .....	56
Figura 3.2. Nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2 .....	58
Figura 3.3. Nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 3 .....	59
Figura 3.4. Espectro UV-Vis nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1. ....	61
Figura 3.5. Espectro UV-Vis nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2 .....	62
Figura 3.6. Espectro UV-Vis nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 3 .....	63
Figura 3.7. Espectros FT-IR Citrato de sodio - Nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2 .....	65
Figura 3.8. Espectro FT-IR Extracto de ajo - Nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 3.....	67
Figura 3.9. Estructura química de la S-alilcisteína .....	68
Figura 3.10. Reacción de reducción de la plata con S-alilcisteína .....	69
Figura 3.11. Imágenes SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1 .....	70
Figura 3.12. Imágenes SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2 .....	71
Figura 3.13. Imágenes SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 3 .....	72
Figura 3.14. Imagen SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1 .....	74
Figura 3.15. Espectros EDX nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1 .....	75
Figura 3.16. Imagen SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2 .....	76
Figura 3.17. Espectros EDX nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2 .....	77
Figura 3.18. Imagen SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 3 .....	78
Figura 3.19. Espectros EDX nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 3 .....	79

Figura 3.20. Curva de calibración para la determinación de la concentración de Plata (Ag) en las nanopartículas sintetizadas .....80

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Espectros UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas .....	99
Anexo 2. Espectros FT-IR de las nanopartículas de plata sintetizadas .....	101
Anexo 3. Cálculos para determinar el rendimiento de las reacciones químicas .....	107

## RESUMEN

En la última década, las nanopartículas de plata han generado creciente interés debido a sus singulares propiedades ópticas, eléctricas y bactericidas, en comparación con sus homólogos a macroescala. En el presente estudio se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas de plata usando nitrato de plata como sal precursora y tres agentes reductores: borohidruro de sodio (denominado como Método 1), citrato de sodio (Método 2) y extracto de ajo de la variedad *Allium sativum* (Método 3). Una vez acondicionados los tres métodos, se realizaron cinco repeticiones de cada uno bajo condiciones controladas de concentración de reactivos, velocidad de adición del reductor, agitación y temperatura. Como resultado, se obtuvieron disoluciones coloidales de nanopartículas de plata de color amarillo en los Métodos 1 y 2, y de color café en el Método 3. A través de la espectroscopia UV-Vis se confirmó la formación de las nanopartículas de plata debido a su característica resonancia de plasmón superficial, con bandas de absorción máxima a 394,2 nm, 427,6 nm y 422,0 nm para cada método respectivamente. Por espectroscopia de infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR) se identificaron las moléculas de los reductores orgánicos ligados a la superficie de las nanopartículas en los Métodos 2 y 3. Usando la Microscopía de Barrido Electrónico (SEM, por sus siglas en inglés), se estudió la morfología de las nanopartículas, obteniendo como resultado nanopartículas esféricas monodispersas con tamaños entre 12 – 15 nm en el Método 1 y nanopartículas agregadas en los Métodos 2 y 3 con tamaños de 50 – 100 nm y 35 – 75 nm respectivamente. Conjuntamente, se realizó el análisis elemental en cada

producto de síntesis por SEM-EDX (Espectroscopia de energía dispersiva de rayos X), evidenciando la presencia de plata en porcentajes de 39,90 %, 40,60 % y 56,20 % para cada método. Por espectroscopia de absorción atómica de llama (FAAS), cuyo método fue acondicionado previamente, se determinó que la concentración de plata fue 21,91 mg/L, 104,62 mg/L y 204,63 mg/L, dando rendimientos de 81,21 %, 93,36 % y 88,54 % correspondientemente para cada método. Al comparar los tres métodos de síntesis, se concluye que el Método 1, es el más adecuado tomando en cuenta la morfología, monodispersidad y distribución de las nanopartículas. A pesar de que las nanopartículas sintetizadas por el Método 2 presentaron mayor rendimiento de reacción, se sugiere al Método 3 como el más conveniente por su tendencia hacia la “Química Verde”. Es importante determinar la aplicación de las nanopartículas para seleccionar el método de síntesis más conveniente.

**Palabras clave:** Nanopartículas de plata, borohidruro de sodio, citrato de sodio, extracto de ajo, UV-Vis, FT-IR, SEM-EDX, FAAS.

## ABSTRACT

In the last decade, silver nanoparticles have gained increasing interest due to their unique optical, electrical and bactericidal properties compared to their macroscale counterparts. In this study, silver nanoparticles were synthesized by reduction of silver nitrate with three reducing agents: sodium borohydride (Method 1), sodium citrate (Method 2) and garlic extract, *Allium sativum* variety (Method 3). Once the three methods were conditioned, five repetitions of each were performed under controlled conditions of reagent concentration, reducing agent addition speed, stirring and temperature. Colloidal yellow solutions of silver nanoparticles were obtained in Methods 1 and 2. A brown solution was the result in Method 3. The formation of silver nanoparticles was confirmed by UV-Vis spectroscopy due to its surface plasmon resonance with maximum absorption bands at 394,2 nm, 427,6 nm and 422,0 nm, respectively. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) analysis showed the organic molecules linked to the nanoparticles' surface in Methods 2 and 3. The nanoparticles morphology was studied using Scanning Electron Microscopy (SEM), spherical monodisperse nanoparticles with sizes between 12 to 15 nm were found in Method 1 while in Methods 2 and 3 there were found aggregated nanoparticles with size of 50-100 nm and 35-75 nm, respectively. Also the elemental analysis by SEM-EDX (Energy Dispersive X-ray spectroscopy) showed the silver presence in percentages of 39.90 %, 40.60 % and 56.20 % for each method. Silver concentration was determined by Flame Atomic Absorption Spectroscopy (FAAS), whose method was preconditioned, obtaining values of 21,91 mg/L, 104,62 mg/L and 204,63 mg/L, giving reaction yields of 81,21%, 93,36% and 88,54% corresponding for each method. Comparing the three methods for

silver nanoparticles synthesis presented in this work, it can be said that the reduction using sodium borohydride is considered as the most suitable, due to the nanoparticles morphology, monodispersity since no aggregation was evidenced. Although nanoparticles synthesized by Method 2 presented better reaction yield, it is suggested that Method 3 is the most suitable for its "Green Chemistry" tendency. It is important to determine the nanoparticles' application to select which method is the most convenient.

**Keywords:** Silver nanoparticles, sodium borohydride, sodium citrate, garlic extract, UV-Vis, FTIR, SEM-EDX, FAAS

# CAPÍTULO I

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA

La nanociencia es el estudio de la materia a nivel del nanómetro, escala en la cual las propiedades físicas y químicas de los sistemas difieren de sus propiedades a nivel macroscópico, convirtiéndolas en únicas. La nanociencia estudia materiales y fenómenos en diversas áreas, tales como la Química, la Física o la Biología [1].

El término nanotecnología se emplea para describir la creación y manipulación de materiales con características estructurales dentro de la escala nanométrica, utiliza las propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales como un medio para controlar su tamaño, superficie y forma, de hecho, encuentra aplicación en múltiples aspectos de la investigación como la electrónica, diseño de nuevos materiales y en la medicina, que es probablemente una de las áreas de más rápido crecimiento [2].

El campo de la nanociencia se ha desarrollado en los últimos veinte años y la necesidad de la nanotecnología va aumentando a medida que la miniaturización se vuelve más importante en áreas como la informática, sensores y biomedicina. Los avances en este

campo dependen, en gran medida, de la capacidad de sintetizar nanopartículas de diversos materiales, tamaños y formas, así como de ensamblarlas eficientemente en estructuras complejas [3].

Se denomina nanomateriales a aquellos que miden entre 1 y 100 nm, las nanopartículas (NPs) se definen como partículas con una dimensión de menos de 100 nm, las cuales han llamado mucho la atención debido a sus propiedades, que derivan de la alta cantidad de átomos superficiales y la relación área/volumen, ya que si el diámetro disminuye, el área superficial de la partícula aumenta y como consecuencia se produce un aumento en las propiedades originales del material a granel [2].

Las nanopartículas de metales, de óxidos metálicos o de compuestos basados en metales muestran interesantes propiedades biológicas, ópticas, magnéticas, electrónicas, catalíticas, etc. que, en general, se relacionan con su tamaño y forma, pueden ser interesantes desde el punto de vista de su aplicación práctica. El interés sobre especies químicas de tamaño nanométrico es una de las áreas de trabajo más importantes de la investigación en Química debido, fundamentalmente, a la gran variedad de nuevas propiedades y aplicaciones potenciales que se pueden explotar en diversos campos.

La síntesis de nanopartículas es un tema que ha sido explorado durante siglos, el primer ejemplo es la copa romana de Licurgo (Figura 1.1), elaborada a base de bronce y bordeada con vidrio coloreado que data del siglo IV de nuestra era, el vidrio dispersa luz opaca de

color verde y transmite luz roja, debido a que contiene nanopartículas metálicas de unos 70 nm que son una aleación de plata (70%) y oro (30%). Aunque esta aplicación no fue intencional, en los siglos posteriores, a menudo las nanopartículas de oro eran utilizadas para crear vidrios de color rojo y las nanopartículas de plata, vidrios de color amarillo. Otro ejemplo es el lustre, que es un tipo de decoración cerámica que consiste en el empleo de nanopartículas de plata, entre otros metales, para producir un efecto de brillo metálico en la superficie de cerámicas [4].



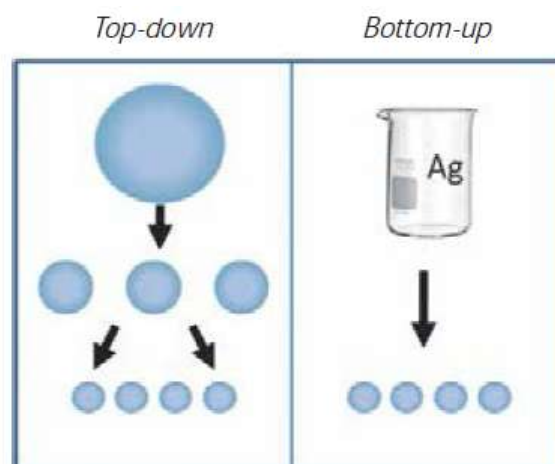
**Figura 1.1. Copa de Licurgo [4]**

El primer estudio científico notable de las propiedades ópticas de suspensiones coloidales de nanopartículas metálicas y películas metálicas ultrafinas se llevó a cabo por Michael Faraday en la década de 1850. El siguiente logro importante se produjo en 1908 por Gustav Mie que publicó su trabajo sobre la extinción de la luz por esferas metálicas [3].

Los ejemplos históricos anteriormente descritos son el punto de partida para el desarrollo de nanomateriales basados en plata. Actualmente los dos campos de trabajo más activos relacionados con las nanopartículas de plata (AgNPs) son el estudio y aplicación de sus propiedades ópticas y biomédicas [4].

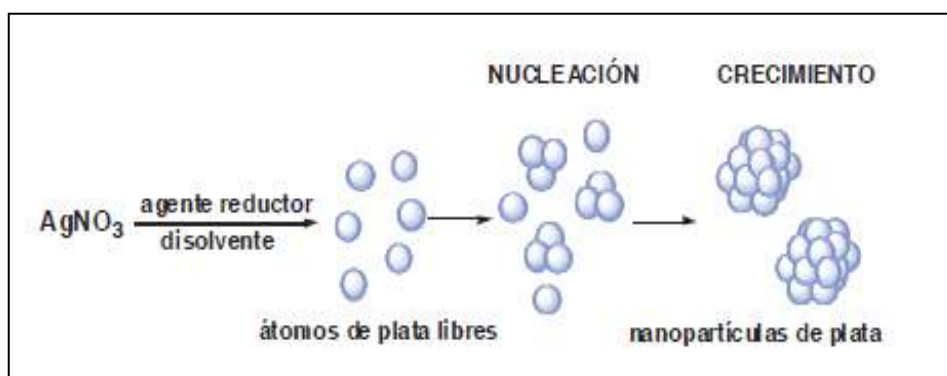
## 1.2. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

De manera general, los métodos de síntesis de nanopartículas se clasifican en dos tipos: top-down y bottom-up (Figura 1.2). Los métodos top-down son aquellos que reducen el tamaño de agregación del material hasta llegar a un tamaño nanométrico, mientras que los métodos bottom-up involucran la obtención de un estado de agregación nanométrico partiendo de una dispersión molecular [5].



**Figura 1.2. Métodos generales de síntesis de nanopartículas [4]**

Desde el punto de vista químico, la síntesis de nanopartículas en disolución requiere métodos que permitan tener control preciso sobre el tamaño y la forma de las nanopartículas para así obtener un conjunto de partículas monodispersas que presenten propiedades determinadas. En general, la síntesis de nanopartículas metálicas en disolución se lleva a cabo utilizando los siguientes componentes: precursor metálico, agente reductor y agente estabilizante. El mecanismo de formación de las disoluciones coloidales a partir de la reducción de iones plata consta de dos etapas: nucleación y crecimiento (Figura 1.3). El tamaño y la forma de las nanopartículas dependerá de las velocidades relativas de estos procesos que pueden ser controladas a través de la modificación de los parámetros de reacción (concentración, temperatura, pH).



**Figura 1.3. Mecanismo de formación de nanopartículas de plata a partir de la reducción de nitrato de plata [4]**

Los primeros métodos para sintetizar suspensiones de nanopartículas de metales nobles se siguen utilizando hoy y se han convertido en métodos estándar. En el caso de las nanopartículas de plata los primeros métodos descritos son el método Lee-Meisel [6] y el método Creighton [7]. El primero de ellos consiste en una variación del método

Turkevich para la obtención de nanopartículas de oro, en el que se emplea  $\text{AgNO}_3$  en lugar de  $\text{HAuCl}_4$  como precursor metálico y citrato de sodio como agente reductor. En el método Lee-Meisel se obtienen nanopartículas de plata con una distribución amplia de tamaño de partícula (polidispersas). El método Creighton consiste en la reducción de  $\text{AgNO}_3$  con  $\text{NaBH}_4$ , este método es el más popular en la actualidad y da lugar a la obtención de nanopartículas de plata de aproximadamente 10 nm y con una distribución estrecha de tamaño (monodispersas). Este método puede adaptarse también para sintetizar nanopartículas de otros metales tales como Pt, Pd, Cu y Ni.

Numerosos métodos para la síntesis de nanopartículas de plata han sido reportados en la literatura y se pueden dividir en dos categorías: tradicionales y no tradicionales.

### 1.2.1. MÉTODOS TRADICIONALES

Los métodos tradicionales son aquellos que se basan en diversas modificaciones de los métodos Lee-Meisel o Creighton. En este tipo de reacciones, la oxidación de las nanopartículas formadas no es favorable termodinámicamente debido al alto potencial de reducción de la plata lo que permite obtener suspensiones acuosas o alcohólicas sin la ayuda de agentes estabilizantes. Además, las dobles capas eléctricas formadas alrededor de las nanopartículas en disoluciones coloidales de baja fuerza iónica inhiben la agregación. En el caso de disoluciones coloidales de alta fuerza iónica o en fase orgánica es necesario el uso de agentes estabilizantes como monocapas autoensambladas, surfactantes, polímeros

o dendrímeros. Estos agentes no solo protegen a las nanopartículas y previenen su aglomeración sino que juegan también un papel importante en el control de su tamaño y forma.

De los métodos tradicionales, merece la pena destacar la formación de nanopartículas de plata a partir de  $\text{AgNO}_3$  empleando como agentes reductores ácido ascórbico, polioles o monosacáridos. Al emplear ácido ascórbico como agente reductor se pueden obtener nanopartículas de plata de tamaño grande (hasta 1200 nm) variando las condiciones de reacción [8]. El empleo de agentes reductores débiles, como polioles, a altas temperaturas de reflujo permite obtener nanopartículas de plata de unos 40 nm de diámetro [9]. En el caso de los monosacáridos, se emplea  $\beta$ -D-glucosa como agente reductor en presencia de almidón como agente estabilizante, lo que da lugar a la obtención de nanopartículas de plata de aproximadamente 5 nm [10].

También se pueden sintetizar nanopartículas de plata mediante el método de Tollens, este método se ha empleado durante décadas para la deposición electrolítica de películas finas de plata metálica (espejo de plata). Es un proceso de reducción del complejo  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$  en disolución por la acción de aldehídos y azúcares reductores [11].

Como se ha mencionado anteriormente se puede prevenir la agregación de las nanopartículas en disolución mediante el empleo de agentes estabilizantes. Uno de los métodos más habituales es el empleo de ligandos orgánicos de cadena alquílica larga con

grupos funcionales como tioles, carboxilatos, fosfinas oxidadas o aminas. El proceso de formación de nanopartículas suele ser similar al antes descrito, se produce la reducción de una sal de plata en presencia de un agente reductor, sin embargo, el uso de agentes estabilizantes permite, por un lado, evitar la agregación de las nanopartículas en disolventes orgánicos y, por otro, ejercer control preciso sobre su tamaño, forma y monodispersidad mediante la modificación de las condiciones de reacción.

Un ejemplo curioso, es la síntesis de nanopartículas de plata de tamaño pequeño (2,8 – 15,4 nm) a partir alquilcarboxilatos de plata mediante termólisis. En este proceso no se requiere el concurso de agentes reductores químicos y el propio ligando carboxilato actúa como agente estabilizante de las nanopartículas formadas. Otro ejemplo interesante es la síntesis de nanopartículas de plata a partir de acetato de plata y el ligando hexadecilamina que actúa como disolvente y agente estabilizante al mismo tiempo, en presencia de acetaldehído como agente reductor.

También se han desarrollado métodos de síntesis de nanopartículas de plata mediante el uso de micelas o micelas inversas. Estas entidades supramoleculares formadas a partir de surfactantes se pueden considerar como nanoreactores en los que se puede producir la reducción de una sal de plata en presencia de un agente reductor químico como ácido ascórbico,  $\text{NaBH}_4$  o  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ .

El polímero poli (vinil pirrolidona) (PVP) es uno de los agentes estabilizantes ampliamente usados con nanopartículas metálicas. Existen varias publicaciones en las que este polímero se ha empleado en la síntesis de nanopartículas de plata. Otros polímeros empleados para este fin son poliacrilatos, poli (vinil alcohol), poliacrilonitrilo, poliacrilamida o poli (etilenglicol).

Con los métodos tradicionales, el principal problema es a menudo, la limitada flexibilidad en el tamaño de partícula ( $< 10$  nm). Ciertamente, las partículas pequeñas son deseables en la catálisis, donde el énfasis principal está en la relación superficie-volumen, pero para aplicaciones ópticas, son necesarias a menudo partículas más grandes. Las nanopartículas de plata pequeñas no interactúan tan eficientemente con la luz como las partículas que se encuentran en la gama de 50-100 nm. Por otro lado, las nanopartículas de mayor tamaño presentan propiedades de dispersión de la luz [3].

### 1.2.2. MÉTODOS NO TRADICIONALES

Los métodos de síntesis no tradicionales incluyen a los métodos físicos, fotoquímicos y biológicos, por ejemplo: la reducción del metal en matrices porosas, condensación de un metal en fase de vapor sobre un soporte sólido, ablación con láser, fotorreducción de iones plata o electrólisis. El mayor problema de los métodos no tradicionales es a menudo el costo y la escala de producción [12].

Los métodos físicos incluyen procesos de evaporación y condensación, estos métodos reducen el tiempo de síntesis y la energía empleada. Por ejemplo, Lee y Kang implementaron un método de descomposición térmica para la síntesis de AgNPs en forma sólida, mediante la reacción de complejación entre Ag y oleato a temperatura elevada, se obtuvo nanopartículas con tamaño inferior a 10 nm [13]. En otra obra Jung *et al.* informaron que se pueden preparar nanopartículas de plata monodispersas y con tamaño uniforme usando un sistema de calefacción de cerámica [14]. Los resultados de Tien *et al.* al usar la técnica de descarga de arco para la síntesis de nanopartículas de plata en agua desionizada, mostraron que su tamaño fue menor a 10 nm [15]. Más tarde Kuo *et al.* usaron un sistema mecanizado de descarga eléctrica para la síntesis de nanopartículas de plata [16]. Con estas técnicas, se pueden sintetizar mayor cantidad de nanopartículas en un solo proceso, lo que permite ahorrar tiempo y la pureza de las nanopartículas no se verá afectada, sin embargo, se considera que el coste es el principal obstáculo en su aplicación.

En las técnicas fotoquímicas, las nanopartículas de plata se sintetizan por fotorreducción del precursor, utilizando intermediarios activados fotoquímicamente [17]. En uno de los métodos, se sintetizaron nanopartículas de plata usando radiación UV y Triton X-100, que actúa como agente estabilizante [18]. En otro método descrito, estas nanopartículas se sintetizaron utilizando radiación UV, a partir de una disolución acuosa de álcali que contiene  $\text{AgNO}_3$  y quitosano carboximetilado, el diámetro de las AgNPs sintetizadas fue menor a 10 nm y la estabilidad fue mayor a 6 meses en disolución alcalina [19]. Balan *et al.* reportaron un método que implica la fotorreducción directa del  $\text{AgNO}_3$  con ayuda de una fuente láser capaz de emitir radiación en la región del infrarrojo cercano, utilizaron colorantes como agentes fotoactivantes [20]. Las ventajas de las técnicas fotoquímicas

son: la alta pureza y fácil procesamiento de las nanopartículas, además, se puede utilizar una amplia gama de medios de reacción, como vidrio, polímeros, micelas, emulsiones, etc. [21].

En las técnicas biológicas, las biomoléculas sustituyen a los agentes reductores y estabilizantes convencionales, se sintetizan nanopartículas de plata utilizando plantas, algas, levaduras, hongos y bacterias. Se utilizó *Shewanella oneidensis* y  $\text{AgNO}_3$  como precursor, el tamaño de las nanopartículas sintetizadas fue menor a 15 nm, con dispersión uniforme, forma esférica, estabilidad mejorada y gran área superficial [22]. En otro estudio, se utilizó el hongo *Trichoderma viride*, la geometría de las nanopartículas fue altamente variable, con partículas de tamaño inferior a 50 nm [23]. Además, se sintetizaron nanopartículas de plata estables con tamaño inferior a 20 nm utilizando bacterias (*Bacillus sp.*). En otros trabajos se informó sobre la síntesis de nanopartículas de plata esféricas por la reducción de  $\text{AgNO}_3$  con extracto de *Phyllantina* a temperatura ambiente, el tamaño y la forma de las nanopartículas se rige por la concentración del extracto [24, 25]. También se sintetizaron nanopartículas de plata a partir de hojas de *Cadaba fruticosa*, utilizando  $\text{AgNO}_3$  como precursor, las nanopartículas presentaron gran poder bactericida [26]. Tales métodos son muy económicos, reproducibles y consumen menos energía a diferencia de los convencionales.

Para la elección de un método de síntesis óptimo se debe considerar todas las implicaciones mencionadas anteriormente, además de la producción de nanopartículas sin residuos que puedan alterar potencialmente sus propiedades ópticas y la química de superficie. En este trabajo se ha escogido la reducción química como medio para la síntesis

de nanopartículas de plata empleando distintos agentes reductores. Generalmente, los métodos químicos, son relativamente sencillos en comparación con otros métodos, no consumen mucho tiempo, y tienen un inmenso potencial para su escalamiento a la industria.

### 1.3. PROPIEDADES DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA

#### 1.3.1. ÁREA SUPERFICIAL

Al encontrarse a nanoescala, las nanopartículas de plata tienen mayor área superficial específica comparadas con la plata a granel, lo que les proporciona más sitios activos y energía superficial superior. Esto significa que las nanopartículas son más sensibles al oxígeno y pueden recibir electrones fácilmente, lo que representa un aumento en la capacidad antimicrobiana [27].

#### 1.3.2. PROPIEDADES ÓPTICAS

Las nanopartículas metálicas de oro, plata y cobre presentan propiedades ópticas y electrónicas únicas e interesantes. Todo el mundo está familiarizado con el color de los metales como el oro, la plata y el cobre, pero los colores de estos metales son muy diferentes cuando el diámetro de las partículas se hace pequeño ( $< 100$  nm). Las nanopartículas en disolución coloidal o soportadas en sólidos absorben longitudes de onda visibles, dando lugar a los colores que abarcan el espectro visible. Los colores y

propiedades de absorción se deben a la interacción entre los electrones de la superficie de las nanopartículas de plata y el campo electromagnético, de lo que resulta la resonancia de plasmón superficial (SPR) en el rango de longitud de onda UV-visible [28]. El ancho y la posición de los picos de SPR se ven afectados por el tamaño, la forma y estado de dispersión de las nanopartículas. Estas propiedades facilitan su uso en la detección y etiquetado biomolecular, también en el área de sensores electrónicos [27].

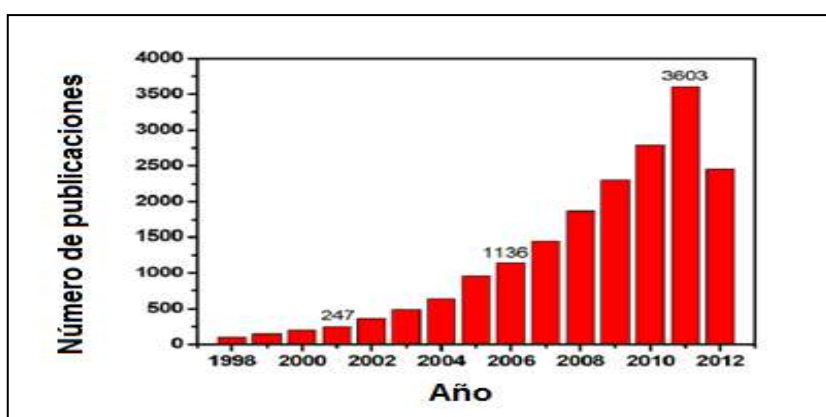
#### 1.4. APLICACIONES DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA

La plata ha sido empleada durante miles de años como metal precioso en joyería, utensilios, monedas, fotografía o explosivos, pero uno de los usos más importantes es como agente desinfectante con fines higiénicos y médicos. Así, ya desde la antigüedad se empleaban vasijas de plata para almacenar agua o vino, Hipócrates describió el empleo de polvo de plata en la curación de heridas y el tratamiento de úlceras. En los siglos XVII y XVIII se empleó nitrato de plata para el tratamiento de úlceras y su actividad antimicrobiana se estableció en el siglo XIX. Sin embargo, después de la introducción de los antibióticos en 1940 el uso de las sales de plata disminuyó. Posteriormente se han empleado sales y compuestos de plata en diferentes campos biomédicos, especialmente en el tratamiento de quemaduras [4].

En los últimos años, las nanopartículas metálicas han atraído considerable interés debido a su tamaño, propiedades fisicoquímicas y de resonancia de plasmón superficial. Entre todas, las nanopartículas de plata muestran el mayor nivel de comercialización, de acuerdo con el

Proyecto sobre Nanotecnologías Emergentes (PEN), más de 1300 productos han entrado en el mercado a nivel mundial, entre ellos, hay 313 productos que utilizan nanoplate (24 %). El mercado de la salud es el que más utiliza nanoplate (131 registros) en comparación con otras categorías como electrodomésticos (15 registros), aplicaciones médicas (10 registros), electrónica y computación (8 registros).

El mercado mundial que incorpora la nanotecnología sigue creciendo rápidamente debido a sus amplias aplicaciones, la comunidad científica y la industria han prestado especial atención a la investigación de las nanopartículas de plata. La Figura 1.4 muestra datos estadísticos de la tendencia de los trabajos de investigación publicados, estos datos se recogieron hasta el 30 de septiembre del 2012 del sitio web “ISI Web of Science” usando las palabras clave “nanopartícula de plata”, se encontró un total de 18825 registros. Durante los años 2001 a 2011, el número de artículos publicados ha crecido en casi un 93%. China y EE.UU. son los países con mayor cantidad de trabajos publicados sobre nanopartículas de plata.



**Figura 1.4. Tendencia de artículos publicados sobre la investigación de nanopartículas de plata (ISI Web of Science) [12]**

Hoy en día, la tecnología de la nanoplata ha aparecido en una variedad de procesos de fabricación y productos terminados. La nanoplata puede ser utilizada en forma líquida, tal como un coloide (recubrimiento y aerosol), contenida en un champú, incrustada en un sólido tal como un polímero o suspendida en una barra de jabón. También puede ser usada en la industria textil o en membranas de filtración de sistemas de purificación de agua. Hay muchos productos de consumo y aplicaciones en los que se utiliza nanoplata; que actualmente tienen el grado de comercialización más alto. Una amplia gama de aplicaciones de la nanoplata ha surgido en los productos de consumo que van desde la desinfección de dispositivos médicos y electrodomésticos al tratamiento de agua [29].

La aplicación más importante de las nanopartículas de plata está basada en su naturaleza antimicrobiana, que se ha explotado ampliamente debido a su acción, amplio espectro bactericida y baja posibilidad de desarrollo de resistencia microbiana. Se presume que su modo de acción depende de los iones  $Ag^{1+}$ , que inhiben fuertemente el crecimiento bacteriano a través de la supresión de enzimas respiratorias y componentes de transporte de electrones mediante interferencia en las funciones del ADN. Es poco probable que los microorganismos desarrollen resistencia contra la plata en comparación a los antibióticos. También se ha encontrado que la plata en concentraciones muy pequeñas no es tóxica para los seres humanos. Como resultado, la plata se ha convertido en uno de los antimicrobianos más explotados a nivel nano en productos de consumo tales como cosméticos, textiles, suplementos dietéticos, envasado de alimentos, revestimientos quirúrgicos, implantes médicos y como agente desinfectante del agua. Las nanopartículas de plata también han encontrado diversas aplicaciones en forma de vendajes para heridas, recubrimientos para

dispositivos médicos y tejidos impregnados. La ventaja de usar nanopartículas de plata para la impregnación es que no existe liberación continua de iones de plata y que se mejora su eficacia antimicrobiana.

Estudios previos han demostrado que su naturaleza antimicrobiana depende del tamaño y la forma. Las nanopartículas pequeñas o triangulares parecen ser más eficaces, sin embargo, las esféricas todavía se consideran más adecuadas para aplicaciones prácticas ya sea en forma coloidal o inmovilizadas [30].

A continuación, se detallan algunas aplicaciones de las nanopartículas de plata en productos de consumo:

#### 1.4.1. DESINFECCIÓN DE AIRE

Los bioaerosoles son partículas de origen biológico incluyendo virus, bacterias y hongos que se encuentran en el aire, que son capaces de causar enfermedades infecciosas o alergias. Existen grandes cantidades de bioaerosoles acumuladas en filtros de calefacción, ventilación y sistemas de aire acondicionado. La OMS estima que el 50% de la contaminación biológica presente en el aire de interiores proviene de los sistemas de tratamiento de aire, es importante tener en cuenta que la mayoría de patógenos producen micotoxinas que son peligrosas para la salud humana.

Para reducir el crecimiento microbiano en filtros de aire, se ha propuesto y desarrollado la integración de nanopartículas de plata en filtros de carbón activo contaminados por bacterias. Los resultados mostraron que las nanopartículas, fueron eficaces para la eliminación de bioaerosoles y los análisis de la actividad antibacteriana indicaron que las bacterias *Bacillus subtilis* y *E. coli* eran inhibidas completamente en 10 y 60 minutos, respectivamente [31].

## 1.4.2. DESINFECCIÓN DE AGUA

### 1.4.2.1. AGUA POTABLE

El agua es una de las sustancias más importantes en la Tierra y es esencial para todos los seres vivos. Alrededor del 70% de la Tierra está cubierta de agua, pero sólo el 0,6% es apto para el consumo humano. De acuerdo con la OMS, al menos mil millones de personas no tienen acceso al agua potable. La contaminación del agua potable y el posterior brote de enfermedades transmitidas por el agua son las principales causas de muerte en muchos países en desarrollo. Por otra parte, el espectro y la incidencia de algunas enfermedades infecciosas ha aumentando en todo el mundo, por lo tanto, hay una enorme necesidad de tratamientos para controlar la contaminación microbiana del agua y disminuir el número de enfermedades transmitidas por el agua.

La nanoplata producida químicamente puede ser incorporada en materiales cerámicos porosos, los cuales tienen propiedades de esterilización (contra *E. coli*) [32]. Además, el

poliuretano recubierto con nanopartículas de plata o microesferas poliméricas que contienen nanopartículas de plata muestran propiedades de desinfección altamente eficaz contra bacterias gram-negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa*) y gram-positivas (*B. subtilis*, *S. aureus*). Junto con el uso de nanopartículas de plata para la desinfección bacteriana de agua, existen algunos informes del uso de nanoplatina producida biológicamente para la desinfección de virus. Nico Boon *et al.* [33] reportaron un método para la producción de nanopartículas de plata mediante el uso de bacterias de ácido láctico como agente reductor, las propiedades antivirales fueron probadas con norovirus murino 1 (MNV-1). Esta técnica puede aplicarse de manera efectiva para el tratamiento de volúmenes limitados de agua contaminada, pero no para la producción de agua potable.

La aplicación de las nanopartículas de plata es de suma importancia para prevenir brotes de enfermedades transmitidas por el agua. Por otra parte, la adición de estas nanopartículas podría prevenir la adhesión bacteriana o viral y la formación de biopelículas en medios de filtración.

#### 1.4.2.2. AGUAS SUBTERRÁNEAS

La contaminación de fuentes de agua subterránea por bacterias patógenas plantea un problema de salud pública a las comunidades que dependen totalmente de este suministro de agua. Recientemente, se desarrollaron materiales de filtración rentables recubiertos con nanopartículas de plata para la desinfección de aguas subterráneas [34]. Se reveló que las nanopartículas fueron depositadas con éxito sobre sustratos de zeolita, arena, fibra de

vidrio, resinas aniónicas y catiónicas. Se ensayó el rendimiento de estos sustratos como sistemas antibacterianos de filtración de agua para determinar la eliminación de bacterias patógenas de *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. dysenteriae* y *V. cholerae* en agua subterránea. Los resultados revelaron alta eficiencia en la eliminación de bacterias, este estudio sugiere que el sistema de filtro con sustrato de resina catiónica se puede utilizar como un filtro rentable para la desinfección de las aguas subterráneas y la producción de agua potable.

### 1.4.3. DESINFECCIÓN DE SUPERFICIES

#### 1.4.3.1. PINTURAS ANTIMICROBIANAS

El desarrollo de revestimientos bactericidas sobre superficies ha generado creciente interés para la protección de la salud humana y el ambiente. Entre ellos, las pinturas que contienen nanopartículas de plata son de particular interés debido a su potencial actividad bactericida. John *et al.* [35] describieron un método amigable con el medio ambiente para sintetizar pintura embebida con AgNPs, en un solo paso. El proceso de secado oxidativo que ocurre naturalmente en los aceites se utilizó como mecanismo fundamental para la reducción de sales metálicas y dispersión de nanopartículas metálicas en medio oleoso, sin el uso de un agente estabilizante externo. Estas dispersiones se pueden utilizar directamente en diferentes superficies tales como madera, vidrio, acero y polímeros. Los resultados mostraron que las superficies recubiertas con pintura tienen excelentes propiedades antimicrobianas, matando patógenos humanos gram positivos (*S. aureus*) y bacterias gram-negativas (*E. coli*).

#### 1.4.3.2. REVESTIMIENTOS DE PLÁSTICO

La importancia de las nanopartículas de plata en la elaboración de dispositivos médicos está relacionada con su poder antibacteriano. En los hospitales, los productos a base de AgNPs se utilizan para proteger materiales contra la actividad microbiana; por lo general estos materiales se componen de plástico que contiene nanopartículas de plata en la superficie o en el interior. Por ejemplo, los catéteres, con el fin de evitar la contaminación e infecciones, liberan de forma selectiva iones  $\text{Ag}^{+1}$  de las nanopartículas, lo que impide la actividad microbiana [36]. Debido a sus propiedades antimicrobianas, se ha demostrado que pueden ser útiles en la reducción del riesgo de complicaciones infecciosas en pacientes con catéteres permanentes.

#### 1.4.3.3. GELES ANTIMICROBIANOS PARA USO TÓPICO

Además, las nanopartículas de plata también se utilizan en terapias, especialmente en el tratamiento de quemaduras. Jain *et al.* han desarrollado un gel que contiene AgNPs y su espectro antibacteriano es comparable al de una formulación comercial de plata sulfadiazina (a una concentración de plata 30 veces menor), estas nanopartículas favorecen la cicatrización de heridas. Los resultados indicaron claramente una alternativa más segura comparada con los agentes antimicrobianos convencionales [37].

#### 1.4.3.4. ENVASADO DE ALIMENTOS

Las nanopartículas de plata también se aplican en la industria de envasado y conservación de alimentos. Investigadores han informado sobre el recubrimiento sonoquímico, una técnica simple y versátil utilizada para la preparación de materiales revestidos con disolución coloidal de AgNPs usando ultrasonido. El recubrimiento demostró ser eficaz contra diversas cepas de bacterias (*E. coli* y *S. aureus*) [38].

#### 1.4.3.5. TEXTILES

Prendas de vestir como calcetines, camisetas y ropa de deportes se han funcionalizado con nanopartículas de plata, pero en el campo médico se utilizan más ampliamente por el alto riesgo de contaminación asociado a trajes quirúrgicos. Freeman *et al.* informaron sobre el efecto de telas funcionalizadas con AgNPs, que retardan el crecimiento bacteriano en comparación con batas de poliéster o algodón [39]. Sin embargo, existen desventajas como la liberación de iones plata durante el lavado, lo que se considera como el problema principal en cuanto a la durabilidad de los materiales funcionalizados con nanopartículas de plata [29].

#### 1.4.4. OTRAS

Aunque la mayoría de las aplicaciones de las nanopartículas de plata están relacionadas con su naturaleza antimicrobiana, estas nanopartícula se utilizan en diversos entornos industriales y de investigación, en los que se explotan sus propiedades ópticas, catalíticas, eléctricas y magnéticas. Con respecto a las propiedades ópticas se han desarrollado aplicaciones interesantes relacionadas principalmente con la detección de especies químicas, orgánicas, inorgánicas y biológicas. Las nanopartículas de plata se incorporan en técnicas científicas de imagen como la espectroscopia Raman (SERS), nanosensores electroquímicos, imagen para células cancerosas e imagen de reflectancia 3D para tejidos [40].

Debido a la gran variedad de aplicaciones que poseen las nanopartículas de plata, en el presente trabajo se estudian tres tipos de síntesis por reducción química, variando el agente reductor. Además se aplican varias técnicas instrumentales que permitirán seleccionar el método más adecuado en cuanto a rendimiento y calidad de nanopartícula.

Para una mejor comprensión de lectura, se ha distribuido el trabajo de la siguiente manera: el Capítulo I contiene una revisión general del tema, incluyendo los conceptos básicos de la nanociencia y nanotecnología, los métodos de síntesis de nanopartículas de plata y sus aplicaciones.

En el Capítulo II se revisa la metodología del trabajo experimental, esta sección contiene los métodos de síntesis de nanopartículas de plata empleando tres agentes reductores: borohidruro de sodio, citrato de sodio y extracto de ajo. Así como las técnicas para su caracterización: espectroscopia UV-Vis, de Infrarrojos por Transformada de Fourier (FT-IR), Microscopía de Barrido Electrónico (SEM) y finalmente espectroscopia de absorción atómica de llama (FAAS).

El Capítulo III incluye los resultados de cada proceso de síntesis y su respectiva discusión en comparación con el trabajo de otros autores.

Finalmente, en el Capítulo IV se detallan las conclusiones y recomendaciones más relevantes.

## CAPÍTULO II

### 2. MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología del trabajo experimental consistió en las etapas detalladas en el esquema de la Figura 2.1.

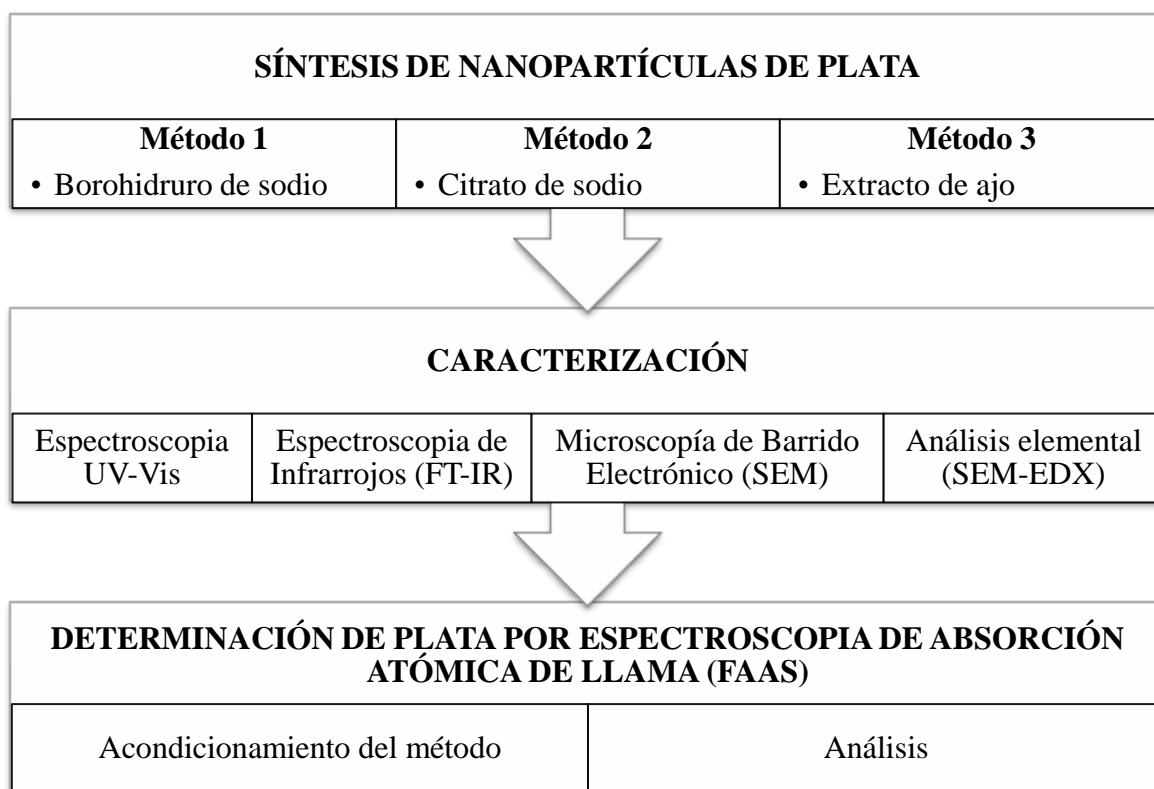
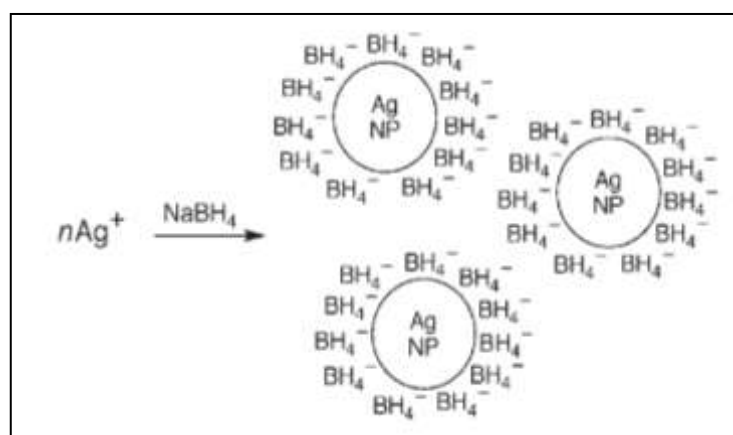


Figura 2.1. Esquema de la metodología del trabajo experimental

## 2.1. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

### 2.1.1. MÉTODO 1: REDUCCIÓN CON BOROHIDRURO DE SODIO

El método más común para la síntesis de nanopartículas de plata es la reducción con borohidruro de sodio (Figura 2.2), este agente se emplea debido a su alta reactividad comparada con otros como citrato e hidratos de carbono, su fácil manejo en relación al hidrógeno gaseoso o los métodos físicos y la baja toxicidad comparada con compuestos como la hidracina e hidroxilamina [41].



**Figura 2.2. Formación de nanopartículas de plata mediante reducción con borohidruro de sodio [41]**

Las nanopartículas de plata fueron preparadas por reducción de 10 mL de una disolución acuosa de  $\text{AgNO}_3$  1 mM. Se adicionó  $\text{NaBH}_4$  2 mM gota a gota a 30 mL. Esta reacción se llevó a cabo en un baño de hielo con agitación moderada. Las disoluciones se enfriaron

previamente hasta 1 - 2°C durante 20 minutos. La formación de las nanopartículas de plata se confirmó por el cambio de color gradual de incoloro a amarillo intenso. Finalmente, se agregó una gota de NaCl 1,5 M [7]. La suspensión coloidal fue almacenada en frascos de vidrio ámbar y refrigerada para posteriores análisis.

### 2.1.2. MÉTODO 2: REDUCCIÓN CON CITRATO DE SODIO

En este caso se emplea nitrato de plata como precursor metálico y citrato de sodio como agente reductor. Debido a que el citrato de sodio es un agente reductor débil comparado con el borohidruro de sodio, se necesitan temperaturas altas [41]. Se prepararon 500 mL de una disolución acuosa de AgNO<sub>3</sub> 1,061 mM y se calentó hasta ebullición. Se agregaron gota a gota 10 mL de citrato de sodio al 1 %. La mezcla se mantuvo a 90°C con agitación constante durante 1 hora [6]. La formación de las nanopartículas de plata se confirmó por el cambio de color a amarillo. Se dejó reposar a temperatura ambiente y se almacenó en un frasco de vidrio ámbar en refrigeración para análisis posteriores.

### 2.1.3. MÉTODO 3: REDUCCIÓN CON EXTRACTO DE AJO

En la actualidad para la obtención de nanopartículas se están buscando nuevas alternativas que sean más amigables con el medio ambiente y que produzcan una menor cantidad de desechos tóxicos. Elementos como pétalos de flores y extractos vegetales han sido

exitosamente utilizados para este fin, en el presente trabajo, se empleó extracto de ajo (*Allium sativum*) como agente reductor [43]. Este extracto contiene varios compuestos químicos que pueden actuar potencialmente como agentes reductores, incluyendo compuestos orgánicos de azufre. Además, el ajo está disponible durante todo el año a diferencia de los extractos de hojas, cuya disponibilidad depende de la estación.

#### 2.1.3.1. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO DE AJO

Se emplearon dientes de ajo de la variedad de ajo blanco (*Allium sativum*). Se pesaron 30 g de dientes de ajo lavados previamente con agua destilada para eliminar la presencia de partículas de polvo o elementos contaminantes, estos se licuaron en 100 mL de agua destilada. La disolución fue hervida por 5 minutos para posteriormente filtrarse en un sistema al vacío.

#### 2.1.3.2. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON EXTRACTO DE AJO

Se prepararon 50 mL de una disolución acuosa 2,36 mM de  $\text{AgNO}_3$ . Se calentó a 60 °C y se agregó gota a gota 5 mL de extracto de ajo previamente preparado. La disolución se mantuvo a 60°C y con agitación constante durante 1 hora [43]. Se evidenció el cambio del color de la disolución a café - rojizo. Se dejó reposar a temperatura ambiente y se almacenó en un frasco de vidrio ámbar en refrigeración para posteriores análisis.

## 2.2. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Para la caracterización de las nanopartículas de plata sintetizadas mediante los tres métodos detallados anteriormente, se emplearon las siguientes técnicas instrumentales:

- Espectroscopia UV-Vis
- Espectroscopia de Infrarrojos de Transformada de Fourier (FT-IR)
- Microscopía de Barrido Electrónico (SEM)

### 2.2.1. ESPECTROSCOPIA UV-VIS

La espectroscopia UV-Visible es una de las técnicas más ampliamente utilizadas para la caracterización de nanopartículas de plata. Es sensible a la presencia de coloides de plata debido a que estas nanopartículas presentan un pico de absorción intenso por la excitación de plasmones superficiales, que depende de factores como el tamaño y forma de las nanopartículas.

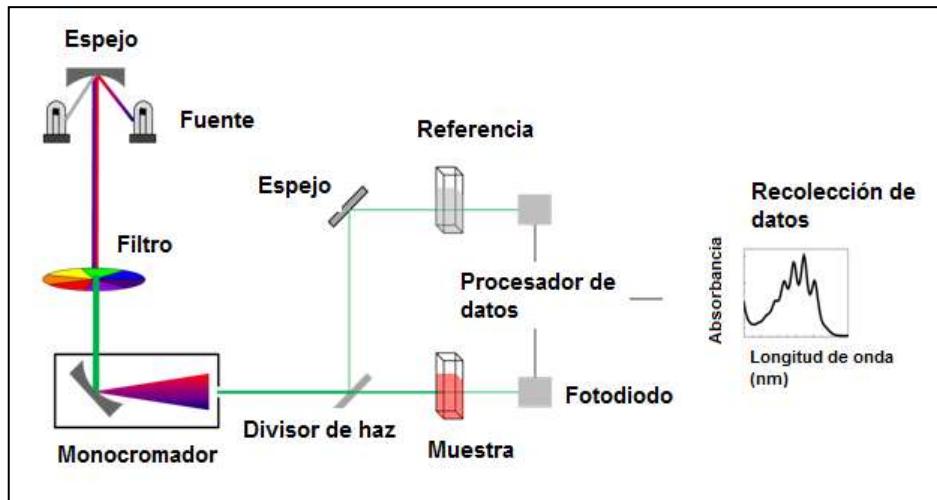
Se basa en la absorción de radiación ultravioleta y visible por el analito, como consecuencia de lo cual se origina un estado activado que posteriormente elimina su exceso de energía en forma de calor.

Cuando un haz de radiación monocromática de una determinada longitud de onda atraviesa una disolución que contiene una especie absorbente, la potencia del haz incidente  $P_0$  se atenúa, disminuyendo hasta  $P$ . Se define la transmitancia,  $T$ , como la fracción de radiación incidente que consigue atravesar la muestra, un parámetro de mayor utilidad práctica es la absorbancia,  $A$ , definida según la ecuación 2.1:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc \quad (2.1)$$

La expresión, se denomina *ley de Beer*, que es fundamental en análisis cuantitativo al relacionar la absorbancia con la concentración. La constante  $\epsilon$  recibe el nombre de absortividad molar, cuando la concentración  $c$ , se expresa en moles/litro y el camino óptico,  $b$ , en centímetros. La absortividad es una propiedad característica de la sustancia absorbente y depende de la longitud de onda. Por ello, para aplicar la *ley de Beer* debe seleccionarse una determinada longitud de onda, y para este propósito se utiliza el espectro de absorción, que indica la variación de la absorbancia con la longitud de onda [44].

Todos los espectrofotómetros de absorción en la región ultravioleta-visible poseen tres componentes básicos: la fuente de energía radiante, un monocromador para aislar una banda estrecha de energía radiante y un detector para medir la energía radiante transmitida a través de la muestra. El monocromador está asociado a un sistema óptico que proporciona un haz de radiación paralelo y lo dirige hacia el detector. El detector lleva asociado un sistema de lectura que traduce la respuesta. En la Figura 2.3 se muestra el esquema del equipo.



**Figura 2.3. Esquema del espectrofotómetro UV-Vis [44]**

La fuente de radiación debe ser continua en una amplia zona del espectro, tener una intensidad elevada y no variar con la longitud de onda. Las fuentes de radiación pueden dividirse en fuentes térmicas, en las que la radiación se produce a altas temperaturas y fuentes cuya radiación se genera por descargas eléctricas a través de gases.

Un monocromador es un dispositivo que produce un haz de radiación de gran pureza espectral (anchura de banda estrecha) y permite variar la longitud de onda. Los elementos esenciales de un monocromador son: a) una rendija de entrada, que determina el haz de radiación policromática entrante, b) un elemento dispersante, que puede ser un prisma o una red, y c) una rendija de salida. Los detectores usados en las regiones ultravioleta - visible pueden ser células fotovoltaicas, fototubos y tubos fotomultiplicadores [45].

### 2.2.1.1. INSTRUMENTACIÓN

Los espectros UV-Vis de las muestras de nanopartículas de plata sintetizadas se obtuvieron usando el espectrómetro de doble haz Cary 60 (Agilent Technologies), como se observa en la Figura 2.4, los datos fueron analizados con el software Cary WinUV. Las lecturas de absorbancia se realizaron a intervalos de 10 nm, desde los 500 a 300 nm. Para la corrección del background se empleó agua destilada.



**Figura 2.4. Espectrofotómetro UV-Vis, Cary 60**

### 2.2.1.2. PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de nanopartículas de plata fueron colocadas en celdas de cuarzo de 1 cm inmediatamente después de haber sido sintetizadas, de ser necesario se realizó una dilución tomando un volumen determinado de muestra y diluyendo en agua destilada.

### 2.2.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS (FT-IR)

Con la espectroscopia de Infrarrojos de Transformada de Fourier (FT-IR) se detectaron las especies químicas enlazadas a la superficie de las nanopartículas y las reacciones producidas con los agentes reductores orgánicos (citrato de sodio y extracto de ajo).

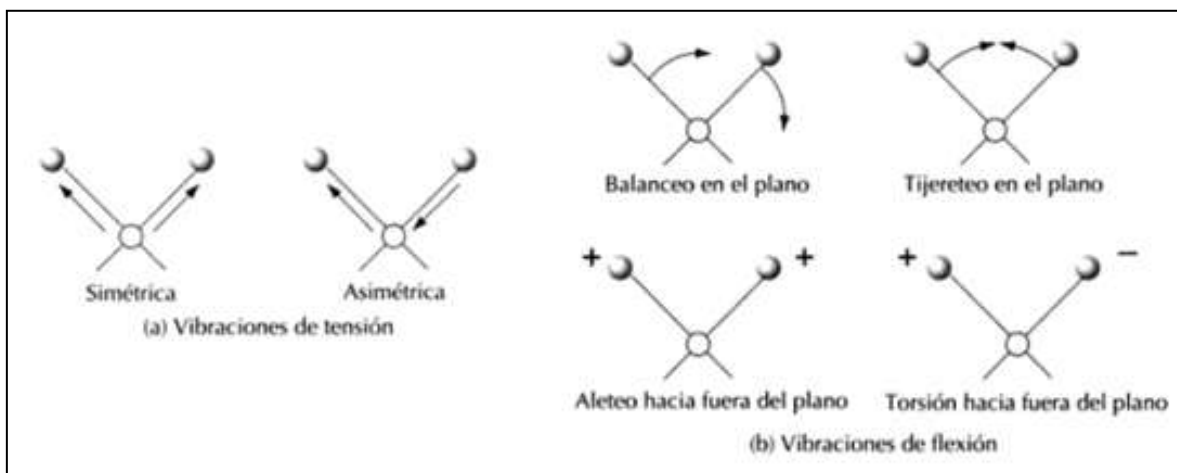
La espectrofotometría infrarroja implica movimientos de torsión, flexión, rotación y vibración de una molécula. Al interactuar con la radiación infrarroja, algunas porciones de la radiación incidente se absorben a determinadas longitudes de onda. La multiplicidad de las vibraciones que ocurren en forma simultánea produce un espectro de absorción, que depende de las características de los grupos funcionales constitutivos de la molécula, así como de la configuración total de los átomos.

El espectro infrarrojo de un compuesto es la superposición de bandas de absorción de grupos funcionales específicos, las interacciones con los átomos que rodean a la molécula imponen individualidad en el espectro de cada compuesto. Así, por interpretación del espectro, es posible establecer que existen ciertos grupos funcionales [46].

#### **Tipos de vibraciones moleculares**

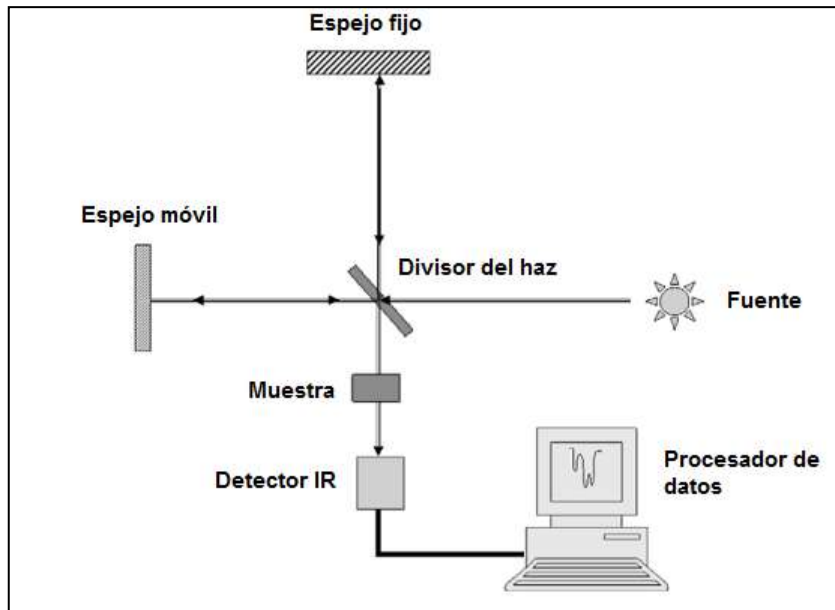
Las posiciones relativas de los átomos en una molécula no son fijas sino que fluctúan de manera continua como consecuencia de varios tipos de vibraciones y rotaciones alrededor de los enlaces en la molécula (Figura 2.5). Pueden distinguirse dos categorías básicas de

vibraciones: de estiramiento y de flexión. En una vibración de estiramiento hay un cambio continuo en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos. Las vibraciones de flexión se caracterizan por un cambio en el ángulo entre dos enlaces y son de cuatro tipos: tijereteo, balanceo y torsión [45].



**Figura 2.5. Tipos de vibraciones moleculares [45]**

En cualquier instrumento para medidas de absorción en el infrarrojo existen dos componentes básicos que son la fuente de radiación continua en esta zona del espectro y el detector, sensible a la radiación infrarroja. Dentro de las distintas fuentes de radiación posibles destacan: el emisor incandescente de Nernst, la fuente Globar, la fuente de filamento incandescente y la fuente láser de dióxido de carbono. En cuanto a los detectores de infrarrojo, pueden ser térmicos, piroeléctricos y fotoconductores. En la Figura 2.6 se muestra un esquema de este equipo.

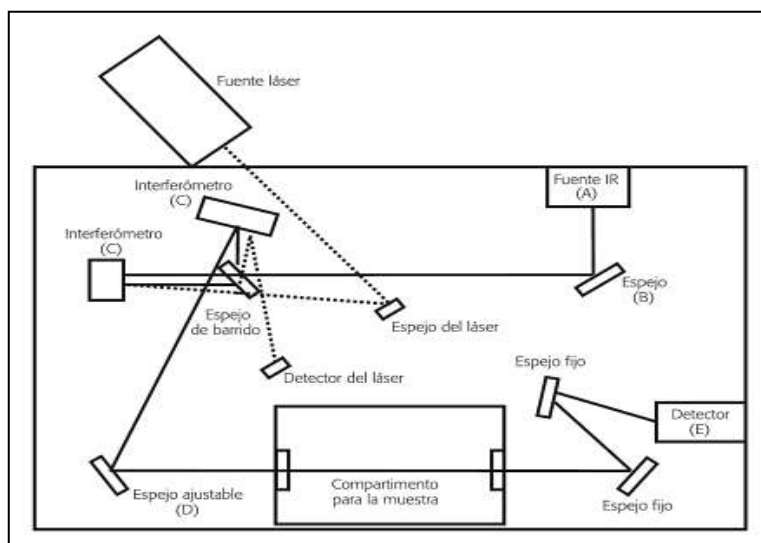


**Figura 2.6. Esquema del espectrómetro infrarrojo [46]**

Los instrumentos de infrarrojo disponibles comercialmente pueden ser espectrofotómetros dispersivos de red, los fotómetros no dispersivos y los espectrómetros de transformada de Fourier (FT-IR). Los dos primeros, por lo general, están equipados con detectores térmicos y piroeléctricos, mientras que los instrumentos de FT-IR tienen detectores fotoconductores.

Como se observa, en la Figura 2.7, en los espectrómetros de transformada de Fourier (FT-IR) el haz de radiación infrarroja es generado en la fuente (A) y después de su colimación se dirige hacia el interferómetro (C) por medio de un espejo (B). El rayo del láser de Helio-Neón sigue a la radiación infrarroja a través del interferómetro con objeto de determinar el desplazamiento del espejo móvil y la longitud de onda a la que se produce la absorción de radiación. Posteriormente, se encuentra un espejo ajustable (D) que conduce

el rayo procedente del interferómetro a la muestra. Desde el compartimento de la muestra el rayo llega a un detector (E).



**Figura 2.7. Esquema del espectrómetro infrarrojo por transformadas de Fourier (FT-IR) [46]**

El interferómetro, el cual sustituye al tradicional monocromador, es la parte fundamental de este instrumento gracias al cual se obtiene un interferograma (representación de la intensidad frente al tiempo). Una operación matemática, denominada transformada de Fourier, puede separar las frecuencias de absorción individuales del interferograma produciendo un espectro.

El espectro de infrarrojo va a ser característico para cada compuesto y proporciona información muy útil para su identificación. En cada espectro aparecen una serie de bandas o picos a determinadas frecuencias de radiación, las cuales son el resultado de las distintas

transiciones energéticas que se producen en las moléculas al pasar de unos estados vibracionales y rotacionales a otros. La forma habitual para estos espectros representa en ordenadas la transmitancia (% T) frente al número de onda en abscisas ( $\text{cm}^{-1}$ ). El modo más sencillo de identificar un compuesto a partir de su espectro de infrarrojo es comparando su espectro con el de otros compuestos puros [46].

#### 2.2.2.1. INSTRUMENTACIÓN

Los espectros infrarrojos de los reductores orgánicos y de las muestras de nanopartículas de plata sintetizadas por los métodos 2 y 3 se obtuvieron usando el espectrofotómetro Perkin Elmer Spectrum BX FT IR con complemento ATR (Figura 2.8), los datos fueron analizados con el software Spectrum v5.0.1. Para cada muestra se realizaron 10 scans, en el intervalo de longitud de onda desde  $4000$  a  $400 \text{ cm}^{-1}$ . En cada caso, se realizó la corrección del background respectiva.



**Figura 2.8. Espectrofotómetro FT-IR, Perkin Elmer Spectrum BX FT IR**

#### 2.2.2.2. PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Se colocó en el cristal portamuestras, una o dos gotas de las suspensiones de nanopartículas de plata sintetizadas según el Método 2. En el caso de las nanopartículas obtenidas por el Método 3, las muestras y el extracto de ajo fueron previamente secados en la estufa a 60 °C.

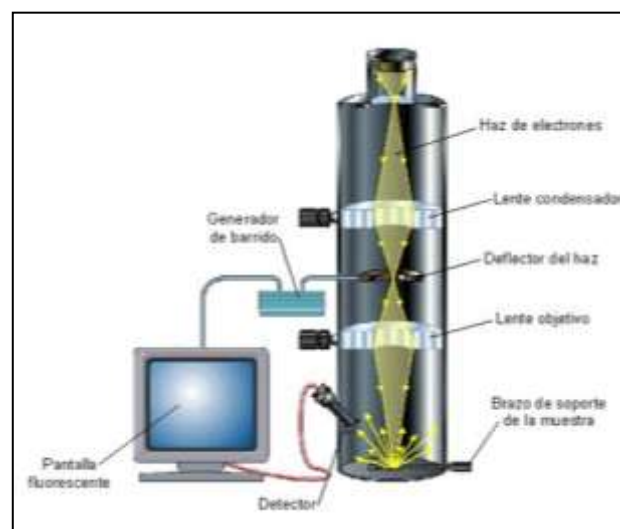
#### 2.2.3. MICROSCOPIA DE BARRIDO ELECTRÓNICO (SEM)

La Microscopía de Barrido Electrónico se emplea para determinar el tamaño, forma y, a través del detector de rayos X, la composición elemental de las nanopartículas. Los análisis por SEM correspondientes a este estudio se llevaron a cabo en el Laboratorio de Materiales de la empresa AIMPLAS – Instituto Tecnológico del Plástico (Valencia - España), a través del convenio firmado con el Laboratorio de Nanotecnología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

En el microscopio de barrido electrónico se construyen imágenes aprovechando la emisión de electrones de una muestra, cuando sobre ella incide un haz de electrones de alta energía. Mediante espectroscopia de energía dispersiva de rayos X (EDX por sus siglas en inglés) se obtiene información cuantitativa sobre la composición y distribución de los elementos presentes en una muestra.

Los electrones emitidos por la interacción del haz incidente y la muestra son colectados por los correspondientes detectores para producir una señal eléctrica, la cual se utiliza para modular la intensidad de un haz de electrones que incide en la pantalla de un tubo de rayos catódicos (TRC), de manera que mediante un barrido sincronizado del haz incidente en la superficie de una muestra y del haz incidente en la pantalla del TRC, se produce en ésta una imagen de la muestra. La emisión de electrones y de rayos X de la muestra se origina por las colisiones de electrones del haz incidente con electrones de los átomos del material.

Para producir una imagen en la pantalla del TRC es necesario que el haz de electrones en la columna del microscopio barra la superficie de estudio sincronizadamente con haz en el TRC, de manera que la información proveniente de cualquier punto de la muestra se produzca en la misma posición relativa en la pantalla, así se construye la superficie de una muestra punto por punto [47]. En la Figura 2.9 se muestra un esquema del microscopio y sus partes.



**Figura 2.9. Partes del microscopio de barrido electrónico [47]**

### 2.2.3.1. INSTRUMENTACIÓN

Las imágenes SEM y el análisis elemental EDX de las muestras de nanopartículas de plata sintetizadas se obtuvieron usando el Microscopio de Barrido Electrónico Phenom ProX (Figura 2.10) y los datos fueron analizados con el software ProSuite.



**Figura 2.10. Microscopio de Barrido Electrónico (SEM), Phenom ProX**

### 2.2.3.2. PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Con una pipeta Pasteur se colocaron una o dos gotas de la muestra sobre pines metálicos que contaban con un adhesivo de carbono, posteriormente fueron secados en la estufa a una temperatura de 70°C.

Para el análisis, cada muestra fue metalizada durante 5 minutos en el equipo, Rotary-Pumped Sputter Coater/Carbon Coater Q150R ES (Figura 2.11). Mediante el

recubrimiento por pulverización catódica con oro se mejora la emisión de electrones secundarios.



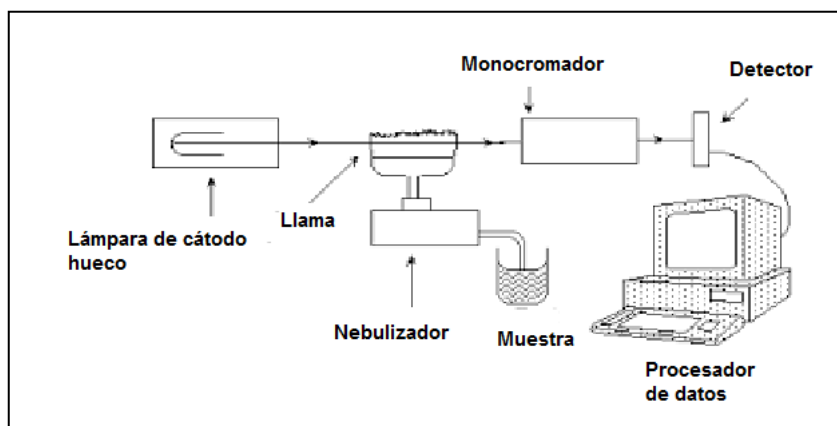
**Figura 2.11. Metalizador, Q150R ES**

### 2.3. DETERMINACIÓN DE PLATA POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA (FAAS)

La espectrometría de absorción atómica es un medio sensible para la cuantificación de más de sesenta metales o elementos metaloides. A través de esta técnica se determinó la concentración de plata en las disoluciones de nanopartículas sintetizadas según cada método.

Los instrumentos para espectrometría de absorción atómica constan de una fuente de radiación, un soporte de muestra (celda del atomizador), un selector de longitud de onda,

un detector y un procesador de señal y lectura. En la Figura 2.12 se muestra un esquema del equipo.



**Figura 2.12. Esquema del espectrofotómetro de absorción atómica de llama (FAAS) [45]**

La fuente más común para la medición de absorción atómica es la lámpara de cátodo hueco, que consta de un ánodo de tungsteno y un cátodo cilíndrico sellado en un tubo de vidrio lleno con gas neón a una presión de 1 a 5 torr. El cátodo está construido del metal cuyo espectro se desea obtener o como soporte de una capa de ese metal.

La ionización del gas inerte ocurre cuando una diferencia de potencial (300 V) se aplica en los electrodos, lo cual genera una corriente de 5 a 15 mA cuando los iones y electrones migran a los electrodos. Los cationes gaseosos adquieren energía cinética para disolver algunos de los átomos metálicos de la superficie del cátodo y producir una nube atómica. Una parte de los átomos metálicos desprendidos están en estados excitados y, por tanto, emiten su radiación característica cuando vuelven al estado basal [45].

En la atomización por llama, la disolución acuosa de la muestra se dispersa (o nebuliza) como una fina nube y luego se mezcla con el combustible gaseoso y oxidante para arrastrarla al mechero. El disolvente se evapora, a partir de las partículas sólidas finamente divididas se forman átomos e iones gaseosos. Finalmente, los productos de la atomización se oxidan antes de su dispersión en la atmósfera. El aerosol resultante, el oxidante y el combustible pasan luego a un mechero, con una llama de 5 a 10 cm de longitud normalmente.

En una medida de absorción atómica es necesario discriminar entre la radiación de la lámpara de cátodo hueco y la radiación procedente de la llama. Gran parte de esta última es eliminada por el monocromador, que se coloca entre la llama y el detector. Sin embargo, la excitación térmica de una fracción de los átomos de analito en la llama produce radiación de la misma longitud de onda a la que se ajusta el monocromador. Puesto que esta radiación no se elimina, constituye una fuente potencial de interferencia. La perturbación debida a la emisión del analito se evita usando un cortador, accionado por un motor, el cual modula la señal de la lámpara de cátodo hueco de manera que su intensidad fluctúe a una frecuencia constante. El detector recibe así una señal alterna procedente de la lámpara de cátodo hueco y una señal continua de la llama, convirtiendo estas dos señales en sus correspondientes tipos de corriente eléctrica. Un sistema electrónico elimina luego la señal no modulada producida por la llama y deja pasar la señal de corriente alterna procedente de la fuente a un amplificador y finalmente a un dispositivo de lectura [48].

### 2.3.1. INSTRUMENTACIÓN

La concentración de plata (Ag) en las muestras se obtuvo usando el espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer modelo AAnalyst 400 (Figura 2.13) equipado con una lámpara de cátodo hueco de plata y llama de aire-acetileno, los datos fueron analizados con el software WinLab32. Las condiciones de operación del equipo fueron:

- Longitud de onda: 328,1 nm
- Flujo de aire: 10,00 L/min
- Flujo de acetileno: 2,50 L/min



**Figura 2.13. Espectrofotómetro de Absorción Atómica de Llama (FAAS),  
Perkin Elmer modelo AAnalyst 400**

### 2.3.2. PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Basado en el trabajo de Arathi [40], se trató las muestras de la misma manera. Se tomó un volumen (entre 0,5 y 1,0 mL) de disolución coloidal de nanotúbulos de plata dependiendo del método de síntesis. Se diluyó en ácido nítrico al 2 % y se aforó hasta un volumen de 25 mL.

### 2.3.3. ACONDICIONAMIENTO DEL MÉTODO DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA (FAAS)

Se realizaron varios ensayos para el aseguramiento de los resultados obtenidos, entre estos:

- Curvas de calibración
- Regresión lineal de las curvas de calibración, linealidad y límites de confianza
- Determinación de los límites de detección y cuantificación
- Fortificaciones aplicando estándar

#### 2.3.3.1. CURVA DE CALIBRACIÓN

Para la determinación de un analito mediante un método instrumental, se mide una propiedad física de la muestra que sea directamente proporcional a su concentración, por lo que es preciso establecer una relación entre las señales medidas y una serie de patrones de

concentración conocida. Esto es lo que se denomina realizar un calibrado. La relación señal- concentración vendrá dada por una función matemática a partir de la cual se puede interpolar el valor de señal obtenido para una muestra y calcular así la concentración de analito en la misma. La curva de calibración se define como la representación gráfica de la señal de medición como una función de la cantidad de analito.

En este trabajo, la curva de calibración fue preparada a partir de una solución estándar de  $996,0 \pm 3,0$  mg/L de plata marca Inorganic Ventures. Se prepararon seis estándares de calibración con las siguientes concentraciones: 0,05; 1,00; 2,00; 3,00; 4,00 y 5,00 mg/L. De igual manera que las muestras, los estándares de calibración se diluyeron en ácido nítrico al 2 % y se aforaron hasta 50 mL.

### 2.3.3.2. REGRESIÓN LINEAL DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN, LINEALIDAD Y LÍMITES DE CONFIANZA

Para cualquier método cuantitativo es necesario determinar el intervalo de concentraciones del analito sobre los cuales el método puede aplicarse. Dentro del intervalo de trabajo puede existir un intervalo de respuesta lineal; en el intervalo lineal la señal de respuesta tendrá una relación lineal con la concentración del analito.

La linealidad se determina midiendo la señal de respuesta para una serie de disoluciones estándares del analito de concentraciones diferentes. Los resultados que se obtienen son utilizados para construir una línea de regresión o curva de calibración mediante el método de los mínimos cuadrados. Para establecer la linealidad se usa el coeficiente de correlación, es recomendado un valor igual o mayor a 0.995.

El cálculo de la línea de regresión y del coeficiente de correlación se efectuó por mínimos cuadrados, a partir de las lecturas de absorbancia y de los valores de concentración de los estándares.

La relación entre concentración y absorbancia está dada por la ecuación 2.2:

$$y = a + bx \quad (2.2)$$

Donde:

$y$  = absorbancia

$x$  = concentración del analito

$b$  = pendiente de la curva de regresión

$a$  = intercepto en el eje de las ordenadas

El coeficiente de correlación se obtiene a partir de la ecuación 2.3:

$$R^2 = \frac{\sum_i(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{[\sum_i(x_i - \bar{x})^2][\sum_i(y_i - \bar{y})^2]}} \quad (2.3)$$

Cuando existe una relación lineal entre la señal analítica (y) y la concentración (x), se puede demostrar que la recta de mínimos cuadrados viene dada por:

La pendiente de la recta de mínimos cuadrados, que se muestra en la ecuación 2.4:

$$b = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad (2.4)$$

Donde:

$x_i$  = Concentración, mg/L

$y_i$  = Absorbancia, Abs

$\bar{x}_i$  = Concentración promedio, mg/L

$\bar{y}_i$  = Absorbancia promedio, Abs

La ordenada en el origen de la recta de mínimos cuadrados se muestra en la ecuación 2.5:

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (2.5)$$

Para determinar el error de estimación de “y” se emplea la ecuación 2.6:

$$S_{y,x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \bar{y}_i)^2}{n-2}} \quad (2.6)$$

Donde:

$n - 2$  = grados de libertad

Una vez obtenido el valor de  $S_{y,x}$  se puede calcular  $S_b$  y  $S_a$ , las desviaciones estándar de la pendiente (b) y ordenada en el origen (a), estas vienen dadas por:

Desviación estándar de la pendiente, según la ecuación 2.7:

$$S_b = \frac{S_{y,x}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (2.7)$$

Desviación estándar de la ordenada en el origen, según la ecuación 2.8:

$$S_a = S_{y,x} \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (2.8)$$

Los límites de confianza de la recta se obtienen con la ecuación 2.9:

$$IC_i = b \pm (t_{n-2} * S_b) \quad (2.9)$$

$$IC_s = a \pm (t_{n-2} * S_a)$$

Donde:

t = t de student, al 95 %

### 2.3.3.3. LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

#### 2.3.3.3.1. LÍMITE DE DETECCIÓN

Se lo define como la menor concentración de un analito que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada, a un nivel de confianza dado (generalmente 95%). También

se define como la concentración del analito correspondiente a 3 desviaciones estándar de las lecturas del blanco, como se muestra en la ecuación 2.10.

$$LOD = 3S_B \quad (2.10)$$

#### 2.3.3.3.2. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

El límite de cuantificación (LOQ) es la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión, de repetibilidad y veracidad. También se define como el valor de 10 desviaciones estándar de las lecturas del blanco, como se muestra en la ecuación 2.11.

$$LOQ = 10S_B \quad (2.11)$$

Donde:

$S_B$  = desviación estándar de las lecturas del blanco

Para la determinación de los límites de detección y cuantificación se llevó a cabo mediciones de diez blancos (se considera blanco al ácido nítrico 2 % empleado para el tratamiento de las muestras). Además, se realizaron lecturas de los blancos reactivos de cada método, siendo estos, el conjunto de reactivos empleados en el proceso de síntesis en ausencia del analito de interés, los blancos fueron tratados de igual manera que las muestras para el análisis posterior con el fin de determinar si contribuyen o no a la señal de medición.

#### 2.3.3.4. FORTIFICACIONES EMPLEANDO UN ESTÁNDAR DE REFERENCIA

Las fortificaciones consisten en la preparación de disoluciones a las que se adiciona una cantidad conocida del analito de interés, con el fin de determinar la eficiencia de recuperación del analito. El porcentaje de recuperación se calcula según la ecuación 2.12:

$$\% R = \frac{C1 \times 100}{C2} \quad (2.12)$$

Donde

C1 = concentración determinada en la muestra fortificada (experimental)

C2 = concentración conocida (teórica)

El término muestra fortificada es empleado para nombrar a las disoluciones que contienen un estándar de concentración conocida para determinar el porcentaje de recuperación correspondiente al método [51-53].

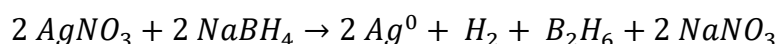
## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

##### 3.1.1. MÉTODO 1: REDUCCIÓN CON BOROHIDRURO DE SODIO

En la Figura 3.1 se muestra las nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1, en el que se empleó borohidruro de sodio como agente reductor. Las nanopartículas presentaron un color amarillo brillante característico y conservaron esta propiedad al mantenerse en refrigeración durante 6 meses, aproximadamente. La reacción química para la formación de nanopartículas de plata que se produce es la siguiente:



Es importante considerar varios factores que influyen en la síntesis, uno de ellos, la concentración del borohidruro de sodio, que debe ser el doble que la del nitrato de plata, se ha registrado que concentraciones más altas pueden producir la agregación de las nanopartículas debido al aumento de fuerza iónica [42]. La temperatura a la cual se lleva a cabo la síntesis (1 – 2 °C), es necesaria debido a que el borohidruro de sodio es un agente reductor fuerte y reacciona violenta y rápidamente con el agua a temperatura ambiente. El

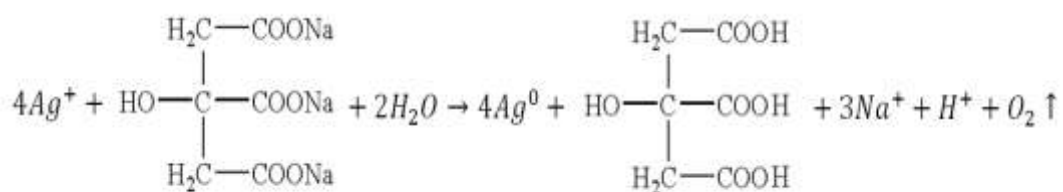
baño de hielo hace esta reacción lo suficientemente lenta para permitir la reducción de los iones de plata. También se debe controlar la agitación, ya que si esta se prolonga puede inducir agregación de las nanopartículas. Además, la adición de electrolitos como el NaCl, ejerce una acción como estabilizante, produciendo la repulsión de cargas entre las nanopartículas.



**Figura 3.1. Nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 1**

### 3.1.2. MÉTODO 2: REDUCCIÓN CON CITRATO DE SODIO

En la Figura 3.2 se muestra las nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2, basado en la reducción con citrato de sodio. En este caso las nanopartículas de plata presentaron color amarillo y conservaron esta propiedad al estar en refrigeración, durante 6 meses aproximadamente. La reacción que se produce es la siguiente:



Debido a que el citrato de sodio es un agente reductor débil comparado con el borohidruro de sodio, se necesitan temperaturas altas, alrededor de los 90 °C [42]. Esto se debe a que las moléculas de citrato en la superficie de las nanopartículas están en constante intercambio con otras moléculas semejantes en solución, las cuales "saltan" dentro y fuera de la superficie, ya que la interacción entre el citrato y la plata es bastante débil. El aumento de la temperatura hace que estos "saltos" se produzcan con mayor frecuencia, lo que provoca que más nanopartículas permanezcan en solución y no se depositen en la superficie.

En este caso el tiempo de agitación aumenta debido a que la reacción es más lenta, esto influye en el tamaño de partículas y la polidispersión.



**Figura 3.2. Nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 2**

### 3.1.3. MÉTODO 3: REDUCCIÓN CON EXTRACTO DE AJO

Por medio del Método 3 se obtuvo una suspensión coloidal de nanopartículas de plata de color café, como se observa en la Figura 3.3. Las nanopartículas mantuvieron esta propiedad al encontrarse en refrigeración durante 6 meses aproximadamente. De igual manera, que en el método de síntesis con citrato de sodio como agente reductor, para producir la reacción entre la sal precursora y el extracto de ajo, fue necesaria una

temperatura entre 60 y 70°C, con agitación prolongada. Estos dos factores tienen gran influencia en el tamaño y dispersión de las nanopartículas.



**Figura 3.3. Nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 3**

## 3.2. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

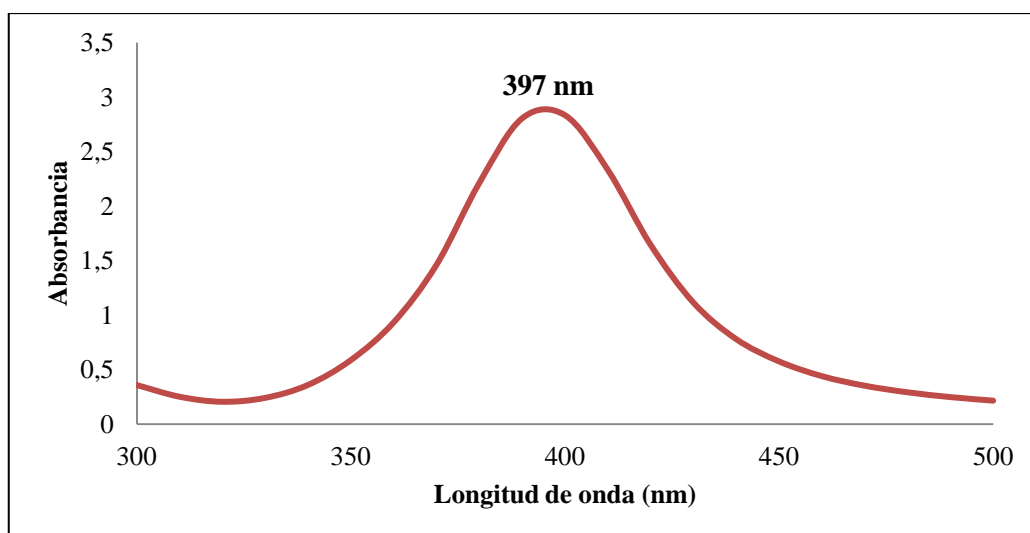
### 3.2.1. ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE

Esta técnica permitió corroborar la presencia de nanopartículas de plata en las síntesis llevadas a cabo, a partir de estos resultados se realizaron los análisis instrumentales posteriores.

En la Tabla 3.1, se muestran los resultados del análisis por espectrometría UV-Visible de cinco muestras sintetizadas mediante el Método 1, se incluyen los valores de la longitud de onda máxima y la absorbancia, siendo el promedio de absorción máxima 394,2 nm con una desviación estándar de 2,7. A continuación, en la Figura 3.4 se muestra un ejemplo del espectro UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas.

**Tabla 3.1. Espectros UV-Vis obtenidos en las síntesis realizadas por el Método 1**

<b>Síntesis</b>	<b>Pico de absorción máximo (nm)</b>	<b>Absorbancia (UA)</b>
1	390,0	3,694
2	394,0	3,676
3	397,0	3,080
4	394,0	2,658
5	396,0	2,790
<b>Promedio</b>	394,2	3,180
<b>Desv. estándar</b>	2,7	0,486

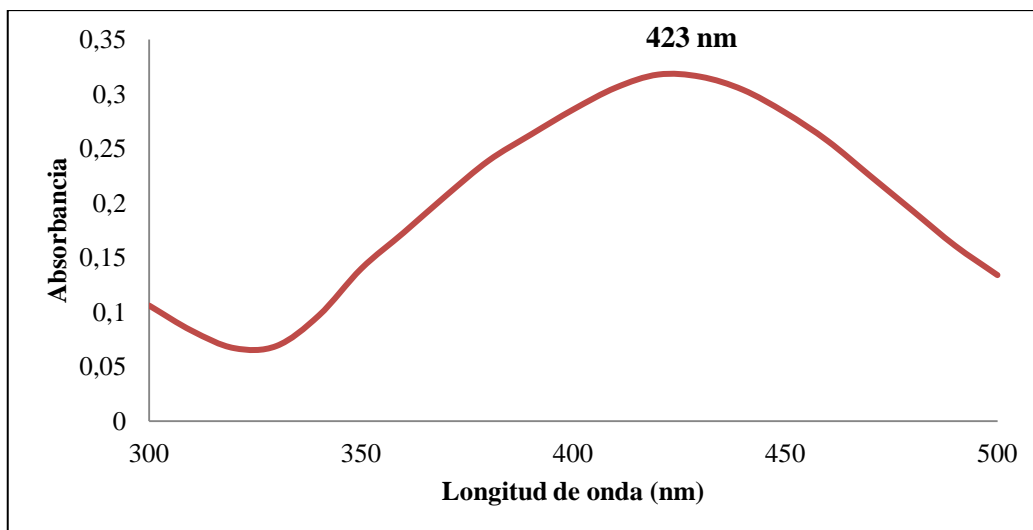


**Figura 3.4. Espectro UV-Vis nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1**

La Tabla 3.2 incluye los resultados del análisis por espectrometría UV-Visible de cinco muestras sintetizadas mediante el Método 2, con absorción máxima promedio de 427,6 nm y una desviación estándar igual a 5,1. La Figura 3.5 muestra un ejemplo del espectro UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas.

**Tabla 3.2. Espectros UV-Vis obtenidos en las síntesis realizadas por el Método 2**

<b>Síntesis</b>	<b>Pico de absorción máximo (nm)</b>	<b>Absorbancia (UA)</b>
1	436,0	0,198
2	428,0	0,877
3	424,0	0,506
4	423,0	0,319
5	427,0	0,852
<b>Promedio</b>	427,6	0,550
<b>Desv. estándar</b>	5,1	0,307

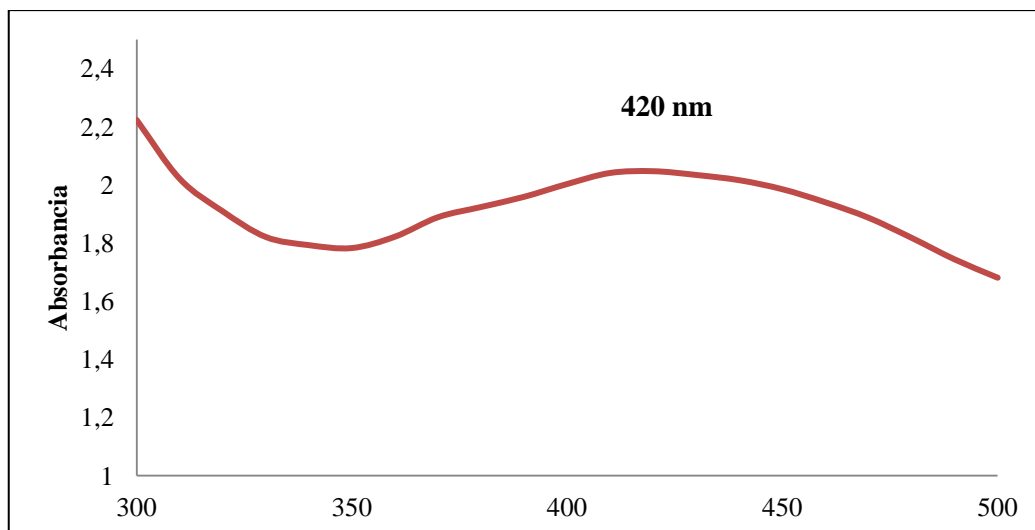


**Figura 3.5. Espectro UV-Vis nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2**

En la Tabla 3.3, se muestran los resultados del análisis por espectrometría UV-Visible de cinco muestras sintetizadas mediante el Método 3, el valor de absorción máxima promedio es 422,0 nm y la desviación estándar 2,7. La Figura 3.6 muestra un ejemplo del espectro UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas.

**Tabla 3.3. Espectros UV-Vis obtenidos en las síntesis realizadas por el Método 3**

<b>Síntesis</b>	<b>Pico de absorción máximo (nm)</b>	<b>Absorbancia (UA)</b>
1	420,0	0,847
2	425,0	0,978
3	420,0	0,716
4	420,0	0,714
5	425,0	0,851
<b>Promedio</b>	422,0	0,821
<b>Desv. estándar</b>	2,7	0,110



**Figura 3.6. Espectro UV-Vis nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 3**

Los valores medios de absorbancia máxima obtenidos para cada síntesis se encuentran dentro del rango 350 – 450 nm, reportado según Kadir *et al.* [54]. Al comparar las Figuras 3.4, 3.5 y 3.6, se diferencia claramente la forma de los picos de absorción para cada tipo de síntesis, en el caso del Método 1, el pico es simétrico y estrecho, sugiriendo que la distribución de tamaño de nanopartícula es uniforme, es decir, son monodispersas. En los métodos 2 y 3, empleando citrato de sodio y extracto de ajo como agentes reductores, respectivamente, se observa que los picos son más anchos, lo que indica que existe amplia distribución en el tamaño de nanopartícula, siendo polidispersas.

Además, estos datos también permiten determinar el tamaño de partícula basado en el valor del pico de absorción máxima, según la Tabla 3.4 reportada por Pradeep, T. [42].

**Tabla 3.4. Posición de los picos de absorción de nanopartículas de plata de diferente tamaño en el espectro UV-Vis [42]**

Tamaño de partícula (nm)	Posición del pico (nm)
10 – 14	~ 400
35 – 50	430
60 - 80	438

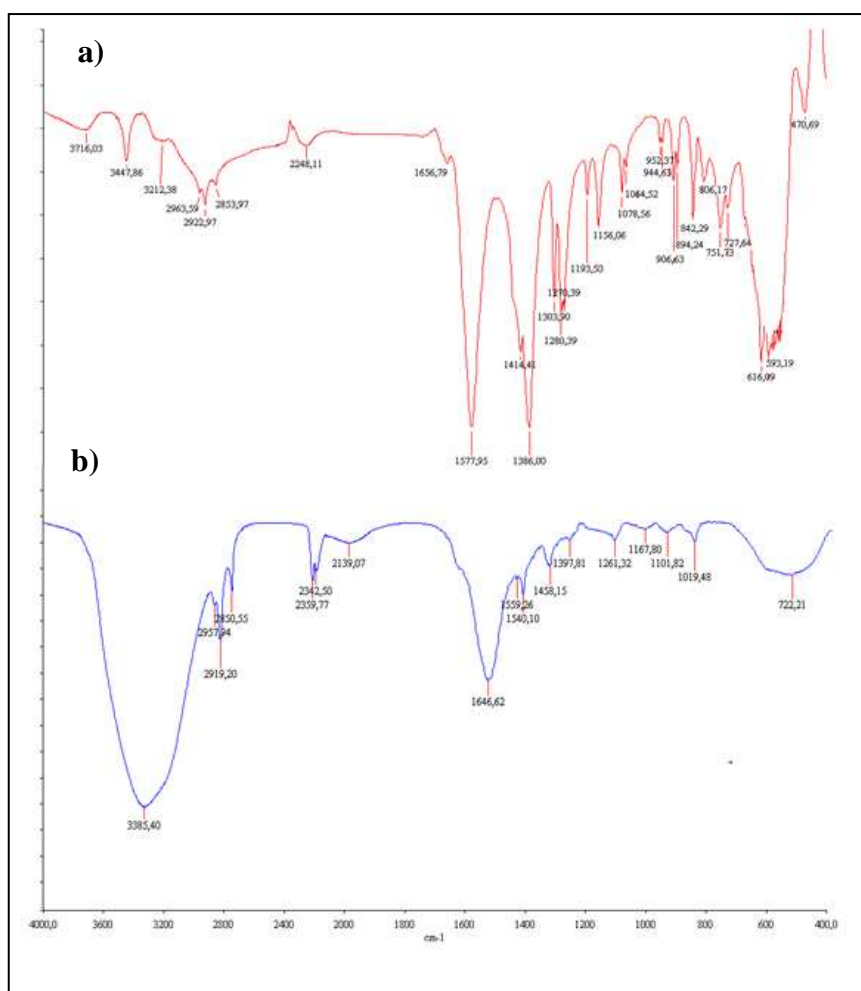
En la Tabla 3.5 se muestra un resumen de los resultados del análisis de las nanopartículas de plata por espectroscopia UV-Vis. Mediante el Método 1, el pico de absorción máxima promedio es 394,2 nm, lo que corresponde a nanopartículas cuyo tamaño está en el rango de 10 a 14 nm, en el caso de los métodos 2 y 3, los tamaños de partícula se encontrarían en el rango de 35 a 50 nm, con picos de absorción promedio en 427,6 y 422,0 nm, respectivamente. El tamaño real de las nanopartículas se comprobará con microscopía de barrido electrónico (SEM), sin embargo, el análisis espectroscópico es una prueba preliminar para conocer la distribución y tamaño de las nanopartículas sintetizadas. La colección de espectros UV-Vis de cada método empleado se encuentra en el Anexo 1.

**Tabla 3.5. Resultados del análisis de nanopartículas de plata por espectroscopia UV-Vis y tamaño de partículas aproximados**

Método de síntesis	Posición del pico de absorción máxima (nm)	Tamaño aprox. de partícula (nm)
1	394,2	10 – 14
2	427,6	35 – 50
3	422,0	35 – 50

### 3.2.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR)

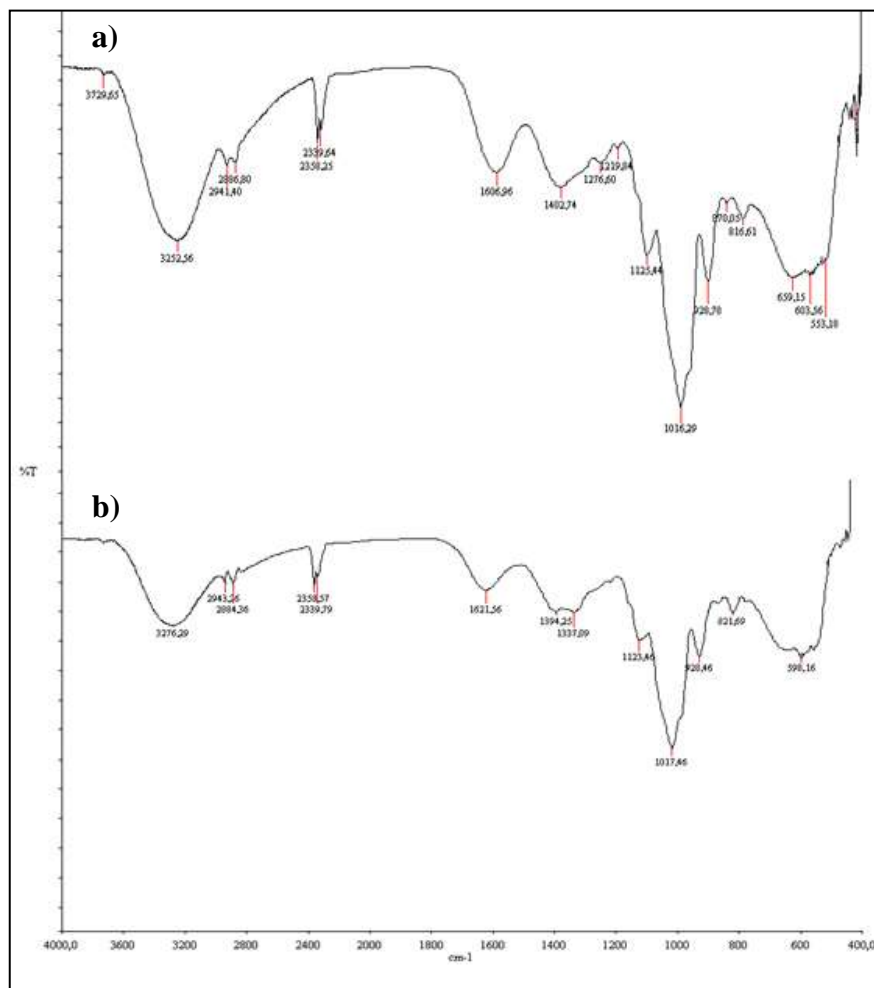
El análisis por espectroscopia FT-IR se llevó a cabo para identificar las moléculas responsables de la reducción y estabilización de las nanopartículas de plata sintetizadas mediante los métodos de reducción con citrato de sodio y extracto de ajo. Los espectros FT-IR del citrato de sodio y de las nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 2 se muestran en la Figura 3.7.



**Figura 3.7. Espectros FT-IR: a) Citrato de sodio  
b) Nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2**

Tal como se muestra en el espectro de la Figura 3.7b, se observa la banda correspondiente al estiramiento del enlace entre O – H alrededor de  $3385,40\text{ cm}^{-1}$ , este pico se relaciona con la reacción de los grupos – OH del citrato de sodio y los iones de plata. Las bandas ubicadas entre  $2957,94$  y  $2850,55\text{ cm}^{-1}$  se forman debido al estiramiento del enlace en  $-\text{CH}_2$ , la banda ubicada en  $1646,92\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la presencia del  $\text{NO}_3$  proveniente de la sal precursora. Se evidencia la disminución de la intensidad de las bandas entre  $1559,26$  y  $1458,15\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a la oscilación simétrica y asimétrica del ión carboxilato debido a la estabilización de las nanopartículas por el grupo  $-\text{COO}-$  del citrato trisódico, en comparación a las bandas presentes en el agente reductor ubicadas entre  $1577,95$  y  $1414,41\text{ cm}^{-1}$ . Lo mismo ocurre en las bandas a los  $1397,81$  y  $1019,48\text{ cm}^{-1}$  que pertenecen a las oscilaciones del grupo C – OH comparadas con las bandas de la Figura 3.7a, que se encuentran entre  $1386,00$  y  $1064,62\text{ cm}^{-1}$ . Las bandas correspondientes al estiramiento del enlace C – C del citrato de sodio ubicadas entre  $952,37$  y  $906,63\text{ cm}^{-1}$ , no aparecen en el espectro de las nanopartículas de plata sintetizadas. Los grupos funcionales detallados producen la reducción de la sal precursora empleada, además de su posible papel como agente estabilizante [55].

En la Figura 3.8 se muestra los espectros infrarrojos del extracto de ajo empleado para la síntesis según el Método 3 junto al espectro de las nanopartículas de plata obtenidas.

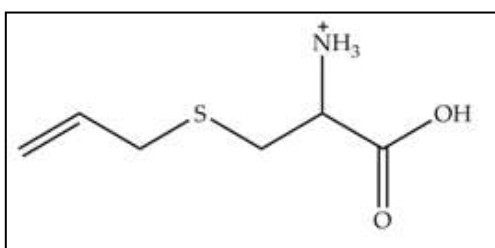


**Figura 3.8. Espectros FT-IR: a) Extracto de ajo  
b) Nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 3**

Al comparar los espectros, se observa el aumento de intensidad de la banda ubicada a los  $3252,56\text{ cm}^{-1}$  (Figura 3.8a) a  $3276,29\text{ cm}^{-1}$  (Figura 3.8b), lo que se asocia a la reacción producida entre los grupos  $-\text{OH}$  del agente reductor y la sal precursora ( $\text{AgNO}_3$ ). A

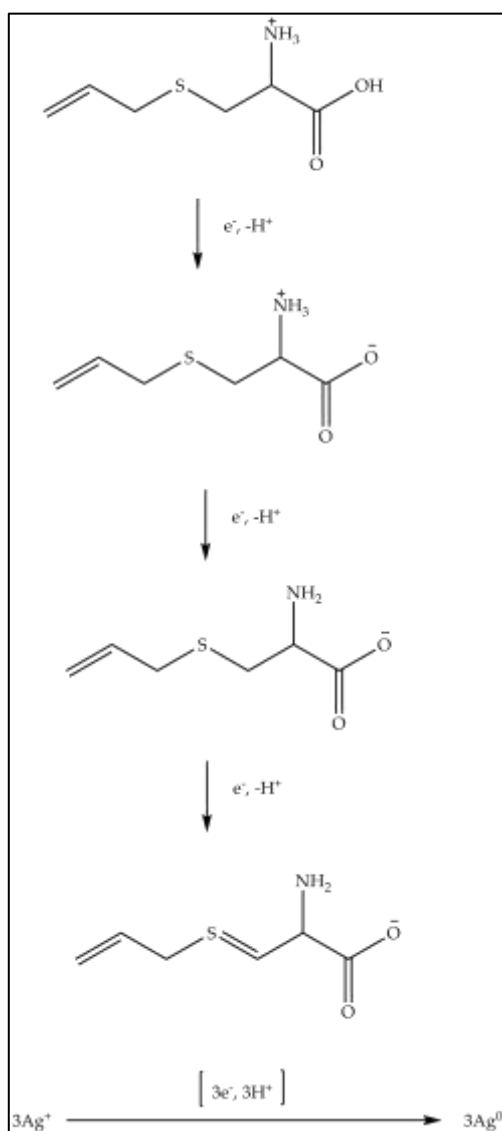
continuación, una banda a los  $1621,56\text{ cm}^{-1}$ , que se puede asignar al enlace N – H de las amidas secundarias o aminas primarias, que indica la participación de dichos grupos en el proceso reducción. El espectro del extracto también muestra una banda de absorción en  $1402,74\text{ cm}^{-1}$  que se atribuye a la unión de C – O – H del grupo carboxilo. En la Figura 3.8b la banda se muestra a  $1394,25\text{ cm}^{-1}$ , lo que nuevamente indica la influencia del grupo – OH en la reducción de la sal metálica. Otra banda de menor frecuencia se observa a los  $816,61\text{ cm}^{-1}$  (Figura 3.8a) que se asigna a la absorción del enlace S – C de los compuestos órgano – sulfurados presentes en el extracto de ajo, que se presenta a los  $821,69\text{ cm}^{-1}$  por una posible modificación debido a la simetría alrededor del enlace S – C.

El ajo contiene altos niveles de compuestos organosulfurados que se dividen en dos grupos. Un grupo es liposoluble e incluye compuestos como el sulfuro de dialilo (DAS), disulfuro de dialilo (DADS) y trisulfuro de dialilo (DATS). El otro grupo es soluble en agua, por ejemplo la S-alilcisteína (SAC) y la S-alil mercapto cisteína (SAMC). Se usó extracto de ajo acuoso por lo que la SAC y la SAMC son los posibles compuestos que estarán involucrados en la reacción. No existe una banda que indique la presencia del grupo – SH, por lo que se determina que la S-alilcisteína (SAC) es el compuesto que produce la reducción del  $\text{AgNO}_3$  (Figura 3.9).



**Figura 3.9. Estructura química de la S-alilcisteína**

Los iones  $\text{Ag}^{1+}$  se reducen a  $\text{Ag}^0$ , lo que conduce a la formación de nanopartículas de plata, entonces las nanopartículas son estabilizadas con los aminoácidos/proteínas presentes en el extracto de ajo tal como se sugiere en la reacción presentada en la Figura 3.10 [56].

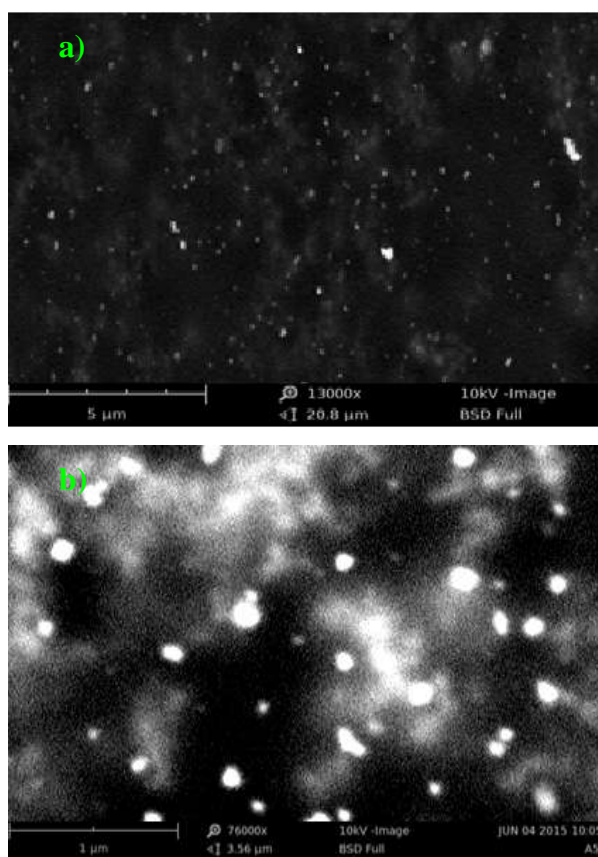


**Figura 3.10. Reacción de reducción de la plata con S-alicisteína [56]**

La colección de espectros FT-IR de los métodos 2 y 3 se muestra en el Anexo 2.

### 3.2.3. MICROSCOPIA DE BARRIDO ELECTRÓNICO (SEM)

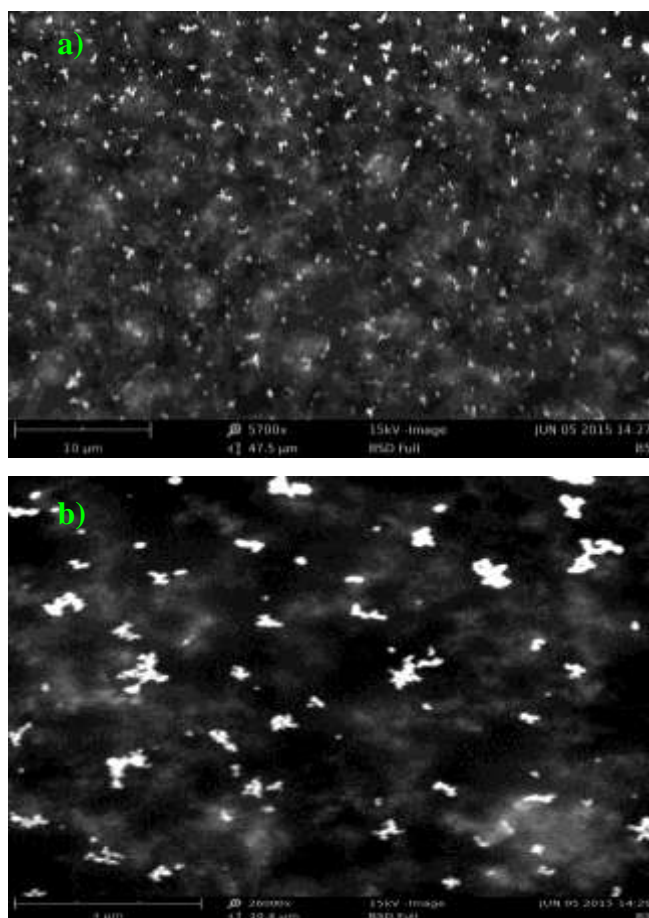
La microscopía de barrido electrónico permitió conocer la morfología y tamaño de las nanopartículas sintetizadas. En la Figura 3.11 se muestra las imágenes SEM de las nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1. Las nanopartículas presentaron forma esférica, no se evidenció agregación, lo que indica que el cloruro de sodio es un agente estabilizante efectivo. El tamaño de las AgNPs está en el rango de 12 a 15 nm, lo que coincide con los resultados de UV-Vis y los propuestos por otros autores [42].



**Figura 3.11. Imágenes SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1**

**a) 13000 X    b) 76000 X**

En la Figura 3.12 se muestra las imágenes SEM de las nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2. Las nanopartículas se encuentran en gran medida agregadas, una mirada más cercana a las partículas individuales revela amplia distribución de tamaños, dentro de 50 a 100 nm de diámetro en comparación con los resultados de UV-Vis. Estas características coinciden con los resultados propuestos por otros autores [57-58]. Las nanopartículas exhiben forma pseudo-esférica con bordes irregulares.

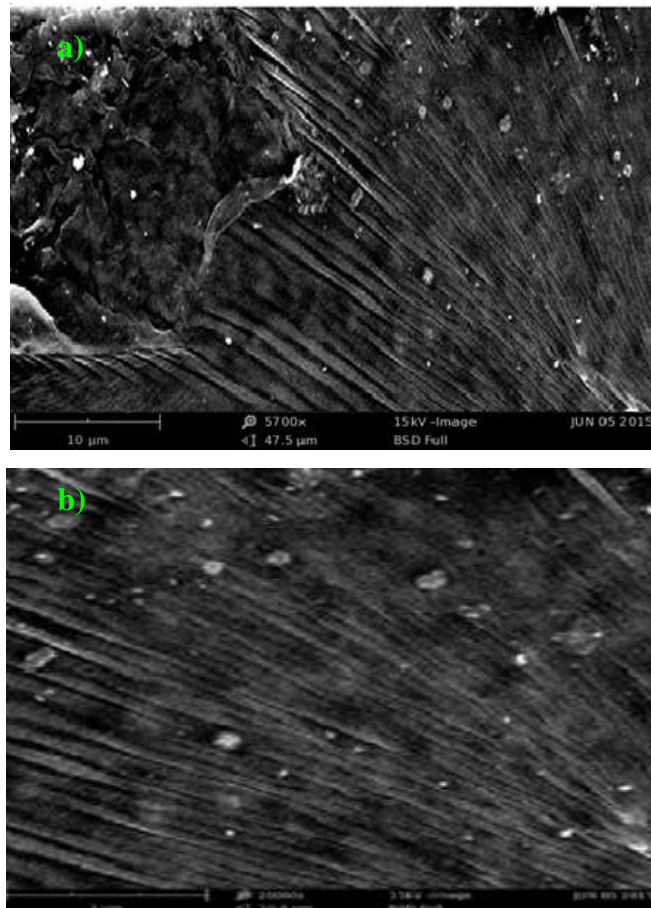


**Figura 3.12. Imagen SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2**  
a) 5700 X    b) 26000 X)

La agregación observada podría surgir de la presencia de contaminantes en la preparación de la muestra o como resultado de las condiciones de síntesis. Otra consideración

importante, es la manera en la que se dispersan las partículas en forma coloidal comparada con su comportamiento después de la evaporación del disolvente.

Las nanopartículas de plata obtenidas por el Método 3 se muestran en la Figura 3.13. Estas presentaron forma esférica, se evidenció agregación y polidispersidad. El tamaño de las nanopartículas está en el rango de 35 - 70 nm, lo que concuerda con el análisis UV-Vis y lo propuesto por Cardeño [43].



**Figura 3.13. Imagen SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 3**

**a) 5700 X    b) 26000 X)**

Al comparar los tres métodos de síntesis considerando el tamaño de partícula, en el método 1 se obtienen nanopartículas de menor tamaño relacionado con los métodos 2 y 3, además en el primer método no se evidencia agregación como en los dos restantes. La agregación en estos casos podría ser controlada con el empleo de un agente estabilizante o las condiciones propias de cada síntesis. Con relación a la forma, en los tres casos se obtienen nanopartículas esféricas, las más usadas para aplicaciones prácticas, pero se debe tener en cuenta el rango de tamaños para establecer el campo en el que podrán ser utilizadas.

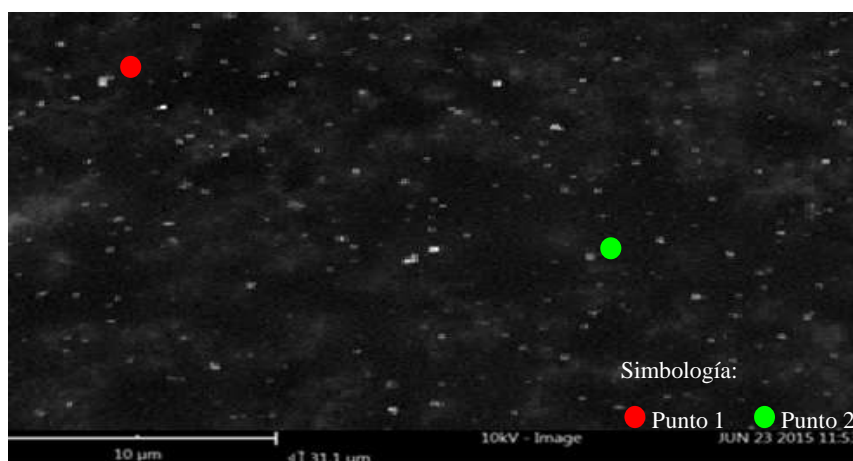
En la Tabla 3.6 se comparan los resultados de tamaño de partícula obtenidos mediante espectroscopia UV-Vis con los resultados del análisis por SEM, existe concordancia entre estos datos, únicamente en el caso de la reducción con citrato de sodio, la distribución de tamaño es más amplia.

**Tabla 3.6. Comparación de los tamaños de partícula obtenidos mediante espectroscopia UV-Vis con los resultados del análisis por SEM**

Método	Agente reductor	Tamaño de partícula (nm)	
		UV-Vis	SEM
1	Borohidruro de sodio	10 – 14	12 – 15
2	Citrato de sodio	35 – 50	50 – 100
3	Extracto de ajo	35 – 50	35 - 70

### 3.2.3.1. ANÁLISIS ELEMENTAL (SEM-EDX)

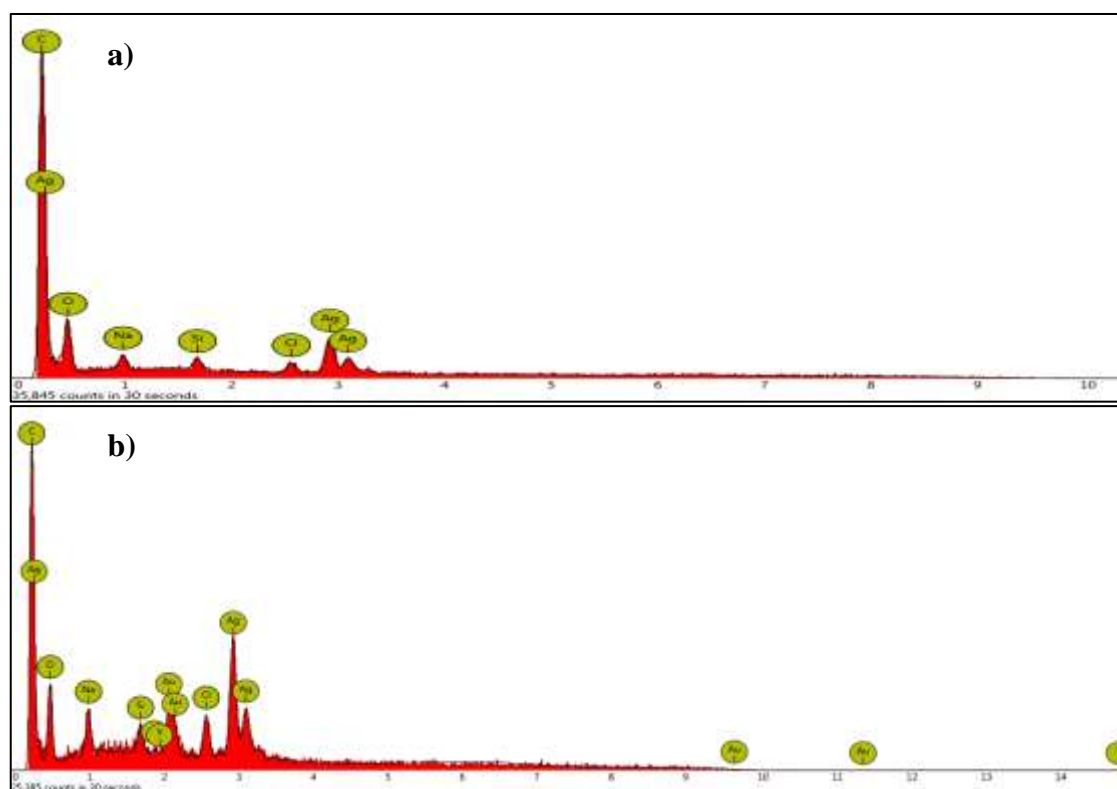
El análisis elemental de las muestras sintetizadas se llevó a cabo mediante EDX, como detector del microscopio de barrido electrónico. Para este fin, en cada muestra se seleccionaron dos puntos correspondientes a nanopartículas individuales o aglomerados. Se tomó el valor promedio entre los dos puntos como porcentaje de plata presente. En la Figura 3.14 se muestran los puntos seleccionados para el análisis elemental de las nanopartículas sintetizadas mediante el Método 1. Con los espectros EDX (Figura 3.15), se comprueba la presencia de plata como componente mayoritario, siendo el porcentaje promedio igual a 39,90 % según los valores reportados en la Tabla 3.7. Además de cloro y sodio provenientes del cloruro de sodio empleado como agente estabilizante en este método, el carbono corresponde a los adhesivos donde se coloca la muestra y el oro al proceso de metalización de la muestra.



**Figura 3.14. Imagen SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1**

**Tabla 3.7. Análisis elemental Puntos 1 y 2 – Método 1**

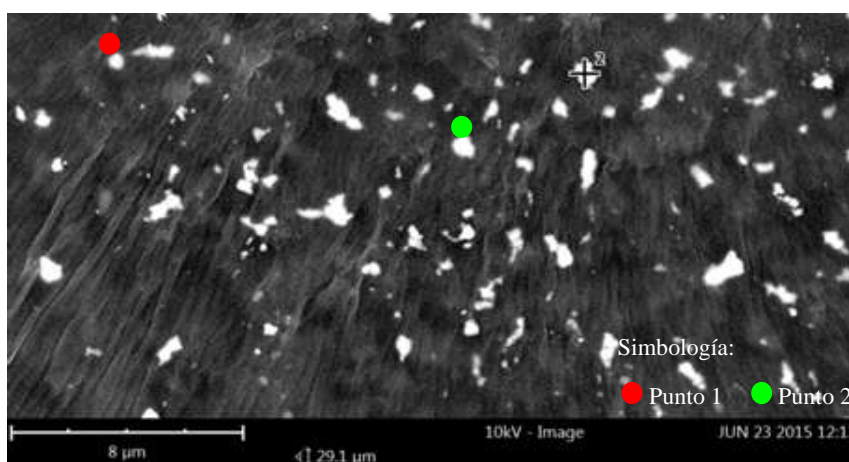
Número	Elemento	Símbolo	Punto 1		Punto 2		Promedio (%)
			Porcentaje (%)	Error (%)	Porcentaje (%)	Error (%)	
47	Plata	Ag	40,90	0,10	38,90	0,10	39,90
8	Oxígeno	O	33,70	0,10	22,20	0,10	27,95
79	Oro	Au	-	-	19,10	0,40	-
6	Carbón	C	14,80	1,60	6,30	1,00	10,55
11	Sodio	Na	5,70	0,20	5,70	0,20	5,70
17	Cloro	Cl	3,00	1,00	4,70	0,40	3,85



**Figura 3.15. Espectro EDX nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1**

a) Punto 1      b) Punto 2

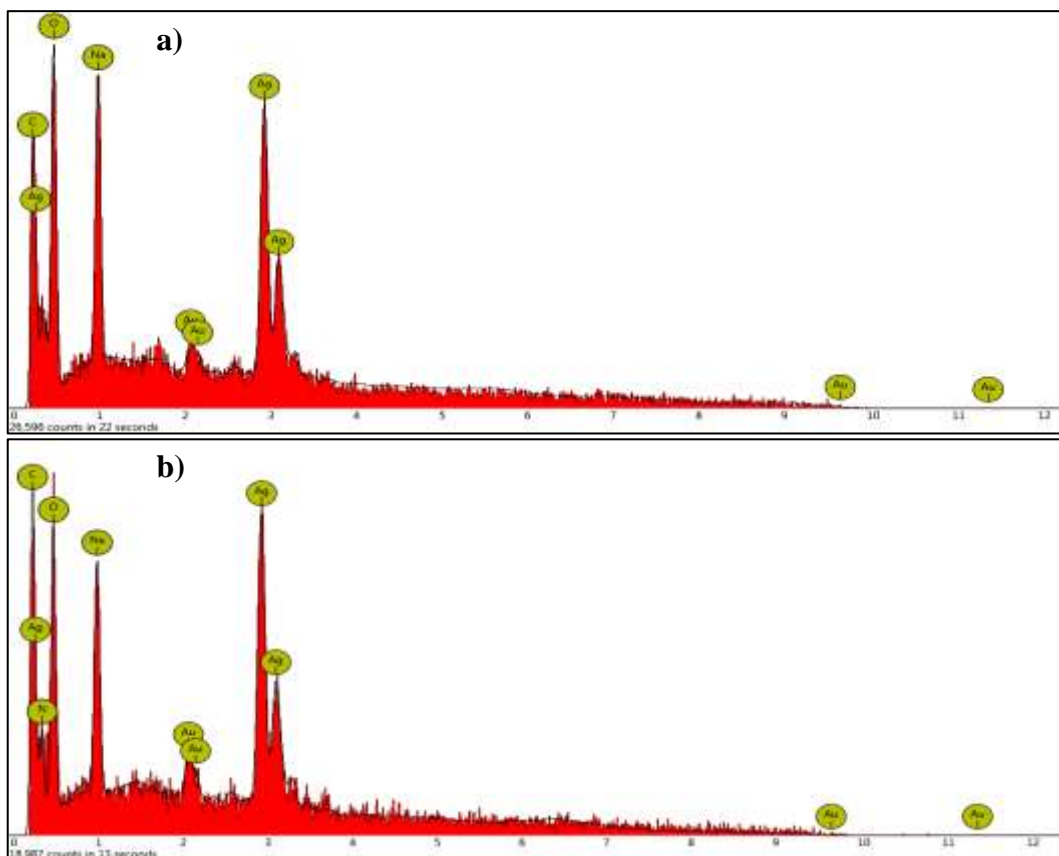
La Figura 3.16 muestra los puntos seleccionados para el análisis elemental de las nanopartículas sintetizadas mediante el Método 2. Los espectros EDX (Figura 3.17) indican la presencia de plata como componente mayoritario, con porcentaje promedio de 40,60 % según los valores reportados en la Tabla 3.8, además del sodio proveniente del agente reductor (citrato de sodio), el carbono corresponde a los adhesivos donde se coloca la muestra y el oro al proceso de metalización de la misma.



**Figura 3.16. Imagen SEM nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 2**

**Tabla 3.8. Análisis elemental Puntos 1 y 2 – Método 2**

Número	Elemento	Símbolo	Punto 1		Punto 2		Promedio (%)
			Porcentaje (%)	Error (%)	Porcentaje (%)	Error (%)	
47	Plata	Ag	39,30	0,10	41,90	0,10	40,60
8	Oxígeno	O	36,10	0,10	32,90	0,20	34,50
11	Sodio	Na	17,70	0,00	14,20	0,10	15,95
79	Oro	Au	4,90	0,70	6,90	0,70	5,90
6	Carbón	C	1,90	1,00	2,00	0,90	1,95



**Figura 3.17. Espectro EDX nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2**

**a) Punto 1      b) Punto 2**

La Figura 3.18 contiene los puntos seleccionados para el análisis elemental de las nanopartículas sintetizadas mediante el Método 3. Los espectros EDX (Figuras 3.19) muestran la presencia de plata como componente mayoritario, siendo el porcentaje promedio igual a 56,20 %, según los valores reportados en la Tabla 3.9, el carbono corresponde a los adhesivos donde se coloca la muestra y el oro al proceso de metalización.

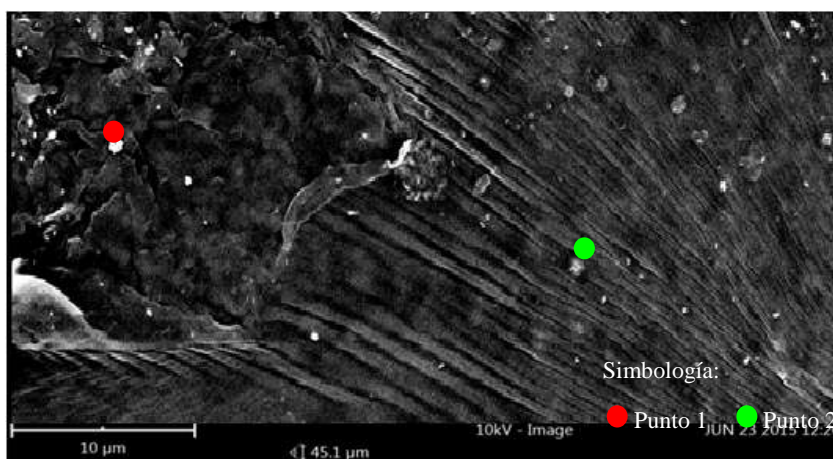
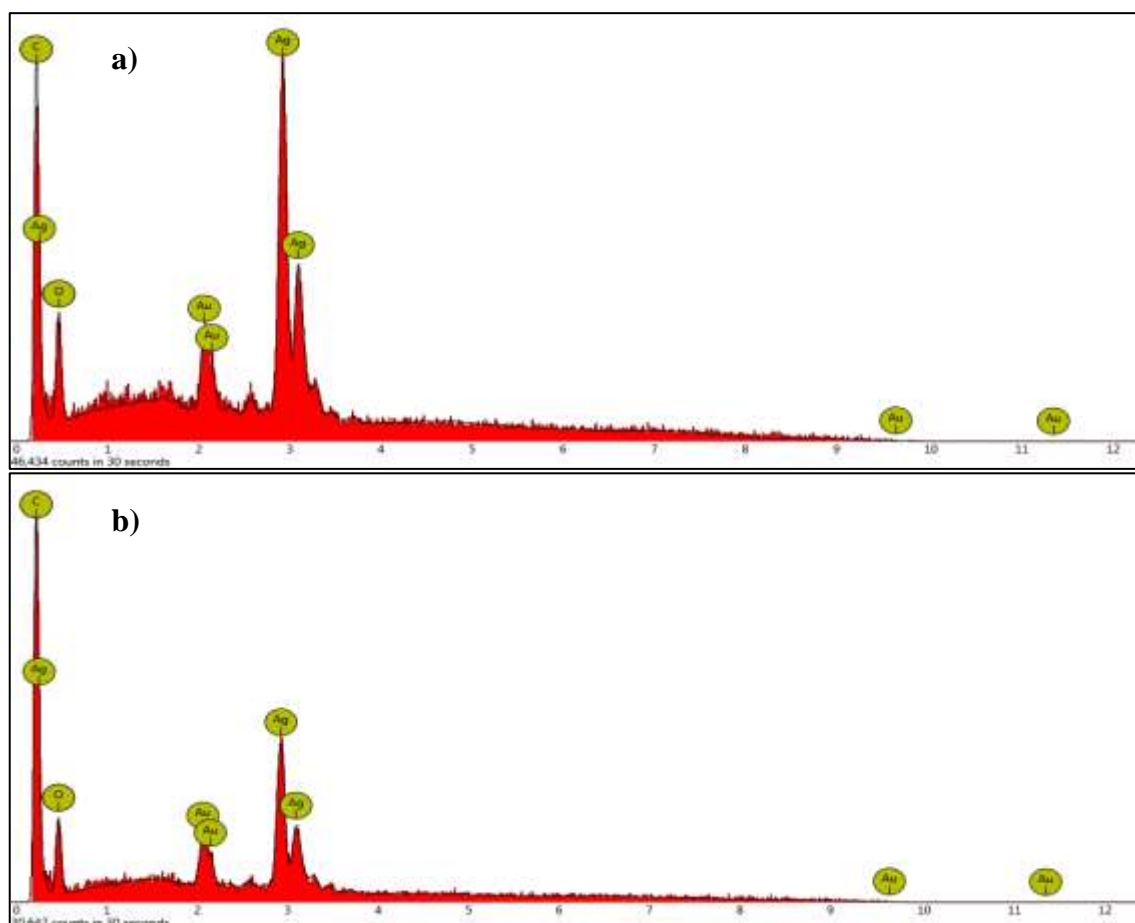


Figura 3.18. Imagen SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 3

Tabla 3.9. Análisis elemental Puntos 1 y 2 – Método 3

Número	Elemento	Símbolo	Punto 1		Punto 2		Promedio (%)
			Porcentaje (%)	Error (%)	Porcentaje (%)	Error (%)	
47	Plata	Ag	61,80	0,10	50,60	0,10	56,20
8	Oxígeno	O	20,20	0,10	25,50	0,30	22,85
79	Oro	Au	15,60	0,30	18,30	0,30	16,95
6	Carbón	C	2,30	1,00	5,60	1,20	3,95



**Figura 3.19. Espectro EDX nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 3**

**a) Punto 1      b) Punto 2**

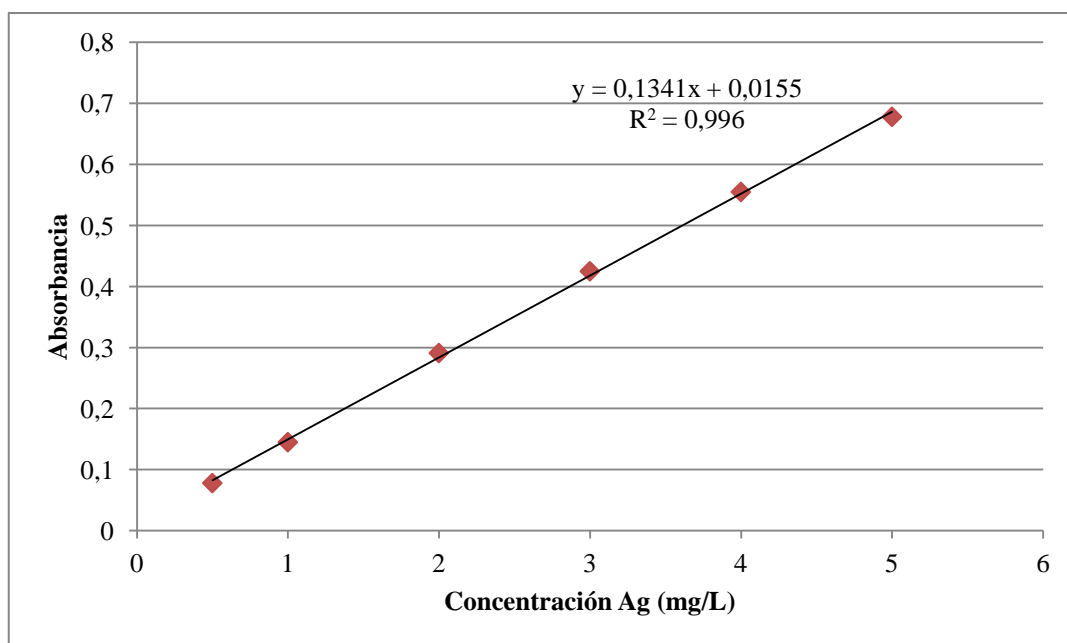
Al comparar los tres métodos de síntesis, según el análisis elemental por SEM-EDX, las nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 3 son las que mayor contenido de plata presentaron, siendo este valor igual a 56,20 %, mientras que, en los métodos 1 y 2 se obtuvo 39,90 y 40,60 %, respectivamente. El porcentaje de plata presente en las nanopartículas se considera importante para determinar la pureza de las mismas. Además, la ausencia de nitrógeno en las muestras analizadas indica la formación de nanopartículas de plata sin residuos de  $\text{NO}_3^-$ .

### 3.2.4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA (FAAS)

#### 3.2.4.1. ACONDICIONAMIENTO DEL MÉTODO

##### 3.2.4.1.1. CURVA DE CALIBRACIÓN

Con la espectroscopia de absorción atómica de llama se determinó la concentración de plata en las nanopartículas sintetizadas, para lo cual el método fue acondicionado previamente. En primer lugar, se construyó una curva de calibración (Figura 3.20), con los datos detallados en la Tabla 3.10.



**Figura 3.20. Curva de calibración para la determinación de Plata (Ag) en las nanopartículas sintetizadas**

**Tabla 3.10. Datos de la curva de calibración para la determinación de Plata (Ag) en las nanopartículas sintetizadas**

<b>Concentración Ag (mg/L)</b>	<b>Absorbancia (UA)</b>
0,500	0,078
1,000	0,145
2,000	0,291
3,000	0,425
4,000	0,555
5,000	0,678
<b>Coefficiente de correlación (R<sup>2</sup>)</b>	0,9996

3.2.4.1.2. REGRESIÓN LINEAL DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN, LINEALIDAD Y LÍMITES DE CONFIANZA

A continuación, en la Tabla 3.11 se muestran los componentes de la ecuación de la recta de regresión lineal además del intervalo de confianza.

**Tabla 3.11. Componentes de la ecuación de la recta de regresión lineal e intervalo de confianza de la recta para la determinación de plata en nanopartículas sintetizadas**

<b>Ecuación de la recta</b>	<b>y = 0,1341x + 0,0155</b>
<b>Pendiente (b)</b>	0,1341
<b>Ordenada (a)</b>	0,0155

<b>Desviación de y sobre x</b> ( $S_{y/x}$ )	0,0074	
<b>Desviación de la pendiente</b> ( $S_b$ )	0,0019	
<b>Desviación del intercepto</b> ( $S_a$ )	0,0058	
<b>Límites de confianza de la pendiente</b> $b = 0,1341 \pm 0,0053$	<b>Inferior</b> (LCPI)	0,1289
	<b>Superior</b> (LCPS)	0,1394
<b>Límites de confianza del intercepto</b> $a = 0,0155 \pm 0,0160$	<b>Inferior</b> (LCII)	- 0,0006
	<b>Superior</b> (LCIS)	0,0315

### 3.2.4.1.3. DETERMINACIÓN DE LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Para este estudio se realizaron mediciones de 10 blancos. En la Tabla 3.12, se detallan los valores obtenidos y la desviación estándar correspondiente para la determinación de los límites de detección y cuantificación.

**Tabla 3.12. Datos para la determinación de límites de detección y cuantificación**

<b>Blanco</b>	<b>Señal</b>	<b>Concentración</b>
1	0,010	- 0,041
2	0,008	- 0,056
3	0,008	- 0,056
4	0,007	- 0,063
5	0,008	- 0,056
6	0,008	- 0,056
7	0,008	- 0,056

8	0,008	- 0,056
9	0,008	- 0,056
10	0,007	- 0,063
	<b>Media</b>	- 0,056
	<b>Desv. estándar</b>	0,006
	<b>Límite de detección (LOD)</b>	0,018
	<b>Límite de cuantificación (LOQ)</b>	0,061

También se prepararon blancos reactivos para cada método, con el fin de demostrar que no existe influencia de estos en la concentración de plata en las nanopartículas sintetizadas. Según las Tablas 3.13, 3.14 y 3.15, se demuestra que los reactivos empleados en los tres métodos de síntesis no afectan a la concentración del analito.

**Tabla 3.13. Mediciones de blancos reactivos para el Método 1**

<b>Blanco</b>	<b>Señal</b>	<b>Concentración Ag (mg/L)</b>
1	0,003	< LOD
2	0,003	
3	0,003	
4	0,003	
5	0,003	

**Tabla 3.14. Mediciones de blancos reactivos para el Método 2**

<b>Blanco</b>	<b>Señal</b>	<b>Concentración Ag (mg/L)</b>
1	0,001	< LOD
2	0,001	
3	0,001	
4	0,001	
5	0,001	

**Tabla 3.15. Mediciones de blancos reactivos para el Método 3**

<b>Blanco</b>	<b>Señal</b>	<b>Concentración Ag (mg/L)</b>
1	0,001	< LOD
2	0,002	
3	0,002	
4	0,002	
5	0,002	

#### 3.2.4.1.4. FORTIFICACIONES DE PLATA

Se realizaron fortificaciones en dos puntos de la curva de calibración: 1,000 y 4,000 mg/L, como se muestra en las Tablas 3.16 y 3.17. Se obtuvieron porcentajes de recuperación de 97,75 y 100,67 %, respectivamente, con lo que se demuestra que el método es eficiente y adecuado para la cuantificación del analito.

**Tabla 3.16. Recuperación de plata, nivel bajo de la curva de calibración**

N°	Señal	Concentración Ag experimental (mg/L)	Concentración Ag teórica (mg/L)	Porcentaje de recuperación Ag (%)
1	0,151	1,010	1,000	101,03
2	0,146	0,973		97,30
3	0,144	0,958		95,81
4	0,145	0,966		96,56
5	0,147	0,980		98,05
			<b>Media</b>	<b>97,75 %</b>
			<b>Desv. estándar</b>	<b>2,01</b>

**Tabla 3.17. Recuperación de plata, nivel alto de la curva de calibración**

N°	Señal	Concentración Ag experimental (mg/L)	Concentración Ag teórica (mg/L)	Porcentaje de recuperación Ag (%)
1	0,562	4,059	4,000	101,49
2	0,560	4,059		101,49
3	0,551	3,992		99,81
4	0,551	3,992		99,81
5	0,556	4,030		100,74
			<b>Media</b>	<b>100,67 %</b>
			<b>Desv. estándar</b>	<b>0,84</b>

### 3.2.4.2. DETERMINACIÓN DE PLATA POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA (FAAS)

Dependiendo del método de síntesis, se diluyó la muestra de nanopartículas de plata sintetizadas. Para determinar la concentración final de plata se multiplicó el valor reportado por el equipo por el factor de dilución correspondiente. De las cinco muestras de AgNPs sintetizadas por cada método, se realizaron lecturas por duplicado. Los cálculos del rendimiento de las reacciones en cada tipo de síntesis se muestran en el Anexo 3 y se efectuaron en relación a la cantidad de plata que produce la reducción de 1 mol de  $\text{AgNO}_3$ .

La Tabla 3.18 muestra la concentración de plata según el Método 1, en el que se empleó borohidruro de sodio como agente reductor. Teóricamente a partir de 10 mL de una disolución 1 mM de  $\text{AgNO}_3$ , se producen 26,96 mg/L de plata. El promedio de las lecturas de concentración de plata fue 21,91 mg/L y el porcentaje de rendimiento de la reacción 81,21 %.

**Tabla 3.18. Concentración de plata según el Método 1 y rendimiento de la reacción**

Síntesis	Señal	Concentración Ag (mg/L)	Promedio Concentración Ag (mg/L)	Factor de dilución	Concentración Ag final (mg/L)		
1	0,147	0,98	0,97	25,00	24,23		
	0,144	0,96					
2	0,139	0,92	0,94		25,00	23,39	
	0,143	0,95					
3	0,124	0,81	0,80			25,00	20,04
	0,122	0,79					

4	0,120	0,779	0,80		19,96	
	0,125	0,816				
5	0,140	0,844	0,88		21,90	
	0,148	0,908				
					<b>Media</b>	<b>21,91</b>
					<b>Desv. estándar</b>	<b>1,93</b>
					<b>Rend. Rx</b>	<b>81,21 %</b>

La Tabla 3.19 muestra la concentración de plata según el Método 2, en el que se empleó citrato de sodio como agente reductor. Teóricamente, a partir de 500 mL de una disolución 1,061 mM de  $\text{AgNO}_3$ , se producen 112,06 mg/L de plata. En este caso, promedio de las lecturas de concentración de plata fue 104,62 mg/L y el porcentaje de rendimiento de la reacción 93,36 %.

**Tabla 3.19. Concentración de plata según el Método 2 y rendimiento de la reacción**

Síntesis	Señal	Concentración Ag (mg/L)	Promedio Concentración Ag (mg/L)	Factor de dilución	Concentración Ag final (mg/L)	
1	0,373	2,67	2,65	40,00	106,00	
	0,369	2,64				
2	0,355	2,53	2,54		101,56	
	0,357	2,55				
3	0,369	2,64	2,65		106,16	
	0,374	2,67				
4	0,393	2,81	2,78		111,24	
	0,384	2,75				
5	0,345	2,46	2,45		98,12	
	0,344	2,45				
					<b>Media</b>	<b>104,62</b>
					<b>Desv. estándar</b>	<b>4,99</b>
					<b>Rend. Rx</b>	<b>93,36 %</b>

La Tabla 3.20 muestra la concentración de plata según el Método 3, en el que se empleó extracto de ajo (*Allium sativum*) como agente reductor. Teóricamente, a partir de 50 mL de una disolución 2,36 mM de AgNO<sub>3</sub>, se producen 230,91 mg/L de plata. El promedio de las lecturas de concentración de plata fue 204,46 mg/L y el porcentaje de rendimiento de la reacción 88,54 %.

**Tabla 3.20. Concentración de plata según el Método 3 y rendimiento de la reacción**

Síntesis	Señal	Concentración Ag (mg/L)	Promedio Concentración Ag (mg/L)	Factor de dilución	Concentración Ag final (mg/L)
1	0,575	4,17	4,19	50,00	209,31
	0,579	4,20			
2	0,574	4,16	4,15		207,45
	0,57	4,13			
3	0,564	4,09	4,06		202,97
	0,556	4,03			
4	0,557	4,04	4,03		201,67
	0,556	4,03			
5	0,554	4,02	4,02		200,92
	0,555	4,02			
				<b>Media</b>	<b>204,46</b>
				<b>Desv. estándar</b>	<b>3,71</b>
				<b>Rend. Rx</b>	<b>88,54 %</b>

Al comparar los rendimientos de las síntesis efectuadas en este estudio son aceptables ya que se obtuvieron valores de 81,21 % en el Método 1, 93,36 % en el Método 2 y 88,54 % en el Método 3.

## CAPÍTULO IV

### 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se sintetizaron y caracterizaron nanopartículas de plata por reducción química usando nitrato de plata como precursor y tres agentes reductores, uno inorgánico y dos orgánicos (de naturaleza sintética y vegetal), estos incluyen el borohidruro de sodio (denominado Método 1), el citrato de sodio (Método 2) y el extracto de ajo (Método 3).

Mediante el Método 1, usando borohidruro de sodio como reductor, se obtuvieron nanopartículas esféricas monodispersas con tamaños entre 12 y 15 nm. En el análisis por espectroscopia UV-Vis se detectó que el pico de absorción característico se encuentra alrededor de los 394,2 nm, sugiriendo un tamaño de partícula de 10 a 14 nm, valor que fue corroborado por SEM. En el análisis elemental se encontró 39,90 % de plata. La concentración de plata medida por FAAS fue 21,91 mg/L y el porcentaje de rendimiento de la reacción 81,21 %.

Las nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 2, empleando citrato de sodio como agente reductor, presentaron forma esférica y agregación, con tamaño de partícula entre 50 y 100 nm. El espectro UV-Vis demostró la formación del pico de absorción máxima a una longitud de onda alrededor de los 427,6 nm. El análisis por FT-IR indicó la presencia de grupos hidroxilo y carboxilo en las nanopartículas formadas, por la aparición de bandas ubicadas a los  $3385\text{ cm}^{-1}$  y  $1646,92\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. En el análisis elemental se encontró un porcentaje de plata igual al 40,60 %. La concentración de plata determinada por FAAS fue 104,62 mg/L y el porcentaje de rendimiento de la reacción 93,36 %.

Con el Método 3 utilizando extracto de ajo (*Allium sativum*) como agente reductor, se obtienen nanopartículas agregadas con forma esférica y tamaños entre 35 y 70 nm. El espectro UV-Vis demostró la formación del pico de absorción máxima a una longitud de onda alrededor de los 422,0 nm. Con el análisis por FT-IR se evidenció la presencia de la banda de absorción del enlace S – C a los  $821,69\text{ cm}^{-1}$ , lo que sugiere que la S-alilcisteína componente del extracto de ajo, produce la reducción del  $\text{AgNO}_3$ . En el análisis elemental se encontró un porcentaje de plata igual a 56,20 %. La concentración de plata determinada por FAAS fue 204,63 mg/L y el porcentaje de rendimiento de la reacción 88,54 %.

Al comparar los tres métodos de síntesis, se concluye que el Método 1, usando el reductor inorgánico ( $\text{NaBH}_4$ ), es el más adecuado tomando en cuenta la morfología, monodispersidad y distribución de las nanopartículas.

Entre los reductores orgánicos, sintético y vegetal, a pesar de que las nanopartículas sintetizadas con citrato de sodio presentan mayor rendimiento de reacción, se sugiere que la reducción empleando extracto de ajo es la más conveniente por su tendencia hacia la “Química Verde”.

#### **4.2. RECOMENDACIONES**

Se sugiere complementar el estudio con técnicas instrumentales de caracterización tales como la Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) o la Microscopía de Fuerza Atómica (AFM), las cuales permitirán obtener más información sobre las propiedades que presentan estas nanopartículas.

Finalmente, se recomienda ensayar otros agentes reductores inorgánicos con los que se puede determinar la influencia de su naturaleza, en relación a las características de las nanopartículas de plata formadas.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Flores, C. (2014). *Nanopartículas de plata con potenciales aplicaciones en materiales implantables: síntesis, caracterización fisicoquímica y actividad bactericida*. Trabajo de Tesis Doctoral, Universidad Nacional de la Plata, Argentina, pp 1 – 78.
- [2] Galdiero, S., Falanga, A., Vitiello, M., Cantisani, M., Marra, V. & Galdiero, M. (2011). Silver Nanoparticles as Potential Antiviral Agents, *Molecules*, 16, pp 8894 – 8918.
- [3] Evanoff, D. & Chumanov, G. (2005). Synthesis and Optical Properties of Silver Nanoparticles and Arrays, *ChemPhysChem.*, 6, pp 1221 – 1231.
- [4] Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas, *An. Quím.*, 105, pp 33 – 41.
- [5] Leyva, G. (2013). Nanopartículas de plata: tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica, *Investigación en Discapacidad*, 2, pp 18 – 22.
- [6] Lee, P. & Meisel, D. (1982). Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols, *Phys. Chem.*, 86, pp 3391 – 3395.
- [7] Creighton, J., Blatchford, C. & Albrecht, M. (1979). Plasma Resonance Enhancement of Raman Scattering by Pyridine Adsorbed on Silver or Gold Sol Particles of Size Comparable to the Excitation Wavelength, *J. Chem.Soc. Farad. Trans. II*, 75, pp 790 – 798.
- [8] Velikov, K., Zegers, G. & Blaaderen, A. (2003). Synthesis and characterization of large colloidal silver particles, *Langmuir*, 19, pp 1384 – 1389.

- [9] Kurihara, L., Chow, G. & Schoen, P. (1995). Nanocrystalline Metallic Powders and Films Produced by The Polyol Method, *Nanostruct.Mater.*, 5, pp 607 – 613.
- [10] P. Raveendran, P., Fu, J. & Wallen, S. (2003). Completely "green" synthesis and stabilization of metal nanoparticles, *J. Am. Chem. Soc.*, 125, pp 13940 – 13941.
- [11] Yin, Y., Li, Z., Zhong, Z., Gates, B. & Xia, Y. (2002). Synthesis and Characterization of Stable Aqueous Dispersions of Silver Nanoparticles through the Tollens Process, *J.Mater. Chem.*, 12, pp 522 – 527.
- [12] Quang Huy T., Van Quy N. & Anh-Tuan L. (2013). Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives, *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.*, 4, pp 1 – 13.
- [13] Lee, D. & Kang, Y. (2004). Synthesis of silver nanocrystallites by a new thermal decomposition method and their characterization, *ETRI Journal*, 26, pp 252 – 256.
- [14] Jung, J., Cheol Oh, H., Soo Noh, H., Ji, J. & Soo Kim, S. (2006). Metal nanoparticle generation using a small ceramic heater with a local heating area, *Journal of Aerosol Science*, 37, pp 1662 – 1670.
- [15] Tien, D., Tseng, K., Liao, C., Huang, J. & Tsung, T. (2008). Discovery of ionic silver in silver nanoparticle suspension fabricated by arc discharge method, *Journal of Alloys and Compounds*, 463, pp 408 – 411.
- [16] Tseng, K., Lee, H., Liao, C., Chen, K. & Lin, H. (2013). Rapid and efficient synthesis of silver nanofluid using electrical discharge machining, *Journal of Nanomaterials*, 2013, pp 1 – 6.
- [17] Christy, A. & Umadevi, M. (2012). Synthesis and characterization of monodispersed silver nanoparticles, *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 3, pp 1 – 4.

- [18] Ghosh, S., Kundu, S., Mandal, M., Nath, S. & Pal, T. (2003). Studies on the evolution of silver nanoparticles in micelle by UV photoactivation, *Journal of Nanoparticle Research*, 5, pp 577 – 587.
- [19] Huang, L., Zhai, M. & Long, D. (2008). UV-induced synthesis, characterization and formation mechanism of silver nanoparticles in alkalic carboxymethylated chitosan solution, *Journal of Nanoparticle Research*, 10, pp 1193 – 1202.
- [20] Balan, L., Schneider, R., Turck, C., Lougnot, D. & Morlet-Savary, F. (2012). Photogenerating silver nanoparticles and polymer nanocomposites by direct activation in the near infrared, *Journal of Nanomaterials*, 2012, pp 1 – 6.
- [21] Sakamoto, M., Fujistuka, M. & Majima, T. (2009). Light as a construction tool of metal nanoparticles: synthesis and mechanism, *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 10, pp 33 – 56.
- [22] Suresh, A., Pelletier, D. & Wang, W. (2010). Silver nanocrystallites: biofabrication using shewanella oneidensis, and an evaluation of their comparative toxicity on gram-negative and gram-positive bacteria, *Environmental Science and Technology*, 44, pp 5210 – 5215.
- [23] Fayaz, A., Balaji, K., Girilal, M., Yadav, R., Kalaichelvan, P. & Venketesan, R. (2010). Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6, pp 103 – 109.
- [24] Thirumalai, V., Prabhu, D. & Soniya, M. (2010). Stable silver nanoparticle synthesizing methods and its applications, *Journal of Biosciences Research*, 1, pp 259 – 270.

- [25] Pugazhenthiran, N., Anandan, S., Kathiravan, G., Udaya Prakash, N., Crawford, S. & Ashokkumar, M. (2009). Microbial synthesis of silver nanoparticles by *Bacillus* sp, *Journal of Nanoparticle Research*, 11, pp 1811 – 1815.
- [26] Venkata, K. & Savithamma, N. (2013). Synthesis of silver nanoparticles and antimicrobial activity from *Cadaba fruticosa*—an important ethnomedicinal plant to treat Vitiligo of kurnool district, andhra Pradesh, *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 3, pp 1285–1292.
- [27] Liu, J. & Jiang, G. (2015). *Silver Nanoparticles in the Environment*, 1° edición, Springer International Publications, Suiza, pp 2 – 4.
- [28] Alarcon, E., Griffith, M. & Udekwu, K. (2015). *Silver Nanoparticle Applications: In the Fabrication and Design of Medical and Biosensing Devices*, 1° edición, Springer, New York, pp 2 – 4.
- [29] Haider, A. & Kang, I. (2015). Preparation of Silver Nanoparticles and Their Industrial and Biomedical Applications: A Comprehensive Review, *Advances in Materials Science and Engineering*, 2015, pp 1 – 17.
- [30] Agnihotri, S., Mukherjiabc, S. & Mukherji, S. (2014). Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy, *RSC Adv.*, 4, p 3974.
- [31] Yoon, K., Byeon, J., Park, C. & Hwang, J. (2008). Antimicrobial effect of silver particles on bacterial contamination of activated carbon fibers, *Environ. Sci. Technol.*, 42, p 1251.
- [32] Yakub, I. & Soboyejo, W. (2012). Adhesion of *E. coli* to silver -or copper- coated porous clay ceramic surfaces, *J. Appl. Phys.*, p 111.

- [33] De Gusseme, B., Sintubin, L., Baert, L., Thibo, E., Hennebel, T., Vermeulen, G., Uyttendaele, M., Verstraete, W. & Boon, N. (2010). Biogenic silver for disinfection of water contaminated with viruses, *Appl. Environ. Microb.*, 76, p 1082.
- [34] Mpenyana-monyatsi, L., Mthombeni, N. & Onyango, M. (2012). Cost-Effective Filter Materials Coated with Silver Nanoparticles for the Removal of Pathogenic Bacteria in Groundwater, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 9, p 244.
- [35] Kumar, A., Vemula, P., Ajayan, P. & John, G. (2008). Silver-nanoparticle-embedded antimicrobial paints based on vegetable oil, *Nature Mater*, 7, p 236.
- [36] Roe, D., Karandikar, B., Bonn-Savage, N., Gibbins, B. & Rouillet, J. (2008). Antimicrobial surface functionalization of plastic catheters by silver nanoparticles, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61, pp 869 – 876.
- [37] Jain, J., Arora, S., Rajwade, J., Omay, P., Khandelwal, S. & Paknikar, K. (2009). Silver nanoparticles in therapeutics: development of an antimicrobial gel formulation for topical use, *Mol. Pharm.*, 6, p 1388.
- [38] Samberg, M., Orndorff, P. & Monteiro-Riviere, N. (2011). Antibacterial efficacy of silver nanoparticles of different sizes, surface conditions and synthesis methods, *Nanotoxicology*, 5, pp 244 – 253.
- [39] Freeman, A., Halladay, L. & Cripps, P. (2012). The effect of silver impregnation of surgical scrub suits on surface bacterial contamination, *Vet. J.*, 192, p 489.
- [40] Arathi, S. (2011). *Synthesis, characterization and manipulation of Creighton silver nanoparticles for future cytotoxicity studies*, Tesis de masterado, Wright University, Estados Unidos, pp 2-13.

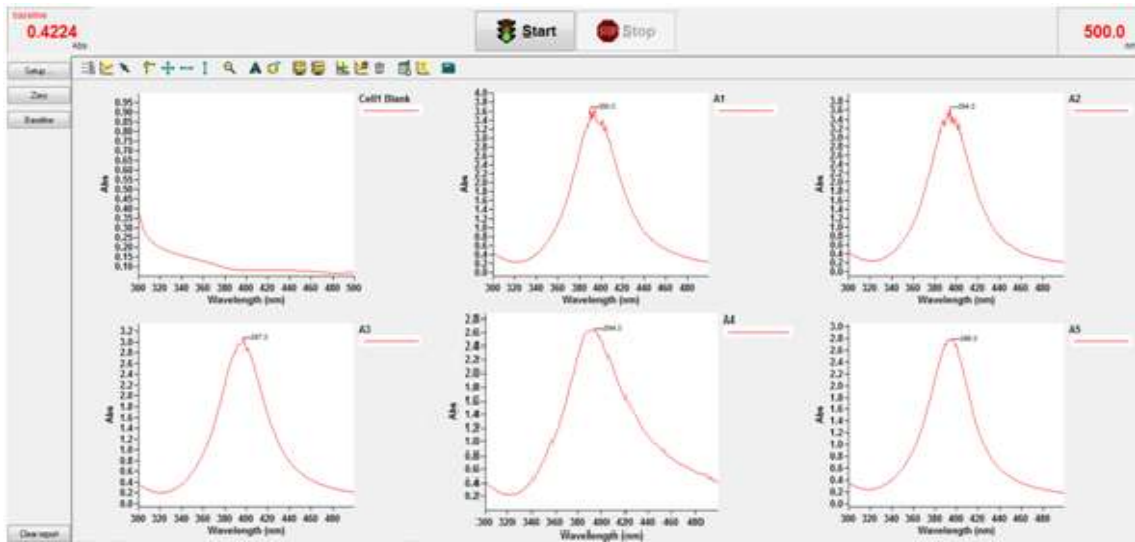
- [41] Bonsak, J. (2010). *Chemical synthesis of silver nanoparticles for light trapping applications in silicon solar cells*, Tesis de masterado, University of Oslo, Estados Unidos, pp 75 – 113.
- [42] Pradeep, T. (2012). *A Textbook of Nanoscience and Nanotechnology*, 1° edición, McGraw Hill, Nueva Deli, pp 887 – 893.
- [43] Cardeño, L. & Londoño, M. (2013). Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo, *Revista Soluciones de Postgrado EIA*, 12, pp 129 – 140.
- [44] Hernández, L. & González, C. (2002). *Introducción al análisis instrumental*, 1° edición, Editorial Ariel S.A., Barcelona, pp 46 – 47.
- [45] Olsen, E. (1990). *Métodos ópticos de análisis*, 1° edición, Editorial Reverté S.A., Barcelona, pp 114 – 147.
- [46] Willard, H., Merritt, L., Dean, J. & Settle, F. (1986). *Métodos instrumentales de análisis*, 1° edición, Compañía editorial continental, México, pp 29 – 34, 207 – 239.
- [47] Skoog, D., Holler, J. & Crouch, S. (2008). *Principios de análisis instrumental*, 6° edición, Cengage learning, México, pp 231 – 250, 430 – 477.
- [48] Sierra, I., Pérez, D., Gómez, S. & Ruiz, Morante, S. (2010). *Análisis Instrumental, Volumen 1*, 1° edición, Netbiblo, S.L., España, pp 75 – 80.
- [49] Hernández, H. & Espejo, E. (2002). *Mecánica de fractura y análisis de falla*, 1° edición, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, pp 238 – 240.
- [50] Skoog, D., West, M. & Holler, J. (1997). *Fundamentos de química analítica, Volumen 2*, 4° edición, Editorial Reverté S.A., Barcelona, pp 615 – 624.

- [51] Eurachem (2005). *Métodos analíticos adecuados a su propósito, Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*, 2° edición, México, pp 17-33.
- [52] Arias, M. (2008). *Desarrollo de procedimientos para la validación de métodos de análisis de metales en agua por espectrometría de absorción atómica*, Proyecto de grado, Escuela Politécnica del Ejército, Ecuador, pp 12 – 36.
- [53] Remache, A. (2013). *Validación de métodos para el análisis de metales en diferentes matrices por espectrofotometría de absorción atómica*, Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador, Ecuador, pp 43 – 46.
- [54] Kadir, A., Joseph, R., Lakowicz & Geddes C.D. (2005). Rapid deposition of triangular silver nanoplates on planar surfaces: application to metal-enhanced fluorescence, *J. Phys. Chem. B.*, 109, pp 6247 – 6251.
- [55] Lakshmanan, B. (1956). *Infrared Absorption Spectrum of Sodium Citrate*, Trabajo de investigación, Indian Institute of Science, India, pp 28-29.
- [56] Rastogi, L. & Arunachalam, J. (2013). Green synthesis route for the size controlled synthesis of biocompatible gold nanoparticles using aqueous extract of garlic (*Allium sativum*), *Advanced Material Letters*, 4, pp 548 – 555.
- [57] Bönemann, H. & Richards, R. (2001). Nanoscopic metal particles – synthetic methods and potential applications, *European Journal of Inorganic Chemistry*, 10, pp 2455 – 2480.
- [58] Sharma, V., Yngard, R. & Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities, *Advances in Colloid and Interface Science*, 145, pp 83 – 96.

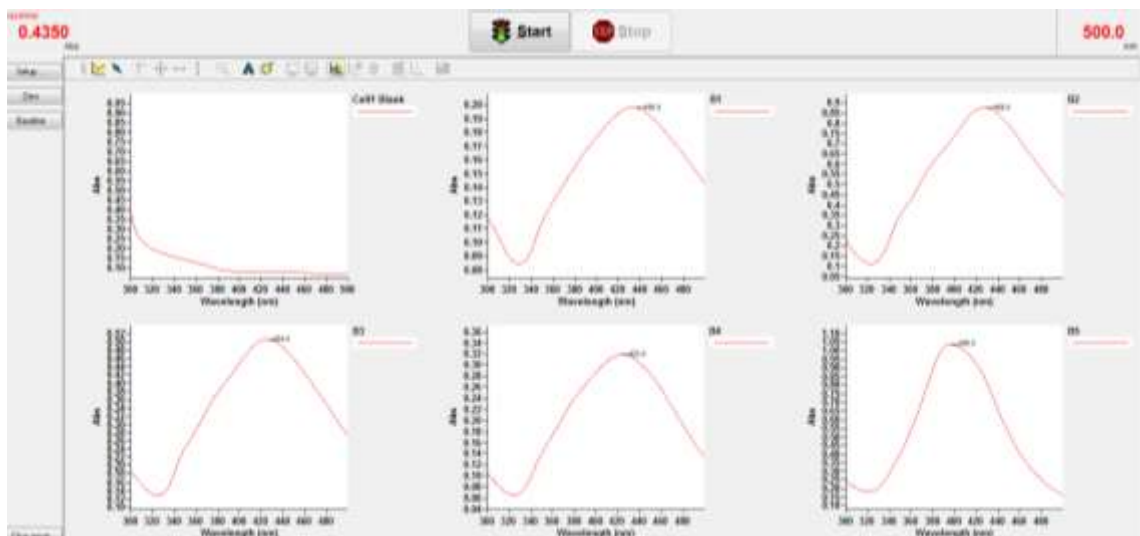
# ANEXOS

## Anexo 1. Espectros UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas

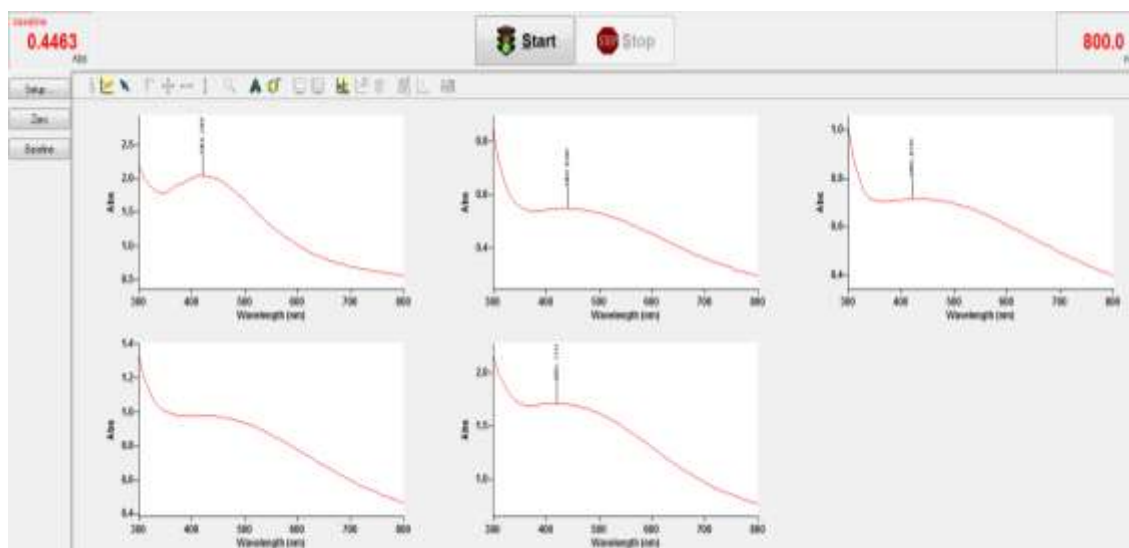
### Método 1 – Reducción con Borohidruro de Sodio



### Método 2 – Reducción con Citrato de sodio



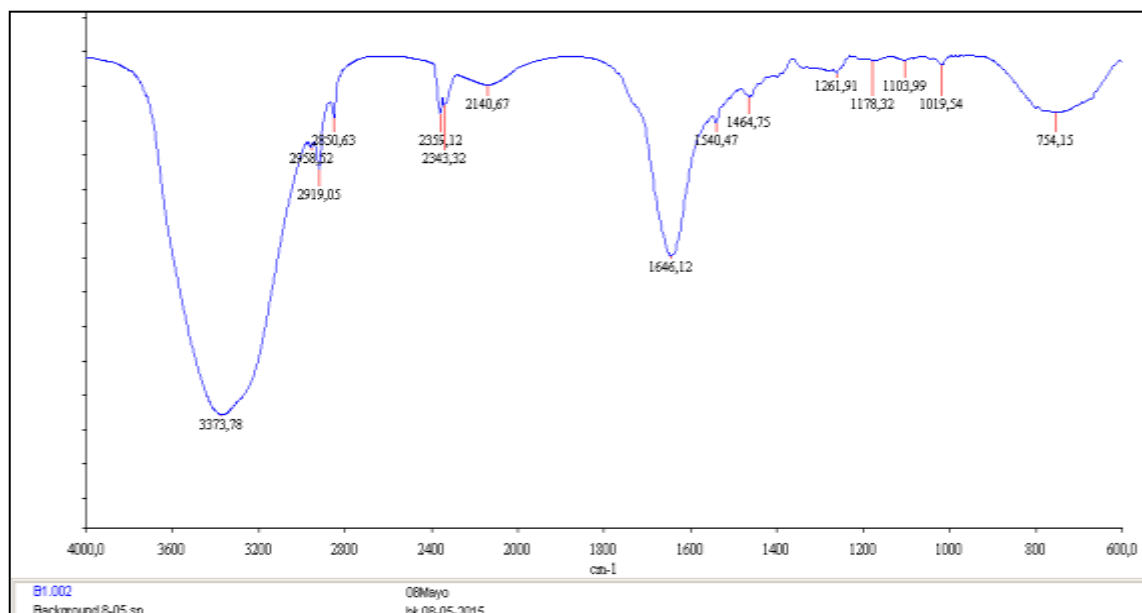
### Método 3 – Reducción con extracto de ajo



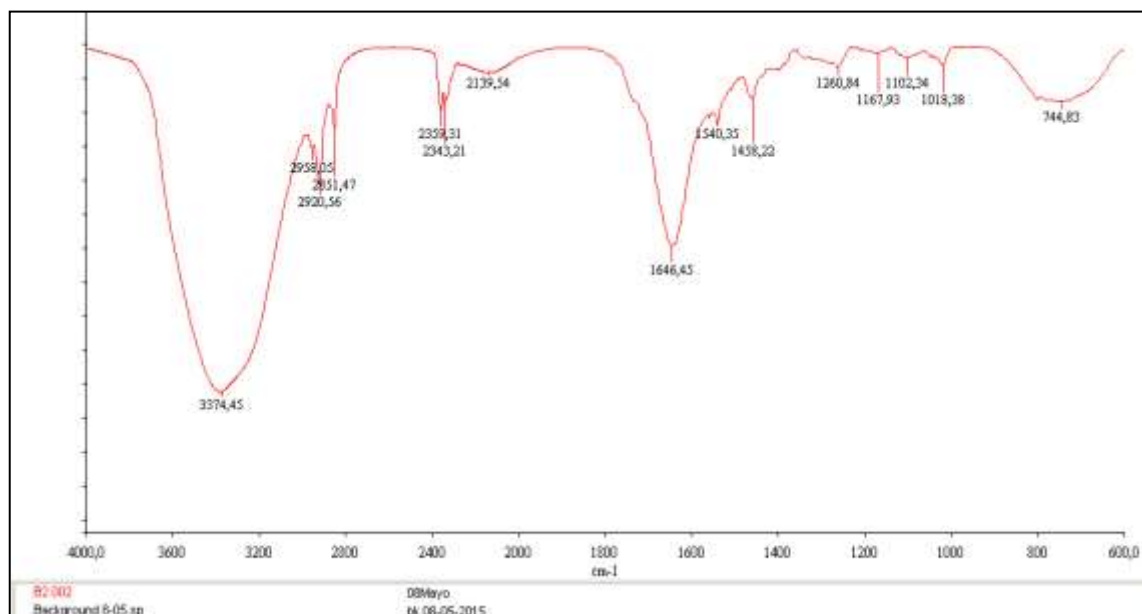
## Anexo 2. Espectros FT-IR de las nanopartículas de plata sintetizadas

### Método 2 – Reducción con citrato de sodio

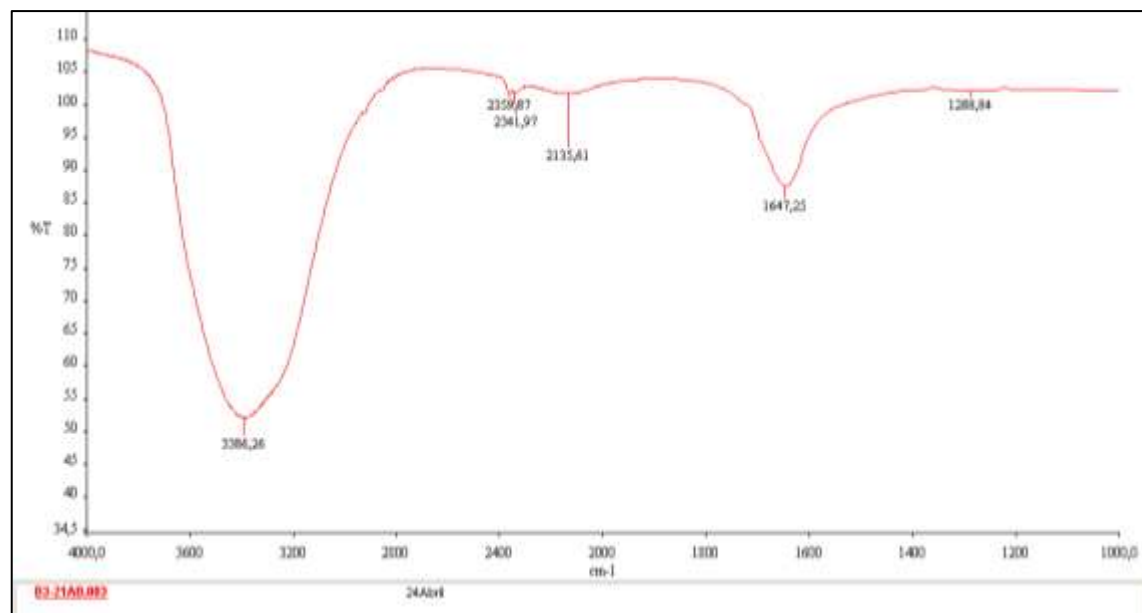
#### Síntesis 1



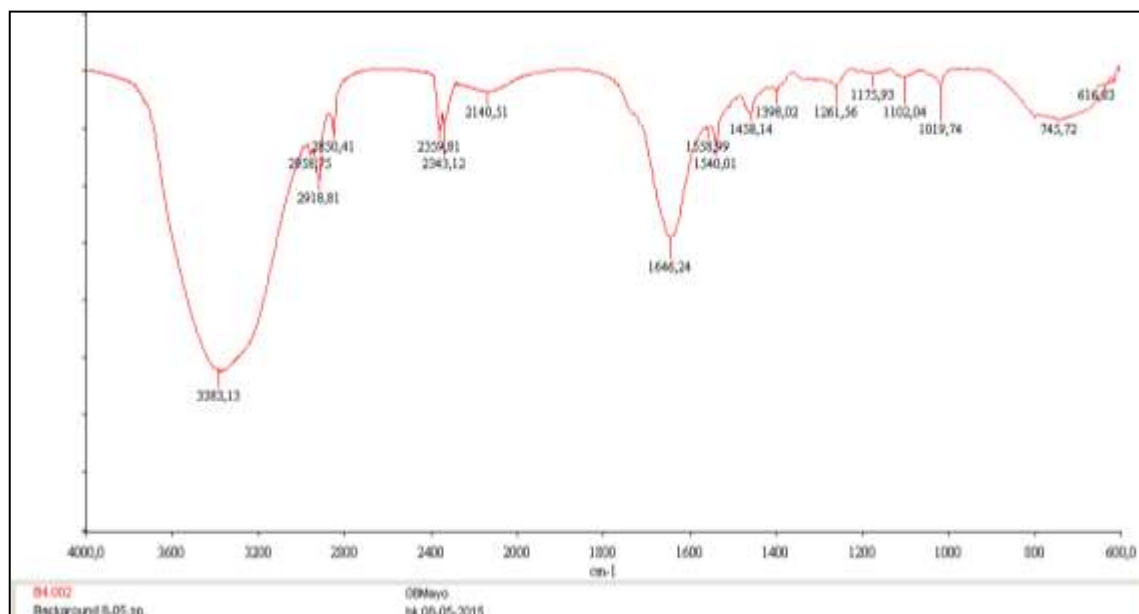
## Síntesis 2



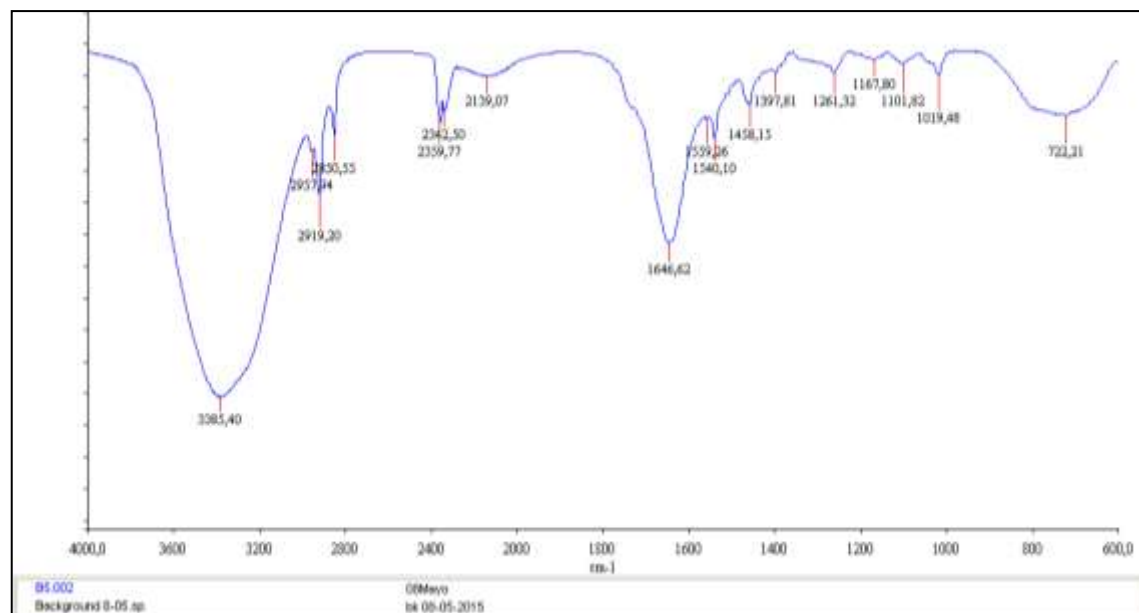
## Síntesis 3



## Síntesis 4

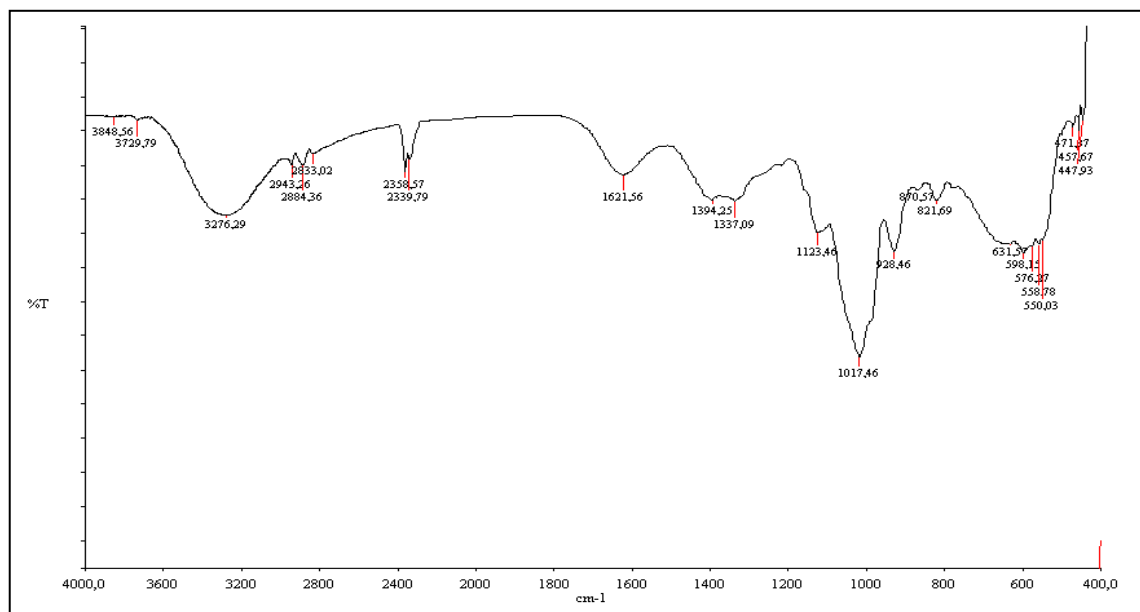


## Síntesis 5

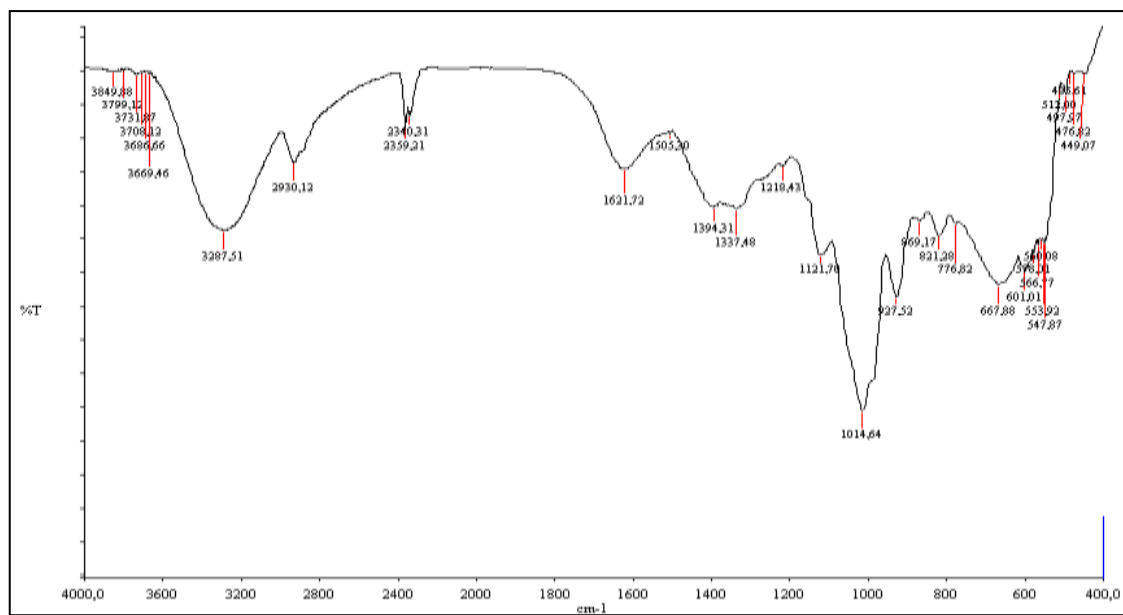


## Método 3 – Reducción con extracto de ajo

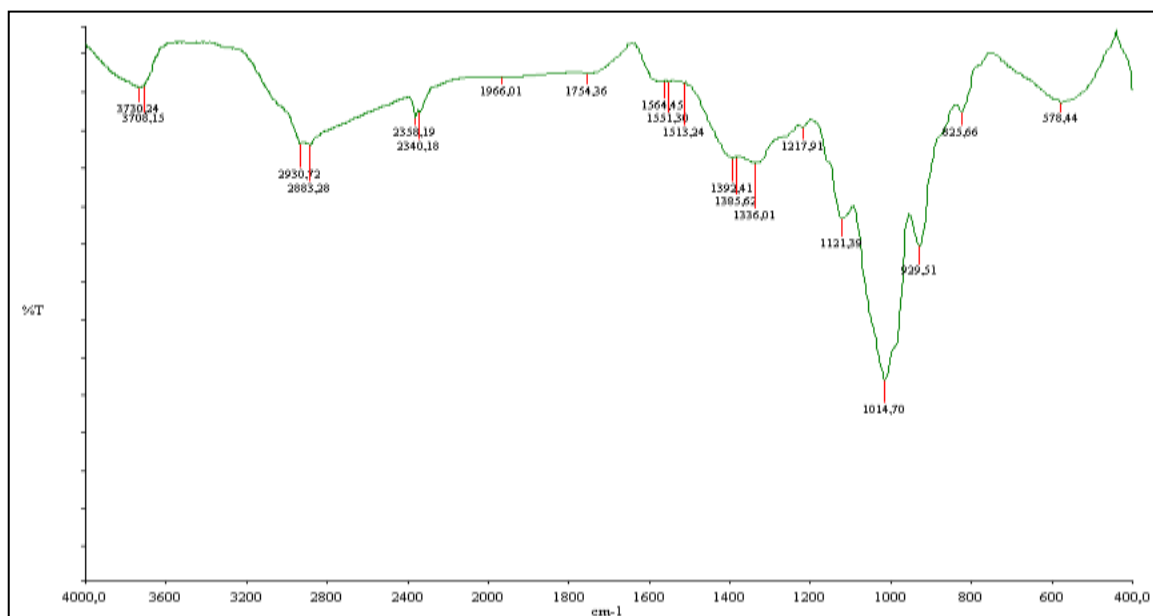
### Síntesis 1



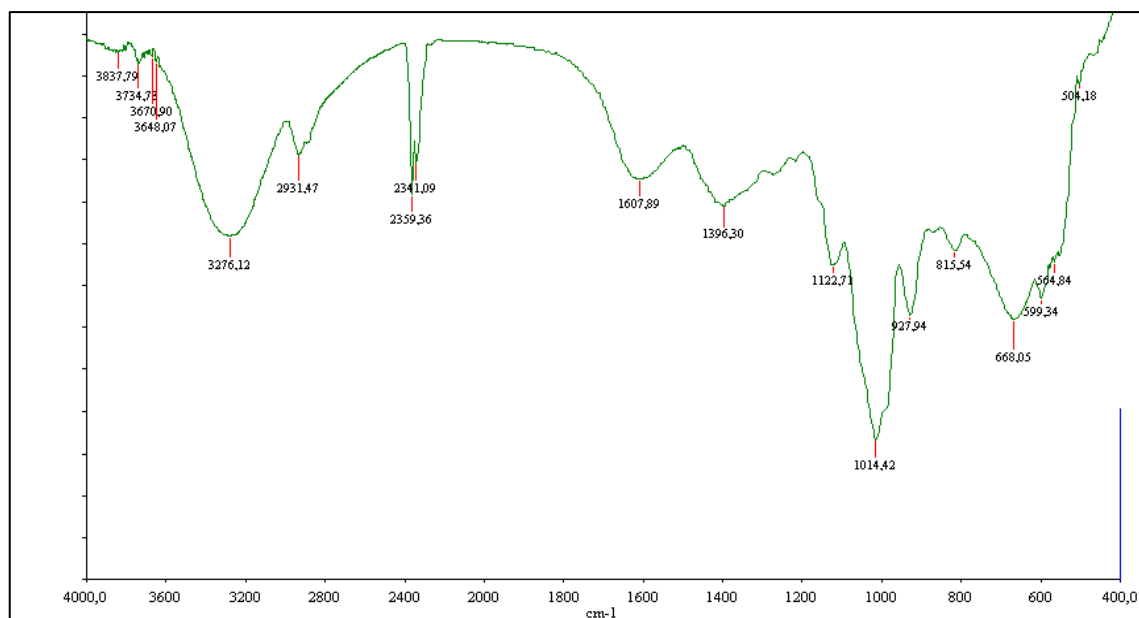
### Síntesis 2



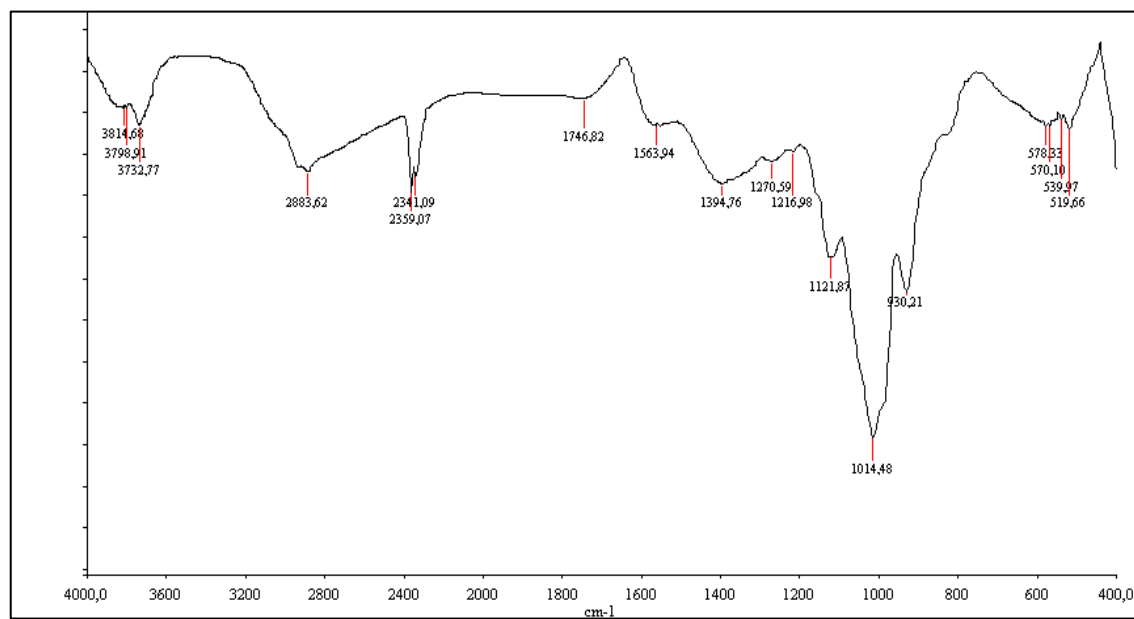
### Síntesis 3



### Síntesis 4



## Síntesis 5



### Anexo 3. Cálculos para determinar el rendimiento de las reacciones

#### Método 1

10 mL de  $\text{AgNO}_3$  1 mM = 1,6987 mg  $\text{AgNO}_3$  =  $1,6987 \times 10^{-3}$  g  $\text{AgNO}_3$

$$\begin{array}{l} 169,87 \text{ g AgNO}_3 \\ 1,6987 \times 10^{-3} \text{ g AgNO}_3 \end{array} \quad \begin{array}{l} 107,87 \text{ g Ag} \\ x = \frac{1,6987 \times 10^{-3} \text{ g AgNO}_3 (107,87 \text{ g Ag})}{169,87 \text{ g AgNO}_3} = 1,0787 \times 10^{-3} \text{ g Ag} \end{array}$$

$$\begin{array}{l} 40 \text{ mL sol.} \\ 1000 \text{ mL} \\ \text{Ag} \end{array} \quad \begin{array}{l} 1,0787 \times 10^{-3} \text{ g Ag} \\ x = \frac{1000 \text{ mL} (1,0787 \times 10^{-3} \text{ g Ag})}{40 \text{ mL sol.}} = 0,02696 \text{ g Ag/L} = 26,960 \text{ mg/L} \end{array}$$

$$\begin{array}{l} 26,96 \text{ mg/L Ag} \\ 21,91 \text{ mg/L Ag} \end{array} \quad \begin{array}{l} 100 \% \\ x = \frac{21,91 \text{ mg/L Ag} (100 \%)}{26,96 \text{ mg/L Ag}} = \mathbf{81,21 \%} \end{array}$$

#### Método 2

500 mL de  $\text{AgNO}_3$  1,061 mM = 90 mg  $\text{AgNO}_3$  = 0,09 g  $\text{AgNO}_3$

$$\begin{array}{l} 169,87 \text{ g AgNO}_3 \\ 0,09 \text{ g AgNO}_3 \end{array} \quad \begin{array}{l} 107,87 \text{ g Ag} \\ x = \frac{0,09 \text{ g AgNO}_3 (107,87 \text{ g Ag})}{169,87 \text{ g AgNO}_3} \end{array}$$

$$\begin{array}{ll}
 510 \text{ mL sol.} & 0,057 \text{ g Ag} \\
 1000 \text{ mL} & x = \frac{1000 \text{ mL } (0,057 \text{ g Ag})}{510 \text{ mL sol.}} = 0,11206 \text{ g Ag/L} = 112,06 \text{ mg/L Ag}
 \end{array}$$

$$\begin{array}{ll}
 112,06 \text{ mg/L Ag} & 100 \% \\
 104,62 \text{ mg/L Ag} & x = \frac{104,62 \text{ mg/L Ag } (100 \%)}{112,06 \text{ mg/L Ag}} = \mathbf{93,36 \%}
 \end{array}$$

### Método 3

$$50 \text{ mL de AgNO}_3 \text{ 2,36 mM} = 20 \text{ mg AgNO}_3 = 0,02 \text{ g AgNO}_3$$

$$\begin{array}{ll}
 169,87 \text{ g AgNO}_3 & 107,87 \text{ g Ag} \\
 0,02 \text{ g AgNO}_3 & x = \frac{0,03 \text{ g AgNO}_3 (107,87 \text{ g Ag})}{169,87 \text{ g AgNO}_3} = 0,0127 \text{ g Ag}
 \end{array}$$

$$\begin{array}{ll}
 55 \text{ mL sol.} & 0,0127 \text{ g Ag} \\
 1000 \text{ mL} & x = \frac{1000 \text{ mL } (0,0127 \text{ g Ag})}{55 \text{ mL sol.}} = 0,23091 \text{ g Ag/L} = 230,91 \text{ mg/L Ag}
 \end{array}$$

$$\begin{array}{ll}
 230,91 \text{ mg/L Ag} & 100 \% \\
 204,46 \text{ mg/L Ag} & x = \frac{204,46 \text{ mg/L Ag } (100 \%)}{230,91 \text{ mg/L Ag}} = \mathbf{88,54 \%}
 \end{array}$$

## **PARA GRADOS ACADÉMICOS DE LICENCIADOS (TERCER NIVEL)**

### **PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

#### **DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN**

Yo, Vanessa Estefanía Escobar Falconí, C.I. 1725393753, autor del trabajo de graduación intitulado: “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)”, previa a la obtención del grado académico de LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos del autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 28 de octubre de 2015

Srta. Vanessa Escobar

C.I. 1725393753