



**ESPE**

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA  
AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO  
DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

**TEMA: “Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata a partir del  
extracto de fruto de carrasquilla (*Berberis hallii*) y evaluación de su actividad  
fotocatalítica”**

**AUTORA: ARROYO PARDO, GEOVANNA VICTORIA**

**DIRECTOR: ING. CUMBAL FLORES, LUIS HERIBERTO, PhD.**

**SANGOLQUÍ**

**2018**



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**CERTIFICACIÓN**

Certifico que el trabajo de titulación, “*SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA A PARTIR DEL EXTRACTO DE FRUTO DE CARRASQUILLA (BERBERIS HALLII) Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD FOTOCATALÍTICA*” fue realizado por la Srta. *Arroyo Pardo, Geovanna Victoria* el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 10 de Septiembre del 2018



Ing. Luis Heriberto Cumbal Flores, PhD

DIRECTOR

C. C. 1703553097



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**AUTORIA DE RESPONSABILIDAD**

Yo, *Arroyo Pardo, Geovanna Victoria*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: ***“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA A PARTIR DEL EXTRACTO DE FRUTO DE CARRASQUILLA (BERBERIS HALLII) Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD FOTOCATALÍTICA”*** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 10 de Septiembre del 2018

Geovanna Victoria Arroyo Pardo

AUTOR

C. C. 1716169535



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**AUTORIZACIÓN**

Yo, *Arroyo Pardo, Geovanna Victoria* autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: ***“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA A PARTIR DEL EXTRACTO DE FRUTO DE CARRASQUILLA (BERBERIS HALLII) Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD FOTOCATALÍTICA”*** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 10 de Septiembre del 2018



Geovanna Victoria Arroyo Pardo

AUTOR

C. C. 1716169535

## **DEDICATORIA**

A Dios por permitirme continuar los estudios con perseverancia y fortalecer conocimientos para poder culminar mi carrera profesional.

A mi familia, quienes han servido de apoyo para mi desarrollo personal y quienes me han brindado amor y paciencia en todo momento, gracias.

A mis grandes amigos, con quienes he compartido risas y malos momentos. Son quienes dejan su huella en el transcurso de mi vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Ing. Luis Cumbal y al Dr. Alexis Debut responsables del Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT) y del Laboratorio de Caracterización de Nanomateriales de la Universidad de las Fuerzas Armadas- ESPE quienes me brindaron su acogida y facilitaron el uso de reactivos y equipos para la realización de este proyecto, sobre todo por su aportación de conocimientos, experiencia, confianza y continuo interés.

A las doctoras Blanca Naranjo y Yolanda Angulo, por su paciencia y por encaminarme en el trabajo realizado, sus enseñanzas marcaron tanto mi formación profesional como personal.

A las ingenieras Karla Vizuite y Carina Stael por su guía y conocimiento en el trayecto de la realización del proyecto, además de su gran amistad.

A mis familiares y amigos por su entereza para alcanzar la meta, con resultados satisfactorios.

Geovanna Arroyo

## ÍNDICE DE CONTENIDO

CERTIFICACIÓN .....	i
AUTORIA DE RESPONSABILIDAD.....	ii
AUTORIZACIÓN.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS .....	v
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS .....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT .....	x
CAPITULO 1 .....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....	1
1.2 JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN .....	4
1.3.1 Objetivo general .....	4
1.3.2 Objetivos específicos.....	4
1.4 HIPÓTESIS.....	4
1.5 MARCO TEÓRICO.....	5
1.5.1 Extracto de especies vegetales .....	5
1.5.2 Metabolitos secundarios .....	5
Clasificación de los metabolitos secundarios.....	5
1.5.3 Extracción de metabolitos secundarios .....	7
1.5.4 Carrasquilla .....	7
Composición Química.....	8
Utilidad.....	9
1.5.2 Nanopartículas de plata (AgNPs).....	9
1.5.3 Caracterización de las nanopartículas de plata.....	11
CAPÍTULO 2 .....	14
METODOLOGÍA .....	14
2.1 PREPARACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD EN EL TIEMPO DEL MATERIAL VEGETAL.....	14
2.1.1 Actividad antioxidante del extracto.....	15
2.2 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA UTILIZANDO EXTRACTO VEGETAL COMO AGENTE REDUCTOR-PROTECTOR Y EVALUACIÓN DE ESTABILIDAD EN EL TIEMPO. ....	16
2.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA .....	17
2.3.1. Técnicas de Caracterización.....	17
2.2.2 Estabilidad de nanopartículas.....	23
2.4 DEGRADACIÓN DE COLORANTES ASISTIDO POR NANOPARTÍCULAS DE PLATA .....	23

2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	26
2.5.1 Síntesis de Nanopartículas .....	27
2.5.2 Degradación Fotocatalítica.....	28
2.6 VARIABLES Y FACTORES.....	29
2.6.1 Variable de respuesta .....	29
2.6.2 Factores controlables.....	30
2.6.3 Factores no controlables.....	30
2.6.4 Error aleatorio y experimental.....	30
<b>CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>31</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>31</b>
3.1 PREPARACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD EN EL TIEMPO DEL MATERIAL VEGETAL.....	31
3.1.1 Actividad antioxidante .....	34
3.2 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA UTILIZANDO EXTRACTO VEGETAL COMO AGENTE REDUCTOR-PROTECTOR Y EVALUACIÓN DE ESTABILIDAD EN EL TIEMPO. ....	38
3.2.1 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN.....	40
3.3 DEGRADACIÓN DE COLORANTES ASISTIDA POR NANOPARTÍCULAS DE PLATA PREPARADAS CON $AgNO_3$ Y CARRASQUILLA .....	59
3.3.1 Azul de metileno (MB) .....	60
3.3.2 Safranina (S).....	65
3.3.3 Azul de metileno y Safranina (MB) y (S) .....	68
<b>CAPÍTULO 4 .....</b>	<b>71</b>
4.1 CONCLUSIONES.....	71
4.2 RECOMENDACIONES .....	73
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>74</b>



**ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1</b> <i>Condiciones de trabajo para la lectura en DLS.</i> .....	18
<b>Tabla 2</b> <i>Estudio de concentración vs pH.</i> .....	27
<b>Tabla 3</b> <i>Tratamientos y niveles de degradación de contaminantes sintéticos.</i> .....	28
<b>Tabla 4</b> <i>Tratamientos y niveles de degradación de contaminantes sintéticos.</i> .....	29
<b>Tabla 5</b> <i>Estabilidad del extracto vegetal, evaluación de pH al transcurso de 60 días.</i> .....	32
<b>Tabla 6</b> <i>Ensayo de TCP del extracto macerado de carrasquilla</i> .....	35
<b>Tabla 7</b> <i>Ensayo de DPPH del extracto macerado de Carrasquilla</i> .....	36
<b>Tabla 8</b> <i>Estudio de concentración 20mg/mL vs pH</i> .....	41
<b>Tabla 9</b> <i>Valores obtenidos para AgNPs, mediante voltametría cíclica</i> .....	57

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura química de antocianina y su clasificación.....	6
<b>Figura 2.</b> Distribución geográfica de <i>B. hallii</i> .....	7
<b>Figura 3.</b> Flores de <i>B. hallii</i> .....	8
<b>Figura 4.</b> Estructura Azul de metileno .....	12
<b>Figura 5.</b> Estructura Safranina.....	13
<b>Figura 6.</b> Depósito de muestras en el portaobjetos para su posterior XRD .....	20
<b>Figura 7.</b> Exposición de muestras a la lámpara solar .....	26
<b>Figura 8.</b> a) Recolección del fruto de Carrasquilla, b) Concentrado del macerado del fruto y c) Secado total del concentrado.....	31
<b>Figura 9.</b> Estabilidad del extracto vegetal, observación UV-vis al transcurso de 60 días. ....	33
<b>Figura 10.</b> Espectro UV-vis de los polifenoles y estabilidad del fruto carrasquilla.....	34
<b>Figura 11.</b> Porcentaje de inhibición de radicales libres DPPH para carrasquilla y AgNPs en solución AgNO <sub>3</sub> 10mM. ....	37
<b>Figura 12.</b> Porcentaje de síntesis de AgNPs vs pH y estabilidad.....	39
<b>Figura 13.</b> Observación UV-vis de las nanopartículas según el estudio concentración vs pH12,5. ....	40
<b>Figura 14.</b> Observación UV-vis de las nanopartículas según el estudio concentración 20mg/mL vs variación de pH (a.pH7, 5; b.pH9, 5; c.pH12, 5). ....	41
<b>Figura 15.</b> Cinética de crecimiento de nanopartículas de plata con 1mM y 10mM de precursor (AgNO <sub>3</sub> ). ....	42
<b>Figura 16.</b> Purificación y estabilidad en el tiempo de 1a) AgNPs con solución AgNO <sub>3</sub> 1mM, 2a) con la cinética de estabilidad Abs vs tiempo y 1b) AgNPs con solución AgNO <sub>3</sub> 10mM, 2b) con la cinética de estabilidad Abs vs tiempo.....	44
<b>Figura 17.</b> Histograma de nanopartículas de plata preparadas con solución de AgNO <sub>3</sub> 1mM y 10mM, realizados con DLS.....	45
<b>Figura 18.</b> Histograma de nanopartículas de plata con solución de AgNO <sub>3</sub> a) 1mM y b) 10mM, realizados en Nanoscan. ....	46
<b>Figura 19.</b> XRD de las nanopartículas de plata preparadas con solución de AgNO <sub>3</sub> a) 1mM y b) 10mM. ....	48
<b>Figura 20.</b> Imágenes STEM de nanopartículas de plata con solución de AgNO <sub>3</sub> a) 1mM y b) 10mM. ....	51
<b>Figura 21.</b> Imagen SEM de nanopartículas de plata con solución de AgNO <sub>3</sub> 10mM.....	52
<b>Figura 22.</b> Voltametría cíclica del extracto carrasquilla con un potencial de -1,2 a 1,2 V. ....	53
<b>Figura 23.</b> Grupo funcional catequina, antocianidina básica .....	54
<b>Figura 24.</b> Voltametría cíclica del extracto respecto a las nanopartículas preparadas con soluciones de AgNO <sub>3</sub> 1mM y 10mM con un potencial de -1,2 a 1,2 V.....	55
<b>Figura 25.</b> a) Estimación del GAP, de la primera derivada del UV-vis de las AgNPs preparadas con solución de AgNO <sub>3</sub> 1mM de la Fig 16a, valor de Gap 3,03eV, b) estimación HOMO, del voltamperograma de la Fig. 24, valor HOMO: 5,08. ....	56

<b>Figura 26.</b> Visualización de la degradación del colorante (MB) asistida por AgNPs preparadas con solución de $\text{AgNO}_3$ (10mM) 0,20mg/mL. ....	60
<b>Figura 27.</b> Visualización de la degradación del colorante (MB) asistida por AgNPs preparadas con solución de $\text{AgNO}_3$ (1mM) 0,17mg/mL. ....	61
<b>Figura 28.</b> Visualización de la degradación del colorante (MB) asistida por AgNPs preparadas con soluciones de $\text{AgNO}_3$ (1mM y 10mM). ....	62
<b>Figura 29.</b> Cinética lineales de MB + AgNPs: a) AgNPs preparadas con solución de $\text{AgNO}_3$ 1mM, modelo de primer orden, b) AgNPs preparadas con solución de $\text{AgNO}_3$ 10mM, modelo de primer orden .....	63
<b>Figura 30.</b> Acción catalítica entre un extracto vegetal y MB (electron relay effect) .....	65
<b>Figura 31.</b> Visualización de la degradación del colorante (S) asistido de AgNPs preparadas con solución de $\text{AgNO}_3$ (10mM) 0,05mg/mL.....	66
<b>Figura 32.</b> Visualización de la degradación del colorante (S) asistida por AgNPs preparadas con solución de $\text{AgNO}_3$ (10mM). ....	66
<b>Figura 33.</b> Cinética lineal de S + AgNPs en solución de $\text{AgNO}_3$ 10mM. Modelo de primer orden.....	67
<b>Figura 34.</b> Visualización de la degradación del colorante (MB) + (S) asistido por AgNPs preparadas con solución de $\text{AgNO}_3$ (10mM) 0,1mg/mL. ....	68
<b>Figura 35.</b> Visualización de la degradación del colorante (MB) + (S) asistida por AgNPs preparadas con solución de $\text{AgNO}_3$ (10mM). ....	69
<b>Figura 36.</b> Cinética lineal de S+MB + AgNPs en solución de $\text{AgNO}_3$ 10mM. Modelo de segundo orden .....	70

## RESUMEN

En esta investigación se prepararon nanopartículas de plata (AgNPs) empleando el extracto de carrasquilla (*Berberis hallii*) mediante control de pH e incubación en baño María, a dos diferentes concentraciones del precursor (1mM y 10mM de AgNO<sub>3</sub>). Para evaluar la estabilidad del extracto se utilizó UV-vis y se comprobó que la carrasquilla permanece estable durante dos meses. La técnica de Difracción de Rayos X (XRD) fue empleada para evaluar la estructura de las nanopartículas, éstas mostraron una estructura cristalina centrada en la cara (fcc). En cambio mediante técnicas de microscopía y dispersión dinámica de luz (DLS) se determinó que el tamaño promedio de las partículas preparadas con una concentración de precursor de 1mM, fue de  $36,77 \pm 20,9$ nm, y aquellas preparadas con una solución 10mM de AgNO<sub>3</sub>, tuvieron  $26,32 \pm 16,10$ nm. A continuación, el extracto y las nanopartículas se utilizaron para degradar azul de metileno (10mg/L), safranina (10mg/L) y la mezcla de ambos colorantes (10mg/L) en muestras de agua. Se encontró, que la degradación de azul de metileno (MB) fue 92,27%, usando 0,2mg/mL de AgNPs (10mM) y 83,71% aplicando 0,17mg/mL de AgNPs (1mM). Mientras la degradación de la safranina, aplicando 0,05mg/mL de AgNPs (10mM) fue del 57,24%. Adicionalmente, en el ensayo con la mezcla de ambos colorantes, se usaron 0,1mg/mL de AgNPs (10mM) y se alcanzó una degradación del 85,71% para MB y del 52,94% para S. Los resultados de la investigación demuestran que las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de carrasquilla degradan eficientemente los colorantes sintéticos, de tal forma que a futuro, estos nanomateriales pueden ser aplicados en la remediación de efluentes de distintas industrias.

## PALABRAS CLAVE

- MATERIAL NANOESTRUCTURADO
- NANOPARTÍCULA
- COLORANTE SINTÉTICO
- EXTRACTO VEGETAL
- FOTOCATÁLISIS

## ABSTRACT

In this study silver nanoparticles (AgNPs) were prepared using the carrasquilla extract (*Berberis hallii*) by pH control and incubation in a water bath at two different precursor concentrations (1mM and 10mM AgNO<sub>3</sub>). UV-vis was used to evaluate the stability of the extract and was proven that carrasquilla remains stable during two months. The X-Ray Diffraction (XRD) technique was used to assess the structure of the nanoparticles, silver particles shown a face-centered crystalline structure (fcc). While using techniques of microscopy and dynamic light scattering (DLS), it was proven that the average size of the particles prepared with a precursor concentration of 1mM was  $36.77 \pm 20.9\text{nm}$ , and with a 10mM solution of AgNO<sub>3</sub> was  $26.32 \pm 16.10\text{nm}$ . Next, the extract and the nanoparticles were used to degrade methylene blue (10mg/L), safranin (10 mg/L) and the mixture of both dyes (10mg/L) in water samples. It was found that the degradation of methylene blue (MB) was 92.27%, with 0.2 mg / ml of AgNPs (10 mM) and a removal of 83.71% by applying 0.17 mg / ml of AgNPs (1 mM). Whereas the degradation of safranin, applying 0.05 mg/mL of AgNPs (10mM) was 57.24%. Additionally, 0.1 mg/mL of AgNPs (10 mM) were used for the test with the mixture of both dyes. It was reached a degradation of 85.71% for MB of and 52.94% for S. The results of the research show that silver nanoparticles synthesized with carrasquilla extract efficiently degrade synthetic dyes. Therefore, in the near future, these nanomaterials could be used in the remediation of contaminated effluents of a few industries.

## KEYWORDS

- **NANOSTRUCTURED MATERIAL**
- **NANOPARTICLE**
- **SYNTHETIC DYE**
- **PLANT EXTRACT**
- **PHOTOCATALYSIS**

## CAPITULO 1

### INTRODUCCIÓN

#### 1.1 Formulación del problema

El proceso de producción de la industria textil requiere del uso de grandes volúmenes de agua en cada uno de sus procesos que posteriormente se convierten en aguas residuales cargadas de cantidades importantes de colorantes sobrantes durante el tinturado. La mayoría de colorantes son altamente polares, poco volátiles y extremadamente resistentes a los procesos de biodegradación, por lo que estos compuestos constituyen un riesgo potencial para los organismos acuáticos y terrestres así como también una generación colateral de resistencia microbiana (Li et al., 2013).

Con la aplicación de nanopartículas inorgánicas se podría remediar las aguas contaminadas con colorantes sintéticos, debido a que algunas presentan propiedades físico-químicas que les proveen de características catalíticas. La preparación de las nanopartículas se basa en la reducción de sales metálicas gracias a la acción de agentes reductores químicos o de especies biológicas como son los vegetales (García, Rodríguez, Luis, & Pereira, 2015)).

Por otro lado, en la síntesis de nanopartículas se han usado agentes reductores que son nocivos para el ambiente, de manera que la alternativa al uso de estos químicos es emplear material de origen natural como especies vegetales (flor, fruto, hojas, semillas) en forma de extractos con alto poder antioxidante que permitan la reducción del metal para la generación de nanoestructuras

estables. Los extractos vegetales son un recurso disponible, económico y que no genera subproductos en el ambiente. La variación en la concentración de los extractos permite controlar el tamaño en la síntesis de nanopartículas (García et al., 2015).

Las tecnologías para degradar los colorantes son muy diversas y sus eficiencias son igualmente variadas. La degradación de colorante empleando catalizadores utilizando el sol como fuente de energía es una técnica que ha sido probada con relativo éxito porque por ejemplo el  $\text{TiO}_2$  requiere UV para operar satisfactoriamente, porque la energía prohibida para este material es de 3,2 eV. Entonces, se requieren catalizadores que utilicen fotones de más baja energía de la luz solar (rango visible). En esta investigación se propone el uso de nanopartículas de plata para aprovechar la energía solar en la producción de pares electrón-hueco, los que a su vez generan radicales libres en la superficie del catalizador ( $^*\text{OH}$ ,  $^*\text{O}_2^-$ ) (Zanella, 2012) y oxidan a los colorantes presentes en las aguas residuales de la industria textil (Moncayo, 2010).

## **1.2 Justificación del problema**

Las plantas sintetizan una gran cantidad de sustancias por lo que se les considera la fuente natural de compuestos químicos más importantes que existe. Entre ellas se encuentran a los metabolitos primarios que son esenciales para la supervivencia del organismo como las proteínas, lípidos, carbohidratos, entre otros, y los metabolitos secundarios como alcaloides, antocianinas, terpenos, compuestos fenólicos, etc., que intervienen en funciones de interacción con el ambiente (Ávalos *et al.*, 2008).

Las antocianinas, pertenecientes al grupo de los flavonoides, son metabolitos secundarios encargados de la protección de la planta y además son las sustancias responsables de otorgar colores rojos, azules, morados en frutos, flores y hojas. Estas sustancias eran antiguamente utilizadas en la elaboración de colorantes naturales usados comúnmente en la elaboración de alimentos, tinción de prendas de vestir e incluso como tintes de cabello y piel. Actualmente estas sustancias naturales están siendo nuevamente son utilizadas para reemplazar los colorantes sintéticos en diversas aplicaciones (Del Carpio *et al.*, 2009).

Por otro lado, el desarrollo de la nanociencia y la nanotecnología producido durante el presente siglo ha demostrado que los materiales a pequeña escala (nanoescala) se comportan de forma diferente a los macroelementos permitiendo así ampliar el horizonte de aplicación de los nanomateriales.

Entre los Nanomateriales más explorados están las nanopartículas, estas pueden ser sintetizadas a partir de metales nobles, como por ejemplo la plata (Ag). Durante miles de años la plata ha sido utilizada en joyería, o para fines higiénicos y médicos gracias a sus propiedades antimicrobianas, antivirales y fungicidas, (Monge, 2009). Las nanopartículas de plata (AgNPs) poseen propiedades que no se observan en muestras macroscópicas de plata.

Estudios recientes revelan que las AgNPs tienen una excelente actividad fotocatalítica porque inducen el efecto de resonancia de plasmón superficial bajo la acción de luz solar y evitan la recombinación de pares electrones ( $e^-$ ) y huecos ( $h^+$ ), Los  $e^-$  y  $h^+$  separados interactúan con el oxígeno disuelto y con el agua, respectivamente y produciendo sustancias reactivas oxigenadas



(\*O<sub>2</sub><sup>-</sup> y OH\*), que favorecen la degradación de contaminantes orgánicos disueltos en el agua (Durán et al., 2015).

### **1.3 Objetivos de la investigación**

#### **1.3.1 Objetivo general**

Sintetizar y caracterizar nanopartículas de plata a partir de extracto de Carrasquilla (*Berberis hallii*) y evaluación de su actividad fotocatalítica en tintes textiles.

#### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Obtener el extracto pigmentado de carrasquilla mediante maceración con un solvente polar.
- Establecer las condiciones óptimas para la síntesis de nanopartículas usando el pigmento de carrasquilla.
- Caracterizar las muestras obtenidas utilizando técnicas espectroscópicas, microscópicas y de difracción.
- Evaluar el porcentaje de degradación fotocatalítica de colorantes sintéticos asistida por nanopartículas de plata.

### **1.4 Hipótesis**

La utilización de extractos de plantas como la Carrasquilla (*Berberis hallii*) constituyen una alternativa eficiente para la síntesis verde de nanopartículas de plata que pueden ser aplicados en la degradación fotocatalítica de colorantes orgánicos sintéticos presentes en los efluentes de aguas residuales de empresas textiles ecuatorianas.

## **1.5 Marco Teórico**

### **1.5.1 Extracto de especies vegetales**

Los extractos vegetales se distinguen de acuerdo a su consistencia y a la naturaleza química de sus principios activos presentes. La obtención de los principios activos se realiza mediante disolventes que dependen del procedimiento técnico (Carrión & García, 2010).

### **1.5.2 Metabolitos secundarios**

Los metabolitos secundarios son los productos naturales vegetales únicos o relacionados en cada especie vegetal que se adoptan para cumplir funciones ecológicas para la planta tales como su supervivencia atrayendo polinizadores, impidiendo la competencia con otras plantas y cuidado de predadores y también son materia prima para el hombre para la síntesis de nuevos compuestos útiles (Ringuelet & Viña, 2013).

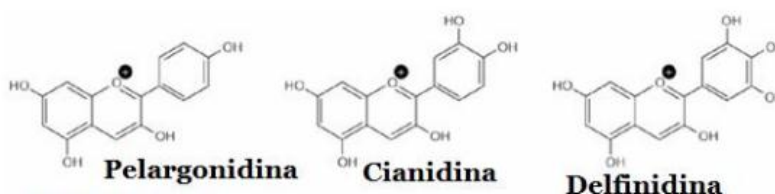
#### **Clasificación de los metabolitos secundarios**

De acuerdo al origen biosintético, a sus características estructurales comunes y propiedades de solubilidad estos compuestos se clasifican en:

**Compuestos fenólicos:** Son compuestos indispensables para las funciones fisiológicas de las plantas y otros son de utilidad para protección contra patógenos externos y estrés como la radiación UV y los depredadores. Son los encargados de la coloración y características sensoriales de plantas y alimentos.

En su estructura contiene un grupo hidroxilo libre o unido a uno o más anillos aromáticos, lo que se denomina fenol. El anillo aromático le da su propiedad antioxidante, con actividad biológica como antiparasitarios, citotóxicos (*Ibíd.*).

Las antocianinas son responsables de color rojo, naranja, azul, violeta de flores y frutos. El color está dado de acuerdo al número de grupos hidroxilo y metoxilo en el anillo B y del pH en las vacuolas que se almacenan. La pelargonidina de color rojo-naranja se encuentra en la absorción de  $\lambda 520\text{nm}$ , la cianidina con color rojo-púrpura está en  $\lambda 524\text{nm}$  y la delfinidina de color azul-púrpura está en  $\lambda 546\text{nm}$  (Garzón, 2008).



**Figura 1.** Estructura química de antocianina y su clasificación.  
Fuente: (Garzón, 2008)

**Terpenoides:** Son de origen liposoluble con la unidad estructural del isopreno y biosintéticamente asociados a la vía del ácido mevalónico o a la vía gliceraldehído fosfato-ácido pirúvico, dependiendo de la clase de terpenoides en cuestión (Ringuelet & Viña, 2013).

**Alcaloides:** Son compuestos solubles en agua, de carácter básico, que contienen uno o varios átomos de nitrógeno en su molécula, en su mayoría formando parte de un anillo heterocíclico y exhiben propiedades farmacológicas importantes a dosis bajas y que responden a reacciones de precipitación (Ringuelet & Viña, 2013).

**Glicósidos:** Se refiere al enlace glicosídico de una molécula de azúcar condensada con otra que contiene un grupo hidroxilo. Existen tres grupos: las saponinas, glicósidos cardiacos, glucosidos cianogénicos (Ávalos et al., 2009).

### 1.5.3 Extracción de metabolitos secundarios

La extracción de los metabolitos secundarios consiste en la maceración de la muestra vegetal en la que se disuelve su principio activo hasta producir un concentrado en equilibrio con la del contenido celular (Carrión & García, 2010).

### 1.5.4 Carrasquilla

La Carrasquilla (*Berberis hallii*) es un arbusto, espinoso que se extiende en los páramos arbustivos de los Andes y están a una altitud de 2400m (De la Torre et al., 2000).



**Figura 2.** Distribución geográfica de *B. hallii*.  
Fuente: (De la Torre et al., 2000)

Son hojas alternas, de hoja caduca, margen entero, con ramas secundarias entrenudos, con flores bisexuales amarillas-anaranjadas y el fruto es una drupa negro-morada, pruinosa de 5 a 15mm de largo, siendo esférica (Biocomercio Andino, 2017).



**Figura 3.** Flores de *B. hallii*.  
Fuente: (Biocomercio Andino, 2017)

Berberis es un género de 500 especies de arbustos perennes con formación dimórfica, sus hojas no desempeñan el papel de fotosíntesis, evolucionando en espinas triples de 3 a 30mm.

### **Composición Química**

El fruto de la Carrasquilla contiene: x dextrosa, glucosa, levulosa, fructosa, ácido málico y tartárico, goma, pectina, vitamina C. Contiene antocianinas; delphinidina-3glucósido, cianidina-3 glucósido, peonidina-3 glucósido, malvidina-3 glucósido. Que otorga color rojos y morados (Carrión & García, 2010).

## Utilidad

La Carrasquilla posee propiedades medicinales, alimenticias, textiles y jardinería. Con sus frutos se hacen jugos, son alimento de aves y también son utilizados en confituras, además se usa para curar enfermedades de los riñones (Carrión & García, 2010).

### *Actividad antioxidante del extracto*

Los frutos contienen muchos compuestos bioactivos asociados con una fuerte actividad antioxidante. Ambos ensayos destacan la propiedad antioxidante de los extractos como excelentes donadores de átomos de hidrógeno o electrones.

- Ensayo DPPH: Los radicales libres son determinados por 2,2diphenyl-1-picrylhydrazyl para los extractos y las AgNPs (Kumar et al., 2014).
- Ensayo TCP (Total phenolic content): Se determinara por el método colorimétrico con el reactivo Folin-Ciocalteu (FC) (Quispe-Fuentes et al., 2013).

### **1.5.2 Nanopartículas de plata (AgNPs)**

## Generalidades

Las nanopartículas poseen una dimensión entre 1-100 nm. Los metales en forma de nanomateriales exhiben un control preciso de acuerdo a su forma, aplicable a una gama de propiedades físico químicas como a la catálisis, electrónica, fotografía, fotónica, detección, imágenes y la medicina (Xia, Xiong, Lim, & Skrabalak, 2009).

La síntesis de nanopartículas metálicas puede generarse en varios medios: en fase gaseosa, en solución, soportada sobre un sustrato o incrustada en una matriz y también dentro de una célula bacteriana. Las estrategias de síntesis se pueden dividir en tres categorías: métodos físicos, síntesis químicas y procesos mecánicos (Atavilla y Ciliberto, 2010). También pueden agruparse en dos categorías, las aproximaciones «de arriba hacia abajo» que consiste en la división de sólidos en partes pequeñas y las «de abajo hacia arriba» que puede considerarse la condensación de átomos por medio de una solución (Rao et al., 2004; Schmid, 2004).

El método de síntesis escogido es de abajo hacia arriba partiendo como precursor de un metal de transición, como Ag, debido a que muestran actividad catalítica para reacciones orgánicas e inorgánicas.

### **Síntesis Verde de Nanopartículas de Plata**

La síntesis bioquímica o biológica de nanopartículas de metales es una reacción redox y ocurre gracias a la capacidad reductora de los componentes celulares o extracelulares como proteínas, carbohidratos, ácidos orgánicos, fenoles y otros metabolitos, que llevan al elemento a la forma metálica con carga cero, según se muestra en la siguiente ecuación (Ju, Narr, & Narr, 2016).



La reducción inicial de iones metálicos induce a la formación de centros de nucleación e incorporación de lugares vecinos a la nucleación que origina las distintas morfologías de la nanopartícula (Ju, Narr, & Narr, 2016).

### **1.5.3 Caracterización de las nanopartículas de plata**

#### **Técnicas de caracterización**

El desarrollo de técnicas de espectroscopía permite la caracterización y métodos de medición de nanopartículas. Las técnicas son de espectroscopía (UV-vis, infrarrojo, Raman, EDS), técnicas de difracción (XRD), microscopía (TEM, STEM, HRTEM, SEM, STM) (Piimentel et al., 2014), las pruebas electroquímicas del extracto y AgNps se caracterizan por la aplicación de una perturbación de potencial en forma de variación lineal con el tiempo. Los límites del barrido de potencial varían según el material electrodico y el tipo de disolvente utilizado (Sánchez C., n.d.).

#### **Estabilidad de nanopartículas**

La estabilidad de las nanopartículas puede ser monitoreada mediante características químicas como: el pico de absorbancia, el cual debe estar en el rango establecido; el color de la solución, debe mantenerse estable, la distribución del tamaño y morfología debe ser constante en el tiempo, evitando aglomeración (Zanella, 2012).

#### **Actividad fotocatalítica**

Existen muchas especies químicas que pueden actuar catalíticamente cuando se disuelven en una fase líquida en la que se encuentran uno o más de los reactantes, estos catalizadores pueden ser: un protón, un ion hidroxilo, una sal o un complejo organometálico (Zanella, 2012) o nanopartículas útiles en sistemas de purificación de agua (Arunachalam et al., 2012). Tanto la reactividad como la selectividad de un catalizador pueden ser adoptadas por el control de la forma



de la nanoestructura ya que el número de átomos situados en los bordes o esquinas, tienen un efecto profundo en el rendimiento catalítico (Xia et al., 2009).

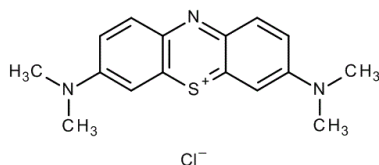
Actualmente, los colorantes utilizados en la industria textil son mayoritariamente moléculas sintéticas que incluyen en su estructura grupos azo, antraquinona, oxazina, tiazina o estilbena (Carrión et al., 2010). A continuación se describen dos grupos de tinturas sintéticas:

### Grupo Tiazina

Un grupo tiazina contienen un anillo de cuatro átomos de carbono, un nitrógeno y un azufre. Desde el punto de vista químico se consideran un derivado tiano de la azina, como ejemplo es el azul de metileno (Bautista Suárez, 2011).

#### Azul de metileno

El azul de metileno en la forma catiónica, alta solubilidad, brillo y resistencia de este colorante, justifican su amplio uso en la industria textil, para la tinción de algodón, seda y madera (Hormaza, Moreno, & Figueroa, 2013). Se utiliza también como un agente anti-malaria y un agente quimioterapéutico. Además, se utiliza en microbiología, cirugía y campo de diagnóstico (Edison & Sethuraman, 2012).



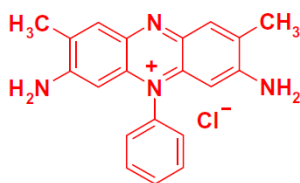
**Figura 4.** Estructura Azul de metileno  
Fuente: (Edison & Sethuraman, 2012)

## Grupo Diazina

Son compuestos heterocíclicos aromáticos que presentan dos nitrógenos pirimidínicos en su estructura, como ejemplo es la safranina (León, 2013).

### Safranina

La Safranina se encuentra en forma catiónica soluble en agua, colorante orgánico muy utilizado en histología, citología y también en la industria textil, se presenta con relativo bajo costo (Mokashi et al., 2012).



**Figura 5.** Estructura Safranina  
Fuente: (León, 2013)

## CAPÍTULO 2

### METODOLOGÍA

#### 2.1 Preparación y evaluación de la estabilidad en el tiempo del material vegetal

En esta investigación se recolectó el fruto Carrasquilla (*Berberis hallii*), del barrio de San Francisco de Jijón perteneciente al cantón Rumiñahui- Ecuador, en el mes de Marzo del 2016. Se realizó la limpieza de ramas y bichos adheridos a la carrasquilla con el fin de dejar el fruto fresco, entero y limpio. La preparación del fruto consistió en tres lavados con agua ultrapura y luego fueron licuados en metanol-ácido clorhídrico ( $\text{CH}_3\text{OH}$ -  $\text{HCl}$  1N) en una proporción 9:1. La muestra de peso 168,58g fue colocada en Erlenmeyers de 250ml de capacidad y se esperó 72h y posteriormente se filtró con papel Whatman de 125mm cada 24 horas con el fin de absorber todo el pigmento y dejar el resto del solido pálido.

La muestra filtrada se vertió en un balón previamente pesado y se colocó en el rotavapor marca Buchi R-210, bajo presión de 60mbar, temperatura de 40°C y a 125rpm hasta lograr la concentración del extracto y recuperación del solvente. Para obtener el extracto deshidratado se utilizó Clorometano ( $\text{CH}_3\text{Cl}$ ) que usó como agente extractante de grasas, realizando luego una filtración al vacío para remover todo el extracto impregnado en el balón. El material resultante 12,038g se dejó en un desecador y posteriormente fue triturado con la ayuda de un mortero cada día hasta obtener un polvo homogenizado.

Además, se evaluó la estabilidad del extracto durante dos meses. Se empleó un extracto con una concentración de 20mg/mL, que consiste en pesar 0,5g y diluir en agua destilada, aforado a 25mL. Se sónico 1min 30seg en un sonicador vertical marca Ultrasonic Processor en intervalos de tiempo 30s on y 30s off, lo cual permitió su homogenización convirtiéndolo en un material listo para la síntesis verde de nanopartículas.

### **2.1.1 Actividad antioxidante del extracto**

El poder reductor de la carrasquilla fue determinado por su capacidad antioxidante total mediante los ensayos TCP y DPPH.

**Ensayo TCP (Total phenolic content):** El contenido de fenoles del extracto fue cuantificado usando el cambio de color producido por la oxidación de compuestos fenólicos, utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu (FC) y siguiendo la metodología de Shahidi y Naczk (1995). El extracto (0,5mL de 5mg/mL) o el estándar fenólico más el reactivo de Folin Ciocalteu (5mL; 1:10 diluido en agua destilada) y bicarbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (4mL, 1M). Las soluciones fueron calentadas en baño María a 45°C, 15 min. Se leyó la absorbancia a 765nm.

#### Curva de calibración

La curva estándar se preparó usando 0, 50, 100, 150, 200 y 250mg/L de ácido gálico en metanol-agua (50:50 v/v), pues el contenido de fenoles se expresa en equivalentes de ácido gálico (mg/g masa seca) (McDonald, Prenzler, Antolovich, & Robards, 2001).

**Ensayo DPPH:** Para la evaluación de la actividad antioxidante del extracto se utilizó el método del radical libre DPPH. Este método se fundamenta en la reducción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) en la 2,2-difenil-1-picril hidrazina por la acción antioxidante de componentes del extracto que contienen grupos –OH, los que decoloran dicho reactivo. Con este objetivo, una muestra de material vegetal fresco con concentración de 5mg/ml se dejó en maceración en metanol (CH<sub>3</sub>OH) 24 horas antes (Zhang and Hamazu, 2004). Al día siguiente se tomó una alícuota de 1.5mL de 0.1 mM del radical DPPH, más 0.5mL del extracto macerado (5mg/mL) y el control de 2mL de CH<sub>3</sub>OH, se mezcló las muestras y se conservó a oscuras 60min para ser medidos en el espectro UV-vis a 517nm. Se continuó variando el volumen de extracto (0.25, 0.50, 0.75 y 1mL) para determinar el porcentaje de inhibición.

La inhibición del radical DPPH se determinó mediante la ecuación 1.

$$Scavenging\ activity(\%) = \left\{ \frac{Abscontrol - Absmuestra}{Abscontrol} \times 100 \right\} \quad Ec. 1$$

% of DPPH free radical scavenging activity (Turkmen, Sari, & Velioglu, 2005).

## **2.2 Síntesis de Nanopartículas de Plata utilizando extracto vegetal como agente reductor-protector y evaluación de estabilidad en el tiempo.**

El protocolo para la síntesis de nanopartículas de plata fue llevado a cabo siguiendo las recomendaciones de Kumar, 2014. Para la síntesis de AgNPs, se partió de soluciones de AgNO<sub>3</sub> en concentraciones de 1mM y 10mM. Con este propósito 10 mL de AgNO<sub>3</sub> fueron tratados con 1 mL de extracto a un pH, modificado con hidróxido de sodio (NaOH) 1N, de ~7,5; 9,5 y 12,5. Las

muestras resultantes se dejaron en incubación en baño María a 40°C y fueron observadas en un espectrofotómetro UV-vis a intervalos de tiempo a fin de finalizar la reacción de síntesis de nanopartículas.

El tiempo establecido de formación de las AgNPs en el baño María fue de 1h, ya que no había incremento en la banda del Ag<sup>0</sup> en la síntesis con el transcurso del tiempo.

A continuación de la síntesis, las AgNPs se purificaron siguiendo las recomendaciones de Arunachalam, et. al., 2012: Centrifugación de la solución de AgNps a 10000 rpm por 15 min seguida de otra centrifugación a 12000 rpm por 15 min, descartando en cada centrifugación el sobrenadante y resuspendiendo el pellet con agua destilada. Se procede a liofilizarlas para evitar la degradación de las AgNPs y aplicarlas como fotocatalizadores.

## **2.2 Caracterización de las nanopartículas de plata**

### **2.3.1. Técnicas de Caracterización**

#### **2.2.1.1 Técnicas espectroscópicas**

##### **Espectroscopia Uv-vis**

La generación de los espectros se obtuvo con un UV-Vis, ANALYTIKJENA marca SPECORD S600. Para el efecto se utilizó una celda de cuarzo de capacidad de 3mL para la lectura. En la celda se vertieron 2560uL de extracto en 2mL agua destilada y 2560uL de muestra de AgNPs en los mismos 2mL agua destilada.

### Dispersión de Luz Dinámica (DLS)

Las muestras llevadas a observación en el DLS, permitió la obtención de distribuciones cuantitativas de tamaño y una medida más precisa de la monodispersidad en soluciones (B. Kumar, Smita, Cumbal, & Debut, 2014). Se utilizó un equipo Dynamic Light Scattering/ Particle Size Analyzer (DLS) marca Horiba LB-550 para determinar la distribución del tamaño de las nanopartículas de Ag. El software del equipo requiere que se fijen condiciones de operación como índice de refracción Ag y medio dispersante agua. En las mediciones se utilizó una celda de cuarzo limpia.

Para la lectura de la muestra se trabajó con las siguientes diluciones:

**Tabla 1**

*Condiciones de trabajo para la lectura en DLS.*

<b>DLS</b>		
<b>Muestra filtrada en filtro de 0,2<math>\mu</math>m</b>		
<b>Muestra</b>	<b>Volumen de AgNps tomada (uL)</b>	<b>Volumen final en la celda (uL)</b>
<b>1mM</b>	300	3300
<b>10mM</b>	50	3050

Otra manera de ver la monodispersidad de las nanopartículas fue por medio del programa Nanoscan que con las micrografías de STEM, permite el detalle del número total de partículas, el radio medio y desviación estándar.

### **XRD**

Para determinar la estructura cristalina de las AgNPs, se analizó los picos obtenidos en los difractogramas originados de las reflexiones de Bragg de las AgNPs cristalinas comparadas con una referencia estándar del metal Ag (Diffraction, X., & Sources, I., n.d).

El análisis (XRD) se realizó en un difractómetro de marca PANalytical EMPYREAN, que opera en una configuración  $\theta$ - $2\theta$  (Geometría Bragg-Brentano) equipado con un tubo de rayos X de cobre (radiación  $K\alpha$   $\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$ ) a 45 kV y 40mA. El análisis de difractograma se realizó en un promedio de cuatro mediciones entre los ángulos de  $5^\circ$  a  $90^\circ$  ( $\theta$ - $2\theta$ ) utilizando el software High Score Plus. Se utilizó un sustrato de Silicio Zero como background en el que se cargaron las muestras de nanopartículas a ser analizadas. Se inyectaron 700uL de muestra líquida en intervalos de tiempo en el sustrato, recubriendo toda el área y por tres veces. La muestra a analizarse fue secada por 24 horas y luego fue depositada en el porta muestra para realizar las mediciones en XRD, con 6 corridas por cada muestra.





**Figura 6.** Depósito de muestras en el portaobjetos para su posterior XRD

### 2.2.1.2 Técnicas de microscopía

TEM Y SEM ofrecen una combinación de presentar imágenes de distintos tamaños, forma, área de superficie, datos morfológicos (Williams, 2015).

STEM proporciona una excelente impresión tridimensional debido a la irradiación del haz de electrones en la superficie de la muestra (Madrid, Naranjo, Debut, & Angulo, 2017).

### STEM

A partir de una alícuota de 2mL de las nanopartículas sintetizadas, se tomó un aproximado de 10 $\mu$ L de muestra y se colocó en una rejilla F/C Cu para microscopía de transmisión, finalmente se insertó la rejilla en el carrusel para observación y posteriormente en el Microscopio Electrónico

de Barrido (SEM), marca TESCAN modelo MIRA 3 y la operación se realizó en modo transmisión (STEM) con campo claro, una distancia de trabajo aproximada de 5nm, una tensión de 30kV y en modo de escaneo Resolution.

## **TEM**

El Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM) con gran resolución, fue usado para estudios de distribución de tamaños (Hernández Díaz, 2013).

Las nanopartículas de carrasquilla se visualizaron en TEM, marca Tecnai Twin-Spirit con una tensión de 80Kv. Con este propósito, 10uL de muestra fueron depositadas en una rejilla F/C de Cu, ésta fue secada y depositada en el porta muestra y se observaron las nanopartículas en el microscopio a diferentes magnificaciones.

### **2.2.1.3 Pruebas electroquímicas del extracto y de nanopartículas**

La electroquímica es la base conceptual para seleccionar la capacidad antioxidante del extracto ya que transfiere la carga de ensayos de actividad antioxidante en base a la reacción redox (Martinez, Valek, Rešetić, & Ružić, 2006).

Se utilizó el equipo de Potenciostato marca Metrohm Autolab, programa NOVA, manipulando las condiciones de operación de 4 números de cruces de parada y que corra de -1,2 a 1,2 eV el rango de SHE vs SCE. A una velocidad de 5eV/s.

### **Protocolo de limpieza del sistema de potenciostato**

Al electrodo de grafito se dejó en solución de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) al 15%, 24h en agitación, y se preparó nueva solución de cloruro de potasio (KCl) 0,1 M.

El electrodo de grafito fue limpiado con lija de agua y polvos de distinta granulometría  $1\mu$ ,  $0.3\mu$ ,  $0.05\mu$ , el lijado fue realizado por 5 minutos para cada polvo, con su respectivo enjuague con agua destilada en cada cambio de polvo.

El electrodo de trabajo de grafito y el electrodo indicador de Platino (Pt) fueron colocados en vasos de precipitación de 50mL, en solución de  $\text{HNO}_3$  al 15%. Mientras el electrodo de referencia calomet Ag/AgCl fue colocado en otro vaso de precipitación de 50mL con la solución KCl 0,1M; llevados todos los electrodos a sonicación horizontal por 15 minutos en el equipo de marca NUMAK, modelo Luz 60 A. Luego fueron sonicados nuevamente ahora con la solución de agua destilada unos 15 minutos más. Posteriormente, se enjuagaron todos los electrodos con KCl 0,1M.

El vaso contenedor de muestra y el agitador magnético fue enjuagado con detergente, y llevado a sonicación con solución de agua destilada 15 minutos. Así mismo es enjuagado con agua destilada.

El soporte de electrodos fue limpiado con alcohol isopropílico, para ser armado el sistema y se realizó las pruebas electroquímicas.

### **Medición de muestras**

En los ensayos de voltametría cíclica se usó como blanco KCl 0,1 M, 20 mL de blanco fueron depositados en el vaso contenedor de muestra y se verificó que el sistema del potenciostato esté limpio al correr primero el blanco. Posteriormente, se inyectó el extracto en el siguiente orden: 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640, 1280 y 2560uL.

Para los ensayos con nanopartículas se realizó una nueva limpieza según el protocolo mencionado con anterioridad, esto es, primero se leyó el blanco y luego se inyectó 2560µL de muestra.

Conocer el orden de llenado de los orbitales y la configuración electrónica es papel de las energías de los orbitales moleculares. El HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital u Orbital Molecular ocupado más alto), donde se cede o pierde una molécula. El LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital u Orbital Molecular vacante más bajo), es donde la molécula aceptaría un par de electrones (Li, Chen, Ali, & AlHemaid, 2013)

#### **2.2.2 Estabilidad de nanopartículas**

La estabilidad de las AgNPs se monitoreó mediante el pico de absorbancia de Ag medido en el UV-vis, a ~400nm.

### **2.4 Degradación de colorantes asistido por nanopartículas de plata**

Para realizar este estudio se escogieron dos tipos de colorantes: safranina (S) del grupo diazina y al azul de metileno (MB) del grupo tiazina. Para evaluar la degradación de ambos

colorante se empleó UV-vis. Con este fin se monitoreó el pico de 664nm para MB y 518nm para S.

La solución de azul de metileno (10 ppm) y a la mezcla de ambos colorantes azul de metileno y safranina (10 ppm), fueron los productos a degradar, en base al protocolo desarrollado por Arunachalam et al. 2012, con algunas modificaciones. Primero, se procedió a liofilizar las nanopartículas para su aplicación sobre la solución colorante. De un volumen de 10mL de AgNPs de  $\text{AgNO}_3$  10mM se obtuvieron 0,49g, y de un volumen de 20 mL de AgNPs de  $\text{AgNO}_3$  1mM se obtuvieron 0,19g.

Para el colorante MB (10ppm):

Se inicia con una medición de pH de 4,18, la lectura UV-vis del colorante y las imágenes en TEM (AnexoF1).

La primera solución a tratarse (1a) se preparó con 0,17mg de nanopartícula de  $\text{AgNO}_3$  1mM en 10mL de la solución acuosa del colorante MB (10mg/mL), mientras el blanco (2a) se preparó con 3mL de colorante.

La segunda solución a tratarse (1b) se preparó con 0,2mg de nanopartícula de  $\text{AgNO}_3$  10mM en 10mL de la solución acuosa del colorante MB, mientras el blanco (2b) se preparó con 3mL de colorante.

Para el colorante S (10ppm):

Se inicia con una medición de pH de 6,32, la lectura UV-vis del colorante y las imágenes en TEM (AnexoF1).

La solución a tratarse (1a) se preparó con 0,05mg de nanopartícula de  $\text{AgNO}_3$  1mM en 10mL de la solución acuosa del colorante S (10mg/mL), en cambio el blanco (2a) con solo 3mL del colorante.

Para el colorante S+MB (10ppm):

Se inicia con una medición de pH de 5,84, la lectura UV-vis del colorante y las imágenes en TEM (AnexoF1).

La solución a tratarse (1a) se preparó con 0,1mg/mL de nanopartícula de  $\text{AgNO}_3$  1mM en 10mL de la solución acuosa del colorante S (10mg/mL), en cambio el blanco (2a) con solo 3mL del colorante.

Cada preparación fue sometida a agitación por alrededor de 30min en oscuridad a fin de asegurar el equilibrio de las nanopartículas con la solución orgánica. Luego viales con 3mL de solución fueron expuestos a un simulador de la luz solar durante 90min. En el simulador de luz, marca Neutronics, se trabajó con 30cm de distancia muestra-rayo de luz y potencia de 387W.



**Figura 7.** Exposición de muestras a la lámpara solar

La toma de muestras para la degradación de los colorante vs tiempo se realizó a 10, 30, 60 y 90min, las muestras fueron analizadas mediante espectrofotometría UV-vis, STEM y TEM y luego se procedió a calcular el porcentaje de remoción empleando la Ec.2.

$$\eta = \frac{Abs_o - Abs_t}{Abs_o} \times 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Porcentaje de degradación de colorantes (B. Kumar, Smita, Cumbal, & Debut, 2014).

Donde  $\eta$  es la tasa de degradación del colorante,  $Abs_o$  es la absorbancia inicial de la solución colorante y  $Abs_t$  es la absorbancia del colorante a tiempo t (B. Kumar et al., 2014), (Vizuet, Kumar, Guzmán, Debut, & Cumbal, 2016).

## 2.5 Análisis Estadístico

Para la síntesis de AgNPs empleando carrasquilla se estableció el siguiente análisis estadístico:

### 2.5.1 Síntesis de Nanopartículas

Para establecer las condiciones óptimas de síntesis de las AgNPs se utilizó un diseño multifactorial (1x4x3), que corresponde a un nivel de concentración de  $\text{AgNO}_3$  de 1mM liofilizadas, cuatro niveles de concentración de extracto de carrasquilla (X1) y la variación de pH con tres niveles (X2).

**Tabla 2**

*Estudio de concentración vs pH.*

Concentración de extracto (mg/mL)	pH extracto modificado			Concentración de $\text{AgNO}_3$ (mM)
10	~7,5	~9,5	~12,5	1
20				
40				
60				

El análisis se realizó en el programa estadístico INFOSTAT para obtener los datos de varianza (ANOVA) y asociaciones. Las variables involucradas en el proyecto se muestran en la tabla 3.



**Tabla 3**

*Tratamientos y niveles de degradación de contaminantes sintéticos.*

<b>Estado</b>	<b>Variable</b>	<b>Factor</b>
<b>Síntesis de nanopartículas</b>	pH	~12, 5
	Concentración del extracto	20mg/mL
<b>Estabilidad de nanopartículas</b>	Color, distribución de tamaño y morfología, monitoreo de cinética de estabilidad a los dos meses de estudio observando el pico de absorción, pH y voltamogramas.	
<b>Degradación fotocatalítica</b>	Colorante sintético	10ppm

### 2.5.2 Degradación Fotocatalítica

El análisis estadístico de los ensayos de degradación fotocatalítica se modelaron con un diseño multifactorial (2x3). Se consideraron dos concentraciones de  $\text{AgNO}_3$ : 1 y 10mM para la preparación de las AgNPs (X1) (liofilizadas). Los pigmentos sintéticos (X2) empleados fueron: safranina, azul de metileno y con la mezcla de ambos pigmentos mencionados.

**Tabla 4**

*Tratamientos y niveles de degradación de contaminantes sintéticos.*

<b>Tratamiento</b>	<b>Descripción</b>	<b>Concentración a aplicar</b>
<b>AgNPs</b>	1Mm	0,2mg/mL (MB)
	10mM	0,2mg/mL (MB)
		0,05mg/mL (S)
	0,1 mg/mL (MB+S)	
<b>Colorante sintético</b>	Azul de metileno (MB)	10 ppm
	Safranina (S)	10 ppm
	Azul de metileno y safranina (MB+S)	10 ppm

## 2.6 Variables y factores

### 2.6.1 Variable de respuesta

Fueron variable de respuesta: pico de absorción de polifenoles del extracto y de la síntesis de AgNPs en el equipo de espectroscopia UV-vis; pH: de los colorantes orgánicos, de los extractos y de las AgNPs; el tamaño de cada nanomaterial en DLS y por Nanoscan, STEM y TEM para observar su forma; la interpretación de picos al realizar el análisis de DRX; los voltamogramas de extracto y AgNPs evaluando la oxido-reducción y el porcentaje de degradación de los compuestos orgánicos interpretado a partir de las curvas espectrales del UV-vis e imágenes en TEM.

### **2.6.2 Factores controlables**

En la muestra: El pH del extracto empleado y la concentración madre del extracto para la preparación de las AgNPs, el peso de AgNPs liofilizadas (Solución AgNO<sub>3</sub>: 1 y 10mM) aplicado al colorante para los ensayos de degradación, el volumen de muestra para exposición solar.

En equipos: El porcentaje de pulsación del sonicador horizontal, ltemperatura de baño María, potencia establecida del simulador solar, tiempo de exposición a la lámpara, distancia de exposición y velocidad de agitación de la muestra.

### **2.6.3 Factores no controlables**

En muestra: El porcentaje de reducción de la plata en contacto con el extracto, cantidad de evaporación de la muestra en el vial cuando está en degradación

En equipos: la lectura en el UV-vis al momento de pipeteo de la muestra y la homogeneidad de muestra en la rejilla F/C de Cu para la visualización en TEM.

### **2.6.4 Error aleatorio y experimental**

El error aleatorio está considerado por los equipos de medición y la evaporación de la muestra, mientras se mantiene en agitación. El error experimental es debido a fallas del operador.

## CAPÍTULO 3

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Preparación y evaluación de la estabilidad en el tiempo del material vegetal

a)



b)



c)



**Figura 8.** a) Recolección del fruto de Carrasquilla,  
b) Concentrado del macerado del fruto y  
c) Secado total del concentrado.

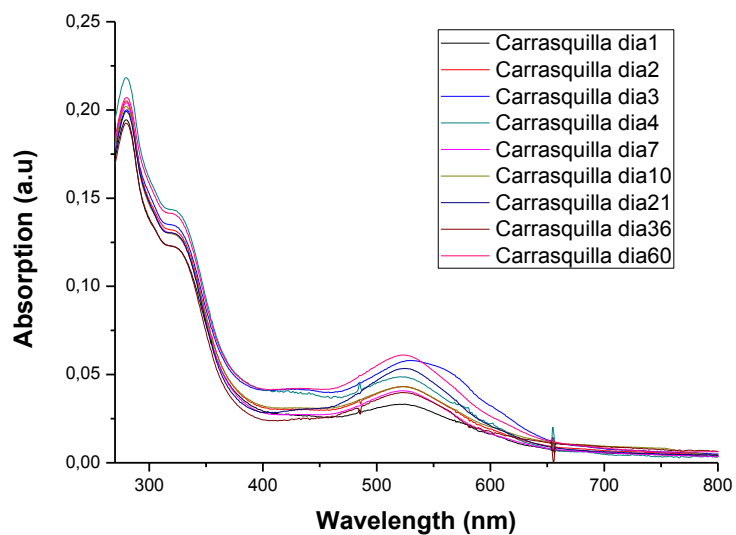
Con maceración, secado y la dilución a partir de 20mg/mL, se obtuvo un extracto líquido a pH ácido ~3 (ver Tabla 5). En esta tabla no se evidencia un cambio de pH que provoque la alteración de las propiedades del extracto en el tiempo analizado (Alzamora, Guerrero, Nieto, & Vidales, 2004).

**Tabla 5**

*Estabilidad del extracto vegetal,  
evaluación de pH al transcurso de 60 días.*

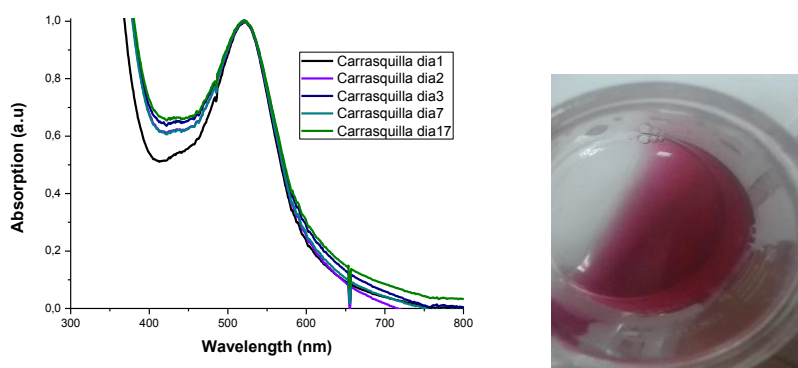
Días	pH
1	3.02
2	2.92
3	2.95
4	3.05
7	2.93
10	2.89
21	2.83
36	3.08
60	2.82

En la Fig9. Se observa que no existieron cambios significativos en la absorbancia a las longitudes de onda características del extracto. Según Hernández Díaz, 2013, los picos de absorción a 275nm, con un ligero hombro en 300nm, y un pico en 375nm pueden estar asociados con las moléculas conjugadas de fenoles o flavonoides.



**Figura 9.** Estabilidad del extracto vegetal, observación UV-vis al transcurso de 60 días.

Por otra parte, Abril Díaz et al., 2010, mencionan que la banda de los polifenoles está en el rango de 490-580nm y es característico del color rojo de estos compuestos, lo que evidencia la presencia de compuestos fenólicos en el extracto de carrasquilla, como se indica en la Fig. 10.



**Figura 10.** Espectro UV-vis de los polifenoles y estabilidad del fruto carrasquilla

Mientras que Victoria & Jara, 2010, mencionan que los picos de absorbancia entre 518 y 533nm corresponden a las siguientes antocianinas: delphinidina-3glucósido, cianidina-3 glucósido y pelargonidina, de manera que los picos que se observan en el extracto estudiado pueden corresponder a estas antocianinas.

### 3.1.1 Actividad antioxidante

#### Ensayo TPC

La cantidad de fenoles totales determinada por el método de Folin-Ciocalteu se indican en la Tabla 6. La capacidad reductora del extracto 28,44 mg AG/g carrasquilla, valor que corresponde a la orientación *orto* o *para* de los grupos hidroxifenólicos (McDonald et al., 2001). Esta característica convierte a la carrasquilla en un buen agente reductor para la síntesis de nanopartículas.

**Tabla 6***Ensayo de TCP del extracto macerado de carrasquilla.*

<b>Contenido de fenoles totales</b>			
<b>Concentración 5mg/mL</b>			
<b>Ensayo</b>	<b>Absorbancia 765nm</b>	<b>mg AG/L</b>	<b>Equivalentes de ác. gálico (mg ác.gálico/ g Carrasquilla)</b>
<b>m1</b>	0,8327	142,21	28,442
<b>m2</b>	0,8604		
<b>m3</b>	0,8538		
<b>promedio</b>	0,8490		

**Ensayo DPPH**

La capacidad antioxidante de la carrasquilla por el método DPPH se muestra en la tabla 7.



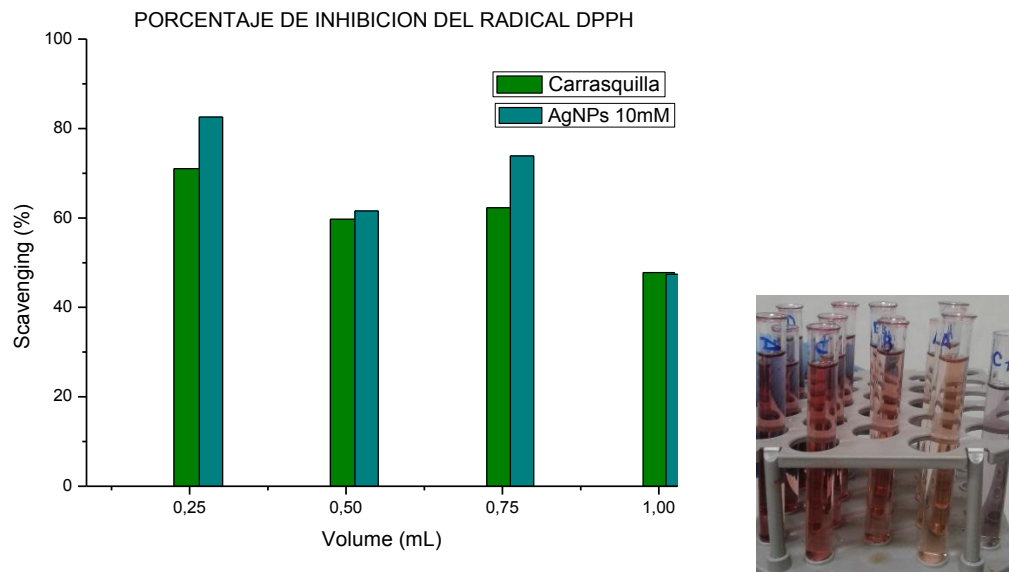
**Tabla 7***Ensayo de DPPH del extracto macerado de Carrasquilla.*

<b>Actividad antioxidante</b>			
<b>Concentración 5mg/ml</b>			
<b>Ensayo</b>	<b>Absorbancia 517nm</b>	<b>(%) de radicales libres de DPPH</b>	<b>Volumen de muestra (mL)</b>
<b>control</b>	0,4283		
<b>m1promedio</b>	0,1240	71,04	0,25
<b>m2promedio</b>	0,2557	59,71	0,50
<b>m3promedio</b>	0,266	62,3	0,75
<b>m4promedio</b>	0,2041	47,8	1,00
<b>AgNPs a 10mM</b>	0,1106	74,18	0,25
<b>AgNPs a 10mM</b>	0,2361	55,12	0,50
<b>AgNPs a 10mM</b>	0,283	66,3	0,75
<b>AgNPs a 10mM</b>	0,1811	42,3	1,00

Se observa que existe una relación inversamente proporcional entre el volumen de muestra y el porcentaje de actividad antioxidante, siendo el menor volumen, el de mayor porcentaje de inhibición del radical de DPPH, 71,04% para el extracto y 74,18% para las AgNPs. El incremento de porcentaje en inhibición de DPPH en relación al contenido de fenoles puede estar asociado con la presencia de otro tipo de metabolito antioxidante o actividad pro-oxidativa que se contrapone al potencial antioxidante (B. Kumar & Smita, 2016), (Vizuet et al., 2016).

En cambio, el efecto antioxidante de las AgNPs se atribuye a la interacción fisicoquímica activa de la plata con los grupos funcionales de la carrasquilla (B. Kumar & Smita, 2016).

En la fig. 11, se detallan los porcentajes de inhibición del radical de DPPH.



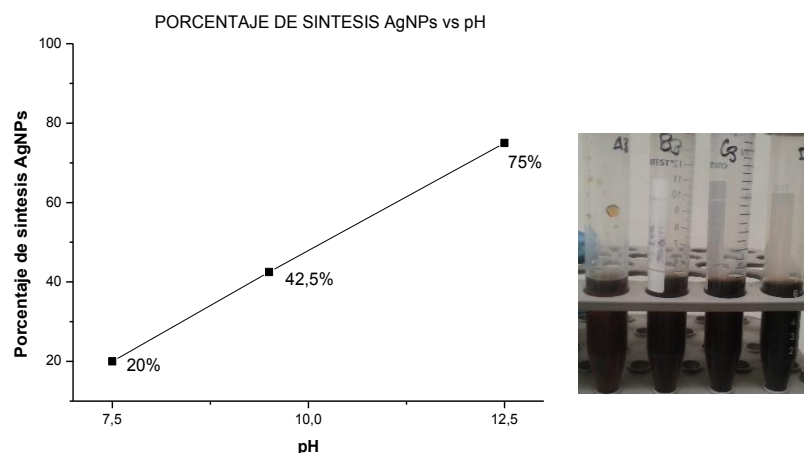
**Figura 11.** Porcentaje de inhibición de radicales libres DPPH para carrasquilla y AgNPs en solución AgNO<sub>3</sub> 10mM.

La actividad antioxidante de las muestras analizadas, se verifica a través de la disminución de la absorbancia de la solución de DPPH, además por el cambio de coloración de violeta a amarillo, sugiriendo que el radical tiene la habilidad de donar el protón (Aliyu et al., 2012).

De los resultados anteriores se observa que el contenido de fenoles totales TCP ( $R^2=0,983$ ) mostró una buena correlación con el ensayo de antioxidantes DPPH ( $R^2=0,999$ ). Esto se cree que está asociado con el hecho de que los compuestos del extracto contribuyen a la actividad antioxidante (Sowndhararajan & Kang, 2013).

### **3.2 Síntesis de Nanopartículas de Plata utilizando extracto vegetal como agente reductor-protector y evaluación de estabilidad en el tiempo.**

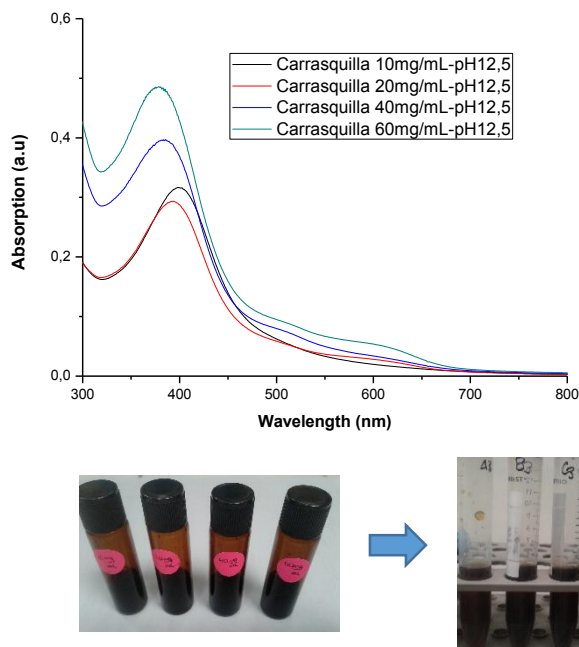
La eficiencia con la que las nanopartículas absorben luz en determinada longitud de onda depende de la estructura atómica y de las condiciones del medio circundante como pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica, etc., que son variables manipulables para tener una buena señal de la nanopartícula (Abril Díaz et al., 2010).



**Figura 12.** Porcentaje de síntesis de AgNPs vs pH y estabilidad.

A pH de ~12,5 se obtuvo el mayor porcentaje de síntesis nanopartículas (75%) y de mejor estabilidad, ver figura 12, las soluciones no presentan precipitados. En la Fig. 13 se observa que en todas las concentraciones de extracto (10, 20, 40 y 60 mg/mL) se forma el pico de absorbancia de la Ag, y se mantienen sin precipitarse.

Anigol, Charantimath, & Gurubasavaraj, 2017, mencionan que el pH es inversamente proporcional al tamaño de las nanopartículas. En esta investigación, la síntesis a pH básicos mantiene la estabilidad de todas las AgNPs. Con altas velocidades de reacción se facilita la nucleación y el crecimiento de AgNPs pequeñas mientras que el mantenimiento de la estabilidad se debe a la carga de los grupos que maximizan las interacciones electrostáticas /electrostéricas repulsivas.



**Figura 13.** Observación UV-vis de las nanopartículas según el estudio concentración vs pH12,5.

### 3.2.1 Técnicas de Caracterización

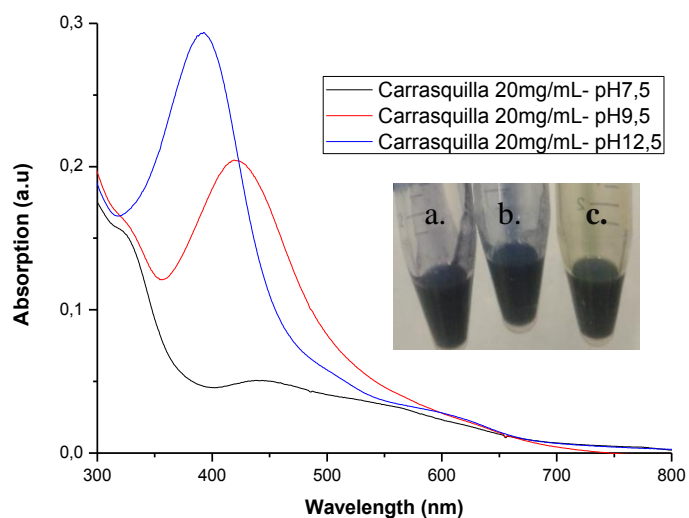
#### 3.2.1.1 Técnicas de espectroscópica

##### Espectroscopia Uv-vis para AgNPs

La concentración del extracto de 20mg/mL fue seleccionada para los ensayos de caracterización espectroscópica (ver Fig. 14), ya que ésta representa la mínima cantidad de materia orgánica con la que se reduce la plata y su posterior nucleación formando las AgNPs.

Las purificaciones de AgNPs se realiza con centrifugación a fin de eliminar el exceso de iones e incrementar el crecimiento de la banda Ag (Hernández Díaz, 2013) como se observa en la Fig. 16a y Fig 16b. Además el aumento del pH a 12,5, dio como resultado el aumento de la

absorción y produjo un pico estrecho, reduciendo así el espacio libre entre partículas, en donde se forman precipitados y asegurar una distribución de tamaño uniforme (Lic & Botasini, n.d.).

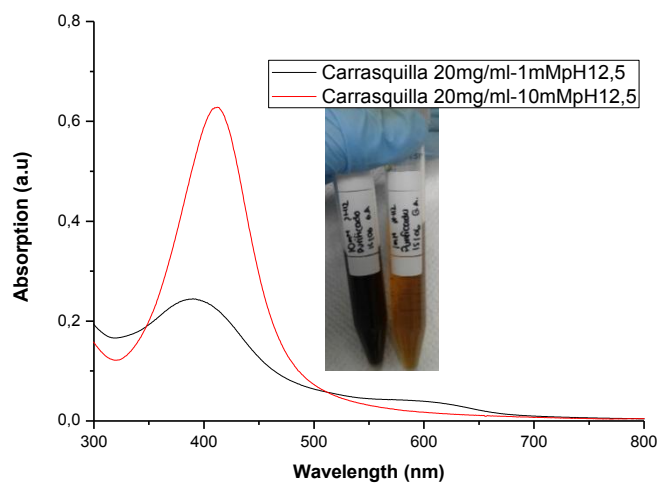


**Figura 14.** Observación UV-vis de las nanopartículas según concentración 20mg/mL vs variación de pH (a.pH7, 5; b.pH9, 5; c.pH12, 5).

**Tabla 8**

*Estudio de concentración 20mg/mL vs pH.*

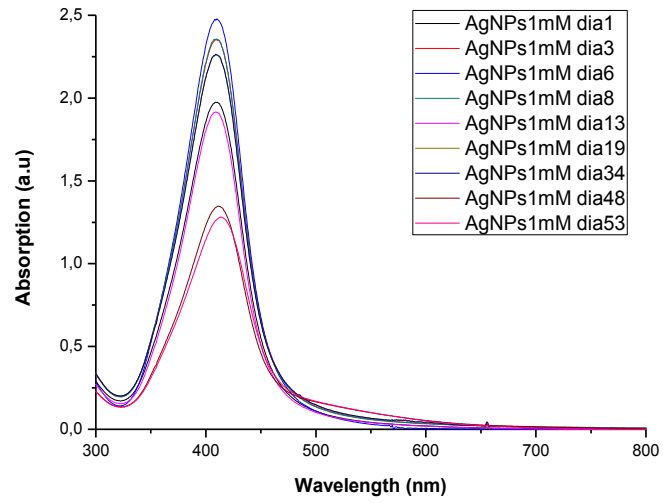
Concentración de extracto (mg/mL)	pH extracto modificado	pH AgNPs final	Concentración de AgNO <sub>3</sub> (mM)
20	~12,5	6,95	1
		4,17	10



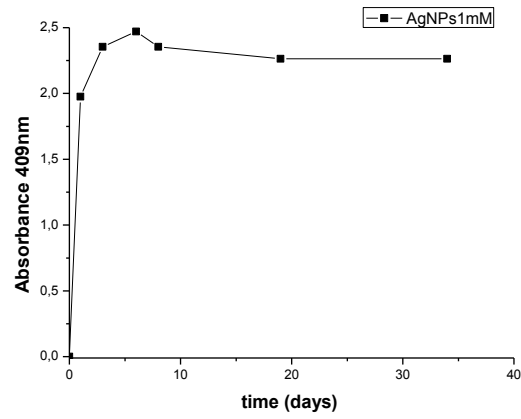
**Figura 15.** Cinética de crecimiento de nanopartículas de plata con 1mM y 10mM de precursor ( $\text{AgNO}_3$ ).

Las AgNPs sintetizadas con 1mM de  $\text{AgNO}_3$  muestran un pico a 409nm, mientras las de 10mM se desplaza a 414nm (Fig. 15). Se cree que el desplazamiento de la longitud de onda está asociado con el aumento en la concentración del precursor  $\text{AgNO}_3$  (Lic & Botasini, n.d.)

1a)

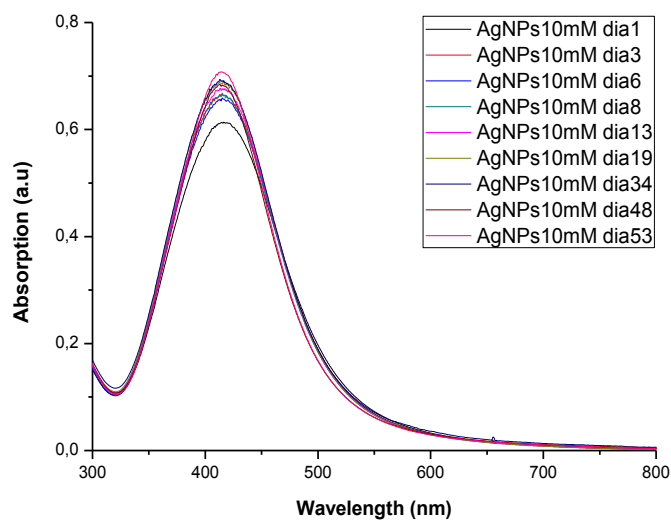


2a)

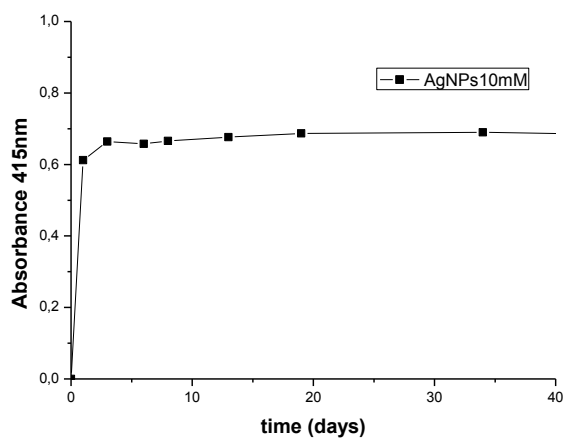




1b)



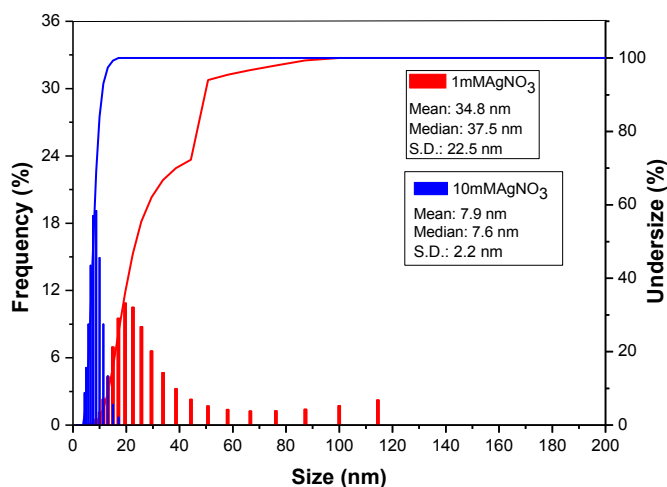
2b)



**Figura 16.** Purificación y estabilidad en el tiempo de  
1a) AgNPs con solución  $\text{AgNO}_3$  1mM,  
2a) con la cinética de estabilidad Abs vs tiempo y  
1b) AgNPs con solución  $\text{AgNO}_3$  10mM,  
2b) con la cinética de estabilidad Abs vs tiempo.

Ambos grupos de AgNPs, mostraron estabilidad coloidal y de coloración (marrón) al transcurrir aproximadamente dos meses. Sin embargo, en la Fig. 16 1a, se observa que las AgNPs preparadas con 1mM empiezan a decaer en el pico de Ag al día 34, mientras la Fig. 16 1b se mantiene casi constante la intensidad de absorción en el tiempo. En ambos casos las nanopartículas de Ag fueron liofilizadas para asegurar el no cambio en sus propiedades. Otra manera de monitorear la estabilidad de AgNPs fue mediante la cinética de estabilidad como lo menciona B. Kumar et al., 2015. Para este estudio se muestra la intensidad del UV-vis a la absorbancia 409nm para la Fig. 16 2a, y la absorbancia 414nm para la Fig. 16 2b vs tiempo, considerando la lectura en días durante dos meses.

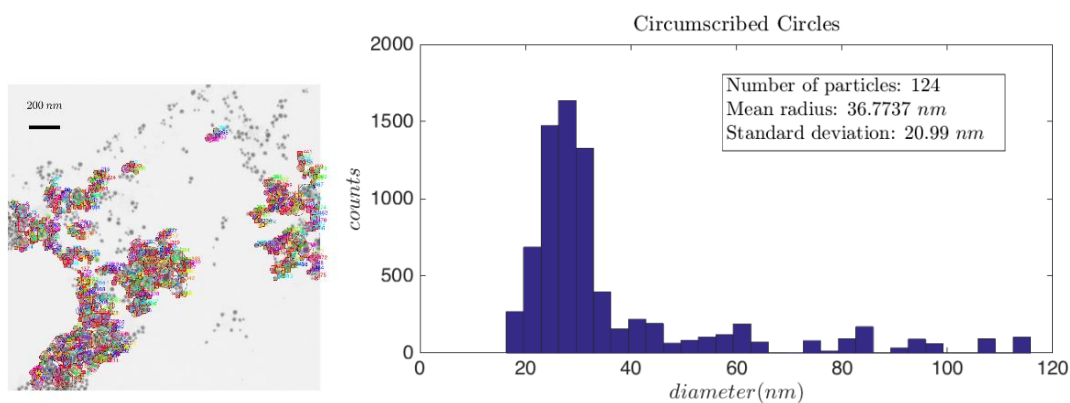
### Dispersión de Luz Dinámica (DLS)



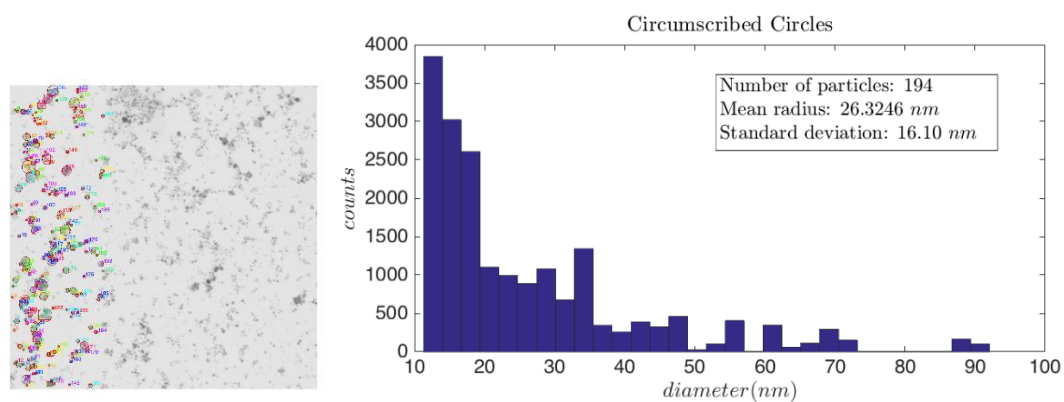
**Figura 17.** Histograma de nanopartículas de plata preparadas con solución de AgNO<sub>3</sub> 1mM y 10mM, realizados con DLS.

Los resultados del diámetro hidrodinámico medido con DLS de la Fig. 17 son similares a los de la Fig. 18, por lo que sugiere que las mediciones son reproducibles aunque sean analizados con diferente cantidad de nanopartículas.

a)



b)



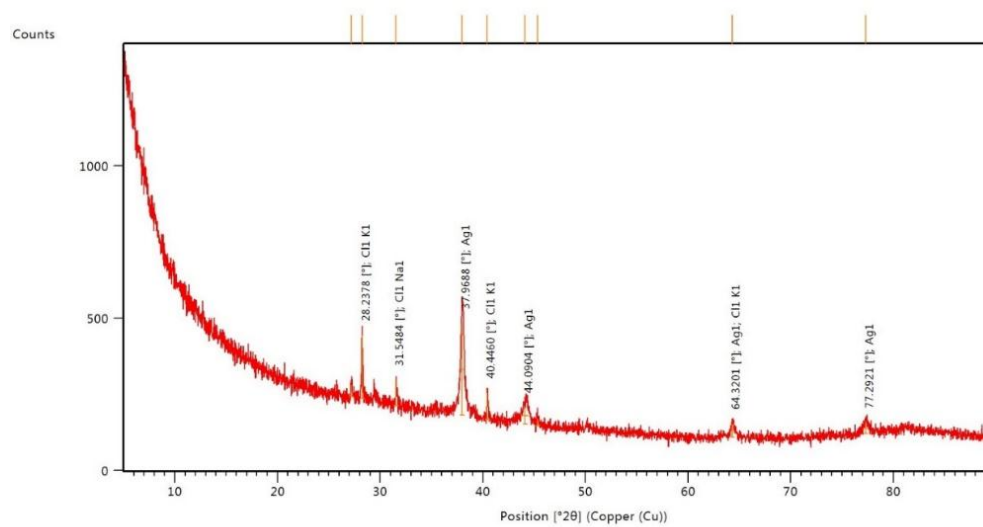
**Figura 18.** Histograma de nanopartículas de plata con solución de  $\text{AgNO}_3$  a) 1mM y b) 10mM, realizados en Nanoscan.

Notar sin embargo que las AgNPs obtenidas con una solución 1mM de  $\text{AgNO}_3$  se encuentra una amplia distribución de tamaños, teniendo un promedio de partícula de  $36,77 \pm 20,9\text{nm}$ , y las AgNPs preparadas con la solución de 10mM de  $\text{AgNO}_3$ , el promedio es de  $26,32 \pm 16,10\text{nm}$  (Arroyo et al., 2016).

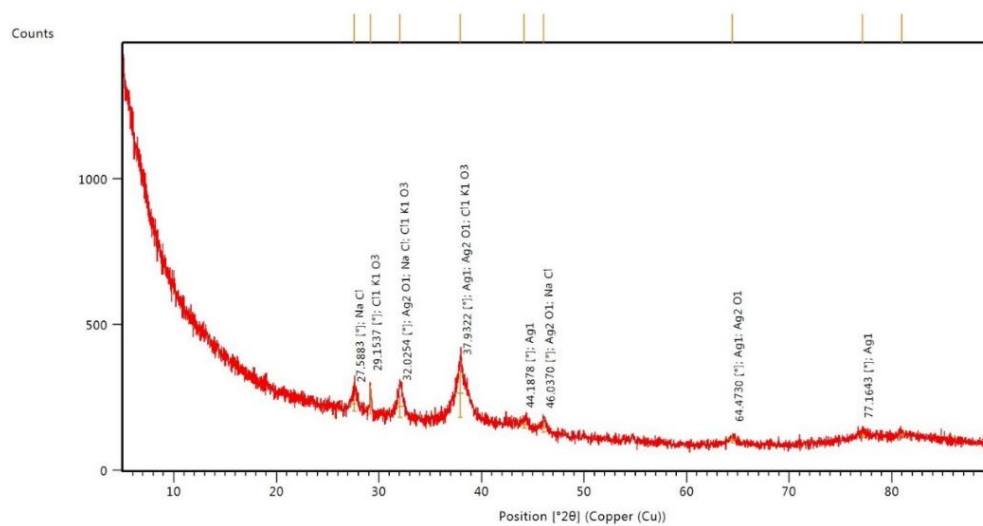
### **XRD**

En los espectros XRD de las AgNPs sintetizadas con una solución 1mM de  $\text{AgNO}_3$ , muestran picos de reflexión son  $37.96^\circ$ ,  $44.09^\circ$ ,  $64.32^\circ$ ,  $77.29^\circ$  que corresponden a los planos (111), (200), (220) y (311), respectivamente. Mientras que para las AgNPs preparadas con una solución de 10mM de  $\text{AgNO}_3$  los ángulos son  $37.93^\circ$ ,  $44.18^\circ$ ,  $64.47^\circ$  y  $77.16^\circ$ . Los ángulos de difracción corresponden a los planos cristalinos de la estructura fcc (face centered cubic) para el metal plata (Narayanan & Sakthivel, 2008), como se observan en las Fig.17a y Fig.17b.

a)



b)



**Figura 19.** XRD de las nanopartículas de plata preparadas con solución de AgNO<sub>3</sub> a) 1mM y b) 10mM.

Además en la Fig. 19a se observa la existencia de otros picos a:  $31,54^\circ$  del NaCl y  $28,23^\circ$  del KCl mientras que en la Fig. 19b para las mismas sales, los picos aparecen casi en las mismas posiciones. Además, los picos  $46,03^\circ$  y  $64,47^\circ$  corresponden a  $\text{Ag}_2\text{O}$ , que son las impurezas de las nanopartículas (Noruzi, Zare, Khoshnevisan, & Davoodi, 2011).

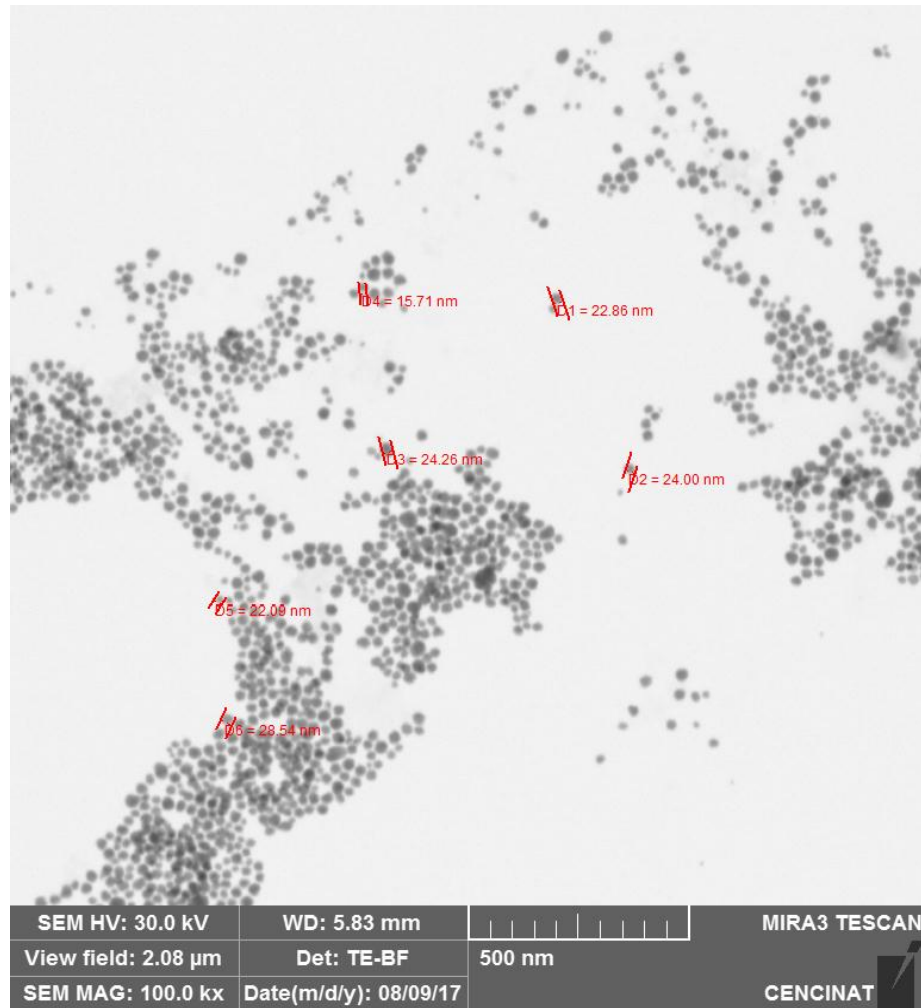
Aquellos picos no designados que se encuentran en las Fig. 19a y Fig.19b, posiblemente se generan por la cristalización de la fase bioorgánica sobre la superficie de la AgNP (Arunachalam et al., 2012).

### 3.2.1.2 Técnicas microscópicas

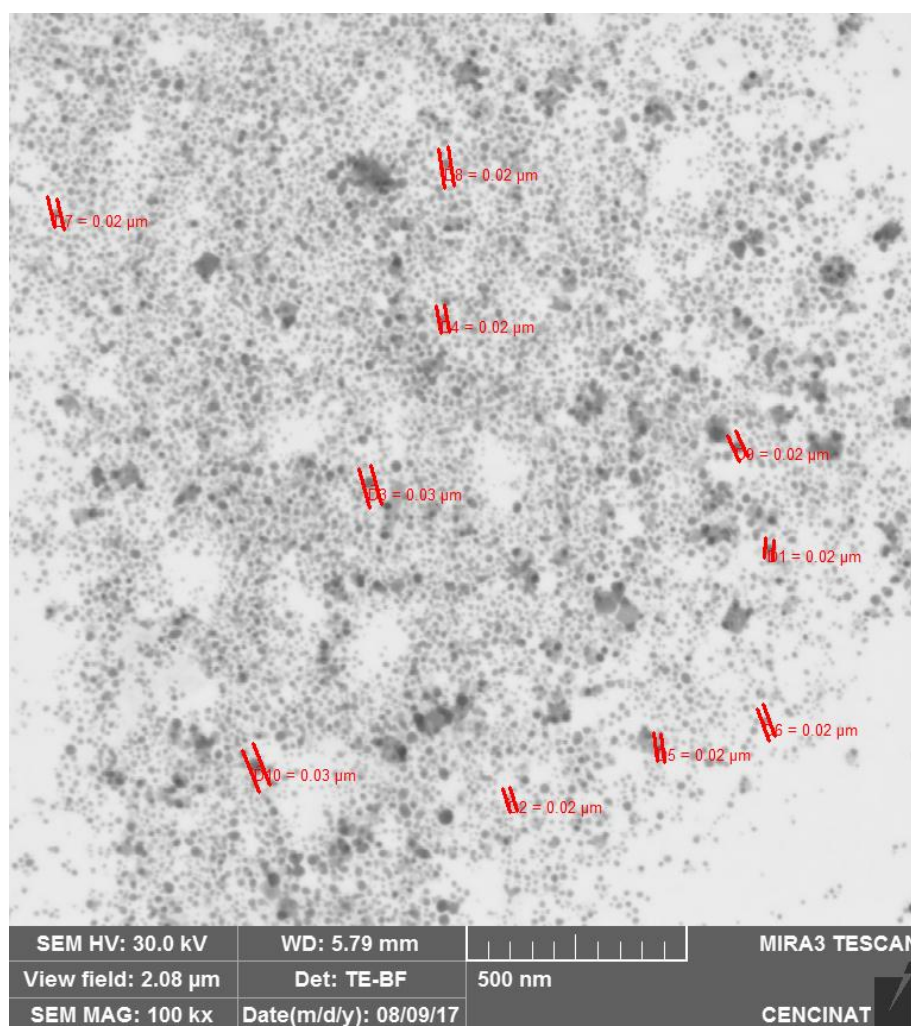
Las imágenes STEM muestran homogeneidad en las AgNPs purificadas. Fácilmente se distingue su tamaño ( $<50\text{nm}$ ) y se visualiza que son de forma esférica, Fig. 20a. Sus tamaños corresponden a  $36,77 \pm 20,9\text{nm}$ , datos confirmados en Nanoscan Fig. 18a.

Sin embargo, las nanopartículas de Ag preparadas con  $10\text{mM AgNO}_3$ , Fig. 20b, no se distingue la totalidad de sus partículas (Fig. 20b) con STEM. Aun así sus dimensiones corresponden a  $26,32 \pm 16,10\text{nm}$ , datos confirmados en Nanoscan Fig. 18b.

a)



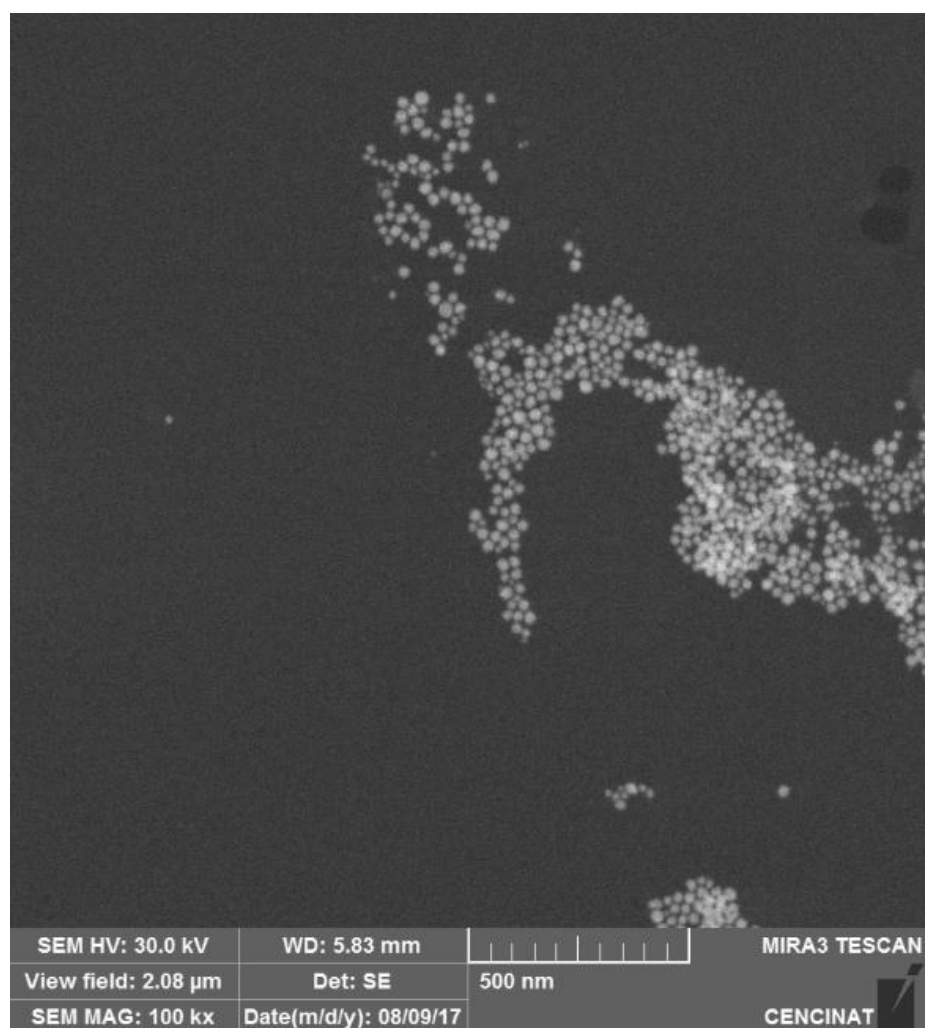
b)



**Figura 20.** Imágenes STEM de nanopartículas de plata con solución de  $\text{AgNO}_3$  a) 1mM y b) 10mM.

En SEM se observa claramente las AgNPs preparadas con una solución  $\text{AgNO}_3$  10mM. Solo la luz difractada desde la muestra se usa para formar la imagen, en este caso en una distribución uniforme, de pequeño tamaño y que éstas son esféricas (ver Fig.21).





*Figura 21.* Imagen SEM de nanopartículas de plata con solución de  $\text{AgNO}_3$  10mM.

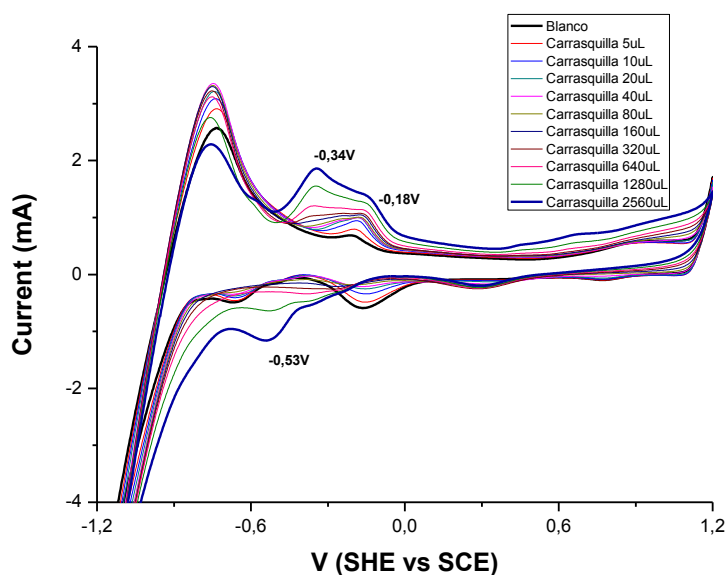
### 3.2.1.3 Pruebas electroquímicas

#### Extracto

En la Fig. 22 se observa que una mayor reducción del extracto se obtuvo con 2560  $\mu\text{L}$ . Con esta cantidad de muestra se puede interpretar la reacción de oxidación del extracto o la reducción del agente oxidante en la parte anódica y el desplazamiento de las bandas hacia potenciales más

bajos en la zona catódica, que representa su poder oxidativo (Wang, Liu, Qu, Wang, & Huang, 2017).

Los picos  $-0,53$ ,  $-0,34$  y  $-0,18$ V corresponden a la oxidación del extracto de carrasquilla (Stael, Cruz, Naranjo, Debut, & Angulo, n.d.).



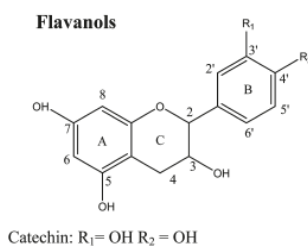
**Figura 22.** Voltametría cíclica del extracto carrasquilla con un potencial de  $-1,2$  a  $1,2$  V.

## AgNPs

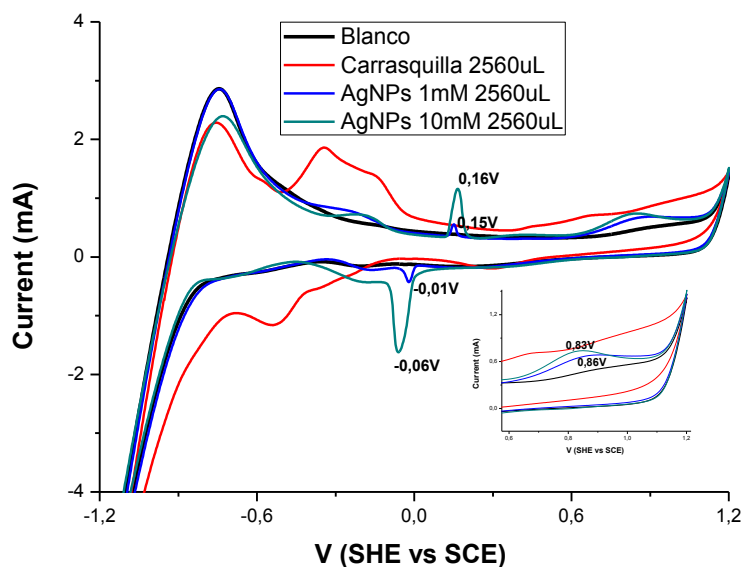
Los grupos flavonoides (Fig. 23) del extracto oxidan, controlan la reducción de  $\text{Ag}^+$  a  $\text{Ag}^0$  y la formación de AgNPs (Li et al., 2013), como se muestra en la Fig.24. Las AgNPs sintetizadas a pH básicos muestran una baja oxidación, ya que no se observa las bandas del extracto y más bien se observan los picos característicos de la banda de la plata  $0,15$ ,  $-0,01$ V para las AgNPs preparadas

con solución de  $\text{AgNO}_3$  1mM y 0,16, -0,06V para las AgNPs sintetizadas con solución de  $\text{AgNO}_3$  10mM (Wang et al., 2017), (Madrid et al., 2017). También se observa en la Fig. 22, la contribución de  $\text{Ag}_2\text{O}$ , correspondiente a la no totalidad reducción a  $\text{Ag}_0$ , producto observado en el DRX ya mencionado (Stael et al., n.d.).

El comportamiento de los flavonoides con voltametría cíclica, inserto de la Fig. 24, en la onda anódica y los picos con valores inferiores a 0,6V son parte de todos los flavonoides. Mientras el segundo potencial máximo de 0,83 y 0,86V, son contribuciones debido la oxidación de grupos hidroxilo en el anillo A (Fig. 23), valores que pertenecen a la catequina (Zhang et al., 2011).



**Figura 23.** Grupo funcional catequina, antocianidina básica  
Fuente: (Zhang et al., 2011)

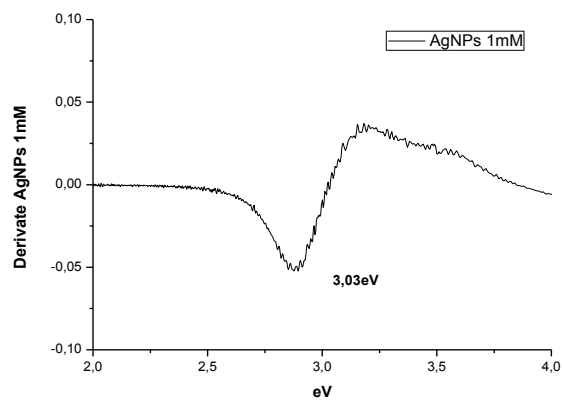


**Figura 24.** Voltametría cíclica del extracto respecto a las nanopartículas preparadas con soluciones de  $\text{AgNO}_3$  1mM y 10mM con un potencial de -1,2 a 1,2 V.

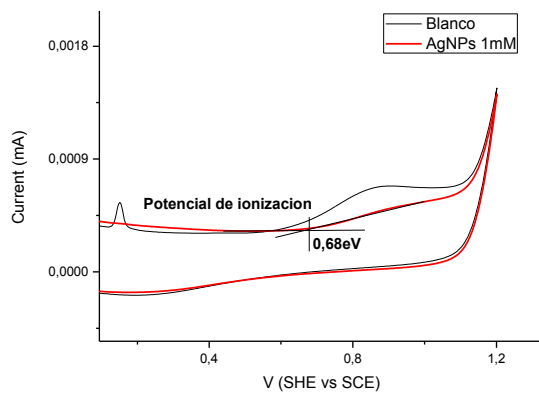
Adicionalmente, los valores de energía HOMO y LUMO, se obtuvieron para AgNPs preparadas con solución  $\text{AgNO}_3$  1mM:

Del mismo modo, se aplica el procedimiento de la Fig. 25 para obtener los valores de la energía del GAP y de HOMO para las AgNPs preparadas con solución de  $\text{AgNO}_3$  10mM, los que se resumen en la Tabla 11.

a)



b)



**Figura 25.** a) Estimación del GAP, de la primera derivada del UV-vis de las AgNPs preparadas con solución de  $\text{AgNO}_3$  1mM de la Fig 16a, valor de Gap 3,03eV, b) estimación HOMO, del voltamperograma de la Fig. 24, valor HOMO: 5,08.

**Tabla 9**

*Valores obtenidos para AgNPs, mediante voltametría cíclica.*

<b>Muestra</b>	<b>HOMO</b>	<b>GAP</b>	<b>LUMO</b>	<b>Longitud de onda (nm)</b>
<b>AgNPs preparadas con solución de AgNO<sub>3</sub> 1mM</b>	5,08 ± 0,015eV	3,03eV	2,05 ± 0,015eV	409
<b>AgNPs preparadas con solución de AgNO<sub>3</sub> 10mM</b>	5,03 ± 0,011eV	2,99eV	2,09 ± 0,011eV	414

Los valores del GAP fueron obtenidos aplicando la primera derivada de los espectros de las AgNPs preparadas con soluciones de AgNO<sub>3</sub> 1mM y 10mM esquematizados en las Fig. 16a y Fig. 16b y también a partir de la ecuación de Plank-Eisntein  $(E = \frac{hc}{\lambda})$ . Donde E es la energía de banda prohibida (GAP), **h** es la constante de Planck  $h = 4,1356 * 10^{-15} eV * s$ , **c** es la velocidad de la luz  $c = 3 * 10^{17} \frac{nm}{s}$  y  $\lambda$  es el punto medio de la longitud de onda a la cual absorbe el fotocatalizador (Altamira & En, 2007), E = 3,03eV. Del mismo modo se realizaron los cálculos para las AgNPs preparadas con solución AgNO<sub>3</sub> 10mM, cuyo valor fue 2,99eV. Valores típicos de los materiales con color (valor < 3eV), los cuales requieren poca energía para que un electrón pase a la banda de conducción (Carranza, 2013).

En los voltamperogramas de la Fig. 24, en la que se considera la prominencia de carga de las AgNPs, los potenciales máximos 0,83 y 0,86V, son curvas para determinar el voltaje, valor que consideró tres replicas y que emplea en la Ec.3c para obtención del valor HOMO, es conveniente referirse los valores potenciales (E) con referencia al electrodo patrón de hidrógeno (SHE) y así corregir la referencia para el nivel del vacío, con el valor de  $-4,6 \pm 0.1$  eV, los potenciales de los voltios se considera a la Ec3a.

$$E_{SHE} = E_{VAC} + 4,6 \quad \text{Ec. 3a}$$

Donde  $E_{SHE}$ , es el potencial de electrodo estándar,  $E_{VAC}$ , el potencial de vacío. El electrodo de referencia de este trabajo es Ag/AgCl, expresado:

$$E_{Ag/AgCl} \cong E_{SHE} - 0,2 \cong E_{VAC} + 4,4 \quad \text{Ec. 3b}$$

Con el potencial de oxidación en relación a Ag/AgCl, el potencial de oxidación relativo al nivel del vacío es:

$$E_{ox} = E'_{ox} + E_{Ag/AgCl} \cong E'_{ox} + E_{VAC} + 4,4 \quad \text{Ec. 3c}$$

Valor  $E_{VAC} = 0$ , podemos calcular el potencial de ionización,  $IP = e E_{ox}$  (donde e es la carga elemental), que permite determinar el nivel del HOMO en un diagrama de energía correlacionando con otras energías, tales como las funciones de trabajo de un cátodo y ánodo. El IP se calcula con voltamperogramas de las AgNPs (Fig.25), y los potenciales de absorción se encuentran en la posición de máxima absorción y están directamente relacionados con la Ecuación 3c.(Legnani & Cremona, 2006).

Para el resultante de LUMO, que es la diferencia de HOMO y del GAP, se utiliza la Ec. 3d. (Seixas S., et al, 2004).

$$LUMO = HOMO - GAP \quad \text{Ec. 3d}$$

Para el cálculo de HOMO y LUMO de las AgNPs sintetizadas se procedió a aplicar las Ec. 3c y Ec. 3d:

$$HOMO = (0,68eV \pm 0,015) + 4,4 = 5,08 \pm 0,015eV$$

$$LUMO = 5,08eV - 3,03 = 2,05eV$$

Estos resultados muestran que los AgNPs sintetizadas a partir de  $AgNO_3$  1mM y 10mM tienen un espacio de energía menor y mejor absorción de fotones 2,05 y 2,09eV, respectivamente, en la región UV-Vis (Stael et al., n.d.).

### **3.3 Degradación de colorantes asistida por nanopartículas de plata preparadas con $AgNO_3$ y carrasquilla**

La actividad de los fotocatalizadores fue estable a temperatura ambiente y con iluminación de luz visible, por lo que se cree que esta propiedad es el factor principal en la degradación de compuestos orgánicos y tintes (P. Kumar, Govindaraju, Senthamilselvi, & Premkumar, 2013).

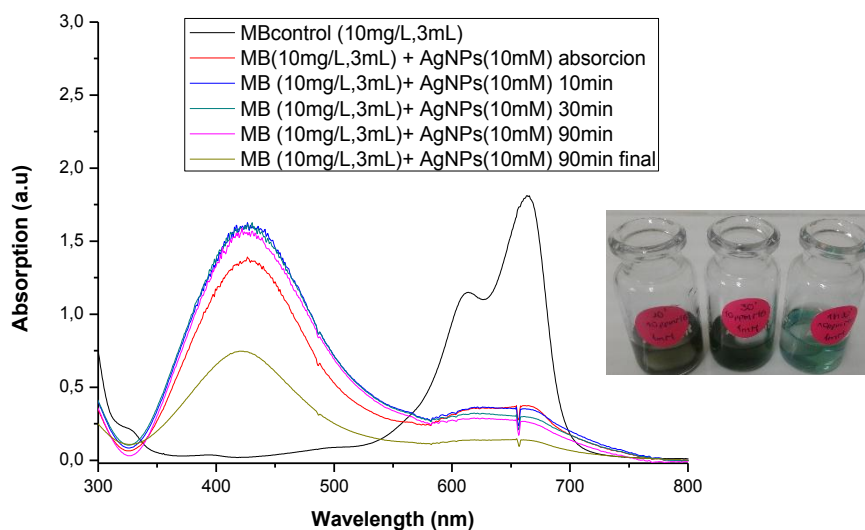
Las nanopartículas metálicas soportan el relé electrónico ( $e^-$ ) del donante al aceptor y actúa como un sustrato en la reacción de transferencia electrónica. Este mecanismo ocurre cuando los reactivos se adsorben en la superficie del metal y, en consecuencia, los reactivos ganan una  $e^-$  y son reducidos. Por lo tanto, las AgNPs actúan como un eficiente catalizador en el proceso de



transferencia del electrón, en las reacciones catalíticas de superficie (Muthukrishnan S, Muthukumar M, & Rao MV, 2015) y fundamentalmente como un mediador en la transferencia de electrones (efecto plasmónico) (Edison & Sethuraman, 2012). Se examinó también la influencia de la cantidad de AgNPs en la eficiencia de degradación. Para cantidades mayores o menores peso al escogido no hubo una buena eficiencia de remoción, ya sea por el uso de poca cantidad o exceso de las AgNPs (Muthukrishnan S, Muthukumar M, & Rao MV, 2015).

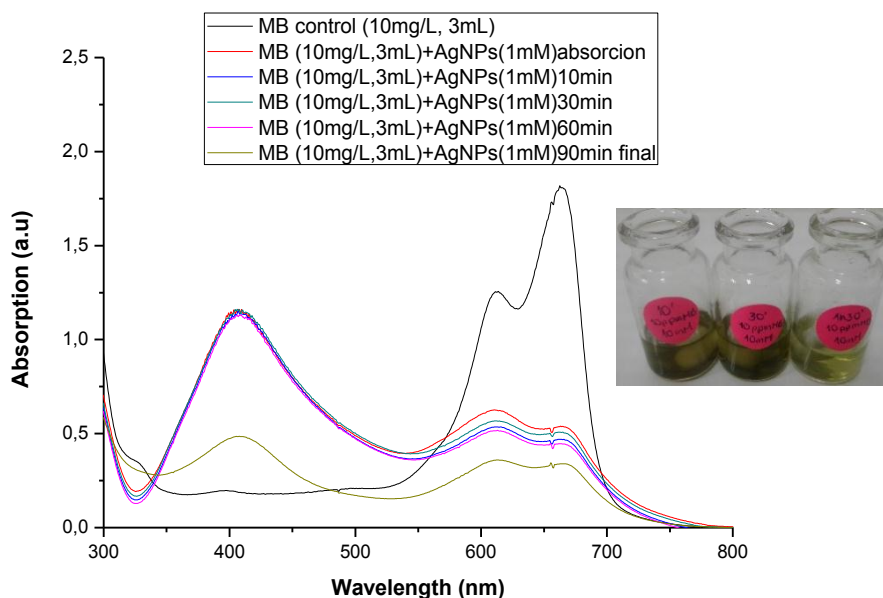
### 3.3.1 Azul de metileno (MB)

En la Fig. 26 se observan picos de absorbancia de la degradación del (MB) empleando AgNPs en polvo preparadas con 10 mM  $\text{AgNO}_3$ . Aplicando la Ec. 2 se estima que la degradación alcanza el 92,27% al tiempo de 90min.



**Figura 26.** Visualización de la degradación del colorante (MB) asistida por AgNPs preparadas con solución de  $\text{AgNO}_3$  (10mM) 0,20mg/mL.

En la Fig. 27 se observa picos de absorbancia de la degradación del MB empleando AgNPs en polvo preparadas con 1 mM  $\text{AgNO}_3$ . Igualmente aplicando la Ec. 2 se estima que la degradación llega al 83,71% durante 90min.

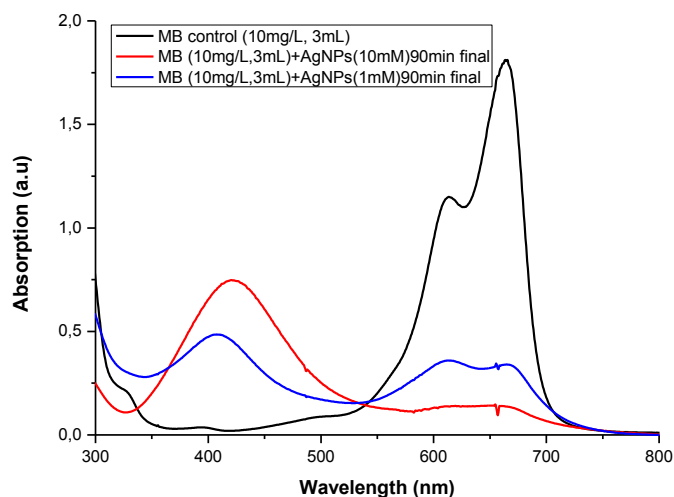


**Figura 27.** Visualización de la degradación del colorante (MB) asistida por AgNPs preparadas con solución de  $\text{AgNO}_3$  (1mM) 0,17mg/mL.

La diferencia en los porcentajes de degradación (Fig. 26 y Fig 27), se puede atribuir a la actividad del fotocatalizador y éste a su vez depende de la estructura cristalográfica, morfología y tamaño de las partículas, propiedades que demostraron ser distintas en la síntesis y caracterización (Xia, Xiong, Lim, & Skrabalak, 2009).

Además la coloración del producto final de las nanopartículas fue diferente. Las AgNPs preparadas con la solución 10mM de  $\text{AgNO}_3$  fue incoloro, propio del leucometileno (Edison &

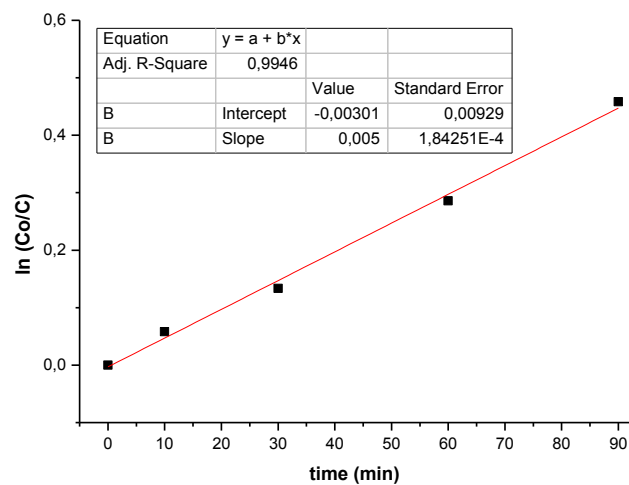
Sethuraman, 2012), mientras que el producto de las AgNPs preparadas con solución 1mM  $\text{AgNO}_3$  mostraron una coloración amarillenta, que es propia de las AgNPs.



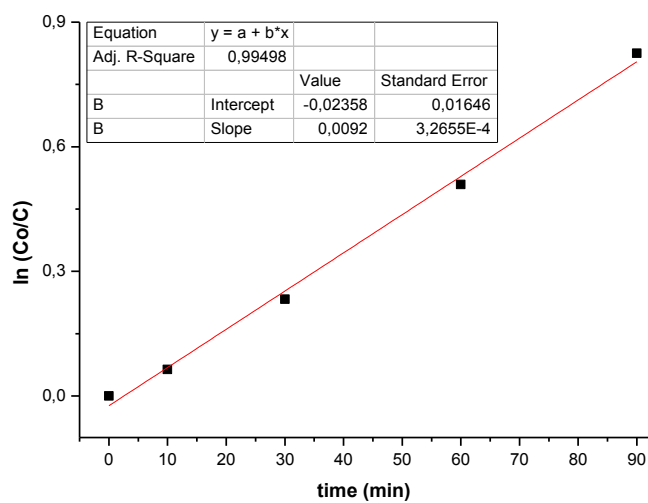
**Figura 28.** Visualización de la degradación del colorante (MB) asistida por AgNPs preparadas con soluciones de  $\text{AgNO}_3$  (1mM y 10mM).

Según la Fig. 28, se observa que el colorante MB en ausencia de AgNPs no reacciona (línea color negro); es decir, el control MB no se degrada (Arunachalam et al., 2012). Mientras que en presencia de los fotocatalizadores, se observa una disminución del pico del MB (azul y rojo) en la longitud de onda 664nm y en consecuencia una disminución de la absorbancia. Además, se ve el pico de la plata en  $\sim 400\text{nm}$  y un ligero desplazamiento de su longitud de onda para ambos tipo de nanopartículas, preparadas con  $\text{AgNO}_3$  1mM y 10mM.

a)



b)



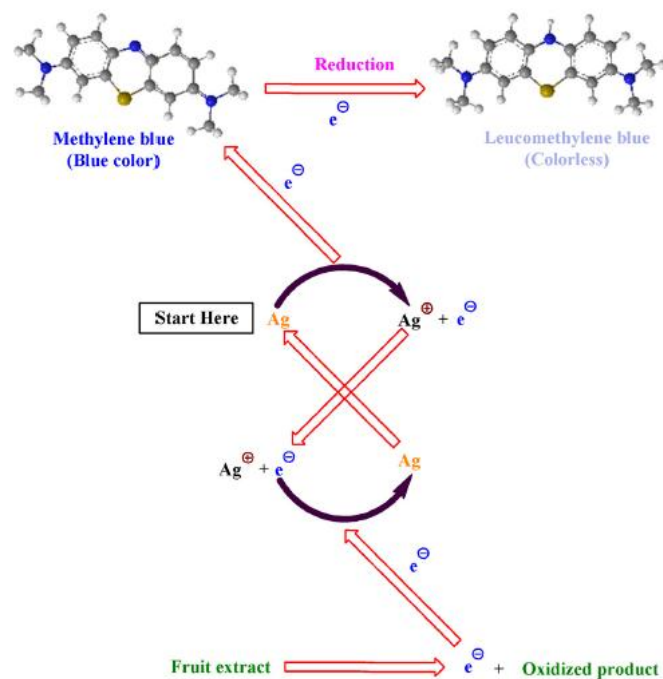
**Figura 29.** Cinéticas lineales de MB + AgNPs:

- a) AgNPs preparadas con solución de  $\text{AgNO}_3$  1mM, modelo de primer orden,
- b) AgNPs preparadas con solución de  $\text{AgNO}_3$  10mM, modelo de primer orden

La cinética de degradación del MB en presencia de AgNPs, para ambas soluciones de  $\text{AgNO}_3$ , se ajusta a un modelo de primer orden,  $\ln(C_0/C)$  vs time (Shahwan et al., 2011) (Kansal, Singh, & Sud, 2007). La tasa de degradación para Fig. 29a,  $k$  es igual a  $0,005\text{min}^{-1}$ , con la concentración de AgNPs de  $0,2\text{mg/mL}$ ; mientras para la Fig. 29b,  $k$  es igual a  $0.0092\text{min}^{-1}$  para la concentración de AgNPs  $0,17\text{mg/mL}$ . En ambos casos, la constante de velocidad mayor del MB responde a una cinética de eliminación más rápida y que corresponde a las AgNPs de solución  $10\text{mM}$  de  $\text{AgNO}_3$ .

Se cree que el mecanismo de degradación ocurre por la pérdida de conjugación de la molécula orgánica en MB y la formación de leuco-MB (B. Kumar et al., 2014); B. Kumar et al., 2016). A su vez este mecanismo está asociado con la actividad de los aniones superoxídicos, los huecos de la banda de valencia y los electrones de la banda de conducción, que causan oxidación y reducción del tinte (Vizuite et al., 2016).

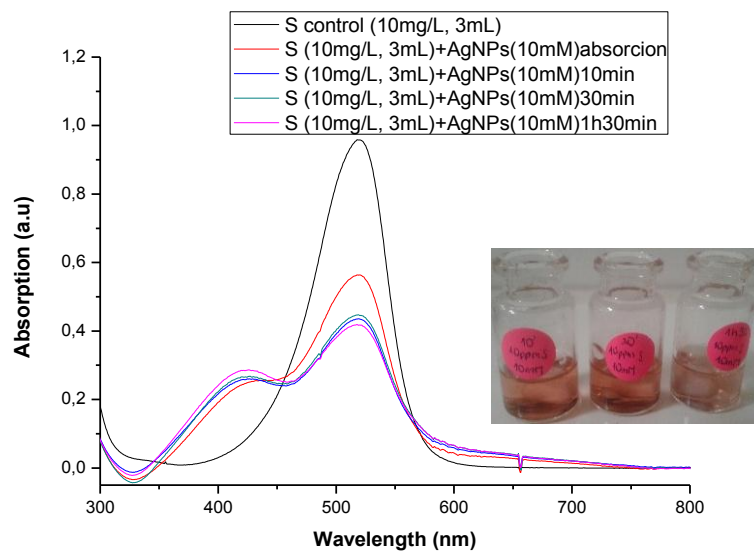
El mayor porcentaje de degradación ocurre cuando se aplica las AgNPs preparadas con solución de  $\text{AgNO}_3$   $10\text{mM}$ , debido a que mientras más pequeñas son las nanopartículas, mayor es el área de superficie, lo que a su vez aumenta la exposición del tinte en la superficie de las AgNPs en el proceso de degradación, obteniéndose una excelente actividad fotocatalítica (Arunachalam et al., 2012), como se ve en la Fig. 30 (Edison & Sethuraman, 2012).



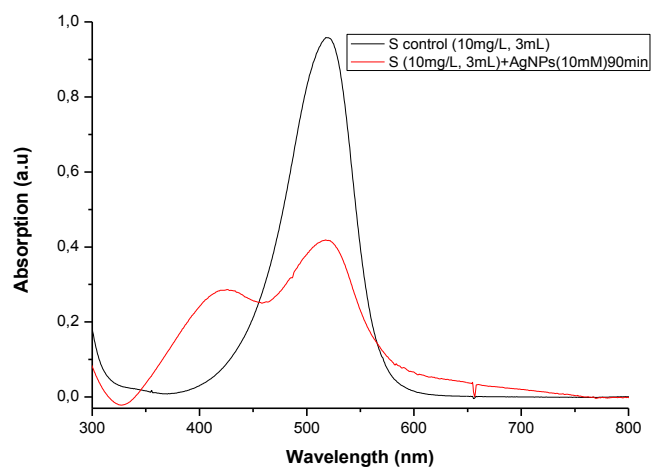
**Figura 30.** Acción catalítica entre un extracto vegetal y MB (electron relay effect)  
Fuente: (Edison & Sethuraman, 2012)

### 3.3.2 Safranina (S)

En la Fig. 31 se observan picos de absorbancia de la degradación de la S empleando AgNPs en polvo preparadas con 10 mM  $AgNO_3$ . Con la Ec. 2 se estima que la degradación alcanza el 57,24 %, a los 90min.



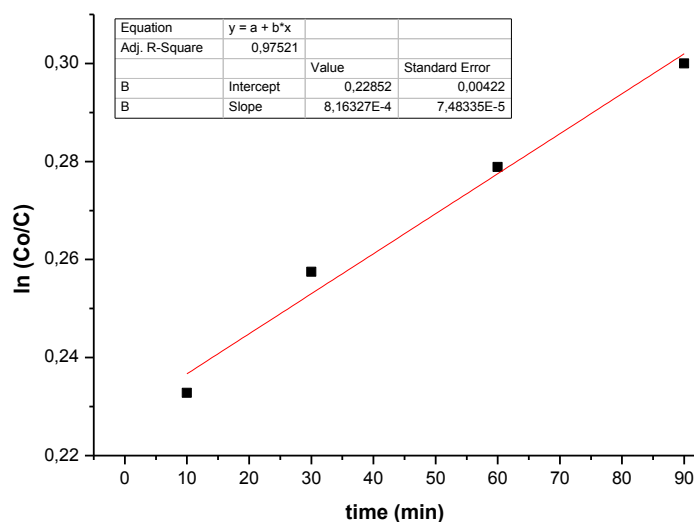
**Figura 31.** Visualización de la degradación del colorante (S) asistido de AgNPs preparadas con solución de  $\text{AgNO}_3$  (10mM) 0,05mg/mL.



**Figura 32.** Visualización de la degradación del colorante (S) asistida por AgNPs preparadas con solución de  $\text{AgNO}_3$  (10mM).

El tinte S en ausencia de partículas no produce cambios significativos en los espectros de emisión (Muthukrishnan S et al., 2015). Los picos característicos de la S son igual a 248nm, 276nm y 518nm. La degradación descrita por el pico  $\lambda = 518\text{nm}$ , no se presenta un desplazamiento de la longitud de onda sino únicamente disminución de absorción.

En la Fig. 32 también se observa que el producto resultante de la degradación mantiene el color rosa, color característico a las moléculas de S, las que al ponerse en contacto con la superficie de las AgNPs, no son afectadas en sus propiedades (Mokashi et al., 2012).



**Figura 33.** Cinética lineal de S + AgNPs en solución de  $\text{AgNO}_3$  10mM. Modelo de primer orden.

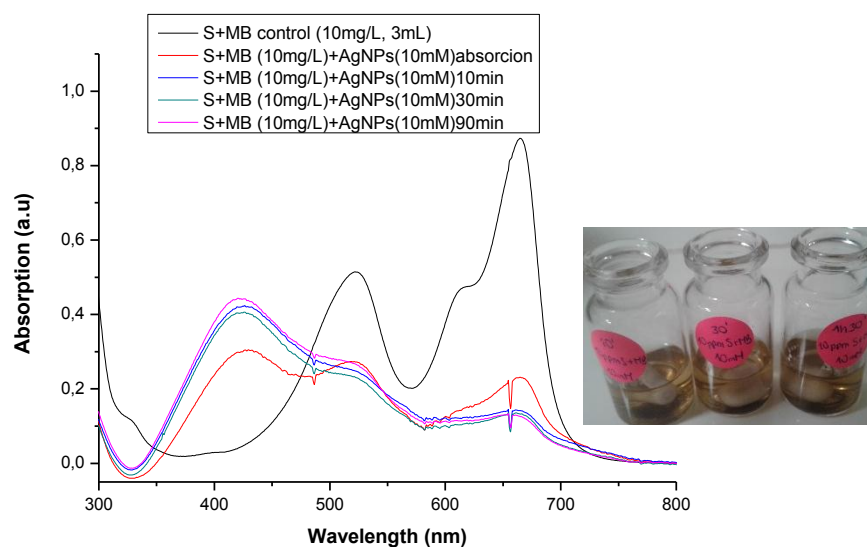
Los resultados de la cinética de degradación de la S con 0.05mg/mL de AgNPs en solución de  $\text{AgNO}_3$  10mM, se ajustan al modelo  $\ln(Co/C)$  vs tiempo, cinética de primer orden (ver Fig. 33), con una constante de velocidad de reacción,  $k = 0.0000816\text{min}^{-1}$ .



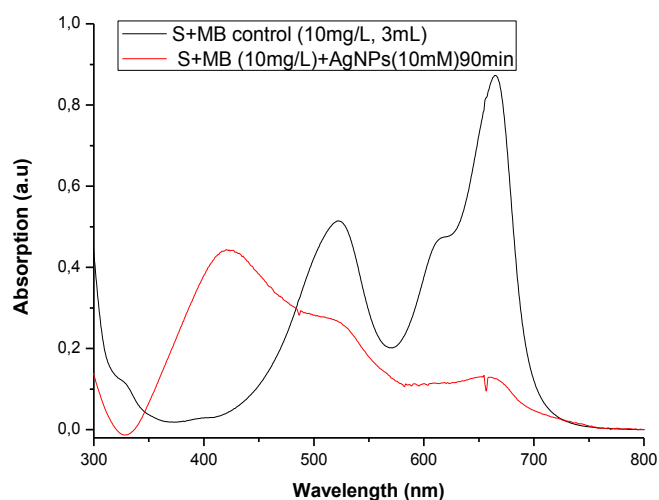
El porcentaje de remoción alcanzado es debido al moderado incremento de la superficie y es impulsado por la migración catalítica de huecos a la superficie de las AgNPs (Muthukrishnan S et al., 2015).

### 3.3.3 Azul de metileno y Safranina (MB) y (S)

Para este estudio se consideró los dos tintes anteriores que tienen longitudes de onda diferentes y que faciliten la interpretación de degradación con simplemente visualizar los espectros UV-vis. En la Fig. 34 se observan picos de absorbancia de la degradación simultánea de MB y S, empleando AgNPs en polvo preparadas con 10 mM  $\text{AgNO}_3$  para diferentes tiempos hasta 90 min. En forma similar a las anteriores, aplicando la Ec. 2 se estima los porcentajes de degradación para MB fue del 85,71% y para S fue del 52,94%.

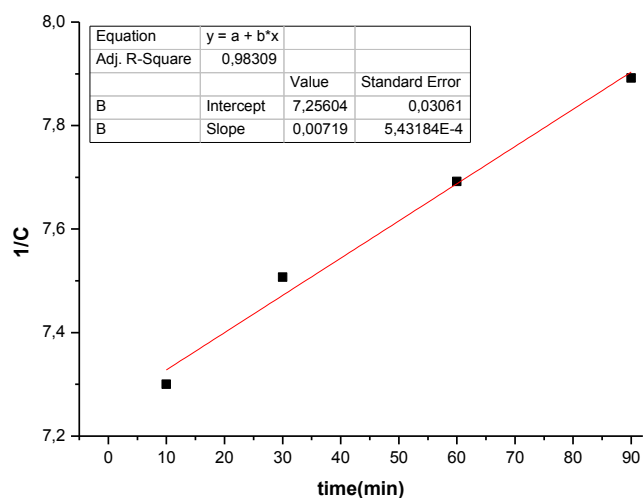


**Figura 34.** Visualización de la degradación del colorante (MB) + (S) asistido por AgNPs preparadas con solución de  $\text{AgNO}_3$  (10mM) 0,1mg/mL.



**Figura 35.** Visualización de la degradación del colorante (MB) + (S) asistida por AgNPs preparadas con solución de  $\text{AgNO}_3$  (10mM).

El control con MB + S de la Fig. 35, despliega los picos en las longitudes de onda de 664nm de MB y 518 de S (línea color negra). Se observa que sin la aplicación de AgNPs no existe reacción, similar a lo reportado por Arunachalam et al., 2012. Se observa que el porcentaje de degradación es similar a aquel obtenido cuando los dos colorantes se estudiaron independientemente (línea roja), ya que se utiliza del mismo catalizador (AgNPs preparadas con solución 10mM de  $\text{AgNO}_3$ ) (Xia et al., 2009). Es posible no haya competencia debido a que las AgNPs presentan la misma área específica a los mismos sitios activos del colorante MB+S. Visualmente se comprobó que no hubo cambio de coloración púrpura formada inicialmente y se mantuvo constante hasta después de la degradación, sugiriendo que no existe transformación sino solamente adherencia del tinte a las AgNPs (Mokashi et al., 2012).



**Figura 36.** Cinética lineal de S+MB + AgNPs en solución de  $\text{AgNO}_3$  10mM. Modelo de segundo orden

La grafica de la cinética de los colorantes con AgNPs de solución  $\text{AgNO}_3$  10mM, se adecúa al modelo  $1/C$  vs tiempo, cinética de segundo orden, con una tasa de degradación  $k = 0.00719 \text{ min}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{mg}^{-1}$ . La correlación  $R^2 = 0.9830$  indica el proceso de reducción de colorantes orgánicos al utilizar 0,1mg/mL de AgNPs en solución de  $\text{AgNO}_3$  10mM se ajusta muy bien al modelo de segundo orden (Muthukrishnan S et al., 2015).

## CAPÍTULO 4

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 CONCLUSIONES

- La obtención del extracto pigmentado de carrasquilla mediante maceración con un solvente polar, permitió mantenerlo a pH ácido y conservarlo seco como materia prima para la síntesis de AgNPs. El valor del contenido total de polifenoles (TCP) del extracto fue valorado en 22,44g AG/g carrasquilla, mientras la capacidad antioxidante del extracto y AgNPs preparadas con solución AgNO<sub>3</sub> (10mM), muestra una actividad antioxidante de 28,96% y 25,82%, respectivamente. Por otra parte, excelente la estabilidad y actividad antioxidante del extracto asegura la síntesis de AgNPs.

La síntesis y caracterización de AgNPs a partir de extracto de carrasquilla (*Berberis hallii*) permitió evaluar su actividad fotocatalítica en tintes orgánicos como Azul de Metileno, Safranina y la mezcla de ambos. Se estableció que las condiciones óptimas para realizar la síntesis de las nanopartículas fueron: concentración de extracto, 20mg/mL; pH~12,5; tiempo de temperatura de incubación de 1h; proceso de purificación, con centrifugaciones a 10000 y 12000rpm por 15min y posterior liofilización. Las AgNPs sintetizadas con solución 1mM de AgNO<sub>3</sub>, exhiben tamaños de  $36,7 \pm 20,99$ nm, porcentaje de remoción de MB fue 83,71% a una longitud de onda igual a 664nm. Mientras que las AgNPs sintetizadas con solución 10mM de AgNO<sub>3</sub>, exhiben tamaños  $26,32 \pm 16,10$ nm, con un porcentaje de remoción de MB fue 92,27%, a longitud de onda de 664nm. En cambio, las AgNPs

sintetizadas con solución 10mM AgNO<sub>3</sub>, removieron el 57.24% de S a una longitud de onda igual a 518nm, sin cambio en su estructura molecular evidente, ya que no varió la coloración del producto de la degradación. Finalmente, en el ensayo con la combinación de colorantes MB+S, el MB a longitud de onda igual a 664 y la S a longitud de onda igual a 518nm, sufren remociones del 85,71% y 52,94%, respectivamente.

- Por último, la actividad catalítica de las AgNPs depende del método de síntesis de AgNPs, ya que relaciona el tamaño y morfología resultantes. Además, la estructura cristalina, el área superficial específica, son aspectos importantes en catálisis.

## 4.2 RECOMENDACIONES

- Para realizar una caracterización completa de las AgNPs y del extracto vegetal se recomienda emplear otras técnicas, como FTIR, que permita identificar las biomoléculas del extracto que interactúan con las AgNPs.
- En el proceso de optimizar la síntesis de AgNPs, se requiere un control del tamaño de AgNPs para evitar un valor alto de desviación estándar, por ejemplo aumentar la concentración del precursor.
- Luego de la liofilización de las AgNPs se debe caracterizarlas, ya que en el estudio se realizó antes de este proceso lo que pudo alterar algunas características esenciales para la catálisis de colorantes.
- Se recomienda volver a repetir la síntesis de AgNPs con extracto de carrasquilla del año 2018, para comparar la reproducibilidad y concluir el uso constante de estos fotocatalizadores.  
  
Se recomienda realizar mayor número de repeticiones en las degradaciones que tienen una amplia desviación estándar de porcentaje de degradación, para evitar un error estándar alto.
- En cada ensayo de degradación se recomienda hacer la acción catalítica de AgNPs y S, con el fin de obtener la molécula de mineralización y comprobar si no afecta al ambiente.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abril Díaz, N., Bárcena Ruiz, J. A., Fernández Reyes, E., Galván Cejudo, A., Jorrín Novo, J., Peinado Peinado, J., ... Túnez Fiñana, I. (2010). Espectrofotometría : Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. *Campus Universitario de Rabanales. Departamento de Bioquímica Y Biología Molecular, 1*, 1–8. Retrieved from [http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08\\_ESPECTROFOTOMETR?A.pdf](http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETR?A.pdf)
- Aliyu, A. B., Ibrahim, M. A., Ibrahim, H., Musa, A. M., Lawal, A. Y., Oshanimi, J. A., ... Amupitan, J. O. (2012). Free radical scavenging and total antioxidant capacity of methanol extract of ethulia conyzoides growing in nigeria. *Romanian Biotechnological Letters, 17*(4), 7458–7465.
- Altamira, U., & En, M. (2007). Instituto politécnico nacional. CRECIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DE CdTe:Cu
- Alzamora, S. M., Guerrero, S. N., Nieto, a. B., & Vidales, S. L. (2004). Conservación de frutas y hortalizas mediante tecnologías combinadas “Manual de Capacitación.” *Fao*, 69. <http://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Anigol, L. B., Charantimath, J. S., & Gurubasavaraj, P. M. (2017). Effect of Concentration and pH on the Size of Silver Nanoparticles Synthesized by Green Chemistry. *Organic & Medicinal Chem, 3*(5), 1–5. <http://doi.org/10.19080/OMCIJ.2017.03.555622>
- Arroyo, C. R., Debut, A., Vaca, A. V., Stael, C., Guzman, K., Kumar, B., & Cumbal, L. (2016). Reliable tools for quantifying the morphological properties at the nanoscale. *Biology and Medicine, 8*(3), 5–8. <http://doi.org/10.4172/0974-8369.1000281>

- Arunachalam, R., Dhanasingh, S., Kalimuthu, B., Uthirappan, M., Rose, C., & Mandal, A. B. (2012). Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Coccinia grandis* leaf extract and its application in the photocatalytic degradation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *94*, 226–230. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.01.040>
- Bautista Suárez, L. (2011). Degradación De Colorantes (Azul De Metileno) Por Métodos Electroquímicos, 66.
- Biocomercio Andino. (2017). *Berberis hallii*. Retrieved October 9, 2017, from <http://plantasnativas.visitavirtualjbq.com/index.php/epoca/xix-hall-jameson-hartweg/40-berberis-hallii>
- Carranza, S. (2013). Síntesis Y Caracterización De Nuevos Copolímeros Semiconductores.
- Carrión, A., & García, C. (2010). “ PREPARACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES : Determinación de eficiencia de metódica.
- Ciencias, F. De. (2008). Química y Actividad Biológica de *Berberis rotundifolia*, 89.
- Del Carpio-Jiménez, Carla; Serrano-Flores, Carlos; Giusti, M. (2009). Caracterización de las antocianinas de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler. *Rev Soc Quím Perú*, *75*(1), 76–86.
- Edison, T. J. I., & Sethuraman, M. G. (2012). Instant green synthesis of silver nanoparticles using *Terminalia chebula* fruit extract and evaluation of their catalytic activity on reduction of methylene blue. *Process Biochemistry*, *47*(9), 1351–1357. <http://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.04.025>
- García, I. N., Rodríguez, R. H., Luis, J., & Pereira, B. (2015). Síntesis verde de nanopartículas para la eliminación de colorantes en medios acuosos .



- Garzón, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta Biol. Colomb.*, 13(3), 27–36.
- Hernández Díaz, M. P. (2013). Síntesis De Nanopartículas De Plata Biológicamente Asistida Con Opuntia Sp. Y Su Incorporación En Membranas Poliméricas Nanofibras, 156. Retrieved from [https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/64/1/Tesis de maestria Marco Polo Hernandez.pdf](https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/64/1/Tesis_de_maestria_Marco_Polo_Hernandez.pdf)
- Hormaza, A., Moreno, A., & Figueroa, D. (2013). Adsorción de azul de metileno sobre cascarilla de arroz. *Producción Más Limpia*, 7(1), 9–18. Retrieved from <http://repository.lasallista.edu.co:8080/ojs/index.php/pl/article/view/231>
- Kansal, S. K., Singh, M., & Sud, D. (2007). Studies on photodegradation of two commercial dyes in aqueous phase using different photocatalysts. *Journal of Hazardous Materials*, 141(3), 581–590. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.07.035>
- Kumar, B., & Smita, K. (2016). Aqueous Phase Lavender Leaf Mediated Green Synthesis of Gold Nanoparticles and Evaluation of its Antioxidant Activity. *Biology and Medicine*, 8(3), 8–11. <http://doi.org/10.4172/0974-8369.1000290>
- Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., & Debut, A. (2014). Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil for one pot synthesis of silver nanocatalyst: An ecofriendly approach. *Industrial Crops and Products*, 58, 238–243. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.04.021>
- Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., & Debut, A. (2016). Ficus carica (Fig) Fruit Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles and its Antioxidant Activity: a Comparison of Thermal and Ultrasonication Approach. *BioNanoScience*. <http://doi.org/10.1007/s12668-016-0193-1>

- Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., Debut, A., Camacho, J., Hernández-Gallegos, E., ... Rosero, G. (2015). Pomosynthesis and biological activity of silver nanoparticles using *Passiflora tripartita* fruit extracts. *Advanced Materials Letters*, 6(2), 127–132. <http://doi.org/10.5185/amlett.2015.5697>
- Kumar, P., Govindaraju, M., Senthamilselvi, S., & Premkumar, K. (2013). Photocatalytic degradation of methyl orange dye using silver (Ag) nanoparticles synthesized from *Ulva lactuca*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 103, 658–661. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.11.022>
- Legnani, C., & Cremona, M. (2006). Produção e caracterização de dispositivos orgânicos eletroluminescentes ( OLEDs ) baseados em complexos supramoleculares Produção e caracterização de dispositivos orgânicos eletroluminescentes ( OLEDs ) baseados em complexos supramolecul.
- León, F. (2013). Departamento de Química Inorgánica , Orgánica y Bioquímica Área de Química Orgánica Síntesis de bistriazinas con aplicación en química de materiales mediante metodologías de Química sostenible, 1–290.
- Li, Y., Chen, S. M., Ali, M. A., & AlHemaid, F. M. A. (2013). Biosynthesis and electrochemical characterization of silver nanoparticles from leaf extract of *adenium obesum* and its application to antibacterial effect. *International Journal of Electrochemical Science*, 8(2), 2691–2701.
- Lic, P., & Botasini, S. (n.d.). nanopartículas y desarrollo de un sensor colorimétrico.
- Madrid, A., Naranjo, B., Debut, A., & Angulo, Y. (2017). “Síntesis Y Caracterización De

Nanopartículas De Plata a Partir De Varios Extractos Pigmentados De Dos Plantas Para Su Aplicación En Celdas Solares Híbridas.

McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73(1), 73–84. [http://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00288-0](http://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00288-0)

Melrose, J., Perroy, R., & Careas, S. (2015). Los Cuadros Más Importantes Y Significativos. *Statewide Agricultural Land Use Baseline 2015, I*, 1–20; Creación:2010; Recuperado:10 mayo 2015. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Mendenhall, W. (2007). *Introducción a la Probabilidad Y Estadística*. Retrieved from <http://books.google.com.pe/books?id=HRLsAaysbnEC>

Mokashi, V. V., Gore, A. H., Sudarsan, V., Rath, M. C., Han, S. H., Patil, S. R., & Kolekar, G. B. (2012). Evaluation of interparticle interaction between colloidal Ag nanoparticles coated with trisodium citrate and safranin by using FRET: Spectroscopic and mechanistic approach. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 113, 63–69. <http://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2012.05.006>

Moncayo, I. (2010). Remoción De Los Colorantes Textiles Reactivos Rojo 141 , Amarillo 84 Y Azul Navy 171 Eliminados En El Agua Residual , Utilizando Un Inóculo Compuesto Seleccionado , Bajo Condiciones Anaerobias a Nivel De Laboratorio, 113.

Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata : métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Investigación Química*, (August), 33–41.

Muthukrishnan S, B. S., Muthukumar M, S. M., & Rao MV, S. K. T. (2015). Catalytic Degradation

of Organic Dyes using Synthesized Silver Nanoparticles: A Green Approach. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 6(5). <http://doi.org/10.4172/2155-6199.1000312>

Noruzi, M., Zare, D., Khoshnevisan, K., & Davoodi, D. (2011). Rapid green synthesis of gold nanoparticles using *Rosa hybrida* petal extract at room temperature. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79(5), 1461–1465. <http://doi.org/10.1016/j.saa.2011.05.001>

Ringuelet, J., & Viña, S. (2013). *Productos naturales vegetales*.

Shahwan, T., Abu Sirriah, S., Nairat, M., Boyaci, E., Eroğlu, A. E., Scott, T. B., & Hallam, K. R. (2011). Green synthesis of iron nanoparticles and their application as a Fenton-like catalyst for the degradation of aqueous cationic and anionic dyes. *Chemical Engineering Journal*, 172(1), 258–266. <http://doi.org/10.1016/j.cej.2011.05.103>

Seixas S., Moreno M., Burrows H., Gil M. (2004). *Química de polímeros: contribuciones portuguesas*.

[https://books.google.com.ec/books?id=sDbIom69e6sC&pg=PA481&dq=VOLTAMETRIA+CICLICA+CALCULO+HOMO&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi\\_\\_-v4ivfcAhWLtlkKHY89Co0Q6AEIKzAB#v=onepage&q=VOLTAMETRIA%20CICLICA%20CALCULO%20HOMO&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=sDbIom69e6sC&pg=PA481&dq=VOLTAMETRIA+CICLICA+CALCULO+HOMO&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi__-v4ivfcAhWLtlkKHY89Co0Q6AEIKzAB#v=onepage&q=VOLTAMETRIA%20CICLICA%20CALCULO%20HOMO&f=false)

Sowndhararajan, K., & Kang, S. C. (2013). Free radical scavenging activity from different extracts of leaves of *Bauhinia vahlii* Wight & Arn. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(4), 319–325. <http://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.12.005>

Stael, C., Cruz, R., Naranjo, B., Debut, A., & Angulo, Y. (n.d.). Improvement of cochineal extract

(*Dactylopius coccus costa*) properties based on the green synthesis of silver nanoparticles for application in organic devices, 1–31.

Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, Y. S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, *93*(4), 713–718. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.038>

Vizuete, K. S., Kumar, B., Guzmán, K., Debut, A., & Cumbal, L. (2016). Shora (*Capparis petiolaris*) fruit mediated green synthesis and application of silver nanoparticles. *Green Processing and Synthesis*, *0*(0). <http://doi.org/10.1515/gps-2016-0015>

Wang, X., Liu, J., Qu, R., Wang, Z., & Huang, Q. (2017). The laccase-like reactivity of manganese oxide nanomaterials for pollutant conversion: rate analysis and cyclic voltammetry. *Scientific Reports*, *7*(1), 7756. <http://doi.org/10.1038/s41598-017-07913-2>

Williams, B. D. (2015). Measuring & Characterizing Nanoparticle Size – TEM vs SEM, 1–4.

Xia, Y., Xiong, Y., Lim, B., & Skrabalak, S. E. (2009). Shape-controlled synthesis of metal nanocrystals: Simple chemistry meets complex physics? *Angewandte Chemie - International Edition*, *48*(1), 60–103. <http://doi.org/10.1002/anie.200802248>

Zanella, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Www.Mundonano.Unam.Mx*, *5*(1), 69–81.

Zhang, D., Chu, L., Liu, Y., Wang, A., Ji, B., Wu, W., ... Jia, G. (2011). Analysis of the Antioxidant Capacities of Flavonoids under Different Spectrophotometric Assays Using Cyclic Voltammetry and Density Functional Theory, 10277–10285.

