

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL
CUSCO
ESCUELA DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS: MENCIÓN EN ECOLOGÍA Y
GESTIÓN AMBIENTAL**



**SÍNTESIS VERDE Y CARACTERIZACION DE NANOPARTÍCULAS
DE PLATA EN MATRIZ DE ARCILLA CHAK'O Y SU ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA EN *E. coli* ATCC 51813**

**TESIS PRESENTADA POR LA BACHILLER:
SONIA ARAGÓN MAMANI**

**Para optar al Grado Académico de Magister en
Ciencias, Mención en Ecología y Gestión Ambiental.**

ASESORA: Dra. CATALINA RUÍZ PÉREZ



**CUSCO-PERÚ
2020**

DEDICATORIA

A mis hijas Micaela y Vania, por ser
mi fuente de inspiración constante.

A Percy, por todo su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre (in memoriam), por su amor y ejemplo. A cada uno de mis hermanos que con su apoyo y aliento permitieron que iniciara, realizará y terminará este trabajo.

A la Dra. Catalina Ruíz por su apoyo constante, dedicación y valiosas sugerencias durante la realización de la tesis, y sobre todo ser quién me ofreció todas las posibilidades para cumplir este sueño mostrándome que hacer ciencia con nuestras condiciones es factible.

A la Ing. Corina Álvarez, por su apoyo, amistad y consejos; quien me brindó todas las facilidades para trabajar la parte experimental, por abrirme las puertas necesarias para alcanzar esta meta, con compromiso, apoyo y confianza y con su empeño para poder realizar otros trabajos relacionados al tema.

Agradecer al Dr. Alcides Milla y a mis colegas Quim. Julio Ramos, Quim. Kelly Taco, Quim. Anadeida Valencia, Quim. Washington Candia, Quim. Katia Carmona y al Dr. Melquiades Barragán por todo su apoyo y colaboración en diferentes partes de la presente tesis.

Agradecer a todas y cada uno de los conformantes de la familia de Fisicoquímica de la Escuela Profesional de Química que me permitieron formar junto a ellos el Laboratorio de Nanotecnología en nuestra alma mater.

INDICE

DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS	IV
INDICE.....	V
Indice de Tablas	XI
Indice de Figuras	XIII
Indice de Anexos	XVII
ABREVIATURAS.....	XVIII
RESUMEN	XX
RESUMO	XXI
INTRODUCCIÓN.....	1
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.1 Situación problemática	3
a. Problema general.....	6
b. Problemas específicos.....	6
1.2 Objetivos de investigación	6
1.1.1 Objetivo general	6
2.1.1 Objetivos específicos.....	6
1.3 Justificación de investigación	7
II. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL.....	9
2.1 Bases teóricas	9
2.1.1 Nanotecnología y nanociencia	9

2.1.2	Propiedades de las nanopartículas.....	11
2.1.3	Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie	11
2.1.4	Química de la plata	14
2.1.5	Nanopartículas metálicas-métodos de síntesis	17
2.1.6	Nanopartículas de plata	17
2.1.7	Métodos de síntesis de nanopartículas de plata	18
2.1.8	Factores que afectan el tamaño y forma de nanopartículas de plata	19
2.1.9	Métodos de síntesis verde	20
2.2	El té verde (<i>Camellia sinensis</i>).....	22
2.3	Arcilla Chak'o	26
2.4	Nanomateriales modificados con actividad antimicrobiana	28
2.5	Nanomateriales modificados con actividad catalítica	28
2.6	Métodos de caracterización de nanopartículas metálicas	29
2.7	Uso de nanopartículas de plata en descontaminación de agua.....	31
2.7.1	Microorganismos patógenos.....	32
2.7.2	Modo de acción de nanopartículas de plata contra las bacterias	32
2.7.3	Cuantificación de la actividad antimicrobiana.....	35
2.8	Degradación de contaminantes orgánicos del agua.....	35
2.8.1	Nanopartículas de plata en la degradación de colorantes sintéticos.	35
2.8.2	Actividad fotocatalítica.....	35
2.8.3	Azul de metileno	36
2.9	Estado del arte	38
III.	CAPITULO: HIPÓTESIS Y VARIABLES	43
3.1	Hipótesis	43

3.2	Identificación de variables e identificadores.....	43
3.3	Operacionalización de variables.....	45
IV.	CAPITULO: METODOLOGÍA.....	50
4.1	Nivel de investigación	50
4.2	Tipo de investigación	50
4.3	Muestra	50
4.4	Materiales y reactivos	50
4.5	Metodología	52
4.6	Consideraciones generales parte experimental.....	52
4.7	Procedimiento A.1.....	53
4.7.1	Pruebas iniciales de síntesis de AgNp con extractos acuosos	53
4.7.2	Procedimiento método C- Dopado de AgNp en matriz de Pilc-Al de arcilla Chak'ó	55
4.7.3	Dopado de AgNp en matriz de arcilla Chak'ó.....	56
4.1.1	Síntesis en un solo paso - dopado de AgNp en matriz de CB-Na extracto acuoso, variando pH (ácido y básico).....	57
4.8	Variación de parámetros de síntesis:.....	58
4.8.1	Efecto de la relación arcilla/Ag+.....	58
4.8.2	Efecto de la concentración del reductor: como observamos en la tabla 11, se procedió a variar la concentracipón en % del agente reductor desde 100 a 25%.....	58
4.8.3	Efecto del pH	59
4.9	Pruebas de aplicación de nanopartículas de plata sintetizadas para descontaminación de agua	59
4.9.1	Frente a E. Coli	59

4.10	Evaluación del efecto de AgNps sintetizadas en la reducción de azul de metileno	60
4.11	Consideraciones para la caracterización	61
V.	RESULTADOS Y DISCUSION	64
5.1	Sobre pruebas preliminares de síntesis	64
5.1.1	Caracterización por espectroscopía UV-Visible	65
5.2	Caracterización de AgNp-TR -método B	66
5.2.1	UV-Visible	66
5.2.2	SEM	67
5.2.3	STEM-DF mapping	68
5.2.4	TEM	69
5.3	Síntesis de AgNp -TV- método A	70
5.3.1	UV-Visible	70
5.3.2	SEM AgNp-TV - método A	72
5.3.3	TEM AgNp-TV – método A	72
5.3.4	STEM-DF mapa EDX micropartícula Ag-TV - método A	73
5.4	AgNp-TV método B	74
5.4.1	UV-Visible AgNp-TV método B	74
5.4.2	SEM-EDX AgNp-TV método B	75
5.4.3	TEM AgNp-TV método B	75
5.4.4	STEM mapping AgNp-TV método B	76
5.4.4	FT-IR AgNp-TV método B	76
5.5	Ag/arcilla- Al -dopado de PIL-Al-extracto acuoso de Té verde	78
5.5.2.	DRX Ag/arcilla- Al	79
5.5.2	SEM –EDX Ag/arcilla- Al	81

5.5.3	TEM Ag/arcilla- Al.....	82
5.5.4	FT-IR Ag/arcilla- Al	82
5.5.5	Termograma Ag/arcilla- Al:.....	84
5.6	Dopado de AgNp en matriz de arcilla Chak'o-Na	85
5.6.1	Ag/arcilla.....	85
5.6.a.1	Espectroscopía UV-Visible Ag/arcilla.....	85
5.6.a.2	Efecto de la relación arcilla /Ag+.....	88
5.6.a.3	Efecto de la concentración del reductor	89
5.6.a.4	Efecto del pH	91
5.6.2	Caracterización Ag/arcilla.....	92
5.6.b.1	FT-IR Ag/arcilla pH ácido.....	92
5.6.b.2	SEM-EDX Ag/arcilla pH ácido	93
5.6.b.3	TEM Ag/arcilla pH ácido	94
5.6.2	Ag/arcilla pH básico	95
5.6.c.1	SEM Ag/arcilla pH básico.....	95
5.6.c.2	TEM Ag/arcilla pH básico.....	96
5.6.3	Ag/arcilla-TV pH básico.....	97
5.6.d.1	UV-VISIBLE Ag/arcilla-TV pH básico.....	97
5.6.d.2	DRX Ag/arcilla -TV-pH básico	98
5.6.d.3	SEM Ag/arcilla -TV- básico.....	100
5.6.d.4	TEM Ag/arcilla -TV-pH básico	101
5.6.d.5	FT-IR y ATR Ag/arcilla -TV-pH básico.....	102
5.6.d.6	Termograma Ag/arcilla -TV-pH básico	103
5.6.3	Ag/arcilla-TV pH ácido.....	104
5.6.e.1	DRX Ag/arcilla-TV pH ácido.....	104
5.6.e.2	SEM-EDX Ag/arcilla-TV pH ácido	106
5.6.e.3	TEM-EDX Ag/arcilla-TV pH ácido	107
5.6.e.4	FT-IR -ATR Ag/arcilla-TV pH ácido.....	108
5.6.e.5	Termograma Ag/arcilla-TV pH ácido.....	108
5.7	Nanopartículas de plata en matriz de arcilla Chak'o pruebas antibacteriales y catalíticas	109

5.7.1	Determinación de la capacidad antibacterial de las AgNps	109
5.8	Evaluación del efecto de AgNps sintetizados en la reducción de azul de metileno	112
5.8.a.1	Análisis de muestras de azul de metileno por espectroscopía UV-Vis.....	113
CONCLUSIONES		119
RECOMENDACIONES		121
BIBLIOGRAFÍA.....		122
ANEXOS		130

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Propiedades físico químicas de la plata -----	15
Tabla 2: Compuestos fenólicos existentes en las hojas frescas de té (% del extracto seco). -----	23
Tabla 3: Distinción entre arcilla y mineral de arcilla -----	26
Tabla 4: Composición mineralógica de la fracción arcilla Chak'o Blanco -----	27
Tabla 5: Resumen de técnicas físicas y químicas de caracterización de nanopartículas-----	30
Tabla 6: Rango de actividad antimicrobial de plata. -----	32
Tabla 7: Principales variables de la investigación. -----	44
Tabla 8: Operacionalización de variables-----	45
Tabla 9: Condiciones para la variación de concentración precursor metálico. -----	58
Tabla 10: Condiciones para la variación de relación arcilla/Ag ⁺ -----	58
Tabla 11: Condiciones para la variación de la concentración del reductor. -----	59
Tabla 12: Condiciones para la variación de pH-----	59
Tabla 13: Distribución de evaluación de las AgNps sintetizadas para azul de metileno. -----	61
Tabla 14: Principales características de AgNp-TV-----	78
Tabla 15: Principales características de AgNp-TV y TR-----	78
Tabla 16: Lista patrones DRX Ag/arcilla-Al. -----	80
Tabla 17: Análisis semicuantitativo Ag/arcilla-AL-----	80
Tabla 18: Extracto picos relevantes DRX -----	81
Tabla 19: Cálculo tamaño de cristalita -----	81
Tabla 20: Condiciones de ensayo de síntesis de Ag/arcilla-----	85
Tabla 21: Variación de la concentración de fracción arcilla Chak'o-Na -----	89
Tabla 22: Efecto de la variación de la concentración del reductor.-----	90
Tabla 23: Efecto del pH en la obtención de Ag/arcilla-TV -----	91
Tabla 24: Condiciones óptimas de síntesis Ag/arcilla -----	92
Tabla 25: Lista de patrones en la irradiación de Ag/arcilla-TV pH básico -----	99
Tabla 26: Análisis semicuantitativo por DRX Ag/arcilla-TV pH básico -----	99
Tabla 27: Distancia basal Ag/arcilla-TV básico -----	100
Tabla 28: Lista de patrones DRX Ag/arcilla-TV pH=3.7 -----	105
Tabla 29: Análisis semicuantitativo Ag/arcilla-TV pH=3.7 -----	106

Tabla 30: Distancia basal Ag/arcilla-TV pH=3.7 -----	106
Tabla 31: Cálculo de ancho de zona de inhibición frente a E.Coli.-----	110
Tabla 32: Longitud de onda con respecto al tiempo de reacción.-----	115
Tabla 33: Condiciones experimentales de actividad catalítica de AgNps -----	116
Tabla 34: Seguimiento de la estabilidad en el tiempo de Ag/arcilla pH ácido frente a AM. -----	118
Tabla 35: Lista de picos Ag/arcilla-AL -----	130
Tabla 36: Ag/arcilla TV pH básico -----	131
Tabla 37: Ag/arcilla-TV pH 3.7 -----	132
Tabla 38: Fases presentes, análisis semicuantitativo-----	133
Tabla 39: Lista de picos CB-Na -----	134
Tabla 40: Marcha fitoquímica extracto acuoso de Té Verde -----	141

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Escala comparativa del tamaño de los objetos.	9
Figura 2 Representación esquemática de la variación del radio superficie/volumen entre una microesfera masiva y la misma microesfera compuesta por NPs	10
Figura 3. Clasificación de los nanomateriales ; adaptado de Gonzalez-Calderon (2011)	10
Figura 4. Frecuencia resonante y sección de extinción para NP metálicos con un tamaño de 10 nm en el aire.	13
Figura 5: Serie completa (izquierda) tras la síntesis de nanopartículas de plata y espectro visible (derecha) mostrando algunas bandas de plasmón experimentales representativas. Fuente: “Nanopartículas Metálicas y Plasmones de Superficie”	14
Figura 6:Espectro de absorción óptica de matrices de 20 nm AgNp con diferentes geometrías: lineal, angular, bicapa y cubica.....	14
Figura 7: Diagrama de especiación e la plata.	16
Figura 8: Reacciones en la serie de plata.	17
Figura 9: Síntesis de nanopartículas metálicas y óxidos metálicos.	17
Figura 10: Esquema de los métodos de síntesis de MNPs Top-Down y Bottom-Up	18
Figura 11: Mecanismo de formación de disoluciones coloidales de plata	19
Figura 12: Correlación entre la distancia de las condiciones de formación desde el equilibrio y la forma de los NP de plata producidos. Fuente: Khodashenas and Ghorbani, 2015.	20
Figura 13:Mecanismo de síntesis de nanopartículas de plata mediada por plantas.	21
Figura 14: Posible mecanismo para la reducción de Ag ⁺	22
Figura 15: Estructura de polifenoles con sus diferentes grupos catecol, hidroxilo y galato, principales catequinas presentes en <i>Camelia sinensis</i>	24
Figura 16: Interacciones entre la EGCC e inoes metálicos.....	24
Figura 17 Reacción de reducción de iones metálicos (Cu ²⁺) por Epigallocatequina galato EGCG	25
Figura 18: Estructura de la arcilla laminar y su uso en síntesis de nanopartículas de plata.....	27
Figura 19: Ilustración de la síntesis de AgNp / arcilla e interacción con una bacteria: Las AgNp se fabrican en la superficie de la arcilla de las plaquetas y la atracción electrostática a una pared celular bacteriana.	28
Figura 20: Interacción entre AgNps y bacterias.....	33
Figura 21: Bacteria expuesta a AgNps–Propiedades morfológicas Actividad antibacterial frente a <i>E. coli</i> de CeNp y AgNps	34
Figura 22:Estructura azul de metileno Fuente: (Hormaza y Suarez Garcia, 2009:333)	36

Figura 23: Acción catalítica de AgNps entre el extracto de <i>Terminalia chebula</i> y el azul de metileno (efecto de retransmisión de electrones).....	37
Figura 24: Diagrama de etapas del trabajo experimental	52
Figura 25: Diagrama reducción química de sales de metales de transición en presencia de agentes estabilizadores.	53
Figura 26: Diagrama dopado de AgNp en matriz PILC-AL de arcilla Chak'o.	55
Figura 27: Síntesis en un solo paso - dopado de AgNp en matriz de arcilla Chak'o + extracto acuoso.	56
Figura 28: Diagrama síntesis on pot - dopado de AgNp en matriz de CB-Na + extracto acuoso, variando pH con adición de NaOH y HCl.	57
Figura 29: Diagrama de método de la placa-disco-cultivo para determinación de capacidad antibacterial.	60
Figura 30: Diagrama de ensayo de capacidad catalítica de AgNps con AM.	61
Figura 31: Espectros UV-Vis AgNp-TV y AgNp-TR.....	65
Figura 32: Espectros UV-Vis AgNp-TV y AgNp-TR.....	66
Figura 33: Espectros UV-Vis AgNp-TR pH básico y ácido método B.....	67
Figura 34: Superior derecha e izquierda micrografía a 20µm AgNp-TR, inferior: EDS AgNp-TR, donde Ag° en % de átomos está en el orden del 20.52 ± 2.7	67
Figura 35: Imagen STEM-DF mapping para AgNp-TR, para Si, O y Ag.....	68
Figura 36: Imagen TEM representativa de AgNp-TR bajo síntesis inducida por desechos de té rubio utilizando precursor de AgNO ₃ (0.5 mM) fotoprotegido.	69
Figura 37: Espectros UV-Vis AgNp-TV al 100% (negro) y 50% (rojo) a 72 horas de envejecimiento.....	70
Figura 38: Espectro UV-Vis AgNp-TV 5 días después de la síntesis.	71
Figura 39: Micrografías y EDS de AgNp-TV -método A A: 100 µm, B y C 20 µm; D: EDS.	72
Figura 40: Micrografías TEM AgNp-TV METODO A.....	73
Figura 41: UV-Visible AgNp-TV método B a pH ácido y básico.	74
Figura 42: SEM y EDS AgNp-TV método B.....	75
Figura 43: TEM AgNp-TV - método B.....	76
Figura 44: Solución extracto acuoso de té verde con AgNps (método B)	76
Figura 45: Espectro FT-IR AgNp -TV método B.....	77
Figura 46: Difractograma AgNp-Chak'o-Al.....	79
Figura 47: Micrografías y EDS Ag/arcilla-Al.	81
Figura 48: TEM Ag/arcilla-Al, presenta dos grupos de tamaños bien diferenciados: A: arcilla, B: 16.08 ± 3.45 nm y C1 5.08 ± 1.48 nm y C2 23.46 ± 4.58 nm.	82
Figura 49: A: FT-IR chak'o-Na, B: FT-IR Ag/arcilla-Al y C: superposición de espectros A y B-	83
Figura 50: TG Chak'o-Na y Ag/arcilla-Al.....	84

Figura 51: Variación de la concentración de precursor metálico a las 3 horas de agitación.	86
Figura 52: Variación de la concentración de AgNO_3 y seguimiento de estabilidad de 19, 24, 25, 26, 27 horas y al 3er día; registradas a 1nm de ancho de banda.....	87
Figura 53: Estabilidad plasmon superficial muestras S1, S2, S3 y S4. A 1, 2 y 18, 5 horas.	88
Figura 54: Efecto de la relación arcilla / Ag^+	89
Figura 55: Efecto de la concentración del reductor.	90
Figura 56: Efecto del pH, a 3 días de síntesis.	91
Figura 57: FT-IR Ag/arcilla pH=3.7, Chak'o-Na y AgNO_3	92
Figura 58: Micrografías y EDS Ag/arcilla	94
Figura 59: TEM nanopartículas Ag/arcilla en solución coloidal.....	94
Figura 60: SEM y EDS Ag/arcilla- básico.....	95
Figura 61: TEM Ag/arcilla pH básico	97
Figura 62: Espectro UV-Vis Ag/arcilla -TV-básico.....	98
Figura 63: Difractograma Ag/arcilla-TV pH básico	99
Figura 64: SEM y EDX Ag/arcilla- TV pH básico.....	101
Figura 65: TEM Ag/arcilla -TV-pH básico.....	101
Figura 66: Ag/arcilla-TV pH=8 y Chak'o-Na	102
Figura 67: TG Ag/arcilla-TV- básico.....	103
Figura 68: Difractograma Ag/arcilla-TV ácido.....	105
Figura 69: Micrografías y EDX Ag/arcilla-TV-pH 3.37.....	107
Figura 70: TEM Ag/arcilla-TV-pH ácido.	108
Figura 71: FT-IR Ag/arcilla-TV pH=3.7, Chak'o-Na y AgNO_3	108
Figura 72: TG - Ag/arcilla-TV pH=3.7	109
Figura 73: Prueba antibacterial frente a E.Coli.....	110
Figura 74: Comparación entre el tamaño de las AgNps obtenidas y su capacidad antibacterial frente a E.Coli....	112
Figura 75: Muestras de partida para capacidad catalítica frente a AM.....	112
Figura 76: Espectros UV-Vis de AM 10 ppm, Ag/arcilla, Ag/arcilla +AM -0.5 min y Ag/arcilla+AM con 60 minutos de contacto.....	113
Figura 77: Actividad catalítica AgNps frente a AM	114
Figura 78: ATR: Ag/arcilla pH=12, Chak'o-Na, Ag/arcilla+AM	115
Figura 79: Resultados de evaluación de la actividad catalítica de las Ag Nps con AM.....	116
Figura 80: Resultados de evaluación de la actividad catalítica de Ag/arcilla ácido con Azul de Metileno.....	117
Figura 81: DRX Fracción arcilla Chak'o -N.....	133
Figura 82: Espectro Uv- visible – líquidos de desecho de centrifugación 3 meses después.....	135

<i>Figura 83: Síntesis Ag/arcilla-TV-ácido y básico</i>	<i>138</i>
<i>Figura 84: Proceso de síntesis Ag/arcilla.....</i>	<i>140</i>
<i>Figura 85: Marcha fitoquímica líquidos de desecho y composite Ag/arcilla-básico</i>	<i>141</i>
<i>Figura 86: Comparación entre las absorciones del azul de metileno y la reconformación de la AgNp.....</i>	<i>142</i>
<i>Figura 87: Cooperativa Té Huyro.</i>	<i>143</i>
<i>Figura 88: SEM JEOL JSM 6300-Universidad La Laguna- España.....</i>	<i>144</i>
<i>Figura 89: TEM JEOL JEM 2100 -Universidad La Laguna – España.....</i>	<i>144</i>
<i>Figura 90: STEM-DF EDX Mapping AgNp-TV - método A.....</i>	<i>145</i>

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Lista de picos DRX Ag/arcilla-Al, Ag/arcilla-TV-básico y Ag/arcilla-TV- acido...	130
ANEXO 2: DRX Fracción arcilla Chak'o -Na	133
ANEXO 3: Espectroscopía UV VIs para líquidos de desecho.....	135
ANEXO 4: Prueba de efecto Thindall soluciones coloidales.....	136
ANEXO 5: Panel fotográfico variación de parámetros de síntesis.....	137
ANEXO 6: Marcha fitoquímica extracto acuoso de té verde, Ag/arcilla y líquidos de desecho.....	141
ANEXO 7: Comparación entre las absorciones del azul de metileno y la reconformación de la AgNp	142
ANEXO 8: Lugar de muestreo desechos de té rubio	143
Anexo 9 : EQUIPOS SEM Y TEM- SEGAI MATMOL ULL.....	144
Anexo 10 : otros	145

ABREVIATURAS

AIPEA: Association Internationale pour l'Etude des Argiles

AFM: Microscopía de Fuerza Atómica

AgNps: Nanopartículas de plata

AgNP-TV: Nanipartícula de plata sintetizada con té verde

AM: Azul de metileno

ATCC: American Type Culture Collection

ATR: Reflectancia total atenuada

CB-Na: Fracción arcilla Chak'oBlanco homoionizado con iones sodio

Ce-Np: Nanopartícula de Cerio

CIM: Capacidad innibitoria media

CMS: Clay Minerals Society

DRX: Difracción de Rayos X

EDS, EDX: Microanálisis de Rayos X de Energía Dispersiva

EGCG: Galato de epigallocatequina

ESD: Diámetro esférico equivalente

FT-IR: Espectroscopía de transformada de Fourier

IEP: Punto isoeléctrico de carga

JNC: Comités de nomenclatura conjunta

LDS: Dispersión de la luz

LSPR: Resonancias de plasmón de superficie localizadas

MATMOL: Laboratorio de Rayos X y Materiales Moleculares del Departamento de Física
Facultad de Ciencias (Sección de Física) Universidad de La Laguna Tenerife, España

MMT: Montmorillonita

MNPs: Nanopartículas metálicas

NMR: Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear

NC: Nanocompuestos

NP: Nanopartícula

PILC-Al: Pillared interlayered clay - arcillas pilarizadas con aluminio

ROS: Reactive oxygen species / especies de oxígeno reactivo (EOR)

SEM: Microscopía Electrónica de Barrido

SERS: Surface enhanced Raman scattering

STEM-DF: Microscopía electrónica de barrido de transmisión con campo oscuro

SP: Plasmones de superficie

SPR: Resonancia de Plasmón Superficial

TEM: Microscopía Electrónica de Transmisión

TG: Análisis termogravimétrico

TM: Toneladas métricas

TR: Desechos de fabricación de té rubio

TV: Té verde

USFS: Servicio Geológico de los Estados Unidos

UV-Vis: Espectroscopía ultravioleta y visible

XPS: Foto espectroscopía de Rayos X

RESUMEN

Las investigaciones recogidas en esta memoria versan sobre la síntesis verde, caracterización y aplicación de nanopartículas de plata en matriz de arcilla y su evaluación frente a *Escherichia coli* y azul de metileno.

En la actualidad las nanopartículas de plata son de gran interés en los campos de la química y la tecnología. Sin embargo, sus aplicaciones requieren rutas de síntesis que impliquen procedimientos ecológicos. Las nanopartículas de plata (AgNp) y las dopadas en matrices naturales Ag/arcilla se sintetizaron utilizando productos naturales de biodiversidad disponibles localmente (Té verde – Huayopata y desechos de té rubio – Cooperativa Té Huyro) como método alternativo a los obtenidos con reductores químicos. Siendo que el precursor metálico AgNO_3 es fotosensible, se evaluó por espectroscopía UV-Visible la influencia de la luz solar en la síntesis, así como la estabilidad para elegir al mejor reductor/estabilizante para la siguiente etapa. La AgNp-TV Método B, se caracterizó por SEM - EDS, y TEM, se observaron nanopartículas con forma hexagonal con bordes truncados. En la segunda etapa se utilizó la matriz de arcilla Chak'o-Al calcinándola a 400°C , caracterizándola por DRX, SEM, TEM y TG, resultando un composite hidrofóbico, con mayor resistencia térmica y con capacidad antibacterial. En la tercera etapa se sintetizó Ag/arcilla y Ag/arcilla-TV, evaluando parámetros de concentración del precursor y extracto acuoso, pH, relación Ag^+ /arcilla, se caracterizó por UV-Visible, DRX, SEM-EDS, TEM, IR y TG donde el composite Ag/arcilla a pH ácido tuvo menor tamaño (coloidal); mientras que el composite Ag/arcilla-TV básico (sólido) y Ag/arcilla-TV-ácido (solución coloidal y sólido) presentó formas y tamaños diversos, siendo más estable la Ag/arcilla-TV básico.

También se evaluó la actividad antimicrobiana de las AgNps sobre *E. Coli* (ATCC 51813) y la actividad catalítica de las AgNp en la degradación del colorante azoico Azul de Metileno en medio acuoso.

El resultado de estos hallazgos sugiere la aplicación de AgNp como antibacteriana contra *E. coli* y degradación de Azul de metileno en medio acuoso con la reconfiguración de AgNp, al estar en matriz arcilla permite su mayor estabilidad y su liberación prolongada y en solución coloidal con mejores resultados de degradación de AM.

Palabras clave: Nanopartículas de plata, Ag/arcilla, té verde, degradación catalítica, actividad antibacterial.

RESUMO

A pesquisa coletada neste relatório trata da síntese verde, caracterização e aplicação de nanopartículas de prata em uma matriz de argila e sua avaliação contra *Escherichia coli* e azul de metileno.

Atualmente, as nanopartículas de prata são de grande interesse nas áreas de química e tecnologia. No entanto, suas aplicações requerem rotas de síntese que envolvem procedimentos ecológicos. Nanopartículas de prata (AgNp) e dopadas em matrizes naturais de Ag / argila foram sintetizadas usando produtos da biodiversidade disponíveis localmente (chá verde - Huayopata e desperdício de chá loiro - Cooperativa Té Huyro) como método alternativo aos obtidos com redutores químicos. Como o precursor do metal AgNO₃ é fotossensível, a influência da luz solar na síntese foi avaliada por espectroscopia UV-Visible, bem como a estabilidade para escolher o melhor redutor / estabilizador para a próxima etapa. O método AgNp-TV B foi caracterizado por MEV-EDS e TEM, nanopartículas com formato hexagonal com bordas truncadas. Na segunda etapa, foi utilizada a matriz de argila Chak'o-Al, calcinando-a a 400 ° C, caracterizada por DRX, SEM, TEM e TG, resultando em um compósito hidrofóbico, com maior resistência térmica e capacidade antibacteriana. No terceiro estágio, foram sintetizados Ag / argila e Ag / argila-TV, avaliando parâmetros de concentração do precursor e extrato aquoso, pH, razão Ag + / argila, caracterizada por UV-Visível, DRX, SEM-EDS, TEM, IR e TG onde o composto Ag / argila em pH ácido possuía um tamanho menor (coloidal); enquanto o composto Ag / argila-TV básico (sólido) e Ag / argila-TV-ácido (solução coloidal e sólido) apresentou formas e tamanhos diferentes, sendo a base Ag / argila-TV básica mais estável.

Também foram avaliadas a atividade antimicrobiana dos AgNps em *E. Coli* (ATCC 51813) e a atividade catalítica do AgNp na degradação do corante azóico azul de metileno em meio aquoso.

O resultado desses achados sugere a aplicação de AgNp como antibacteriano contra *E. coli* e a degradação do azul de metileno em meio aquoso com a reconstituição de AgNp, pois é sobre uma matriz de argila que permite maior estabilidade e liberação prolongada e em solução coloidal com melhor resultados do degradação do AM.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata, Ag/arcilla, chá verde, degradação catalítica, atividade antibacteriana

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de nuevos materiales - nanopartículas, con propiedades diferenciadas por su tamaño es hoy en día una línea de investigación creciente, debido a la alta demanda de estos materiales existe gran interés por aplicar métodos verdes para minimizar la huella ecológica en su obtención. Las de plata son las más sintetizadas; variando parámetros de síntesis permite variar el tamaño, forma y propiedades catalíticas, opto eléctricas, o como bactericidas, que de hecho ya existen y se comercializan. El gran desafío es obtener estas nanoparticulas con reductores y estabilizantes procedentes de plantas y lograr su estabilidad en el tiempo, orientándolas a una aplicación específica.

Si nos remitimos a una de sus aplicaciones, el tratamiento de aguas, donde los colorantes sintéticos se encuentran entre los contaminantes más importantes presentes en las aguas residuales de la industria textil, papelera, plástica, cosmética que es un problema grave en diferentes países (Rafatullah et al. 2010), y que generalmente pueden ser visible al ojo humano, muchos de estos compuestos tienen efectos tóxicos, carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos en los organismos vivos (Mekkawy, Ali, and El-Zawahry 1998). Entonces su eliminación es un tema bastante estudiado, existiendo diferentes tipos de procesos químicos y físicos enfocados en la remoción de estas sustancias, desde la ozonización, procesos oxidativos, procesos fotoquímicos, oxidación por hipoclorito de sodio, oxidación por curcubituril, destrucción electroquímica, adsorción, tratamiento con carbón activado, membrana de filtración, intercambio iónico, irradiación y degradación catalítica. Este tipo de procesos pese a tener un alto grado de remoción presentan desventajas de altos costos operacionales y generación de nuevos residuos (Robinson et al. 2001; Wawrzkievicz 2012).

El azul de metileno AM, que es altamente soluble con efectos adversos, como problemas respiratorios, quemaduras en los ojos, náuseas y confusión (Abkenar and Karimi 2019), es un colorante de modelo catiónico común utilizado en experimentos de evaluación catalítica y de adsorción, y para su eliminación, las técnicas de degradación catalítica ofrecen herramientas simples, pero efectivas y económicas, así las nanopartículas de plata por sus características son ampliamente usadas como catalizadores.

Por otro lado, durante siglos, la plata y los compuestos de plata han sido utilizado con éxito como un agente antimicrobiano eficaz para el tratamiento de las infecciones. Las

Nanopartículas de plata (Ag NPs), como su contraparte también se ha encontrado que son un agente antimicrobiano eficiente capaz de interactuar con la membrana celular, interfiriendo y dañando los ácidos nucleicos celulares (Poinern et al. 2013). En el escenario actual, los materiales a nanoescala han surgido como agentes antibacteriales novedosos para las posibilidades ofrecidas por sus propiedades químicas y físicas excepcionales. Las nanopartículas de plata principalmente han sido estudiadas por su potencial antimicrobiano contra bacterias (Galdiero, 2011).

Las AgNps son agentes antimicrobianos prometedores debido a su alta área de superficie a relación de volumen, así para nanopartículas de plata cúbicas por ejemplo, la longitud promedio de la arista de la superficie externa, resultó igual a 49 ± 4 nm, de la cual se obtuvo un valor teórico de área total superficial externa igual a 14.406 nm^2 (González-Jiménez 2016) y propiedades fisicoquímica únicas.

Debido a la importancia biomédica de los AgNp y la necesidad de nuevos procesos ecoamigables, es necesario investigar que plantas son posibles candidatos que puedan actuar como agentes reductores y agentes estabilizadores, poniendo énfasis en nuestra flora local.

En el presente trabajo se pretende sintetizar nanopartículas de plata, utilizando reductores en base a productos locales con alto contenido de fitoconstituyentes que sirvan de reductores y/o estabilizantes y para potenciar su actividad y estabilidad en el tiempo además sintetizar nanocompuestos que contengan las nanopartículas en matriz de arcilla Chak'o.

En las nanopartículas obtenidas realizar pruebas de su capacidad catalítica frente a Azul de metileno en medio acuoso y pruebas de capacidad inhibitoria frente a *E. Coli*.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Situación problemática

Las nanopartículas de metales nobles como la plata muestran propiedades físicas, químicas y biológicas marcadamente diferentes en comparación con sus contrapartes macroescaladas. La mayoría de las propiedades únicas de las nanopartículas requieren no solo que las partículas sean de tamaño nanométrico, sino también que las partículas se dispersen sin aglomeración. Los descubrimientos en la última década han demostrado claramente que las propiedades electromagnéticas, ópticas y catalíticas de las nanopartículas de plata están fuertemente influenciadas por la forma, el tamaño y la distribución del tamaño, que a menudo varían según los métodos sintéticos, los agentes reductores y los estabilizadores (Abou El-Nour et al. 2010).

La síntesis de nanopartículas metálicas y de sus óxidos preferentemente se realiza por síntesis química, utilizando solventes y surfactantes tóxicos, agentes reductores y estabilizantes químicamente puros, como hidrazina, borohidruro de sodio, citrato, ascorbato e hidrógeno elemental, y la radiación química donde el proceso de reducción es iniciado por electrones solvatados, generados por la radiación ionizante (Kharissova, Dias, Kharisov, Pérez, & Pérez, 2013). La mayoría de las nanopartículas de plata quimogénicas son citotóxicas y no biocompatibles debido a la contaminación por precursores químicos, toxicidad por solventes usados y generación de subproductos peligrosos, etc. (Thakkar, Mhatre, and Parikh 2010).

Debido a la gran demanda que tienen las nanopartículas metálicas se da su producción a gran escala usando técnicas de alta energía; y por la creciente conciencia de los problemas ambientales y de seguridad, el uso de formas limpias, no tóxicas y amigables con el medio ambiente para sintetizarlas ha surgido la necesidad del uso de recursos biológicos, como microbios, partes de plantas, desechos vegetales, desechos agrícolas, gomas, etc., que se ha convertido en una forma alternativa de síntesis. Esta síntesis biogénica es verde, ambientalmente amigable, rentable y no tóxica (Kanchi and Ahmed, 2018).

La fitosíntesis de nanopartículas de plata es de gran interés debido a la facilidad del método y la obtención de tamaños y formas deseadas y sus actividades antimicrobianas dependientes del tamaño y la forma.

Las regulaciones ambientales, las frecuentes catástrofes ambientales y la pérdida de biodiversidad ecológica han instado a la comunidad científica a avanzar hacia una visión nueva. La nanotecnología verde es hoy la frontera de la ciencia y la ingeniería. Hoy en día, las iniciativas mundiales de nanotecnología se dirigen hacia la química verde, la química sostenible y la ingeniería verde.

Cuando hablamos sobre sustentabilidad en química, hay que tomar en cuenta cómo los productos químicos que usamos en los experimentos pueden afectar en medio ambiente. Una de las mayores preocupaciones que se tiene es la acumulación de estos materiales tóxicos en el medio ambiente que podrían afectar a todos los organismos que viven allí, y por consiguiente cambiar el equilibrio ecológico de un ecosistema en particular. En la actualidad se usan los métodos de química verde para la síntesis de nanopartículas metálicas a partir de extractos acuosos de plantas (Coseri et al., 2015; Dubas, Kumlangdudsana, & Potiyaraj, 2006) y se constituyen en una alternativa para este propósito.

Uno de los principales retos en la producción de nanopartículas de plata es su estabilidad en el tiempo, y al colocarla en una matriz sería posible conservar sus propiedades por mayor tiempo; así existen muchas matrices como soporte para las nanopartículas de plata (NpsAg) (Belova, Möhwald, & Shchukin, 2008; Chadha, Maiti, & Kapoor, 2014; Darroudi, Ahmad, Shameli, Abdullah, & Ibrahim, 2009; Girase, Depan, Shah, Xu, & Misra, 2011; Herrera, Burghardt, & Phillips, 2000; Hu & Xia, 2006), el uso de minerales de arcilla se ha sugerido para la eliminación de contaminantes del agua (Qu et al., 2013) debido a sus propiedades como capacidad de intercambio catiónico y áreas superficiales altas, que le confieren fuertes propiedades de adsorción / absorción (Praus, Turicová, Machovič, Študentová, & Klementová, 2010), por otro lado las arcillas son naturalmente abundantes en nuestro país y la zona sur del país, por ejemplo Puno y Cusco tiene grandes depósitos de arcillas con minerales de arcilla predominantes de tipo bentonita- Arcilla Chak'ó Blanco.

Existen trabajos sobre la síntesis de nanopartículas de plata en arcillas, síntesis de nanopartículas por diferentes métodos, entre ellos la síntesis verde (Coseri et al., 2015), y para poder ser aplicadas a procedimientos de descontaminación de agua es necesario que estén dopadas en una matriz, ya sea de algodón fécula de maíz o zeolitas y arcillas, todas ellas con buena performance (Dubas et al., 2006) debido a la utilización de montmorillonita pura.

Así, desde 1856, que se reportó el primer colorante sintético, se han producido más de 10.000 tipos de colorantes. Actualmente, se producen más de 7x10⁶ Ton de colorantes al año, de los cuales más de un 10% es perdido durante el proceso industrial de coloración de fibras (Easton, 1995; Zollinger, 1987) y 50% de ellos son arrojados a los cuerpos de agua.

Adicionalmente, las sustancias químicas usadas, están relacionadas con la presencia de compuestos tóxicos con grupos cromóforos de alto peso molecular, los cuales al acumularse en lagos y bahías, provocan una disminución en la luminosidad de las aguas y en consecuencia inducen a la disminución de la actividad fotosintética, lo cual produce a su vez una disminución en el contenido de oxígeno disponible, favoreciendo procesos de eutrofización por el aumento de carga orgánica (Robinson *et al.*, 2001).

Muchos nanomateriales han sido explorados para aplicaciones en agua y tratamiento de aguas residuales. Algunas de estas aplicaciones se utilizan sin problemas y son dependientes del tamaño del escalable; las propiedades de los nanomateriales que se relacionan con la alta área superficial específica, disolución rápida, alta reactividad, y sorción fuerte. Otros se aprovechan por sus propiedades discontinuas, tales como superparamagnetismo, localizada en la superficie de resonancia de plasmones, y el efecto de confinamiento cuántico (Qu, Alvarez, & Li, 2013).

En particular, hay una necesidad de encontrar materiales eficaces, ecoamigables con el medio ambiente, baratos y eficientes para los procesos de adsorción, además de estables.

La fracción arcilla Chak'o-Na tiene en promedio 35% de montmorillonita y diversos minerales de arcilla, lo que le conferiría propiedades diferenciadas, utilizándola como matriz para albergar nanopartículas de plata sintetizadas utilizando extracto acuoso de *té verde comercial* y ensayar la posibilidad de remoción de contaminantes propios del agua, como bacterias y colorantes azoicos, aspecto que no ha sido estudiado con una mezcla de minerales como matriz.

Formulación del problema

a. Problema general

¿Será posible sintetizar nanopartículas de plata utilizando extractos acuosos de Té verde y desechos de té rubio y doparlas en arcilla Chak'ó y ensayar su capacidad antibacterial frente a *Escherichia coli* y capacidad catalítica frente a azul de metileno?

b. Problemas específicos

1. ¿Será posible sintetizar nanopartículas de plata con extractos acuosos de *té verde y desechos de té rubio*?
2. ¿En qué condiciones se dopará las nanopartículas de plata en la arcilla Chak'ó, para obtener un material de empaque activo compuesto Ag/arcilla?
3. ¿Cuáles son las características fisicoquímicas del compuesto Ag/arcilla?
4. ¿Cuál es la actividad antibacterial de compuesto Ag/arcilla frente a *Escherichia coli*, y cuál es su actividad de degradación catalítica frente a azul de metileno?

1.2 Objetivos de investigación

1.1.1 Objetivo general

Sintetizar y caracterizar nanopartículas de plata con arcilla Chak'ó, extracto acuoso de té verde y desechos de té rubio y ensayar su actividad antibacteriana frente a *E. Coli* y degradación catalítica frente a azul de metileno.

2.1.1 Objetivos específicos

- a) Sintetizar nanopartículas de plata empleando arcilla Chak'ó y extractos acuosos de té verde y desechos de té rubio.
- b) Determinar las condiciones óptimas de pH, concentración de precursor metálico, extracto acuoso y arcilla para obtener el compuesto Ag/arcilla.
- c) Caracterizar la nanopartícula de plata y compuesto Ag/arcilla obtenidos, en sus principales parámetros fisicoquímicos.
- d) Ensayar la actividad inhibitoria del compuesto Ag/arcilla frente a *Escherichia coli*, y la degradación catalítica frente a azul de metileno.

1.3 Justificación de investigación

La síntesis verde y la nanotecnología verde, son parte de la nanotecnología sostenible. Entendiendo por sostenibilidad al desarrollo que satisface las necesidades del presente sin comprometer la capacidad de las generaciones futuras para satisfacer sus propias necesidades. La inmensa destreza científica, los avances científicos y la visión futurista de la humanidad conducirán a un camino largo y visionario hacia la verdadera realización del desarrollo sostenible. Los desafíos, la visión y las complejidades de los esfuerzos científicos en nanotecnología verde están abriendo nuevas ventanas de innovación en la nanociencia y la nanotecnología en su conjunto. La nanotecnología para la innovación ecológica, y la nanotecnología ecológica, apuntan a productos y procesos que sean seguros, eficientes energéticamente, reduzcan los desechos industriales y disminuyan las emisiones de gases de efecto invernadero (Kanchi and Ahmed 2018).

En los métodos de preparación química de abajo hacia arriba para producir AgNps coloidales estables de tamaños deseados dentro de la escala nanométrica, se utiliza con frecuencia boro hidruro de sodio (NaBH_4) como un agente reductor, además de ser un producto químico bastante caro, también puede generar especies de boro oxidadas durante el proceso de síntesis, que no se puede separar fácilmente del nanomaterial (Rónavári et al. 2017). Estas entidades químicas no deseadas pueden limitar severamente las posibilidades de aplicación y la biocompatibilidad de los nanomateriales producidos. Por lo tanto, la utilización de nanomateriales tiene que ir acompañada de bajo costo, procesos de producción ecológicos innovadores, que reduzcan el uso de sustancias químicas peligrosas y minimizar la generación de desechos peligrosos.

Las nanopartículas también poseen características únicas que permiten su utilización como degradantes de contaminantes como colorantes azoicos.

El presente trabajo de investigación propone una alternativa accesible a la creciente necesidad de encontrar materiales eficaces, baratos y eficientes para aplicaciones como mejorar la calidad del agua y su reusó, constituyéndose en una ventaja competitiva para nuestra Región.

La factibilidad del trabajo de investigación está garantizada puesto que se cuenta con todos los instrumentos, materiales, reactivos y relaciones con laboratorios de la Universidad La Laguna- España para lograr los objetivos propuestos.

En la actualidad un producto nuevo al menos en el área de nanotecnología para ser considerado para escalar a nivel industrial requiere tener un costo de producción en laboratorio menor a \$10.00, el método de síntesis verde de nanopartículas metálicas tiene costos inferiores a este valor; además de que un producto terminado en el mercado como compuestos Ag/arcilla tiene un costo alto. Se propone obtener un material con recursos accesibles y económicos como arcilla y fitoreductores.

Su efecto antibacteriano, y capacidad catalítica frente a colorantes azoicos, además del bajo costo del material son requerimientos para que el proceso sea candidato a escalar industrialmente.

Con el trabajo se busca dar valor agregado a la producción de Té de muestra Región como el té verde, desechos de la producción de té rubio, la arcilla Chak'o y el metal plata que nuestro país tiene como segundo productor a nivel mundial.

II. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

2.1 Bases teóricas

2.1.1 Nanotecnología y nanociencia

De acuerdo a la Real Academia de la Lengua Española se define a la Nanotecnología como: “Tecnología de los materiales y de las estructuras en la que el orden de magnitud se mide en nanómetros, con aplicación a física, química y biología” (ASALE, 2018).

El prefijo “nano” se usa para indicar los fundamentos y propiedades de objetos (Nanociencia) y diseñar objetos o dispositivos con funciones específicas (Nanotecnología). El nanómetro (nm) es una unidad de longitud equivalente a la millonésima parte de un milímetro (ó 10^{-9} metros). En un nanómetro se podría alinear al menos de una decena de átomos (Serena Domingo 2002, pág 1), en la fig. 1 se observa una escala comparativa del tamaño de los objetos.

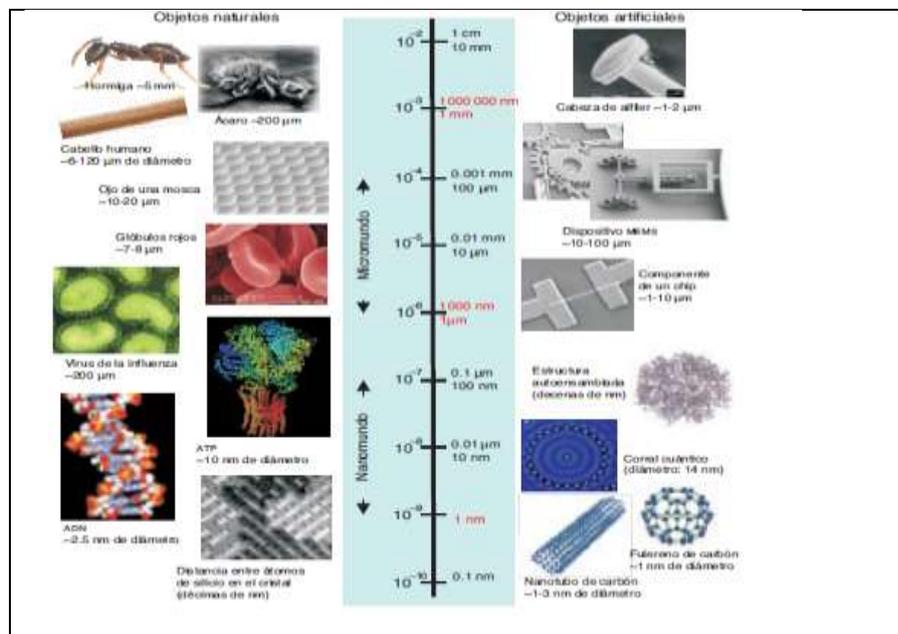


Figura 1 Escala comparativa del tamaño de los objetos. Fuente:Takeuchi (2010a)

La nanociencia es considerada una ciencia interdisciplinar que abarca áreas como: la física y la química cuántica, la ciencia de los materiales y la biología molecular, cuyo objeto de estudio son los nano materiales (Cornejo 2015a).

Se define como nanopartículas a aquellas partículas que tienen un diámetro < 100 nm; generalmente como materiales en los que, al menos, una cara o su estructura interna tienen una dimensión nano (< 100 nm), aunque no hay consenso

sobre su tamaño mínimo y máximo. Sus propiedades físicas y químicas dependen no solo de su composición, sino también de su tamaño y forma. Los nanomateriales se forman por el ensamblaje de nanopartículas (Cornejo, 2015a), ver figura 2.

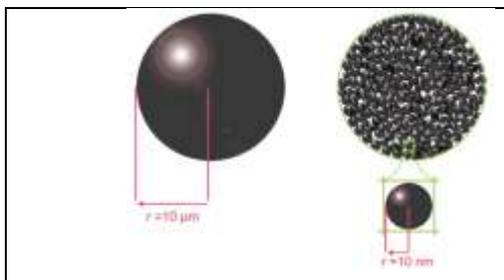


Figura 2 Representación esquemática de la variación del radio superficie/volumen entre una microesfera masiva y la misma microesfera compuesta por NPs

Fuente: Domènech Garcia et al.(2012:fig. 2)

Los nanomateriales de acuerdo a la definición que publicó en el 2011 la Comisión Europea (Moreira, 2011): “Es un material natural, secundario o fabricado que contenga partículas, sueltas o formando un agregado o aglomerado y en el que el 50% o más de las partículas en la granulometría numérica presente una o más dimensiones externas en el intervalo de tamaños comprendido entre 1 nm y 100 nm”.

Los nanomateriales se clasifican en orgánicos e inorgánicos principalmente (fig. 3), observamos la clasificación de los nanomateriales atendiendo a su origen.

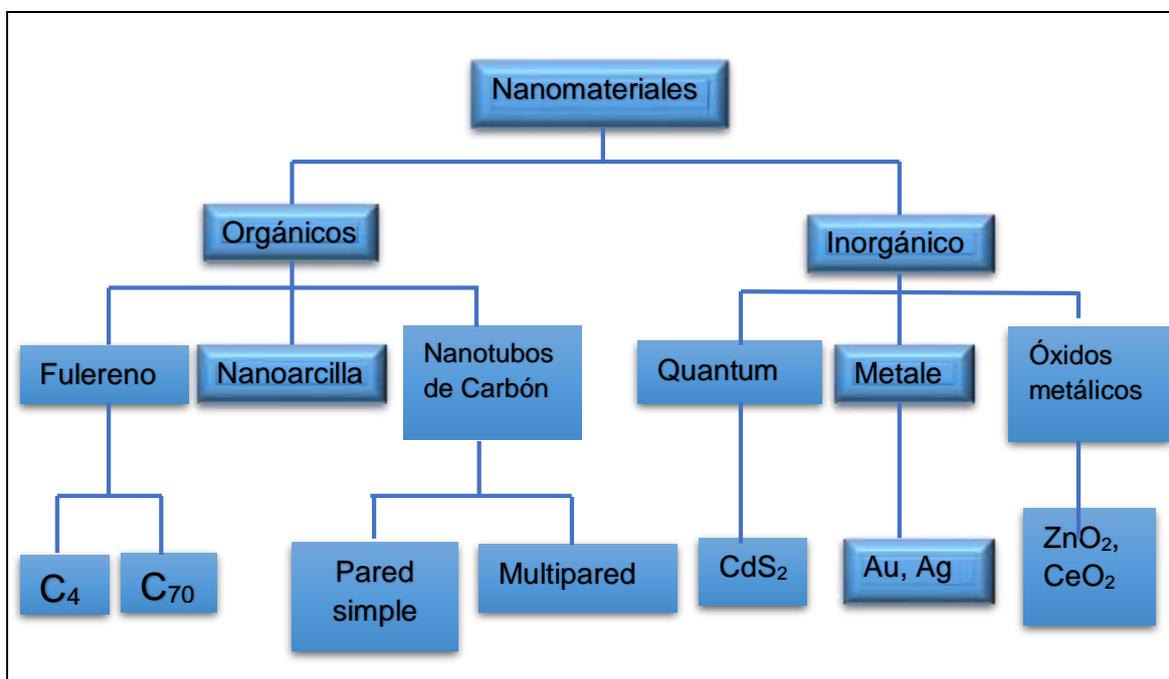


Figura 3. Clasificación de los nanomateriales ; adaptado de Gonzalez-Calderon (2011)

2.1.2 Propiedades de las nanopartículas

Cornejo (2015), explica que los factores que producen estas propiedades exóticas, derivadas de su muy pequeño tamaño, son:

- a. Tamaño a escala nanométrica
- b. Mayor área superficial relativa
- c. Efecto de confinamiento cuántico
- d. Forma
- e. Composición química
- f. Química de las superficies de la masa y de las interfaces.

Con la reducción de tamaño se incrementan las fuerzas de atracción de Van der Waals tanto las nanopartículas y los nanomateriales tienden a atraerse entre sí y a aglomerarse reduciéndose su reactividad química; para evitar este efecto no deseado, es necesario estabilizar las nanopartículas individuales reduciendo su energía superficial libre, de modo que se acoplen estructuralmente siguiendo una ruta química predeterminada, que genere una deseada estructura atómica que va asociada a unas concretas propiedades que se desean para los materiales nano estructurados.

La elevada área superficial relativa es la causa de que se manifiesten propiedades novedosas en las nanopartículas. Algunas de estas propiedades son:

- Actividades catalíticas de nanopartículas de metales nobles.
- Interacción con microorganismos.
- Reducción de los puntos de fusión y de ebullición.
- Súper difusión.
- Mecánicas: dureza, rigidez, flexibilidad, adherencia, fricción, resistencia a tracción y durabilidad elevadas, con una menor densidad.
- Magnéticas (súper magnetismo)
- Efecto de auto limpiado (Cornejo, 2015b)

2.1.3 Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie

“Los plasmones de superficie (SP) corresponden a una interacción entre la materia y el campo electromagnético de la luz. Una nanopartícula (NP) metálica puede describirse como una red de núcleos iónicos con conducción donde el electrón se mueve casi libremente dentro de la NP (el mar de Fermi). Cuando la partícula se ilumina, el campo electromagnético de la luz ejerce una fuerza sobre estos electrones de conducción que los mueven hacia la superficie de la NP. Como estos electrones

están confinados dentro de la NP, la carga negativa se acumulará en un lado y la carga positiva en el opuesto, creando un dipolo eléctrico. Este dipolo genera un campo eléctrico dentro de la NP opuesto al de la luz que obligará a los electrones a regresar a la posición de equilibrio. Cuanto mayor sea el desplazamiento de electrones, mayor será el dipolo eléctrico y por consiguiente, la fuerza restauradora. La situación es similar a un oscilador lineal con una fuerza de restauración proporcional al desplazamiento desde la posición de equilibrio. Si los electrones se desplazan de la posición de equilibrio y el campo se elimina más tarde, oscilarán con una cierta frecuencia que se llama frecuencia de resonancia; en el caso de los SP se denomina frecuencia plasmónica. En realidad, el movimiento de electrones dentro de la NP exhibe algún grado de amortiguamiento. Los núcleos iónicos y la superficie de la NP amortiguan parcialmente las oscilaciones de electrones. Por lo tanto, el sistema es similar al oscilador lineal con cierta amortiguación” (García, 2011).

Los plasmones de superficie localizados (en lo sucesivo simplemente plasmón o banda de plasmón), característicos de las NP metálicas, cuya naturaleza cuántica es una consecuencia directa del tamaño de la NP, del desarrollo de nanocaras cristalinas bien definidas y de que la mayoría de sus átomos están en la superficie, es decir, que la proporción de átomos en la superficie respecto al volumen es muy superior a la del seno del metal. Los electrones de la superficie son capaces así de interactuar con la radiación electromagnética en una manera muy compleja altamente dependiente de la forma, tamaño, cristalinidad y naturaleza química de la NP y, además, de las condiciones físicas y químicas del medio circundante alrededor de las mismas.

Son varios los factores que influyen en la formación del plasmón de superficie, así:

- Efectos de tamaño;
- Dispersión de tamaño;
- Efectos de forma;
- Medios circundantes;
- Efectos de las interacciones de las nanopartículas.

Según Cruz et. al (2012) el plasmón de superficie de las nanopartículas metálicas (MNP) constituye un fenómeno espectroscópico de una complejidad tal que su estudio completo continúa abierto y que contrasta con la metodología experimental relativamente fácil para producir MNP producidas en medios líquidos

muy diversos. Para la formación del plasmón intervienen todos los aspectos posibles: naturaleza del metal, forma, tamaño y método de síntesis, permitividad del metal y del medio en su entorno inmediato, frecuencia de relajación o amortiguamiento, estructura cristalina, proporción de las distintas caras cristalinas en la superficie, estructura de la doble capa eléctrica alrededor de las nanopartículas, composición del medio y grado de dispersión de tamaños. En la figura 4 se muestra la frecuencia y sección de extinción para nanopartículas metálicas con un tamaño de 10 nm en el aire.

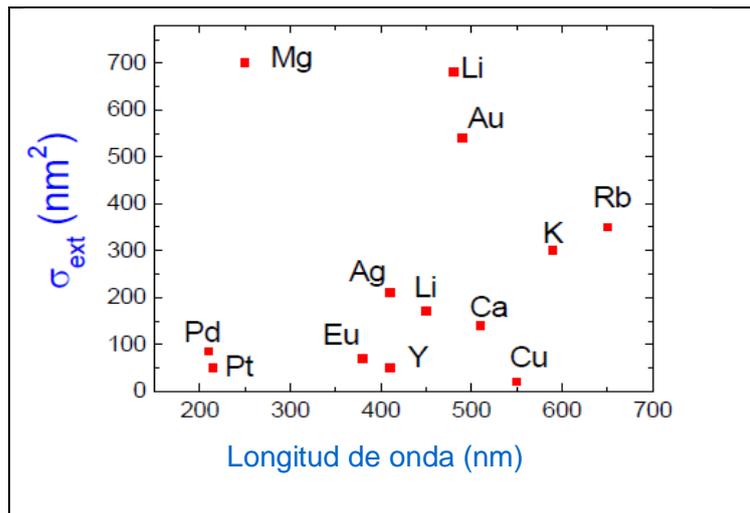


Figura 4. Frecuencia resonante y sección de extinción para NP metálicos con un tamaño de 10 nm en el aire. Tomado de Garcia (2011)

En general, para una disolución coloidal es de esperar que el espectro de absorción en el visible (fig. 5) muestre una banda ancha de absorción-dispersión indefinida y monótona sin señal destacable alguna. Sin embargo, para aquellos casos en que se produzca la condición de resonancia anterior, el coeficiente de extinción alcanza un máximo nítido y definido a cierta longitud de onda característica y el espectro colapsa en un pico claro, apareciendo por tanto en su espectro de absorción una banda característica que es lo que se denomina banda de plasmón.

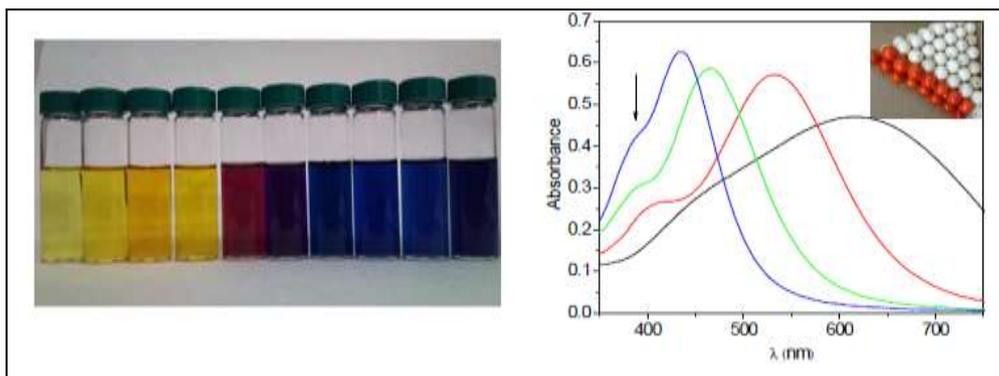


Figura 5: Serie completa (izquierda) tras la síntesis de nanopartículas de plata y espectro visible (derecha) mostrando algunas bandas de plasmón experimentales representativas. **Fuente:** “Nanopartículas Metálicas y Plasmones de Superficie”(Cruz et.al. ,2012a)

Para la plata se produce a longitudes de onda en torno a 420 nm (Murray & Barnes, 2007), tal como se aprecia en la figura 6.

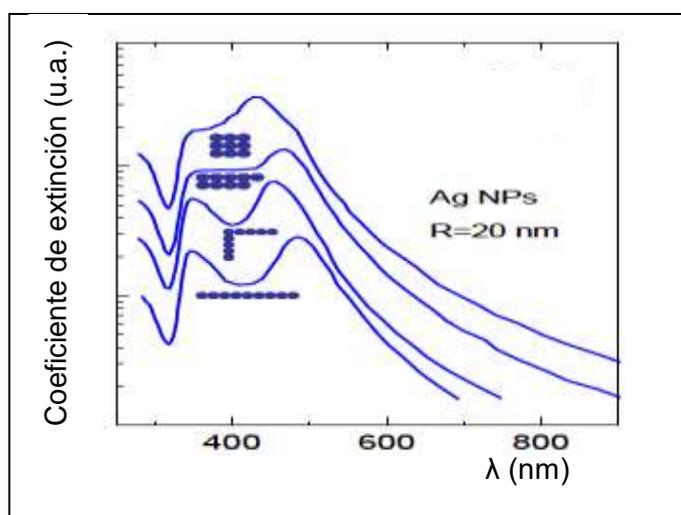


Figura 6:Espectro de absorción óptica de matrices de 20 nm AgNp con diferentes geometrías: lineal, angular, bicapa y cubica Adaptado de Murray & Barnes (2007)

2.1.4 Química de la plata

Según el informe del Servicio Geológico de los Estados Unidos (USGS): “El segundo productor de plata a nivel mundial es el Perú al reportar 2.44 millones de TMF (toneladas métricas finas), que representa el 11.8% del total mundial, puesto que mantiene desde el 2010, siendo México el primer productor mundial de este metal con 5,600 TM de Ag y 37,000 de reservas, lo que le otorga el liderazgo en el mundo” (USGS: Perú Se Consolida Como El 2do. Productor de Plata a Nivel Mundial 2017).

La plata es un metal blanco, brillante, sonoro, dúctil y maleable, más pesado que el cobre y menos que el plomo. Es uno de los metales preciosos que habitualmente se encuentra mezclado con otros metales, como el plomo, el cobre y el zinc. La plata es el metal con una mayor conductividad eléctrica, pero su precio 50 veces más elevado que el del cobre ha impedido su uso masivo en dispositivos eléctricos (Casado et al. ,2004). En la tabla 1 observamos sus principales propiedades.

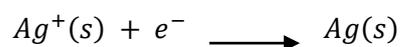
Tabla 1: Propiedades físico químicas de la plata

Símbolo químico	Ag
Número atómico	47
Grupo /período	11 / 5
Bloque	d
Densidad	10490 Kg/m ³
Masa atómica	107.8683 u.m.a
Radio medio	160 pm
Radio atómico	165
Radio covalente	153 pm
Radio de van der Waals	172 pm
Configuración electrónica	[Kr]4d ¹⁰ 5s ¹
Electrones por capa	2, 8, 18, 18, 1
Estados de oxidación	1
Óxido	anfótero
Estructura cristalina	cúbica centrada en las caras
Estado	sólido
Punto de fusión	1234.93 K
Punto de ebullición	2435 K
Calor de fusión	11.3 kJ/mol
Presión de vapor	0,34 Pa a 1234 K
Electronegatividad	1,93
Calor específico	232 J/(K·Kg)
Conductividad eléctrica	63 × 10 ⁶ m ⁻¹ S/m
Conductividad térmica	429 W/(K·m)

Fuente :Peña, Alejandro (2017)

La plata según Solorzano (2000, pág 535) no reacciona con ácidos diluidos no oxidantes (ácido clorhídrico o sulfúrico) ni con bases fuertes (hidróxido de sodio). Los ácidos oxidantes como ácido nítrico y ácido sulfúrico concentrado la disuelven para formar el ión positivo de la plata Ag⁺. Este ión es el que está presente en todas las soluciones simples de compuestos de plata solubles, se reduce fácilmente a metal libre.

El cloruro, el bromuro y el yoduro de plata son sensibles a la luz, y la fácil reducción del ion plata causa un oscurecimiento del sólido. Es por esto que los compuestos de plata y sus soluciones se guardan en frascos oscuros.



Este ion se reduce fácilmente en agua ($E^\circ = 0.80 \text{ V}$)

Aunque casi todos los compuestos de plata simples exhiben el estado de oxidación 1^+ , hay excepciones. Por ejemplo, la plata metálica se puede oxidar a AgO negro, que en realidad es óxido de plata (I) y plata (III), $Ag^+ Ag^{3+}(O^{2-})_2$

En la fig. 7 del diagrama de especiación de la plata; en condiciones normales la especie más abundante es la plata metálica ya que es estable a cualquier pH, mientras que la especie Ag^+ es la única especie catiónica y los demás estados de oxidación se observan en los hidróxidos insolubles a pH básico (Neira García, 2015).

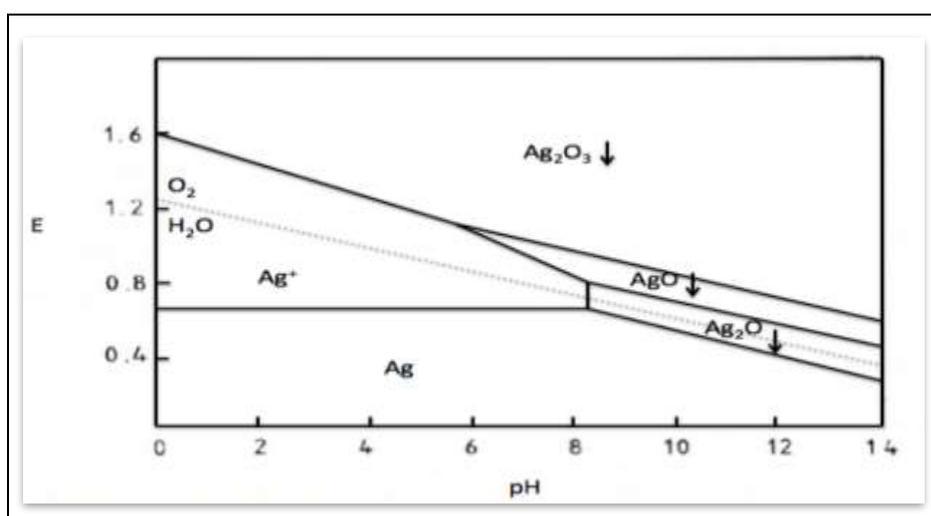


Figura 7: Diagrama de especiación e la plata. Fuente: Neira Garcia (2015)

La configuración electrónica de la plata por la presencia de orbital externo $5s^1$ permitió formar numerosas sales / complejos de plata (I) con una amplia variedad de contraiones (compuestos de haluro, sulfuro, nitrato, óxido, acetiluro, ciano-derivados y olefinas). La secuencia sistemática de reacciones se describe en la fig. 8, que ilustra la química de la plata (Sivaguru and Bi, 2019:2).

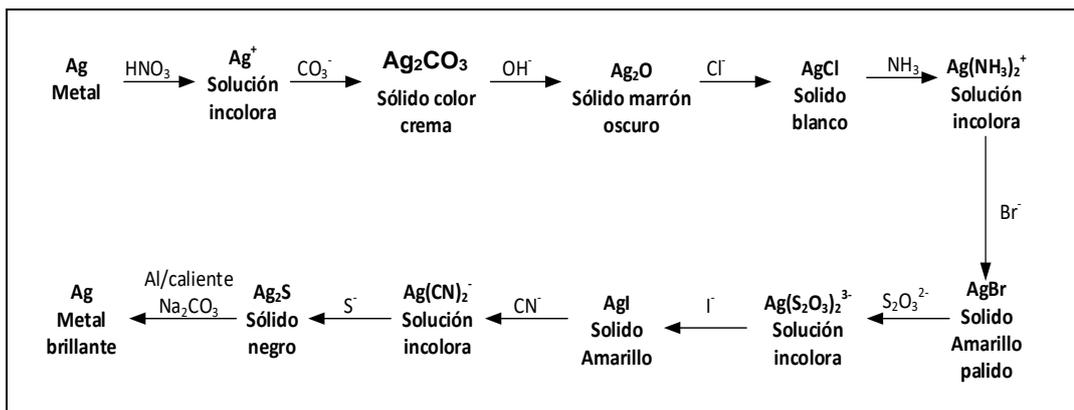


Figura 8: Reacciones en la serie de plata. Fuente: Sivaguru and By – 2019.

2.1.5 Nanopartículas metálicas-métodos de síntesis

Existen varios métodos de síntesis de nanopartículas metálicas, que se esquematizan en la figura 9:

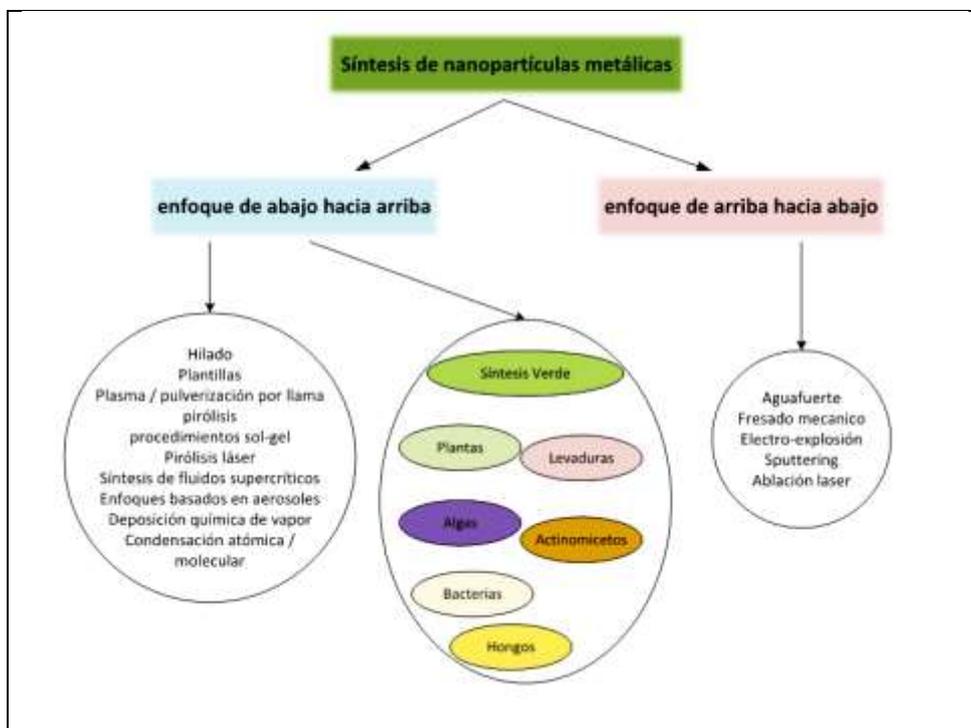


Figura 9: Síntesis de nanopartículas metálicas y óxidos metálicos. Fuente. (Luque and Varma, 2012:fig. 2.1)

2.1.6 Nanopartículas de plata

Desde la antigüedad se empleaban vasijas de plata para almacenar agua o vino porque se consideraba que preservaba sus condiciones. Hipócrates, describió el empleo de polvo de plata para su aplicación en la curación de heridas y en el tratamiento de úlceras (Sivaguru and Bi, 2019:3). En los siglos XVII y XVIII se empleó

nitrate de plata para el tratamiento de úlceras y su actividad antimicrobiana se estableció en el siglo XIX (Lens et al. ,2013).

2.1.7 Métodos de síntesis de nanopartículas de plata

La fabricación y síntesis de las nanopartículas, puede ser realizada por dos procedimientos (Ver figura 10):

- Por conminución en fase sólida (arriba-abajo, top-down)
- De abajo-arriba (bottom-up)

A su vez estos procedimientos tienen diferentes variantes con diversos grados de eficiencia.

El método de arriba-abajo parte de una micro partícula, que por molienda donde se aplica intensidades variables hasta obtener nanopartículas. Con este método se producen nanopartículas de un mayor tamaño, con un menor control del tamaño, de la forma de las nanopartículas y del rango de tamaños, con mayor cantidad de impurezas que utilizando el método de abajo-arriba (Gonzalez-Calderon 2011).

Cornejo (2015a) manifiesta que:“El método de abajo-arriba (bottom-up) sintetiza las nano partículas, ensamblando átomos y moléculas utilizando, generalmente, procedimientos químicos, hasta conseguir un conglomerado de moléculas de tamaño nano métrico. Las fuerzas electromagnéticas de los átomos y de las moléculas originan su auto ensamblado; para evitar su aglutinamiento espontáneo, es necesario controlar el proceso de síntesis. El método abajo-arriba puede controlar mejor el tamaño de las nanopartículas, su uniformidad y su forma, reduciendo la cantidad de impurezas”

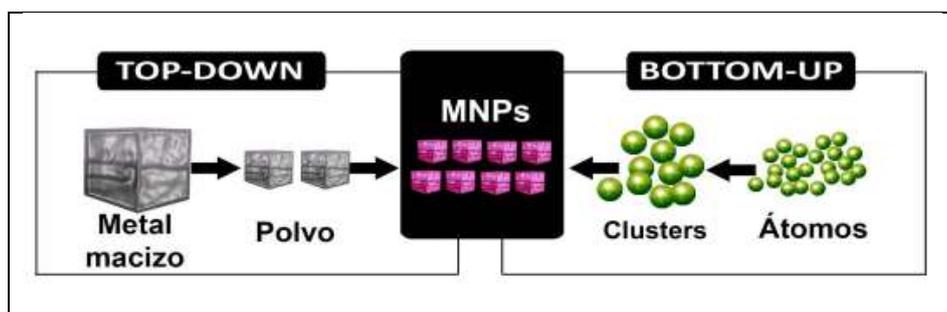


Figura 10: Esquema de los métodos de síntesis de MNPs Top-Down y Bottom-Up Fuente. (Domènech Garcia et al. 2012:fig. 3)

En general, la síntesis de nanopartículas metálicas en disolución se lleva a cabo mediante el empleo de los siguientes componentes: i) precursor metálico; ii) agente reductor; iii) agente estabilizante. El mecanismo de formación de las

disoluciones coloidales a partir de la reducción de iones plata consta de dos etapas diferentes: nucleación y crecimiento. El proceso de nucleación requiere una alta energía de activación mientras que el proceso de crecimiento requiere una baja energía de activación tal como observamos en la figura 11 (Monge, 2014a).

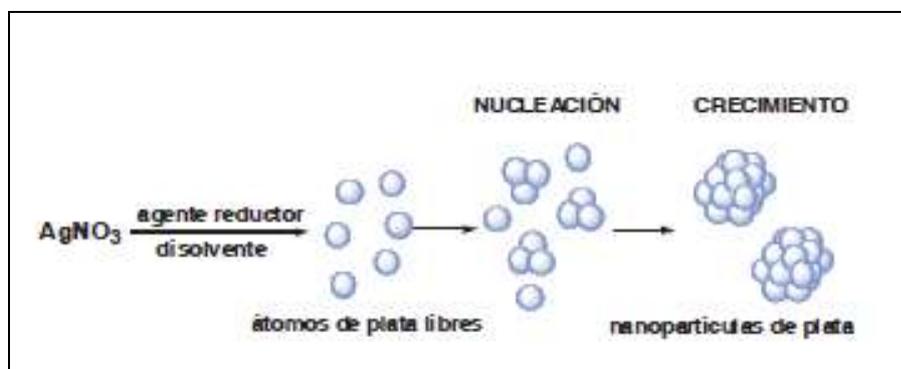


Figura 11: Mecanismo de formación de disoluciones coloidales de plata Fuente: (Monge, 2014^a).

2.1.8 Factores que afectan el tamaño y forma de nanopartículas de plata

La forma y el tamaño de nanopartículas de plata producidas dependen de las condiciones experimentales tales como: temperatura, la concentración de precursor de plata, pH de la solución, la relación molar entre el agente estabilizante-limitador y precursor de plata nitrato de plata (AgNO_3) relación entre estabilizante/precursor, la fuerza de la interacción química entre estabilizante y varios planos cristalográficos de plata, agentes reductores (ácido cítrico, ácido L-ascórbico y NaBH_4), el método utilizado (químico, físico o biológico). Los estudios han demostrado que al usar partículas de semilla con una morfología particular (por ejemplo, multifacético o hermanado), la arquitectura final de nanopartículas anisotrópicas se puede controlar en algunos enfoques sintéticos. Además, la forma de las nanopartículas se puede cambiar modulando el entorno químico y redox de la partícula de semilla inicial *in situ* (figura 12). Un cambio en la concentración del precursor, surfactante, pH, temperatura, ion de metal, e incluso concentraciones dopantes pueden tener efectos drásticos en la forma y el tamaño del producto anisotrópico (Khodashenas and Ghorbani, 2015).

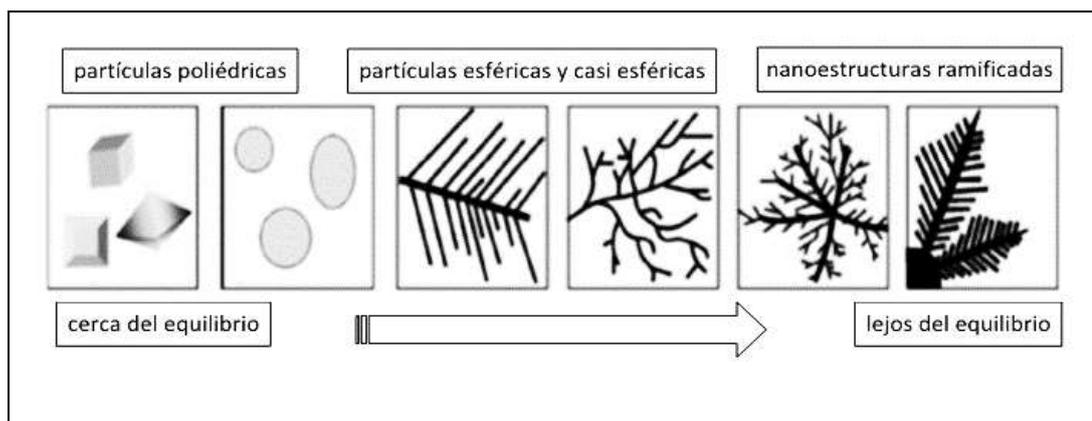


Figura 12: Correlación entre la distancia de las condiciones de formación desde el equilibrio y la forma de las NP de plata producidos. Fuente: Khodashenas and Ghorbani, 2015.

Los procedimientos de obtención de las AgNps se clasifican en tres grupos: métodos químicos, físicos y biológicos; para propósito de este trabajo se pondrá énfasis en métodos de síntesis verde con plantas.

2.1.9 Métodos de síntesis verde

Kanchi y Ahmed (2018) señalan el uso de microorganismos, como bacterias, algas, levadura y hongos, para la biosíntesis de NP, así como numerosos extractos de plantas, diatomeas y células humanas, que han demostrado ser recursos innovadores por su capacidad para producir nanopartículas seguras y no tóxicas, incluido el hierro, cobalto, oro, plata, platino, óxido de hierro, aleaciones de óxido de zinc, sulfuros, puntos cuánticos, etc. Durante la síntesis verde de las NP, los productos de la naturaleza o los imitadores de productos naturales se han utilizado como agentes reductores y protectores.

Las nanopartículas obtenidas de extractos de plantas se preparan a partir de extractos de plantas vivas. Las partes de plantas como hojas, raíces, látex, semillas y tallos se utilizan ampliamente para la síntesis de NP a base de óxido de metal y metal. Los principales bioreductores encontrados en extractos de plantas son polifenoles bioactivos, proteínas, ácidos fenólicos, alcaloides, azúcares, terpenoides, etc., que se componen principalmente para desempeñar un papel importante en reducir los iones metálicos y luego estabilizarlos.

Además, como estas partículas están asociadas a restos orgánicos de los extractos de plantas, en ocasiones, se consigue estabilizar esas partículas de tamaño nanométrico e impedir que se agreguen. Otra gran ventaja que presenta el empleo de métodos de química verde es la posibilidad de controlar el tamaño de las nanopartículas variando la concentración de extracto vegetal empleado sin

necesidad de usar agentes surfactantes, estabilizantes o plantillas. (Neira García, 2015).

En la figura 13 se muestra el posible mecanismo de síntesis de nanopartículas de plata medida por plantas. (Camacho Polo, Deschamps Mercado, and Herrera Barros 2013).

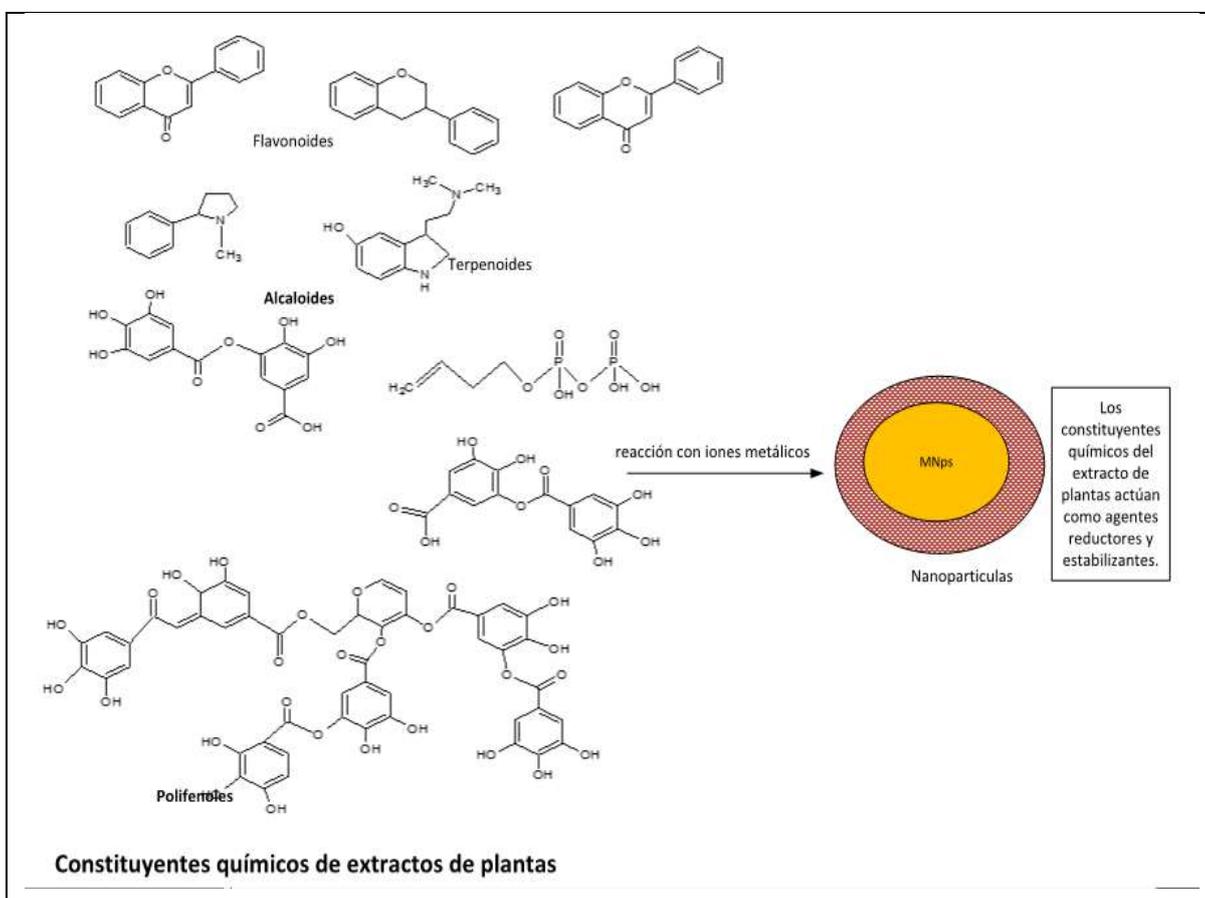


Figura 13: Mecanismo de síntesis de nanopartículas de plata mediada por plantas. Fuente. (Ahmed et al., 2016:fig. 5)

El posible mecanismo para la reducción de Ag^+ por los fitoconstituyentes presentes en el extracto acuoso se presenta en la figura 14.

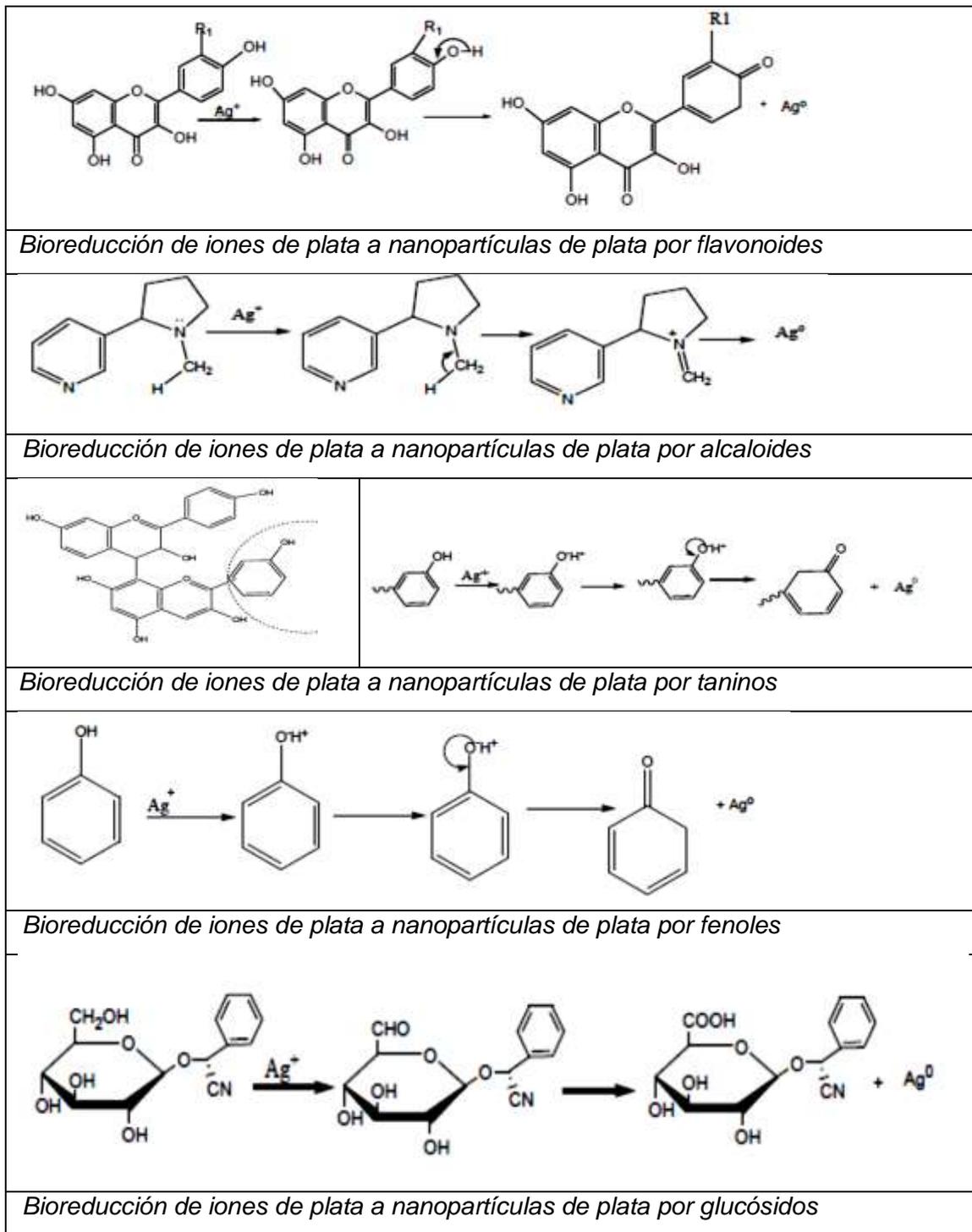


Figura 14: Posible mecanismo para la reducción de Ag^+ . Fuente. adaptado de (Akinsiku et al. 2018:207)

2.2 El té verde (*Camellia sinensis*)

Es un tipo de té que es el más importante de las variedades de té que existen actualmente. Los compuestos fenólicos del extracto seco de las hojas jóvenes y frescas son entre 25-35%, donde el 80% de ellos son flavonoles y flavonas. El color entre verdoso y amarillo limón del té verde se debe a la presencia de los flavonoles y

flavonas. Por la distinta forma de preparación el té negro y el té verde se diferencian químicamente sobre todo en la composición de la fracción fenólica. En la tabla 2, se puede observar los compuestos que contiene el té verde (*Camellia sinensis*) y la cantidad porcentual de estos componentes en el extracto seco.

Tabla 2: *Compuestos fenólicos existentes en las hojas frescas de té (% del extracto seco).*

COMPUESTO	CANTIDAD
(-)-Epicatecol	1-3
(-)-Galato de epicatecol	3-6
(-)-Digalato de epicatecol	*
(-)-Epigalato catecol	3-6
(-)- Galato de epigalo-catecol	*
(+) - Catecaol	1-2
(+) -Galacatecol	3-4
Flavonoides y glicósidos de flavonoles (quercetina, canferol, etc.)	*
Flavonas (vitexina, etc.)	*
Leucoantocianatos	2-3
Acidos fenólicos y ésteres (ácido gálico, ácido clorogénico, ácido-cumaroilquinico, teogalina)	5
Total, fenoles	25-35

* No se dispone de datos cuantitativos

En la fig. 15 se tiene las principales catequinas presentes en *Camelia sinensis* (*catequina, galotocatequina, epigalatocatequina, epicatequina, epicatequina galato, epigalocatequina galato, galocatequina galato y sus estructuras.*

Como se observa las catequinas presentn polifenoles con presencia de grupos hudroxilo, que son los grupos funcionales reactivos, esta deslocalización de los electrones es generalmente considerada un factor que aumenta la actividad antioxidante de los flavonoides. Por lo tanto, la capacidad antioxidante de las catequinas se debe a su alto número de hidroxilos (OH⁻) en sus estructuras.

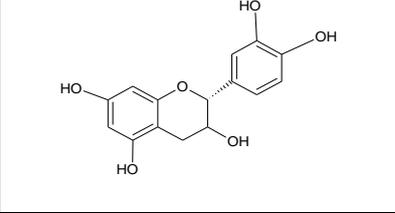
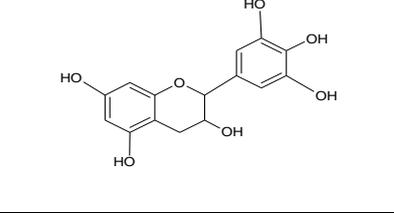
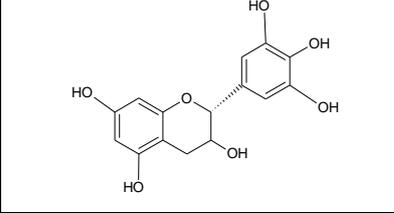
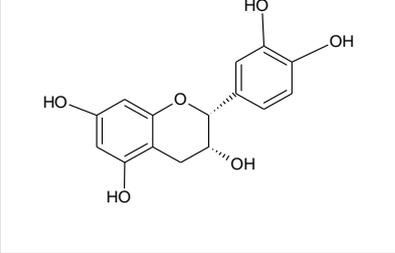
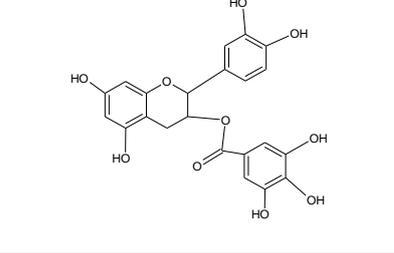
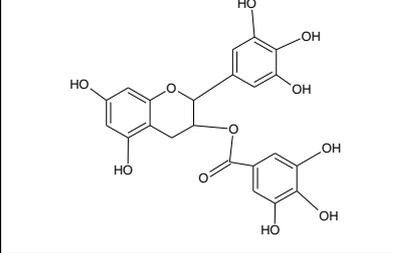
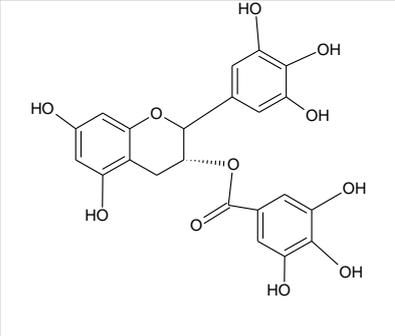
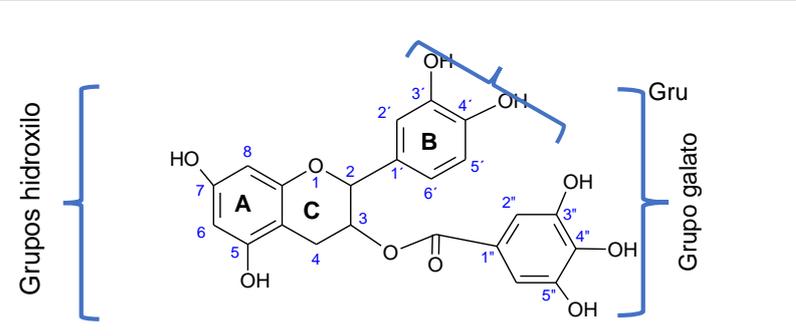
		
Catequina	Galocatequina	Epigallocatequina
		
Epicatequina	Epicatequina Galato	Epigallocatequina galato (EGCG)
		
Galocatequina galato	Grupos funcionales en los polifenoles	

Figura 15: Estructura de polifenoles con sus diferentes grupos catecol, hidroxilo y galato, principales catequinas presentes en *Camelia sinensis* Fuente: (Balentine, Wiseman, and Bouwens 1997)

Mientras que en la fig. 16 se muestra la interacción entre una catequina e iones metálicos, y en la figura 17, la reacción de reducción de iones metálicos (Cu^{2+}) por Epigallocatequina galato EGCG .

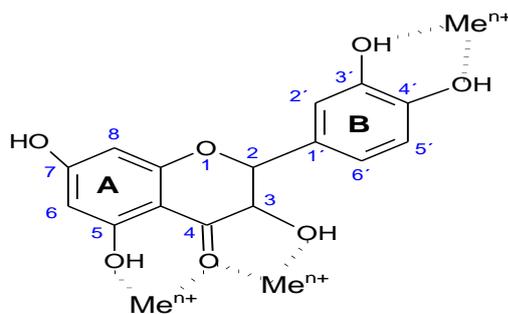


Figura 16: Interacciones entre la EGCC e iones metálicos

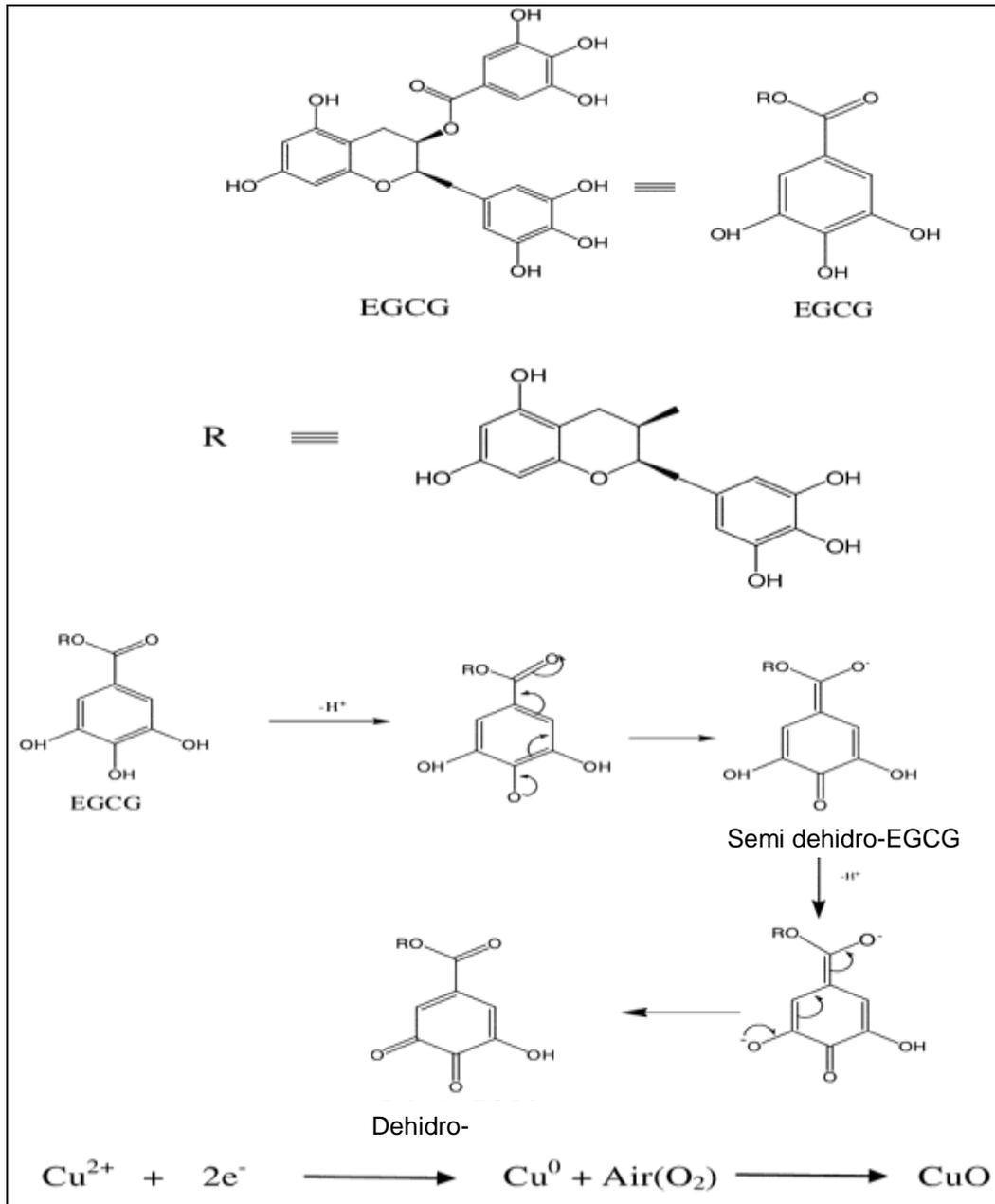


Figura 17 Reacción de reducción de iones metálicos (Cu^{2+}) por Epigallocatequina galato EGCG Fuente: (Sutradhar, Saha, and Maiti 2014:fig. 1)

Todos los tés verdes, negros y blancos se derivan de *Camellia sinensis*, un arbusto siempre verde de la Familia Theaceae. A diferencia del té negro, que se forma por oxidación del té verde después de recogerlo, el té verde se cosecha y se suministra generalmente en su estado natural sin procesamiento adicional (Cooper and Nicola, 2014:157).

2.3 Arcilla Chak'ó

De acuerdo al Comité de Nomenclatura Conjunta (JNC) de la Association Internationale pour l'Etude des Argiles (AIPEA) y la Clay Minerals Society (CMS) han definido 'arcilla' como " un material de origen natural compuesto principalmente de minerales de grano fino, que es generalmente plástico con contenido de agua apropiado y que se endurecerá al secarse o calentar. En edafología, la 'fracción de arcilla' se refiere a una clase de materiales cuyas partículas son más pequeñas que 2 μm en diámetro esférico equivalente (ESD). En geología, sedimentología y geoingeniería el límite de tamaño se establece comúnmente en < 4 μm ESD mientras que en la ciencia coloidal el valor de < 1 μm es generalmente aceptado. En efecto, Weaver (1989) ha sugerido que el término "arcilla" solo debe usarse en el sentido para indicar material de menos de 4 μm (Bergaya and Lagaly 2006).

Tabla 3: Distinción entre arcilla y mineral de arcilla

Arcilla	Mineral de arcilla
Natural	Natural y sintético
Grano fino (<2 μm o <4 μm)	Sin criterio de tamaño
Filosilicatos como constituyentes principales	Puede incluir no filosilicatos plástico
Plástico ^a	Se endurece al secarse o calentar
Se endurece al secarse o calentar.	

^aCon algunas excepciones como arcillas y rocas.

De igual forma Bergaya y Lagaly (2006) hacen una distinción entre arcillas y los llamados minerales de arcilla (tabla 3).

La arcilla Chak'ó es una arcilla de la zona de Puno, su yacimiento está ubicado al Nor - Oeste de la provincia de Melgar del departamento de Puno, a unos 60 Km de la capital melgarina, en la región comprendida al pie del importante conjunto cordillerano denominado Manahue, comprensión de la comunidad de Hatum Hayllu del distrito de Ocuvi, que tiene dos variedades principales : Chak'ó blanco y el Chak'ó plomo, para la presente tesis se utilizó la arcilla Chak'ó blanco que de acuerdo a su identificación por DRX tiene la siguiente composición mineralógica:

Tabla 4: Composición mineralógica de la fracción arcilla Chak'o Blanco

Nro.	Mineral	Fórmula	%
1	Montmorillonita	$\text{Ca}_{0.2}(\text{Al},\text{Mg})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	57.68
2	Amorfo		21.6
3	Cristobalita	SiO_2	14.42
4	Eifelita	$\text{KNa}_3\text{Mg}_4\text{Si}_{12}\text{O}_{30}$	5.05
5	Cuarzo	SiO_2	1.23

Fuente:(Aragón, 2013)

Para la fracción arcilla del CB-Na el contenido de aluminio es de 13.31% y 14.303 % como Al_2O_3 ; su distancia basal es de 11.55 Å, su área superficial específica es de 79 m^2/g ; su volumen de poro es de 0.0936 mL/g y su capacidad de intercambio catiónico es de 54.62 meq/g (Aragón, 2013:123)

Ha surgido gran interés en el uso de arcillas y minerales de arcilla por sus características estructurales principalmente las arcillas laminares (fig. 18) son de interés por su capacidad de intercambio catiónico y la posibilidad de interacción entre su superficie y sus bordes, que al tener centros ácidos se constituyen en candidatos para reducir iones metálicos y formar nanopartículas, o por procesos de adsorción servir como soporte o matriz para albergar a nanopartículas de metales previamente estabilizadas.

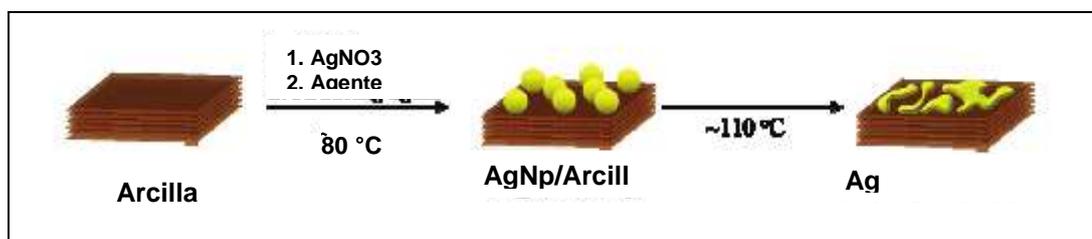


Figura 18: Estructura de la arcilla laminar y su uso en síntesis de nanopartículas de plata

Existen aspectos como la heteroagregación que en trabajos como el de Khanh An Huynh y col. (2014) en su trabajo “La Heteroagregación reduce la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata: Evidencia de los efectos de proximidad de las células a la nanopartícula” y estudia este fenómeno y lo relacionan con la reducción de su capacidad antibacterial además de ver la influencia del potencial de hidrogenión (pH), puesto que a pH bajo la montmorillonita tiene un plano basal cargado negativamente y bordes cargados positivamente, su interacción con estas nanopartículas a pH diferente conduce a comportamientos inusuales.

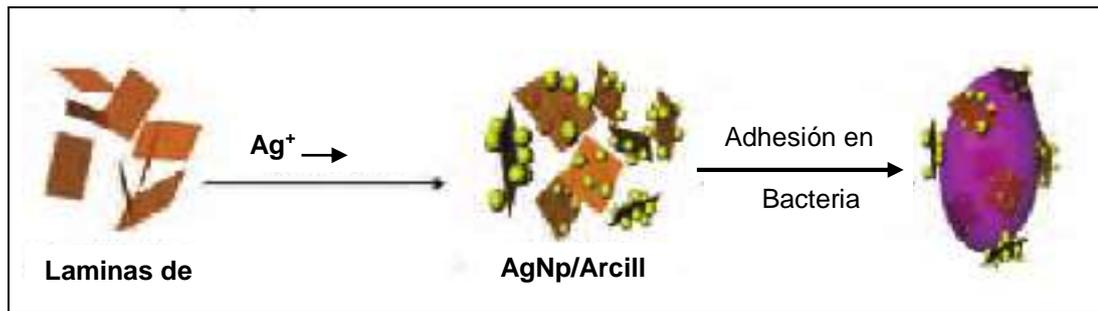


Figura 19: Ilustración de la síntesis de AgNp / arcilla e interacción con una bacteria: Las AgNp se fabrican en la superficie de la arcilla de las plaquetas y la atracción electrostática a una pared celular bacteriana. Fuente:(Lin, Dong, and Tsai 2010:171)

2.4 Nanomateriales modificados con actividad antimicrobiana

Alexandru Mihai Grumezescu en 2016 describió las características de nanopartículas con propiedades antibacterianas naturales, las cuales determinan efectos citotóxicos *in vitro* en las células procariotas, pero también la acumulación *in vivo* y los efectos adversos (Grumezescu, 2016).

Se han realizado varios enfoques para mejorar la biocompatibilidad de las nanopartículas:

(i) Se cubre la superficie de las nanopartículas con moléculas poliméricas biocompatible; (ii) encapsular moléculas pequeñas biocompatibles; y (iii) encontrar nuevos métodos "verdes" para sintetizar nanopartículas compatibles.

Estos enfoques reducen la reactividad de las nanopartículas, al prevenir la formación de especies de oxígeno reactivo (ROS) y también reduce la cantidad de iones tóxicos, liberada en el medio fisiológico.

Si se usa extractos de plantas (fitoquímicos), como agentes reductores; estos también actúan como moléculas funcionalizadoras, que también pueden mejorar la capacidad antibacteriana.

2.5 Nanomateriales modificados con actividad catalítica

En particular los metales deben utilizarse en forma de partículas muy pequeñas (nanopartículas) para maximizar su área específica, pero dado que son inestables en ese estado, es necesario separarlos uniéndolos a la superficie de una partícula de un óxido, de tal manera que no puedan estar en contacto unos con otros, este tipo de catalizadores son llamados catalizadores metálicos soportados. Es decir,

ocupan una fase diferente a la de la fase fluida en la que está los reactantes y por tanto son llamados catalizadores heterogéneos. Sin embargo, hay 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. Estos catalizadores son llamados catalizadores homogéneos (Zanella, 2015).

A la fecha se han realizado avances significativos utilizando estrategias de química húmeda, para sintetizar nanopartículas de alta calidad de una gran variedad de materiales inorgánicos, incluyendo oro, plata, cobre, óxido de hierro y semiconductores como catalizadores o fotocatalizadores (Zanella, 2015). Otro aspecto fundamental de la síntesis de nanopartículas es su estabilización, de tal manera que pueda mantenerse su tamaño y su forma en función del tiempo.

Los metales de transición, especialmente los metales preciosos, muestran una gran actividad catalítica para muchas reacciones orgánicas e inorgánicas. Estos materiales presentan propiedades tanto en la catálisis homogénea como en la heterogénea y la disminución del tamaño de partícula provoca que una gran cantidad de átomos estén disponibles, como sitios activos, en la superficie de las partículas, lo que generará catalizadores altamente activos, pues la actividad química es proporcional al número de especies activas accesibles a los reactivos (Borah, Dutta, and Dutta, 2010). Así, el objetivo principal de la nanocatálisis es controlar las reacciones catalíticas por medio de la optimización del tamaño, dimensionalidad, composición química y morfología de las nanopartículas que constituyen la fase activa del catalizador (Zanella, 2015) . Esto requiere una comprensión fundamental de cómo y por qué las partículas de un catalizador adquieren una forma y tamaño determinados, de cómo permanecen inmovilizadas en la superficie del soporte, de cómo las nanopartículas responden ante los cambios de presión, temperatura, presencia de una atmósfera determinada (reductora, oxidante, etc.) y de cómo todos estos factores afectan la actividad catalítica. Así, el término nanocatálisis se refiere a la aplicación de nanomateriales como catalizadores (Cristian, 2011).

2.6 Métodos de caracterización de nanopartículas metálicas

Los métodos de caracterización físicas y químicas de las NPs metálicas más utilizados se resumen en la tabla 5.

Tabla 5: Resumen de técnicas físicas y químicas de caracterización de nanopartículas

Técnicas físicas	
<i>Difracción de rayos X (DRX)</i>	Determina si la muestra es cristalina o no, y es posible determinar la forma geométrica de la red cristalográfica, parámetros de red, distancia interplanar, entre otros.
<i>Microscopía electrónica de barrido (SEM)</i>	Usa electrones para formar una imagen. Tiene una gran profundidad de campo, lo que permite enfocar de una vez gran parte de la muestra. Produce imágenes de alta resolución lo que significa que características espacialmente cercanas en la muestra pueden ser examinadas a una alta magnificación.
<i>Microscopía electrónica de transmisión (TEM)</i>	Permite la observación de muestra en cortes ultrafinos. Un TEM dirige el haz de electrones hacia el objeto que se desea aumentar. Una parte de los electrones rebotan o son absorbidos por el objeto y otros lo atraviesan formando una imagen aumentada del espécimen.
Técnicas químicas	
<i>Espectroscopía ultravioleta y visible (UV-Visible)</i>	Se basa en la absorción de radiación ultravioleta y visible por el analito, como consecuencia de lo cual se origina un estado de excitación electrónica, detectando la presencia de resonancias de plasmón de superficie localizadas (LSPR).
<i>Espectroscopía por dispersión de electrones (EDS)</i>	Se bombardea a la muestra con electrones que excitan los electrones internos de los átomos de la muestra y emiten rayos X de energía característica del elemento.
<i>Espectroscopía infrarroja (FT-IR)</i>	Determina los modos normales de vibración, que se detectan por picos en frecuencias específicas. En el caso de NPs metálicas, en general, la espectroscopía IR se emplea para estudiar la capa orgánica protectora que generalmente cubre a las mismas o que las funcionaliza de algún modo. Así, por

ejemplo, es posible determinar si el agente protector ha formado algún tipo de complejo en la superficie del metal, ha reaccionado durante el proceso de síntesis o luego de un tratamiento térmico, o simplemente si aún se encuentra presente luego del lavado de las NPs (Grandez Arias, 2017).

Potenciometría Consiste en la medición del pH, a través del tiempo o diversas condiciones de temperatura.

El análisis termogravimétrico (TG) Registra continuamente la masa de la muestra colocada en una atmósfera controlada en función de temperatura o del tiempo, al ir aumentando la temperatura de la muestra (normalmente en forma lineal con el tiempo). La representación de la masa o del porcentaje de masa en función del tiempo se denomina termograma o curva de descomposición térmica. Existen dos modalidades de prueba: isotérmica y dinámica. En el primer caso, la temperatura de la muestra es constante, variando únicamente el tiempo de prueba. En el segundo caso, el tiempo y la temperatura varían según la velocidad de calentamiento establecida. El equipo consiste básicamente de un horno programable y una balanza, con el cual, se puede medir cambios de peso en función del tiempo y la temperatura.

2.7 Uso de nanopartículas de plata en descontaminación de agua

Entre los principales indicadores de contaminación de agua a nivel microbiológico están los microorganismos patógenos y compuestos orgánicos sintéticos. Las nanopartículas de plata están siendo estudiadas para su uso en desinfección de agua, así en la tabla 6 tenemos un resumen del uso de AgNps y su uso rango de actividades antimicrobiales.

Tabla 6: Rango de actividad antimicrobial de plata.

Nanopartícula	Rango de Actividad Antimicrobiana			Referencia
	Bacteria	Fungi	Virus	
Plata	<i>S. aureus</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>HIV-1</i>	Nanda y Saravanan (2009)
	<i>S. epidemides</i>	<i>Candida</i>	<i>HBV</i>	Wright et.al. (1999)
	<i>S. pyogenes</i>	<i>Saccaromyces</i>	<i>H1N1</i>	Wai-Ynásun y Stevealin (2005). Elechiguera et.al. (2005), Xang et.al. (2011), Trefy and Wooley(2012)
	<i>S.typhi</i>		<i>influenza A</i>	Fellahi e.a. (2013)
	<i>K.pneumoniae</i> <i>E.coli</i> <i>B.subtilis</i>			Lv et.a. (2010)

2.7.1 Microorganismos patógenos

Un indicador biológico de contaminación en agua y contaminación fecal es la presencia de la bacteria *Escherichia coli* por lo tanto, dondequiera que se encuentre *E. coli*, puede haber también contaminación por parásitos intestinales humanos (Larrea-Murrell et al., 2013)

Escherichia coli es una bacteria oportunista que se encuentra en el tracto gastrointestinal humano. Y se vuelven patógenos cuando ciertos materiales genéticos son adquiridos por ellos. Es uno de los agentes causantes de diarrea. Otras infecciones causadas por la bacteria son septicemia, peritonitis, abscesos, meningitis e infecciones del tracto urinario en humanos. El factor virulento es su capacidad para generar hemolisina; *E. coli* es sensible al pH, la temperatura y algunos otros estimulantes. Ejemplo de su sensibilidad a la temperatura y la osmolaridad (ambiental) es su capacidad de cambiar el diámetro de su membrana de poro externo para obtener nutrientes o para prohibir sustancias inhibitoras (Faleiro Naves, 2009).

2.7.2 Modo de acción de nanopartículas de plata contra las bacterias

El mecanismo exacto por el cual las nanopartículas de plata exhiben un efecto antibacteriano es poco entendido; sin embargo, existen varias teorías sobre el

modo de acción de nanopartículas de plata en las bacterias, pero todos están en marcha para dilucidar mejor estos aspectos (Grumezescu, 2016:209).

Las nanopartículas de plata se adhieren a las bacterias y luego penetran en el interior. Esto causa cambios estructurales llamados "picaduras" en la membrana de la célula bacteriana, que resulta en variada permeabilidad celular y muerte celular (Grumezescu, 2016:209).

En la figura 20 observamos la interacción entre las nanopartículas de plata y las bacterias; en la Figura 21 se presenta la actividad antibacterial frente a *E. coli* de nanopartículas de cerio y plata (CeNp y AgNps.)

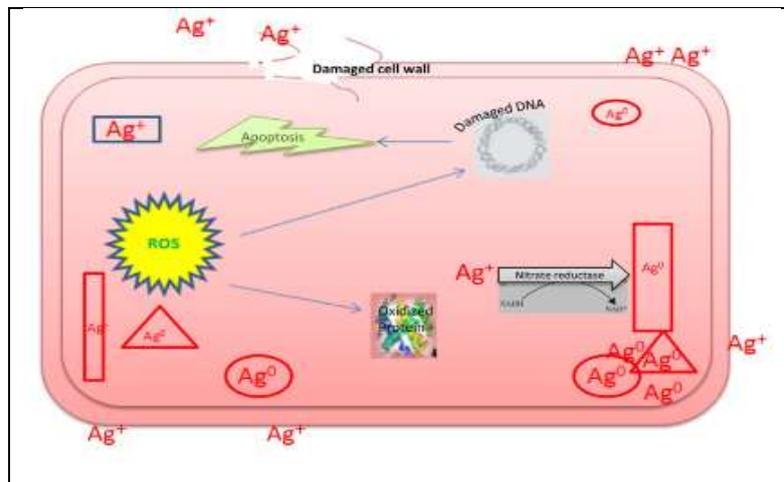


Figura 20: Interacción entre AgNps y bacterias. Fuente: Grumezescu, 2016:

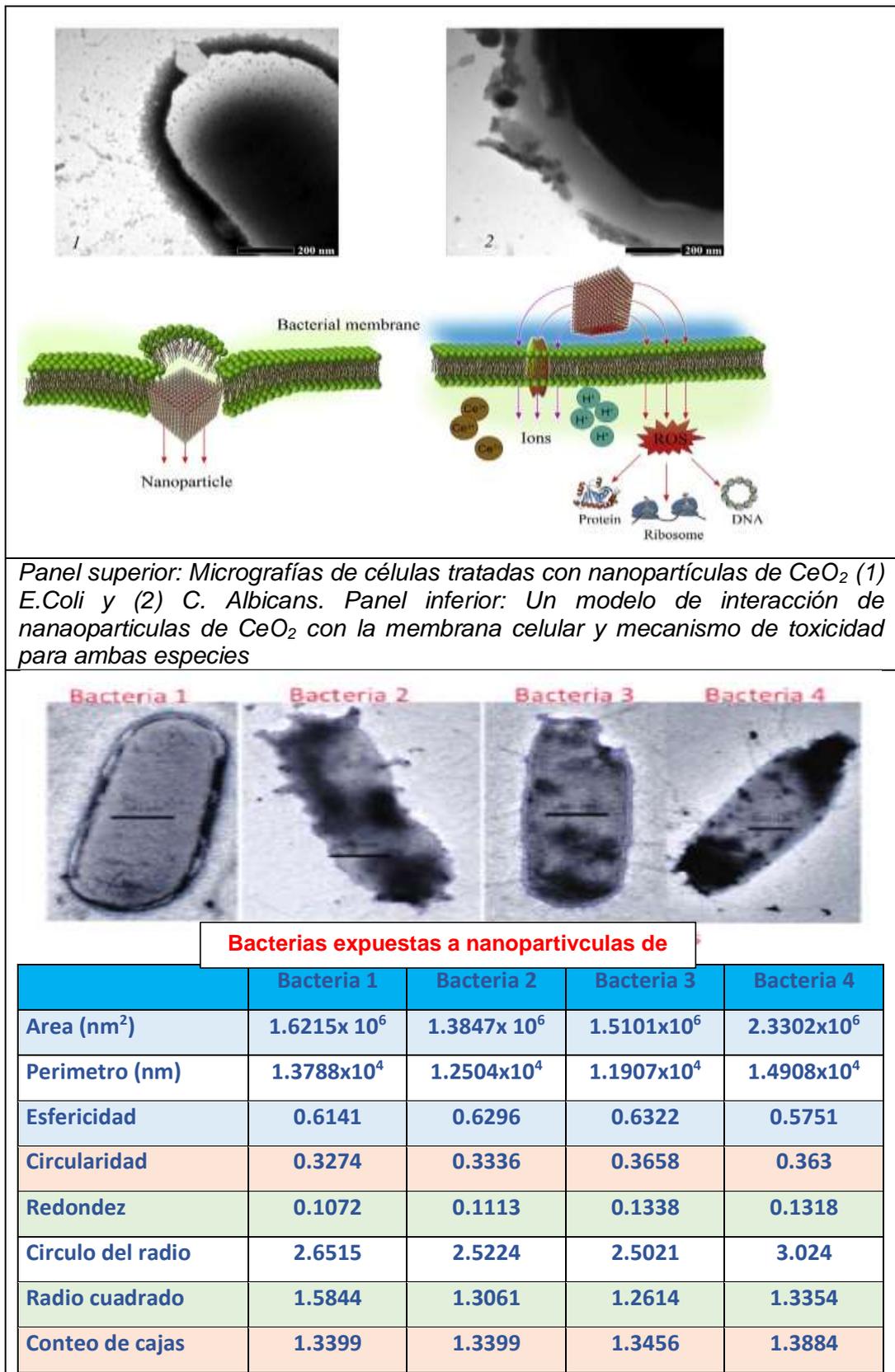


Figura 21: Bacteria expuesta a AgNps–Propiedades morfológicas (Arroyo et al.,2016:fig. 2). Actividad antibacterial frente a E. coli de CeNp y AgNps

2.7.3 Cuantificación de la actividad antimicrobiana

La técnica de difusión en agar es el método comúnmente empleado para cuantificar la capacidad antimicrobiana de los nanomateriales. La interpretación de resultados está basada en el modelo de difusión simple del antibiótico en el medio. La técnica involucra la aplicación de soluciones de antibióticos en discos de papel absorbente, depositados en la superficie de las placas de agar, sembradas con bacterias. Los antibióticos difunden desde las fuentes hacia el agar, inhibiendo el crecimiento bacteriano, dando lugar a “zonas claras” libres de bacterias. De acuerdo con el tamaño del diámetro del halo de inhibición es posible establecer comparativamente la efectividad de cada antibiótico (Carissimi, 2016:20).

2.8 Degradación de contaminantes orgánicos del agua

La degradación de contaminantes orgánicos en el agua es uno de los temas más estudiados en el campo de la fotocatalisis heterogénea. Ello se debe, por un lado, a la enorme variedad de sustancias orgánicas que llegan a los cuerpos de agua y que son de relevancia ambiental debido a los efectos nocivos que causan a los organismos expuestos. Asimismo, la degradación de compuestos orgánicos en agua es uno de los métodos más empleados para probar el desempeño de los nuevos fotocatalizadores (Durán-Álvarez, Avella, y Zanella, 2015).

2.8.1 Nanopartículas de plata en la degradación de colorantes sintéticos.

Las nanopartículas de plata muestran una actividad catalítica eficiente en una reacción redox porque actúa como el centro de relevo de electrones que se comporta alternativamente como un aceptor y como un donante de electrones. Una transferencia efectiva de electrones es posible cuando el potencial redox del metal es intermedio entre el donante de electrones y el sistema aceptor de electrones (Mallick, Witcomb, and Scurrall, 2006).

2.8.2 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, 2015) o nanopartículas útiles en sistemas de purificación de agua. 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 estilbeno. Dentro de los colorantes sintéticos destacan los del grupo Tiazina, este grupo contiene un anillo de cuatro átomos de carbono, un nitrógeno y un azufre y desde el punto de vista químico se consideran un derivado tiano de la azina, como ejemplo es el azul de metileno (Bautista Suárez, 2011).

2.8.3 Azul de metileno

El colorante azul de metileno en la forma catiónica cuya estructura se muestra en la figura 22, tiene alta solubilidad, brillo y resistencia, que justifican su amplio uso en la industria textil, para la tinción de algodón, seda y madera (Hormaza, Moreno, & Figueroa, 2013). Se utiliza también como una agente anti-malaria y un agente quimioterapéutico. Además, se utiliza en microbiología, cirugía y campo de diagnóstico (Edison & Sethuraman, 2012).

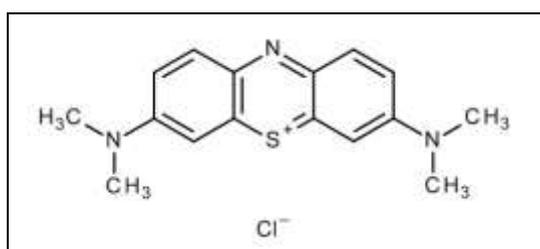


Figura 22: Estructura azul de metileno Fuente: (Hormaza y Suarez Garcia, 2009:333)

Para explicar el mecanismo de degradación de azul de metileno por AgNps obtenida por síntesis verde, es conocido que los iones Ag^+ pueden formar complejos intermedios con grupos OH fenólicos presentes en taninos hidrolizables que posteriormente sufren oxidación a formas de quinona con la consiguiente reducción de Ag^+ a AgNps (Edison y ethuraman, 2012). En la figura 23 observamos la acción catalítica de AgNps entre el extracto de *Terminalia chebula* y el azul de metileno (efecto de retransmisión de electrones).

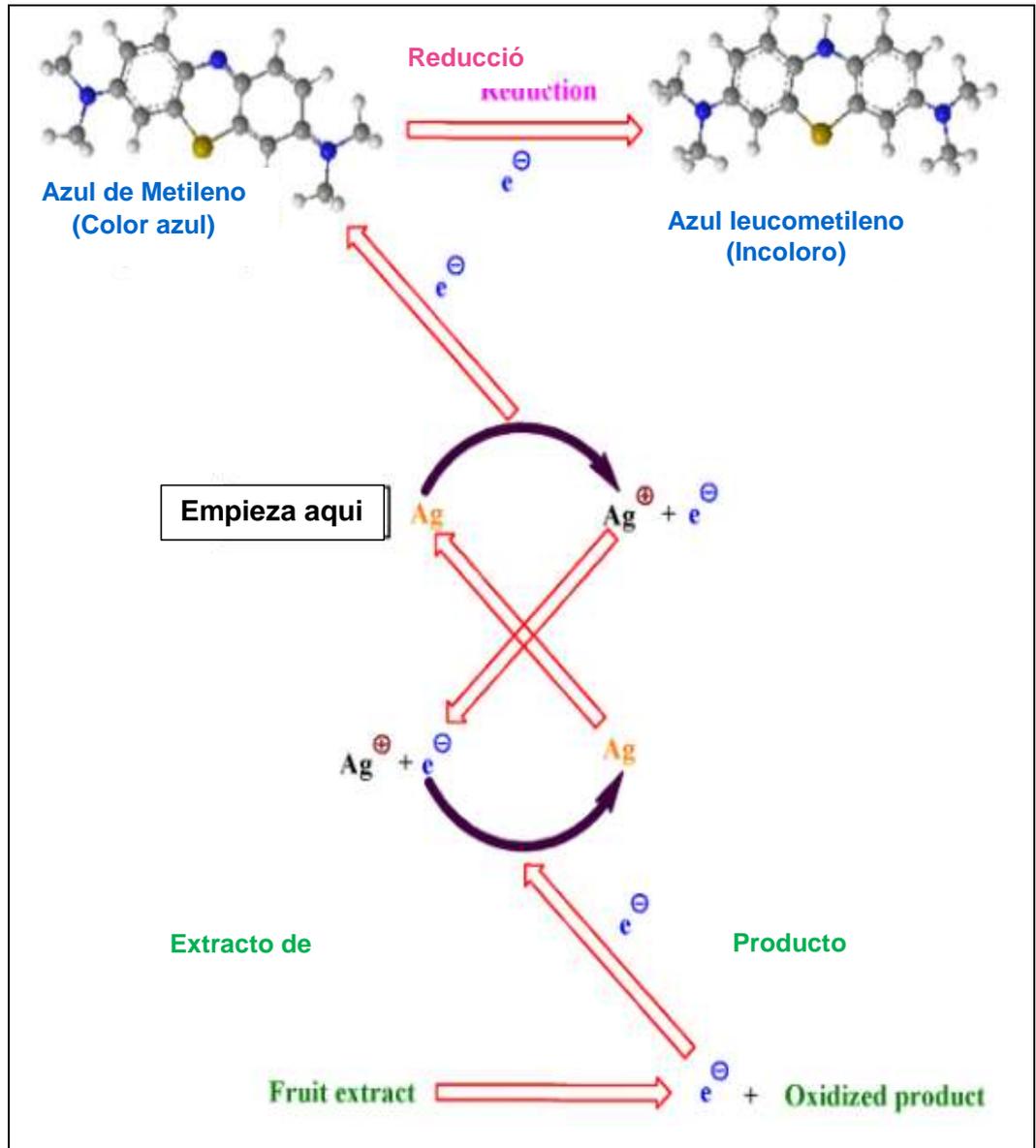


Figura 23: Acció catalítica de AgNps entre el extracto de *Terminalia chebula* y el azul de metileno (efecto de retransmisión de electrones). Fuente: (Edison and ethuraman, 2012)

2.9 Estado del arte

Síntesis Verde de Nanopartículas de Plata

Existe numerosas publicaciones en revistas de impacto debido a que hay tendencia creciente por la viabilidad, biocompatibilidad y por ser económico. A continuación, veremos algunos trabajos más relevantes que se enfocan en la dirección de la presente tesis:

Ronquillo de Jesús et al. (2013) en su trabajo “Síntesis biomimética de nanopartículas de plata utilizando extracto acuoso de nopal (*Opuntia sp.*) y su electrohilado polimérico “sintetizaron AgNps con extracto acuoso de nopal (*Opuntia sp.*) en presencia de polímeros biocompatibles solubles en agua poli (vinil alcohol) [PVA]. Caracterizó las AgNps por espectroscopía UVvisible registrando una absorción a 421 nm. El análisis mediante TEM, mostró la formación de nanopartículas de morfología esférica con un tamaño en el intervalo de 4 nm a 28 nm y un tamaño promedio de 10 nm. La incorporación de AgNps en nanofibras de PVA obtenidas mediante electrohilado fue caracterizada mediante SEM y DRX. El tamaño promedio de diámetro de las nanofibras obtenidas fue de alrededor de 250 nm. La actividad antibacteriana y antifúngica de las AgNps y de AgNps/nanofibras, se evaluó utilizando cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger*. Dentro de sus conclusiones refiere que “las AgNp/nanofibras en concentraciones de 50 ppm, 20 ppm fueron suficientes para inhibir completamente el crecimiento de *E. coli*, *S. aureus* respectivamente y para el hongo *A. Níger* fue de 20 ppm”

Ronquillo de Jesús (2013) en su trabajo “Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata empleando extractos de plantas” presenta los resultados de la síntesis de nanopartículas de plata empleando extracto acuoso de tejocote (*Crataegus gracilior Phipps*). Donde los nanomateriales sintetizados fueron caracterizados mediante técnicas como espectroscopía UV-Vis, FT- IR y TEM. Con los resultados obtenidos de UV-Vis, se confirmó la formación de nanopartículas de plata al término de la reacción. La forma y posición de los picos de absorción máxima hizo suponer la presencia de partículas de morfología preferentemente esferoidal y tamaños relativamente pequeños. Lo anterior se corroboró mediante TEM, ya que se observaron formas esferoidales y una distribución de tamaños de 20-50 nm. Mediante FT-IR se pudo determinar las interacciones entre las nanopartículas de plata y los agentes pasivantes (Ronquillo de Jesús et al. 2013).

Dopado de nanopartículas en arcillas

Dongxu Zhou et.al en 2012 en su trabajo “Las partículas de arcilla desestabilizan las nanopartículas de ingeniería en ambientes acuosos” señala que “dada la ubicuidad de los minerales arcillosos naturales, la interacción más probable de las nanopartículas liberadas en un medio acuático será con minerales arcillosos suspendidos. Así, el transporte de nanopartículas de ingeniería en la subsuperficie y la columna de agua muy probablemente será alterado por su interacción con estos minerales. En sus estudios de las interacciones de dos de las nanopartículas más producidas, Ag y TiO₂, y montmorillonita para determinar cómo la heteroagregación puede alterar la estabilidad de las mezclas de nanopartículas / minerales de arcilla, determinó que a pH bajo la montmorillonita tiene un plano basal cargado negativamente y bordes cargados positivamente, su interacción con estas nanopartículas a pH diferente conduce a comportamientos inusuales. Hay seis interacciones diferentes para cada par de arcilla-nanopartícula. A valores de pH por debajo del punto isoeléctrico de carga (IEP) del sitio de borde de montmorillonita, esta última redujo la estabilidad tanto de Ag cargado negativamente como de las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) cargadas positivamente. Esta coagulación aumentada sólo se produce dentro de un intervalo de fuerza iónica intermedia. El derrame del plano basal eléctrico de doble capa montmorillonita al borde de la montmorillonita puede detectar la atracción electrostática entre Ag⁺ y el borde montmorillonita a baja fuerza iónica, mientras que una repulsión entre TiO₂ y sitios de la cara de montmorillonita puede reestabilizar la mezcla” (Zhou, Abdel-Fattah, and Keller 2012).

Por otro lado, Perez (2016) en su tesis “Revisando los Mecanismos de daño de Arcilla” usa simulaciones de dinámica molecular para investigar los mecanismos subyacentes de la interacción del agua con las montmorillonitas tipo Wyoming, centró su estudio en (1) el proceso de hinchamiento de arcilla para diferentes cationes con la misma carga (Na⁺ y K⁺), y (2) la estabilidad de las estructuras de arcilla bajo la inserción de agua. Las simulaciones muestran que el radio iónico de los cationes y sus energías de hidratación parecen ser los factores críticos que determinan la distribución de cationes y agua molecular en la región de la capa intermedia. Las diferencias en la distribución de cationes son explicación microscópica de por qué la saturación de esmectitas con cationes K⁺ retrasa el daño de arcilla, en comparación con la saturación con cationes Na⁺ (Pérez, 2016).

Kanyar Shameli et.al (2011) en su trabajo “Síntesis de nanopartículas de plata en montmorillonita y su comportamiento antibacteriano” reporta que las nanopartículas de

plata (AgNp) se sintetizaron mediante el método de reducción química en el espacio externo e interlaminar de montmorillonita (MMT) como un soporte sólido a temperatura ambiente. AgNO_3 y NaBH_4 se utilizaron como precursor de plata y agente reductor, respectivamente. Las condiciones experimentales más favorables para sintetizar AgNp en MMT se describen en términos de la concentración inicial de AgNO_3 . Los límites del espacio interlaminar cambiaron poco (espaciado $d = 1.24\text{--}1.47$ nm); por lo tanto, las AgNp se formaron en la suspensión MMT con un promedio de diámetro $d = 4.19\text{--}8.53$ nm. Los nanocompuestos (NC) Ag / MMT, formados a partir de AgNO_3 / Suspensión MMT, fueron caracterizados con diferentes instrumentos, por ejemplo, UV-Visible, PXRD, TEM, SEM, EDXRF, FT-IR y analizador ICP-OES. La actividad antibacteriana de diferentes tamaños de AgNp en MMT se investigó contra bacterias Gram-positiva, es decir, *Staphylococcus aureus* resistente a la *meticilina* (MRSA) y bacterias Gram-negativas, es decir, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157: H7, y *Klebsiella pneumoniae*, por el método de difusión en disco utilizando agar Mueller-Hinton (MHA). Se encontró que las AgNp más pequeñas tenían una actividad antibacteriana significativamente mayor. Estos resultados mostraron que las AgNp pueden usarse como inhibidores de crecimiento efectivos en diferentes sistemas biológicos, haciéndolos aplicables a aplicaciones médicas (Shameli et al., 2011).

Cheviron Perrine et.al. (2016) en su trabajo "Preparación, caracterización y propiedades de barrera de las películas de nanocompuestos de plata / montmorillonita / almidón" informa sobre la preparación de películas de nanocompuestos basadas en una matriz biodegradable natural (almidón de patata natural) y los nanofillers eran nanopartículas de plata (AgNps) y una montmorillonita natural (MMT). Las AgNps se prepararon mediante un método *ex situ* o *in situ*. Se investigó la influencia del método de preparación de AgNps y la presencia de MMT en la estructura, morfología, absorción de agua y propiedades de barrera al oxígeno de las películas de nanocompuestos. Dos poblaciones de AgNps distintas en tamaño se destacaron del método *ex situ*, mientras que una población se destacó del método *in situ*. AgNps cristalinos se obtuvieron sólo por el método *in situ*. La adición de MMT no modificó drásticamente el tamaño promedio y la distribución del tamaño de los AgNps a pesar de la presencia de algunos grupos de AgNps en las proximidades de las capas laminares de MMT. Los AgNps formados *in situ* tuvieron un papel predominante en las propiedades de barrera al oxígeno con una mejora del 90% independientemente de la presencia de MMT para la actividad del agua igual a 0.45. Esta mejora significativa se relacionó principalmente con la estructura cristalina de las AgNps y la interfaz cohesiva entre las AgNps y la matriz de polímero de almidón. El efecto de sinergismo de las AgNps y MMT que conduce a una mejoría del 65% para un $w = 0.45$, se observó cuando las AgNps fueron preparados por el Método *ex situ* y se relacionó con la

intercalación de AgNps entre las capas laminares de MMT, lo que llevó a mejorar la dispersión de MMT dentro de la matriz del polímero.(Cheviron, Gouanvé, and Espuche, 2016)

Anasuya Roy et.al. (2017) en su artículo “Síntesis, caracterización y propiedades antibacterianas de la nueva montmorillonita activada con ácido cargada con nano-plata” informa sobre la síntesis, caracterización y propiedades antibacterianas de una nueva montmorillonita intercambiada con plata (Ag-MMT) sintetizada a partir de la montmorillonita sódica activada con ácido (Na-MMT). Las nanoestructuras cargadas de plata (Ag-MMT) se sintetizaron en un enfoque de dos pasos en el que la Na-MMT se convirtió primero en Na-MMT activada con ácido y se trató más con dos concentraciones de solución de nitrato de plata para obtener dos tipos de Ag activada con ácido. Ag-MMT para comparación, Ag-MMT sin la etapa de activación ácida y nanopartículas de plata isotrópicas. El EDX confirmó que la carga exitosa de plata elemental en todos los tipos de análisis Ag-MMT y DRX mostró una estructura cristalina sin perturbaciones con un mayor espacio entre capas en comparación con Na-MMT. Las micrografías de TEM revelaron la formación de nanocristales esféricos de plata en las capas de silicato de soporte, aunque no se empleó ningún agente reductor externo debido al alto potencial de reducción de los iones de plata. Los resultados se confirmaron aún más en la espectroscopía UV, en la que las bandas de absorción fuerte relacionadas con el plasmón de superficie (SPR). La eficacia bactericida de los minerales arcillosos se evaluó contra las bacterias gran negativas *Escherichia coli* y las bacterias gran positivas *Staphylococcus aureus* utilizando un método de difusión en disco que mostró excelentes propiedades inhibitorias y grandes zonas de inhibición de todas las Ag-MMT sintetizadas. La concentración inhibitoria mínima (CIM) de los minerales arcillosos también se cuantificó y comparó con las nanopartículas isotrópicas de plata sintetizadas. La Ag-MMT activada con ácido mostró una actividad antimicrobiana ligeramente inferior a las nanopartículas de plata solas, aunque el contenido de plata fue ~ 10 veces más bajo que el AgNp. Este agente antibacteriano es, por lo tanto, muy efectivo y más atractivo en términos de costo y naturaleza amigable con el medio ambiente (Roy, Butola, and Joshi, 2017).

Kumar Varun y colaboradores (2019) en su trabajo “A comparative study of chemically synthesized and *Camellia sinensis* leaf extract-mediated silver nanoparticles” reportan que las AgNps, se sintetizaron utilizando un extracto acuoso de té verde como agente estabilizador y reductor, que se caracterizaron por DLS, UV-Vis y SEM. Así como se evaluaron para determinar la actividad antimicrobiana y la degradación del colorante fotocatalítico. Los AgNps mostraron actividad antibacteriana contra *E. coli*, *S. aureus* y *S. pyogenes*. Con zona de inhibición de 6 mm, 5 mm y 8 mm, respectivamente. Su trabajo

también se centró en la degradación del azul de metileno en solución acuosa utilizando AgNps como catalizador que muestra un 65% de degradación del colorante. Se observó un pico de absorbancia de 427-437 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis. El estudio demuestra que los AgNps muestran una potente actividad antimicrobiana contra bacterias patógenas. A temperatura ambiente, los AgNps poseen una actividad catalítica rápida, efectiva y constante en la degradación de los colorantes orgánicos catiónicos. La alta actividad catalítica de los AgNps se puede emplear en industrias y purificación de agua (Kumar et al., 2019).

Patentes

En el State Intellectual Property Office of THR P.R.C., se ha registrado la patente de "*Composición que comprende silicatos de aluminio y nanopartículas de plata como bactericidas*" que se refiere a una composición de un nanocompuesto o polvo nanoestructurado que comprende un silicato de aluminio (caolín, metacaolin y montmorillonita en diferentes proporciones) y nanopartículas de plata (a partir de una sal precursora y borohidruro de sodio como reductor) que mide menos de 50 nm distribuidos sobre su superficie, con variación de pH de 6, 8 a 9. La invención también se refiere al uso de dicha composición como bactericida y a un método de producción de la misma (Moya, 2011).

III. CAPITULO: HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1 Hipótesis

Las AgNps sintetizadas con extractos de té verde y desechos de té rubio, así como el compuesto Ag/Chak'ó-reductores óptimos presentan actividad antibacteriana frente a *E. Coli* y de degradación catalítica frente a Azul de Metileno.

3.2 Identificación de variables e identificadores

Las etapas en las que se dividió la tesis determinan las variables que participarán en el mismo, la primera etapa será la síntesis de AgNps usando como agente reductor un extracto acuoso (Te verde y desechos de té rubio), evaluando por espectroscopía UV-Vis, y ver la influencia de la luz solar debido a que el agente precursor es fotosensible.

También se sintetizará AgNp dopadas en matriz de arcilla, primero en PILC-Al y fracción arcilla homoionizada de Arcilla Chak'ó sin extracto acuoso y con extracto acuoso. Para verificar la síntesis y llegar a los parámetros óptimos, se realizará un seguimiento por espectroscopía UV-Visible.

La segunda etapa consiste en la caracterización morfológica, composicional y estructural de las nanopartículas.

La tercera etapa se centró en la evaluación del efecto antibacterial y de degradación catalítica principalmente del composite Ag/arcilla frente a la bacteria *E. Coli* y azul de metileno respectivamente.

En la Tabla 8, se muestra la operacionalización de estas variables, de acuerdo a las etapas en que se dividió la investigación.

- 1) Síntesis de las nanopartículas de plata: En esta etapa del proceso, la variable independiente es la concentración de precursor de AgNO_3 , el cual se usó en concentraciones de 1, 10, y 100 mM, manteniendo constante un volumen de 2.5 mL del extracto acuoso de Té Verde adicionado durante la reacción; también se considera variable independiente a la matriz (fracción arcilla Chak'ó homoionizada con Na). Como variables dependientes se encuentran la longitud de onda y el

tamaño hidrodinámico de las nanopartículas sintetizadas, correspondientes al plasmón superficial y a la distribución de tamaño, respectivamente.

- 2) Evaluación del efecto antibacterial: El efecto antibacterial de las nanopartículas de plata dispersas en arcilla sódica (compuesto Ag/arcilla) sobre la bacteria *E. coli* se determinará siguiendo el procedimiento descrito por Kirby Bauer. Para esto, se seleccionaron como variables independientes las nanopartículas de plata sintetizadas y el tiempo de contacto del composite Ag/arcilla con la bacteria *E. Coli*, a 24 h. Como variable dependiente se encuentra el tamaño del halo de inhibición (mm), correspondiente al área donde se evidencia el efecto antibacterial.

Para la evaluación de la degradación catalítica frente a azul de metileno, se considera como variable independiente a las nanopartículas de plata sintetizadas y como variable dependiente la absorbancia característica del azul de metileno en contacto con las nanopartículas de plata a diferentes tiempos de contacto, a pH y temperaturas constantes.

Tabla 7: Principales variables de la investigación.

VARIABLE		INDICADOR	TIPO
1.- Condiciones experimenta les de síntesis	Obtención de NpsAg en extracto acuoso	Tiempo de agitación	independiente
		pH	independiente
		Temperatura	independiente
		Concentración de AgNO ₃	independiente
		Metabolitos secundarios presentes en extracto acuoso	independiente
	Dopado de AgNp en matriz arcilla	Tamaño y forma de AgNp	dependiente
		Tiempo de agitación	independiente
		pH	independiente
		Temperatura	independiente
		Concentración AgNp	independiente
2.- Condiciones experimenta les para capacidad antibacterial y catalítica	Frente a <i>E. Coli</i>	Mineralogía de arcilla	independiente
		Cantidad de AgNps en arcilla	dependiente
	Frente a Azul de Metileno	Ag NPs sintetizadas	independiente
		Presencia del halo de inhibición formado alrededor de los discos conteniendo los diferentes tipos de AgNp	dependiente
		AgNps sintetizadas	independiente
		Absorbancia de solución de Azul de Metileno con AgNp como catalizador.	dependiente

3.3 Operacionalización de variables

En la siguiente tabla se muestra la operacionalización de variables.

Tabla 8: *Operacionalización de variables*

ETAPAS	SUB ETAPAS	TIPO DE VARIABLE	VARIABLE	DEFINICIÓN	INDICADOR	ESCALA	CATEGORÍA
ETAPA 1 (Síntesis de nanopartículas de plata)	Obtención de Ag NPs	Independiente	Concentración	Solución de AgNO ₃ usado en la síntesis de las nanopartículas de plata	0.05	Numérica	M
		Dependiente	Tamaño	Tamaño de partícula 10 a 100 nm	Promedio de tamaño de partícula de AgNp	Numérica	nm
			Forma	Aglomerados con formas definidas y estables	Presencia de una o varias formas	Nominal	Uniforme Poliforme
		Interviniente	Tiempo de reacción	Tiempo en el cual se da la reacción de la síntesis de nanopartículas	Cambio de coloración de solución.	Constante	min
			Temperatura	Temperatura de reacción de la síntesis	Cambio de coloración de solución.	Constante	°C
			Extracto acuoso	Cantidad de extracto acuoso al utilizado para la síntesis	Extracto Acuoso Té Verde	Numérica	mL
					Extracto Acuoso desechos de Té Rubio	Numérica	mL
			Luz solar	Fotosensibilidad de la solución precursora (AgNO ₃)	Formación de espejo de plata (indicativo de presencia de AgO)	Nominal	Ausente Presente
		Dopado en la matriz Piloc-Al	Independiente	Concentración	Cantidad de arcilla- sódica dispersadas en agua	Relación masa(arcilla)/volumen (agua)	Numérica
	Concentración			Cantidad de AlCl ₃ .6H ₂ O, NaOH y HCl para formación de polihidroxidaciones de aluminio	cantidad de AlCl ₃ .6H ₂ O, NaOH y HCl	Numérica	M
	AgNO ₃			Cantidad de Ag ⁺ en solución precursora	Concentración molar	Numérica	M

E TAPA 2 : APLICACI ON	E TAPA 2.1 (Efecto antibacteri	Síntesis on-pot Ag/arcilla-Té	Dependiente	AgNps	Cantidad de AgNps en la matriz de arcilla-Al	Concentración	Numérica	%atomos
			Interviniente	Temperatura de reacción	constante	constante	Numérica	60°C
				Tiempo de contacto	constante	constante	Numérica	horas
				pH	constante	constante	Numérica	6-6.5
				Temperatura de consolidación	Por acción de la temperatura se formará pilc-AL/Ag	constante	Numérica	de 80°C a 400°C
	Independiente	AgNO ₃	Cantidad de Ag ⁺ en solución precursora	Concentración molar	Numérica	M		
		Fracción arcilla homoionizada - Chak'o	Cantidad de arcilla dispersada en agua	concentración	Numérica	%		
		Extracto acuoso de Té Verde	Solución acuosa con metabolitos que tendrán la función reductora y/o estabilizante de las nanopartículas	concentración	Numérica	%		
	Dependiente	AgNps	Cantidad de AgNps en la matriz de arcilla	Concentración	Numérica	%atomos		
	Interviniente	Temperatura	Temperatura de reacción	Grados centígrados	constante	60°C		
		Tiempo	Tiempo de contacto para la síntesis	horas	constante	24 horas		
		pH	Potencial de hidrogenión de acuerdo a la adición de HCl y NaOH	pH	Nominal	Acido Básico		
	Independiente	AgNps	Nanopartículas de plata de diferente origen de síntesis	AgNp TV	Nominal	Presente		
				AgNp TR	Nominal	Ausente		

							Ausente
					Ag/arcilla	Nominal	Presente
							Ausente
					Ag/arcilla-TV-ácido	Nominal	Presente
							Ausente
					Ag/arcilla-TV básico	Nominal	Presente
			Ausente				
	ETAPA 2.2 (Efecto Catalítico)	Dependiente	Efectividad antibacteriana	Inhibición en el desarrollo o crecimiento de las bacterias debido a la presencia de los diferentes tipos de AgNps	Presencia del halo de inhibición formado alrededor de los discos conteniendo los diferentes tipos de AgNps	Numérica	Milímetros
		Independiente	AgNps	Nanopartículas de plata de diferente origen de síntesis	AgNp TV	Nominal	Presente
							Ausente
					AgNp TR	Nominal	Presente
							Ausente
Ag/arcilla					Nominal	Presente	
	Ausente						
Ag/arcilla-TV-ácido	Nominal	Presente					
		Ausente					
Ag/arcilla-TV básico	Nominal	Presente					
		Ausente					

		Dependiente	Efectividad Catalítica	Degradación del colorante azoico debido a la actividad catalítica de los diferentes tipos de AgNps	Absorbancia de solución de Azul de Metileno con AgNp como catalizador.	Numérica	Absorbancia en λ característica
--	--	-------------	------------------------	--	--	----------	---

IV. CAPITULO: METODOLOGÍA

4.1 Nivel de investigación

Investigación Aplicada

4.2 Tipo de investigación

Investigación experimental

4.3 Muestra

Para la síntesis de nanopartículas se utilizarán las siguientes muestras:

- A. Té verde *Camelia Sinensis*, producto de consumo alimentario adquirido de un supermercado local, producido en el sector de Huayopata-La Convención Cusco.
- B. Desechos de Té rubio, cortesía de la Central de Cooperativas Té Huyro- La Convención Cusco.
- C. Fracción arcilla Chak'ó blanco homoionizada con sodio, preparada en el Laboratorio de Catálisis y Adsorbentes – UNSSAC.

4.4 Materiales y reactivos

Materiales de vidrio

- Probetas (25, 50, 100 mL)
- Matraces (20, 50 y 100 mL)
- Pipetas (1, 2, 5 y 10 mL)
- Fiolas (10, 25 y 100 mL)
- Embudos.
- Baguetas

Equipos:

- Balanza analítica, marca A&D Company - Kessell, modelo FX200 con precisión de 1 ± 0.1 mg, max 210 g.
- Estufa Memmert modelo 854 de 0°C a 300°C
- Mufla Furnace, modelo 1400, de 0 a 1100 °C, de 1° a 1°.
- pH metro Hanna modelo 213
- Plancha de calentamiento, IKA-WERKE modelo RH basic 2 (de 0 a 300°C, de 100 a 3000 r.p.m.)
- Supercentrifuga, Z-G Germany de 0 a 8000 r.p.m.
- Difractometro de Rayos X: Philips, Modelo: XPERT PRO y SHIMATZU-MODELO XRD 6000.

- Espectrofotometro de Fluorescencia de Rayos X. Thermo Scientific Modelo XL3T 950 GOLD
- Equipo de Análisis Térmico Diferencial.
- Microscópio Electrónico de barrido (SEM) JEOL JSM 6300
- Microscópio Electrónico de Transmisión (TEM) JEOL JEM 2100
- Espectrometro UV- visible, Thermo Electron UV-Visible
- Espectrometro FT-IR: Shimatsu
- Espectrometro FTIR: Reflectancia total atenuada (ATR)

Reactivos

- Agua Desionizada
- Agua Destilada
- AgNO₃ (1, 0.1, 0.01 M)
- NaOH (1%)
- HCL [HCl (1%)]
- Agua Regia

Material Biológico

- Cepa *E. Coli* ATCC
- Medio de cultivo Agar Muller Hilton
- Fracción arcilla homoionizada sódica, sintetizada en el Laboratorio de Catálisis y Adsorbentes de la Universidad Nacional de San Antonio Aban del Cusco (UNSAAC).
- Té Verde comercial Huayopapa – La Convención Cusco.
- Desechos de la fabricación de Té Rubio- Fabrica Té -Huyro-La Convención Cusco.

4.5 Metodología

El trabajo experimental consistió en las siguientes etapas (figura 24):

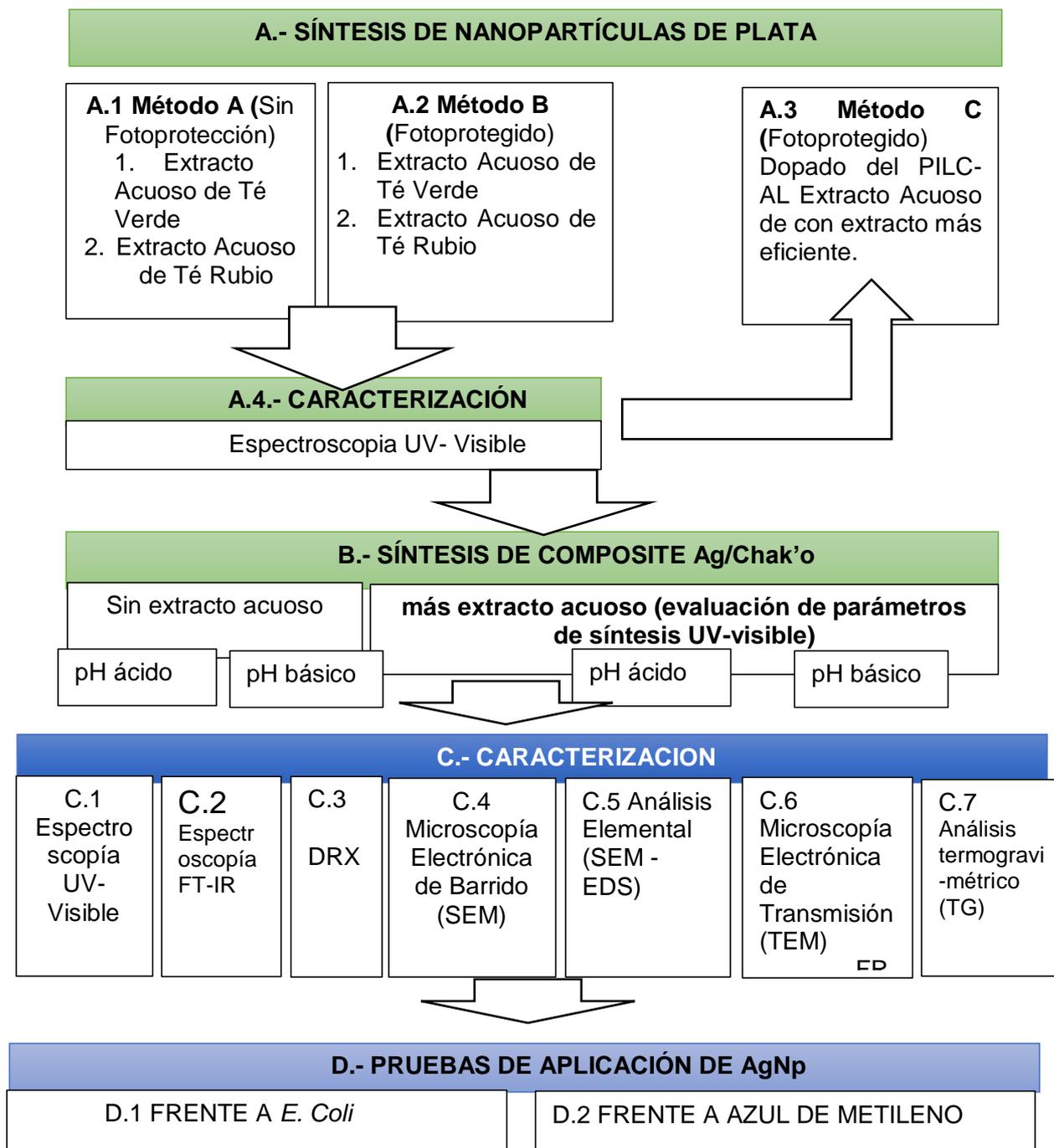


Figura 24: Diagrama de etapas del trabajo experimental

4.6 Consideraciones generales parte experimental

- Todo el material de vidrio fué previamente lavado con una mezcla de agua regia HCl/HNO₃ (1:3 V/V), por unos minutos y posteriormente enjuagado con agua desionizada.
- Se prepararon soluciones acuosas de AgNO₃, NaOH, HCl, AlCl₃.6H₂O que se usaron inmediatamente para evitar la hidrólisis de los reactivos.

- EL AgNO_3 no sufrió ningún tratamiento previo de purificación y se usó directamente.
- La fracción arcilla Chak'o homoionizada fue previamente desecada a 100°C , por 1 h.

4.7 Procedimiento A.1

Métodos: La reducción química de sales de metales de transición en presencia de agentes estabilizadores se desarrollo de acuerdo a los siguientes pasos (ver figura 25).



Figura 25: Diagrama reducción química de sales de metales de transición en presencia de agentes estabilizadores.

4.7.1 Pruebas iniciales de síntesis de AgNp con extractos acuosos

Método 1 y 2

- Fundamento:** El mecanismo de formación de nanopartículas se basa primordialmente, en la reducción de la sal metálica al átomo cerovalente y seguidamente, estos átomos actúan como centros de nucleación dando lugar a la formación de clúster cuyo crecimiento continuará a medida que se sigan agregando los átomos, formándose así, partículas de mayor tamaño y formas poliédricas más complejas. No obstante, es necesario estabilizar las partículas mediante la envoltura de moléculas o “agentes” estabilizadores (polímeros generalmente) que se adsorben en su superficie, inhibiendo de esta manera el proceso de aglomeración o sinterización (Sifontes 2015:1) .

b. Procedimiento. – Té verde

Preparación de extracto acuoso

Se pesó 25 g de muestra seca (tpe verde comercial) y se aforo a 250 mL, a 80°C en baño maría por 5 min.

Despues de 24 h. de contacto, a 4°C, se filtró el extracto acuoso en papel filtro.

Preparación de solución madre de AgNO₃

Se preparó 100 mL de AgNO₃ 5 mM con agua desionizada y en un medio estéril.

Biosíntesis de AgNps

Se mezcló 90 mL de AgNO₃ 5 mM con 10 mL de extracto acuoso al 100% por 5 minutos, a temperatura ambiente.

Se dejó en reposo por 24 h.

Se centrifugó por 3 veces, a 15000 rpm, por 10 min., para luego redispersarlas en agua desionizada, y caracterizar por Espectroscopía UV-Vis.

c. Procedimiento. – Desechos Té rubio

Preparación de extracto Acuoso

Se pesó 5 g de muestra seca (desechos de la fabricación de té rubio) y se aforó a 150 mL, a 80°C, en baño isotérmico por 5 min.

Se reservó por 24 h. a 4°C, para luego filtrar.

Preparación de solución madre de AgNO₃

Se preparó 100 mL de AgNO₃ 5 mM con agua desionizada y en un medio estéril.

Biosíntesis de AgNps

Se mezcló 90 mL de AgNO₃ 5 mM con 10 mL de extracto acuoso al 100% por 5 min, a temperatura ambiente.

Se dejó en reposo por 24 h.

Se centrifugo por 3 veces a 15000 rpm por 10 min, para luego redispersarlas en agua desionizada, y caracterizar por Espectroscopía UV-Vis.

Las que se siguieron con UV- Vis después de 24 h. (se aprecia modificación de los picos desde 200 nm a 327 nm (se corroboró la ausencia de iones de Ag con NaCl).

Después de 48 horas no mostraba cambios significativos, por lo que se adiciono NaOH (0.1 M) hasta pH 12. Dejándolo por 72 h. más, luego de la cual se midió la absorbancia.

4.7.2 Procedimiento método C- Dopado de AgNp en matriz de Pilc-Al de arcilla Chak'o

Se procedió de acuerdo a la figura 26.

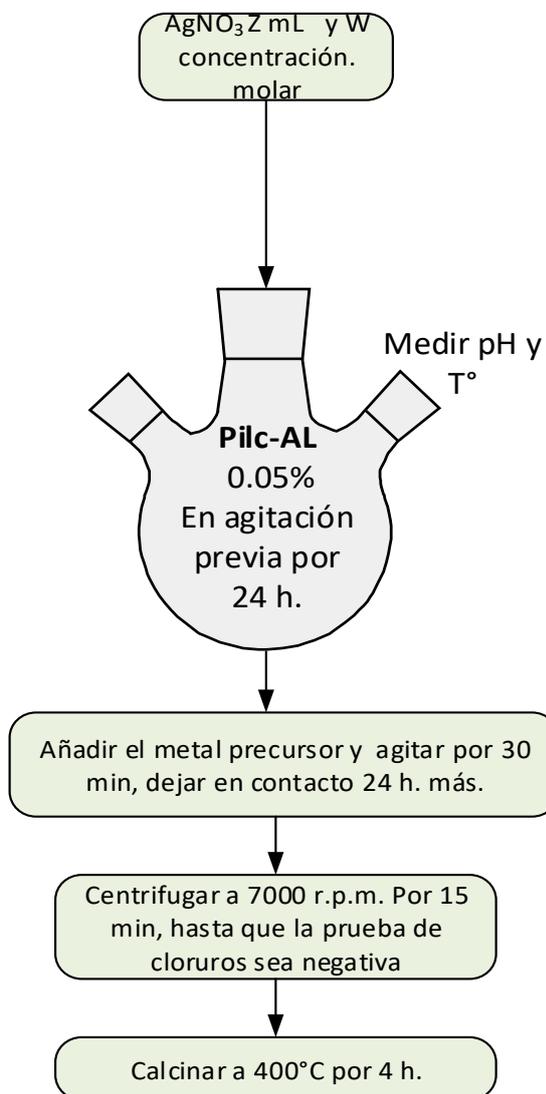


Figura 26: Diagrama dopado de AgNp en matriz PILC-AL de arcilla Chak'o. Elaboración propia.

4.7.3 Dopado de AgNp en matriz de arcilla Chak'o

Sin extracto acuoso a pH ácido y pH básico, se siguieron los pasos detallados en la figura 27.

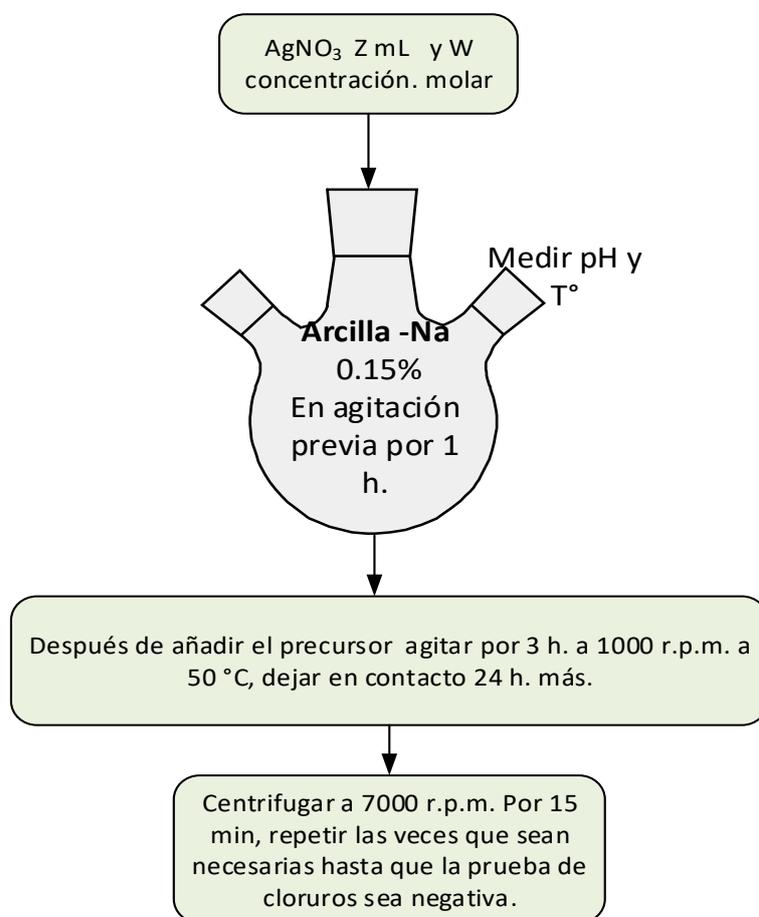


Figura 27: Síntesis en un solo paso - dopado de AgNp en matriz de arcilla Chak'o + extracto acuoso.

4.1.1 Síntesis en un solo paso - dopado de AgNp en matriz de CB-Na extracto acuoso, variando pH (ácido y básico)

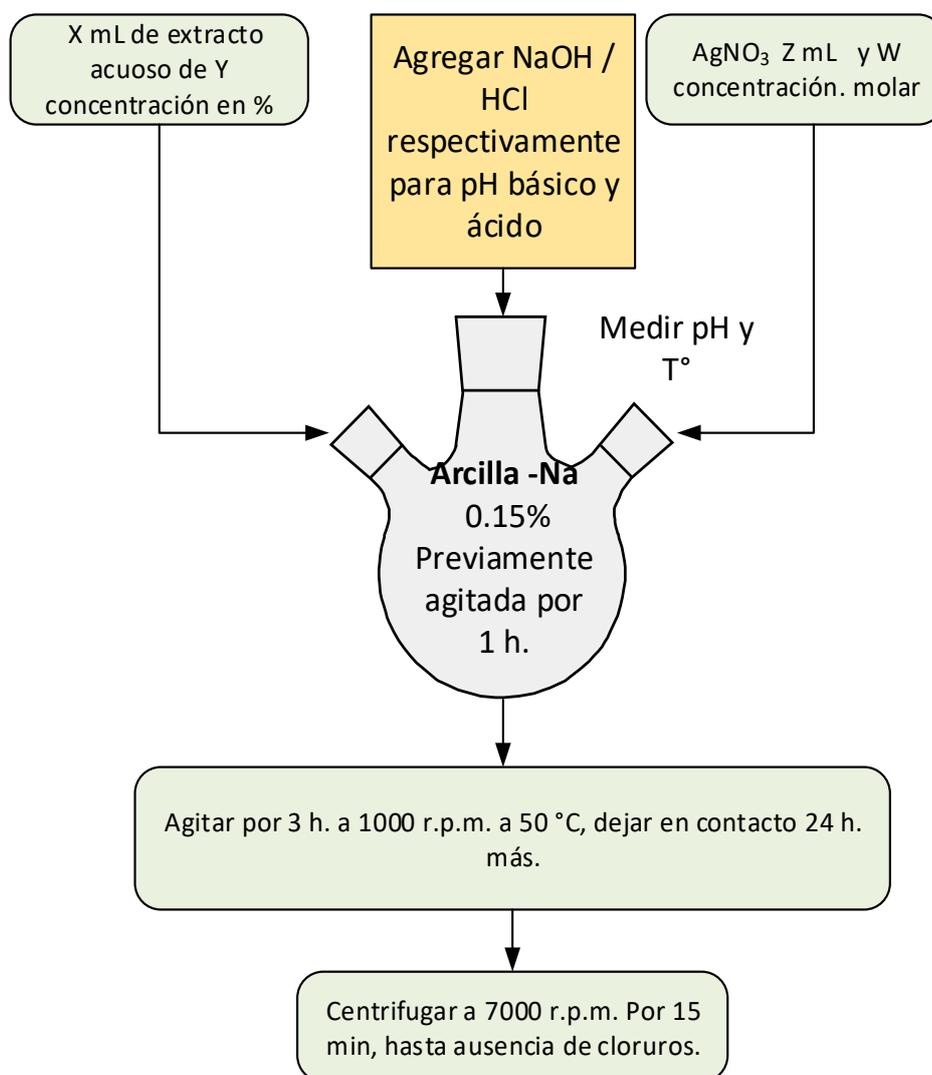


Figura 28: Diagrama síntesis on pot - dopado de AgNp en matriz de CB-Na + extracto acuoso, variando pH con adición de NaOH y HCl.

4.8 Variación de parámetros de síntesis:

Se codificaron las muestras como S1, S2, S3 y S4, donde se varió la concentración de la sal metálica precursora, manteniendo los demás parámetros constantes, (tabla 9):

Tabla 9: Condiciones para la variación de concentración precursor metálico.

Código	AgNO ₃		Extracto acuoso		CB-Na	
	Vol.,mL	Conc. M = X	Vol. mL	Conc. %	Peso, g.	H ₂ O, mL
S1	2	1	5	100	0.15	20
S2	2	0.1	5	100	0.15	20
S3	2	0.01	5	100	0.15	20
S4	2	0.001	5	100	0.15	20

Se varió la concentración del AgNO₃ desde 1 M a 0.001 M, el que resultó con las mejores características tomó el valor de "X".

4.8.1 Efecto de la relación arcilla/Ag⁺

Tomando en consideración los resultados del seguimiento de formación y estabilidad por espectroscopía Uv Visible se tomó como concentración óptima de AgNO₃, manteniendo los demás parámetros constantes, en las condiciones mostradas en la tabla 10.

Tabla 10: Condiciones para la variación de relación arcilla/Ag⁺

Código	AgNO ₃		Extracto acuoso		CB-Na	
	Vol.,mL	Conc. M	Vol. mL	Conc. %	peso g.=Y	H ₂ O, mL
S5	2	X	5	100	0.05	20
S6	2	X	5	100	0.10	20
	2	X	5	100	0.15	20
S7	2	X	5	100	0.20	20
S8	2	X	5	100	1.00	20

Se varió el peso de la fracción arcilla desde 0.05 g a 1 g, el que tuvo mejores características tomó el valor de "Y".

4.8.2 **Efecto de la concentración del reductor:** como observamos en la tabla 11, se procedió a variar la concentración en % del agente reductor desde 100 a 25%.

Tabla 11: Condiciones para la variación de la concentración del reductor.

Código	AgNO ₃		Extracto acuoso		CB-Na	
	Vol.,mL	Conc., M	Vol., mL	Conc. %=Z	Peso, g.	vol. H ₂ O, mL
S9	2	X	5	100	Y	20
S10	2	X	5	75	Y	20
S11	2	X	5	50	Y	20
S12	2	X	5	25	Y	20

4.8.3 Efecto del pH

Se tomó como referencia los pHs de la arcilla Chágo homoionizada al 1% y del extracto acuoso al 100%, en las condiciones expuestas en la tabla 12.

Tabla 12: Condiciones para la variación de pH

Código	AgNO ₃		Extracto acuoso		CB-Na		pH inicial	pH final
	Vol.,mL	Conc., M	Vol.,mL	Conc., %	peso, g.	vol. H ₂ O, mL		
S13	2	x	5	z	y	20		
S14	2	x	5	z	y	20		
S15	2	x	5	z	y	20		
S16	2	x	5	z	y	20		

Los valores X, Y, Z y los pH nos dieron las mejores condiciones de síntesis.

4.9 Pruebas de aplicación de nanopartículas de plata sintetizadas para descontaminación de agua

4.9.1 Frente a *E. Coli*:

Método de la placa-disco-cultivo, con placas controladas a 37 grados centígrados por 24 h, recientemente inoculadas, con cepa certificada ATCC 51813 *E. Coli*. De acuerdo al procedimiento descrito en la figura 29.

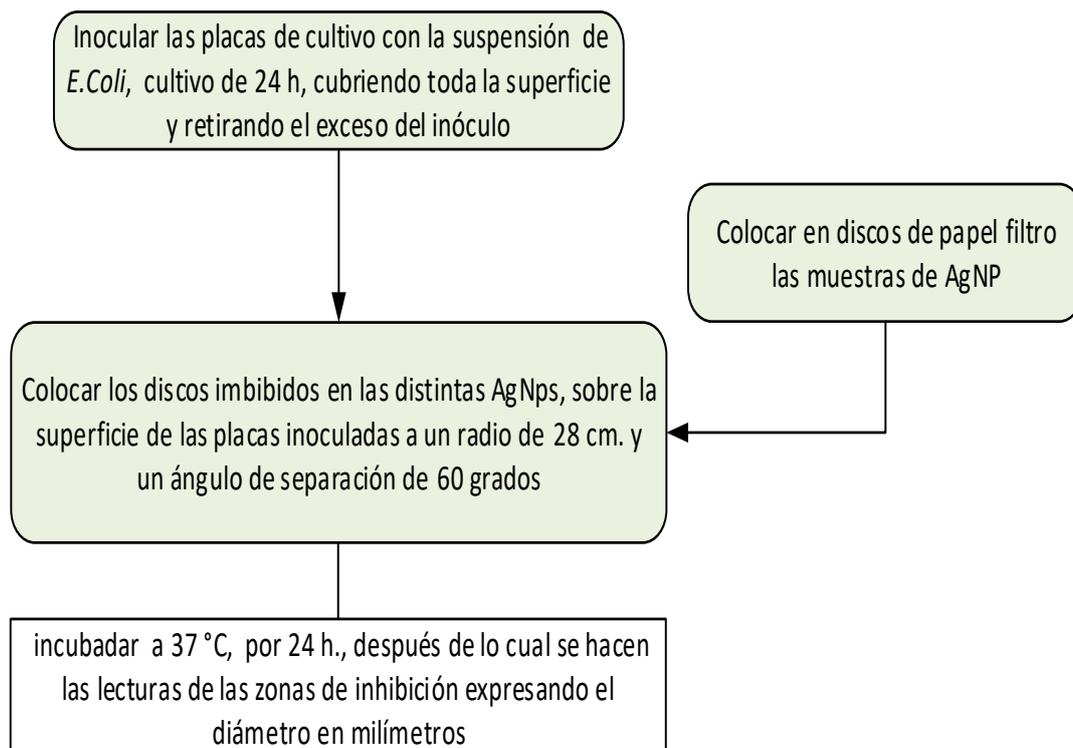


Figura 29: Diagrama de método de la placa-disco-cultivo para determinación de capacidad antibacterial.

4.10 Evaluación del efecto de AgNps sintetizadas en la reducción de azul de metileno

Para evaluar la actividad catalítica de las AgNp sintetizadas, se llevaron a cabo dos reacciones en una cubeta de cuarzo de 2 mL de capacidad y se monitorizaron los valores de absorbancia utilizando el espectrofotómetro UV-Vis en el rango de 300 a 750 nm.

En la primera reacción, se mezcló 1 mL de azul de metileno (10 ppm) con 1 mL de agua destilada esta reacción se controló después de 30 min (I). En la segunda reacción, se mezcló 1 mL de azul de metileno (10 ppm) con 0.2 mL de AgNp sintetizadas y esta reacción se controló a 15, 20, 30, 45 y 60 minutos (II). En todas las reacciones, el volumen total de la mezcla se completó hasta 2 mL. Se compararon los valores de absorción máxima (λ max) con el del azul de metileno. El procedimiento esquemático de las dos reacciones se representan en la figura 30 y tabla 13.

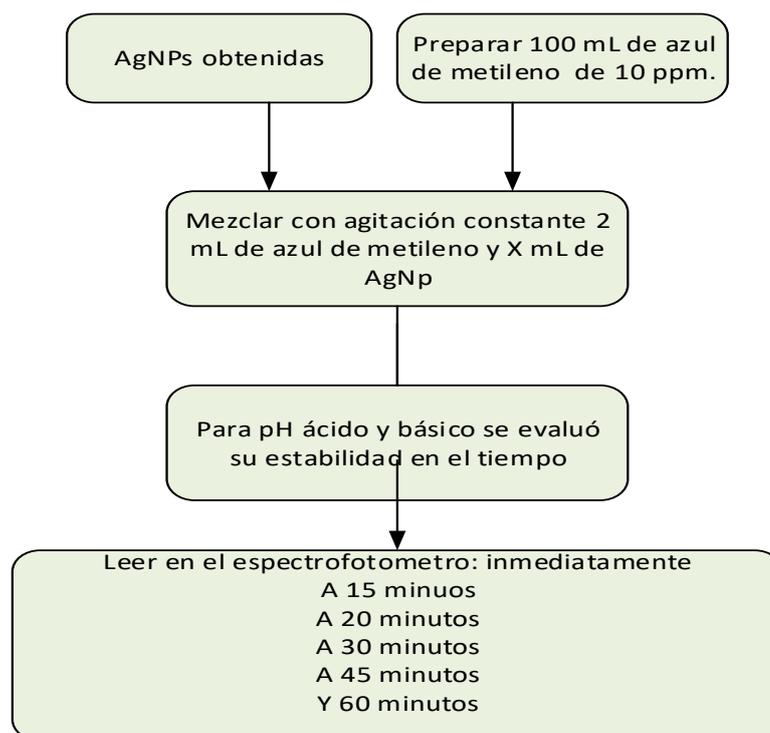


Figura 30: Diagrama de ensayo de capacidad catalítica de AgNps con AM.

Tabla 13: Distribución de evaluación de las AgNps sintetizadas para azul de metileno.

	Azul de Metileno		H ₂ O	AgNp1	AgNp2	AgNp3	AgNpn
	Vol.mL	Conc. Ppm	Vol. mL					
1	1	10	1	X gotas				
2	1	10	1		X gotas			
3	1	10	1			X gotas		
4	1	10	1					
5	1	10	1					
6	1	10	1					
7	1	10	1					X gotas

4.11 Consideraciones para la caracterización

Consideraciones previas al análisis SEM, TEM y STEM-DF MAPPING

a. Análisis por microscopía electrónica de barrido y energía dispersa:

Esparcir polvo sobre el porta muestras de aluminio con doble cinta de carbono

Recubrir con capa de 15 nm de carbono. Secar en vacío.

Analizar con microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 6300, a 20 kV de aceleración de electrones y detector Oxford para espectrometría por dispersión de rayos X.

Se realizó el análisis elemental en al menos 3 regiones diferentes de cada muestra a 1000 aumentos. Aquellos elementos que solo se encontraban en una réplica fueron descartados (además estos elementos eran trazas no significativas).

Los elementos con % atómico menor de 1 fueron evaluados a su desviación estándar, que no sea elevada.

b. Microscopía electrónica de transmisión

El tamaño y la morfología de las nanopartículas de plata fueron examinados empleando un microscopio electrónico de transmisión JEOL JEM 2100. Las muestras fueron preparadas colocando una gota de las soluciones coloidales de nanopartículas sobre una rejilla de cobre con recubrimiento de carbono de 200 mesh. Las micrografías se obtuvieron utilizando una potencia de 60kV. El tamaño promedio y la distribución de tamaño se obtuvieron al analizar 150 partículas aproximadamente, empleando el software Photo Impact 11 (Ulead Systems, EE.UU.).

Diluir la solución o disolver en agua en caso necesario

- Aplicar una gota de 2 µl sobre rejilla de 3mm de Cu recubierta de Formvar-Carbón.
- Secar en vacío
- Analizar con microscopio electrónico de transmisión JEOL JEM 2100 a 200 kV de aceleración de electrones y detector Oxford para espectrometría por dispersión de rayos X.

Se realizó el análisis elemental mediante microscopía electrónica de barrido de transmisión con campo oscuro (STEM-DF) en al menos 3 regiones diferentes de cada muestra a 100-150k aumentos. Aquellos elementos que solo se encuentren en una réplica son descartados (además estos elementos son trazas no significativas).

Consideraciones para la caracterización por **DRX**:

La estructura cristalina, espaciado d de capa intermedia del componente mayoritario de la fracción arcilla Chak'o (montmorillonita) se evaluaron por DRX, a fin de conocer los arreglos atómicos.

Las muestras fueron analizadas en el laboratorio MATMOL de la Universidad La Laguna – España.

Las técnicas de DRX se utilizaron para la obtención de los difratogramas de rayos X de los nanocomposites conteniendo NpsAg. Se utilizó el equipo DRX Shimadzu-6000. Las muestras de las películas se colocaron en un soporte de vidrio estándar para ser introducidos en la cámara de generación de rayos X sob tensión de aceleración de 45 kV, con corriente de 40 mA y la velocidad de 60s/paso. Cada muestra fue barrida con 2θ entre 5.0131° y 79.9711°

V. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 Sobre pruebas preliminares de síntesis

En todos los casos se evidenciaron cambios visibles instantáneamente. Se han realizado síntesis de AgNp con fotoprotección y sin ella para 2 extractos acuosos, de TV y TR, para los 4 casos se descartó la presencia de iones Ag^+ con NaCl en los líquidos de lavado, líquidos que se conservan aún y que no muestran al día de hoy, año 2020 ningún cambio en su naturaleza, conservan color, aspecto y olor, sin presencia de sustancias extrañas o agentes biológicos como mohos.

Para el caso de síntesis sin fotoprotección se observó la aparición de color negro al añadir el extracto acuoso al AgNO_3 , que se debe al fenómeno de resonancia de plasmones superficiales (Cruz et al. 2012b:3) las absorbancias se registrarán por espectrofotometría UV-Visible, se evidencia de la formación de nanopartículas inducidas por la luz solar y posible formación de AgO, en este proceso no se varió el pH de las solución precursora, ni reductora, ni final.

Para ambos casos la formación de AgNps fue debida a la reducción de iones plata por los fitoconstituyentes de los extractos acuosos que presenta tanto el TV (flavonoides, taninos, alcaloides y azúcares reductores – ver Anexo 6) como los desechos de TR. Es conocido que la diferencia principal en cuanto a fitoconstituyentes es debida al procesamiento del té que lleva a determinar el tipo de té y el contenido característico de flavonoides, así el TV contiene mayor cantidad de catequinas (compuestos polifenólicos conocidos como epicatequina (EC), epicatequina-3-galato (ECG), catequina epigallo (EGC) y epigalocatequina-3-galato (EGCG)); otros polifenoles en el té verde incluyen los flavonoles y sus glucósidos, cafeína, pequeñas cantidades de metilxantinas y el aminoácido teanina.

Las teaflavinas son polifenoles antioxidantes que no se encuentran en el TV pero que están presentes en el TR después del proceso oxidativo, la teaflavina 3-galato, theaflavina-3'-galato, y theaflavina-3-3'digalato son todos los tipos de tearubiginas, que son de color rojizo.

Como se ha usado un método de separación con agua (Cooper and Nicola 2014:19) desionizada como solvente atendiendo a su polaridad. Las biomoléculas presentes en ambos extractos son responsables de la reducción, posible cubierta y estabilización de las AgNp recién formadas; tienen un poder químico único para

reducir y también envolver eficazmente las nanopartículas, evitando así su aglomeración. Los compuestos fenólicos poseen hidroxilo y grupos de carboxilo, que son capaces de unirse a metales (Rauwel et al. 2015:9).

El precursor metálico-AgNO₃ es fotosensible; teniendo en cuenta que el 4% del total de la radiación solar troposférica está en el espectro UV y es suficiente para determinar características de síntesis que influyen en la forma y tamaño de las nanopartículas obtenidas, se observa su clara influencia – ver espectros UV-Vis, SEM y TEM (figuras 31 a 34).

5.1.1 Caracterización por espectroscopía UV-Visible

Se evaluarán por espectroscopía UV -Visible las muestras AgNp-TV, AgNp-TR, la estabilidad de AgNp se evaluó en 3 tiempos: 24 horas, 48 horas y 2 meses después, además a diluciones al 100%, 50% y 25%.

En la figura 31 -A se observa el espectro Uv Vis AgNp-TV al 25%, a esta concentración la λ es a 430 nm y una absorbancia máxima de 2. El plasmon superficial indica la presencia de nanopartículas polidispersa, con promedio de tamaños de 60nm.

En la figura 31 -B para la AgNP-TR, se observa una absorvancia negativa.

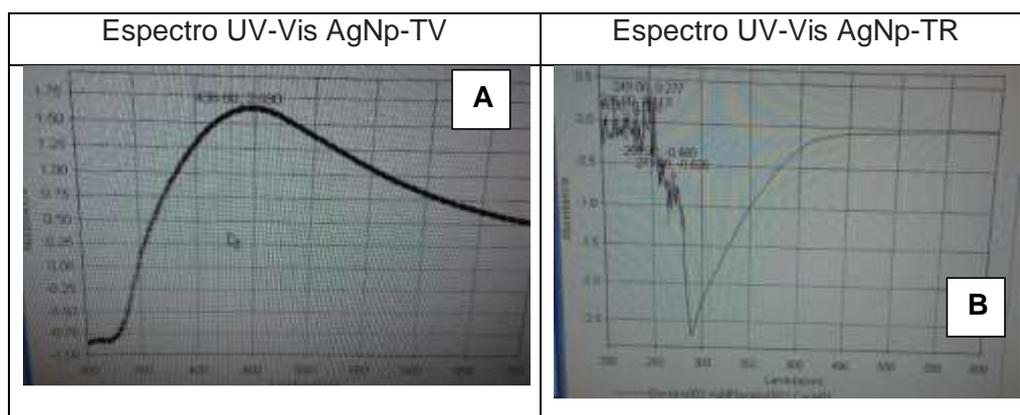


Figura 31: Espectros UV-Vis AgNp-TV y AgNp-TR

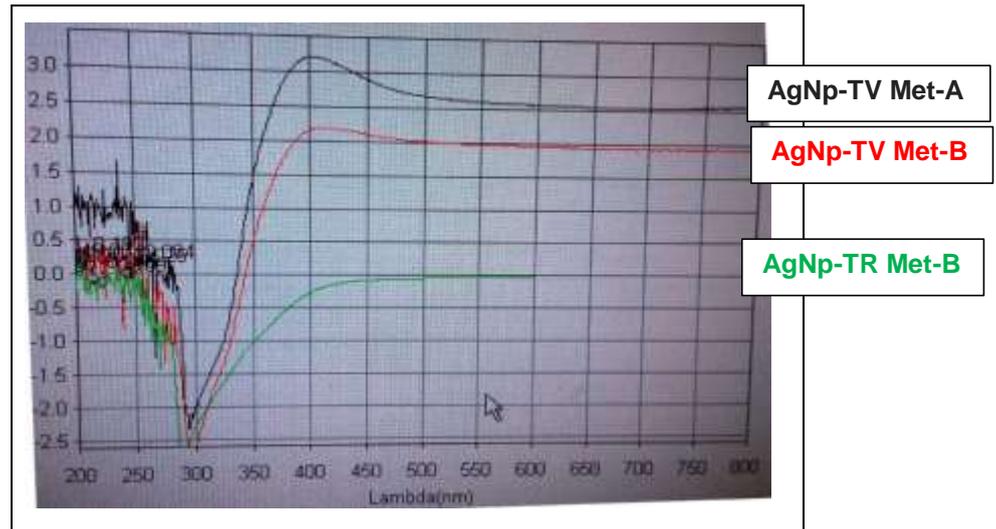


Figura 32: Espectros UV-Vis AgNp-TV y AgNp-TR

La figura 32 nos muestra las irradiaciones de las 3 muestras, el espectro de AgNp-TV del 09112016 (negro) presenta una absorbancia máxima a 400nm, línea roja corresponde al AgNp-TV método B y la línea verde corresponde al AgNp-TR método B; ambas preparadas el diez de noviembre del año 2016.

Se evidencia la presencia de absorción en el rango ultravioleta correspondiente a grupos funcionales orgánicos (Skoog, Holler, and Timothy 2001:373) de los fitoconstituyentes propios de cada extracto, que siguen presentes después del proceso de lavado y centrifugado, constituyéndose en la fitocapa estabilizante de las nanopartículas; los valores negativos de absorción generalmente se presentan cuando la solución de calibración es más oscura que las muestras, caso que no ocurrió (se calibró con agua), en las posteriores análisis se tomó como solución de calibración el extracto acuoso respectivo y/o solución de Chak'o homoionizado (al 1%).

5.2 Caracterización de AgNp-TR -método B

5.2.1 UV-Visible

Para las muestras AgNp-TR pH=11.78 y AgNp-TR pH=6.16 los espectros (figura 33 A y B respectivamente) evidencian la presencia de plasmon superficial característico de AgNp, con menor polidispersidad, posiblemente con nanopartículas de forma semi esféricas y con tamaños aproximados a 60 nm.

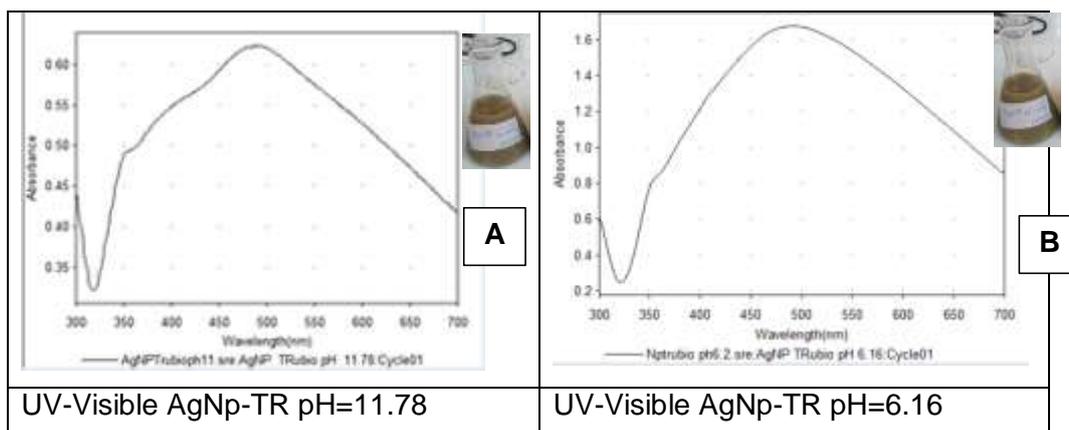


Figura 33: Espectros UV-Vis AgNp-TR pH básico método A y ácido método B

La influencia del pH en la síntesis se aprecia por la altura de pico alcanzada en la banda característica para ambos casos (486 nm), así a pH ácido hay mayor cantidad de AgNps, altura del pico 0,192; mientras que a pH básico hay menor cantidad de AgNps; con una altura de pico de 0,950 u.a. La Ag⁰ está presente en un rango amplio de pH.

5.2.2 SEM

Las micrografías a 20 μm muestran la formación de Ag⁰ en forma arborescente, ramificada, indicativo que en su proceso de formación estaban lejos del equilibrio (ver figura 34).

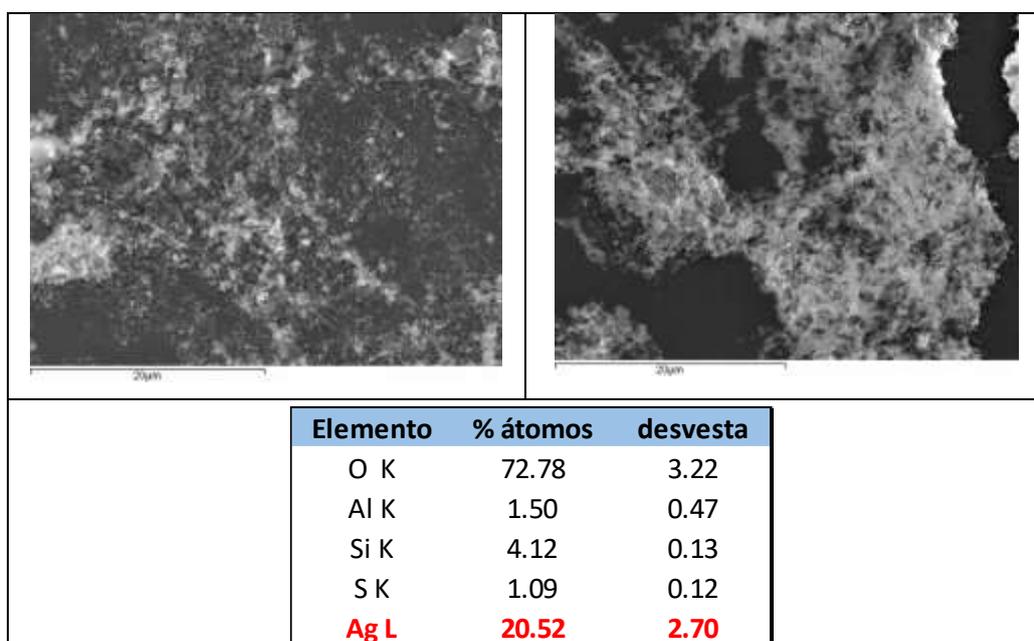


Figura 34: Superior derecha e izquierda micrografía a 20 μm AgNp-TR, inferior: EDS AgNp-TR, donde Ag⁰ en % de átomos está en el orden del 20.52 \pm 2.7
Fuente: SEGA-MATMOL Universidad La Laguna - España

Su composición elemental a través del análisis EDS verificó que las nanopartículas contienen una gran cantidad de plata, 20.52 % atómico. Oxígeno (72.78% atómico) y aluminio (1.5% atómico), silicio (4.12 % atómico) y azufre (1.09%) que se originarían del extracto de los desechos de té rubio, Por lo tanto, se puede deducir que se logró una alta conversión de Ag^+ a Ag^0 en la reducción del precursor de $AgNO_3$ (0.5 mM).

En la muestra existe Al y Si, lo que posiblemente se deba al origen del extracto (desechos expuestos al aire libre, polvo, etc.), puesto que no es un componente habitual de los fitoconstituyentes o precursor metálico; aspecto que se debe investigar con mayor profundidad.

5.2.3 STEM-DF mapping

En la figura 35 observamos el mapa para elementos como Si, O y Ag, la presencia de oxígeno se debe a los constituyentes de la fitocapa y claramente se confirma la presencia de Ag^0 y posiblemente AgO (por la cantidad de oxígeno presente).

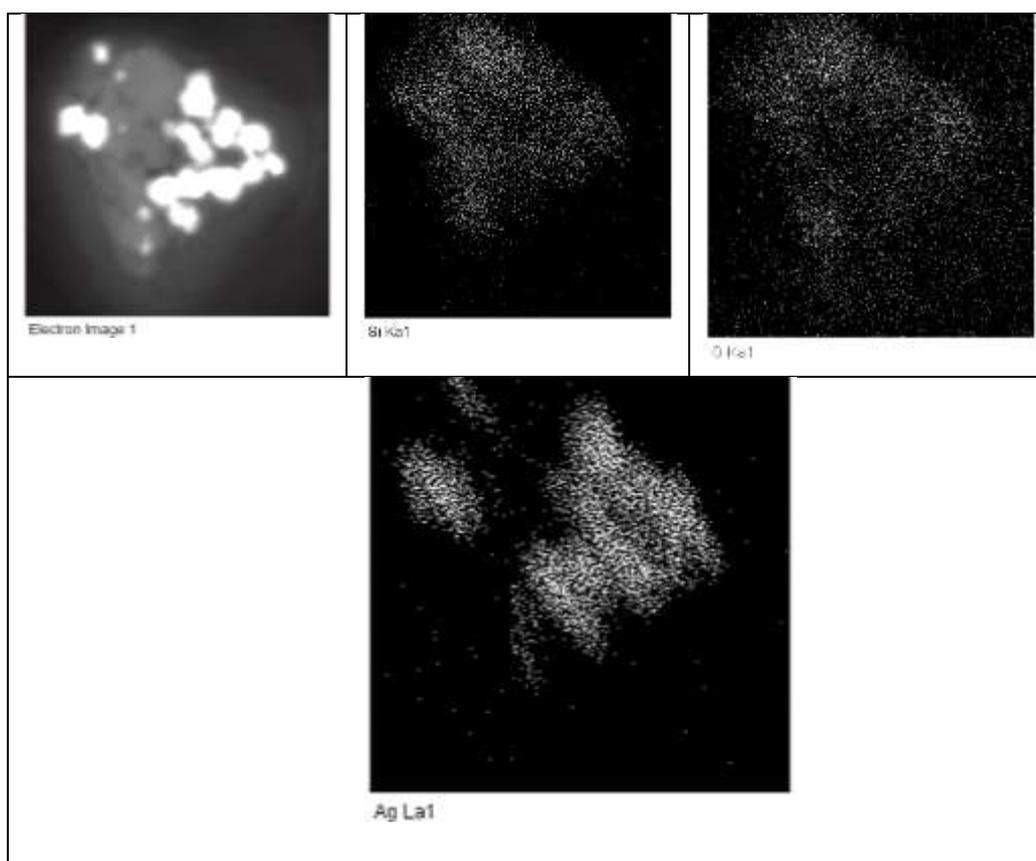


Figura 35: Imagen STEM-DF mapping para AgNp-TR, para Si, O y Ag.

5.2.4 TEM

La distribución del tamaño de las nanopartículas en general es un tema importante, ya que las nanopartículas exhiben diferentes propiedades físicas y químicas dependiendo de su forma y tamaño, así para la AgNp-TR la imagen TEM reveló nanopartículas polidispersas como resultado del efecto de confinamiento cuántico. Además, la forma casi esférica observada corroboró la forma de la banda SPR en los espectros UV-Vis donde la banda ancha observada sugirió la formación de nanopartículas polidispersas (Fig. 33). Los nanocluster que se muestra en la Fig. 36, tienen un tamaño promedio de 85.96 ± 16.25 nm de tamaño, estarían en el límite de considerarse nanopartículas (101 nm – micropartículas), que puede ser atribuible a la menor cantidad de polifenoles presentes en el TR, ocasionando defectos y aglomeraciones (Nadagouda and Varma, 2008).

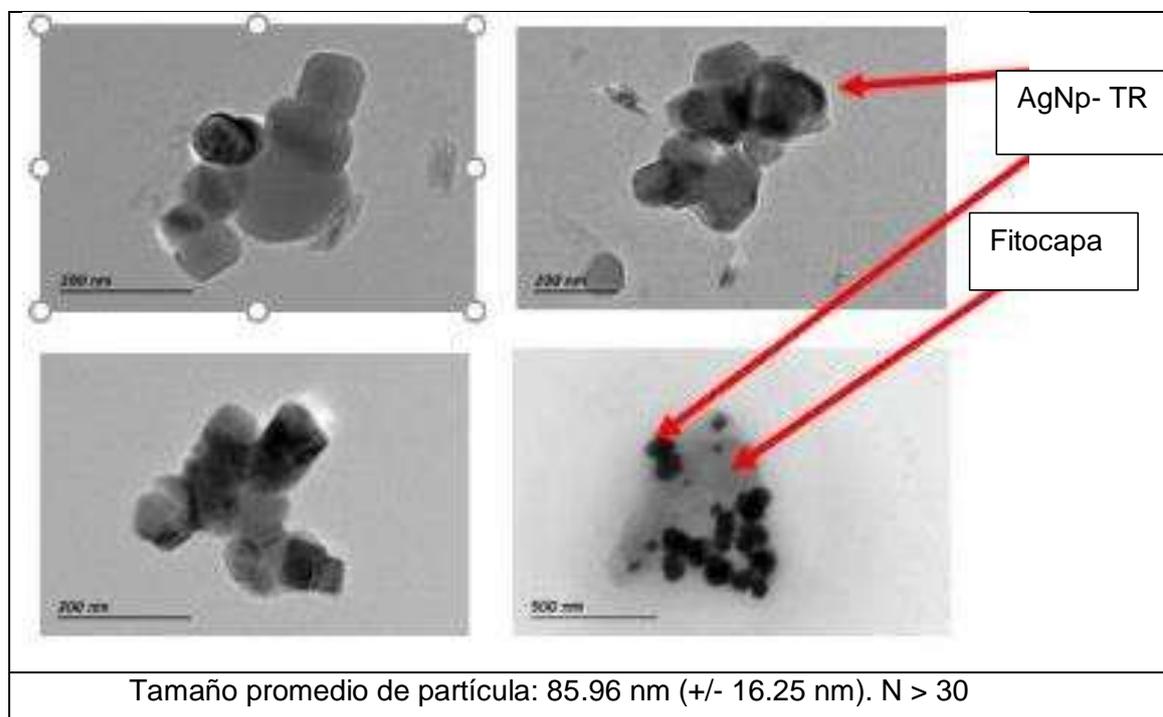


Figura 36: Imagen TEM representativa de AgNp-TR bajo síntesis inducida por desechos de té rubio utilizando precursor de AgNO_3 (0.5 mM) fotoprotegido.

Para la composición elemental se corroboran los resultados obtenidos por EDS, presencia de AgNp.

5.3 Síntesis de AgNp -TV- método A

5.3.1 UV-Visible

Se evaluó la formación y estabilidad de AgNp a diferentes tiempos, por espectroscopía UV -_Visible, en el laboratorio de Fisicoquímica de la UNSAAC, UV-Visible THERMO Evolution 3000; se tomaron a temperatura ambiente, modo de absorbancia desde 200 a 800 nm y ancho de banda de 2 nm. La línea base fue obtenida empleando agua desionizada como referencia. Las soluciones coloidales fueron diluidas 1:5 con agua desionizada previo al análisis.

Para evaluar su estabilidad en el tiempo se registrarón los espectros después de 24 horas (se aprecia modificación de los picos desde 200 nm a 327 nm (se corrobora la ausencia de iones de Ag con NaCl).

Después de 48 horas no mostraba cambios significativos, por lo que se adiciono NaOH (0.1M) hasta pH 12. Dejándolo por 72 horas más, luego de lo cual se hizo las lecturas correspondientes. Se hizo análisis con diluciones al 100% y 50% (Fig.37).

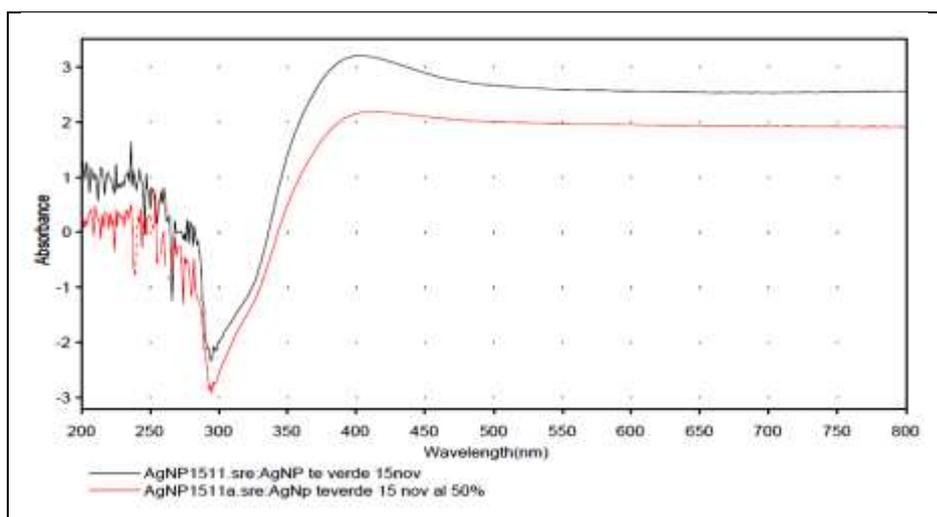


Figura 37: Espectros UV-Vis AgNp-TV al 100% (negro) y 50% (rojo) a 72 horas de envejecimiento

Se presenta resonancia plasmónica superficial localizada (LRPS) en la región visible característica para AgNps, lo que se evidencia con el cambio de color a marrón oscuro. Por la forma del espectro se deduce que las nanopartículas no son esféricas, posiblemente formas diferentes a las esféricas cilindros, prismas, discos, etc. (Ovalle, Blanco-Tirado, and Combariza 2013:34).

Se observó picos de absorción < a 300 nm correspondiente a la absorción de los compuestos de polifenólicos del extracto acuoso de té, conformantes de la fitocapa que estabiliza a las AgNP obtenidas.

El pico de resonancia plasmónica se amplió a partir de 460 nm. Se evaluó su estabilidad en el tiempo, registrándose el espectro después de 5 días, para ambos casos la concentración es al 50%. A los 5 días se observa que el SPRS es estable y sin distorsiones, con pico máximo a 380 nm, hay un desplazamiento a longitudes menores, debido a la presencia de AgNps posiblemente de menor tamaño (Fig. 38)

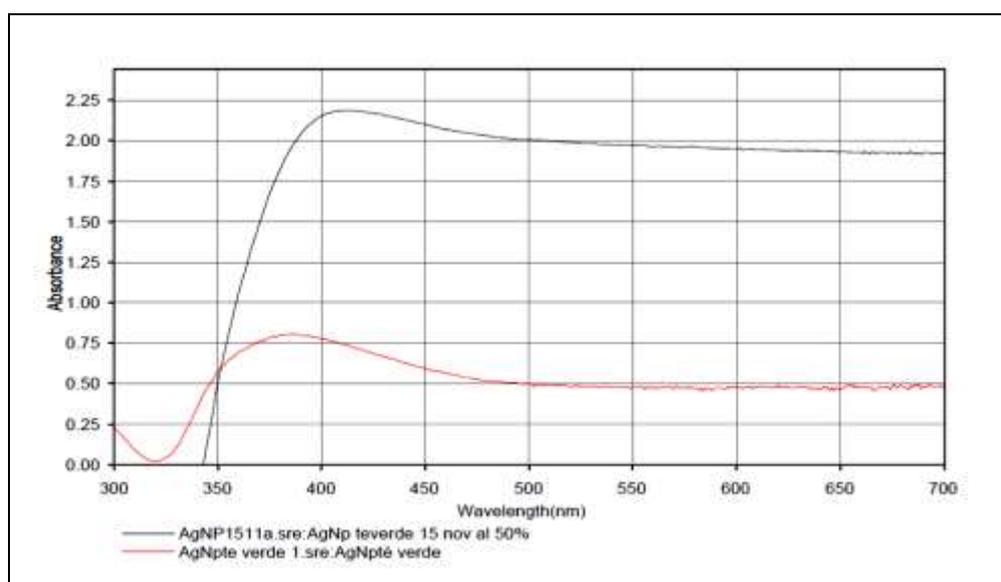


Figura 38: Espectro UV-Vis AgNP-TV 5 días después de la síntesis.

Es razonable pensar que a medida que el tamaño de la NPS disminuye, aumenta el confinamiento de los electrones y la interacción entre estos, causando un aumento del efecto producido por la resonancia plasmónica y un ensanchamiento de las bandas. Por otra parte, a medida que el de las NPS aumenta la distribución de tamaños se hace más pequeña, por lo que la banda SPR será más estrecha. El efecto producido por el confinamiento electrónico hace que la banda de absorción de la SPR sea más sensible al entorno que la rodea. Existe una dependencia entre la $\Delta\lambda$ y $1/d$ (Echevarria et al. 2008:6).

La observación de picos de plasmón superficiales fuertes pero amplios es bien conocida en el caso de varias nanopartículas metálicas en un amplio rango de 200 a 1200 nm (Nadagouda and Varma, 2008:861).

5.3.2 SEM AgNp-TV - método A

El análisis EDS verificó que las nanopartículas contenían plata, 10.5 % atómico. Oxígeno (47.72% atómico) y, Silicio (13.25 % atómico), Sodio (11.72 % atómico), Hierro (5.39% atómico), Magnesio (5.02% atómico), Aluminio (4.86% atómico) y Calcio (1.53%), Por lo tanto, se puede deducir que se logró la conversión de Ag^+ a Ag^0 en la reducción del precursor de $AgNO_3$ (0.5 mM).

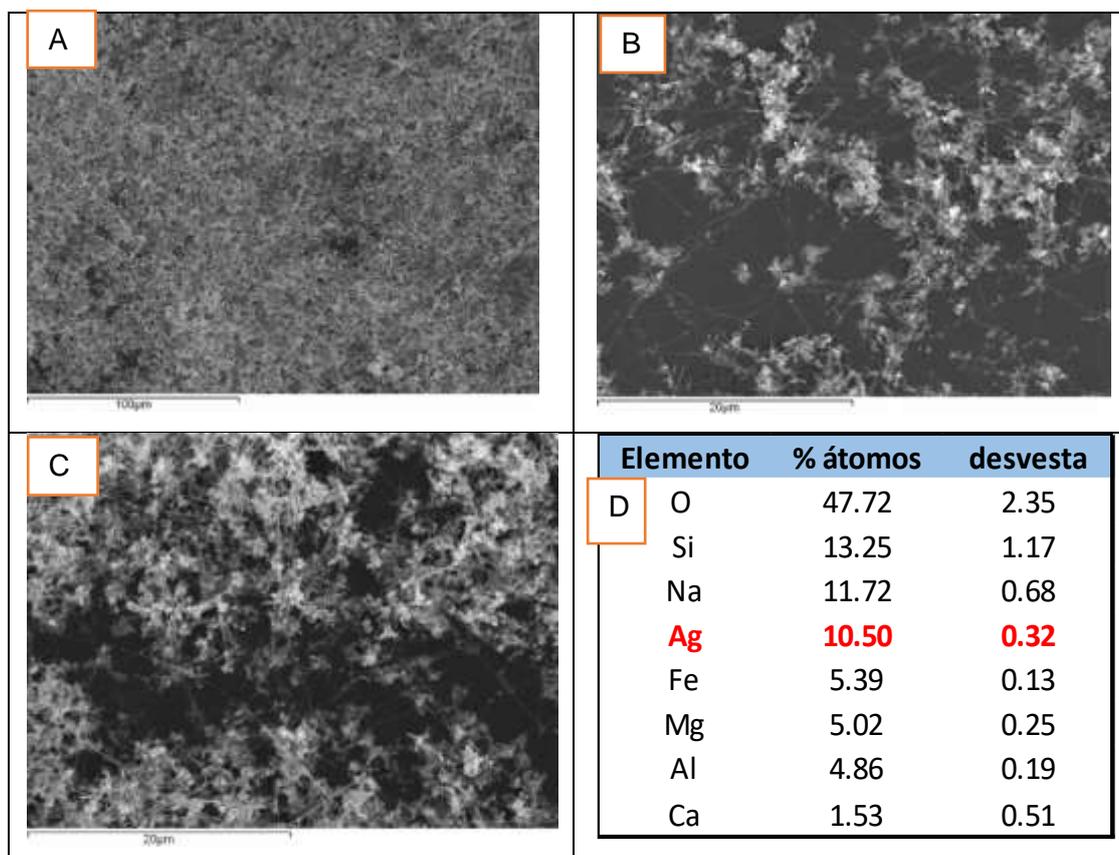


Figura 39: Micrografías y EDS de AgNp-TV -método A A: 100 μm , B y C 20 μm ; D: EDS.

En las micrografías de la figura 39 evidencian que se ha formado micropartículas en forma de dendrimeros, ramificados, como se aprecia en la fig.39-A a 100 μm , B y C a 20 μm .

5.3.3 TEM AgNp-TV – método A

En la figura 40, de Ag-TV, que tienen un tamaño promedio: 98.76 ± 17.97 nm. $N > 30$; se confirma que por el método A se obtiene micropartículas.

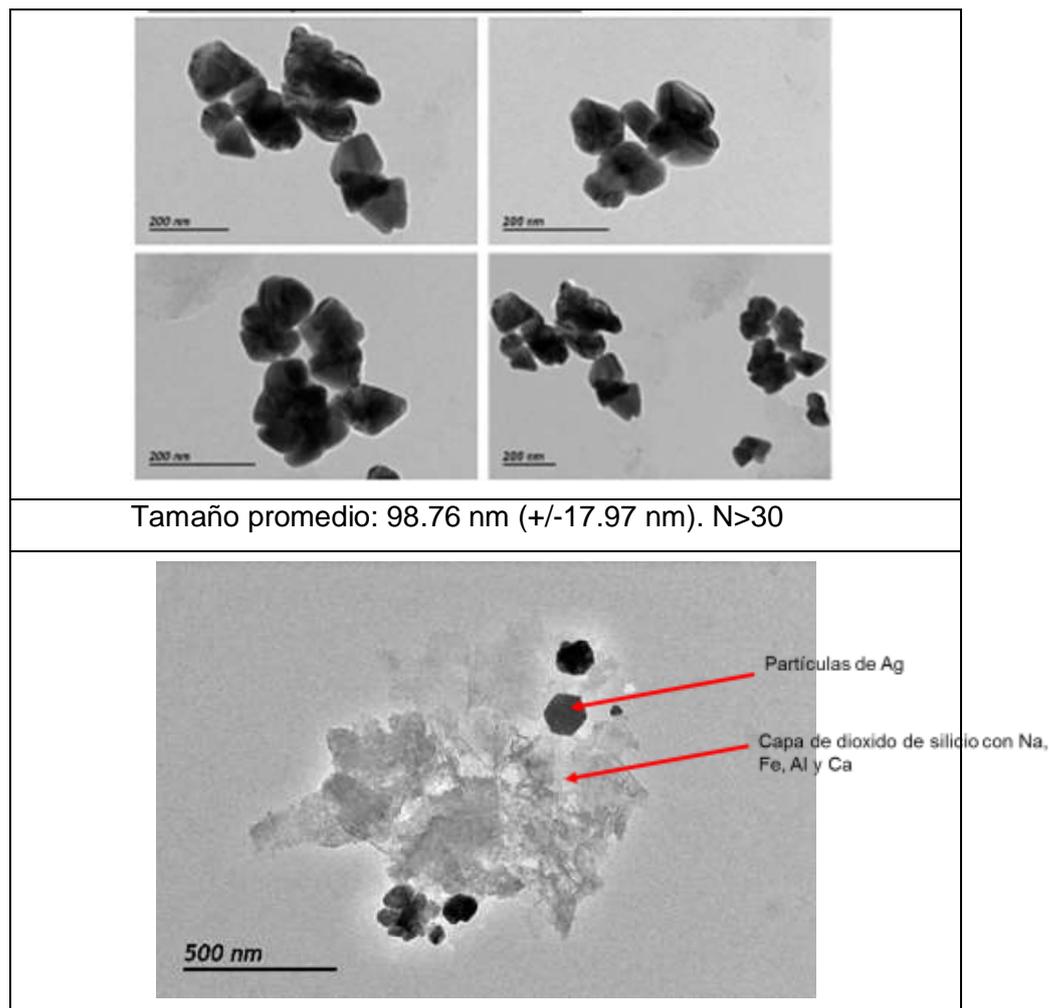


Figura 40: Micrografías TEM AgNp-TV METODO A

Tanto en el análisis SEM, TEM, STEM-DF y mapa EDX se observa la presencia de elementos como O, Na, Fe, Al y Ca, polidispersas y poliformes, con formas definidas como hexágonos, triángulos truncados y semiesféricas, con cúmulos y aglomeraciones, además la fitocapa se encuentra en gran parte separada.

Al igual que para las nanopartículas obtenidas con extracto acuoso de té rubio, hay presencia de elementos como Fe, Al y Si que podrían proceder del agua, extractos o incluso de la solución de AgNO_3 , además del método elegido en el TEM; todos estos aspectos requieren ser estudiados con mayor profundidad.

5.3.4 STEM-DF mapa EDX micropartícula Ag-TV - método A

El mapa EDX confirma la presencia elemental de los constituyentes tanto de las micropartículas como la fitocapa, donde la presencia de oxígeno es abundante y posiblemente se deba a la formación de AgO .

5.4 AgNp-TV método B

5.4.1 UV-Visible AgNp-TV método B

Los espectros de las AgNps-TV método B a pH 12.16 y 6.21 (ver fig 41), el pico de la banda plasmónica aparece a 413 nm sin cambio para ambos pHs. Esto indica que las partículas siempre están dentro del límite de Rayleigh ($d \ll \lambda$), presentando para pH básico una absorción de 2,205 u.a. y para el pH ácido 1.790 u.a. El valor de absorción mayor refleja el número creciente de estas pequeñas partículas de plata.

También se debe considerar el efecto de la anchura de la rendija (ancho de banda del espectro - 1nm) en la altura de los picos. Observe que cuando disminuye el ancho de banda del espectro al reducirse la anchura de la rendija de 2.0 nm a 1nm mm, la altura del pico disminuye.

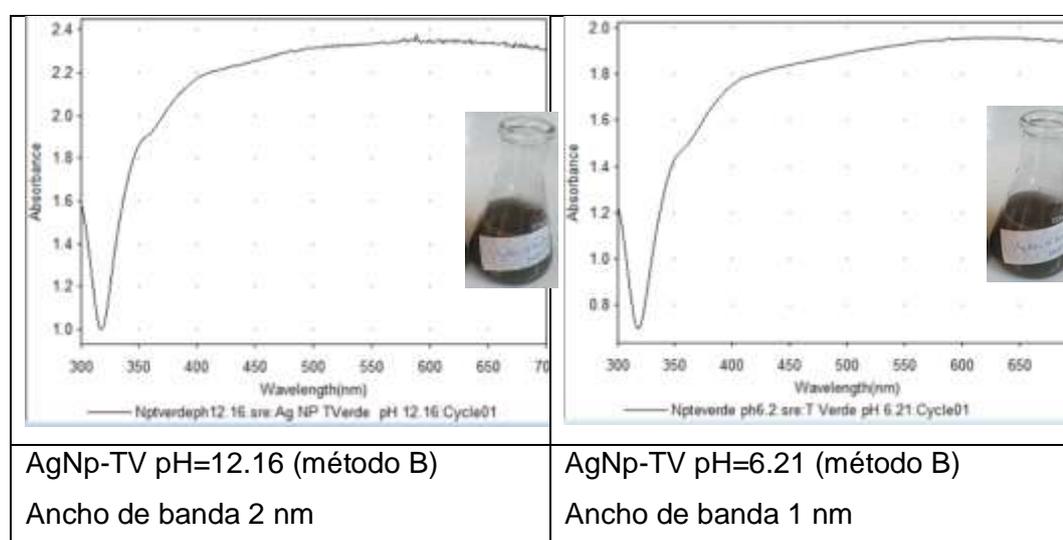


Figura 41: UV-Visible AgNp-TV método B a pH ácido y básico.

5.4.2 SEM-EDX AgNp-TV método B

La micrografía de AgNp-TV a pH básico a 40 μm (ver figura 42), muestra nanopartículas con formación de dendrimeros, y en el EDX la cantidad de Ag° es de 9.68 ± 1.23 % átomos, identificándose también elementos como O, Si, Na, Fe, Mn y Al.

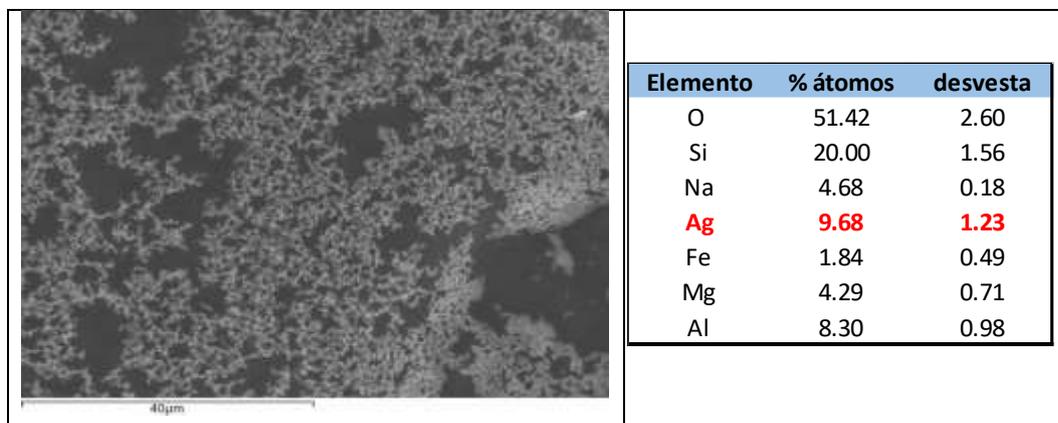


Figura 42:SEM y EDX AgNp-TV método B

5.4.3 TEM AgNp-TV método B:

En cuanto a su forma se aprecia diversas formas con un tamaño promedio de 75.31 ± 20.55 nm, con alta desviación estándar, confirmando que las condiciones de síntesis influyen en el tamaño y forma, en cuanto a la composición elemental STEM-mapping, confirma los resultados del SEM en cuanto a la presencia de elementos como Al, Si, Fe, Ca y Mg.

En trabajos similares se han conseguido tamaños de 60 nm con extractos acuosos de TV comerciales (Nadagouda and Varma, 2008) polidispersos, con aglomeraciones y defectos, con fitocapa como estabilizante.

La fig.43 con micrografías a 100 nm se presentan AgNps poliformes y aglomeradas, claramente se diferencia la fitocapa que actúa como estabilizante, en la micrografía a 500 nm hay presencia de AgNps poliformes y polidispersas, con un menor tamaño 75.31 ± 20.55 nm, atribuible a la ausencia de luz solar natural y una concentración de AgNO_3 (0.05 M). Esto es debido a que se incrementa el número de núcleos formados al inicio de la reacción lo que conduce a la formación de muchas partículas con una concentración de extracto acuoso insuficiente para protegerlas.

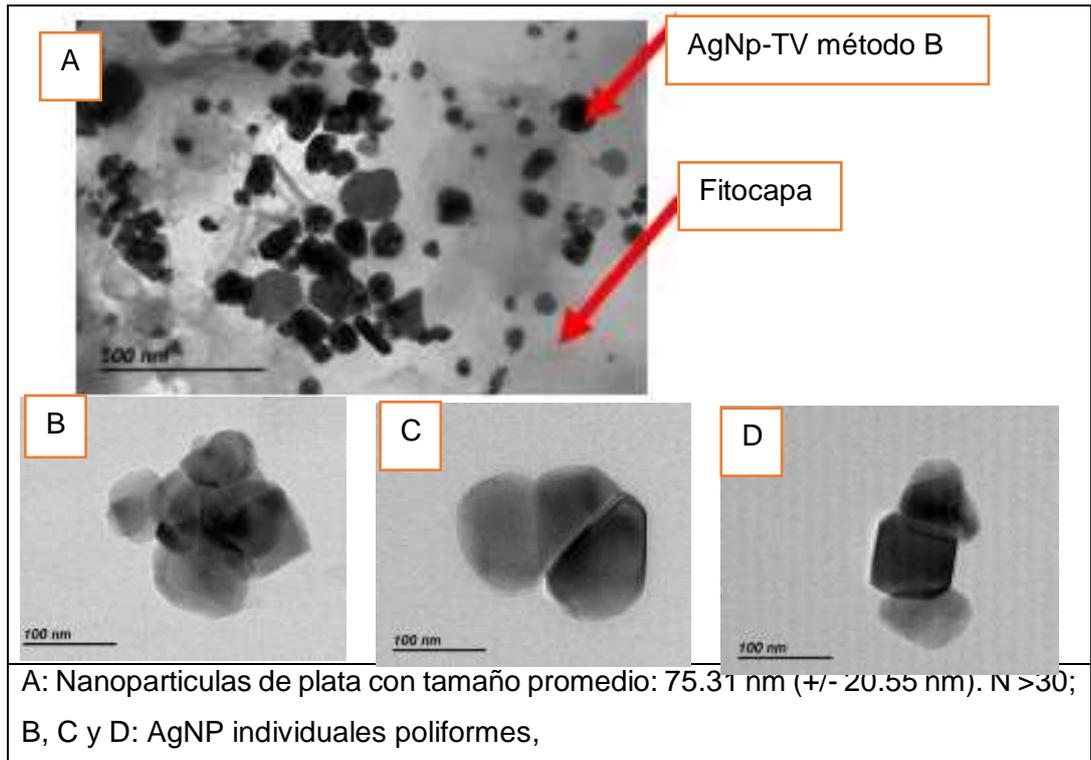


Figura 43: TEM AgNp-TV - método B.

5.4.4 STEM mapping AgNp-TV método B

El mapping nos muestra la distribución elemental para cada elemento presente detectado en el análisis TEM, hay que destacar el correspondiente a Ag⁰ mostrado en la figura 44.

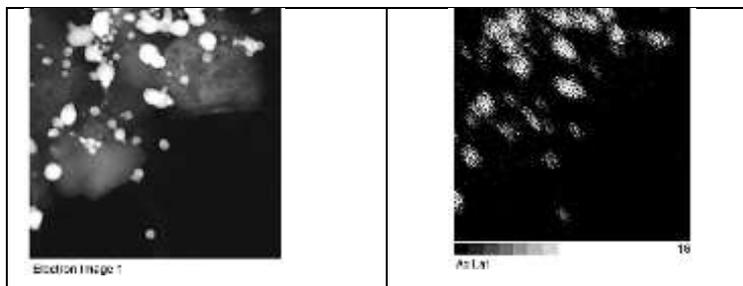


Figura 44: Solución extracto acuoso de té verde con AgNps (método B)

5.4.4 FT-IR AgNp-TV método B

En la Fig. 45 se muestra el espectro FT-IR del extracto de té verde y el de las AgNp-TV.

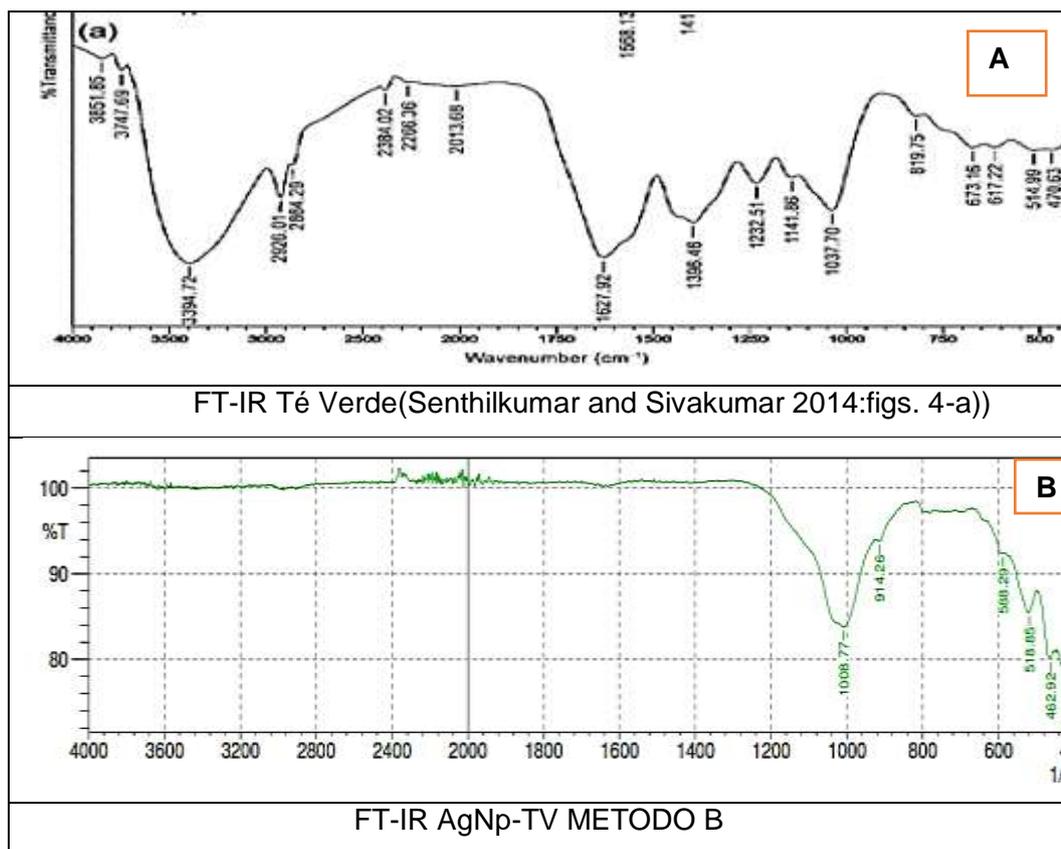


Figura 45: Espectro FT-IR AgNp -TV método B.

Tal como señalan Senthilkumar and Sivakumar, en el espectro IR del té verde (Fig 41-A), la banda a 3394 cm^{-1} se debe a las vibraciones de estiramiento de los grupos O–H en agua, alcohol y fenoles y al estiramiento N–H en aminas. El estiramiento C–H en alcanos y el estiramiento O–H en ácido carboxílico aparecen a 2926 y 2864 cm^{-1} respectivamente. La banda fuerte a 1627 cm^{-1} se atribuye al estiramiento C=C en el anillo aromático y al estiramiento C=O en los polifenoles. El tramo C–N de amida-I en la proteína da la banda a 1396 cm^{-1} . El estiramiento C–O–C en los polisacáridos da una banda a 1741 cm^{-1} y el estiramiento C–O en el aminoácido causa una banda a 1037 cm^{-1} . Finalmente, la banda débil a 819 cm^{-1} es el resultado de una flexión de C–H fuera del plano. Así, a partir del espectro IR, se puede observar que la muestra de té verde es rica en polifenoles, ácido carboxílico, polisacárido, aminoácido y proteínas. (Senthilkumar and Sivakumar 2014:463).

En el espectro FT-IR de AgNp-TV métodoB (Fig.45-B) la participación de estas biomoléculas en las acciones de reducción y estabilización son claramente evidentes, están ausentes las bandas de absorción a 3394 cm^{-1} de las vibraciones de estiramiento de los grupos O–H en agua, alcohol y dos picos nuevos que

aparecen a 462 y 416 cm^{-1} en el espectro FT-IR serían de las AgNp de Ag° (G Yadav et al. 2018:4265) que reporta a 380cm^{-1} .

De acuerdo a la tabla 14 que muestra las principales características de las AgNp-TV, el método B presenta las mejores condiciones para obtener nanopartículas de plata con una cantidad de Ag° similar al otro método; mientras que en el método A se tiene un tamaño promedio de 98.76 con una desviación de 17.97, obteniéndose micropartículas, optamos entonces por continuar con el método B.

Tabla 14: Principales características de AgNp-TV

Características	AgNp-TV	
	Método A	Método B
estabilidad	5 días	2 días
% Ag°	10.5 ± 0.32	9.68 ± 1.23
% O	47.62 ± 2.35	51.49 ± 2.6
forma	poliforme	poliforme
tamaño	98.76 ± 17.97	75.31 ± 20.55

En la tabla se compara las principales características de las AgNps reducidas por diferentes extractos, donde las obtenidas con extracto acuoso de té verde presentan mejores características para el objetivo del presente trabajo.

Tabla 15: Principales características de AgNp-TV y TR

Características	AgNp-método B	
	AgNp-TV	AgNp-TR
Estabilidad	2 días	2 días
% Ag°	9.68 ± 1.23	20.52 ± 2.7
% O	51.49 ± 2.6	72.78
Forma	poliforme	semi esféricas
Tamaño	75.31 ± 20.55	85.96 ± 16.25

De aquí en adelante la síntesis utilizará únicamente extracto acuoso de té verde con el método B e incrementando la concentración del precursor metálico y cantidad de extracto acuoso, debido a que con extracto acuoso de deschos de té rubio el promedio de tamaños obtenidos esta en límite de las nanopartículas.

5.5 Ag/arcilla- Al -dopado de PIL-Al-extracto acuoso de Té verde

Se obtuvo AgNps en matriz de arcilla Chak'o-con $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y consolidación del pilar Al_2O_3 a 400°C . El pH final de la solución fue de 6.3, con 24

horas de envejecimiento de la solución de hidroxitaciones, en agitación continua a 60°C.

5.5.2. DRX Ag/arcilla- Al

El difractograma (Fig. 46) muestra presencia de diferentes fases cristalinas y también amorfas, con lo que el estudio semicuantitativo representaría una estimación.

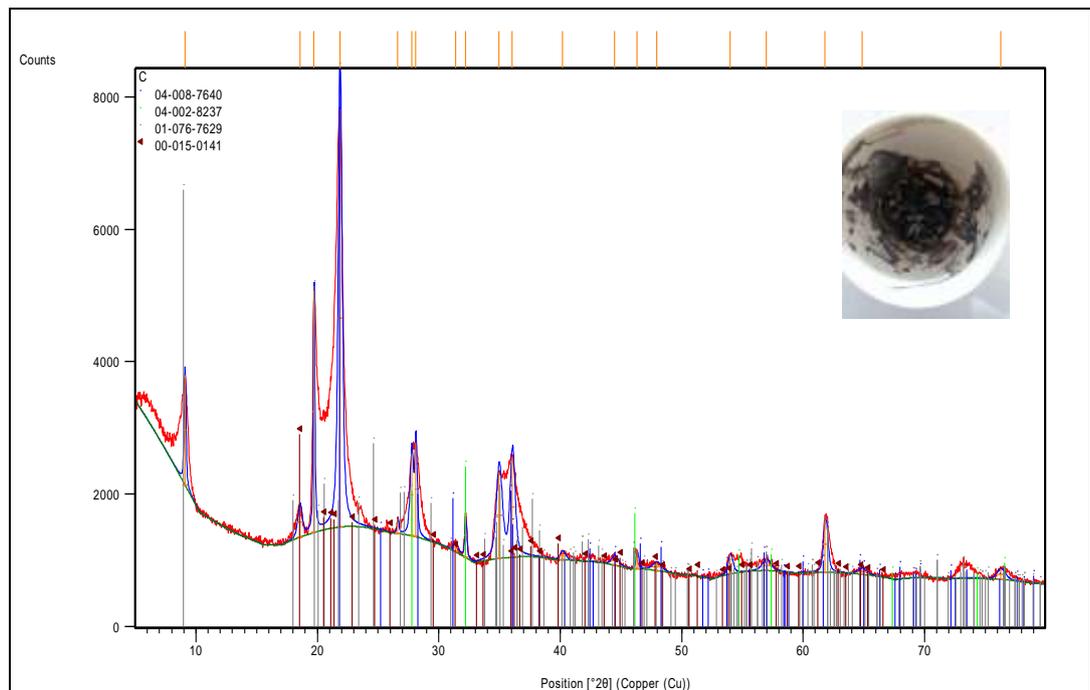


Figura 46: Difractograma AgNp-Chak'o-Al.

Las fases presentes se muestran en la tabla 16, están presentes AgCl y $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, esto debido a que los precursores tienen cloruros que tiene preferencia en reaccionar con la Ag iónica, además se observa que la formación de polihidroxitaciones requieren mayor tiempo de envejecimiento, se aprecia la presencia de Al_2O_3 consolidado por la temperatura (400 °C) a partir de $\text{AlCl}_3 + \text{NaOH}$; hay arcillas laminares como la bentonita, que después de todo el proceso no tubo reconfiguración estructural, y se presenta en un 61%.

Se tiene los picos característicos de fases como óxido de silicio, cloruro de plata y óxido de aluminio trihidratado (ver tabla 16).

Tabla 16: Lista patrones DRX Ag/arcilla-Al.

Código referencia	Puntuación	Nombre del componente	Factor de escala	Formulación Química
04-008-7640	53	Óxido de silicio	1.011	Si O ₂
04-002-8237	39	Cloruro de plata	0.162	AgCl
01-076-7629	28	Potasio Sodio Calcio Magnesio Aluminio Hierro de óxido de silicio Hidróxido	0.523	(Ca _{0.06} Na _{0.21} K _{0.27}) (Al _{1.64} Fe _{0.06} Mg _{0.31}) (Al _{0.29} Si _{3.71} O ₁₀ (OH) ₂)
00-015-0141	21	Hidrato de óxido de aluminio	0.185	Al ₂ O ₃ ·3H ₂ O

El análisis semicuantitativo Ag/arcilla-Al (tabla 17), indica que la cantidad de Ag presente como cristales cúbicos de AgCl es del 3%.

Tabla 17: Análisis semicuantitativo Ag/arcilla-AL

% *	Ref.Cod	Nombre componente	Formulación química	Nombre común	Clasificación Mineral
3 7	04-008-7640	Óxido de silicio	Si O ₂	Cristobalita	
3	04-002-8237	Cloruro de plata	AgCl	Chlorargyrite	Grupo Halita; Subgrupo haluro
6 1	01-076-7629	Potasio Sodio Calcio Magnesio Aluminio Hierro de óxido de silicio Hidróxido	(Ca _{0.06} Na _{0.21} K _{0.27}) (Al _{1.64} Fe _{0.06} Mg _{0.31}) (Al _{0.29} Si _{3.71} O ₁₀ (OH) ₂)	Bentonita	
**	00-015-0141	Hidrato de óxido de aluminio	Al ₂ O ₃ ·3H ₂ O	Nordstrandite	

* Semicuantitativo ** no cuantificable

La presencia de cloro es debida a que los compuestos iónicos por su carga eléctrica (haluros, carboxilatos o polioxoaniones) disueltos en una disolución generalmente acuosa, pueden causar una estabilización electrostática. La presencia de estos compuestos iónicos, sobre la superficie de las nanopartículas y sus respectivos contraiones, genera una doble capa con cargas opuestas a su alrededor.

De acuerdo a las irradiaciones analizadas (ver detalle Anexo 1 y anexo 2), en especial del componente mayoritario (matriz CBNa - montmorillonita) no ha

habido expansión del espaciado basal, más bien un colapso de las láminas (tabla 18) y existe un corrimiento a ángulos mayores lo que sugiere que no hay intercalación de ninguna de las especies (AgCl y Al₂O₃).

Tabla 18: Extracto picos relevantes DRX

Muestra	Pos. [°2θ]	Height [cts]	FWHM Left [°2θ]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
AgCl/arcilla-Al	9.1024	1661.72	0.1791	9.71565	26.31
Chak'o-Na	6.0000	27		14.7180	

El tamaño de cristalita calculado de acuerdo a la ecuación de Deybe-Scrrer's es 39.37 nm:

Tabla 19: Cálculo tamaño de cristalita

k	λ Å	2 θ°	FWHM °	D (nm)
0.9	1.5406	21.8661	0.3838	21.08
0.9	1.5406	19.7174	0.1535	52.53
0.9	1.5406	9.1024	0.1791	44.50
<i>Tamaño cristalita promedio Ag/arcilla-Al</i>				39.37

5.5.2 SEM –EDX Ag/arcilla- Al

Se muestran las micrografías en la figura 47 para el compuesto Ag/arcilla-Al con aglomeraciones de diversas formas y tamaños y el análisis EDS reporta la presencia de Ag en 0.36% átomos, con 64.15 % de oxígeno y Al en 5.09%, sin presencia de cloro.

Oxido de silicio + óxido de aluminio, trazas Mg y Fe - y trazas de plata

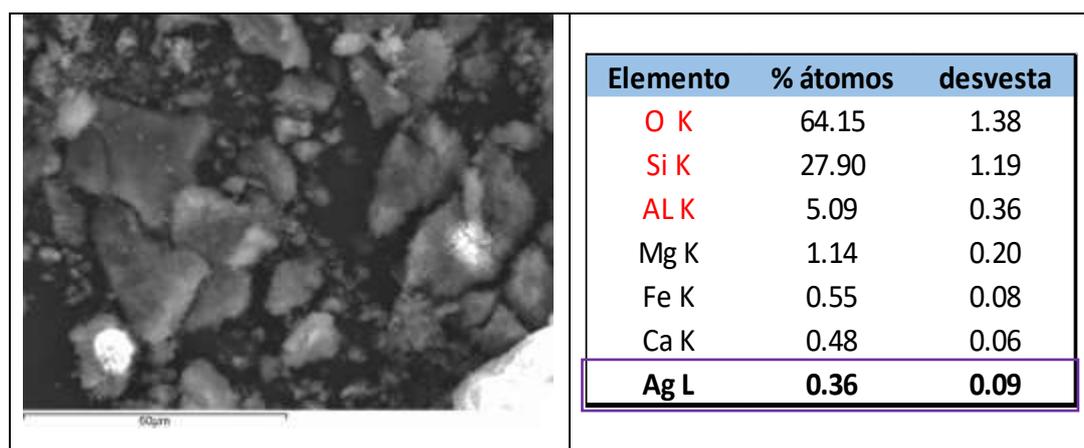


Figura 47: Micrografías y EDS Ag/arcilla-Al.

5.5.3 TEM Ag/arcilla- Al

El TEM del compuesto muestra 1) Capa homogénea y difusa casi inapreciable adherida a las partículas de Ag (A) y grupo de partículas muy abundante (B). La composición de ambas es: óxido de silicio + óxido de aluminio + trazas Mg y Fe (<1%). 2) Baja cantidad de AgNp sueltas y dos grupos de tamaños bien diferenciados (C), ver figura 48.

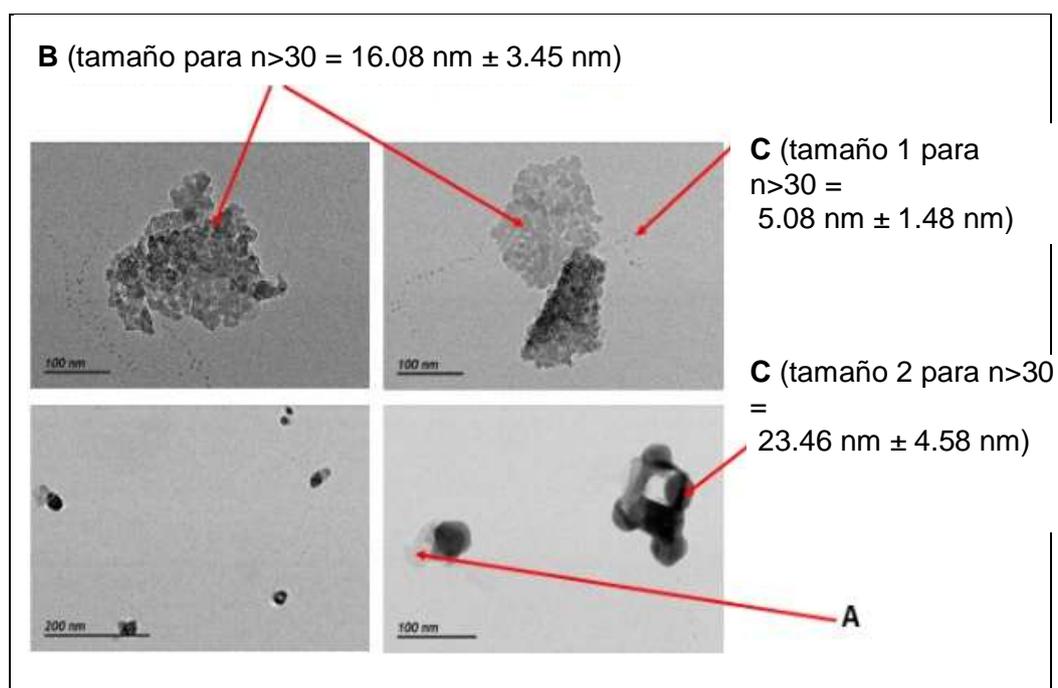


Figura 48: TEM Ag/arcilla-Al, presenta dos grupos de tamaños bien diferenciados: A: arcilla, B: 16.08 ± 3.45 nm y C1 5.08 ± 1.48 nm y C2 23.46 ± 4.58 nm.

Esto origina una interacción de tipo electrostático entre las nanopartículas y evita la agregación siempre que la diferencia de potencial en la doble capa sea lo suficientemente alta (Vergara O'Neale, 2016).

Las nanopartículas obtenidas no son compatibles con sistemas acuosos, son hidrofóbicas.

5.5.4 FT-IR Ag/arcilla- Al

No ha habido modificación estructural significativa, ni por la presencia de Al ni Ag, lo que confirma el SEM, TEM y DRX, manteniendo las características de una montmorillonita deshidratada como componente mayoritario de la fracción arcilla, actuando como soporte de las AgNp.

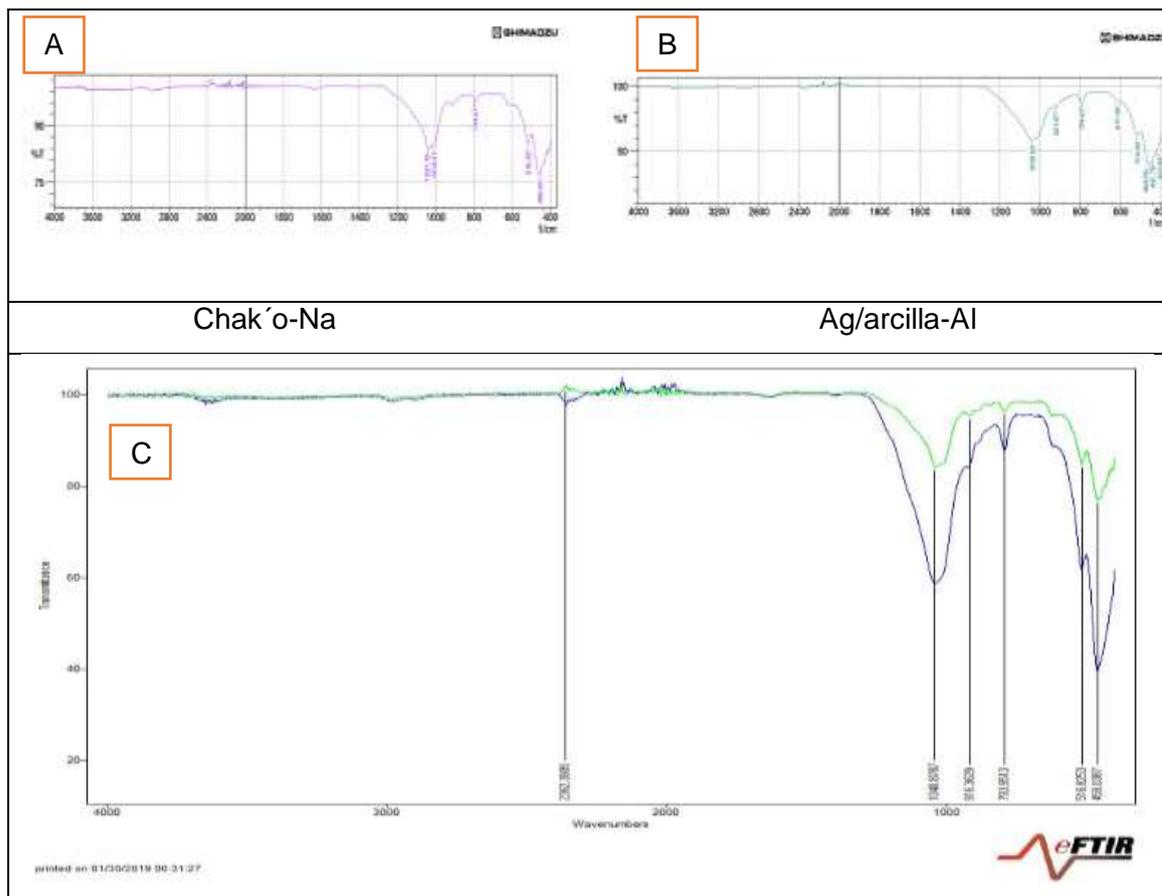


Figura 49: A: FT-IR chak'ó-Na , B: FT-IR Ag/arcilla-Al y C: superposición de espectros A y B- Fuente. MATMOL Universidad La Laguna España

En la figura 49, tanto para la fracción chak'ó-Na como para el compuesto Ag/arcilla-Al en el rango de longitud de onda desde 300 hasta 900 cm^{-1} las bandas de absorción son similares y son características de presencia de cuarzo, además para ambos casos hay presencia de absorción a 1040 cm^{-1} característico de montmorillonita, aspecto corroborado por DRX.

Las vibraciones de alargamiento de O-H libre que se localizan en el rango de 3700 cm^{-1} a 3500 cm^{-1} son casi nulas para el composite Ag/arcilla-Al, posiblemente debido a que no existe agua interlaminar.

5.5.5 Termograma Ag/arcilla- Al:

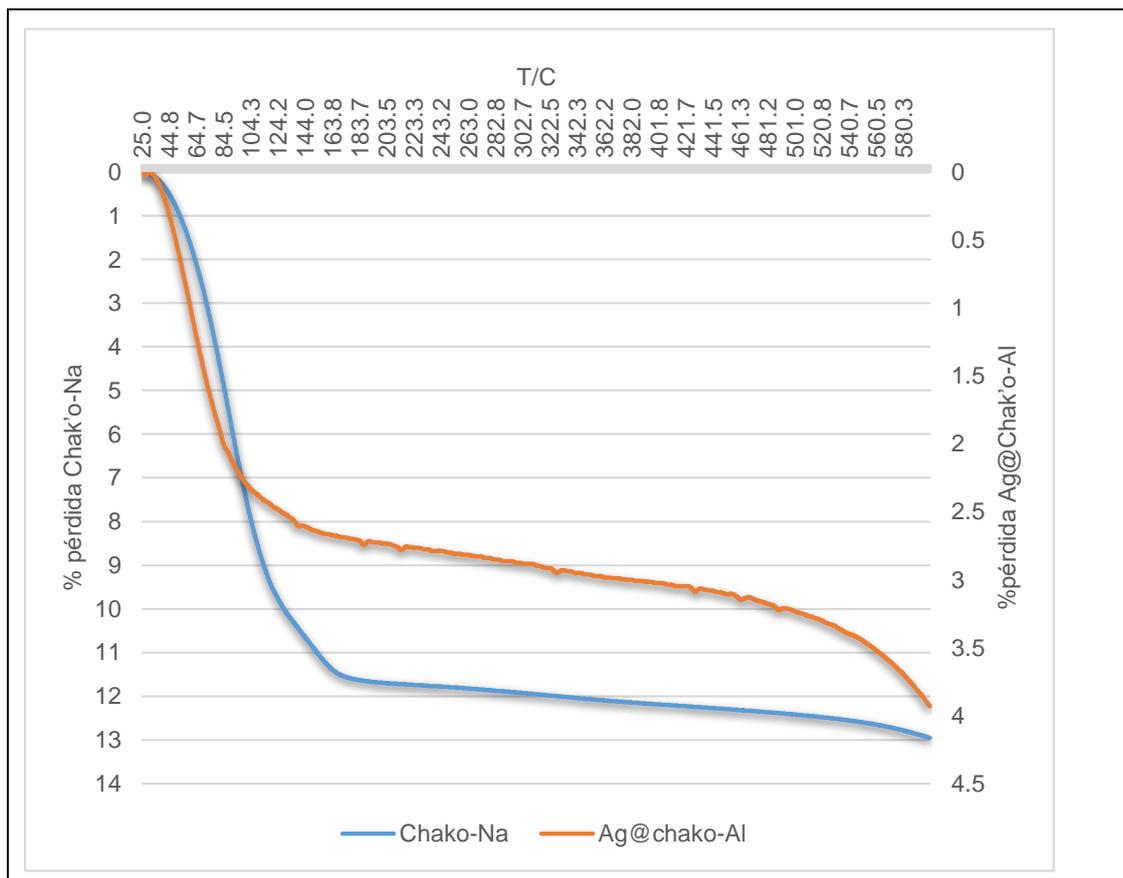


Figura 50: TG Chak'o-Na y Ag/arcilla-Al.

La curva de TG (figura 50) para la fracción arcilla Chak'o-Na presenta dos pasos de pérdida de masa, así para 80 °C, que es la temperatura de rango de desorción de agua (4% pérdida); a 160 ° C (perdida de agua interlaminar), 11% de pérdida.

La curva termogravimetrica para el compuesto Ag/arcilla-Al presenta cuatro pasos de pérdida de masa, así para a 80 °C temperatura de rango de desorción de agua adsorbida (2% pérdida); a 160 ° C (perdida de agua interlaminar), 2,7 % de pérdida; la DRX evidencia colapso interlaminar, lo que explicaría la menor cantidad de agua de solvatación de cationes interlaminares presente y a 526°C 3,2% de pérdida de masa (empieza la deshidroxilación) y a 540°C (perdida de grupos hidroxilos estructurales) en un 3.8%.

Evidenciándose que la modificación con Al y presencia de AgCl modifican la resistencia térmica, incrementándola significativamente respecto al material de partida.

5.6 Dopado de AgNp en matriz de arcilla Chak'o-Na

5.6.1 Ag/arcilla

A las 3 horas de contacto entre la arcilla Chak'o y el AgNO_3 , se observó la formación de las AgNps, por cambio de color y presencia de plasmon superficial, donde la matriz arcilla actúa como reductor, un reductor inorgánico, que por su estructura actúa como estabilizante, es conocido que algunos soportes inorgánicos son efectivos para controlar la uniformidad de la distribución del tamaño de partícula y para estabilizar partículas metálicas nanométricas (Hyllested et al., 2015). Por la coloración se presume que hay AgNps de menor tamaño, con formas más uniformes y mayor cantidad de nanopartículas, actuando la arcilla Chak'o como agente que controla el crecimiento de tamaño y la agregación de partículas con una distribución de tamaño estrecha para las muestras S1 y S2 principalmente.

5.6.a.1 Espectroscopía UV-Visible Ag/arcilla.

Se evaluó primero la concentración del precursor metálico, con concentraciones de AgNO_3 de 1 M (S1), 0.1 M (S2), 0.01 M (S3) y 0.001 M (S4) de acuerdo a la tabla 20.

Tabla 20: Condiciones de ensayo de síntesis de Ag/arcilla

Código	AgNO ₃		Extracto acuoso		Arcilla Chak'o-Na		pH final
	Vol.mL	Conc. M= X	Vol. mL	Conc. %	peso g.	vol. H ₂ O mL	
S1	2	1	5	100	0.15	20	6.19
S2	2	0.1	5	100	0.15	20	6.03
S3	2	0.01	5	100	0.15	20	6.24
S4	2	0.001	5	100	0.15	20	6.36

El valor que toma X es 0.1 M

En el Anexo 5: Síntesis de Ag/arcilla se detalla el proceso de obtención.

La fig. 51 muestra el espectro UV-Visible, de las 4 muestras a 3 horas de sintetizadas.

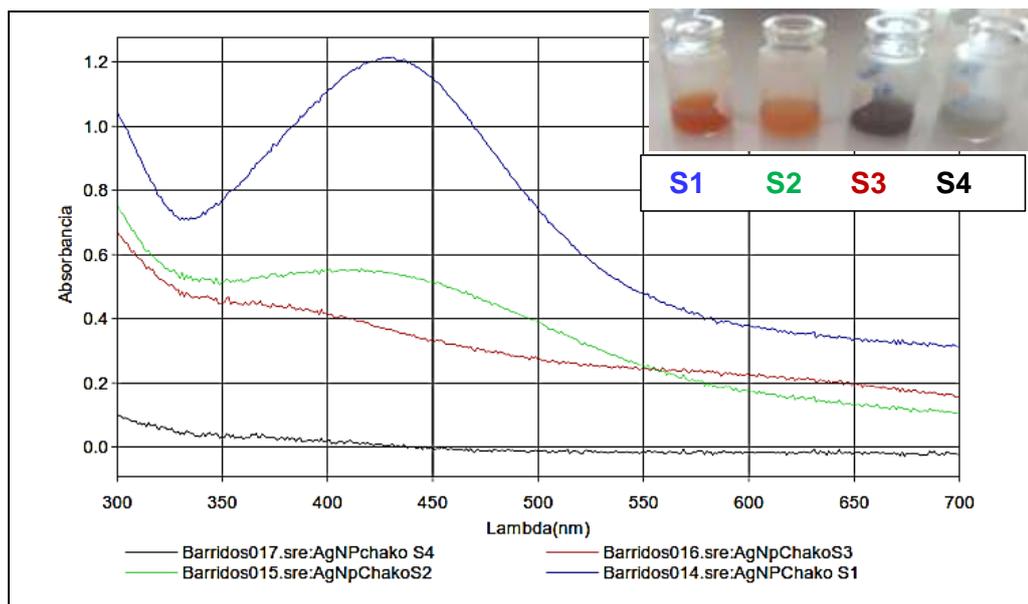


Figura 51: Variación de la concentración de precursor metálico a las 3 horas de agitación.

Las líneas absorción con presencia de picos pequeños son debido al efecto ruido instrumental debido al ancho de banda (2nm) en la definición del espectro de una muestra. Observe que cuando el ancho de banda aumenta, la estructura final del espectro se pierde (Skoog, Holler, and Timothy 2001:347).

Par una concentración 1 M y 0.1 M de AgNO_3 , se tiene claramente la presencia del plasmon superficial con resonancia unipolar para AgNps, bien definido, ello fue apreciable a las 3 horas de agitación y contacto, el pH para las 4 muestras está en el orden de 6, también se procedió a evaluar su estabilidad en el tiempo a 19, 24, 25, 26, 27 horas y al 3er día. Ver fig.52.

Se observa que al cabo de 3 días se registra mejores resultados, se presenta el plasmon superficial característico de la AgNps en matriz de arcilla, con presencia de máximos de absorción entre 420 y 450 nm; para la concentración de 0.001 M de AgNO_3 , ya no hay formación de AgNp. Existe desplazamiento e incremento de absorción, este cambio indica que no solo aumenta el número de partículas con el tiempo, sino que también cambia el tamaño y la morfología de las partículas. En este último espectro podemos ver la aproximación del tamaño con respecto a la intensidad y λ a la que se presenta el pico máximo.

Tal como plantea (Mazón Solórzano 2012:fig. 4.3.1) nos encontramos frente a nanopartículas de plata en su mayoría esféricas y con tamaños promedio de 60 a 80 nm.

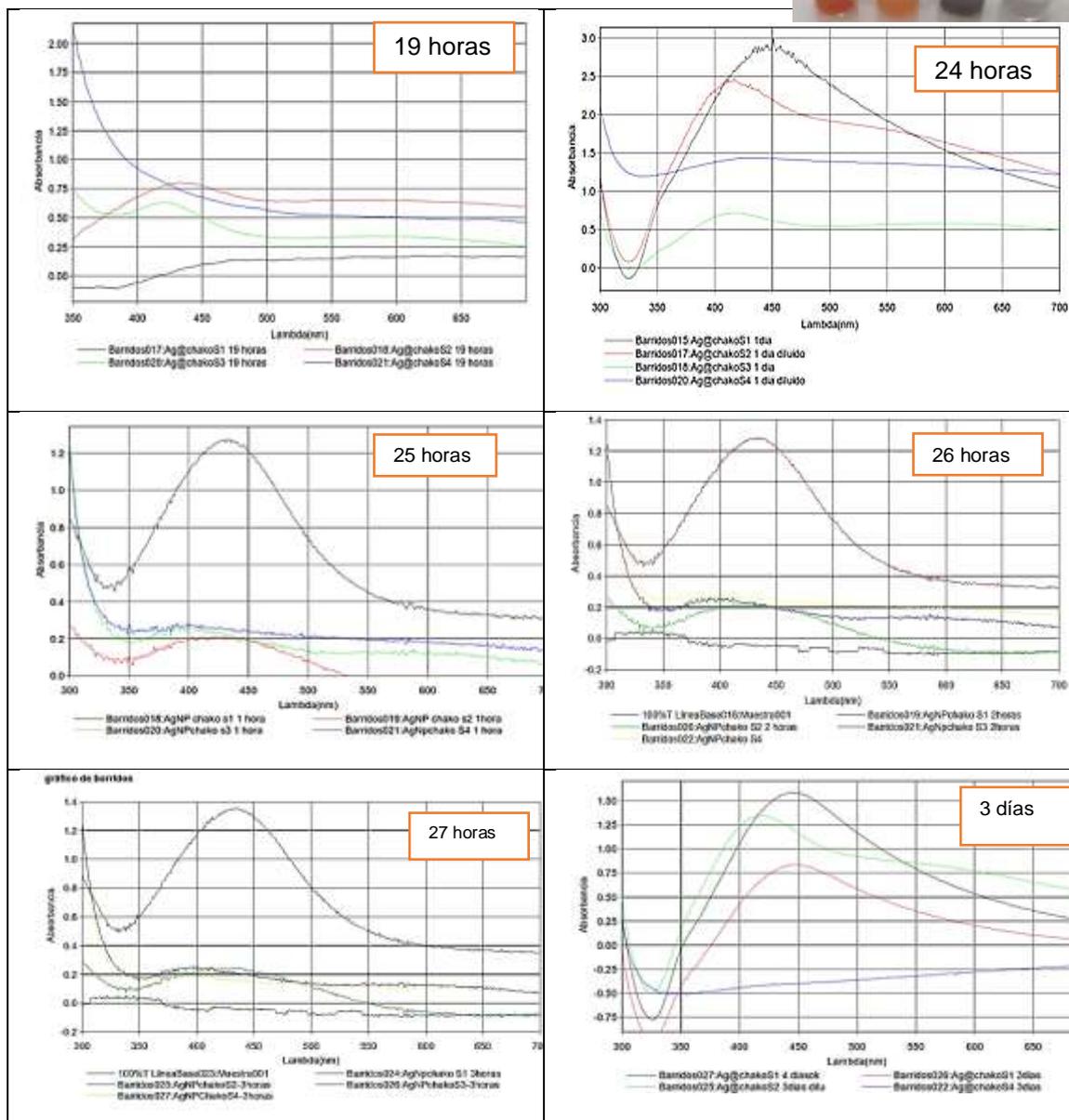


Figura 52: Variación de la concentración de AgNO_3 y seguimiento de estabilidad de 19, 24, 25, 26, 27 horas y al 3er día; registradas a 1nm de ancho de banda..

Continuando con el dopado se procedió a adicionar Extracto Acuoso de Té verde y dejar en agitación constante por 24 horas más, luego de las cuales se registró los espectros, observándose mejor definición de las AgNps. Ver fig 53.

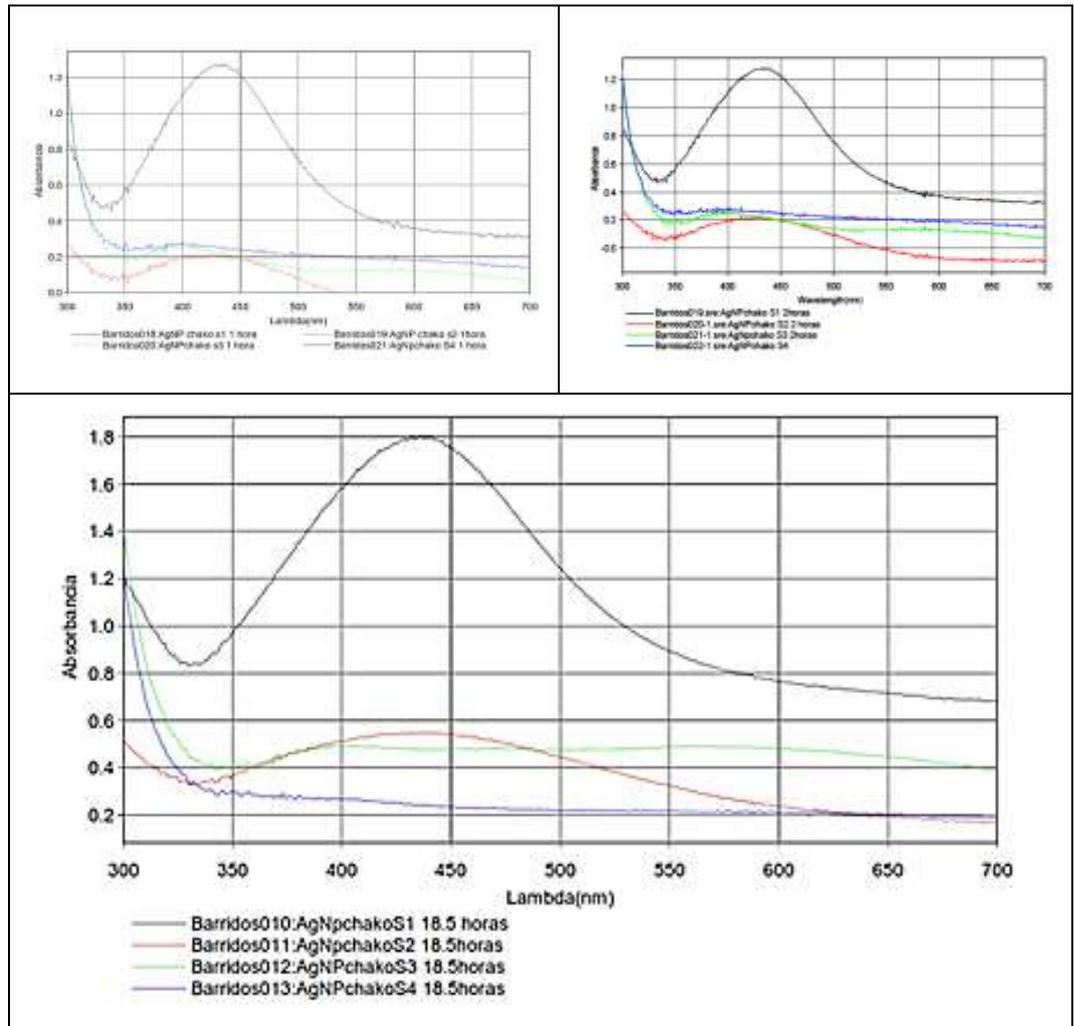


Figura 53: Estabilidad plasmon superficial muestras S1, S2, S3 y S4. A 1, 2 y 18, 5 horas.

Se evidencia que al cabo de 18.5 h de empezada la síntesis la formación de AgNps con extracto acuoso de Té verde ya debidamente estabilizadas. La formación se acelera en presencia del bioreductor.

A partir de este momento se empieza a trabajar con AgNO_3 0.1 M. y bioreductor.

5.6.a.2 Efecto de la relación arcilla /Ag+

Se realizó de acuerdo a las condiciones descritas en la Tabla 21, en la figura 54 se observa que las absorbancias que muestran los nanocompositos con la variación de las proporciones de arcilla/Ag+, la muestra S7 presenta mejores características.

Tabla 21: Variación de la concentración de fracción arcilla Chak'o-Na

Código	AgNO ₃		Extracto acuoso		Frac arcilla Chaq'o	
	Vol.mL	Conc. M	Vol. mL	Conc. %	peso g.	H ₂ O mL
S5	2	0.1	5	100	0.05	20
S6	2	0.1	5	100	0.1	20
S7	2	0.1	5	100	0.15	20
S8	2	0.1	5	100	0.2	20
S8	2	0.1	5	100	1	20

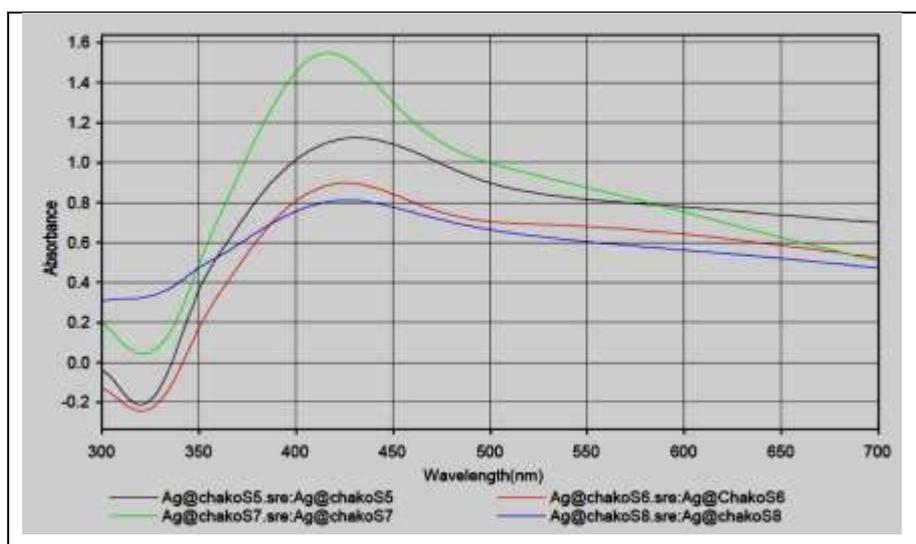


Figura 54: Efecto de la relación arcilla/Ag+

Los picos de plasmón superficial característicos presentan máxima absorción a la misma longitud de onda (420 nm), es decir, el tamaño y la forma de las nanopartículas no dependen de la relación entre el nitrato de plata y el reductor inorgánico. Las bandas de plasmón con menor absorción indican que en este experimento, el extracto acuoso es el factor limitante para el rendimiento total de las nanopartículas, ver figura 54.

El peso de arcilla Chak'o-Na a utilizar de aquí en adelante es de 0.15 g. en 20 mL de agua.

5.6.a.3 Efecto de la concentración del reductor

La tabla 22 se indican los valores de la concentración del reductor 100%, 75%, 50% y 25%; Los resultados muestran un aumento en la absorción en los primeros minutos debido al crecimiento de las partículas con el respectivo aumento del ancho de banda (Ver figura 55). Después de cierto

tiempo con la reacción avanzada, la absorción puede disminuir, pero en general el ancho de banda sigue aumentando. Estas pruebas mostraron que se obtienen resultados óptimos en las muestras que tienen un incremento en la absorción, lo cual es bastante notorio, con un ancho de banda no muy grande. De manera contraria, se obtendrán tamaños de partícula muy grandes y muestras polidispersas.

Tabla 22: Efecto de la variación de la concentración del reductor.

Código	AgNO ₃		Extracto acuoso		Fraccin arcilla Chak'o	
	Vol.mL	Conc. M	Vol. mL	Conc. %	peso g.	H ₂ O mL
S9	2	0.1	5	100	0.15	20
S10	2	0.1	5	75	0.15	20
S11	2	0.1	5	50	0.15	20
S12	2	0.1	5	25	0.15	20

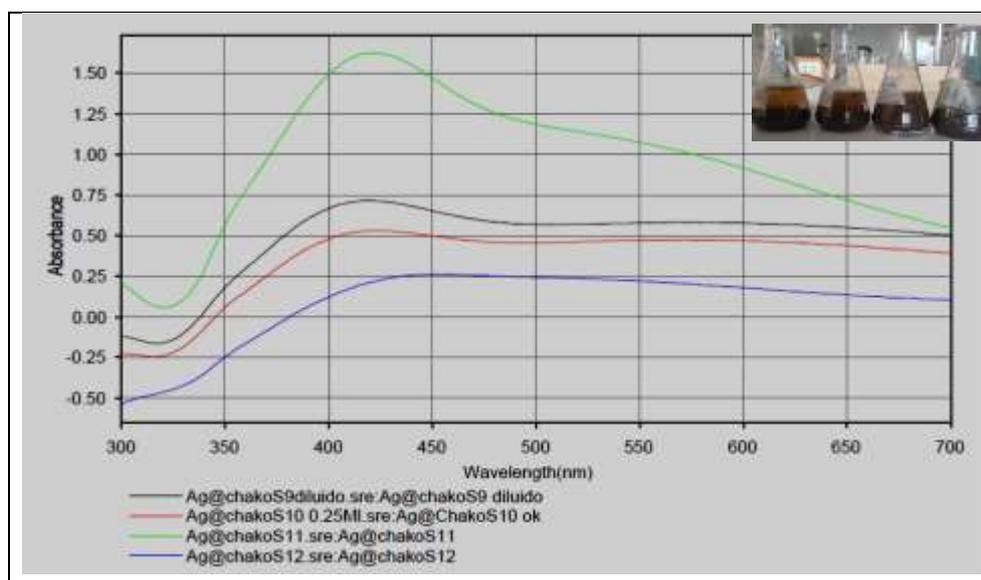


Figura 55: Efecto de la concentración del reductor.

Una concentración de extracto acuoso al 100% permite una nucleación lo suficientemente rápida y un buen control del crecimiento. Las partículas obtenidas, en este caso, son generalmente monodispersas.

5.6.a.4 Efecto del pH

Se midió el pH de la solución inicial AgNO_3 + Extracto acuoso -TV+ chak'ó-Na, y luego se llevó con HCl y NaOH a valores de pHs indicados en la tabla 23.

Tabla 23: Efecto del pH en la obtención de Ag/arcilla-TV

Código	AgNO ₃		Extracto acuoso		Fracc. arcilla Chak'ó-Na		pH inicial	pH final
	Vol.mL	Conc. M	mL	Conc. %	peso g.	H ₂ O mL		
S13	2	0.1	5	100	0.15	20	7.51	2.69
S14	2	0.1	5	100	0.15	20	7.51	5.08
S15	2	0.1	5	100	0.15	20	7.51	7.52
S16	2	0.1	5	100	0.15	20	7.51	12.59

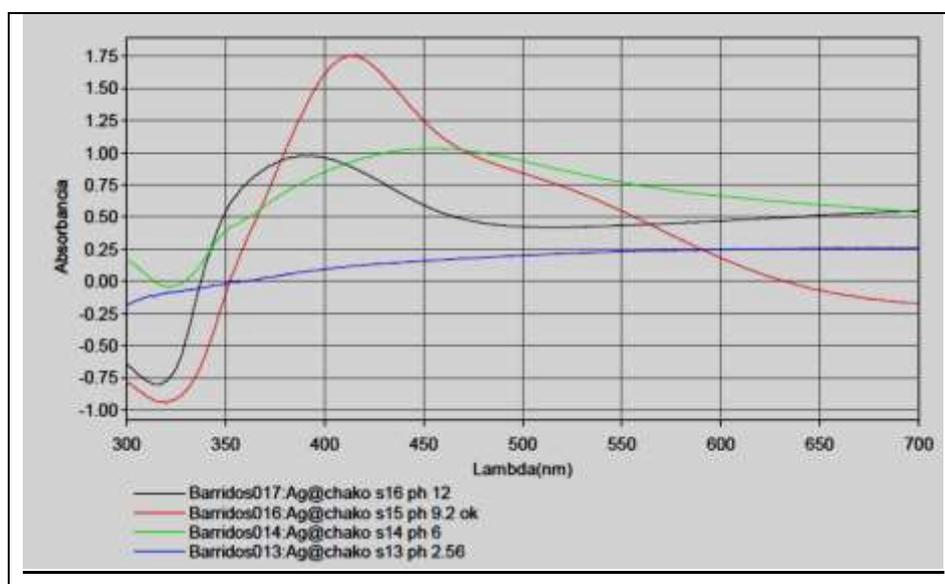


Figura 56: Efecto del pH, a 3 días de síntesis.

La Figura 56 muestra los espectros de absorción UV-Vis obtenidos para sistemas coloidales de nanopartículas de plata empleando extracto acuoso de té verde dopadas en matriz de arcilla ckak'ó. Se muestra interesante entre pH 6 hasta 9.2, como se observa al cabo de 3 días a pH 2.69 no se registra la banda característica de AgNps, desde el pH 6 hasta 12 se aprecia la presencia del plasmon superficial, donde el pH 6 muestra un máximo de absorbancia a 450 nm, a pH 9.2 410nm (pico bien definido con mayor altura) y a pH 12 a 375 nm (con menor altura, bien definido y con corrimiento a longitudes de onda menores, posiblemente menor tamaño de AgNps). De acuerdo con (Aguilar-Méndez et al. 2011).

Las condiciones óptimas de síntesis de las nanopartículas de plata dopadas en arcilla se resumen en la tabla 24 y son:

Tabla 24: Condiciones óptimas de síntesis Ag/arcilla

Código	AgNO ₃		Extracto acuoso		Chak'ó - Na		T°C	pH final
	Vol. mL	Concetr. M	Vol. mL	Concetr. %	peso g	Vol H ₂ O mL		
óptimo	100	0.1	125	100	10	1000	50	de 6 a 9

5.6.2 Caracterización Ag/arcilla

5.6.b.1 FT-IR Ag/arcilla pH ácido

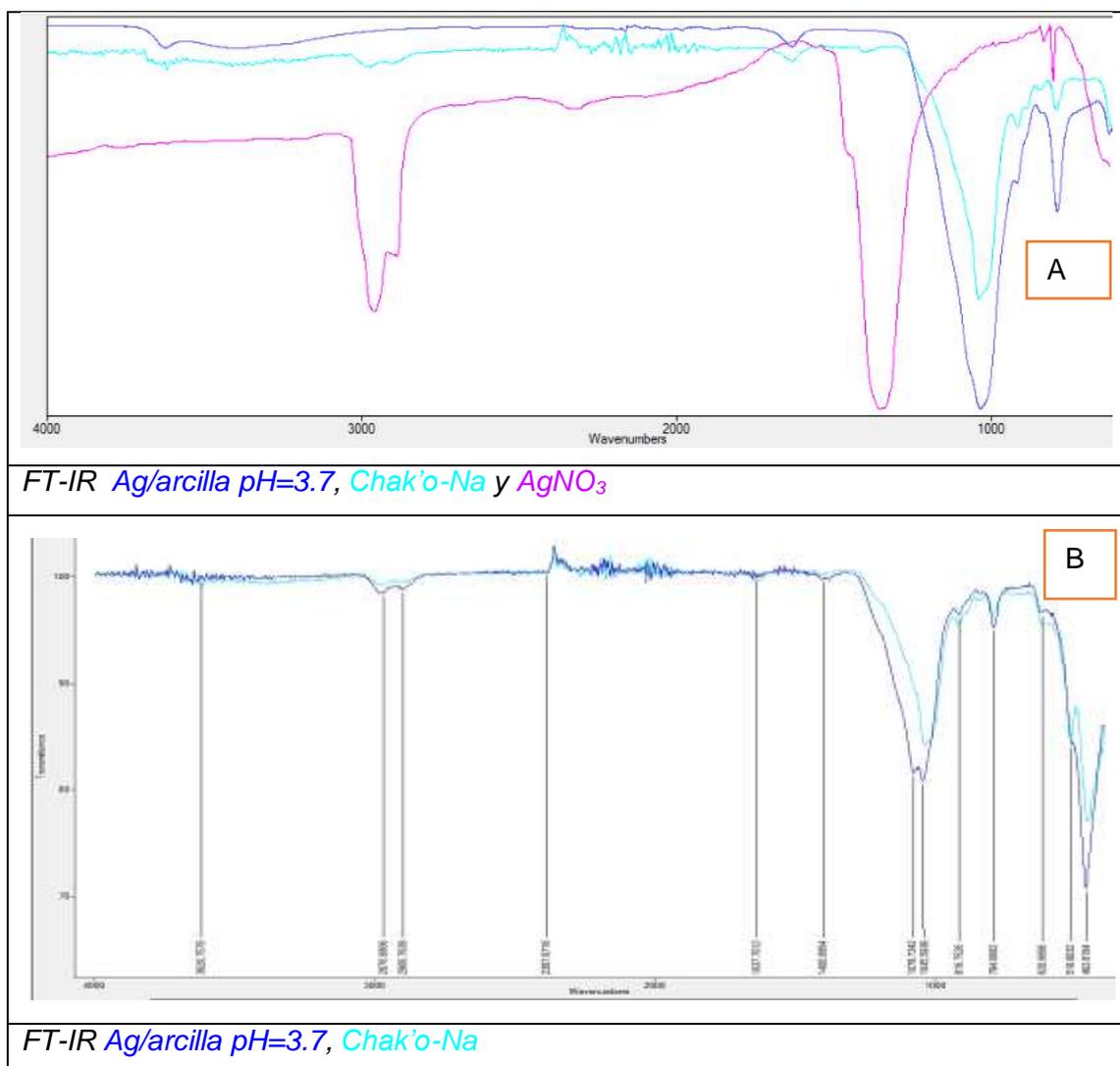


Figura 57: FT-IR *Ag/arcilla* pH=3.7, *Chak'o-Na* y *AgNO₃*.

La figura 57-A muestra los espectros FT-IR superpuestos de *Ag/arcilla* pH=3.7, *Chak'o-Na* y *AgNO₃*, destacando la similitud y armoniosa

superposición de *Ag/arcilla pH=3.7*, *Chak'o-Na*. Los máximos de absorción para Ag^+ y NO_3^- , para el caso de la AgNp ya no están presentes a 1348 cm^{-1} y 2900 cm^{-1} .

La figura 57-B muestra la comparación de la arcilla Chak'o-Na con el compuesto Ag/arcilla- ácido, no tiene picos de absorción 2921 atribuibles a tensiones O-H. Mientras tanto, la intensidad de esta banda disminuyó, lo que refleja que la cantidad de agua adsorbida en el Chak'o-Na disminuyó después de la modificación del Chak'o-Na con iones Ag^+ .

De acuerdo a las condiciones de síntesis, con pH ácido, este pH influye en la naturaleza de la carga de las láminas y caras de la arcilla, así a pH ácido estas se cargan positivamente, ejerciendo repulsión a Ag^+ .

5.6.b.2 SEM-EDX Ag/arcilla pH ácido

La micrografía de la figura 58 muestra agregados dispersos atribuibles a la disminución del tamaño de láminas al estar en pH ácido donde se favorece la delaminación, existen zonas oscuras atribuibles a la presencia de AgNps tonos oscuros, que está presente en 3,16% en porcentaje de átomos; el análisis EDS, muestra que además de los elementos constituyentes de la arcilla, la presencia de cloro en 0.44% puede atribuirse a la homoionización de la arcilla con NaCl y el proveniente del HCl que se utilizó para llevar el compuesto a pH ácido.

El EDS muestra la existencia de óxido de silicio + óxido de aluminio + partículas de plata, trazas Na, Mg y Fe

En la síntesis de este composite se observa claramente dos fases presentes, una coloidal que precipita a las 6 horas de preparado el composite, dejando una parte sólida y otra líquida coloidal, para el caso del análisis SEM se utilizó la parte sólida y para los siguientes análisis la parte líquida.

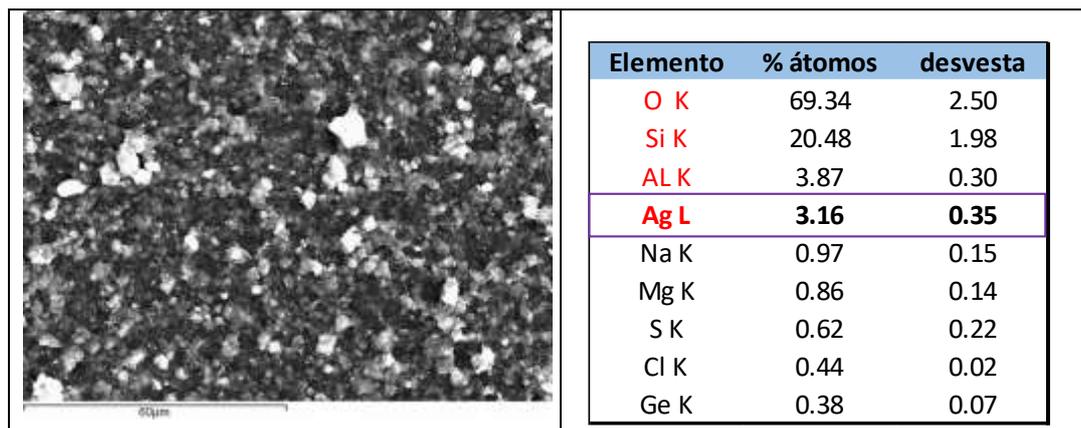


Figura 58: Micrografías y EDS Ag/arcilla

5.6.b.3 TEM Ag/arcilla pH ácido

La figura 59 muestra las formas y tamaños, así como su distribución de la solución sobrenadante (solución coloidal) que al cabo de 3 meses empezó a cambiar de coloración anaranjada a marrón oscuro, atribuible al incremento de tamaño de las nanopartículas.

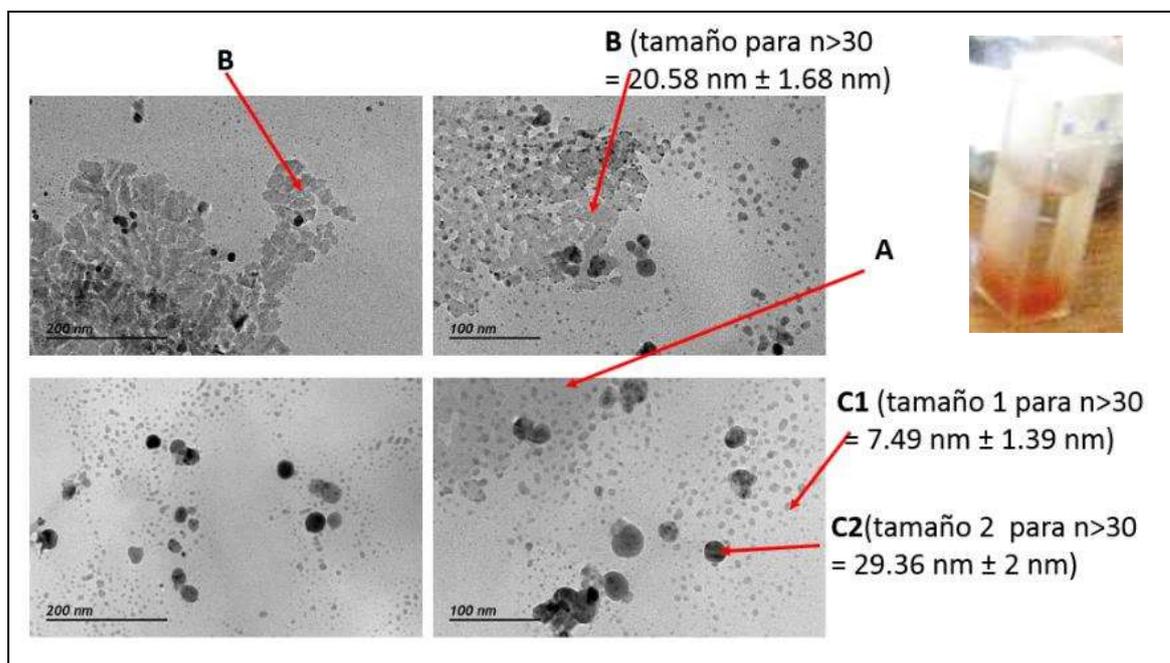


Figura 59: TEM nanopartículas Ag/arcilla en solución coloidal, presenta tamaños y fases diferentes: A: Capa homogénea difusa -nanoarcillas, B: capa particulada, más abundante - nanoarcillas, que alcanza tamaños de $20.50 \text{ nm} \pm 1.68 \text{ nm}$; Nanopartículas sueltas de plata con dos grupos de tamaños bien diferenciados C1= $7.49 \text{ nm} \pm 1.39 \text{ nm}$ y C2 tamaños de $29.36 \pm 2 \text{ nm}$

Presenta 3 fases claramente diferenciadas, 1) Capa homogénea y difusa (A) o particulada (B) mas abundante que alcanza tamaños de 20.50 nm

± 1.68 nm. La composición de ambas es: óxido de silicio + óxido de aluminio + trazas Mg y Fe <1% y 2, se trata de nanoarcillas, que mantienen su estructura laminar; existen nanopartículas sueltas de plata con dos grupos de tamaños bien diferenciados, C1: $7.49 \text{ nm} \pm 1.39 \text{ nm}$ y C2: $29.39 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$ de forma predominante semiesférica.

El pH ácido favorece la formación de nanopartículas de plata de menor tamaño y por la presencia de mayor cantidad de protones hay una descompesación de carga laminar que expulsa el agua adsorbida e interlaminar, provocando separación de dos fases, la fase de nanoarcilla+ nanopartículas y la fase acuosa.

5.6.2 Ag/arcilla pH básico

5.6.c.1 SEM Ag/arcilla pH básico

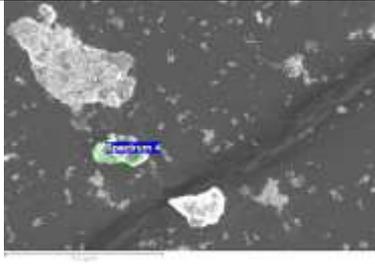
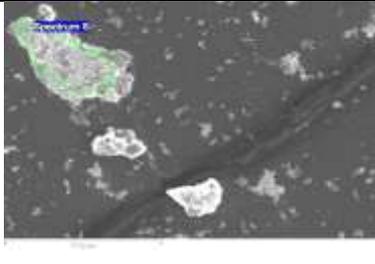
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Elemento</th> <th>% átomos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>O K</td><td>56.76</td></tr> <tr><td>Si K</td><td>15.57</td></tr> <tr><td>Mg K</td><td>10.82</td></tr> <tr><td>Al K</td><td>8.60</td></tr> <tr><td>Ti K</td><td>4.48</td></tr> <tr><td>Na K</td><td>1.29</td></tr> <tr><td>Ag L</td><td>1.07</td></tr> <tr><td>Fe K</td><td>0.70</td></tr> <tr><td>S K</td><td>0.36</td></tr> <tr><td>K K</td><td>0.36</td></tr> </tbody> </table>	Elemento	% átomos	O K	56.76	Si K	15.57	Mg K	10.82	Al K	8.60	Ti K	4.48	Na K	1.29	Ag L	1.07	Fe K	0.70	S K	0.36	K K	0.36	
Elemento	% átomos																							
O K	56.76																							
Si K	15.57																							
Mg K	10.82																							
Al K	8.60																							
Ti K	4.48																							
Na K	1.29																							
Ag L	1.07																							
Fe K	0.70																							
S K	0.36																							
K K	0.36																							
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Elemento</th> <th>% átomos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>O K</td><td>60.64</td></tr> <tr><td>Si K</td><td>35.17</td></tr> <tr><td>Ag L</td><td>1.12</td></tr> <tr><td>Na K</td><td>0.82</td></tr> <tr><td>Al K</td><td>0.80</td></tr> <tr><td>Mg K</td><td>0.61</td></tr> <tr><td>S K</td><td>0.42</td></tr> <tr><td>Fe K</td><td>0.42</td></tr> </tbody> </table>	Elemento	% átomos	O K	60.64	Si K	35.17	Ag L	1.12	Na K	0.82	Al K	0.80	Mg K	0.61	S K	0.42	Fe K	0.42					
Elemento	% átomos																							
O K	60.64																							
Si K	35.17																							
Ag L	1.12																							
Na K	0.82																							
Al K	0.80																							
Mg K	0.61																							
S K	0.42																							
Fe K	0.42																							
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Elemento</th> <th>% átomos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>O K</td><td>42.26</td></tr> <tr><td>Ag L</td><td>52.48</td></tr> <tr><td>Na K</td><td>2.63</td></tr> <tr><td>Si K</td><td>1.88</td></tr> <tr><td>Fe K</td><td>0.76</td></tr> </tbody> </table>	Elemento	% átomos	O K	42.26	Ag L	52.48	Na K	2.63	Si K	1.88	Fe K	0.76											
Elemento	% átomos																							
O K	42.26																							
Ag L	52.48																							
Na K	2.63																							
Si K	1.88																							
Fe K	0.76																							
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Elemento</th> <th>% átomos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>O K</td><td>51.49</td></tr> <tr><td>Ag L</td><td>36.84</td></tr> <tr><td>Si K</td><td>4.68</td></tr> <tr><td>Na K</td><td>2.00</td></tr> <tr><td>Al K</td><td>1.63</td></tr> <tr><td>Mg K</td><td>1.55</td></tr> <tr><td>S K</td><td>0.95</td></tr> <tr><td>Fe K</td><td>0.86</td></tr> </tbody> </table>	Elemento	% átomos	O K	51.49	Ag L	36.84	Si K	4.68	Na K	2.00	Al K	1.63	Mg K	1.55	S K	0.95	Fe K	0.86					
Elemento	% átomos																							
O K	51.49																							
Ag L	36.84																							
Si K	4.68																							
Na K	2.00																							
Al K	1.63																							
Mg K	1.55																							
S K	0.95																							
Fe K	0.86																							

Figura 60: SEM y EDS Ag/arcilla- básico.

En la figura 60 se muestra principalmente de la composición elemental, muestra analizada 3 meses después de la síntesis, al cabo del cual existen aglomeraciones importantes, disgregadas pero adsorbidas posiblemente en las láminas de la arcilla.

Se obtuvo un composite Ag/arcilla-básico, que tiene una naturaleza coloidal hasta antes de los 6 meses, al cabo del cual forma aglomerados incidiendo en el cambio de coloración de blanquecina (color característico de la arcilla en suspensión) a marrón oscuro a negro, con formación de cúmulos sólidos de diferentes formas de Ag° . Sobre el contenido de Ag° es muy variable, así va desde 1.07 (espectrum 3), 1.12 (espectrum 4), 52.48 (espectrum 5) a 36.84 % de átomos (espectrum 5).

A pH básico se logra obtener nanoparticulas de plata de formas muy variadas, pero con contenido importante de plata metálica, se favorece la reduccionde iones plata a plata metálica.

5.6.c.2 TEM Ag/arcilla pH básico

La figura 61 muestra en efecto que se ha conseguido menores tamaños en comparación a los que se obtuvieron con fitoconstituyentes, existen 2 tamaños bien diferenciados.

La fase de la arcilla se encuentra dispersa y también como estabilizante. Los tamaños alcanzados son: B 26.61 ± 5.39 nm y C: 5.28 ± 0.87 nm.

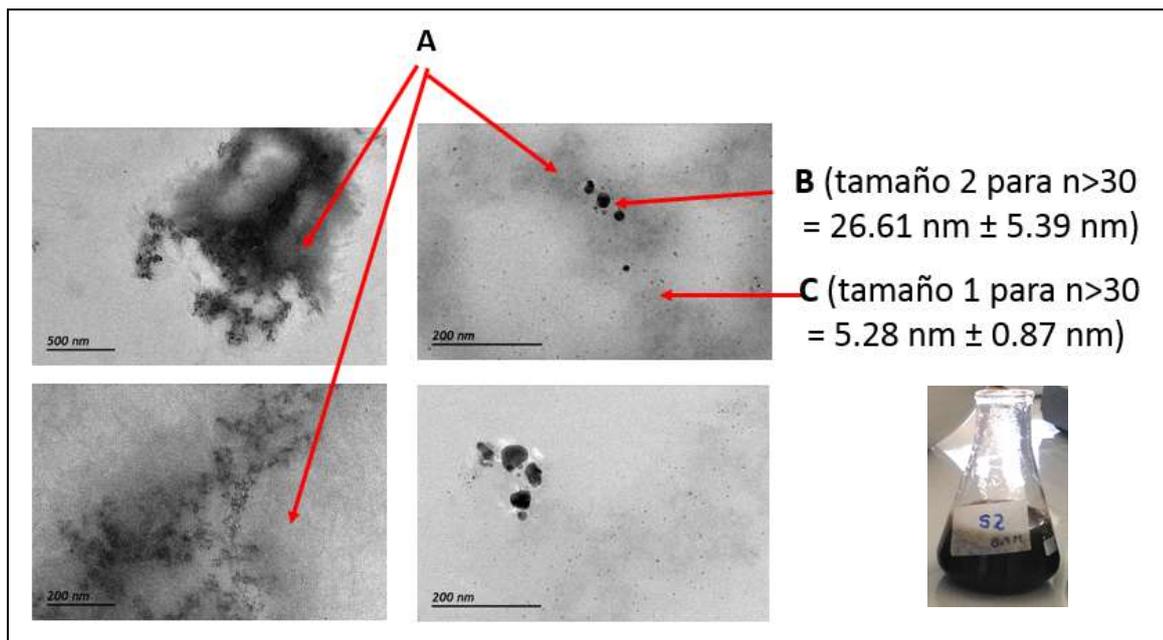


Figura 61: TEM Ag/arcilla pH básico

La figura 61 muestra: 1) Capa homogénea y difusa A, nanoarcillas, cuya composición es: óxido de silicio + óxido de aluminio + sodio (>10%) y trazas Na, K, Fe y Ca (<1%) y 2), además están presentes nanopartículas sueltas de plata con dos grupos de tamaños bien diferenciados B (tamaño 2 para $n > 30 = 26.61 \text{ nm} \pm 5.39 \text{ nm}$) y C (tamaño 1 para $n > 30 = 5.28 \text{ nm} \pm 0.87 \text{ nm}$).

5.6.3 Ag/arcilla-TV pH básico

5.6.d.1 UV-VISIBLE Ag/arcilla-TV pH básico

En la figura 62 tenemos el espectro del composite Ag/arcilla -TV-básico, con un máximo de absorbancia a 450 nm, desplazamiento a longitudes de onda mayores posiblemente debido a la formación de AgNps adsorbidas en la arcilla Chak'ó con fitocapa como estabilizante.

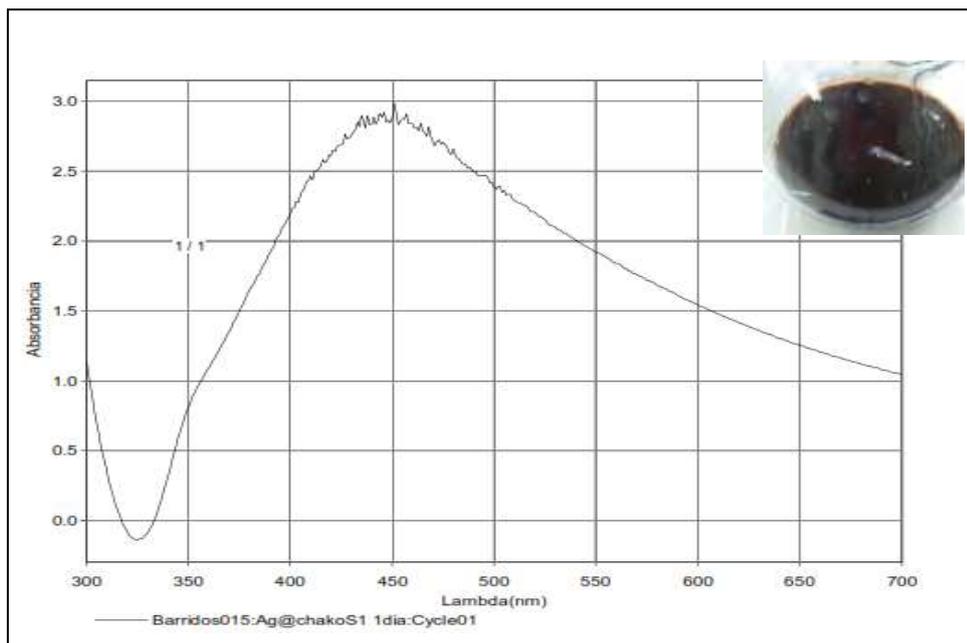


Figura 62: Espectro UV-Vis Ag/arcilla -TV-básico

5.6.d.2 DRX Ag/arcilla -TV-pH básico

El análisis de DRX se realizó en el laboratorio MATMOL de la Universidad La Laguna España, en las mismas condiciones que la muestra Ag/arcilla-Al.

El difractograma de rayos X mostrado en la figura 63, junto al análisis de los patrones de DRX de la tabla 25: lista de patrones en la irradiación de Ag/arcilla-TV pH básico y tabla 26: identificación y análisis semicuantitativo de fases presentes, muestran que hay patrones de la formación de cloruro de plata cristalino (AgCl) sobre las nanopartículas de acuerdo con las presencias simultáneas de los máximos a 27.9° y 32.2° que corresponden con las señales de los planos cristalinos (111) y (200) de la celda cúbica centrada en las caras del AgCl (04-006-5378). Adicionalmente cuatro fuertes reflexiones de Bragg a 38.06° , 46.17° , 64.44° y 77.37° corresponden a los planos de (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) y (3 1 1) respectivamente de una celda cúbica centrada en las caras correspondiente a la plata metálica (04-004-4773) que se cristalizaron en una estructura cúbica centrada en la cara. Los valores de espaciado interplanar (d calculados) son 2.36, 1.97, 1.45 y 1.23 Å para (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) y (3 1 1) planos respectivamente y coinciden con los valores estándar de plata.

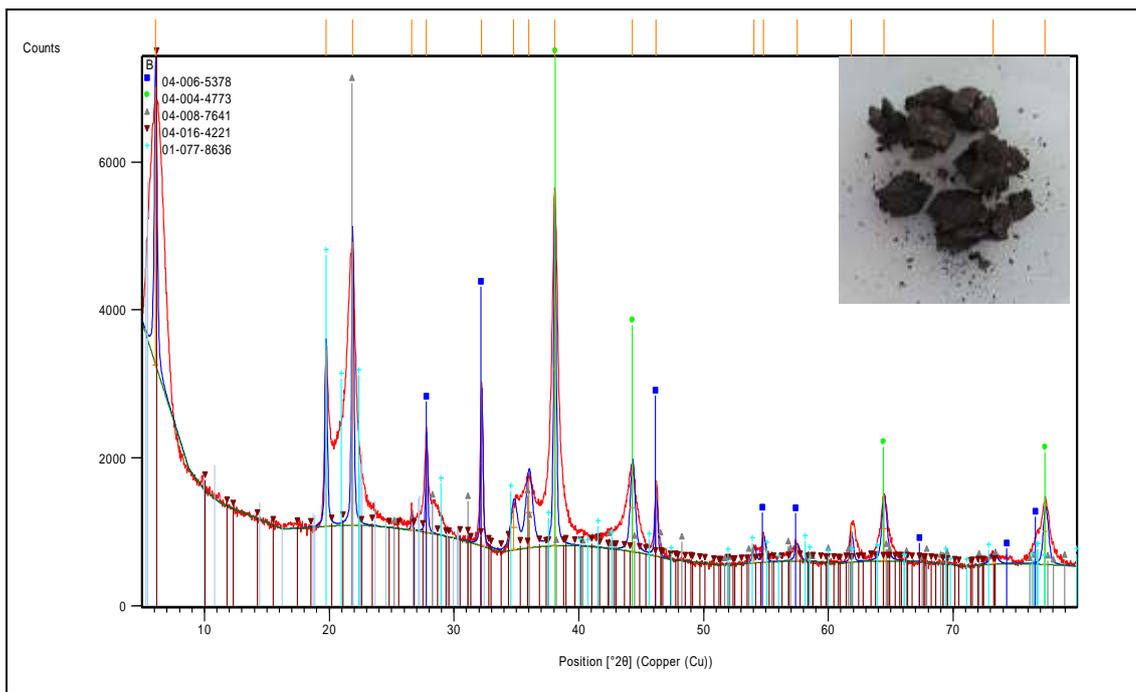


Figura 63: Difractograma Ag/arcilla-TV pH básico

Por su parte el máximo a 31.8° que es asignado al plano (200) del cloruro de sodio no está presente, confirmando que el sodio que se utilizó para la homoionización de la fracción arcilla ha sido intercambiado por Ag^+ .

En la tabla 25 y 26 se muestra las fases presentes y el análisis semicuantitativo teniendo para AgCl y Ag^0 en un 10% y 12% y aluminio silicato con plata 5% respectivamente.

Tabla 25: Lista de patrones en la irradiación de Ag/arcilla-TV pH básico

Código refer.	Score	Nombre de componente	Fact. Escala	Formula Química
04-006-5378	67	Cloruro de plata	0.470	Ag Cl
04-004-4773	64	Plata	0.899	Ag
04-008-7641	46	Oxido de silicio	0.803	Si O_2
04-016-4221	49	Plata aluminosilicato	0.747	$\text{Ag}_{21.5} \text{Al}_{21.5} \text{Si}_{26.5} \text{O}_{96}$
01-077-8636	37	Oxido de silicio	0.493	Si O_2

Tabla 26: Análisis semicuantitativo por DRX Ag/arcilla-TV pH básico

% Semicuantitativo	Nombre del componente	Formula química	Nombre común	Clasificación mineral
10	Cloruro de plata	Ag Cl	Clorargirita	Grupo Halita Sub grupo: haluros

12	Plata	Ag	Plata
37	Oxido de silicio	SiO ₂	Cristobalita
5	Plata aluminio silicato	Ag _{21.5} Al _{21.5} Si _{26.5} O ₉₆	Faujasita
36	Oxido de silicio	SiO ₂	Tridimita 2H beta

Se estimo el tamaño cristalino promedio utilizando la fórmula de Debye-Scherrer, $D = \lambda/\beta \cos\theta$ (Jyoti, Baunthiyal, and Singh 2016). El cristalito promedio calculado de los AgNps es 37.23 nm.

Existe una ampliación de la distancia basal a 14.49 ángstrom (Å), debido a posible intercalación de AgNps en la interlámina de Chak'o-Na. Ver tabla 27.

Tabla 27: Distancia basal Ag/arcilla-TV básico

Pos. [°2θ]	Alto [cts]	FWHM [°2θ]	d-espaciado [Å]	Rel. Int. [%]
6.0979	3754.15	0.2558	14.49436	78.67

5.6.d.3 SEM Ag/arcilla -TV- básico

Las micrografías (figura 64) muestran que permanece el carácter laminar de la matriz, además de presencia de Ag⁰ en los bordes principalmente, y en su composición elemental con óxido de silicio + óxido de aluminio + partículas de plata; trazas de Mg y cuantificación similar a la muestra anterior.

La cantidad de Ag⁰ es de $1,58 \pm 0.2$ % átomos, con la composición elemental característica de un filosilicato predominantemente laminar, se observa el incremento en la cantidad de % átomos de oxígeno, atribuible a la presencia de la fitocapa, que a diferencia del compuesto Ag/arcilla básica tiene menor tamaño, confirmando que los fitoconstituyentes y la arcilla también han actuado como estabilizantes.

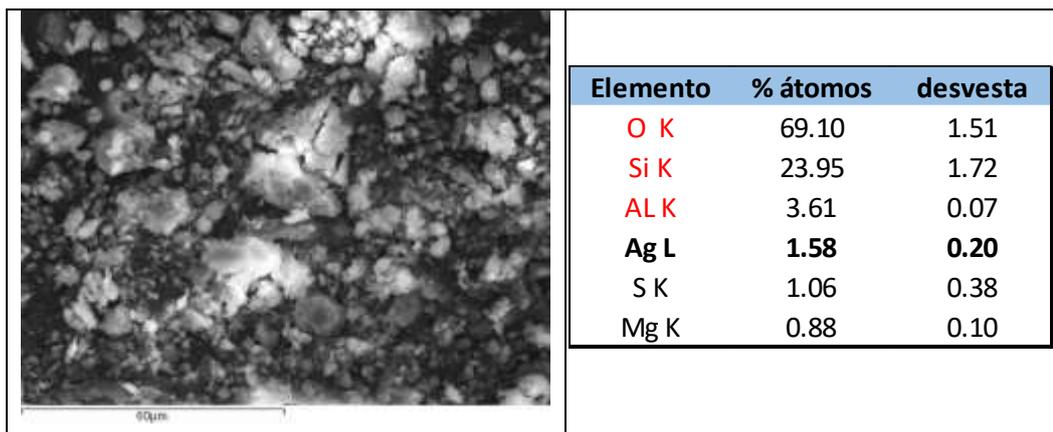


Figura 64: SEM y EDX Ag/arcilla- TV pH básico.

5.6.d.4 TEM Ag/arcilla -TV-pH básico

En la figura 65 vemos las diferentes formas y tamaños alcanzados, con 2 tamaños diferenciados B: 15.77 ± 0.78 nm y C: 37.46 ± 5.28 (éste último cercano al tamaño de cristalita calculado en base a las irradiaciones de DRX).

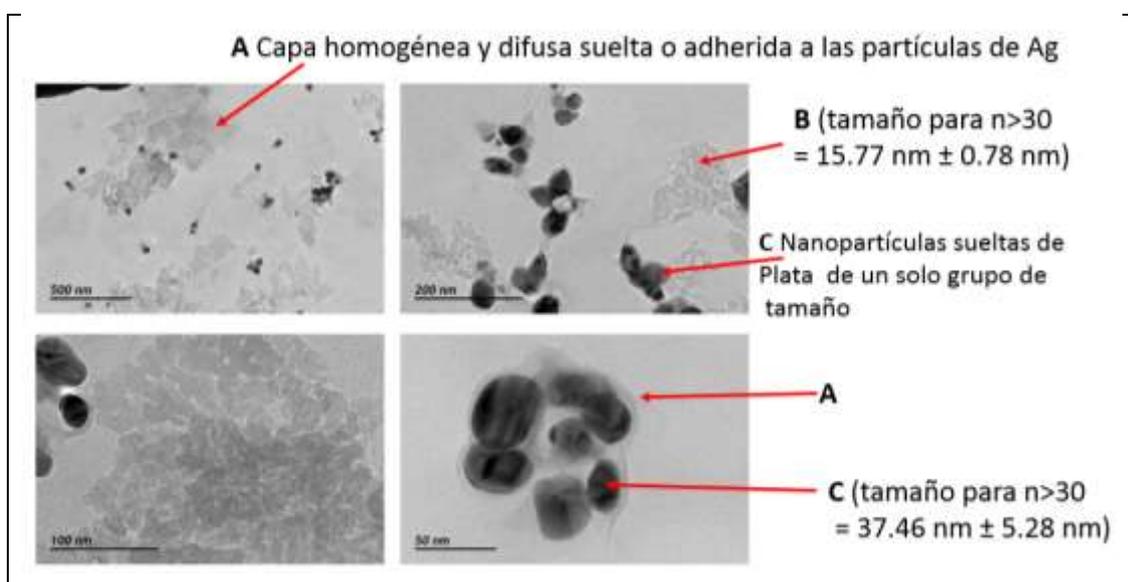


Figura 65: TEM Ag/arcilla -TV-pH básico

Presenta 1) Capa homogénea y difusa suelta o adherida a las partículas de Ag (A) o particulada (B) más abundante. La composición de ambas es: óxido de silicio + óxido de aluminio + trazas Mg (<1%). 2) Nanopartículas sueltas de plata de un solo grupo de tamaño (C).

Los filosilicatos se encuentran separados de las AgNps, las AgNps están recubiertas de la fitocapa y las de menor tamaño en las interlamina de la arcilla, con morfología variada donde predominan las formas semicirculares.

5.6.d.5 FT-IR y ATR Ag/arcilla -TV-pH básico

Los espectros FT-IR en la caracterización de nanopartículas metálicas es para detectar especies químicas que interaccionan con la superficie de las partículas, en la fig. 66 muestra los espectros FT-IR de los precursores empleados (AgNO_3 y arcilla Chak'o homoionizada) y de las nanopartículas de plata sintetizadas en esta investigación. El espectro del AgNO_3 muestra una banda de absorción muy intensa a 1348 cm^{-1} , la cual es propia del par ión $\text{Ag}^+ \text{NO}_3^-$. El espectro de Ag/arcilla-TV básico, presenta las mismas características que el del composite Ag/arcilla-TV-ácido.

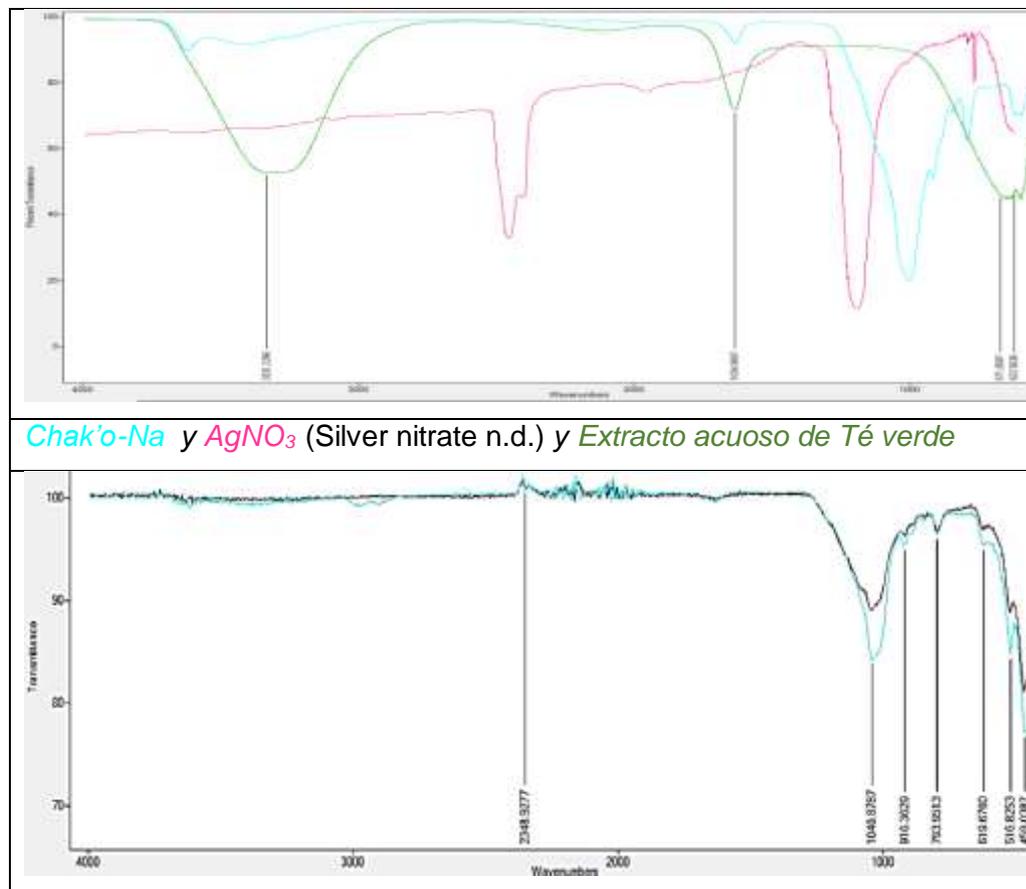


Figura 66: Ag/arcilla-TV pH=8 y Chak'o-Na

Comparando los espectros FT-IR de los precursores, reductores y estabilizantes se desprende que no hay modificación de la matriz, y poca intervención de los fitoconstituyentes del extracto acuoso.

5.6.d.6 Termograma Ag/arcilla -TV-pH básico

La curva TG (fig. 67) de la arcilla Chak'o y el composite muestra pérdidas por debajo de 100 ° C con una pérdida de peso correspondiente debido a la eliminación de agua.

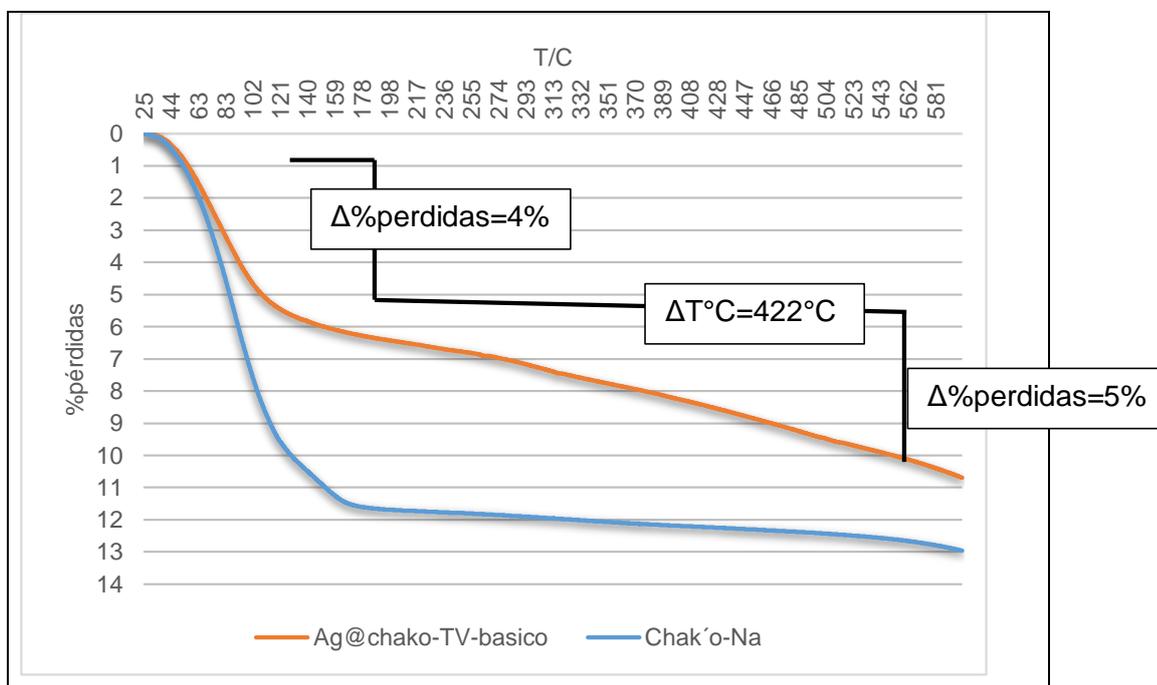


Figura 67: TG Ag/arcilla-TV- básico

Se determinó la estabilidad térmica de la fracción arcilla chako-Na y Ag@chako-TV básico con el objetivo principal de conocer sus temperaturas de degradación y el efecto de la incorporación de las nanopartículas a la matriz aluminosilicada. En la Figura 67 se presenta la comparación de la estabilidad térmica de la arcilla-Na sin modificar y el compuesto Ag@chako-TV básico. Se puede observar que la arcilla presenta una pérdida del 10% en peso a una temperatura de 130° C y que con la presencia de nanopartículas esta temperatura se ve incrementada hasta 670° C para el caso del nanocompuesto Ag@chako-TV básico que contiene 1.58 % átomos de partículas de plata, por lo que la presencia de nanopartículas dentro de la matriz silicea favorece la estabilidad térmica de los nanocompuestos. Se puede observar que la presencia de nanopartículas de plata incrementa la estabilidad térmica hasta 422° C para el caso del nanocompuesto al 1.58 % átomos de partículas de plata.

Los reportes en la literatura mencionan que con la incorporación de las nanopartículas de plata dentro de una matriz silícea se incrementa la estabilidad térmica de los compuestos obtenidos, así como los resultados obtenidos en este trabajo. De acuerdo a lo reportado por Ling Zhang y col.(Zhang et al. 2018) las curvas TG montmorillonita orgánica y nanocompuestos de montmorillonita/nanopartículas de plata se incrementa en función de la concentración de nanopartículas dentro de la matriz. Este incremento lo encuentran asociado directamente con el mecanismo de degradación de las la fitocapa, en donde los nanocompuestos reducen la movilidad de los compuestos de la fitocapa y por lo tanto, el compuesto se vuelve térmicamente más estable ya que se retarda su degradación.

Los demás descensos a baja temperatura corresponden a la evaporación o descomposición del composite sobre las superficies de las placas de aluminosilicato, y el otro pico representa la evaporación o descomposición de TV entre las placas de la arcilla. Las curvas TG revelan que la evaporación o descomposición de extracto acuoso se produce a aproximadamente 140 ° C. Esto indica que los metabolitos orgánicos se han intercalado en las capas de montmorillonita, similar al estado inicial, y que las plaquetas de arcilla tienen la capacidad de proteger las moléculas orgánicas de la descomposición. Un comportamiento similar fue reportado por Scaffaro et al.(Scaffaro et al. 2009)

5.6.3 Ag/arcilla-TV pH ácido

5.6.e.1 DRX Ag/arcilla-TV pH ácido

El difractograma y la lista de patrones de la muestra que el pH ha influenciado en la modificación de componentes, ya no se registra la montmorillonita sino vermiculita y óxidos de silicio, también la plata está en forma de cristales de AgCl en un porcentaje de 4%, recuérdese que se acidifico la muestra con HCl, lo que hace presumir que existe cantidad suficiente de iones Ag⁺ que no se han reducido con el extracto acuso de Té Verde, y reaccionan con los cloruros del ácido, además estos se intercalan en la arcilla, mientras que las AgNps están en solución porque estaban adsorbidas a lo largo principalmente de la superficie externa de la arcilla.

Es estas condiciones es posible la formación de Ag@AgCl, o Ag@NaCl, AgCl@NaCl teniendo en consideración que nuestra arcilla es homoionizada con Na⁺ (Dingyi et al.,2018).

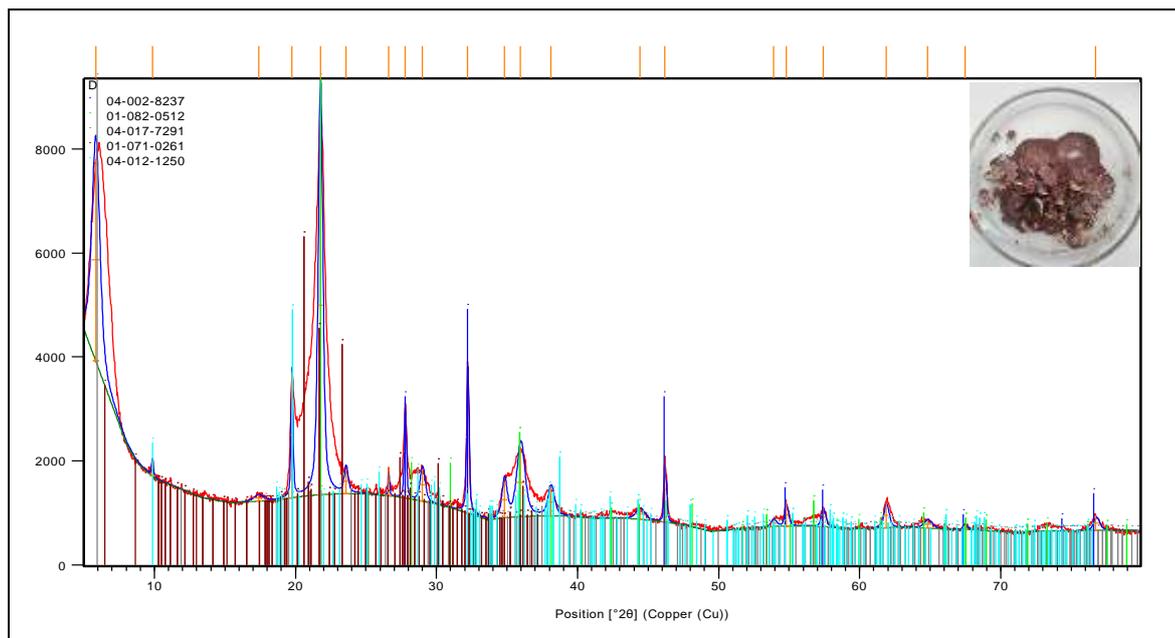


Figura 68: Difractograma Ag/arcilla-TV ácido

Para la muestra sólida se realizaron además análisis SEM (fig. 68).

Aquí se ha analizado los sólidos obtenidos, esta muestra tiene la característica que cuando se redispersa la muestra en agua desionizada esta exhibe características coloidales con mayor cantidad de AgNps. (Ver SEM, TEM y UV-VIS) con muy poca polidespersidad, lo que denominamos líquidos y presenta mejor plasmon superficial, actividad antibacterial y catalítica, además de ser más estable en el tiempo.

Tabla 28: Lista de patrones DRX Ag/arcilla-TV pH=3.7

Código Ref.	Puntuación	Nombre Componente	Factor de escala	Fórmula química
04-002-8237	66	Cloruro de plata	0.419	Ag Cl
01-082-0512	51	Oxido de silicio	1.004	Si O ₂
04-017-7291	40	Sodio, magnesio aluminio hierro óxido de silicio, hidróxido hidratado	0.590	Na _{0.930} Mg _{2.810} Fe _{0.065} Al _{1.185} Si _{2.895} O ₁₀ (OH) ₂ (H ₂ O) ₃
01-071-0261	27	Oxido de silicio	0.532	Si O ₂
04-012-1250	20	Hierro magnesio aluminio, óxido silicato hidroxido	0.386	Mg _{1.3} Fe _{0.7} Al ₄ (SiO ₄) ₂ O ₂ (OH) ₄

Tabla 29: Análisis semicuantitativo Ag/arcilla-TV pH=3.7

% Semicuantitativo	Código de referencia	Nombre de componente	Fórmula química	Nombre común	Clasificación Mineral
4	04-002-8237	Cloruro de plata	AgCl	Chlorargirita	Halita (Grupo), halide (Subgrupo)
18	01-082-0512	Oxido de silicio	SiO ₂	Cristobalita	
5	04-017-7291	Sodio magnesio aluminio Hierro Oxido de silicio hidroxido hidratado	Na _{0.930} Mg _{2.810} Fe _{0.065} Al _{1.185} Si _{2.895} O ₁₀ (OH) ₂ (H ₂ O) ₃	Vermiculita	
37	01-071-0261	Oxido de silicio	SiO ₂	Tridimita	
36	04-012-1250	Hierro magnesio aluminio oxido de silicio hidroxido	Mg _{1.3} Fe _{0.7} Al ₄ (SiO ₄) ₂ O ₂ (OH) ₄	Magnesiocloro itoide	Ottrelite (Supergroup), 2M (Group)

Se observa corrimiento a ángulos menores e incremento del espaciado basal (Zhang et al. 2018), tal como se ha calculado -ver Tabla 30, lo que indica que el pH influye en la modificación estructural de la arcilla y favorece la intercalación de AgNp (Girase et al., 2011)

Tabla 30: Distancia basal Ag/arcilla-TV pH=3.7

Pos. [°2θ]	Altura [cts]	FWHM [°2θ]	Espaciado d [Å]	Intensidad relativa [%]
5.8503	3884.58	0.6652	15.10710	53.28

5.6.e.2 SEM-EDX Ag/arcilla-TV pH ácido

Hay presencia de óxido de silicio + óxido de aluminio, trazas Mg como catión de coordinación, no se encuentra plata de manera significativa.

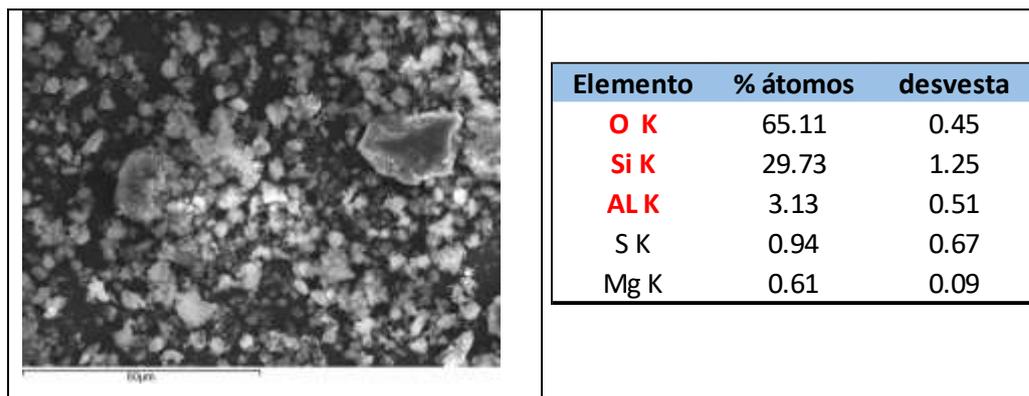


Figura 69: Micrografías y EDX Ag/arcilla-TV-pH 3.37

5.6.e.3 TEM-EDX Ag/arcilla-TV pH ácido

Se muestra en la figura 70 que el compuesto Ag/arcilla-TV-pH ácido, presenta tamaños diferenciados B: 15.41 ± 1.60 ; C1, tamaño 1 de 9.92 ± 1.50 y C2, tamaño 2 de 28.48 ± 3.36 .

Capa homogénea y difusa (A) o particulada (B) más abundante. La composición de ambas es: B óxido de silicio + óxido de aluminio + trazas Mg y Fe (<1%).

Baja cantidad de Nanopartículas de plata sueltas con dos grupos de tamaños bien diferenciados (C).

La forma predominante de las nanopartículas es esférica y son más estable en el tiempo, que al tercer año de la síntesis presenta plasmon superficial, sin formación de dos capas (solución coloidal y solución acuosa) ni cambio de coloración, atribuible a la sinergia entre arcilla y fitoconstituyentes del extracto acuoso.

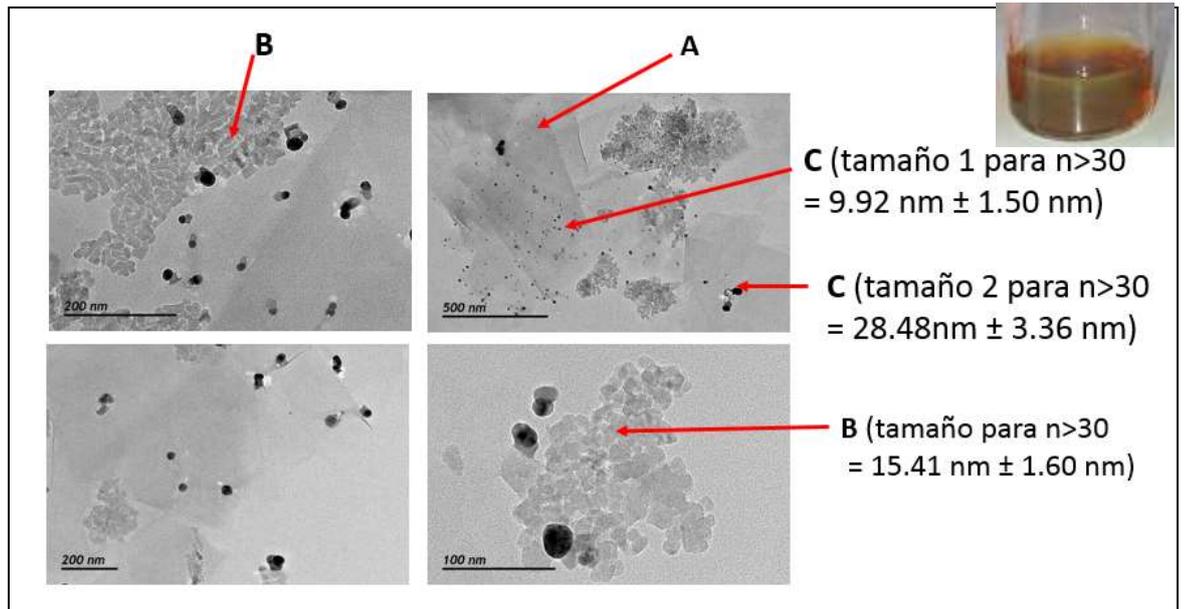


Figura 70: TEM Ag/arcilla-TV-pH ácido.

5.6.e.4 FT-IR -ATR Ag/arcilla-TV pH ácido

En la muestra sólida se aprecia que no existen modificaciones del aluminosilicato con respecto al Ag/chako-TV ácido, el espectro muestra que no hay presencia de fitoconstituyentes después de los procesos de lavado, ver espectros de la figura 71.

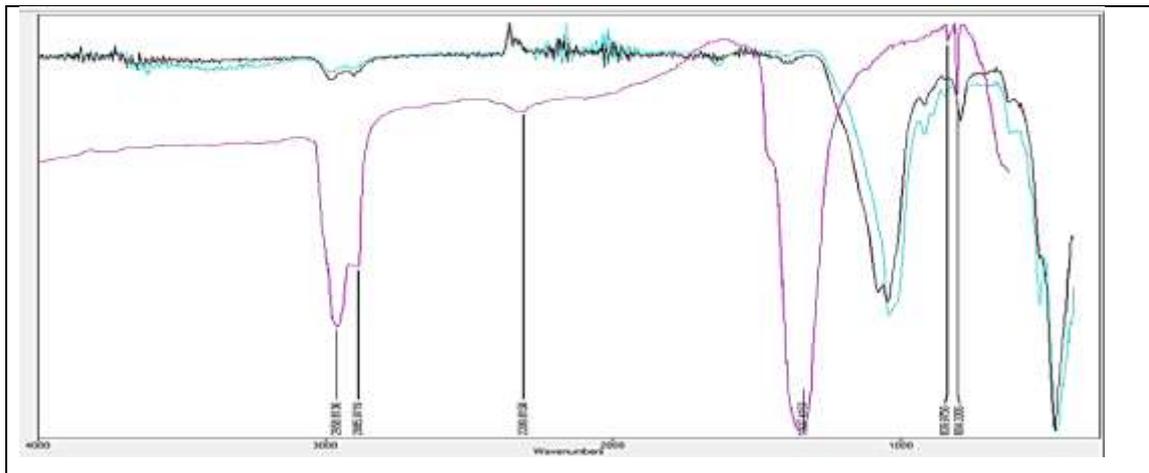


Figura 71:FT-IR Ag/arcilla-TV pH=3.7, Chak'o-Na y AgNO₃

5.6.e.5 TG Ag/arcilla-TV pH ácido

La arcilla pura muestra una mayor pérdida de peso (12%), mientras que la Ag/arcilla-TV pH ácido presenta menor pérdida de peso (7%). Al contener AgCl en la interlámina la variación de pérdida en peso con relación a la arcilla original es de 2.5%, pérdidas en 3 pasos a 89°C, 281°C y 489°C.

Confirmando que el cargado de nanopartículas de plata en la arcilla aumenta su resistencia térmica. Ver termogramas de la figura 72.

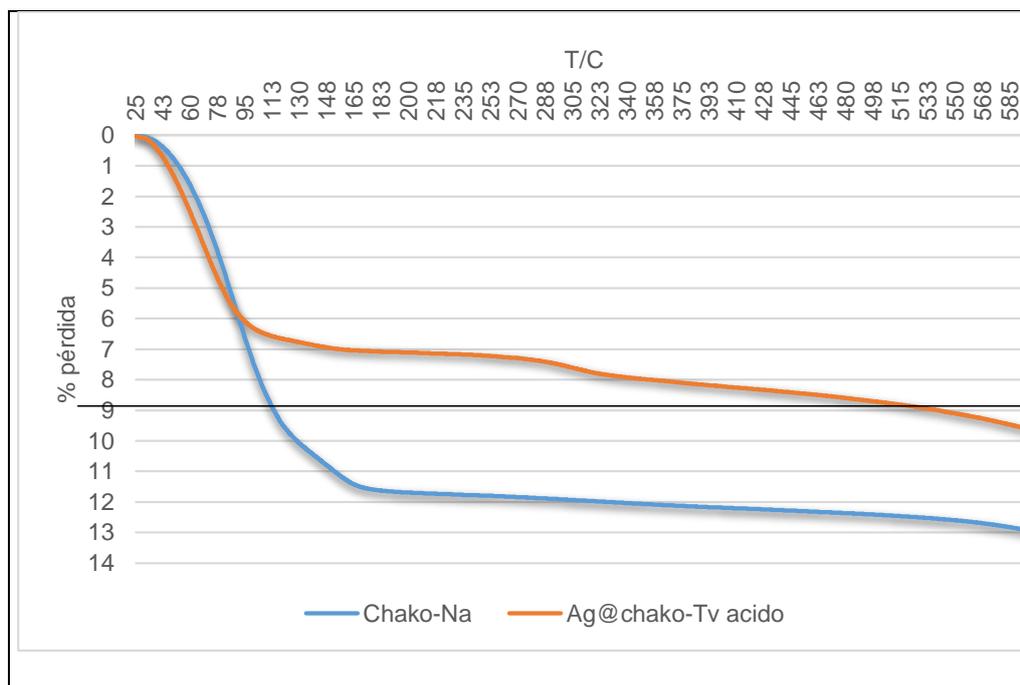


Figura 72: TG - Ag/arcilla-TV pH=3.7

5.7 Nanopartículas de plata en matriz de arcilla Chak'o pruebas antibacteriales y catalíticas

5.7.1 Determinación de la capacidad antibacterial de las AgNps

Se ha realizado pruebas de las AgNp obtenidas (ver figura 73 y tabla 31).

Existen estudios sobre la capacidad antibacterial de *Camelia Sinensis* (Sampen and Alberto 2009), AgNO_3 y AgNps donde reportan que la zona de inhibición frente a *E. Coli* es respectivamente 6 ± 0.02 , 9 ± 0.004 y 14 ± 0.02 mm (Singh et al., 2016).

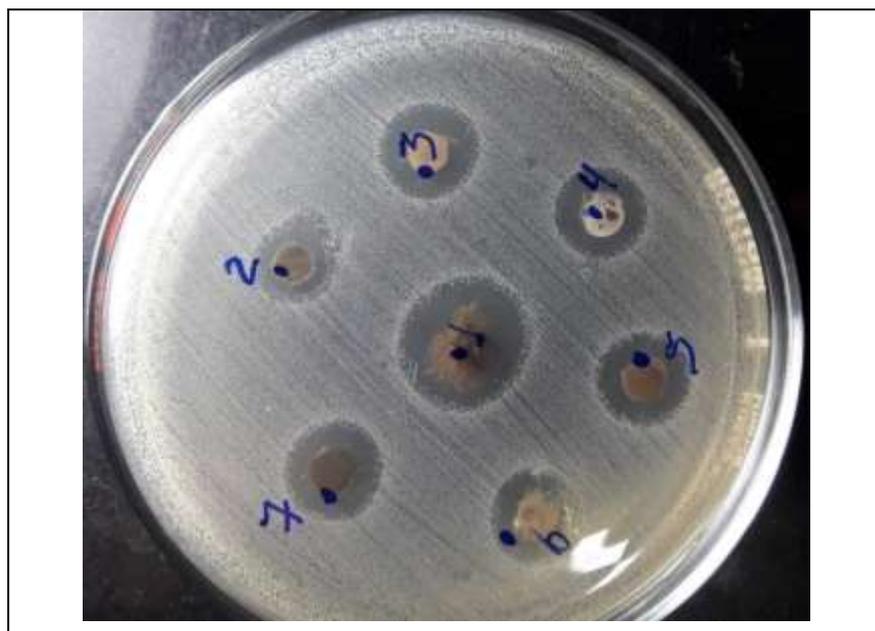


Figura 73: Prueba antibacteriana frente a *E. Coli*.

Las diferentes nanopartículas presentan un ancho de zona de inhibición entre 3 y 5.5 (Tabla 31), coincidente con el tamaño promedio alcanzado para AgNps con tamaños entre 10 y 73nm, así en otros trabajos las AgNps de 10 nm mostraron más actividad antimicrobiana que las partículas de 100 nm a las que se concentraron fueron controlados de manera equivalente, se ha informado que los iones de plata son los responsables de las propiedades antibacterianas de AgNps (Jeong, Lim, and Choi, 2014:5).

Tabla 31: Cálculo de ancho de zona de inhibición frente a *E. Coli*.

Código	Muestras	W=ancho de zona de inhibición $W=(T-D)/2$	T (diámetro total de la muestra de prueba y la zona libre) mm	D (diámetro de la muestra de prueba) mm.
1	Ag/lana oveja	7	20	6
2	AgNp-TV método B	4.5	15	6
3	AgNp-TR método A	3	12	6
4	Ag/arcilla-AL	4	14	6
5	Ag/arcilla-ácido	4	14	6
6	Ag/arcilla-TV ácido	4	14	6
7	Ag/arcilla-TV básico	5	16	6

La heteroagregación de las muestras que están en matriz de arcilla no modifican la disponibilidad de AgNps, tampoco la presencia de Al, tomando en consideración que se han usado reductores inorgánicos (Chak'o) y orgánicos (extractos acuosos) que en comparación con AgNps obtenidas a partir de reductores químicos como NaHB_4 están en valores similares de zonas de inhibiciónⁱ.

Para el composite Ag/arcilla-TV ácido se ha determinado que el AgCl es el responsable de la actividad bactericida (Sohrabnezhad, Rassa, and Mohammadi Dahanesari 2016). Y si vemos el difractograma para esta muestra presenta también AlCl.

Todas las AgNps, presentaron actividad antibacterial ver figura 74, independientemente de su tamaño y la composición de las AgNps., incluso tomando en consideración el % de átomos presentes donde el composite Ag/arcilla-TV-ácido que el EDS no se detecta la presencia de Ag^0 tiene actividad antibacterial similar a la muestra AgNp-TV método A con 20% de átomos de plata, o si está asociado a Al_2O_3 con un % de átomos de plata en el orden de 0.3 %. En trabajos similares se reportó que la actividad antimicrobiana es mayor en aproximadamente cuatro órdenes de magnitud en comparación con las partículas de plata desnuda de un tamaño de ~ 100–200 nm, lo que apunta al efecto sinérgico de la plata y la arcilla(Girase et al. 2011).

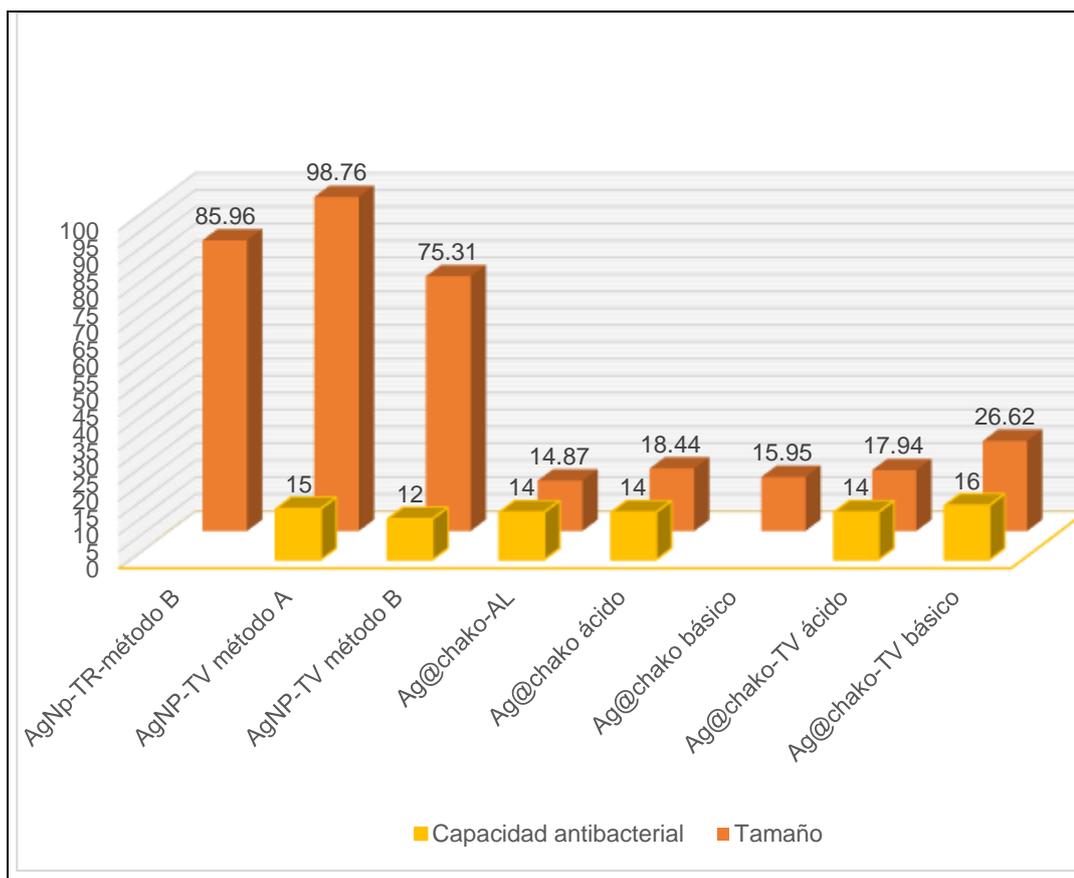


Figura 74: Comparación entre el tamaño de las AgNps obtenidas y su capacidad antibacterial frente a E.Coli.

5.8 Evaluación del efecto de AgNps sintetizados en la reducción de azul de metileno

En la figura 75 se observan las muestras de partida para el experimento, se usó AM de 10 ppm y Chako -Na al 1%.



Figura 75: Muestras de partida para capacidad catalítica frente a AM.

Se dispersó 0.5 g de Ag/arcilla-básico en 50 mL de Azul de Metileno, se mezcló a temperatura ambiente en agitación constante por 2 minutos (Fig 76),

luego de lo cual se tomó alícuotas de 2mL cada 5 minutos para leerlo en el UV-Vis.

5.8.a.1 Análisis de muestras de azul de metileno por espectroscopía UV-Vis.

Una vez identificada la longitud de onda adecuada para las mediciones de la absorbancia de la solución de AM, se procedió a programar al equipo en la opción de Fija donde se estableció la longitud de onda de 665 nm para realizar los análisis de absorbancia. Ver fig 76.

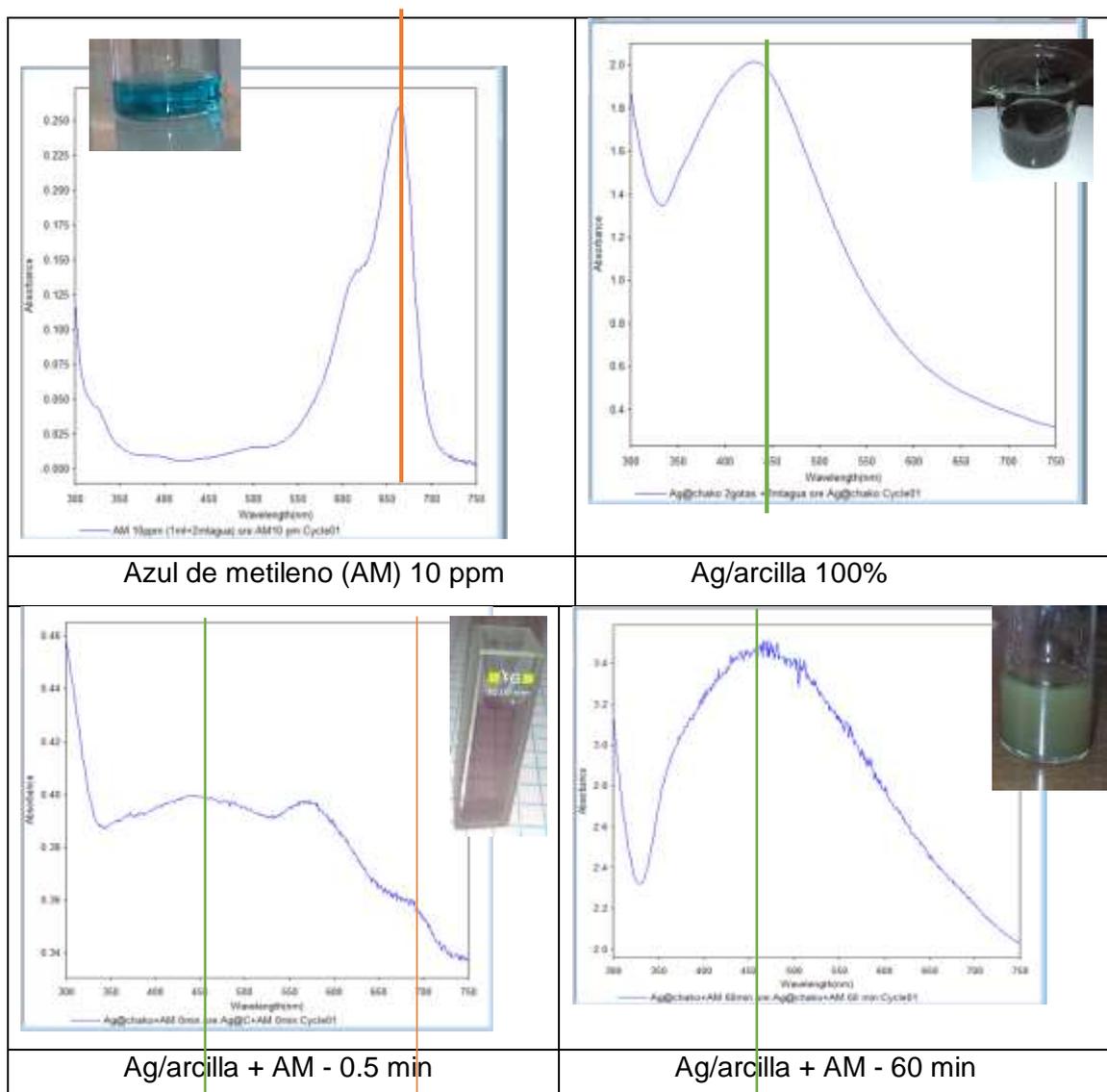


Figura 76: Espectros UV-Vis de AM 10 ppm, Ag/arcilla, Ag/arcilla +AM -0.5 min y Ag/arcilla+AM con 60 minutos de contacto.

Los espectros a diferentes tiempos de contacto muestran la modificación de la molécula de azul de metileno, la reconfiguración del composite Ag/arcilla, con liberación lenta de las AgNps que presentan la

absorción más definida a 60 minutos de contacto (figura 80). Desde el inicio de la reacción se tiene la actividad catalítica de las AgNps, donde apartir de los 30 minutos hay una reconfiguración de las AgNps para registrar el SPR característico de la plata, aspecto que apreciamos con más detalle en la tabla 32, donde desde el contacto inicial se muestra un desplazamiento del pico.

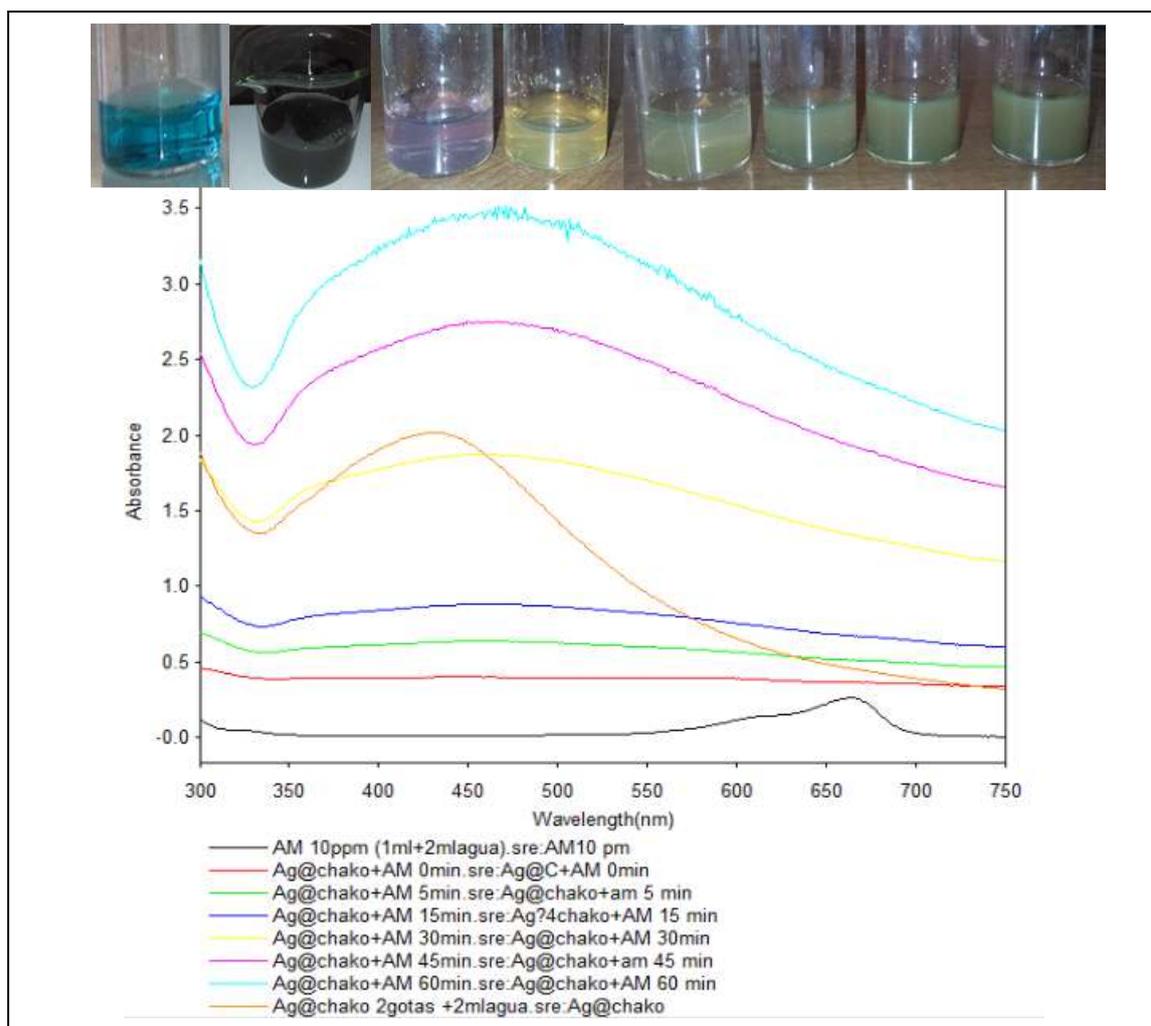


Figura 77: Actividad catalítica AgNps frente a AM

Tabla 32: Longitud de onda con respecto al tiempo de reacción.

	TIEMPO (min)	Altura de pico	longitud de onda										
			300	443	482	489	490	500	549	582	665	750	
AM	0.5	0.234	0.120									0.260	0.004
Ag@Chako	30	0.605	1.882	1.990									0.317
Ag@Chako +AM	0.5	0.014	0.459								0.397		0.337
	5	0.034	0.694							0.600			0.463
	15	0.082	0.931							0.865			0.598
	30	0.296	1.835				1.848						1.163
	45	0.555	2.542			2.725							1.656
	60	0.800	3.153		3.500								2.033

La reconfiguración de AgNp en presencia de AM (Anexo 7), sucede porque el composite Ag/arcilla va hidratándose, generando la separación de las láminas y liberación de las AgNps, donde las longitudes de onda van desde 0.397 a 3.5 con una altura de pico mayor, indicativo de la presencia de mayor cantidad de AgNps en solución.

Los espectros UV-vis nos muestran que no hay una absorción de AM en la arcilla que se evidenciaría con la presencia de una banda de absorción a 670 y 652 nm (Schoonheydt and Johnston 2006).

En la fig 78 apreciamos los espectros ATR de Ag/arcilla pH=12, Chak'o-Na, Ag/arcilla+AM, donde la arcilla modificada presenta similares picos que la arcilla natural, que mantiene su estructura después de los lavados, la modificación y la adsorción y catálisis del AM. Ver fig. 78.

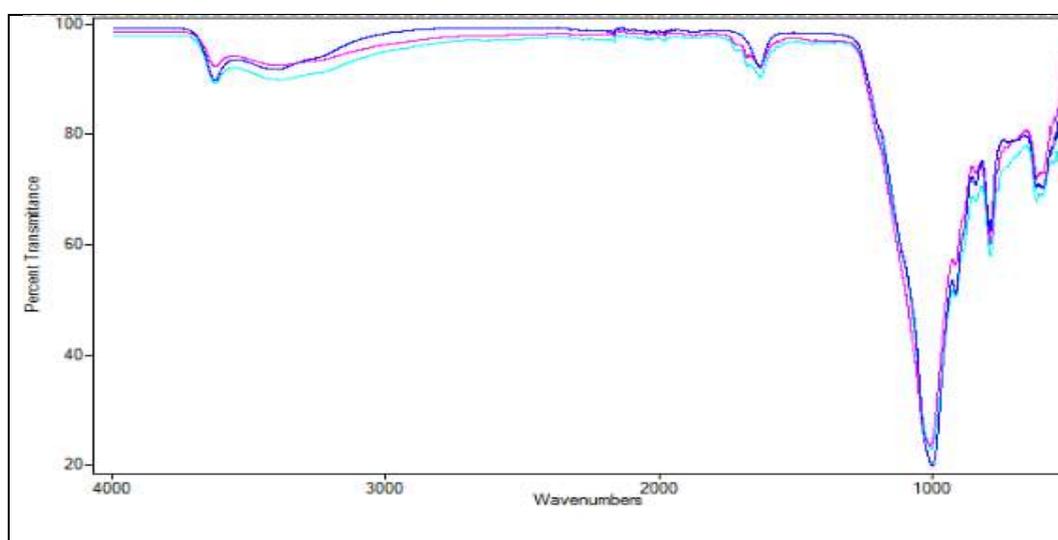


Figura 78: ATR: Ag/arcilla pH=12, Chak'o-Na, Ag/arcilla+AM

Se hicieron pruebas con las soluciones coloidales atendiendo a las condiciones de la tabla 33.

Tabla 33: Condiciones experimentales de actividad catalítica de AgNps

Código	Azul de Metileno		H ₂ O	Ag/arcilla	Ag/Arcilla-TV (líquido sobrenadante) pH ácido	Chak'o -Na	AgNp -té verde	Ag/arcilla +TV pH ácido
	Vol.mL	Conc. Ppm						
				AM	2.4 ppm			
				pH	5.68	6.03	7.00	7.57
				Código	S2	S21		S14
1	1	10	1	1 gota				
2	1	10	1	2 gotas				
3	1	10	1	3 gotas				
4	1	10	1	1 gota				
5	1	10	1			1 mL		
6	1	10	1				1 gota	
7	1	10	1					1 gota
Rojo de metilo								
8	1		1					
9	2gotas		2		10 gotas			
10	2 gotas		1					2 gotas

En la figura 79 se muestra la reacción inmediata que se da al adicionar la solución coloidal conteniendo Ag/arcilla- líquidos

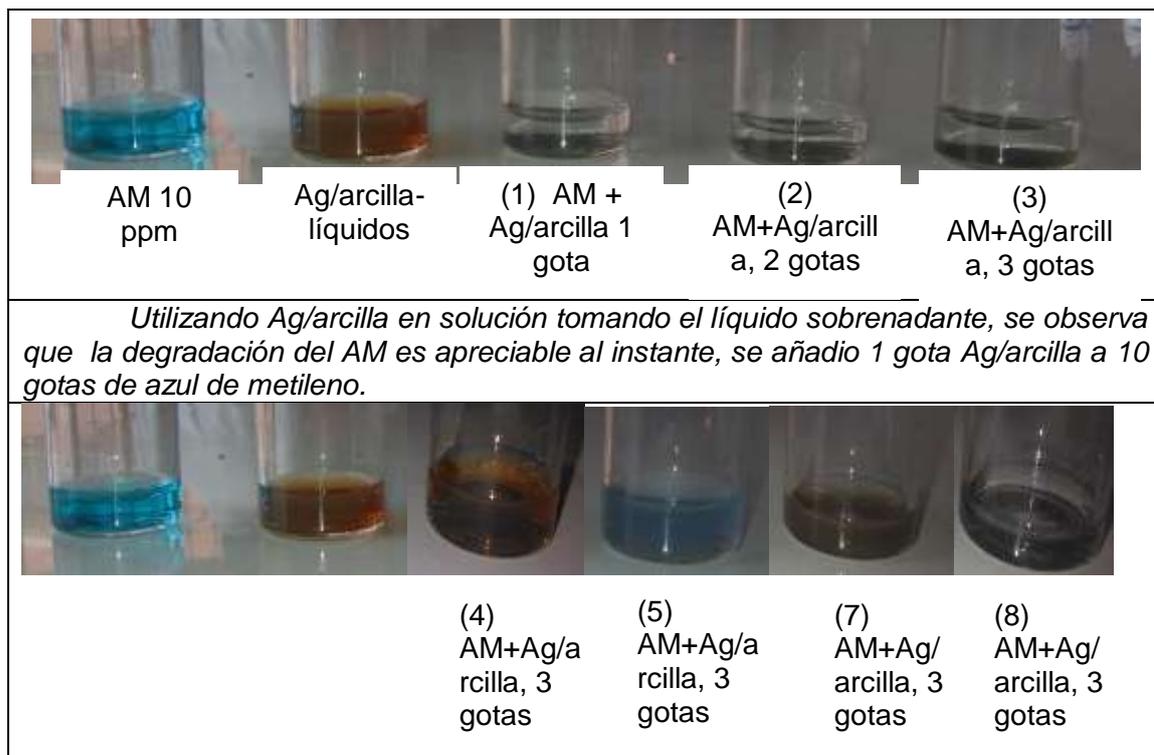


Figura 79: Resultados de evaluación de la actividad catalítica de las Ag Nps con AM

En la fig. 80 observamos la estabilidad en el tiempo 1ro de la reconfiguración y otro de la degradación de AM, de 0.1 minutos a 30 minutos.

Registrando se los espectros de 0.1 min, 10, 20 y 30 minutos, permaneciendo estable.

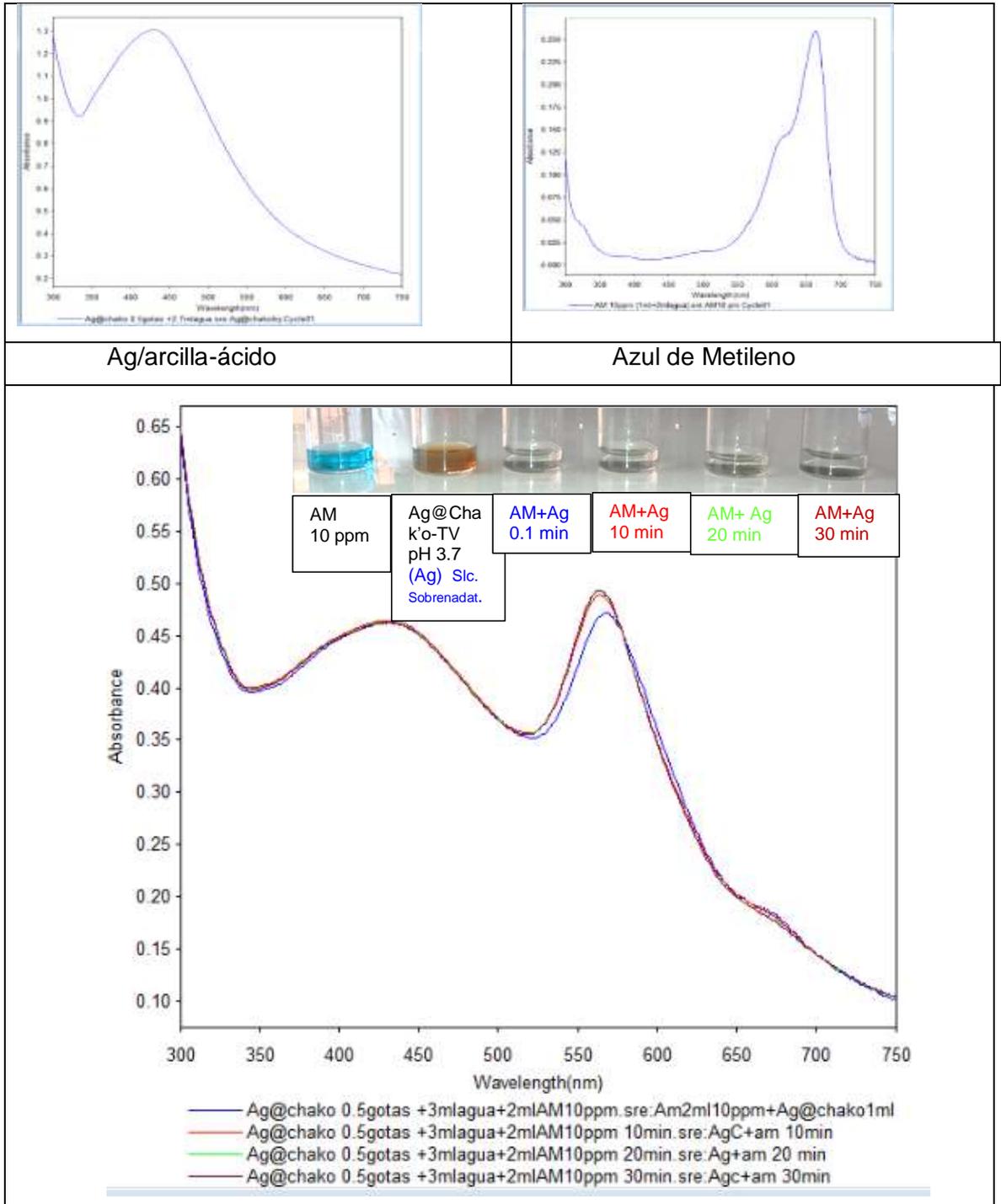


Figura 80: Resultados de evaluación de la actividad catalítica de Ag/arcilla ácido con Azul de Metileno

Se presenta dos picos de absorción atribuibles a que la reconfiguración de las AgNps son cuadrupolares.

En la Tabla 34 observamos los valores de corrimiento a longitudes menores sobre todo del 2do pico, desde 0.472 a 0.493, permaneciendo constante la absorción de la AgNp a 428 nm, aquí cabe resaltar que no hay un incremento de la cantidad de AgNps presentes, sino que permanece constante. Por lo tanto, el pH ácido favorece la degradación de azul de metileno, sobre todo la decoloración, en menor tiempo, aquí como se ha usado la solución coloidal sobrenadante no hay existencia de nanoarcillas como matriz.

Tabla 34: Seguimiento de la estabilidad en el tiempo de Ag/arcilla pH ácido frente a AM.

Muestras	Longitud de onda (nm)					
	428	563	567	570	665	750
AM10 pm					0.260	0.004
Ag@chakoliq	1.307					0.218
Am2ml10ppm+Ag@chako1ml	0.462		0.472			0.102
AgC+am 10min	0.464	0.487				0.104
Ag+am 20 min	0.463	0.493				0.104
Agc+am 30min	0.462	0.493				0.105

Mirkhani evaluó la fotocatalisis heterogénea usando nanopartículas de plata para desinfección del agua resultando en altas tasas debido a la presencia de nanopartículas unidas a la plata con efecto fotocatalítico como TiO_2 . Al depositar estas nanopartículas sobre semiconductores como el TiO_2 se obtienen tasas de desinfección tan altas como de un 100% tras sólo 2 horas de irradiación solar (Mirkhani et al. 2009), nuestras pruebas se realizaron con Ag/arcilla-ácido (coloidal) en presencia de luz solar, confirmando que la luz solar ejerce un efecto fotocatalítico suficiente para estabilizar la reacción. Como se observa en el seguimiento realizado por espectroscopía UV-Vis.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron nanopartículas y micropartículas de plata por la ruta de química verde por reducción química usando síntesis en un paso. Encontrando los parámetros óptimos de síntesis para el composite Ag/arcilla, siendo el extracto acuoso de té verde, la fracción arcilla homoionizada con Na y pH básico la que presenta las mejores características para su uso en como antibactericida frente a *E. Coli* y degradación de Azul de Metileno.

a) Se obtuvo nanopartículas de plata con ambos extractos, para desechos de té rubio hay presencia de nanopartículas y micropartículas a pH 11.78 y 6.16), se sintetizó el compuesto Ag/arcilla-Al, el compuesto Ag/arcilla a pH ácido y básico y Ag/arcilla-TV pH básico y Ag/arcilla-TV pH ácido.

b) Las condiciones óptimas de síntesis son: concentración de AgNO_3 0.1 molar; extracto acuoso de té verde al 100%, fracción arcilla homoionizada con sodio al 10%, temperatura de 50°C y pH final 8.

c) Se obtuvo nanopartículas de plata con ambos extractos, siendo el té verde fotoprotectado a un pH 12.16 el que alcanza mayor estabilidad, menor polidispersidad y menor tamaño (con banda plasmonica a 413 nm, con $9,68 \pm 1,23$ % átomos de Ag° presente; con un tamaño promedio de 75.31 ± 20.55 nm) y para desechos de té rubio hay presencia de nanopartículas a pH 11.78 y 6.16, con presencia de plasmón superficial a 486 nm, con un contenido de 20.52% de átomos de plata y tamaño promedio de $85,96 \pm 16.25$ nm de tamaño, forma semiesféricas. El compuesto Ag/arcilla-Al, que presenta 3% de AgCl en forma cristalina, con tamaño de cristalita de 39.37nm, 0.36% de átomos de plata, 3 tamaños promedio bien diferenciados 16.08 ± 3.45 nm, 5.08 ± 1.48 nm y 23.46 ± 4.58 nm; la arcilla carece de modificaciones estructurales; la curva de TG para el compuesto Ag/arcilla-Al presenta cuatro pasos de pérdida de masa, así para a 80°C temperatura de rango de desorción de agua (2% pérdida); a 160°C (perdida de agua interlaminar), 2,7 % de pérdida y a 526°C 3,2% de pérdida de masa (perdida de grupos de grupos hidroxilos estructurales) y a 540°C (perdida de grupos de hidroxilos estructurales dentro de la arcilla.) en un 3.8%. Evidenciándose que la modificación con Al y presencia de AgCl modifican la resistencia térmica, incrementándola significativamente respecto al material de partida. El compuesto Ag/arcilla a pH ácido muestra una banda de absorción de 420 nm., con tamaños entre 26.61 ± 5.39 nm y 5.28 ± 0.87 nm. El compuesto Ag/arcilla- pH básico muestra una banda de absorción de 440 nm, 3.16% de átomos de plata (sólido); el contenido de Ag° es muy variable, va desde 1.07, 1.12, 52.48 y 36.84 % de átomos. Ag/arcilla-TV pH básico con un máximo de absorbancia

a 450 nm; las fases presentes y el análisis semicuantitativo por DRX son AgCl y Ag⁰ en un 10% y 12% y aluminio silicato con plata 5% respectivamente, Existe una ampliación de la distancia basal a 14,49Å, debido a posible intercalación de AgNps en la interlámina de Chak'o-Na; La cantidad de Ag⁰ es de 1,58 % átomos, con la composición elemental característica de un filosilicato predominantemente laminar; el TEM muestra diferentes formas y tamaños alcanzados, con 2 tamaños diferenciados 15.77±0.78 nm y 37.46 ± 5.28 (éste último cercano al tamaño de cristalita calculado en base a las irradiaciones de DRX). Con predominio de formas semicirculares. Existe un incremento de resistencia térmica y la evaporación o descomposición de extracto acuoso se produce a aproximadamente 140 ° C. Ag/arcilla-TV pH ácido, el difractograma y la lista de patrones de la muestra que el pH ha influenciado en la modificación de componentes, ya no se registra la montmorillonita sino vermiculita y óxidos de silicio, también la plata está en forma de cristales de AgCl en un porcentaje de 4%, el análisis elemental para los sólidos muestra ausencia de Ag metálica, mientras que para la parte coloidal presenta 3 tamaños diferenciados 15.41±1.60 y 9.92±1.50 y 28.48 ± 3.36, con una pérdida de peso de 7% menor a la presentada por la fracción arcilla 12%.

d) La actividad antibacteriana para E. Coli en los compuestos Ag/arcilla-AL, Ag/arcilla-ácido, Ag/arcilla-TV ácido, Ag/arcilla-TV básico presenta un ancho de inhibición de 4 para las tres primeras y 5 para la última. Todas las AgNps, presentaron actividad antibacteriana, independientemente de su tamaño y la composición de las AgNps., incluso tomando en consideración el % de átomos presentes donde el composite Ag/arcilla-TV-ácido que el EDS no se detecta la presencia de Ag⁰ tiene actividad antibacteriana similar a la muestra AgNp-TV método A con 20% de átomos de plata, o si está asociado a Al₂O₃ con un % de átomos de plata en el orden de 0.3 %. La degradación catalítica de azul de metileno de 10 ppm se ensayó con Ag/arcilla a 60 min, mostrando cambios de inmediato en la decoloración, con reconfiguración de AgNp en presencia de AM, donde las longitudes de onda van desde 0.397 a 3.5 con una altura de pico mayor, indicativo de la presencia de mayor cantidad de AgNps en solución y a pH ácido durante 30 min con resultados similares.

RECOMENDACIONES

Mejorara el procedimiento de separación de los líquidos de lavado, ya que como se observa en el anexo 3 existe presencia de AgNps en solución.

Realizar la cinética de degradación de colorantes textiles y alimentarios de diferentes clases químicas usando Ag/arcilla.

Realizar pruebas con efluentes industriales para evaluar la efectividad del proceso in situ.

Realizar pruebas con aguas residuales de camales para degradación catalítica con AgNps en sangre animal.

Debido al poder catalítico de las nanopartículas de plata puede ser utilizado en la reducción de 4-nitrofenol.

Estudiar la desorción de las AgNp usando arcilla Chak'o con el fin de traer resultados significativos para la recuperación de plata de los efluentes industriales.

BIBLIOGRAFÍA

- Abkenar, Dehghan, and Sadeghpour Karimi
2019 Efficient Removal of Methylene Blue from Aqueous Solution by Adsorption on Cerium Vanadate Nanoparticles: 11.
- Abou El-Nour, Kholoud M.M., Ala'a Eftaiha, Abdulrhman Al-Warthan, and Reda A.A. Ammar
2010 Synthesis and Applications of Silver Nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry* 3(3): 135–140. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535210000377>.
- Aguilar-Méndez, Miguel A., Eduardo San Martín-Martínez, Lesli Ortega-Arroyo, Georgina Cobián-Portillo, and Esther Sánchez-Espíndola
2011 Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles: Effect on Phytopathogen *Colletotrichum Gloesporioides*. *Journal of Nanoparticle Research* 13(6): 2525–2532.
- Ahmed, Shakeel, Mudasir Ahmad, Babu Lal Swami, and Saiqa Ikram
2016 A Review on Plants Extract Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles for Antimicrobial Applications: A Green Expertise. *Journal of Advanced Research* 7(1): 17–28.
- Akinsiku, Anuoluwa Abimbola, Enock Olugbenga Dare, Kolawole Oluseyi Ajanaku, Joseph Adeyemi Adekoya, and Joan Ayo-Ajayi
2018 Green Synthesized Optically Active Organically Capped Silver Nanoparticles Using Stem Extract of African Cucumber (*Momordica Charantia*).
- Aragón, Sonia
2013 Síntesis y caracterización de arcilla Chak'ó pilarizada con polihidroxidaciones de aluminio. Título de Químico, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- Arroyo, Carlos, Alexis Debut, Andrea Vaca, Brajesh Kumar, and Luis Cumbal
2016 Image Processing Tools for Morphological Analysis of Nanoscale Objects. *In* *European Microscopy Congress 2016: Proceedings*. European Microscopy Society, ed. Pp. 53–54. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <http://doi.wiley.com/10.1002/9783527808465.EMC2016.4486>, accessed January 9, 2019.
- ASALE, RAE-
2018 Nanotecnología. *Diccionario de La Lengua Española*. <http://dle.rae.es/?id=QEL9Org>, accessed January 7, 2018.
- Balentine, Douglas A., Sheila A. Wiseman, and Liesbeth C. M. Bouwens
1997 The Chemistry of Tea Flavonoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 37(8): 693–704. <https://doi.org/10.1080/10408399709527797>.
- Bergaya, F., and G. Lagaly
2006 Chapter 1 General Introduction: Clays, Clay Minerals, and Clay Science. *In* *Handbook of Clay Science*. Faïza Bergaya, Benny K. G. Theng, and Gerhard Lagaly, eds. Pp. 1–18. *Developments in Clay Science*. Elsevier. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572435205010019>.
- Borah, Bibek Jyoti, Dipanka Dutta, and Dipak Kumar Dutta

2010 Controlled Nanopore Formation and Stabilization of Gold Nanocrystals in Acid-Activated Montmorillonite. *Applied Clay Science* 49(3): 317–323.

Camacho Polo, Jesús David, Luís Alberto Deschamps Mercado, and Adriana Director Herrera Barros

2013 Síntesis de Nanopartículas de Plata y Modificación Con Pulpa de Papel Para Aplicación Antimicrobial. PhD Thesis, Universidad de Cartagena.

Carissimi, Guzmán

2016 Nanopartículas de Plata Para Su Uso Como Agente Antibacteriano.

Casado, Francisco, Luis Alfonso Márquez, Bernat San Martín Guiral, and Raúl Sarrías del Río

2004 Las Commodities Como Instrumento de Inversión. IDEC–Universitat Pompeu Fabra-UPF. Trabajo Realizado Para Optar al Título de Máster En Mercados Financieros. Barcelona.

Chevron, Perrine, Fabrice Gouanvé, and Eliane Espuche

2016 Preparation, Characterization and Barrier Properties of Silver/Montmorillonite/Starch Nanocomposite Films. *Journal of Membrane Science* 497: 162–171.

Cooper, Raymond, and George Nicola

2014 Natural Products Chemistry: Sources, Separations and Structures. CRC Press.

Cornejo, Laureano

2015a Nanociencia y nanotecnología. *Nuevas Tecnologías y Materiales*.

<http://nuevatecnologiasymateriales.com/nanociencia-y-nanotecnologia/>, accessed January 21, 2018.

2015b Nanociencia y nanotecnología. *Nuevas Tecnologías y Materiales*.

<http://nuevatecnologiasymateriales.com/nanociencia-y-nanotecnologia/>, accessed January 21, 2018.

Cruz, Daniel A., Miriam C. Rodríguez, Juan M. López, et al.

2012a NANOPARTÍCULAS METÁLICAS Y PLASMONES DE SUPERFICIE: UNA RELACIÓN PROFUNDA. *Avances en Ciencias e Ingeniería* 3(2).

<http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=323627686007>, accessed January 13, 2019.

2012b NANOPARTÍCULAS METÁLICAS Y PLASMONES DE SUPERFICIE: UNA RELACIÓN PROFUNDA. *Avances En Ciencias e Ingeniería* 3(2). 90602442. Fuente Académica Plus: 67-67–78.

Dingyi, Li, Lei Ouyang, Ling Yao, et al.

2018 In Situ SERS Monitoring the Visible Light Photocatalytic Degradation of Nile Blue on Ag@AgCl Single Hollow Cube as a Microreactor. *ChemistrySelect* 3: 428–435.

Domènech Garcia, Berta, Julio Bastos Arrieta, Amanda Alonso González, et al.

2012 Bifunctional Polymer-Metal Nanocomposite Ion Exchange Materials. *InTech*.

Durán-Álvarez, Juan Carlos, Edwin Avella, and Rodolfo Zanella

2015 Descontaminación de agua utilizando nanomateriales y procesos fotocatalíticos. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología* 8(14): 17–39.

Echevarria, Lorenzo, Maria Alejandra Ortega, Luis Rodriguez, and Jimmy Castillo

2008 Obtención Y Caracterización De Nanopartículas Coloidales Empleando Métodos Ópticos. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas* 6(1): 1–9.

- Edison, T. Jebakumar Immanuel, and M. G. Sethuraman
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.
- Faleiro Naves, Plinio Lázaro
2009 Formación de Biopelículas Por " Escherichia Coli" y Su Correlación Con Factores de Virulencia. PhD Thesis, Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones.
- G Yadav, Sapna, Sudeep H Patil, Pratima Patel, et al.
2018 Green Synthesis of Silver Nanoparticles from Plant Sources and Evaluation of Their Antimicrobial Activity.
- García, Miguel A.
2011 Surface Plasmons in Metallic Nanoparticles: Fundamentals and Applications. *Journal of Physics D: Applied Physics* 44(28): 283001.
- Girase, B., D. Depan, J. S. Shah, W. Xu, and R. D. K. Misra
2011 Silver–Clay Nanohybrid Structure for Effective and Diffusion-Controlled Antimicrobial Activity. *Materials Science and Engineering: C* 31(8): 1759–1766.
- Gonzalez-Calderon, J.A.
2011 Nanomateriales: Su Crecimiento, Caracterización Estructural y Tendencias. *Ide@s CONCYTEG* 6: 772–787.
- González-Jiménez, Edgar E.
2016 Control de La Superficie y El Volumen En La Nanoescala Para La Configuración y El Diseño de Nanodispositivos. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 40(157): 590–599.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0370-39082016000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=es, accessed January 1, 2020.
- Grandez Arias, Fernando
2017 Modificación de Electrodo de Filtro de Grafito Con Nanoaleaciones de Cu y Ag Para Aplicaciones En Procesos Electro-Fentón.
- Grumezescu, Alexandru
2016 Nanobiomaterials in Antimicrobial Therapy: Applications of Nanobiomaterials. William Andrew.
- Hormaza, Angelina, and Edgar Suarez Garcia
2009 Estudio Del Proceso de Biosorción de Dos Colorantes Estructuralmente Diferentes Sobre Residuos Avícolas. *Revista de La Sociedad Química Del Perú* 75: 329–338.
- Hyllested, Jes Ærøe, Marta Espina Palanco, Nicolai Hagen, Klaus Bo Mogensen, and Katrin Kneipp
2015 Green Preparation and Spectroscopic Characterization of Plasmonic Silver Nanoparticles Using Fruits as Reducing Agents. *Beilstein Journal of Nanotechnology* 6: 293.
- Jeong, Yoon, Dong Woo Lim, and Jonghoon Choi

2014 Assessment of Size-Dependent Antimicrobial and Cytotoxic Properties of Silver Nanoparticles. *Advances in Materials Science and Engineering* 2014.

Jyoti, Kumari, Mamta Baunthiyal, and Ajeet Singh
2016 Characterization of Silver Nanoparticles Synthesized Using *Urtica Dioica* Linn. Leaves and Their Synergistic Effects with Antibiotics. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 9(3): 217–227.

Kanchi, Suvadhan, and Shakeel Ahmed
2018 *Green Metal Nanoparticles: Synthesis, Characterization and Their Applications*. John Wiley & Sons.

Khodashenas, Bahareh, and Hamid Reza Ghorbani
2015 Synthesis of Silver Nanoparticles with Different Shapes. *Arabian Journal of Chemistry*. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535214003645>.

Kumar, Varun, Ridhima Wadhwa, Nitesh Kumar, and Pawan Kumar Maurya
2019 A Comparative Study of Chemically Synthesized and *Camellia Sinensis* Leaf Extract-Mediated Silver Nanoparticles. *3 Biotech* 9(1): 7.

Larrea-Murrell, Jeny Adina, Marcia María Rojas-Badía, Beatriz Romeu-Álvarez, Nidia Mercedes Rojas-Hernández, and Mayra Heydrich-Pérez
2013 Bacterias Indicadoras de Contaminación Fecal En La Evaluación de La Calidad de Las Aguas: Revisión de La Literatura. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas* 44(3).

Lens, Piet, Jurate Virkutyte, Veeriah Jegatheesan, and S. Al-Abed
2013 *Nanotechnology for Water and Wastewater Treatment*. IWA Publishing.

Lin, Jiang-Jen, Rui-Xuan Dong, and Wei-Cheng Tsai
2010 High Surface Clay-Supported Silver Nanohybrids. *In Silver Nanoparticles*. InTech.

Luque, Rafael, and Rajender S. Varma
2012 *Sustainable Preparation of Metal Nanoparticles: Methods and Applications*. Royal Society of Chemistry.

M. Cristian, Cristian
2011 Nanocatálisis y sus aplicaciones en la industria Química | Avances en Nanotecnología. <http://www.nanotecnologia.cl/nanocatalisis-y-sus-aplicaciones-en-la-industria-quimica/>, accessed January 2, 2020.

Mallick, Kaushik, Mike Witcomb, and Mike Scurrall
2006 Silver Nanoparticle Catalysed Redox Reaction: An Electron Relay Effect. *Materials Chemistry and Physics* 97(2): 283–287.

Mazón Solórzano, Daniel
2012 Determinación de Tamaños de Nanopartículas Metálicas Mediante Técnicas Espectrocópicas y Polarimétricas.

Mekkawy, H. A., M. O. Ali, and A. M. El-Zawahry
1998 Toxic Effect of Synthetic and Natural Food Dyes on Renal and Hepatic Functions in Rats. *Toxicology Letters* 95(1001): 155–155.

Mirkhani, V., S. Tangestaninejad, M. Moghadam, M. H. Habibi, and A. Rostami-Vartooni

2009 Photocatalytic Degradation of Azo Dyes Catalyzed by Ag Doped TiO₂ Photocatalyst. *Journal of the Iranian Chemical Society* 6(3): 578–587.

Monge, Miguel

2014a Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de Química* 105(1).

<http://analesdequimica.es/index.php/AnalesQuimica/article/view/632>, accessed January 21, 2018.

2014b Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de Química* 105(1).

<http://analesdequimica.es/index.php/AnalesQuimica/article/view/632>, accessed January 21, 2018.

Moreira, Alfonso

2011 Recomendación relativa a la definición de nanomaterial.

<http://cdeuv.es/documentos/menulegislacion/item/7226-recomendaci%C3%B3n-relativa-a-la-definici%C3%B3n-de-nanomaterial.html>, accessed January 21, 2018.

Moya Corral Jose S, Cabal alvarez Maria Belen

2011 Composición Que Comprende Silicatos de Aluminio y Nanopartículas de Plata Como Bactericidas - SIPO_ENGLISH_PATENT_DETALI. STATE INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE OF THR P.R.C.

http://211.157.104.77:8080/sipo_EN/search/detail.do?method=view&parm=16b414c21a2f19d11b2c18401bcd1a5f183a19161acb1be11a781c4401f92a231f5821b222572195236c20482755275723ca24be2221222525702494250d26c0274025822c3f29092a7c29a02d6d2d6f28fa2ed62bd12c892f482c34330947932f5c2c0a2ac731b9333c316c366534e7318235ee337934f1360837f03747371b371a34e231bf38f13b04390c3e0d3f6f39ea3dc63c573d6d3e683e4c26d918c33ffe3c523c273e354334405c47c545774302408e4423459147e846b8462b46ab46d446aa436f47554bcc49784a2d, accessed January 24, 2018.

Nadagouda, Mallikarjuna N., and Rajender S. Varma

2008 Green Synthesis of Silver and Palladium Nanoparticles at Room Temperature Using Coffee and Tea Extract. *Green Chemistry* 10(8): 859–862.

Neira García, Iago

2015 Síntesis Verde de Nanopartículas Para La Eliminación de Colorantes En Medios Acuáticos.

Ovalle, Sergio, Cristian Blanco-Tirado, and Marianny Combariza

2013 Síntesis in Situ de Nanopartículas de Plata Sobre Fibras de Fique. *Revista Colombiana de Química* 42(1): 30–37.

Peña, Alejandro

2017 Características de La Plata.

<https://okdiario.com/curiosidades/2017/03/08/caracteristicas-plata-propiedades-808783>, accessed January 21, 2018.

Perez, Felipe

2016 Revisiting the Mechanisms of Clay Damage.

Poinern, Gerrard Eddy Jai, Peter Chapman, Monaliben Shah, and Derek Fawcett

2013 Green Biosynthesis of Silver Nanocubes Using the Leaf Extracts from *Eucalyptus Macrocarpa*. *Nano Bulletin* 2(1): 130101.

<http://www.gosciences.com/journals/index.php/nano/article/view/nano130101>, accessed December 29, 2019.

- Rafatullah, Mohd, Othman Sulaiman, Rokiah Hashim, and Anees Ahmad
2010 Adsorption of Methylene Blue on Low-Cost Adsorbents: A Review. *Journal of Hazardous Materials* 177(1–3): 70–80.
- Rauwel, Protima, Erwan Rauwel, Stanislav Ferdov, and Mangala P. Singh
2015 *Silver Nanoparticles: Synthesis, Properties, and Applications*. *Advances in Materials Science and Engineering* 2015.
- Robinson, Tim, Geoff McMullan, Roger Marchant, and Poonam Nigam
2001 Remediation of Dyes in Textile Effluent: A Critical Review on Current Treatment Technologies with a Proposed Alternative. *Bioresource Technology* 77(3): 247–255.
- Rónavári, Andrea, Dávid Kovács, Nóra Igaz, et al.
2017 Biological Activity of Green-Synthesized Silver Nanoparticles Depends on the Applied Natural Extracts: A Comprehensive Study. *International Journal of Nanomedicine* 12. 28184158. PubMed: 871–883.
- Ronquillo de Jesús, Elba, Miguel Angel Aguilar Méndez, José Guzmán Mendoza, and Eduardo San Martín Martínez
2013 Síntesis y Caracterización de Nanopartículas de Plata Empleando Extractos de Plantas.
- Roy, Anasuya, B. S. Butola, and Mangala Joshi
2017 Synthesis, Characterization and Antibacterial Properties of Novel Nano-Silver Loaded Acid Activated Montmorillonite. *Applied Clay Science* 146: 278–285.
- Sampen, Paredes, and Ney Alberto
2009 Efectividad Antibacteriana in Vitro de Una Infusión a Base de Camelia Sinensis y *Minthostachys Mollis* Sobre Flora Salival Mixta.
- Scaffaro, R., M. C. Mistretta, F. P. La Mantia, and A. Frache
2009 Effect of Heating of Organo-Montmorillonites under Different Atmospheres. *Applied Clay Science* 45(4): 185–193.
- Schoonheydt, R. A., and C. T. Johnston
2006 Chapter 3 Surface and Interface Chemistry of Clay Minerals. *In Handbook of Clay Science*. Faïza Bergaya, Benny K. G. Theng, and Gerhard Lagaly, eds. Pp. 87–113. *Developments in Clay Science*. Elsevier.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572435205010032>.
- Senthilkumar, S. R., and T. Sivakumar
2014 Green Tea (*Camellia Sinensis*) Mediated Synthesis of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles and Studies on Their Antimicrobial Activities. *Int J Pharm Pharm Sci* 6(6): 461–465.
- Serena Domingo, Pedro Amalio
2002 *Nanociencia Y Nanotecnología: Aspectos Generales*. *Encuentros Multidisciplinares*: 1.
- Shameli, Kamyar, Mansor Bin Ahmad, Mohsen Zargar, et al.
2011 Synthesis of Silver Nanoparticles in Montmorillonite and Their Antibacterial Behavior. *International Journal of Nanomedicine* 6: 581.
- Sifontes, Ángela B.

2015 Biosíntesis de nanomateriales: hacia el avance de la nanotecnología verde. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología* 7(13). <http://www.revistas.unam.mx/index.php/nano/article/view/48709>, accessed May 4, 2017.

Silver nitrate

N.d. <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=B6000530&Mask=80#IR-Spec>, accessed January 30, 2019.

Singh, Jagpreet, Gurleen Kaur, Pawanpreet Kaur, Rajat Bajaj, and Mohit Rawat
2016 A Review on Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles and Their Applications: A Green Nanoworld. *World J Pharm Pharm Sci* 7: 730–762.

Sivaguru, Paramasivam, and Xihe Bi

2019 Introduction to Silver Chemistry. *Silver Catalysis in Organic Synthesis* 1: 1–32.

Skoog, Douglas Arvid, FJNTA Holler, and A. Douglas A. Timothy

2001 Principios de Análisis Instrumental. McGraw-Hill Interamericana de España,.

Sohrabnezhad, S., M. Rassa, and E. Mohammadi Dahanesar

2016 Spectroscopic Study of Silver Halides in Montmorillonite and Their Antibacterial Activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 163. Scopus: 150–155.

Solorzano, Becquer De la Cruz

2000 Química Inorganica Descriptiva Segunda Edicion Geoff Rayner Canham. 2da. México: Pearson Education.

https://www.academia.edu/24930025/Quimica_Inorganica_Descriptiva_Segunda_Edicion_Geoff_Rayner_Canham, accessed January 21, 2018.

Sutradhar, Prasanta, Mitali Saha, and Debasish Maiti

2014 Microwave Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles Using Tea Leaf and Coffee Powder Extracts and Its Antibacterial Activity. *Journal of Nanostructure in Chemistry* 4(1): 86.

Takeuchi, Noboru

2010 Nanociencia y Nanotecnología: La Construcción de un Mundo Mejor Átomo Por Átomo. Fondo De Cultura Economica USA.

Thakkar, Kaushik N., Snehit S. Mhatre, and Rasesh Y. Parikh

2010 Biological Synthesis of Metallic Nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 6(2): 257–262.

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1549963409001154>, accessed December 29, 2019.

USGS: Perú Se Consolida Como El 2do. Productor de Plata a Nivel Mundial

2017 Serperuano.Com. <http://www.serperuano.com/2017/03/usgs-peru-se-consolida-como-el-2do-productor-de-plata-a-nivel-mundial/>, accessed January 21, 2018.

Vergara O'Neale, Lourdes

2016 Empleo de Nanopartículas Metálicas Para La Detección de Tensioactivos y Biomoléculas.

Wawrzekiewicz, Monika

2012 Anion Exchange Resins as Effective Sorbents for Acidic Dye Removal from Aqueous Solutions and Wastewaters. *Solvent Extraction and Ion Exchange* 30(5): 507–523.

Zanella, Rodolfo

2015 Aplicación de los nanomateriales en catálisis. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* 7(12).

<http://revistas.unam.mx/index.php/nano/article/view/49711>, accessed January 25, 2019.

Zhang, Lin, Jienan Chen, Wenji Yu, Qingfeng Zhao, and Jin Liu

2018 Antimicrobial Nanocomposites Prepared from Montmorillonite/Ag. *Journal of Nanomaterials* 2018.

Zhou, Dongxu, Amr I. Abdel-Fattah, and Arturo A. Keller

2012 Clay Particles Destabilize Engineered Nanoparticles in Aqueous Environments. *Environmental Science & Technology* 46(14): 7520–7526.

ANEXOS

ANEXO 1: Lista de picos DRX Ag/arcilla-Al, Ag/arcilla-TV-básico y Ag/arcilla-TV- acido

Tabla 35:Lista de picos Ag/arcilla-AL

Pos. [°2 θ]	Height [cts]	FWHM Left [°2 θ]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
9.1024	1661.72	0.1791	9.71565	26.31
18.5628	444.57	0.4093	4.78001	7.04
19.7174	3662.62	0.1535	4.50263	57.99
21.8661	6316.09	0.3838	4.06480	100.00
26.6229	232.62	0.1535	3.34834	3.68
27.7592	1244.15	0.3070	3.21382	19.70
28.1067	1427.27	0.2047	3.17487	22.60
31.3961	123.18	0.4093	2.84934	1.95
32.2029	665.40	0.1535	2.77977	10.54
34.9551	1295.37	0.5628	2.56695	20.51
36.0530	1514.80	0.4605	2.49126	23.98
40.1857	119.86	0.5117	2.24408	1.90
44.4720	139.63	0.6140	2.03724	2.21
46.3202	290.18	0.2047	1.96017	4.59
47.9323	121.22	0.8187	1.89794	1.92
53.9911	292.91	0.4093	1.69839	4.64
56.9668	154.04	0.8187	1.61654	2.44
61.8142	855.65	0.3582	1.50091	13.55
64.8419	87.19	0.8187	1.43795	1.38
76.2510	159.59	0.7164	1.24871	2.53

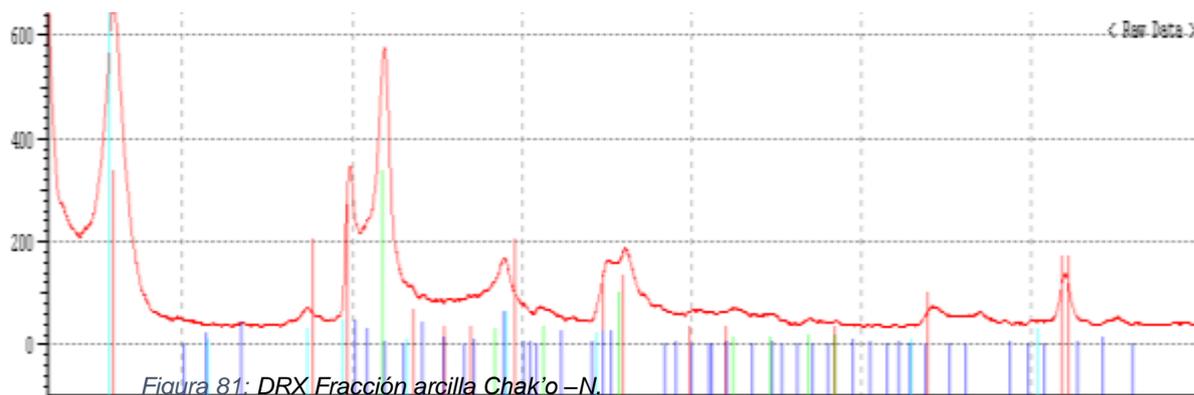
Tabla 36: Ag/arcilla TV pH básico

Pos. [2θ]	Height [cts]	FWHM Left [2θ]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
6.0979	3754.15	0.2558	14.49436	78.67
19.7412	2386.36	0.2047	4.49726	50.01
21.8670	3834.84	0.2047	4.06464	80.36
26.6093	329.58	0.1023	3.35002	6.91
27.7872	1417.55	0.1535	3.21064	29.71
32.2029	2225.67	0.1791	2.77977	46.64
34.7920	596.90	0.6140	2.57861	12.51
36.0019	948.25	0.6140	2.49468	19.87
38.0614	4772.04	0.2047	2.36430	100.00
44.2842	1188.81	0.4093	2.04544	24.91
46.1668	1014.77	0.2047	1.96632	21.26
54.0335	209.13	0.3070	1.69716	4.38
54.8059	375.83	0.2558	1.67506	7.88
57.4904	228.47	0.4093	1.60306	4.79
61.8206	520.63	0.2047	1.50077	10.91
64.4356	885.90	0.4093	1.44603	18.56
73.1920	146.18	0.6140	1.29315	3.06
77.3656	887.21	0.3582	1.23348	18.59

Tabla 37:Ag/arcilla-TV pH 3.7

Pos. [°2θ]	Height [cts]	FWHM Left [°2θ]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
5.8503	3884.58	0.6652	15.10710	53.28
9.8623	295.59	0.1535	8.96867	4.05
17.3984	117.77	0.8187	5.09719	1.62
19.7435	2409.87	0.1535	4.49674	33.05
21.7634	7291.51	0.3838	4.08375	100.00
23.5800	469.07	0.3070	3.77309	6.43
26.6099	556.81	0.0768	3.34995	7.64
27.7737	1783.05	0.1535	3.21217	24.45
29.0017	613.14	0.4093	3.07889	8.41
32.2049	2921.22	0.1791	2.77960	40.06
34.8039	691.97	0.4093	2.57776	9.49
35.9582	1307.47	0.6652	2.49761	17.93
38.1104	529.51	0.5117	2.36137	7.26
44.4314	200.85	0.7164	2.03900	2.75
46.1895	1260.72	0.1535	1.96541	17.29
53.8761	132.06	0.4093	1.70175	1.81
54.7840	437.75	0.2558	1.67567	6.00
57.3951	373.73	0.3070	1.60550	5.13
61.8639	480.10	0.3582	1.49982	6.58
64.7989	154.87	0.6140	1.43880	2.12
67.4670	87.95	0.3070	1.38825	1.21
76.7428	273.48	0.4093	1.24193	3.75

ANEXO 2: DRX Fracción arcilla Chak'o -Na



Fuente: (OT-21-2010 INGEMET)

Tabla 38: Fases presentes, análisis semicuantitativo

CB FA HOMOIONIZADO			
Nº	MINERAL	FORMULA	%
1	Montmorillonita	$\text{Ca}_{0.2}(\text{Al},\text{Mg})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	30.75
2	Amorfo	-	32.58
3	Opalo	SiO_2	26.75
4	Krausita	$\text{KFe}^{3+}(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1.42
5	Saponita	$\text{Ca}_{0.2}\text{Mg}_3(\text{Si},\text{Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	8.5
			100

Tabla 39:Lista de picos CB-Na

Pos. [°2θ]	< I >	d-spacing [Å]	Pos. [°2θ]	< I >	d-spacing [Å]	Pos. [°2θ]	< I >	d-spacing [Å]
4.9	18	18.019	5.6	22	15.768	6.3	16	14.018
4.92	12	17.946	5.62	23	15.712	6.32	22	13.973
4.94	15	17.873	5.64	18	15.657	6.34	15	13.929
4.96	15	17.801	5.66	15	15.601	6.36	31	13.886
4.98	19	17.73	5.68	23	15.546	6.38	19	13.842
5	23	17.659	5.7	19	15.492	6.4	26	13.799
5.02	17	17.589	5.72	18	15.438	6.42	26	13.756
5.04	10	17.519	5.74	14	15.384	6.44	26	13.713
5.06	20	17.45	5.76	17	15.331	6.46	15	13.671
5.08	12	17.381	5.78	19	15.278	6.48	17	13.629
5.1	21	17.313	5.8	13	15.225	6.5	20	13.587
5.12	16	17.246	5.82	15	15.173	6.52	20	13.545
5.14	15	17.178	5.84	25	15.121	6.54	30	13.504
5.16	17	17.112	5.86	22	15.069	6.56	29	13.463
5.18	19	17.046	5.88	16	15.018	6.58	29	13.422
5.2	17	16.98	5.9	20	14.967	6.6	20	13.381
5.22	18	16.915	5.92	19	14.917	6.62	22	13.341
5.24	21	16.851	5.94	14	14.867	6.64	20	13.301
5.26	18	16.787	5.96	15	14.817	6.66	29	13.261
5.28	17	16.723	5.98	22	14.767	6.68	20	13.221
5.3	19	16.66	6	27	14.718	6.7	27	13.182
5.32	11	16.598	6.02	24	14.669			
5.34	14	16.535	6.04	17	14.621			
5.36	12	16.474	6.06	22	14.572			
5.38	23	16.413	6.08	8	14.525			
5.4	25	16.352	6.1	19	14.477			
5.42	21	16.292	6.12	16	14.43			
5.44	16	16.232	6.14	17	14.383			
5.46	17	16.172	6.16	19	14.336			
5.48	21	16.113	6.18	17	14.29			
5.5	22	16.055	6.2	22	14.244			
5.52	17	15.997	6.22	15	14.198			
5.54	22	15.939	6.24	17	14.152			
5.56	14	15.882	6.26	17	14.107			
5.58	14	15.825	6.28	12	14.062			

ANEXO 3: Espectroscopía UV VIs para líquidos de desecho

Se realizó el análisis de los líquidos de lavado para verificar la inexistencia de residuos de plata y proceder a su disposición final adecuada.

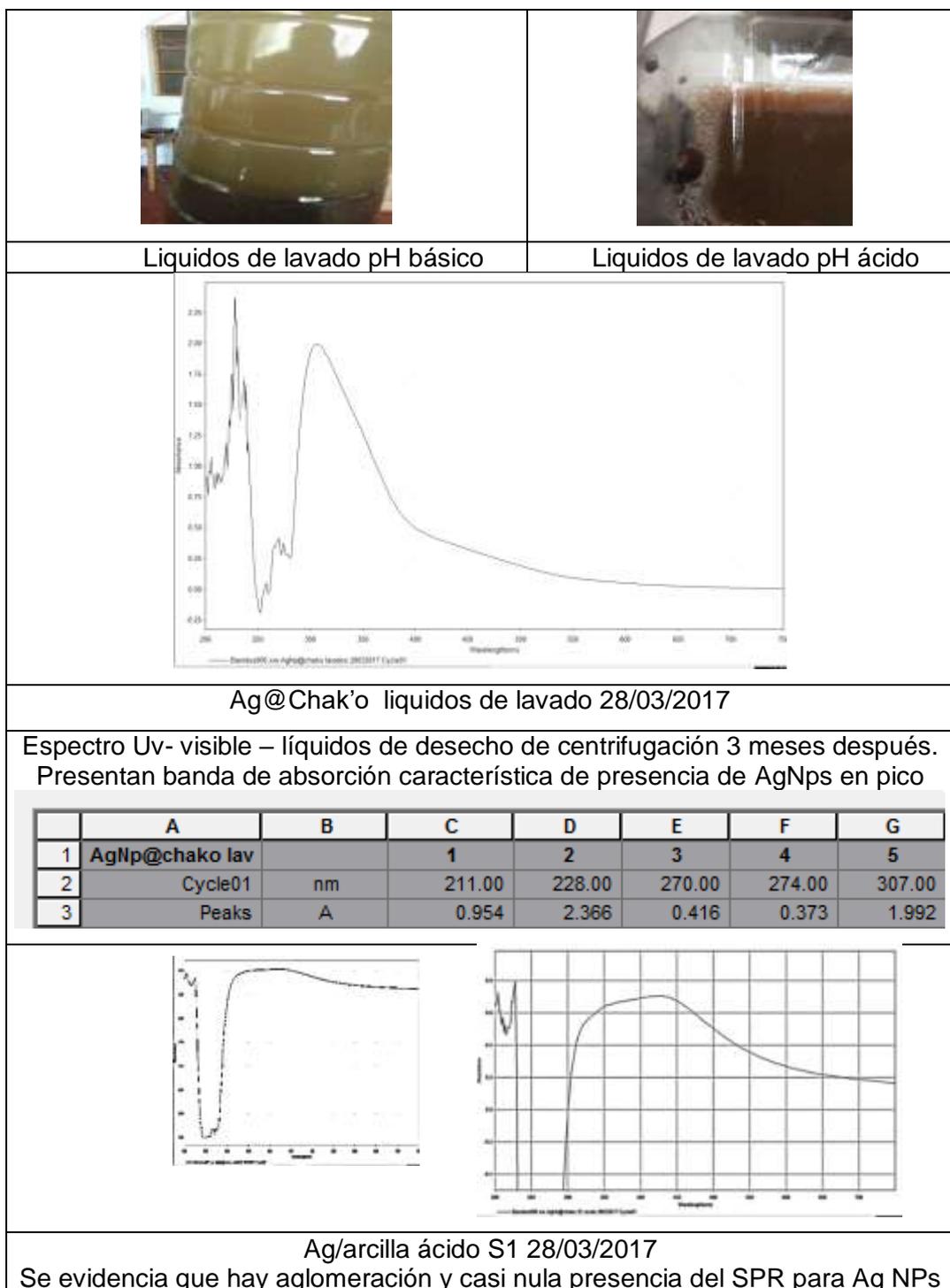


Figura 82: Espectro Uv- visible – líquidos de desecho de centrifugación 3 meses después.

ANEXO 4: Prueba de efecto Thindall soluciones coloidales

ANEXO 4 :Prueba de efecto Thindall con puntero laser para soluciones coloidales

	
AgNp-TR (antes de centrifugar)	AgNp-TV (antes de centrifugar)
	
AgNp-TR (despues de lavar hasta ausencia de Ag+) y redispersada en agua deionizada	AgNp-TV (despues de lavar hasta ausencia de Ag+) y redispersada en agua deionizada

ANEXO 5: Panel fotográfico variación de parámetros de síntesis

	
<p>S4 S3 S2 S1</p>	
<p>Chak'o+ AgNO₃</p>	
	
<p>Chak'o+ AgNO₃ + extractos acuosos de té verde. básico</p>	
	
<p>Síntesis Ag/arcilla-TV-básico</p>	
	
<p>Chak'o + AgNO₃</p>	<p>Chak'o + AgNO₃ + Extracto acuosos de té verde (inicio)</p>

	
Chak'o + AgNO ₃ + Extracto acuosos de té verde (intermedio)	Chak'o + AgNO ₃ + Extracto acuosos de té verde (final)

Figura 83: Síntesis Ag/arcilla-TV-ácido y básico

Síntesis Ag/arcilla-TV -ácido



Chak'o llevado a pH = 4 con HCl 0.1 M + AgNO₃ 0.1 M
Inicio reacción



Chak'o llevado a pH = 4 con HCl 0.1 M + AgNO₃ 0.1 M + extracto acuoso TV
Inicio reacción, 24 horas después de agitación fotoprotegida a 50°C



Chak'o lavado por 3 veces con agua desionizada, por 3 veces a 7000 r.p.m. por 15 minutos y secado a 65°C en estufa por 24 horas.



Chak'o lavado y redispersado en agua desionizada. (líquidos)



Ag/arcilla+TV S4, s3, s2 y s1



Ag/arcilla S4, s3, s2 y s1



Muestras Ag/arcilla-TV s5,s6,s7 y s8



Muestras coloidales S1, s10, s11 y s12



Muestras sólidas, despues del lavado respectivamente s13, s14, s15 y s16

Figura 84: **Proceso de síntesis Ag/arcilla**

ANEXO 6: Marcha fitoquímica extracto acuoso de té verde, Ag/arcilla y líquidos de desecho

Tabla 40: Marcha fitoquímica extracto acuoso de Té Verde

METABOLITO SECUNDARIO	REACTIVO	EXTRACTO ACUOSO DE TE VERDE	
FLAVONOIDES	SHINODA	++	NARANJA
	Mg+HCl 4 gotas		
FENOLICOS (TANINOS)	FeCl ₃ 10%	+++	VERDE PETROLEO
TANINOS	BORH TRAGER	+++	MARRON
	KOH 10%		
AZUCARES REDUCTORES	FELING	+++	PRECIPITADO ROJO LADRILLO
	NaOH		
ALCALOIDES	DRAGENDORF	+++	PRECIPITADO ROJO LADRILLO
	HCl 2 GOTAS		

FUENTE. Elaboración propia

Se hicieron pruebas cualitativas para flavonoides, fenoles y ficaloides para 2 muestras: Líquidos de lavado de composite Ag/arcilla, para asegurarnos que ya no hay metabolitos sin reaccionar y el composite Ag/arcilla -básico 10 meses después.

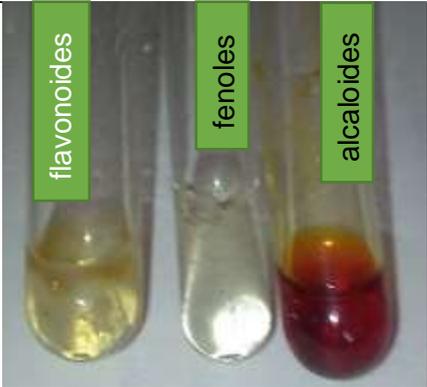
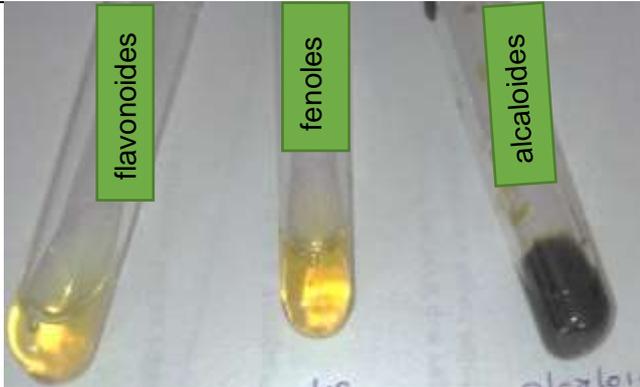
	
<p>Líquidos de desecho de lavado de composite Ag/arcilla -ácido ausente todos los metabolitos En la prueba de flavonoides se tiene una reacción exotérmica.</p>	<p>Composite Ag/arcilla básica; 10 meses después de su síntesis. Sólo en el caso de prueba para alcaloides presenta una variación de coloración que no es característica de los alcaloides (debería ser un precipitado anaranjado)</p>

Figura 85: Marcha fitoquímica líquidos de desecho y composite Ag/arcilla-básico

ANEXO 7: Comparación entre las absorciones del azul de metileno y la reconformación de la AgNp

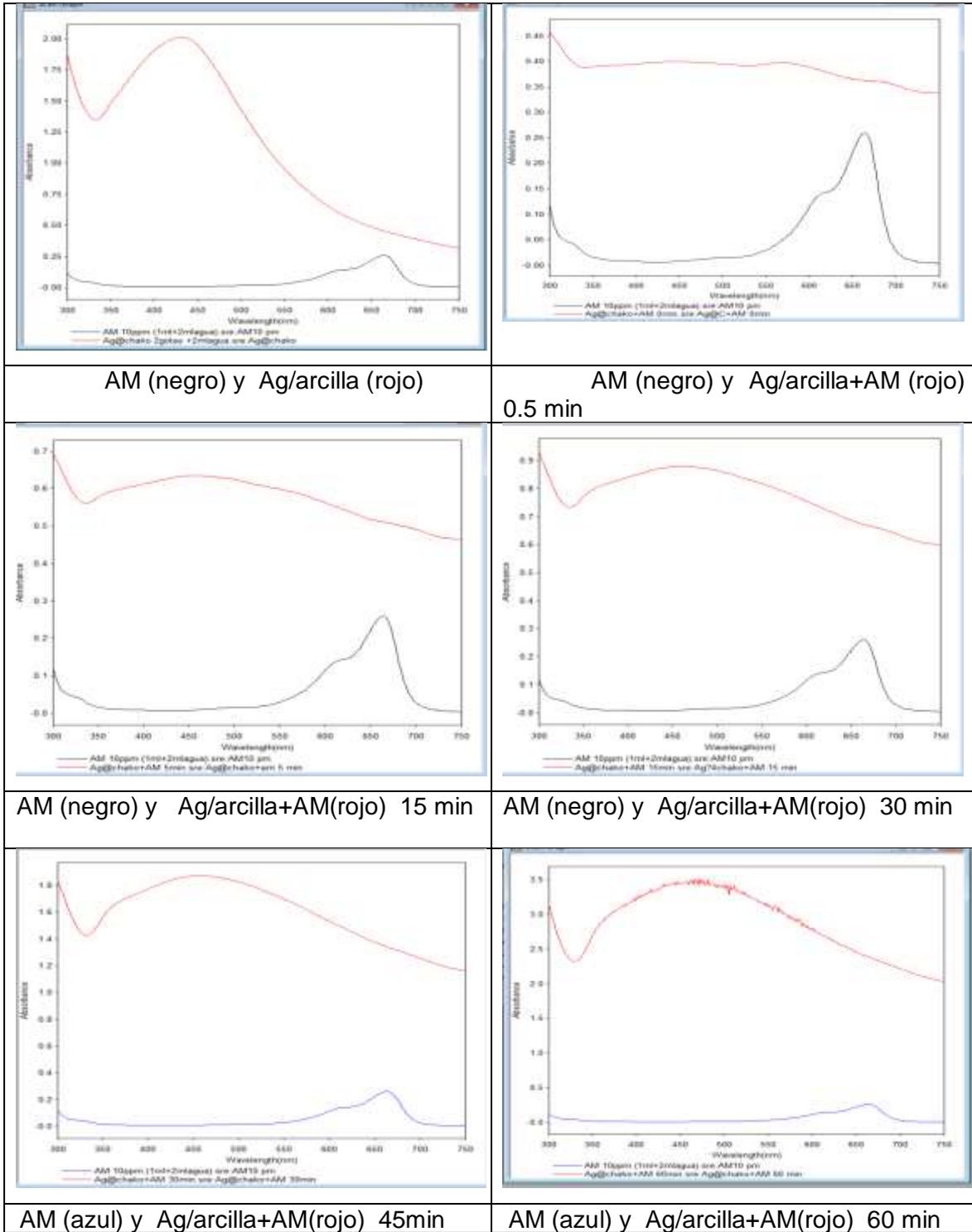


Figura 86: Comparación entre las absorciones del azul de metileno y la reconformación de la AgNp

ANEXO 8: Lugar de muestreo desechos de té rubio



Figura 87: *Cooperativa Té Huyro.*

Anexo 9 : EQUIPOS SEM Y TEM- SEGAI MATMOL ULL



Figura 88: SEM JEOL JSM 6300-Universidad La Laguna- España.



Figura 89: TEM JEOL JEM 2100 -Universidad La Laguna – España

Anexo 10: Otros

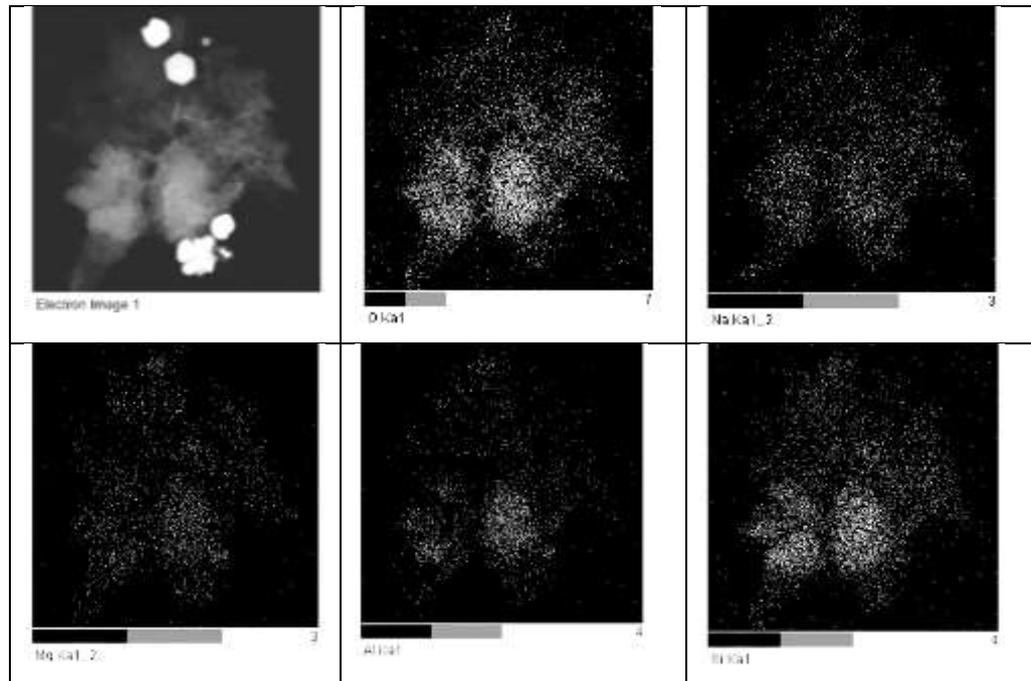


Figura 90: STEM-DF EDX Mapping AgNp-TV - método A.

ⁱ Para *E. coli*, su eliminación resulta casi completa después de su exposición al agente bactericida (AgNp) durante solamente 2.5 horas, con valores de CMI de 12.5 y CMB de 25 $\mu\text{g/ml}$, ratificando que tiene muy buena actividad bacteriostática y bactericida (Monge 2014b).