



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE QUÍMICA

“Biosíntesis de nanopartículas de Au y Ag  
asistidas con diferentes extractos de  
*Camellia sinensis*: Evaluación del efecto  
SERS”

**TESIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICO EN ALIMENTOS**

PRESENTA:

**MA ESMERALDA PATIÑO MANZANARES**

**Asesor:**

DR. ALFREDO RAFAEL VILCHIS NESTOR

**Asesor Adjunto:**

DR. MARCO ANTONIO CAMACHO LÓPEZ



Toluca, Estado de México.

Agosto-2019

No te di, Adamo, ni un puesto determinado ni un aspecto propio ni función alguna que te fuera peculiar, con el fin de que aquel puesto, aquel aspecto, aquella función por los que te decidieras, los obtengas y conserves según tu deseo y designio. La naturaleza limitada de los otros se halla determinada por las leyes que yo he dictado. La tuya, tú mismo la determinarás sin estar limitado por barrera ninguna, por tu propia voluntad, en cuyas manos te he confiado. Te puse en el centro del mundo con el fin de que pudieras observar desde allí todo lo que existe en el mundo. No te hice ni celestial ni terrenal, ni mortal ni inmortal, con el fin de que —casi libre y soberano artífice de ti mismo— te plasmaras y te esculpieras en la forma que te hubieras elegido. Podrás degenerar hacia las cosas inferiores que son los brutos; podrás —de acuerdo con la decisión de tu voluntad— regenerarte hacia las cosas superiores que son divinas.

**-Pico della mirándola, Oratio de hominis dignitate**

## ÍNDICE

Agradecimientos .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
ABREVIATURAS.....	5
Índice de Figuras .....	6
Índice de Tablas.....	9
RESUMEN .....	10
Introducción .....	11
Hipótesis.....	12
Objetivo General .....	12
Objetivos particulares .....	12
Capítulo 1 .Generalidades.....	13
1.1 Antecedentes .....	13
1.1.1 Nanociencia y Nanotecnología.....	14
1.1.2 Perspectiva actual sobre la nanotecnología.....	14
1.1.3 Los nanosensores .....	15
1.1.4 La espectroscopía Raman y el efecto SERS aplicado a los nanosensores.....	17
1.2 Descripción, propiedades y métodos de obtención de nanomateriales .....	21
1.2.1 Las nanopartículas.....	21
1.2.2 Clasificación de nanopartículas y nanomateriales.....	22
a) Clasificación de acuerdo a su composición.....	22
b) Clasificación de acuerdo a sus dimensiones.....	23
c) Clasificación de acuerdo a sus propiedades.....	24
1.2.3 Síntesis de Nanopartículas .....	26
1.3 Camellia sinensis .....	27
1.3.1 Té Verde y sus principios activos.....	27
1.3.2 Extracción de los componentes del té verde .....	29
Capítulo 2. Metodología experimental .....	31
2.1 Biosíntesis de nanopartículas de Oro y Plata asistida por extractos orgánicos de <i>Camellia sinensis</i> .....	32
2.1.1 Materiales y Reactivos .....	32
2.1.2 Preparación de los extractos.....	32
2.1.3 Síntesis y caracterización de Nanopartículas de Oro y plata .....	33
a) Síntesis de Nanopartículas de Ag y caracterización por UV-Vis.....	33

b) Síntesis de Nanopartículas de Au y caracterización por UV-Vis .....	33
c) Caracterización por Microscopia de transmisión electrónica ( TEM) .....	34
d) Análisis de microscopía Raman .....	34
Capítulo 3. ....	36
Resultados y su discusión. ....	36
3Espectrofotometría de UV-Vis .....	37
3.1 Caracterización de los extractos de <i>Camellia sinensis</i> . ....	37
3.2 Síntesis de Nanopartículas de Plata. ....	39
3.3Síntesis de Nanopartículas de Oro. ....	53
3.4 Análisis de las nanopartículas de Oro por Microscopia de Transmisión Electrónica. (TEM). .....	58
3.5 Estudio Raman de la molécula de prueba (azul de metileno), utilizando como sustrato nanopartículas de plata y oro. ....	63
Evaluación del efecto SERS con nanopartículas de plata .....	64
Evaluación del efecto SERS con nanopartículas de Oro .....	65
Conclusiones. ....	68
Bibliografía .....	70

## Abreviaturas

<b>°C</b>	<b>Grados Celsius</b>	<b>C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O</b>	Alcohol Isopropílico
<b>0D</b>	dimensión 0	<b>CH<sub>3</sub>OH</b>	Metanol
<b>1D</b>	Una dimensión	<b>C. sinensis</b>	<i>Camellia sinensis</i>
<b>2D</b>	Dos dimensiones	<b>et al</b>	<i>et alii</i> "y otros"
<b>3D</b>	Tres dimensiones	<b>Etc.</b>	Etcétera
<b>Å</b>	Armstrong	<b>FCC</b>	Cúbica centrada en caras
<b>AgA</b>	Nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de <i>C. sinensis</i> en agua.	<b>g</b>	Gramos
<b>AgEt</b>	Nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de <i>C. sinensis</i> en etanol.	<b>h</b>	Horas
<b>AgM</b>	Nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de <i>C. sinensis</i> en metanol.	<b>HAuCl<sub>4</sub></b>	Ácido tetracloroaurico
<b>AgP</b>	Nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de <i>C. sinensis</i> en isopropanol.	<b>HRTEM</b>	Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución
<b>AgNO<sub>3</sub></b>	Nitrato de plata	<b>Max</b>	Máximo
<b>Au</b>	Oro	<b>mg</b>	Miligramos
<b>AuA</b>	Nanopartículas de oro sintetizadas con extracto de <i>C. sinensis</i> en agua.	<b>min</b>	Minutos
<b>AuEt</b>	Nanopartículas de oro sintetizadas con extracto de <i>C. sinensis</i> en etanol.	<b>Min</b>	Mínimo
<b>AuM</b>	Nanopartículas de oro sintetizadas con extracto de <i>C. sinensis</i> en Metanol.	<b>mL</b>	Mililitros
<b>AuP</b>	Nanopartículas de oro sintetizadas con extracto de <i>C. sinensis</i> en isopropanol.	<b>nm</b>	Nanómetro
		<b>NP's</b>	Nanopartículas
		<b>Np's-Ag</b>	Nanopartículas de plata
		<b>NP's-Au</b>	Nanopartículas de oro
		<b>SERS</b>	Surface-enhanced Raman scattering
		<b>SD</b>	Desviación estándar
		<b>TEM</b>	Microscopía Electrónica de Transmisión
		<b>UV-vis</b>	Ultravioleta-visible

## Índice de Figuras

**Figura 1:** Principales empresas involucradas con la comercialización de nanopartículas y nanomateriales a nivel mundial (Saldaña-2019). P 13

**Figura 2:** Resonancia plasmónica (polarización) de una nanopartícula metálica (Cornejo, 2015) P 15

**Figura 3:** Clasificación de los nanomateriales de acuerdo con la agencia del medio Ambiente (EPA) **P20**

**Figura 4:** Clasificación de las nanopartículas de acuerdo a sus dimensiones. P21

**Figura 5:** Síntesis de nanopartículas por Bottom-up y Top Down. P23

**Figura 6** Estructura química de las principales catequinas encontradas en el Té verde (Zaveri, 2006) p 25

**Figura 7:** Preparación de los extractos de *C. sinensis*.

**Figura 8: Espectros UV-Vis** de los diferentes extractos de *C. sinensis* p 34

**Figura 9:** a) Espectros UV-Vis de la formación de nanopartículas de plata con extractos de *C. sinensis* en etanol a los 5, 10,15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la biorreducción. b) incremento de la absorbancia respecto al tiempo en la longitud de onda 416nm.

**Figura 10: a)** Espectros UV-Vis de la formación de nanopartículas de plata con extractos de *C. sinensis* en agua a los 5, 10,15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la biorreducción. b) incremento de la absorbancia respecto al tiempo y desplazamiento de la longitud de onda máxima de absorción

**Figura 11: Ejemplo** de la reacción redox, donde involucra la 3-hidroxiflavona. Donde el ion plata se reduce a nanopartícula. (Mirgorod & Borodina, 2013) p 38

**Figura 12:** Figura 11: a) Espectros UV-Vis de la formación de nanopartículas de plata con extractos de *C. sinensis* en metanol a los 5, 10,15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la biorreducción. b) Incremento de la absorbancia y desplazamiento de la longitud de onda de absorbancia máxima respecto al tiempo.

**Figura 13:** Espectros UV-Vis de la formación de nanopartículas de plata con extractos de *C. sinensis* en isopropanol a los 5, 10,15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la biorreducción.

**Figura 14:** Espectros UV-vis de las nanopartículas de plata obtenidas con los extractos de *C. sinensis* en etanol, agua, metanol e isopropanol, 24h después de la biorreducción.

**Figura 15:** Micrográficas de las nanopartículas de plata obtenidas a partir de *C. sinensis* en los distintos disolventes. A.1) NP-Aget, A.2) HRTEM de NPAgEt A.3) Patrón de Difracción de electrones de NPAget. B.1) NP-AgA, B.2) HRTEM de NPAgA B.3) Patrón de Difracción de electrones de NPAgA C.1) NP-AgM, C.2) HRTEM de NPAgM C.3) Patrón de Difracción de electrones de NPAgM. D.1) NP-AgP, D.2) HRTEM de NPAgP D.3) Patrón de Difracción de electrones de NPAgP.

**Figura 16:** Dendrímeros obtenidos con los extractos de *C. sinensis* en metanol.

**Figura 17:** Dendrímeros obtenidos con los extractos de *C. sinensis* en isopropanol.

**Figura 18** Histogramas de las nanopartículas de plata obtenidas con extractos de *C. sinensis* con los diferentes disolventes a) Nanopartículas de Plata en etanol. B) Nanopartículas de plata con metanol c) Nanopartículas de plata en agua d) Nanopartículas de plata en isopropanol.

**Figura 19:** Espectros UV-Vis de la formación de nanopartículas de oro con extractos de *C. sinensis* en agua a los 5, 10,15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la biorreducción. b) incremento de la absorbancia respecto al tiempo.

**Figura 20:** Espectros UV-Vis de la formación de nanopartículas de oro con extractos de *C. sinensis* en etanol a los 5, 10,15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la biorreducción.

**Figura 21:** Espectros UV-Vis de la formación de nanopartículas de oro con extractos de *C. sinensis* en metanol a los 5, 10,15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la biorreducción.

**Figura 22: Espectros** UV-Vis de la formación de nanopartículas de oro con extractos de *C. sinensis* en isopropanol a los 5, 10,15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la biorreducción.

**Figura 23:** Nanoflores obtenidas mediante extractos acuoso de *C. sinensis*.

**Figura 24:** Formación de nanoflores vía reducción de  $\text{AuCl}_3$  con zumo de *Averrhoa Carambola* (Yang, y otros, 2017)

**Figura 25:** Micrografías de las nanopartículas de oro obtenidas a partir de *C. sinensis* en los distintos disolventes. A.1) NP-AuEt, A.2) HRTEM de NPAuEt A.3) Patrón de Difracción de electrones de NPAuEt. B.1) NP-AuA, B.2) HRTEM de NPAuA B.3) Patrón de Difracción de electrones de NPAuA C.1) NP-AuM, C.2) HRTEM de NPAuM C.3) Patrón de Difracción de electrones de NPAuM. D.1) NP-AuP, D.2) HRTEM de NPAuP D.3) Patrón de Difracción de electrones de NPAuP.

**Figura 26:** a) Histograma de las nanopartículas de oro obtenidas mediante extractos de *C. sinensis* en etanol. b) Micrografía en donde se presentan nanotriángulos y nanobarras.

**Figura 27:** a) Histograma de las nanopartículas de oro obtenidas mediante extractos de *C. sinensis* en etanol

**Figura 28:** Micrografías de campo claro y oscuro de las Nanopartículas de oro obtenidas con extractos de *C. sinensis* en isopropanol

**Figura 29:** Estructura química del azul de metileno.

**Figura 30:** Evaluación del efecto SERS con azul de metileno utilizando como sustrato nanopartículas de plata a): Espectro Raman del azul de metileno sin nanopartículas de plata. b) AzulAgA: Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de plata obtenidas a partir del extracto en agua. c) AzulAgM: Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de plata obtenidas a partir del extracto en metanol. d)AzulAgEt: Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de plata obtenidas a partir del extracto en etanol. e) AzulAgA: Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de plata obtenidas a partir del extracto en isopropanol.

**Figura 31:** Evaluación del efecto SERS con azul de metileno utilizando como sustrato nanopartículas de oro a): Espectro Raman del azul de metileno sin nanopartículas de oro. b) **AzulAgA:** Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de oro obtenidas a partir del extracto de *C. sinensis* en agua. c) **AzulAgM:** Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de oro obtenidas a partir del extracto de *C. sinensis* en metanol. d)**AzulAgEt:** Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de oro obtenidas a partir del extracto de *C. sinensis* en etanol. e) **AzulAgA:** Espectro Raman del



azul de metileno con nanopartículas de oro obtenidas a partir del extracto de *C. sinensis* en isopropanol.

## Índice de Tablas

**Tabla 1** Determinación de compuestos analizados a través de efecto SERS utilizando nanopartículas de Oro y plata.

**Tabla 2** Análisis de compuestos orgánicos de *Camellia sinensis* a través de espectroscopia de UV-vis.

**Tabla 3:** Síntesis de nanopartículas de plata.

**Tabla 4:** Síntesis de nanopartículas de oro.

**Tabla 5:** Tabla comparativa de las nanopartículas de plata obtenidas por biosíntesis.

**Tabla 6:** Principales Bandas asignadas para el espectro del azul de metileno.

## RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la morfología, tamaño y dispersión de tamaño de las nanopartículas de Au y Ag obtenidas mediante biorreducción con extractos *Camellia sinensis* en etanol, agua, metanol o isopropanol. La caracterización de las nanopartículas se realizó a través de espectroscopia UV-Vis y Microscopia de Transmisión Electrónica (TEM). Aunado a ello se evaluó la mejora del efecto de dispersión inelástica de la luz en una superficie, conocido como efecto SERS (Surface-enhanced Raman scattering). Las nanopartículas se dividieron en dos grupos: 1) Las obtenidas mediante una solución acuosa de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) con cada uno de los extractos de *Camellia sinensis* y 2) Las obtenidas a través de una solución de ácido tetracloruro áurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) mezclada con cada uno de los extractos. Para ambos grupos se determinó su cinética de formación mediante espectroscopía UV-Vis a los 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos y a las 24 horas.

La absorbancia máxima en los espectros de UV-Vis para las nanopartículas de Ag se ubica en el rango de 420-470 nm, con morfologías de quasiesferas, barras, decaedros, dendrímeros, triángulos, entre otros; el tamaño promedio oscila entre 7-35nm, sin embargo, se observan estructuras cercanas a 90nm. Con base en los patrones de difracción de electrones de área selecta (SAED) se observan los planos cristalográficos (111), (200) y (220) correspondientes a la estructura cúbica centrada en caras de la plata. Por otra parte las nanopartículas de Au que se obtuvieron son quasiesferas, barras y nanoflores; estas morfologías presentan una absorbancia máxima en los espectros de UV-Vis que se sitúa en el rango de 550- 560nm; los planos cristalográficos obtenidos de los patrones SAED, son (111), (200), (220) y (311) los cuales corresponden a una estructura cristalina cúbica centrada en caras del oro.

La evaluación del efecto SERS se realizó utilizando el azul de metileno como molécula blanco. Todos los sistemas presentaron una mejora en la señal Raman, sin embargo, las nanopartículas de Au en etanol, presentaron los mejores resultados, con un aumento en la intensidad Raman de 136 veces respecto al blanco, seguido de las nanopartículas de

oro sintetizadas con extractos de *C. sinensis* en agua (el cual presenta un aumento de 96 veces).

## Introducción

Los métodos convencionales para la detección e identificación de sustancias químicas y microorganismos patógenos suelen ser tardados, por lo que no representan una forma viable para realizar las pruebas in vivo. En éste contexto, los sensores son instrumentos compactos que se usan para la detección no invasiva de analitos específicos; utilizan un sistema de transducción que produce una señal medible ocasionada por un cambio en las propiedades físico-químicas iniciales, causadas por la interacción entre elemento selectivo y el analito de interés. (Wilson & Gifford, 2005) La incorporación de la nanotecnología en la creación de sensores con la implementación de nanomateriales ha dado una nueva diversidad de nanosensores utilizados para la detección rápida de cambios químicos, biológicos, físicos y eléctricos (Sun-Waterhouse & I.N Waterhouse, 2016) Actualmente, se han diseñado nanosensores inteligentes que tienen niveles de detección muy bajos, como los que emplean espectroscopia Raman, éstos nos ofrecen varias ventajas sobre las técnicas existentes, su selectividad, sensibilidad, rapidez y su capacidad de detección hasta en ppb, son razones por las que sobresalen en áreas que se encargan del monitoreo bioquímico, diagnóstico, terapia médica (Vo-Dinh, y otros, 2015) detección de contaminantes en el agua, detección de microorganismos patógenos transmitidos por alimentos, adulterantes o contaminantes de alimentos, entre otros. (He, Kim, Li, Hu, & Lin, 2008), (Craig, Franca, & Irudayaraj, 2013)

En el presente trabajo se utiliza un método sustentable para la obtención de nanopartículas a partir de la mezcla de sales inorgánicas de oro o plata con extractos de *Camellia sinensis*, se realizó una caracterización a través espectroscopia UV-vis y microscopia de transmisión atómica (TEM). Se evaluaron las propiedades ópticas de las nanopartículas obtenidas a través de espectroscopia Raman y la mejora en el efecto de dispersión inelástica de la luz en una superficie conocido como efecto SERS (Surface-enhanced Raman scattering) por sus siglas en inglés, utilizando como molécula blanco el azul de metileno.

## Hipótesis

Las nanopartículas obtenidas con extractos de *Camellia sinensis* presentarán morfología y tamaño sintonizable para mejorar la respuesta en el efecto SERS y por lo tanto su capacidad para fungir como sensores.

## Objetivo General

- Evaluar el efecto SERS de las nanopartículas de Au y Ag obtenidas a partir de los distintos extractos de *Camellia sinensis*.

## Objetivos particulares

- ❖ Obtener los extractos de té verde con los diferentes solventes polares: metanol, etanol, isopropanol y agua.
- ❖ Sintetizar nanopartículas de oro y plata empleando como agente biorreductor los extractos de *Camellia sinensis*.
- ❖ Caracterizar las nanopartículas con espectroscopia UV-Vis y microscopia de transmisión electrónica para determinar el tamaño, la estructura y morfología de las nanopartículas.
- ❖ Evaluar el efecto SERS empleando azul de metileno como molécula blanco.

# Capítulo 1. Generalidades.

## 1.1 Antecedentes

### ***1.1.1 Nanociencia y Nanotecnología.***

En los últimos años la nanociencia y la nanotecnología han pasado de ser áreas científico-tecnológicas emergentes limitadas al ámbito de la ciencia y la investigación, a convertirse en una de las principales líneas temáticas desarrolladas en los países más avanzados. La nanociencia y la nanotecnología nos ofrecen nuevas oportunidades para el desarrollo científico-tecnológico que demanda nuestra época moderna, además, nos permite comprender la naturaleza y propiedades de la materia a escala de moléculas individuales.

Aunque inicialmente ambos términos se utilizaban como sinónimos, existen características que los diferencian; la tecnología, hace referencia al desarrollo y aplicaciones comerciales, la ciencia, involucra la teoría y los experimentos que dan la base para desarrollar la tecnología. Podemos expresar que la nanociencia es el estudio de los materiales a escala nanométrica, entendiendo que la escala se basa en 1nm ( $1 \times 10^{-9}$  m), específicamente y por acuerdo científico son nanoestructuras o nanomateriales aquellos que entren en el rango de 1 a 100nm, este estudio involucra propiedades, funciones y fenómenos que caen en el umbral de la física clásica y la mecánica cuántica. Por otra parte, la nanotecnología se basa en la manipulación, control e integración de átomos y moléculas de materiales, estructuras, componentes, aparatos y sistemas a nanoescala donde su principal objetivo es industrial y comercial.

### ***1.1.2 Perspectiva actual sobre la nanotecnología.***

En una publicación realizada por CONACYT en 2016 menciona que: en América Latina, México se ubica en el segundo lugar de los países (detrás de Brasil) con mayores iniciativas, proyectos académicos y de investigación, infraestructura, número de publicaciones, convenios internacionales y recursos humanos trabajando en el área de nanociencia y nanotecnología; aunado a esto en México el valor potencial del sector es de 1,500 millones de dólares (mdd), según un resumen sectorial de la Unidad de Inteligencia de Negocios de ProMéxico, mientras que a escala global, el mercado de la nanotecnología alcanzó un valor de 39,200 mdd en 2016 y se espera un valor de 125,000 mdd para el 2024 , refiere el estudio "Maturing Nanotechnology Market: Products and Applications (BBC Research-2017) y la consultoría iGate Research respectivamente. Actualmente en el mundo existen empresas dedicadas a la comercialización de productos nanotecnológicos (Figura 1) como son Nanophase technologies en Estados Unidos,

Nanogate en Alemania, Haydale y Nanoco Group en Reino Unido, Nanoplus Tech en Taiwán, Micro-X en Australia, SVG Optronics en China, Advanced Nanoproducts y Bio-Synectics en Corea del sur, Prebona en Suecia, en México empresas dedicadas por completo a los nanomateriales están Colhei y Nanomateriales S.A (Peralta, 2018) (Saldaña, 2019). Las aplicaciones más sobresalientes son el desarrollo y comercialización de materiales avanzados para dispositivos electrónicos, convertidores catalíticos, cerámicos, compuestos para la aplicación en biomedicina, microelectrónicos, nanosensores, etc.; éste último incluso ha dado un área de estudio específica conocida como *nanosensónica* (Cano Olivera & Pérez Castillo , 2008)

### **1.1.3 Los nanosensores**

Los nanosensores son utilizados para el control y detección de parámetros físicos, químicos y biológicos, debido a la sensibilidad que presentan frente a los cambios provocados por estímulos ambientales, térmicos, mecánicos, químicos, cambios en el volumen, fuerzas magnéticas o eléctricas.

La espectroscopia Raman ofrecen ventajas sobre otras técnicas, debido a: la rapidez para llevar a cabo el análisis, su selectividad, sensibilidad, su capacidad de detectar la presencia de un compuesto incluso en partes por billón (ppb), nos ofrece información acerca de la estructura química del analito y el agua tiene una influencia insignificante en el espectro Raman final, lo cual es una ventaja para aplicar el estudio en un entorno acuoso o fisiológico, sin embargo, el análisis por espectroscopia Raman se basa en examinar los fotones dispersos de manera inelástica al hacer incidir el haz de luz monocromática, pero solamente una fracción muy pequeña de estos fotones (aproximadamente 1 de cada 10 millones de posibilidades) se dispersan de esa forma, los demás mantienen la misma frecuencia que la luz incidente (dispersión Rayleigh) y éstos últimos no nos ofrecen ninguna información del analito.

Dentro de los primeros estudios reportados de la influencia de un metal rugoso en el efecto SERS se encuentra el realizado por Fleischmann *et al*-1973 donde descubrió que la señal Raman de piridina mejora significativamente al ser adsorbida en un electrodo de

### Estados Unidos

#### NANOPHASE TECHNOLOGIES

- **País y año de fundación:** Estados Unidos, 1989
- **Valor de capitalización:** 25.6
- **Ventas totales:**13.7
- **Core bussines:** Desarrolla y comercializa materiales avanzados útiles en industrias de electrónica, cerámica estructural, cosmética y catalizadores industriales.

### Alemania

#### NANOGATE

- **País y año de fundación:** Alemania, 1999
- **Valor de capitalización:** 218.4
- **Ventas totales:**252.0
- **Core bussines:** Desarrolla soluciones para crear superficies inteligentes resistentes a rayones, anticorrosivos y antiadherentes, entre otros

### Reino Unido

#### HAYDALE

- **País y año de fundación:** Reino Unido, 2010
- **Valor de capitalización:** 25.2
- **Ventas totales:**4.6
- **Core bussines:** Provee soluciones para nanomateriales en los campos de tintas, sensores, almacenamiento de energía entre otros.

### Suecia

#### PRENOBA

- **País y año de fundación:** Suecia,2010
- **Valor de capitalización:** SD
- **Ventas totales:**0.2
- **Core bussines:** Desarrolla recubrimientos antimicrobianos, repelentes de suciedad y productos fitosanitarios para segmentos como textiles, pinturas, agrícolas y práctica médica.

### Corea del Sur

#### BIO- SYNECTICS

- **País y año de fundación:** Corea del sur,2004
- **Valor de capitalización:** 0.1
- **Ventas totales:**13.7
- **Core bussines:** Crea nanopartículas para favorecer la solubilidad de sustancias activas en productos farmacéuticos, nutracéuticos y cosméticos

### Corea del Sur

#### ADVANCED NANOPRODUCTS

- **País y año de fundación:** Corea del Sur, 2000
- **Valor de capitalización:** 158.1
- **Ventas totales:**47.1
- **Core bussines:** Produce materiales para semiconductores de memoria/no memoria, LCD, PDP y otros productos

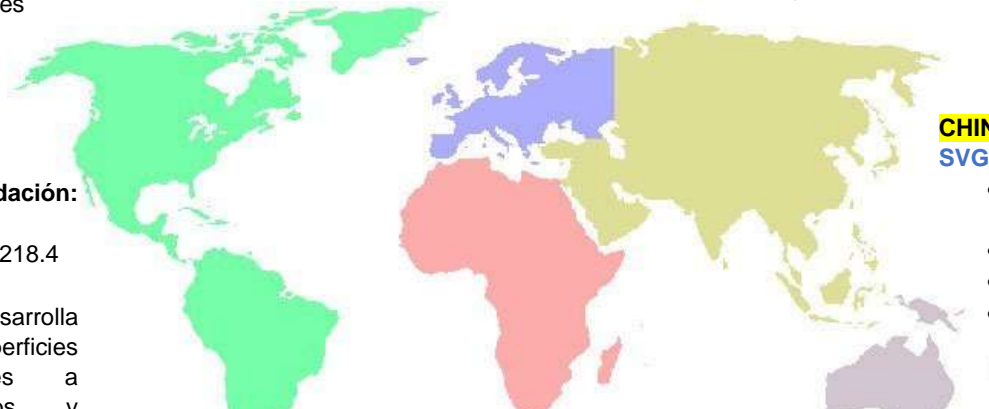


Figura 1. Principales empresas involucradas con la comercialización de nanopartículas y nanomateriales a nivel mundial (Saldaña-2019)

### CHINA

#### SVG OPTRONICS

- **País y año de fundación:** China, 2001
- **Valor de capitalización:** 390.0
- **Ventas totales:**167.5
- **Core bussines:** Soluciones para el desarrollo de películas que permiten crear imágenes en 3D en dispositivos electrónicos táctiles y pantallas.

### Reino Unido

#### NANOPHASE TECHNOLOGIES

- **País y año de fundación:** Reino Unido, 2001
- **Valor de capitalización:** 159.5
- **Ventas totales:**4.5
- **Core bussines:** Desarrolla y fabrica nanomateriales libres de metales pesados para su uso en pantallas, iluminación, energía solar y bioimagen.

### Taiwan

#### NANOPLUS TECH

- **País y año de fundación:** Taiwán, 2006
- **Valor de capitalización:** 25.6
- **Ventas totales:**13.7
- **Core bussines:** Desarrolla y comercializa materiales avanzados útiles en industrias de electrónica, cerámica estructural, cosmética y catalizadores industriales.

### Australia

#### MICRO-X

- **País y año de fundación:** Australia,2011
- **Valor de capitalización:** 28.8
- **Ventas totales:**1.2
- **Core bussines:** Desarrolla y fabrica soluciones para equipos de rayos X ultraligeros basados en nanotubos de carbono.



plata rugoso. (Fleischmann, Hendra, & Mc Quillan, 1974) Más tarde, este fenómeno se denominó SERS, que describe la mejora de la señal Raman cuando las moléculas se adsorben o están cerca de superficies metálicas rugosas o nanoestructuras.

#### **1.1.4 La espectroscopía Raman y el efecto SERS aplicado a los nanosensores.**

La espectroscopía Raman es una técnica fotónica de alta resolución que proporciona en pocos segundos información química y estructural de casi cualquier material compuesto orgánico y/o inorgánico permitiendo su identificación. Como se mencionó anteriormente este análisis se basa en hacer incidir un haz de luz monocromática de frecuencia  $\omega_0$  sobre una muestra cuyas características se desean conocer. La mayor parte de la luz dispersada presenta la misma frecuencia que la luz incidente pero una pequeña fracción presenta un cambio frecuencial, resultado de la interacción de la luz con la materia. Estas nuevas frecuencias, son las frecuencias Raman, características de la naturaleza química y el estado físico de la muestra, independientes de la radiación incidente. Las variaciones de frecuencia observadas en el fenómeno de dispersión Raman, son equivalentes a variaciones de energía.

Los iones y átomos están enlazados químicamente para formar moléculas y redes cristalinas, los cuales están sometidos a constantes movimientos vibracionales y rotacionales, estas oscilaciones se realizan a frecuencias bien determinadas en función de la masa de las partículas que intervienen y del comportamiento de los enlaces.

Una forma de aumentar la Intensidad Raman ( $I_{RS}$ ) es aumentar la intensidad del campo de luz incidente de excitación ya que  $I_{RS}$  es proporcional al cuadrado del campo incidente, el cual se puede expresar como :

$$I_{RS} \propto \left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q} E_0 [\cos(\omega_0 - \omega_v) t + \cos(\omega_0 + \omega_v) t] \right)^2$$

Donde  $\alpha$  es la polarizabilidad molecular,  $Q$  es el desplazamiento nuclear, y  $\omega_0$  y  $E_0$  son la frecuencia angular y la amplitud del campo incidente, respectivamente. Los componentes dentro de los corchetes se definen como emisiones Stokes  $\hbar(\omega_0 - \omega_v)$  y anti-Stokes  $\hbar(\omega_0 + \omega_v)$ . A través de la ecuación se puede observar que aumentando la intensidad del campo de la luz de excitación también podría incrementar las emisiones Raman Stokes y

Anti-Stokes. Al colocar el analito cerca de una superficie de metal rugosa, la señal Raman puede ser mejorada de  $10^4$ - $10^6$  veces más que en una superficie plana (Moskovits, Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: a Brief Perspective, 2006).

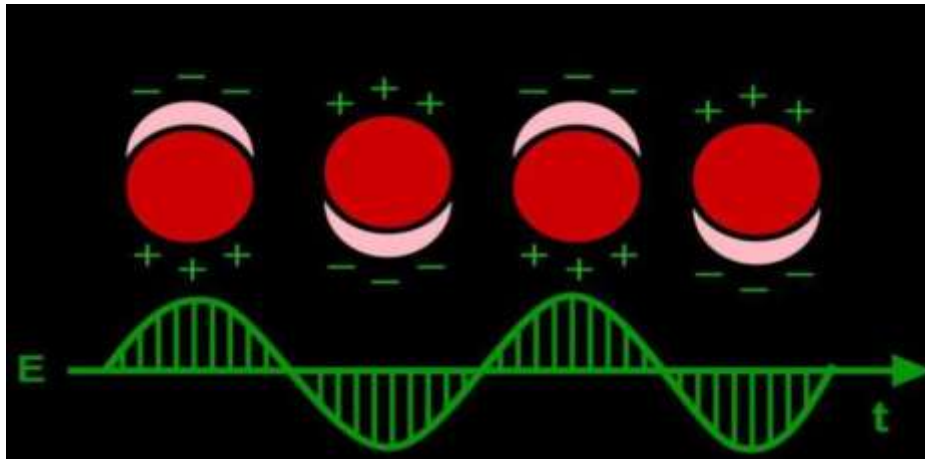


Figura 2 Resonancia plasmónica (polarización) de una nanopartícula metálica (Cornejo, 2015)

El efecto SERS es un incremento y mejora de la señal Raman a un nivel comparable como el de fluorescencia, Fleischmann y sus compañeros de trabajo, realizaron el primer SERS al descubrir que la superficie del metal rugoso podría producir una mejora en la señal Raman (Fleischmann, Hendra, & Mc Quillan, 1974) éste fenómeno se puede explicar a través de dos mecanismo clave: primero el efecto electromagnético, el cual hace referencia al polaritón del plasmón de superficie (SPPs por sus siglas en ingles) el cual es una cuasi-partícula híbrida resultante de la interacción y acoplamiento entre la luz incidente y los electrones libres en la superficie de una nanopartícula, éstos electrones son excitados produciendo una oscilación que genera una densidad de carga, este fenómeno se llama resonancia del plasmón de superficie y tiene la capacidad de absorber determinadas frecuencias de la luz incidente y de transmitir las frecuencias no absorbidas (Cornejo, 2015) Ver figura 2. Debido a esto, el incremento en la señal puede ser de  $10^4 - 10^5$  (Moskovits, 1985). En éste contexto se propone que el efecto SERS implique cinco pasos. 1) En el primer paso, el fotón impactante ( $\omega_{ext}$ ) y el ángulo incidente  $\theta$  se acopla a una superficie metálica y produce SPPs para la excitación. 2) Éstos SPPs entrantes polarizan las moléculas, creando grandes y efectivos momentos dipolares, lo

que resulta en la mejora de la excitación 3) La polarización molecular cambia si las moléculas cambian de estado vibracional 4) El cambio en las polarización molecular acopla energía en los SPP a una frecuencia dispersa. 5) Finalmente, estos SPP salientes se descomponen en radiación y  $\omega_{RS}$  se dispersa en un ángulo  $\theta_{RS}$  dando lugar a la mejora de las emisiones. Por lo tanto, la mejora de Raman depende en gran medida de la generación y decadencia de la entrada y salida del SPP que a su vez determinan las respectivas intensidades de campo.

Por otro lado el segundo efecto es el químico el cual resulta de la resonancia de la transferencia de carga entre la molécula que es fuertemente adsorbida dentro de la superficie y el mismo metal éste puede contribuir a  $10^2$  - $10^3$  en el incremento de la señal (Maher, 2012)

Actualmente aunque los sensores SERS basados en nanopartículas metálicas presentan grandes ventajas también siguen siendo un desafío debido a la baja reproducibilidad, esto se debe a que varios factores tienen un impacto en los ensayos de SERS, como la composición del sustrato, el grado de agregación de las NP's, pH, temperatura o la fuerza iónica, sin embargo, las nanopartículas de oro y plata utilizadas como sustratos para SERS ofrecen cierta estabilidad y mantienen la energía del plasmón en longitudes de onda visible e infrarroja cercana donde ocurren la mayoría de las mediciones Raman. (Sergiienko, Moor, Gudun, Yelemessova, & Bukasov, 2017) Por ejemplo, nanoestructuras o sustratos de Silicio decorados con nanopartículas metálicas han generado una mejora en la señal Raman y una excelente reproducibilidad ya que las nanopartículas metálicas están fuertemente inmovilizadas por el Si, evitando de manera efectiva su agregación aleatoria (Tan, Lee, & Lee, 2015). Es importante señalar que el arreglo de las nanopartículas en el soporte es determinante para producir el efecto SERS; se ha demostrado que la creación de "Hot-Spots" (los cuales son hendiduras, huecos o fisuras) y la disminución de la distancia entre ellos a escalas subnanométricas (<1nm), incrementan y mejoran considerablemente las señales Raman, en otras palabras, el efecto SERS se correlaciona inversamente con el tamaño de los "hotspot" (Cang, y otros, 2011).

A continuación en la tabla 1 se presentan investigaciones relacionadas con el efecto SERS promovido por la aplicación de nanopartículas como sustratos. En ella podemos observar que las nanopartículas de Oro son más utilizadas que las Np's de plata.

Tabla 1 - Determinación de compuestos analizados a través de efecto SERS utilizando nanopartículas de Oro y plata.

Analíto identificado	Nanopartículas empleadas	Autor del estudio
Identificación de <i>Escherichia coli</i> , <i>E. coli</i> O157:H7, <i>E. coli</i> DH 5 $\alpha$ , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , y <i>Salmonella typhimurium</i>	Sustratos de NP's-Ag producidas por método de deposición	(Chu, Huang, & Zhao, 2008).
<i>E. coli</i> O157, <i>S. typhimurium</i> y <i>S. aureus</i> .	Nanocristales de Ag ensamblados en nanoesferas de Ag con diámetros de 60-80nm.	(Wang, Lee, & Irudayaraj, 2010)
Detección y discriminación entre cinco tipos de esporas de <i>Basillus</i> ( <i>B. cereus</i> ATCC 13061, <i>B. cereus</i> ATCC 10876, <i>B. cereus</i> sp., <i>B. subtilis</i> sp., <i>B. stearothermophilus</i> sp.	Nanosustratos de oro	(He, Liu, Lin, Mustapha, & Wang, 2008).
Detección y cuantificación de <i>Escherichia coli</i> .	Nanoesferas de oro estabilizadas con citrato, y nanorodillos estabilizados con bromo hexadeciltrimetilamonio	(Temur, Boyaci, Tamer, Unsual, & Aydogan, 2010)
Identificación de melanina en pollo, trigo, pastel y fideos	Obleas de silicio recubiertas con oro	(Lin, y otros, 2008)
Melamina contenida en leche en polvo		(Cheng, y otros, 2010)
Identificación de melanina en matrices sólidas como leche en polvo, formula infantil, lactosa, salvado de trigo, proteína de suero y gluten de trigo.	Aglomerados de nanopartículas de oro	(Mecker, y otros, 2012)
Se identificó y detectó pesticidas que contienen azufre en las cáscaras de manzana, uva, pera, mango y durazno	Nanopartículas de oro y nanopartículas de plata.	(Liu, y otros, 2012)
Detección de fármacos de trifenilmetano en	Core-Shell de	(Pei, y otros,

<b>el músculo de los peces.</b>	nanopartículas de oro y plata.	2014)
<b>Detección de <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella enterica</i> Serotipo Enteritidis</b>	Core-Shell de nanopartículas de oro y plata.	(Liu, Zang, Li, & Wang, 2017),
<b>Detección de Disulfuro de tetrametiltiuram y pesticidas de tiabendazol en frutas y verduras</b>	Nanorodillos de plata recubiertos con Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	(Jiang, y otros, 2018)
<b>Determinación de 21 pesticidas distintos, entre ellos fungicidas, neonicotinoides y organofosforados. Los límites de detección se encuentran en el rango de 0.001 to 10 partes por million (ppm)</b>	Nanoesferas de oro suspendidas en agua.	(Dowgiallo & Guenther, 2019)
<b>Detección de tiabendazol en manzanas</b>	Nanorodillos de oro	(Fu, Sun, Pu, & Wei, 2018)

## 1.2 Descripción, propiedades y métodos de obtención de nanomateriales

### 1.2.1 Las nanopartículas

Actualmente distintas áreas de investigación se han interesado en el estudio de las características y aplicaciones de las nanopartículas, debido a que las propiedades fundamentales de los sólidos o moléculas correspondientes se ven alteradas conforme el tamaño de las estructuras decrece a escala nanométrica; Por ejemplo, el oro no exhibe propiedades catalíticas, sin embargo, nanocristales de oro han demostrado ser excelentes catalizadores a bajas temperaturas. Parámetros como la forma, dispersión, relación entre superficie y volumen se vuelven imprescindibles a esta escala, propiedades que a escala macroscópicas eran irrelevantes; Resaltando la importancia de estos parámetros las nanopartículas se clasifican de acuerdo a sus dimensiones, morfología, composición y propiedades, siendo este último parámetro el más aceptado por la comunidad científica para definir las estructuras nanométricas en función de su comportamiento. (Noguez , 2013)

## 1.2.2 Clasificación de nanopartículas y nanomateriales.

### a) Clasificación de acuerdo a su composición

Existen diversas clasificaciones de los nanomateriales, sin embargo, de acuerdo con la Agencia del Medio Ambiente (EPA) de EE.UU. los nanomateriales se clasifican en cuatro grupos (Figura-2):

**a) Basados en carbono:** La composición estructural de éstos compuestos es mayoritariamente carbono el cual puede adoptar distintas formas, entre ellas y las más representativas, son elipsoides, esféricas como los fullerenos o bien en forma cilíndrica como los nanotubos.

**b) Basados en metales:** Estos nanomateriales incluyen nanopartículas de oro, plata y óxidos metálicos o metaloides como los óxidos de hierro (Fe), dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ), dióxido de estaño ( $\text{SnO}_2$ ), óxido de aluminio ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) y óxido de cerio ( $\text{CeO}_2$ ), y dióxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ )

**c) Dendrímeros:** Son polímeros nanométricos construidos a partir de unidades entrelazadas que forman superficies ramificadas, los dendrímeros tridimensionales contienen cavidades interiores donde se le pueden colocar moléculas a los cuales se les puede dar funciones específicas, por ejemplo, la administración de fármacos.

**d) Compuestos:** Los compuestos combinan las nanopartículas con otra nanopartículas o con materiales de mayor tamaño, como los Quantum dots, nanocompositos o arcilla a nanoescala.

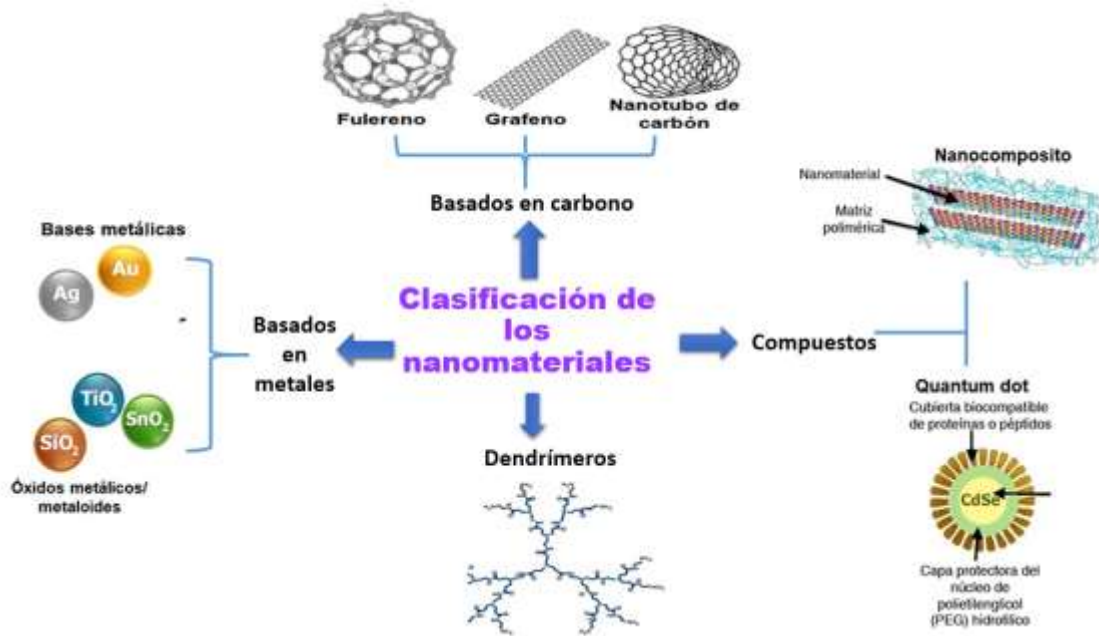


Figura 3 Clasificación de los nanomateriales de acuerdo con la agencia del medio Ambiente (EPA)

b) Clasificación de acuerdo a sus dimensiones.

Por otra parte los nanomateriales se pueden clasificarse según sus dimensiones las cuales pueden ser 0D, 1D, 2D y 3D ésta nomenclatura nos indica cuantas dimensiones de la nanoestructura superan el rango de la nanoescala. (Figura-3) De acuerdo con la definición, para las nanoestructuras 3D, significaría que todas sus dimensiones superarían los 100nm, sin embargo, se consideran materiales nanoestructurados 3D aquellos en los que se utilizan nanoestructuras 0D,1D o 2D como bloques de construcción, replicándose en las 3 direcciones del espacio de forma ordenada (García Martínez, Abellán, Carrillo, & Linares, 2007) A continuación se presenta una breve explicación de cada una de las categorías.

- a) **Materiales de dimensión cero:** las tres dimensiones se ubican en el régimen nanométrico, a esta corresponden las nanopartículas.
- b) **Materiales de una dimensión:** Teniendo una longitud variable, conservan una sola dimensión en el régimen de nanómetros, como es el caso de nanoalambres y nanotubos.
- c) **Materiales de dos dimensiones:** con áreas de tamaño indefinido, mantienen su espesor en el orden de 1 a 100 nm, como en el caso de películas delgadas.

d) **Materiales de tres dimensiones:** Son sólidos tridimensionales que están formados por unidades nanométricas.

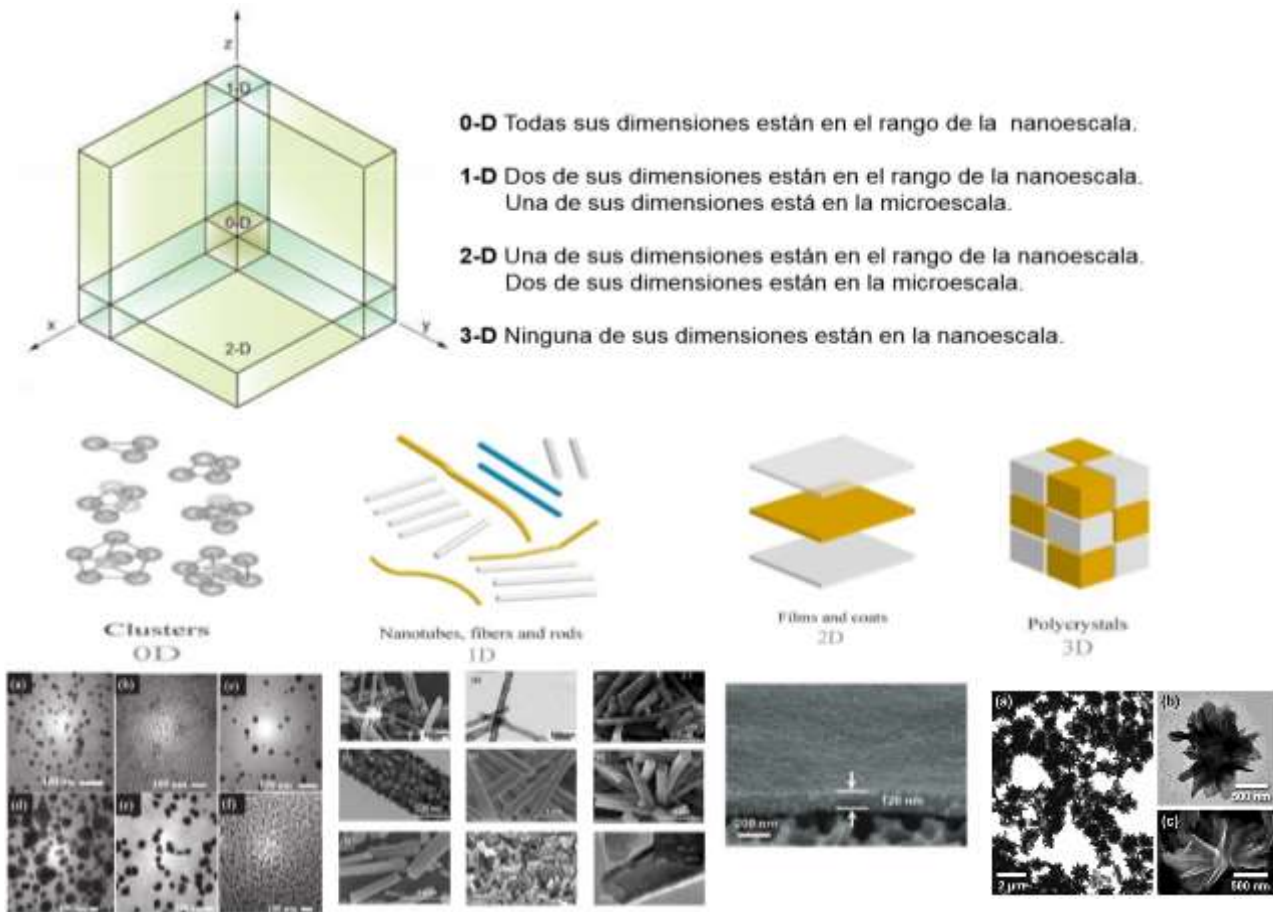


Figura 4 Clasificación de las nanopartículas de acuerdo a sus dimensiones.

c) *Clasificación de acuerdo a sus propiedades.*

### Nanopartículas con propiedades magnéticas.

Se denomina nanopartícula magnética a aquella entidad física cuyo tamaño se encuentra en la nanoescala y posee un momento magnético neto ( $\mu$ ). (Coral & Mera, 2017) se ha demostrado que el magnetismo (por átomo) y la anisotropía magnética aumentan a escala nanométrica, sin embargo las propiedades magnéticas dependen de la composición química, el tipo, grado de defectos en su estructura cristalina, tamaño, morfología y composición, siendo estas últimas tres indispensables para controlar hasta cierto grado las características magnéticas del metal base. (Gubin, Khomutov, Koksharov, & Yurkov, 2005) Las nanopartículas magnéticas son de sumo interés por sus diversas e importantes aplicaciones: i) para transporte de drogas terapéuticas o de radioisótopos, ii) como



separadores magnéticos de células marcadas, iii) para el catabolismo de tumores vía hipertermia, y iv) como agentes de contraste en aplicaciones de resonancia magnética (Hernando, 2007)

### **Nanopartículas con propiedades ópticas.**

Las propiedades ópticas de las nanoestructuras metálicas se originan al interactuar con la radiación electromagnética, lo que provoca una oscilación colectiva de los electrones libres, los fenómenos ópticos producidos dependen directamente de la forma, tamaño y el medio circundante. Por ejemplo, en el caso de las películas metálicas delgadas se generan ondas superficiales evanescentes acopladas a la oscilación de los electrones de conducción llamados “polaritones plasmones superficiales”. Para las nanopartículas metálicas la oscilación acoplada de los electrones de conducción posee modos propios llamados plasmones que se manifiestan como resonancias en el espectro de extinción de la solución coloidal de dichas partículas. Estas resonancias plasmónicas suelen utilizarse para determinar el tamaño y estructura de las nanopartículas (Santillán, 2013).

### **Nanopartículas con propiedades fotocatalíticas**

Se habla de propiedades fotocatalíticas cuando el sustrato en éste caso la nanoestructura absorbe la luz y aumenta la velocidad de una reacción química, por ejemplo, cuando una onda electromagnética tiene una apropiada energía puede promover la excitación de los electrones de la banda de valencia a la banda de conducción de las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ , produciéndose pares de electrones-hueco (excitones) originando un exceso de carga negativa en la banda de conducción que produce un efecto reductor, aportando electrones a las moléculas de oxígeno y formándose iones superóxido ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) que oxidan los materiales orgánicos. Las moléculas de agua alojadas en los huecos del sustrato con carga positiva por la emigración de los electrones, se descomponen por oxidación en radicales hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ) y cationes  $\text{H}^+$ . (Cornejo, Nuevas tecnologías y materiales, 2015).

### **Nanopartículas con propiedades mecánicas**

Las propiedades mecánicas de las nanopartículas se ven promovidas por las dimensiones que poseen a escala nanométrica, el arreglo estructural y los escasos defectos en su estructura aumentan la dureza y la resistencia, el cual se relaciona con la Ley de Hall que

menciona que el aumento de estas propiedades, la fluencia, es inversamente proporcional al diámetro de grano. Algunas de las propiedades mecánicas importante que pueden experimentar algunas nanopartículas es su mayor capacidad de deformación a la tracción, antes de la rotura, sin merma de su resistencia, pudiendo alcanzar la resistencia máxima teórica del material, resistencia a la corrosión, impacto, flexión, tenacidad, tracción, módulo de elasticidad entre otros. Uno de los ejemplos más representativos que adquieren estas propiedades son los nanotubos de carbono.

### 1.2.3 Síntesis de Nanopartículas

Debido a la gran diversidad de aplicaciones en las que pueden ser empleadas las nanopartículas, las síntesis de ellas es un paso primordial para obtener la funcionalidad esperada; existen diversos métodos de síntesis y se pueden clasificar como “bottom-up” o “top-down”, en el primer método las estructuras se van formando átomo por átomo hasta llegar a materiales con dimensiones nanométricas, algunos ejemplos son el uso de sales orgánicas que pueden reducirse con agentes sintéticos o con un biorreductor, técnicas de ablación laser y el deposito por vapor reactivo; por otra parte en el método top-down los materiales macroscópicos son fraccionados hasta llegar a escala nanométrica ejemplos de éste método son el pulido mecánico y la molienda mecánica ,

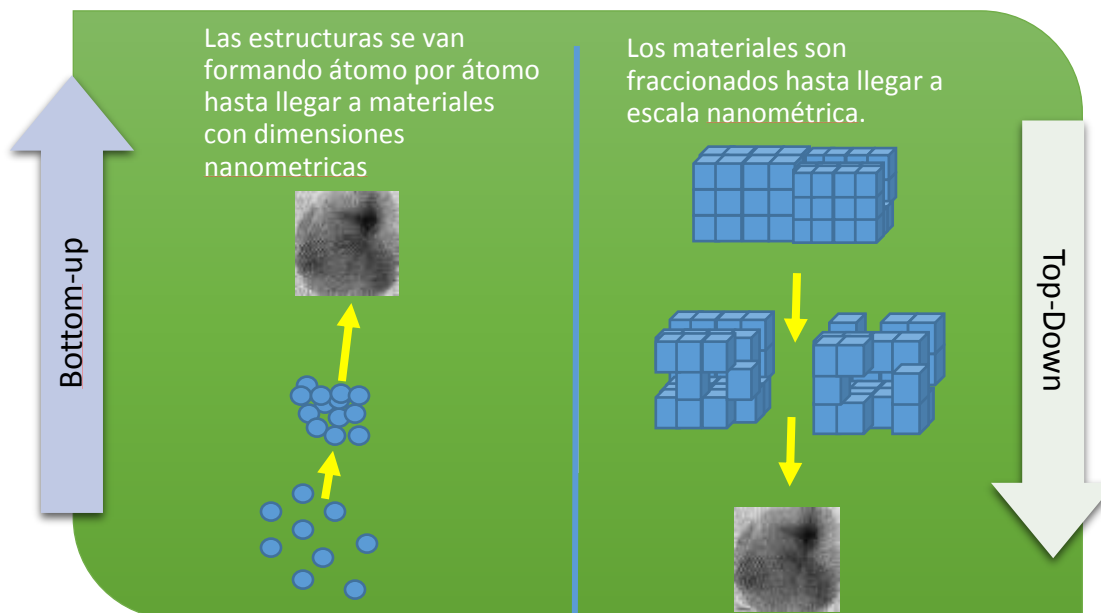


Figura 5 Síntesis de nanopartículas por Bottom-up y Top Down

Por otra parte existe otra clasificación la cual divide a los métodos de obtención de nanopartículas en **métodos químicos, físicos y biológicos**. Los métodos químicos, como su nombre lo indica, se basan en transformaciones químicas donde regularmente se reducen iones metálicos para la formación de nanopartículas; los métodos físicos no involucran reacciones o cambios químicos generalmente se inicia con el material del cual se quieren obtener las nanopartículas y los métodos biológicos emplean microorganismos, plantas vivas, o extractos de plantas para la obtención de las nanopartículas (López , Vilchis Nestor, Sánchez , & Avalos, 2013)

### **1.3 *Camellia sinensis***

*Camellia sinensis* es una planta originaria del norte de la India y del sur de China. Las variedades de té que se pueden obtener a partir ésta planta dependen del procedimiento que se les da a las hojas cuando éstas son recolectadas. Por ejemplo, para obtener té blanco las hojas se dejan marchitar y después se desecan; por otro lado para obtener el té rojo a las hojas se le aplica un secado breve al aire libre, después los brotes tiernos del arbusto son extendidos en una habitación cerrada y procede un secado prolongado; debido a éste proceso, su sabor es bastante suave y con mayores propiedades aromáticas por a la fermentación de polifenoles que dan numerosos compuesto aromáticos. Algunas de sus propiedades son: antioxidante, disminuye el colesterol LDL y triglicéridos en sangre. En el caso del té negro y el té verde la diferencia radica en el método de preparación; para preparar el té negro se prepara un apilado de las hojas frescas en habitaciones ventiladas, hasta que empiezan a fermentarse. Luego se secan rápidamente con calor artificial. En éste proceso, los fenómenos más importantes que se producen son la oxidación y la polimerización de los catecoles, formándose teaflavinas, que son compuestos colorantes que confieren a las hojas del té negro su coloración característica de marrón-rojizo a negro. Por otra parte, el proceso del té verde consiste en que una vez recolectadas las hojas inmediatamente se someten a un proceso de secado rápido por acción de vapor (sistema japonés) o por calentamiento (sistema chino). Éste proceso detiene la oxidación enzimática de las hojas conservando así casi de forma íntegra su composición química. (Bernardi, 2019)

#### **1.3.1 *Té Verde y sus principios activos***

El té verde es un derivado de la planta *Camellia sinensis* y se ha convertido en una bebida muy popular en los últimos años debido a diversas propiedades que se le atribuyen, por ejemplo, posee propiedades anticancerígenas, antimutagénicas, neuroprotectoras, antihiper glucemiantes, antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, cardiotónicas, estimulantes del sistema nervioso central, diuréticas, entre otras (López Luengo, 2002) (Almeida , y otros, 2019). La composición química de las hojas del té incluye: polifenoles, cafeína (aproximadamente 3.5% del peso seco total), teobromina

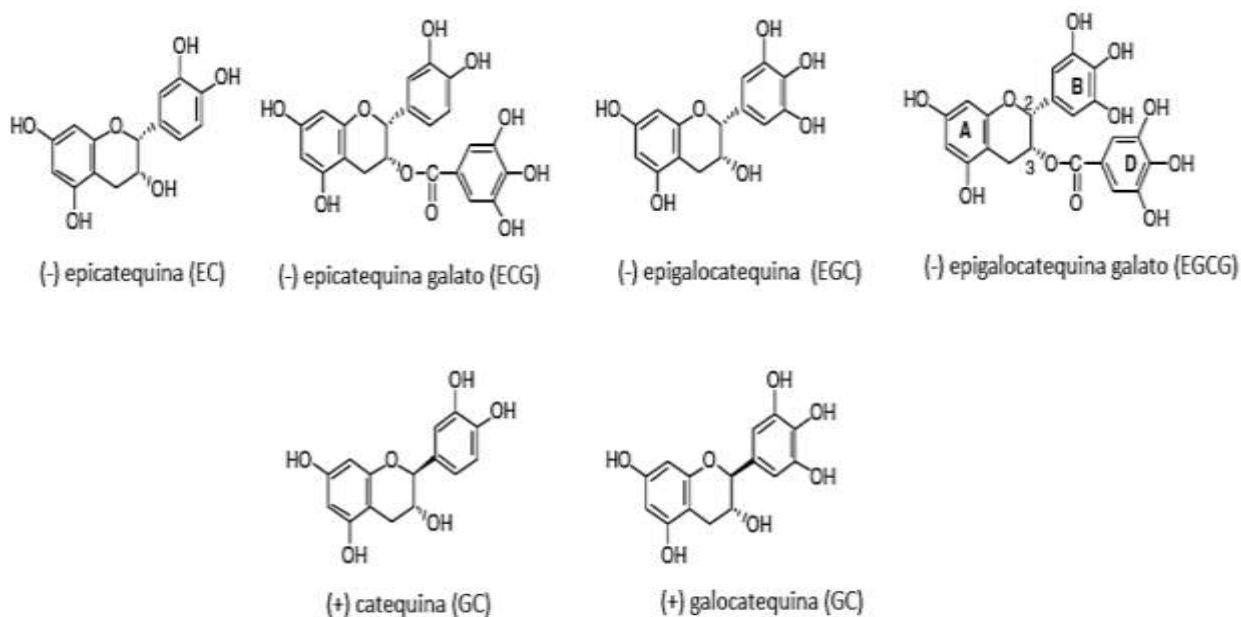


Figura 6. Estructura química de las principales catequinas encontradas en el té verde (Zaveri, 2006)

(0.15-0.2%), teofilina (0.02-0.04%) y otras metilxantinas, lignina (6.5%), ácidos orgánicos (1.5%), clorofila (0.5%), teanina (4%) aminoácidos libres (1-5.5%). Aunado a estos también están presentes flavonas, ácidos fenólicos, depsidos, carbohidratos, alcaloides, minerales, vitaminas, enzimas, terpenos; flavonoles principalmente quercetina, Kaempferol, miricetina, y sus glucosidos. Los efectos benéficos del té se deben a los polifenoles en los cuales predominan las catequinas que equivalen al 25-30% del peso seco de las hojas de té verde. Los extractos de té verde son ricos en flavonoles y sus derivados del ácido gálico, (+)- catequina, (-)-epicatequina (EC),(+)-galocatequina (GC), la epigallocatequina (EGC), la epicatequina galato (ECG), y la epigallocatequina galato (EGCG) siendo esta última la más abundante en el té verde equivalente al 65% del contenido total de catequinas, en una taza de té verde puede contener 100-200mg. (Gopal, Muthu, Paul, Kim, & Chun, 2016)

Sin embargo para la bioreducción de los iones de plata y la formación de nanopartículas está relacionada con las biomoléculas del extracto y cuatro son las categorías que tienen un papel predominante en la bioreducción: 1) azúcares reductores, 2) flavonoides, 3) sacáridos y 4) Proteínas. Los azúcares reductores y los flavonoides son los dos principales componentes que intervienen en el proceso de bioreducción de los iones plata. La parte de los flavonoides y azúcares que no llevan a cabo la reducción son los componentes que sirven como agentes protectores, porque tienen grupos hidroxilo (Silva-2013)

### 1.3.2 Extracción de los componentes del té verde

Se ha realizado diversos estudios sobre la extracción de los biocomponentes de *Camellia sinensis* así mismo algunos de los estudios se han monitoreado mediante espectroscopia de UV-vis, en la Tabla 2 se realiza una recopilación de estos estudios encontrando que los extractos acuosos o con metanol y etanol, la máxima absorción en las longitudes de onda de 273-276nm esta relacionados con el galatoepigallocatequina, o con Epicatequina Galato, absorbancias en 278 se relacionan con epicatequina por otra parte absorbancias de 500-670nm se relacionan con anillos de porfirina.

**Tabla 2. Análisis de compuestos orgánicos de *Camellia sinensis* a través de espectroscopia de UV-vis**

Compuesto estudiado	Solvente	Rangos absorción y longitud de onda máximo ( $\lambda_{max}$ )	Fuente o Referencia
Galato de epigallocatequina (EGCG)	Agua	Rango 248-361nm $\lambda_{max}$ : 273.6nm	(Atomssa & Gholap, 2015)
	Metanol y etanol	Rango : 246-323 nm $\lambda_{max}$ :276.0nm	
	Acetonitrilo	Rango: 246-323nm $\lambda_{max}$ : 271.2 nm	
Epicatequina galato (ECG)	Agua	Rango: 246-363 nm $\lambda_{max}$ :276.8	
	Metanol y etanol	Rango: 246-325 nm $\lambda_{max}$ :279.2 nm	
	Acetonitrilo	Rango: 246-325nm $\lambda_{max}$ : 273.6nm	

Epigallocatequina (EGC)	Agua	Rango: 254-378 nm $\lambda_{\max}$ : 269.6	
Epicatequina (EC)	Agua	Rango: 252-328 $\lambda_{\max}$ : 278.4	
Rutina	Etanol	$\lambda_{\max}$ : 270 nm	(Sikora & Ogonowski, 2011)
Feofitina		$\lambda_{\max}$ : 410 nm	
ND	cloroformo	$\lambda_{\max}$ : 296 nm $\lambda_{\max}$ : 329 nm	(Marzuki, Suryanti, & Virgynia, 2016)
ND	Acetato de Etilo	$\lambda_{\max}$ : 391 nm $\lambda_{\max}$ : 534 nm	
Cafeína	Se prepararon mezclas de etanol, acetato de etilo, diclorometano y cloroformo (las proporciones fueron variando)	$\lambda_{\max}$ : 272 nm	(Pauli, Bruns, & Scarmino, 2016)
Pigmentos presentes en las hojas de <i>C. sinensis</i>		$\lambda_{\max}$ : 410 nm $\lambda_{\max}$ : 663 nm	
Feofitina		$\lambda_{\max}$ : 410 nm	
Anillo de porfirina		$\lambda_{\max}$ : 505 nm $\lambda_{\max}$ : 535 nm $\lambda_{\max}$ : 606 nm $\lambda_{\max}$ : 663 nm	
Galato de epigallocatequina EGCG	Agua	$\lambda_{\max}$ : 273 nm	(Gopal, Muthu, Paul, Kim, & Chun, 2016)

## Capítulo 2. Metodología experimental

## 2.1 Biosíntesis de nanopartículas de Oro y Plata asistida por extractos orgánicos de *Camellia sinensis*

### 2.1.1 Materiales y Reactivos

Nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) adquirido de Sigma-Aldrich, ácido tetracloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ ), metanol, isopropanol grado reactivo Fermont, agua desionizada obtenida de la Facultad de Química UAEM, Té verde (*Camellia sinensis*) de la marca Lagg's, azul de metileno y cloroformo.

### 2.1.2 Preparación de los extractos

- Se colocaron 20 mL de **isopropanol** en un matraz Erlenmeyer y se calentó hasta alcanzar una temperatura de **60°C**, se le agregó 0.3g de *Camellia sinensis* y se mantuvo con agitación vigorosa durante 60 segundos. El extracto resultante se filtró y se guardó en un frasco ámbar.
- Se calentaron 20 mL de **etanol** a **60°C**, una vez alcanzada la temperatura se le agregó 0.3g de *Camellia sinensis* y se mantuvo con agitación vigorosa durante 60 segundos. El extracto resultante se filtró y se guardó en un frasco ámbar.
- Se calentaron 20 mL de **agua desionizada** a **80°C**, al alcanzar la temperatura se le agregó 0.3g de *Camellia sinensis* con agitación vigorosa; la agitación se mantuvo durante 60 segundos. El extracto resultante se filtró y se guardó en un frasco ámbar.
- Se calentaron 20 mL de **metanol** a **60°C**, al alcanzar la temperatura se le agregó 0.3g de *Camellia sinensis* y se mantuvo con agitación vigorosa durante 60 segundos. El extracto resultante se filtró y se guardó en un frasco ámbar.

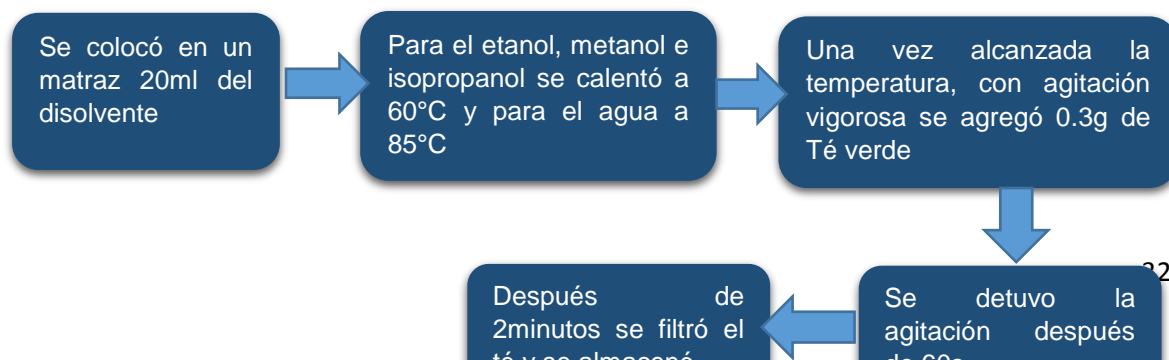


Figura 7 Preparación de los extractos de *C. sinensis*.



### 2.1.3 Síntesis y caracterización de Nanopartículas de Oro y plata

#### a) Síntesis de Nanopartículas de Ag y caracterización por UV-Vis

Para la síntesis de NP's de plata (Grupo I) se colocaron 2ml de una solución acuosa de nitrato de plata ( $10^{-3}M$ ) y se le agregó rápidamente 4ml del solvente, posteriormente se le adicionó gota a gota con agitación magnética 0.5ml del extracto de té verde con el solvente utilizado en el paso anterior (después de 60 segundos se detuvo la agitación). La solución fue monitoreada medida en celdas de cuarzo mediante con un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 40 UV-vis a una resolución de 1nm entre 350-700nm. Los tiempos de medición de las muestras fueron: a los 5, 10, 15, 20, 25,30minutos y 24h.

Tabla 3 Síntesis de nanopartículas de Ag..

Síntesis de NP's de Ag		
Sal utilizada	Solvente utilizado	Extracto utilizado
2mL de AgNO <sub>3</sub>	4 mL Etanol	0.5mL <i>C. sinensis</i> en etanol
	4mL Metanol	0.5mL <i>C. sinensis</i> en metanol
	4mL Isopropanol	0.5mL <i>C. sinensis</i> en isopropanol
	4mL Agua	0.5mL <i>C. sinensis</i> en agua

#### b) Síntesis de Nanopartículas de Au y caracterización por UV-Vis

La síntesis de nanopartículas de oro (Grupo II) se llevó a cabo utilizado el mismo procedimiento para la obtención de nanopartículas plata, cambiando solamente la sal de plata por el ácido tetracloro áurico.

Se colocó en un vial 2mL de una solución acuosa de ácido tetracloro áurico ( $10^{-3}M$ ) se le agregó 4ml de agua desionizada con agitación magnética, se le añadió gota a gota 0.5ml del extracto de té verde en agua, después de 60 segundos se detuvo la agitación. La solución fue monitoreada y medida en el espectro UV-vis en celdas de cuarzo mediante un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 40 UV-vis a una resolución de 1nm entre 300-

800nm. Los tiempos de medición de las muestras fueron: a los 5, 10, 15, 20, 25,30 minutos y 24h.

Tabla 4 Síntesis de nanopartículas de Au.

Síntesis de NP's de Au		
Sal utilizada	Solvente utilizado	Extracto utilizado
2mL de H <sub>Au</sub> Cl <sub>4</sub>	4 mL Etanol	0.5 mL <i>C. sinensis</i> en etanol
	4mL Metanol	0.5 mL <i>C. sinensis</i> en metanol
	4mL Isopropanol	0.5mL <i>C. sinensis</i> en isopropanol
	4mL Agua	0.5mL <i>C. sinensis</i> en agua

c) *Caracterización por Microscopia de transmisión electrónica ( TEM)*

Después de 24h de la síntesis de nanopartículas de Ag y Au sobre una rejilla (*Formvar Carbon Film on 200 mesh Cooper, Grinds*) se colocó una gota de la solución con **NP's de oro** en agua, se dejó reposar sobre la campana de extracción durante 5 minutos y una vez seca se sumergió 10 segundos en una solución 1:1 de cloroformo y metanol, con el objetivo de extraer los compuestos orgánicos de la muestra. Este proceso se realizó con cada una de las NP's de Au y Ag obtenidas con los distintos disolventes; Las rejillas preparadas se observaron en el Microscopio Electrónico de Transmisión JEOL- 2010. Fuente de electrones: Emisión Termiónica con filamento de LaB 6. Voltaje de aceleración: 200 kV. La distancia atómica se determinó utilizando el software Gatan DigitalMicrograph.

d) *Análisis de microscopía Raman*

El análisis se realizó en un equipo Micro-Raman modelo LabRaman HR-800 de la marca Jobin-Yvon-Horiba acoplado a un microscopio óptico Olympus BX41. Se utilizó un láser He-Ne ( $\lambda = 632.8$  nm) con una intensidad de 0.05 mW. El tiempo de adquisición fue de 10 segundos con 10 acumulaciones. La posición espectral fue de 400-2000  $\text{cm}^{-1}$ . Estos parámetros experimentales se utilizaron para todas las muestras.

Las nanopartículas de Au y Ag se sonicaron durante 3 minutos, se tomó una alícuota de 5ml y se centrifugó a 3000rpm durante 20minutos. Se sustrajo el sobrenadante y al precipitado se le colocó el disolvente correspondiente hasta llegar a 5ml, nuevamente se repitió el proceso de centrifugado; se tomó una gota del precipitado obtenido de nanopartículas y se colocó en un portaobjetos, éste último paso se repitió hasta formar

una película homogénea. Los portaobjetos se colocaron sobre capsulas de porcelana y se introdujeron en la estufa a 100°C durante 60 minutos; 72 horas después se colocaron las muestra en la mufla a 400°C por 60 minutos. Al terminar y adquirir las muestras la temperatura ambiente se le colocó una 1 gota de azul de metileno.



Capítulo 3.

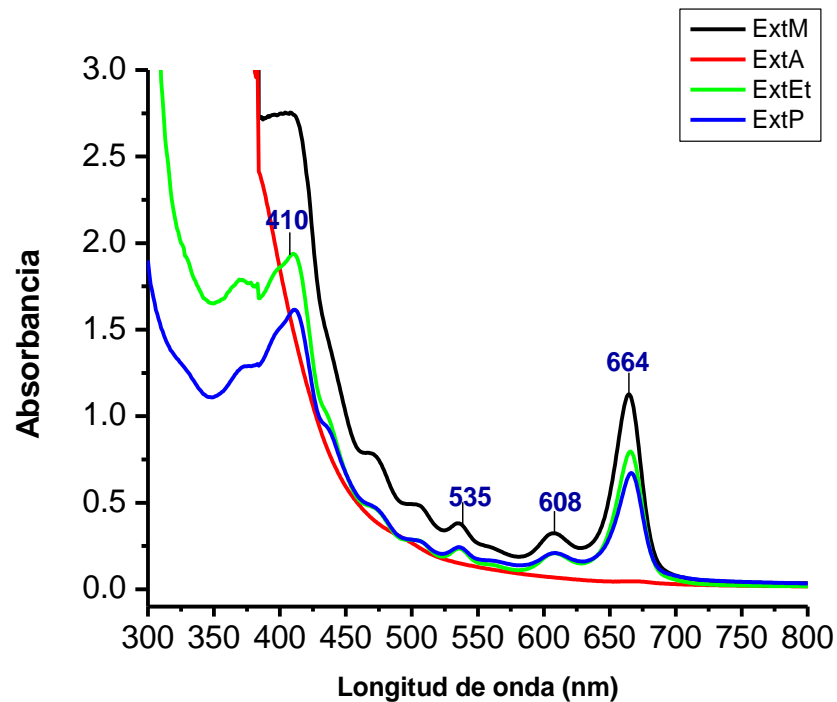
Resultados y su discusión.

### 3 Espectrofotometría de UV-Vis

La espectrofotometría UV-Vis es utilizada para la identificación y cuantificación de moléculas específicas presentes en una muestra. El principio de esta herramienta se basa en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta-visible (160-780 nm) por la muestra que se desea analizar. Cuando una radiación incide sobre la muestra se produce una absorción parcial de esta radiación, lo que hace que se produzca una transición entre los niveles energéticos pasando la molécula al estado excitado y el resto de la radiación es transmitida.

#### 3.1 Caracterización de los extractos de *Camellia sinensis*.

Los extractos de *C. sinensis* se obtuvieron con los diferentes disolventes (etanol, metanol, isopropanol y agua) para utilizarlos como agentes reductores y estabilizantes. En la figura 8 se muestran los espectros de los extractos de *C. sinensis* en los distintos disolventes, se puede observar ligeras variaciones en la intensidad de absorbancia, lo cual se puede atribuir a la concentración de los distintos compuestos extraídos del té. (Sikora *et. al-* 2011) Haciendo referencia al espectro UV-Vis de *C. sinensis* en etanol los picos más representativos se ubican en 410, 536,608 y 664 nm, sin embargo, para el metanol sus picos de absorbancia máxima tienen un ligero desplazamiento al azul (408, 535 y 607 nm), a diferencia del isopropanol que dos de los puntos se desplazan al rojo (411 y 666 nm).



Extracto	Absorbancia en 410 nm	Absorbancia en 536 nm	Absorbancia en 608 nm	Absorbancia en 664 nm
Metanol	2.7422	0.3806	0.324	1.1254
Etanol	1.9386	0.235	0.208	0.7834
Isopropanol	1.6125	0.2433	0.2091	0.6522
Agua	-	-	-	-

Figura 8. Espectros UV-vis de los diferentes extractos de *C. sinensis*.

Estudios realizados mediante espectrofotometría de UV-Vis a los extractos acuosos de *C. sinensis* reportan que la banda en 410nm (Banda Soret) hace referencia al producto de degradación de la clorofila llamado feofitina; otras bandas más débiles ubicadas en longitudes de onda mayores se denominan bandas Q que se encuentran alrededor de 665 nm; entre las bandas Soret y Q, hay bandas secundarias ubicadas en 505, 535 y 606 nm. Estas bandas son características del anillo de porfirina y se producen al excitar los electrones del orbital  $\pi$  a  $\pi^*$  orbital de antienlace (Pauli, Bruns, & Scarmino, 2016)

## 3.2 Síntesis de Nanopartículas de Ag.

### 3.2.1 Análisis de las nanopartículas de plata por UV-Vis.

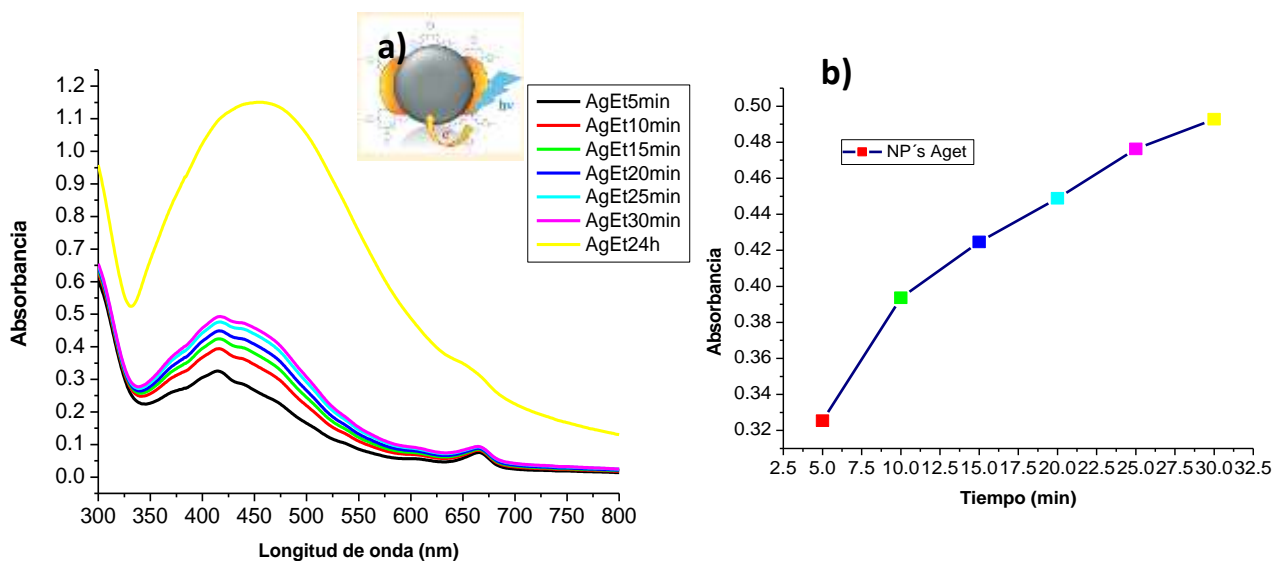


Figura 9 a) Espectros UV-Vis de la formación de nanopartículas de plata con extractos de *C. sinensis* en etanol a los 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la bioreducción. b) incremento de la absorbancia respecto al tiempo en la longitud de onda 416nm.

En la figura 9.a podemos observar un incremento de la absorbancia respecto al tiempo de las nanopartículas de plata obtenidas con extractos de *C. sinensis* en etanol, éste cambio se relaciona directamente con la cantidad obtenida de nanopartículas, es decir, a mayor tiempo de reacción existe una mayor formación de nanopartículas en la solución. Durante los primeros 30 minutos la máxima intensidad de absorbancia de las nanopartículas se ubica en 416 nm (longitud de onda característica de la plata) sin embargo, a las 24h se observa un aumento en el ancho del plasmón, un incremento en la absorbancia y un corrimiento hacia el rojo de la longitud de onda máxima (454nm). La absorción de radiación ultravioleta o visible por parte de las NP's es el resultado de la excitación de los electrones de enlace, por tanto, podríamos considerar que el aumento del ancho del plasmón hace referencia a diferentes NP's que absorben a distintas longitudes de onda indicándonos un incremento en la dispersión de tamaño (polidispersidad) y el corrimiento

hacia el rojo se relaciona con el cambio de tamaño y/o forma de las nanopartículas, (Zhong Zhang, 2009).

La presencia de una absorbancia máxima en la longitud de onda 665 nm (figura 9a ) se le atribuye a los pigmentos presentes en las hojas del té verde como los anillos de porfirina (Pauli, Bruns, & Scarmino, 2016) los cuales desaparecen a las 24h, estos anillos junto con las ftalocianinas puede fungir como platillas para estabilizar, funcionalizar, controlar la forma y el tamaño de las nanopartículas(Sannegowda - Lokesh, Shambhulinga, Manjunatha, Imadadulla, & Hojamberdiev, 2015), no obstante, no son los únicos compuestos que intervienen en el proceso de bio-reducción de las nanopartículas, investigaciones previas han estudiado los compuestos extraídos de *C.sinensis* en metanol o agua y la relación que existe con la estabilización de las nanoestructuras metálicas reportando que la efectividad del extracto de té verde en la bio-reducción se atribuye a la capacidad antioxidante de los polifenoles, los grupos funcionales como el carboxilato, y metabolitos como el ácido gálico (Vilchis-Nestor, Sánchez-Mendieta, Camacho-López, & Arenas-Alatorre, 2008) (Atomssa & Gholap, 2015)



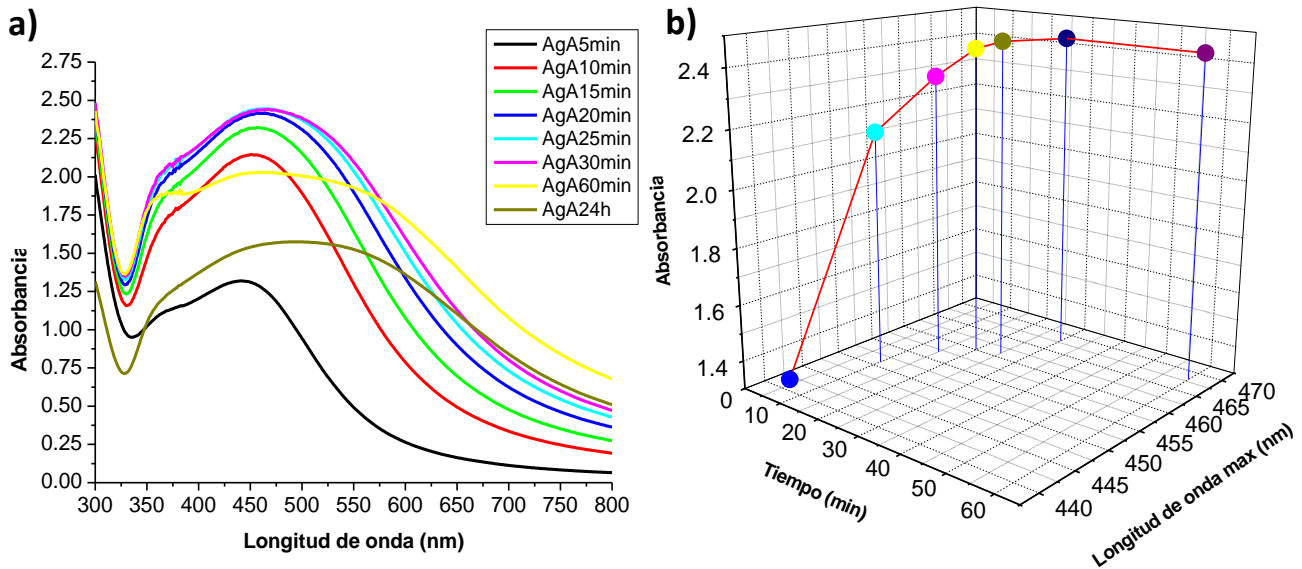


Figura 10: a) Espectros UV-Vis de la formación de nanopartículas de plata con extractos de *C. sinensis* en agua a los 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la biorreducción. b) incremento de la absorbancia y desplazamiento de la longitud de onda de absorción máxima respecto al tiempo.

Las nanopartículas de plata sintetizadas con el extracto acuoso exhiben el espectro reportado en la figura 10.a en ella podemos observar la aparición del plasmón de resonancia a los 5 minutos después de la biosíntesis y su absorbancia máxima ubicada en 441 nm. A los 10 minutos la absorbancia máxima se desplaza ligeramente hacia la derecha y casi duplica el valor de inicial; el incremento continua hasta los 20 minutos, lo que nos indica la formación de NP's. Las 3 mediciones subsecuentes no muestran un incremento representativo, exhibiendo un valor casi constante que se podría relacionar con la estabilización de la cantidad de NP's en solución, no obstante, en la medición realizada a los 60 minutos de reacción el valor de la absorbancia decae, la longitud de absorción máxima continúa su desplazamiento hacia la derecha y el ancho del plasmón aumenta. A partir del análisis de éste comportamiento se podría inferir que: hasta los 20 minutos hay una formación de nanopartículas (incremento de la absorbancia) que con el paso del tiempo van aumentando su tamaño y/o cambiando de forma por lo que incrementa la polidispersidad y provoca el aumento en el ancho de banda correspondiente al plasmón de resonancia.

A diferencia de los espectros obtenidos con las NP's de plata en etanol en los cuales se observa una absorbancia en 665nm, las NP's con el extracto acuoso no lo presentan,

induciendo que probablemente las porfirinas no intervengan como agente estabilizador. La bioreducción de la plata en presencia del extracto acuoso de *Camellia sinensis* comienza con Ag (I) a Ag (0) y el extracto al actuar como un agente reductor provoca un vire inmediato de color originado por contenido de compuestos polifenolicos, principalmente flavonoides, tearubiginas que no solo actúan como agentes reductores sino también como agentes encapsulantes, protectores y estabilizadores debido al efecto estérico (Kalyan Kamal, Sahoo, Vimala, & Premkumar, 2010). En un estudio realizado en Southwest State University reportaron la presencia de flavonoides cerca de la superficie de las nanopartículas plata, que reaccionan de forma compleja con los iones de Ag y las nanopartículas (figura 11), sin embargo, son los grupos hidroxilo de las hidroxiflavonas que participan en la interacción con la superficie de las NP's de Ag y no así las flavonas que solo contienen grupos carbonilo. (Mirgorod & Borodina, 2013)

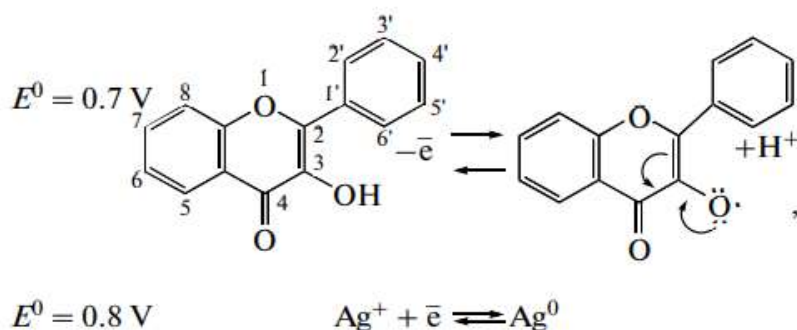


Figura 11 Ejemplo de la reacción redox, donde involucra la 3-hidroxiflavona y el ion plata. (Mirgorod & Borodina, 2013)

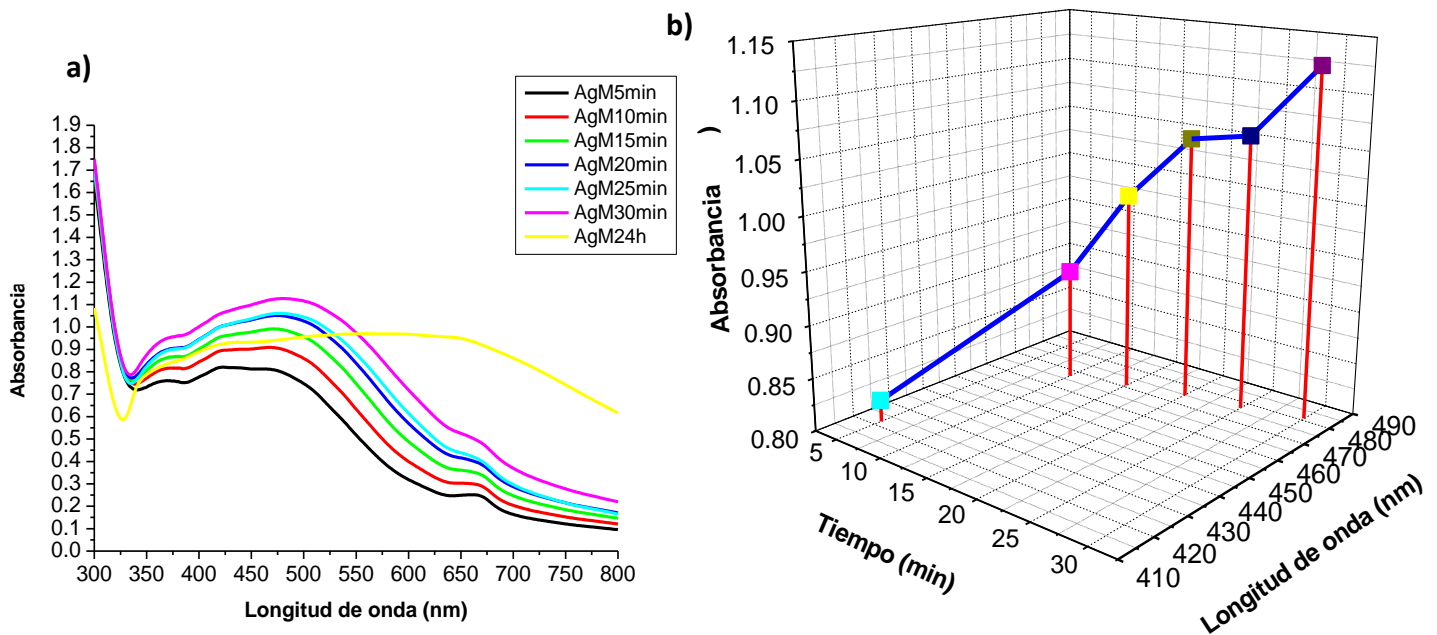


Figura 12: a) Espectros UV-Vis de la formación de nanopartículas de plata con extractos de *C. sinensis* en metanol a los 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la biorreducción. b) Incremento de la absorbancia y desplazamiento de la longitud de onda de absorbancia máxima respecto al tiempo.

En las figuras 12.a se presenta el espectro UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas con extractos de *C. sinensis* en metanol a diferentes tiempos. En este espectro podemos observar que la máxima absorbancia del plasmón de resonancia inicial, es decir, a los 5 minutos después de la biorreducción se encuentra en 422 nm, sin embargo, a medida que transcurre el tiempo hasta los 30 minutos suceden tres cambios importantes; a) aumenta la absorbancia b) la longitud máxima de absorción se desplaza al rojo y c) la banda del plasmón superficial se ensancha. Aunque éste comportamiento es muy similar a la cinética de las nanopartículas obtenidas con extractos acuosos, las NP's de plata en metanol no exhiben una estabilización (intensidad del plasmón) sino que respecto al tiempo van aumentando. Por otro lado, a las 24h se puede apreciar que ha disminuido el valor de la intensidad del plasmón superficial y ha aumentado significativamente el ancho de la banda de plasmón, lo que nos podría indicar que hasta las 24h existe la presencia de estructuras nanométricas de plata de mayor tamaño y polidispersidad que al inicio del proceso.

Al igual que las nanopartículas obtenidas con extractos en etanol se observa una absorbancia a los 662nm que podríamos asociar a la banda de absorción de porfirinas las

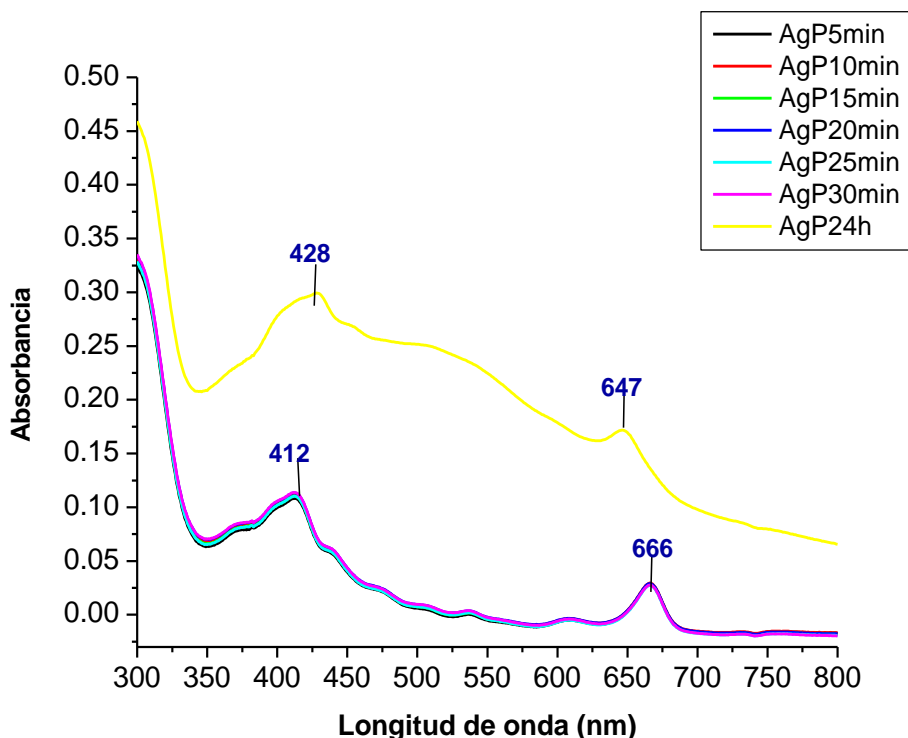


Figura 13 Espectros UV-Vis de la formación de nanopartículas de plata con extractos de *C. sinensis* en isopropanol a los 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la biorreducción.

cuales, a medida que transcurre el tiempo se va transformando hasta desaparecer.

En la figura 13 se presenta el espectro de UV-Vis originado por la síntesis de nanopartículas de plata con extractos de *C. sinensis* en isopropanol. En los primeros 30 minutos no hay un cambio significativo en el valor de la intensidad absorción del plasmón de resonancia, ancho del plasmón o desplazamiento del punto máximo de absorbancia ubicado en la longitud de onda de 412 nm. Sin embargo, transcurridas 24h se observa un incremento en la intensidad de absorción y un desplazamiento al rojo ubicando el punto máximo de absorción en 428 nm. De igual forma se puede apreciar un pico de absorbancia en 666 nm el cual al igual que anteriormente se puede atribuir a las porfirinas, no obstante, a las 24h el pico cambia y se desplaza a 647 nm. El comportamiento del espectro nos indica una formación lenta y limitada de nanopartículas de plata.

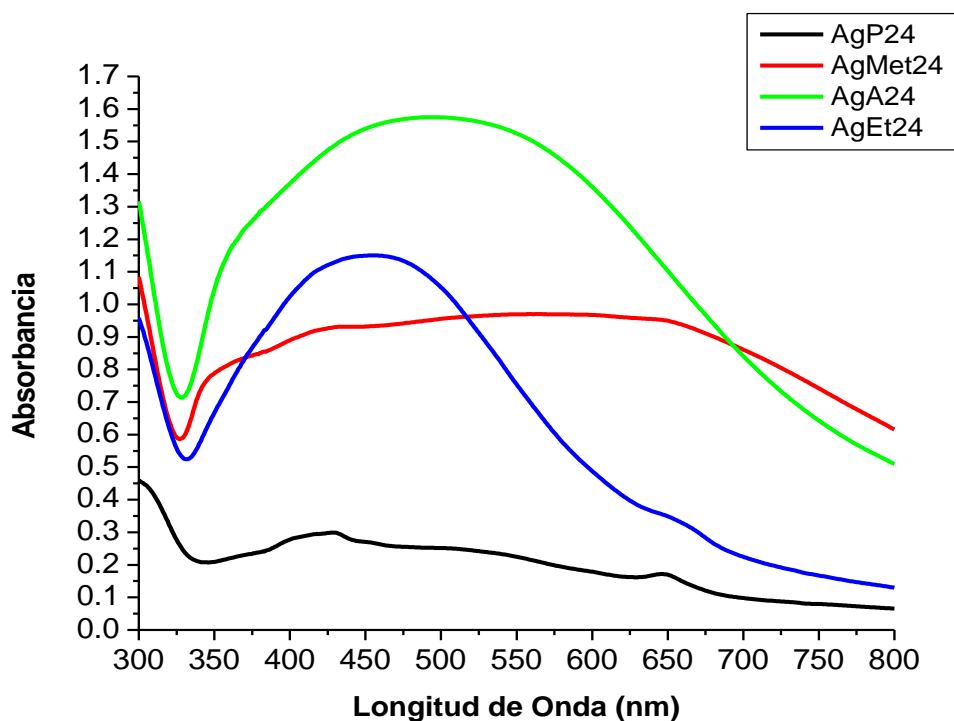


Figura 14: Espectros UV-vis de las nanopartículas de plata obtenidas con los extractos de *C. sinensis* en etanol, agua, metanol e isopropanol, 24h después de la bioreducción.

En la figura 14 se presenta el espectro de las nanopartículas de plata sintetizadas con cada uno de los diferentes disolventes después de 24h reacción, podemos observar que el solvente que ha tenido una mayor cantidad de nanopartículas es el extracto acuoso y no así con las NP's en isopropanol que son las que exhiben un menor valor de absorbancia. Por otra parte las que presentan una mayor polidispersidad son las NP's en metanol a diferencia de las NP's obtenidas con etanol que son las que muestran una menor polidispersidad debido al ancho del plasmón.

Para que la radiación electromagnética incidente, interaccione con la materia esta debe presentar una  $\lambda$  del mismo tamaño o menor que las dimensiones del cuerpo irradiado, por lo tanto la ubicación y desplazamiento del ancho del plasmón y el punto máximo de absorbancia nos da información sobre el tamaño promedio de NP's, bajo ésta premisa tenemos que el tamaño promedio más pequeño de las nanopartículas son las obtenidas con extractos de *C. sinensis* en etanol, seguidas de las obtenidas con extractos acuosos, posteriormente isopropanol y metanol.

### 3.2.2 Análisis de las nanopartículas de Ag por Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM).

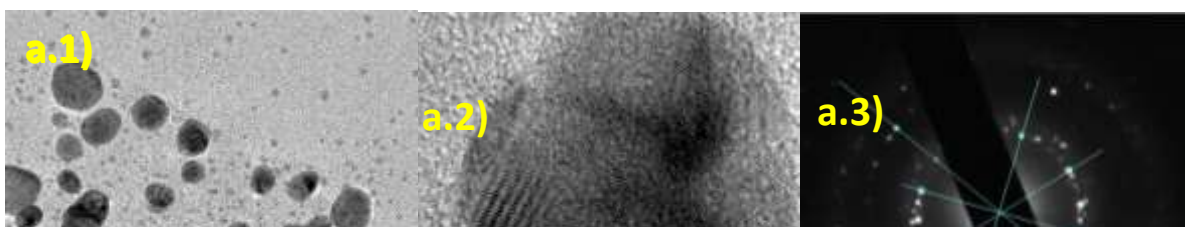
El microscopio electrónico de transmisión es un equipo que nos ofrece información a nivel atómico de las características morfológicas y estructurales de una muestra ultrafina, esto se logra al acelerar un haz de electrones que colisionan con la muestra y en función de su grosor y el tipo de átomos que la forman, parte de ellos son dispersados selectivamente. La información que se obtiene es una imagen con distintas intensidades de gris que se corresponden al grado de dispersión de los electrones incidentes. (Muñoz Guerra, 1991)

La Microscopía Electrónica de Transmisión también permite la obtención de imágenes de alta resolución HRTEM y patrones de difracción de electrones de área selecta, que son indicativos del ordenamiento, distanciamiento entre planos atómicos y la orientación de un material cristalino.

Esta técnica se ha utilizado para caracterizar las nanopartículas obtenidas por bio-reducción y mostrando los resultados a continuación.

Para las nanopartículas de plata en **etanol** las micrografías fueron analizadas y cuantificadas (figura 15a.1), observando que la mayoría de ellas son quasiesféricas y elipsoidales con un tamaño promedio  $7.10 \pm 9.7$  nm, también se encuentran nanopartículas de gran tamaño  $>50$ nm, algunas barras con un tamaño promedio de 65nm de largo y 32 nm de ancho y triángulos que rondan sus dimensiones entre los 60-80nm, sin embargo, las nanopartículas que más predominan se encuentran con tamaños  $<10$  nm tal como lo revela el histograma de la figura 18 a. La desviación y el ancho del plasmón observado en los espectros de UV-Vis nos confirman una baja polidispersidad de tamaño.

Por otra parte utilizando la técnica HRTEM (microscopía electrónica de transmisión de alta resolución) y la técnica SAED (Difracción de Electrones de Área Selecta) el patrón de difracción de área selecta que se muestra en el recuadro (Figura 15 a.3) nos permite indexar los anillos para conocer la estructura cristalina, la distancia experimental es de  $2.354 \text{ \AA} \pm 0.003$  correspondiente al plano (1 1 1) y  $1.442 \text{ \AA}$  correspondiente al plano (2 2 0) confirmando con ello la estructura cristalina cúbica centrada en caras (FCC). La asignación de los índices de Miller para las todas las nanopartículas de plata obtenidas con los diferentes disolventes se realizó a partir de la tarjeta cristalográfica 00-004-0783.





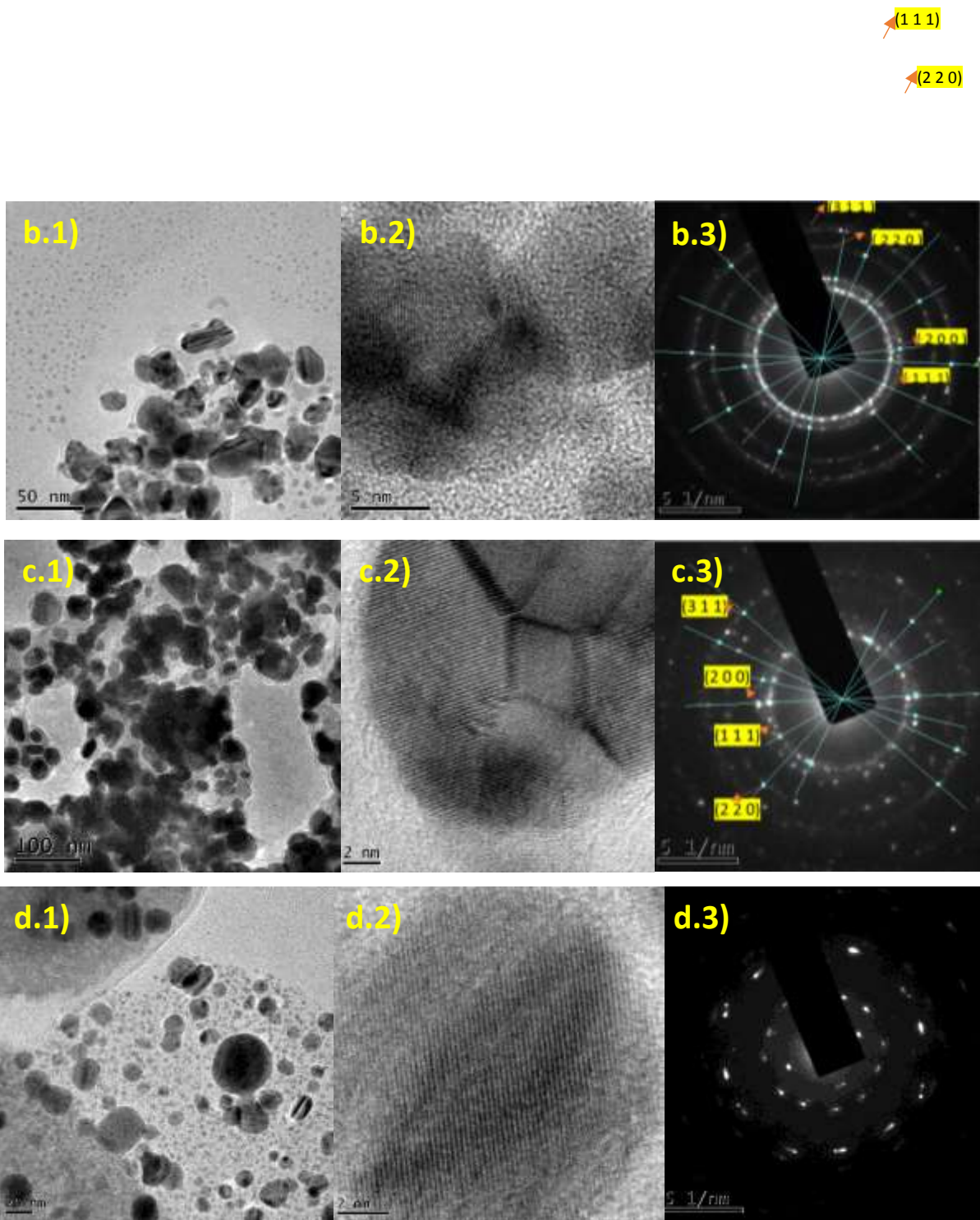


Figura15 Micrografías de las nanopartículas de plata obtenidas a partir de *C. sinensis* en los distintos disolventes. A.1) NP-AgEt, A.2) HRTEM de NPAgEt A.3) Patrón de Difracción de electrones de NPAgEt. B.1) NP-AgA, B.2) HRTEM de NPAgA B.3) Patrón de Difracción de electrones de NPAgA C.1) NP-AgM, C.2) HRTEM de NPAgM C.3) Patrón de Difracción de electrones de NPAgM. D.1) NP-AgP, D.2) HRTEM de NPAgP D.3) Patrón de Difracción de electrones de NPAgP.

Las principales formas de las nanoestructuras obtenidas con **extractos acuosos** son quasiesferas y su tamaño promedio es de  $14\text{nm} \pm 7.5$ , la mayoría de las nanopartículas formadas se encuentran en el rango de tamaño de  $5\text{-}15\text{nm}$  (Figura 15b.1), además de las quasiesferas también se observan algunas barras y triángulos. Las micrografías de alta resolución y la técnica SAED (Figura 15 b2 y b3) nos permite indexar los patrones encontrando los planos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) y (3 1 1) correspondientes a la distancia experimental  $2.355 \pm 0.004$ ,  $2.044$ ,  $1.444 \pm 0.001$ ,  $1.23 \pm 0.002$  respectivamente. Confirmando con ello la estructura FCC, cúbica centrada en caras. Las características de las nanopartículas de plata obtenidas mediante la bioreducción de  $\text{AgNO}_3$  con *C. sinensis* han sido estudiadas previamente por (Kalyan Kamal, Sahoo, Vimala, & Premkumar, 2010) y (Ying Loo, Chieng, Nishibuchi, & Radu, 2012) mostrando nanoestructuras similares en cuanto a morfología y estructuras cristalinas, sin embargo, hay diferencias en tamaño y ubicación del plasmón resonancia en los espectros de UV-Vis esto puede ser una consecuencia de la concentración del extracto de *C. sinensis* agregado a la solución, así como la concentración inicial de iones metálicos y el tiempo de reacción, las interacciones débiles entre Ag y las biomoléculas protectoras hacen que se realice una rápida formación de nanoestructuras y su subsecuente crecimiento (Vilchis-Nestor, Sánchez-Mendieta, Camacho-López, & Arenas-Alatorre, 2008).

A diferencia de las nanopartículas obtenidas con extractos acuosos o en etanol, las nanopartículas sintetizadas con extractos de *C. sinensis* en **metanol** muestran aglomerados que se pueden clasificar como dendrímeros debido a las ramificaciones que presentan (figura 16). Por otra parte, las nanopartículas aisladas se analizaron

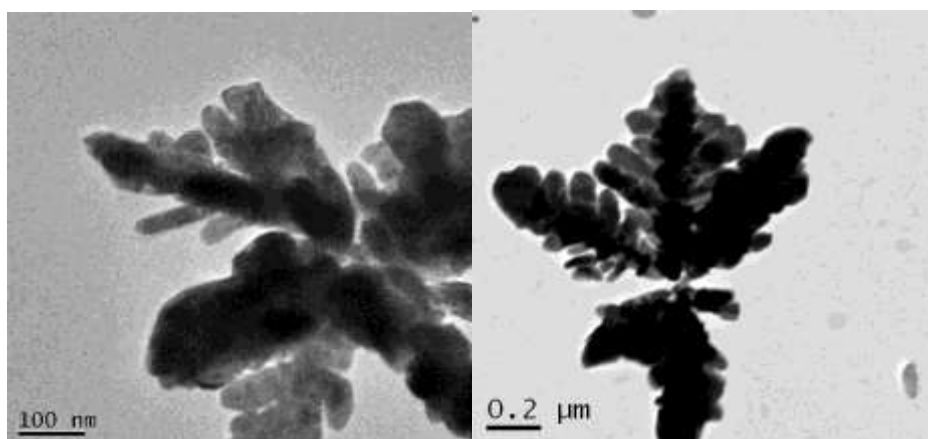


Figura 16: Dendrímeros obtenidos con los extractos de *C. sinensis* en metanol.

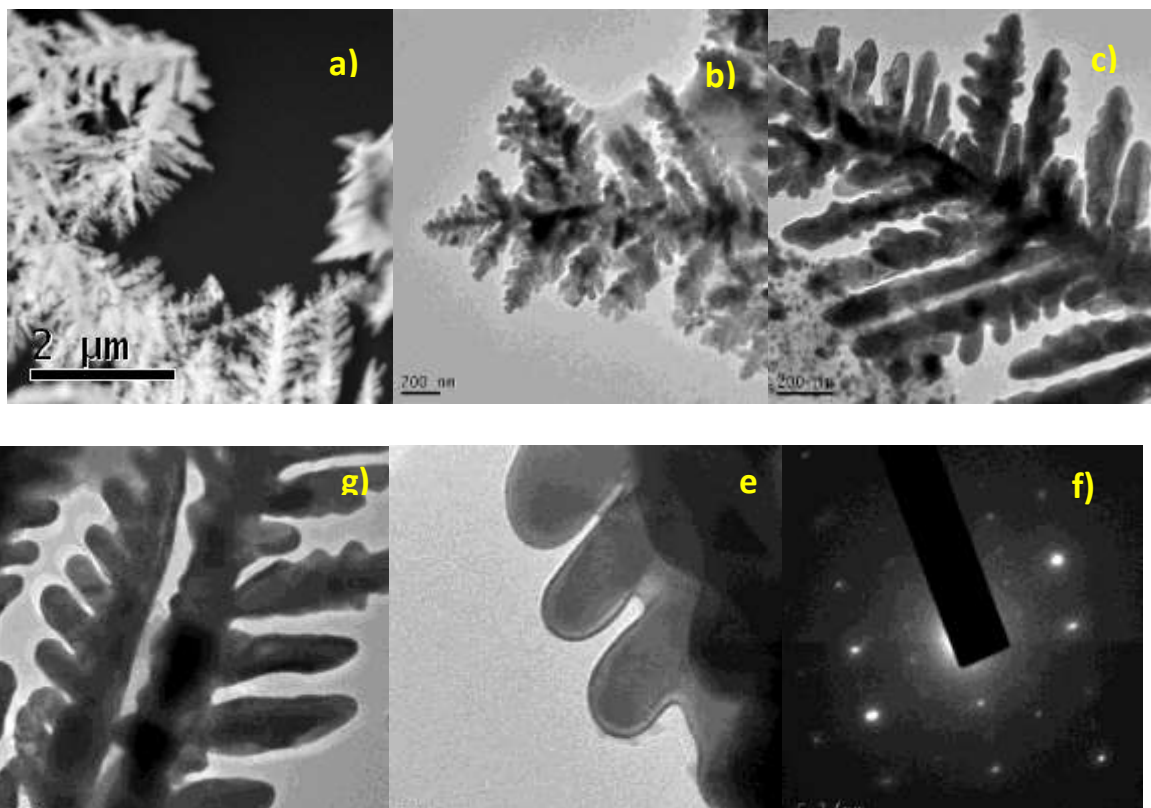
encontrando distintas morfologías como, quasiesferas, triángulos, decaedros y barras las



cuales tiene dimensiones que oscilan entre los 30-70nm de largo y 10-20nm de ancho. (Figura 15. C.1)

El tamaño promedio de las nanopartículas es de  $23.65 \pm 12.37$  nm, analizando el histograma Ag-M de la figura 18b el rango donde se encuentra la mayoría de las nanopartículas es de 10-25nm, así mismo se observa una disminución progresiva en la cantidad de nanopartículas conforme aumenta el tamaño de las nanopartículas. En la figura 15 C.3 se observa el patrón de difracción el cual fue indexado encontrando los planos cristalográficos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) y (3 1 1) correspondientes a las distancias experimentales  $2.344 \pm 0.012 \text{ \AA}$ ,  $2.044 \pm 0.001 \text{ \AA}$ ,  $1.434 \pm 0.008 \text{ \AA}$ ,  $1.229 \pm 0.004 \text{ \AA}$ .

La mezcla de nitrato de plata con los extractos de *C. sinensis* en **isopropanol** forman aglomerados reportados como dendrímeros (figura 17) los cuales están formados por una base principal de la cual se desprenden ramificaciones secundarias que su vez originan pequeñas extensiones que van desde 90-200 nm. (Figura 17 g y e) Estos están rodeados por un halo blanco que podría considerarse como el material orgánico que estabiliza las estructuras. En el espectro UV-Vis de la figura 13 podemos observar un ligero incremento en la absorbancia donde se encuentra el plasmón de resonancia característico de las nanopartículas de plata, solamente 24h después de iniciar la bioreducción. A partir de esto podríamos considerar que a pesar de que existe la formación de nanopartículas (Figura 15. d1 y figura 13) Estas no son representativas, debido a que prolifera la formación de dendrímeros.



Aunque no se sabe el mecanismo de formación de los dendrímeros por biorreducción, un estudio realizado por (Zhang, y otros, 2011) muestra la formación de estructuras dendríticas por la mezcla de Mg con  $\text{AgNO}_3$  en solución acuosa, el crecimiento de la estructura lo hace preferente en el plano (1 1 1) y comienza con la formación de crestas y la aparición de nanopartículas de plata, seguidas de una precipitación y autoensamblaje de los átomos de plata a lo largo de las estructuras con forma de cresta. Mientras tanto por coalescencia las nanopartículas crecen y se unen para formar estructuras en forma de varilla que dan la apariencia las estructuras dendríticas.

Otro estudio realizado por (Wang, Xing, Chen, Liu, & Xu, 2017) reporta la síntesis de nanoestructuras dentriticas con aceite de clavo y ondas ultrasónicas, comenzando con los átomos de plata, seguidas de una nucleación, un crecimiento, un autoensamblaje y un crecimiento obteniendo como resultados los dendrímeros.

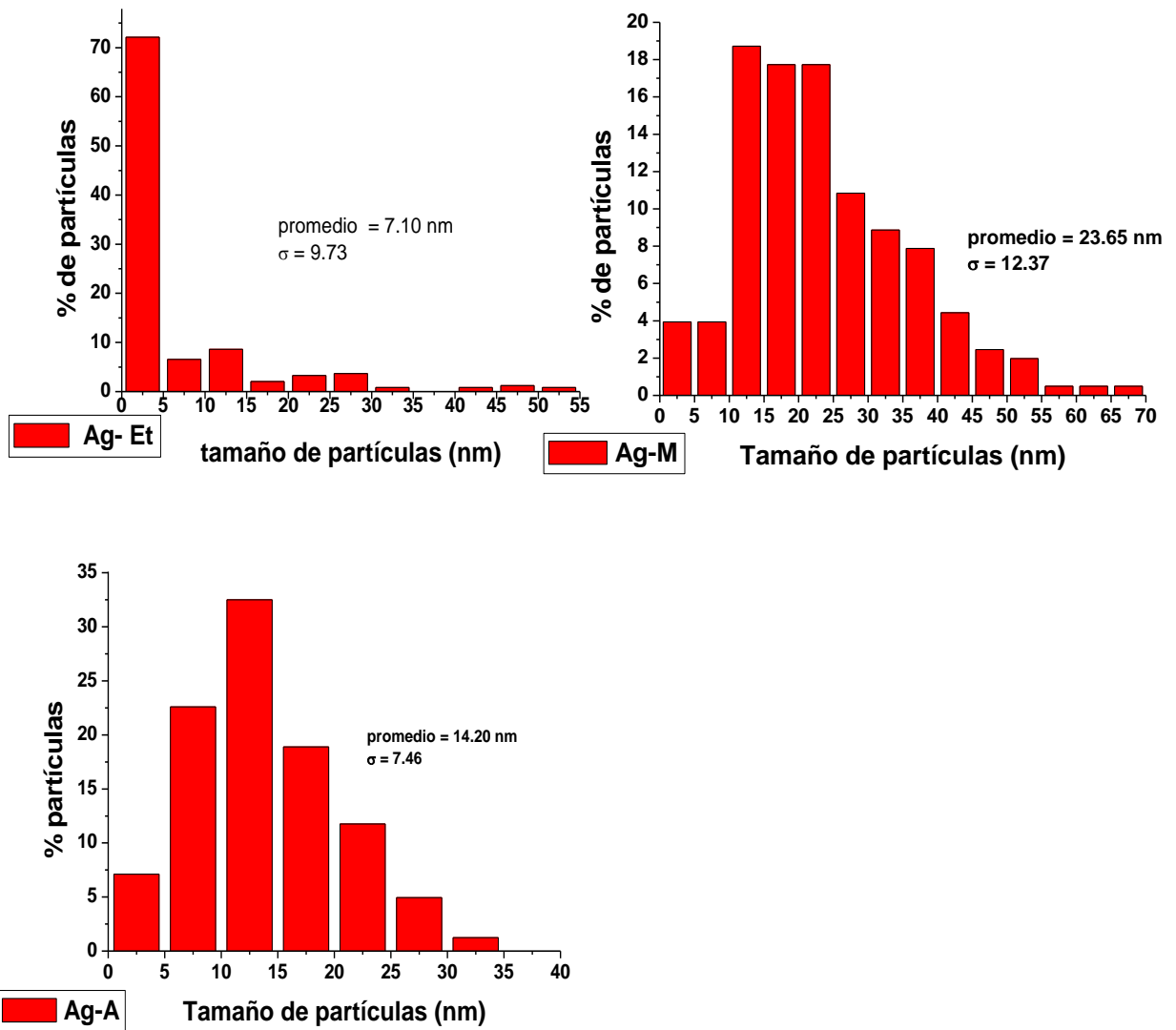

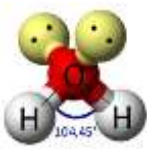
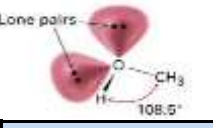
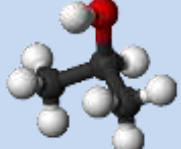


Figura 18 Histogramas de las nanopartículas de plata obtenidas con extractos de *C. sinensis* con los diferentes disolventes a) Nanopartículas de Plata en etanol. b) Nanopartículas de plata con metanol c) Nanopartículas de plata en agua d) Nanopartículas de plata en isopropanol

Tabla 5 Tabla comparativa de las nanopartículas de plata obtenidas por biosíntesis.

Disolvente	Estructura química del disolvente	Momento dipolar $\mu$ (Debye)	Tamaño promedio de las NP's (nm)	Ancho del plasmón (nm)	Máxima longitud de onda de absorción (nm) a las 24h	Morfologías presentes
Etanol		1.69	7.1±9.73	325-600	450-475	Barras, decaedros, quasiesferas, triángulos
Agua		1.85	14.2±7.46	325-730	460-550	quasiesferas, barras decaedros.
Metanol		1.7	23.65±12.4	340-800	ND	Dentritas, triángulos, barras, quasiesferas
Isopropanol		1.66	16.23±15.7	ND	ND	Dentritas, quasiesferas, barras.

En la tabla 5 se realiza una recopilación de los resultados obtenidos de la síntesis de nanopartículas de plata, observando que el disolvente utilizado afecta directamente la forma, tamaño y dispersión de las mismas; se analiza la relación que existe entre los espectros UV-Vis y los datos obtenidos a través de microscopía de absorción óptica, confirmando estudio anteriores que: a) el ancho del plasmón está relacionado con la dispersión (grado de variación de tamaño, respecto al promedio) de las NP's, b) El corrimiento de la longitud de onda máxima de absorción se relaciona con el tamaño (promedio) y forma de las NP's.

Las NP's obtenidas con etanol son las que presentan el ancho del plasmón más reducido, así mismo, son las de menor tamaño promedio comparado con el de las otras nanopartículas de plata sintetizadas; Los espectros UV-vis de las NP's obtenidas con el

extracto acuoso presentan un corrimiento hacia el rojo comparado con los espectros de las NP's en etanol, el efecto "red shift" en los espectro de UV-Vis nos indica la presencia de estructuras nanométricas de mayor tamaño, esto se confirma ya que el tamaño promedio de las NP's de plata en agua es dos veces más grande que las NP's en etanol, por otra parte el ancho del plasmón de las NP's en agua es mayor que las obtenidas con etanol, aunque las desviación estándar es mayor para el etanol, en el histograma de la figura 18 podemos observar una gráfica leptocurtica que nos indica una mayor cantidad de NP's ubicadas en un rango de tamaño más angosto, por lo tanto la dispersión de las NP's en etanol es menor que las NP's en agua, originando que el ancho de plasmón sea menor para las NP's en etanol.

La NP's de metanol presenta el ancho de plasmón más amplio, así como su desviación estándar y se confirma en el histograma de la figura 18 debido a la dispersión de tamaños. En los espectros UV-Vis de las NP's en isopropanol, la intensidad de absorción presente es inferior a las NP's en los otros disolventes, esto se relaciona con una menor formación de NP's, se corrobora con las micrografías obtenidas en las cuales se aprecian los dendrimeros formados.

### 3.3 Síntesis de Nanopartículas de Au.

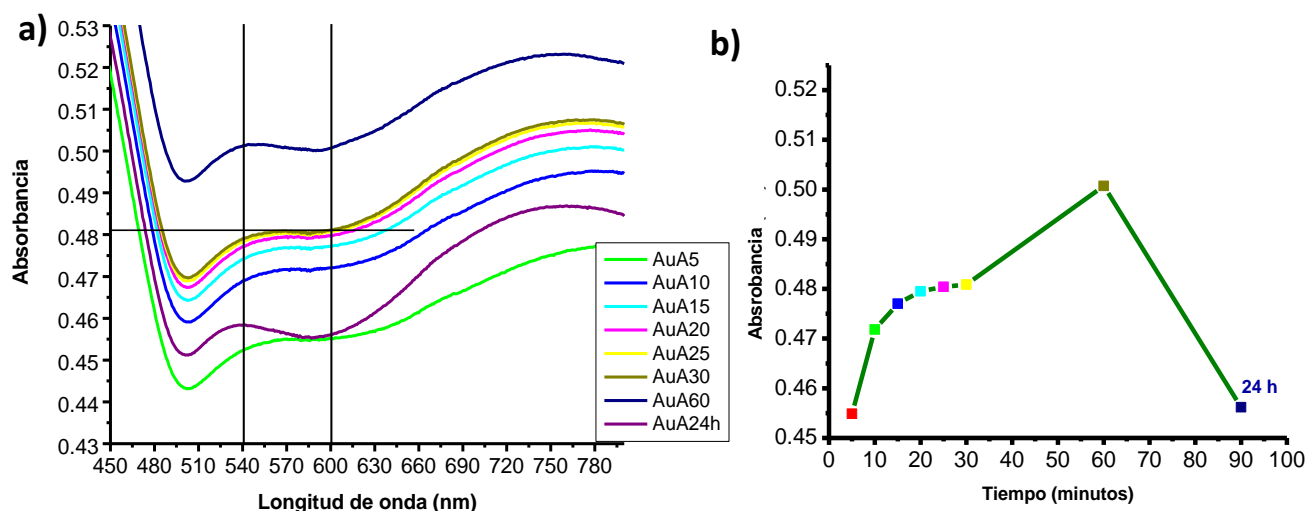


Figura 19 Espectros UV-Vis de la formación de nanopartículas de oro con extractos de *C. sinensis* en agua a los 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la bioreducción. b) incremento de la absorbancia respecto al tiempo (las líneas paralelas negras ubicadas en 540 y 600 nm son ayuda visual)

Al igual que las NP's de plata, los extractos utilizados de *C. sinensis* con los diferentes disolventes son los mismos que se utilizaron para la síntesis de NP's de Oro.

Los espectros UV-Vis de las nanopartículas de oro sintetizadas con extractos acuosos de *C. sinensis* muestran una meseta que abarca desde 550- 600 nm encontrando un valor máximo aproximado en 573 nm, las diferencias de absorbancia para cada uno de los espectros en ese rango de longitud de onda es mínimo. Estas características se observan a partir de los 5 minutos una vez iniciada la biosíntesis hasta los 30 minutos, las dos lecturas posteriores, es decir a los 60 minutos y 24h el ancho de la meseta disminuye y el punto máximo de absorbancia, se desplaza ligeramente al azul a 544nm. En la figura 19 b se muestra el incremento de la absorbancia respecto al tiempo hasta los 60 minutos, sin embargo al transcurrir 24h después de la reacción ésta disminuye junto con el ancho del plasmón.

En la figura 25- b1, nos muestras las micrografías obtenidas por TEM, y se observa que las nanopartículas formadas presentan una estructura en forma de flor. Estudios realizados con estructuras de oro similares a las obtenidas en ésta investigación muestran dos bandas de absorción, la primera ubicada entre 500-600 nm que se le atribuye al cuerpo de las nanoestrellas y a las nanopartículas esféricas de oro que son utilizadas como semillas para de la obtención de nanoflores o nanoestrellas, y la banda cercana al rojo 700-800 nm se relaciona con las protuberancias o picos de las nanoestructuras las cuales presentan una vibración longitudinal o transversal. ( (Reguera, y otros, 2017)( (Morales Vega, y otros, 2014)( (Hao, Nehl, Hafner, & Nordlander, 2007). Éste comportamiento donde aparecen dos bandas también se ha observado en nanobarras de oro (Smitha, Gopchandran, Smijesh, & Philip, 2013)

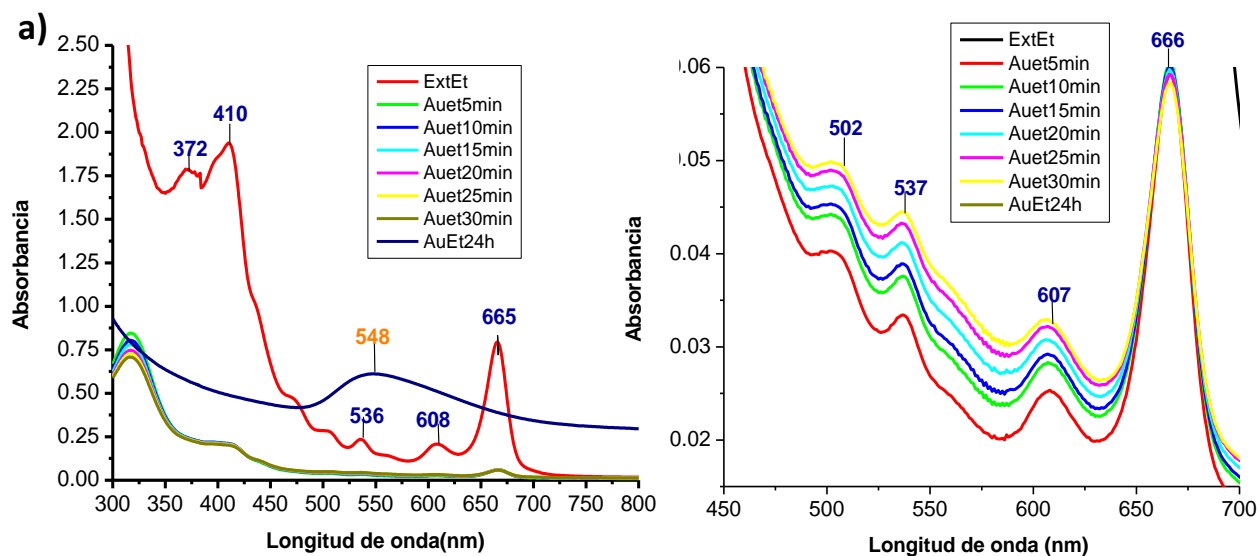


Figura 20. Espectros UV-vis de la formación de nanopartículas de oro con extractos de *C. sinensis* en etanol a los 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la bioreducción.

De acuerdo con el espectro de UV-Vis de la figura 20 las nanopartículas de oro obtenidas con extracto de *C. sinensis* en etanol podemos observar una formación de nanoestructuras muy lenta, esta aseveración se basa en que la resonancia de la superficie del plasmón es visible hasta las 24h de reacción presentando un pico de absorbancia máxima en 548 nm el cual es característico de las nanoestructuras de oro, previo a ello solo se observa las absorbancias del extracto, las longitud de onda coinciden con los trabajos realizados por (Pauli, Bruns, & Scarmino, 2016) correspondientes a los anillos de porfirina. Las longitudes de onda en 502, 537m 607 incrementan a medida que transcurre el tiempo, sin embargo desaparecen después de las 24h. Por otra parte las absorbancias en las longitudes de onda 666nm y 317 van disminuyendo a medida que transcurre el tiempo, se puede inferir que los componentes que absorben estas longitudes de onda se van transformando para ser partícipes en la formación de las nanoestructuras.

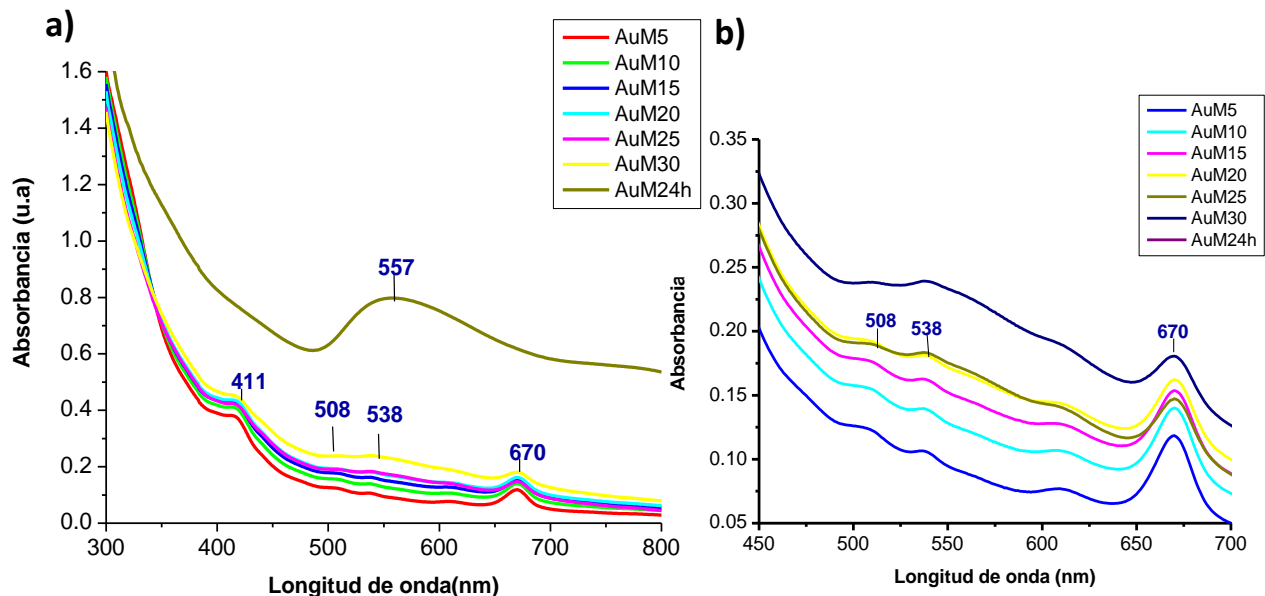


Figura 21 Espectros UV-vis de la formación de nanopartículas de oro con extractos de *C. sinensis* en metanol a los 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la bioreducción.

Las nanoestructuras de oro sintetizadas con los extractos de *C. sinensis* en metanol al igual que las nanoestructuras en etanol siguen una cinética de formación muy similar. La presencia del plasmón solo se observa hasta la lectura de 24h de reacción. Las absorbancias máximas en 508 y 538, 411 y 670 nm, ésta última longitud de onda a diferencia de los espectros de las estructuras en etanol tiene un corrimiento hacia el rojo, van aumentando con el transcurso del tiempo, pero desaparecen completamente a las 24h. Lo que indicaría su interferencia en la formación de las nanoestructuras de oro.



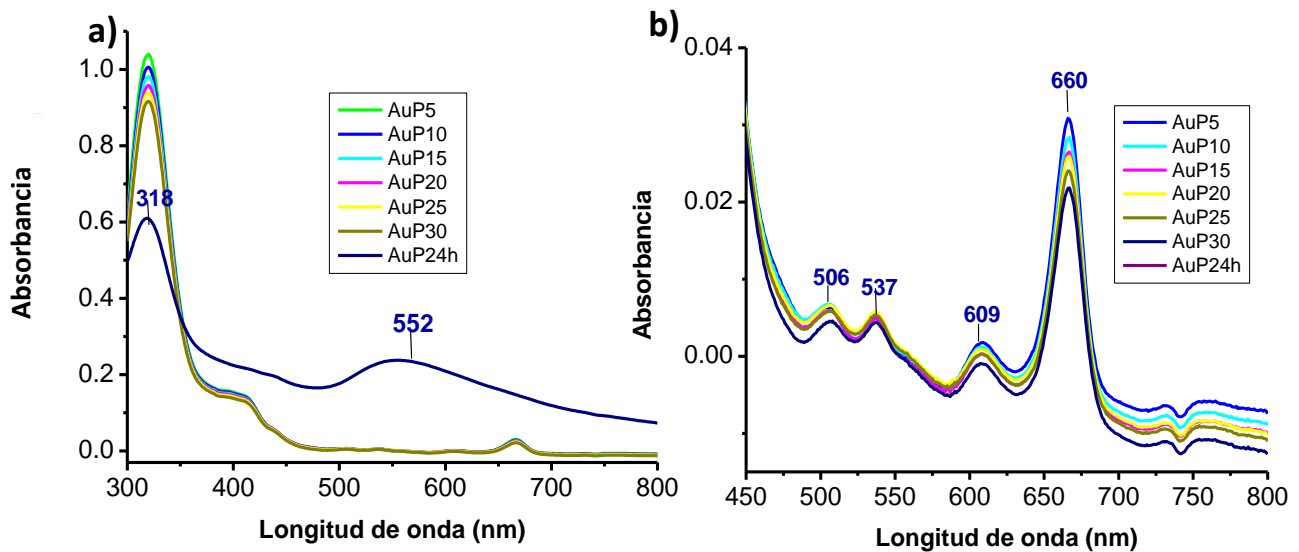


Figura 22 Espectros UV-vis de la formación de nanopartículas de oro con extractos de *C. sinensis* en isopropanol a los 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos y 24 h posteriores a la bio-reducción.

Los espectros de UV-Vis de las nanopartículas de oro con extractos *C. sinensis* en isopropanol solamente presentan la absorbancia máxima en 552nm y la curva del plasmón superficial característica de las nanopartículas de oro hasta las 24h de reacción, así mismo desaparecen las curvas con absorbancias máximas en 506, 537, 609 y 660 nm los cuales se le atribuyen a los compuestos del té verde: En la figura 22 b se observa que la concentración de éstos compuestos disminuye a medida que transcurre el tiempo hasta desaparecer a las 24h.

### 3.4 Análisis de las nanopartículas de Au por Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM).

Las NP's Au sintetizadas con extractos acuosos de *C. sinensis* presentan “nanorods” y la aglomeración y/o crecimiento de los mismos origina estructuras complejas conocidas como nanoflores (Jiji & Gopchandra, 2015).

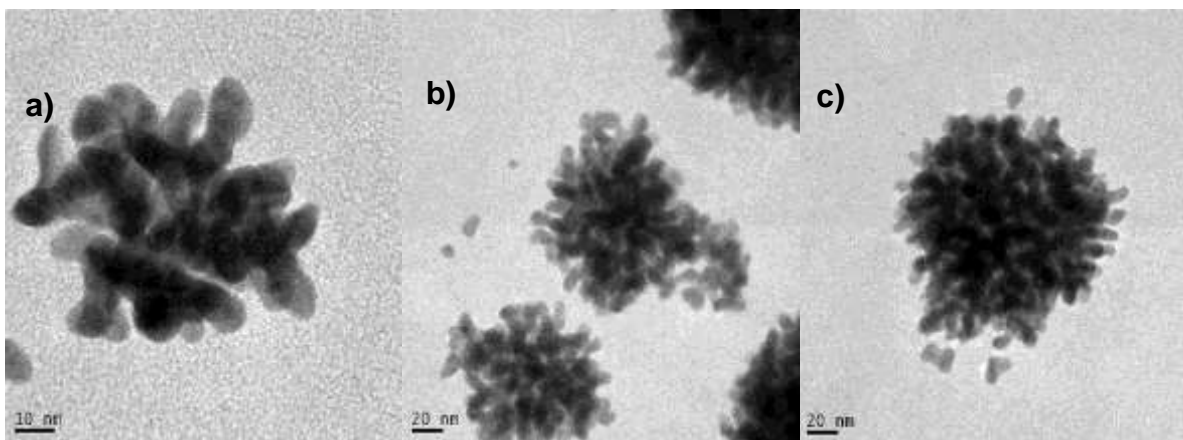


Figura 23 Nanoflores obtenidas mediante extractos acuosos de *C. sinensis*.

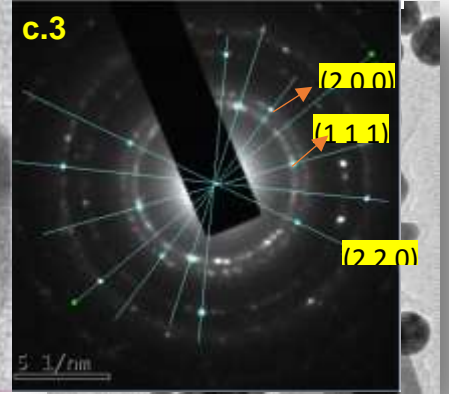
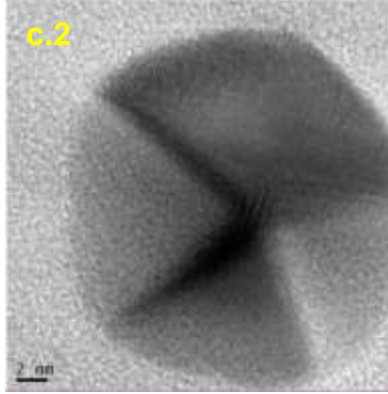
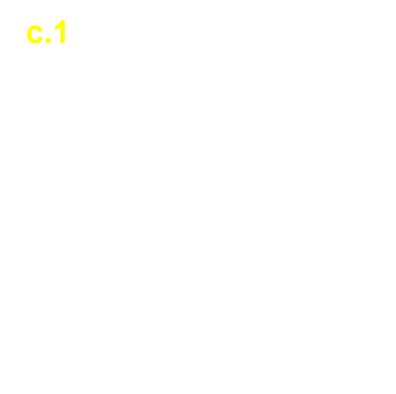
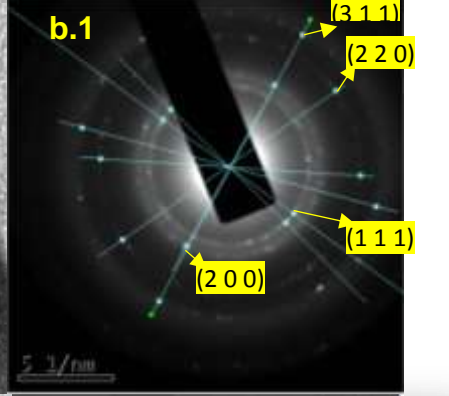
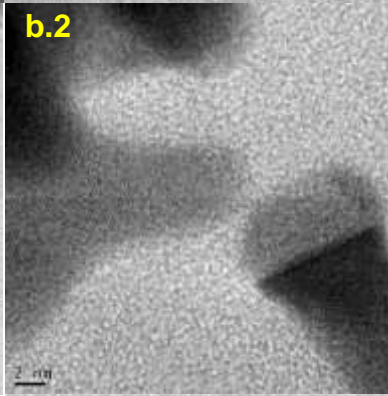
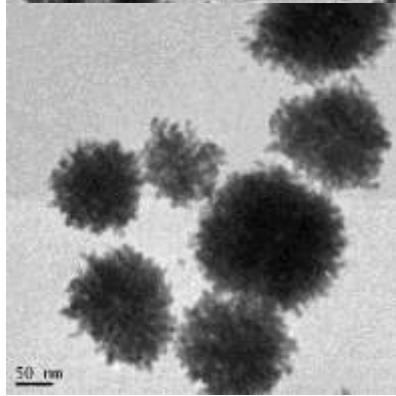
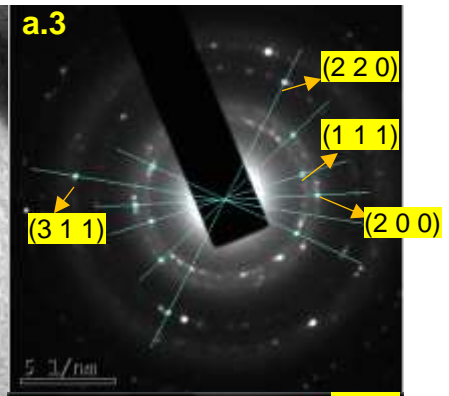
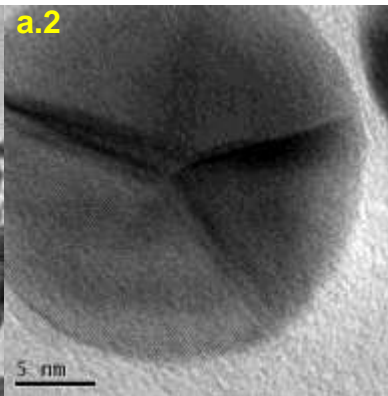
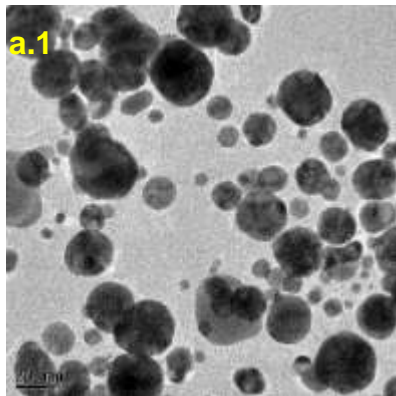
La figura 23 muestra los “nanorods” aglomerados en una etapa temprana (menor tamaño) y se observa que ya posee las características de la estructura final (figura 23c) aunado a ello se observan pequeñas nanoestructuras alrededor de las nanoflores, de las cuales se intuye que se van uniendo a las estructuras de mayor tamaño; En estudios previos (Yang, y otros, 2017) realiza una biosíntesis de nanoflores muy similares a las presentadas en éste trabajo y la formación de las estructuras se origina por un mecanismo de agregación. (Figura 24) donde los polifenoles juegan un papel importante como agentes estabilizadores.



Figura 24 Formación de nanoflores vía reducción de  $\text{AuCl}_3$  con zumo de *Averrhoa Carambola* (Yang, y otros, 2017)

Observando el espectro de UV-vis de la figura 19, podríamos sugerir que la formación de las nanoflores obtenidas en éste trabajo se realizan a partir de semillas, donde las nanopartículas formadas de manera aislada se incorporan de forma selectiva a las nanoestructuras con forma de flor, ya que a partir de los 60 minutos decrece considerablemente la cantidad de nanopartículas (absorbancia) y se desplaza la absorbancia máxima a una longitud de onda menor (544nm) así mismo se reduce el ancho del plasmón el cual esta relacionado con el grado de dispersión de las nanoestructuras, en otra palabras, como resultado final tenemos nanoestructuras menos dispersas en cuanto a tamaño y forma de manera aislada y las estructuras más grandes son incorporadas a los aglomerados de oro con forma de flor.

Las micrografía de la figura 25 b1 revelan que las estructuras de las nanoflores están conformadas por un núcleo central de aproximadamente 140nm y los nanorods (pétalos) que son las porciones sobresalientes del área uniforme tienen una longitud promedio de  $22.38 \pm 6.7 \text{ nm}$ , éstos pétalos fueron indexados gracias a la técnica SAED (Figura 25 b2 y b3) encontrando distancias experimentales  $2.333 \pm 0.019 \text{ \AA}$ ,  $2.041 \text{ \AA}$ ,  $1.443 \pm 0.004 \text{ \AA}$ ,  $1.234 \pm 0.005 \text{ \AA}$  correspondientes a los planos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) y (3 1 1). Los índices mencionados corresponden a una estructura FCC del oro.



(2 0 0)

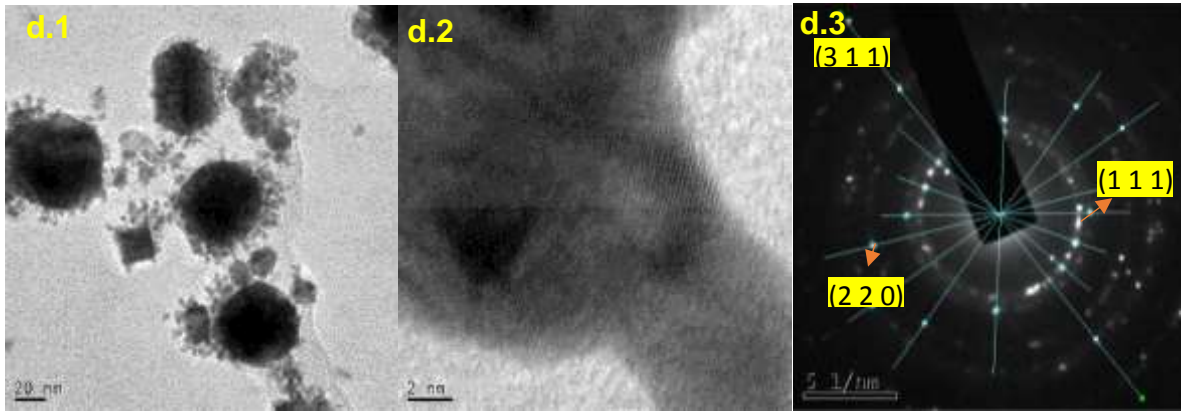
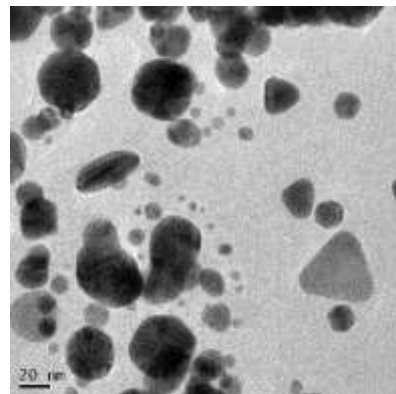


Figura 25 Micrografías de las nanopartículas de disolventes. A.1) NP-AuEt, A.2) HRTEM de NPAuEt NP-AuA, B.2) HRTEM de NPAuA B.3) Patrón de Difracción de electrones de NPAuP.

Las micrografías adquiridas de las nanopartículas metálicas de oro obtenidas mediante biosíntesis con extractos de *C. sinensis* en etanol (figura 25 a.1), nos permiten evaluar el tamaño, dispersión y morfología de las estructuras, encontrando que las NP's exhiben un tamaño promedio de 15.02 nm, sin embargo presentan una gran dispersión con una desviación estándar de 10.2nm, en el histograma de la figura 26.a podemos observar que a medida que aumenta el tamaño la cantidad de NP's presentes decrece y el rango donde se encuentra la mayor cantidad de NP's es 5-10nm. Aunado a ello, aunque las nanopartículas tienden a ser esféricas en su mayoría, también se observan estructuras hexagonales, triángulos y algunas barras Figura 26 b El patrón de difracción presenta 4 anillos principales (figura 25 a2 y a3) encontrando distancias experimentales  $2.351 \pm 0.004 \text{ \AA}$ ,  $2.040 \pm 0.001 \text{ \AA}$ ,  $1.439 \pm 0.004 \text{ \AA}$  y  $1.225 \pm 0.006 \text{ \AA}$  relacionados con los planos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) y (3 1 1) respectivamente. Estos índices corresponden a la estructura fcc del oro.

a)

b)



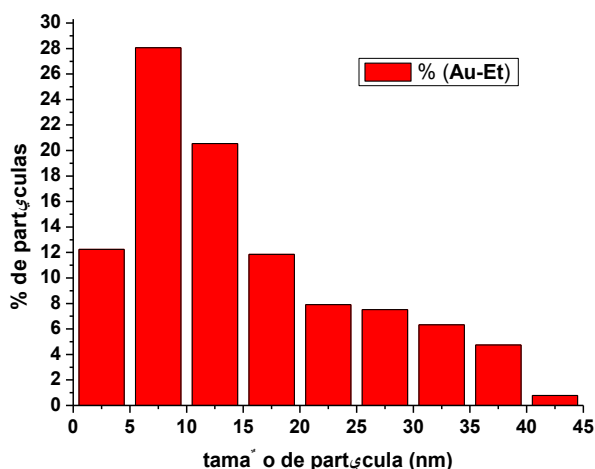


Figura 26 a) Histograma de las nanopartículas de oro obtenidas mediante extractos de *C. sinensis* en etanol. b) Micrografía en donde se presentan nanotriángulos y nanobarras.

Las nanopartículas de oro obtenidas con extractos *C. sinensis* en metanol son muy similares a las obtenidas con etanol, en ella encontramos algunos triángulos, decaedros y quasiesferas su tamaño promedio 18.01nm y su desviación estándar 9.47 en el histograma de la figura 27 podemos observar que el rango en el cual se encuentra la mayoría de nanopartículas es de 5-25nm, El patrón de difracción presenta 4 anillos principales (figura c3) encontrando distancias experimentales  $2.3471 \pm 0.01 \text{ \AA}$ ,  $2.039 \pm 0.001 \text{ \AA}$ ,  $1.436$  y  $1.231 \pm 0.001 \text{ \AA}$  relacionados con los planos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) y (3 1 1) respectivamente. Estos índices corresponden a la estructura FCC del oro

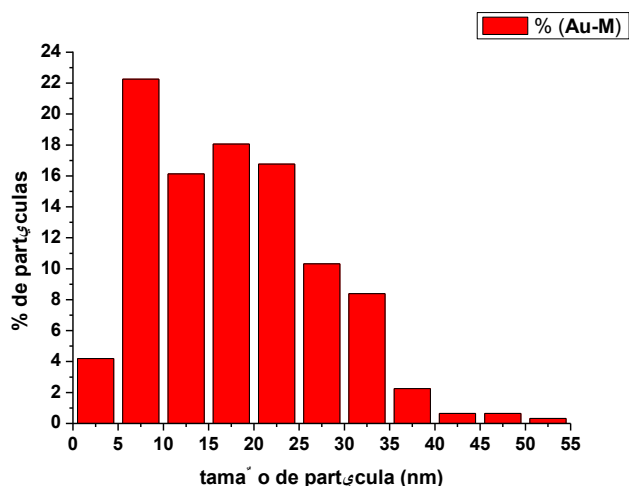


Figura 27 a) Histograma de las nanopartículas de oro obtenidas mediante extractos de *C. sinensis* en metanol..

Las nanopartículas de oro obtenidas con extractos *C.sinensis* en isopropanol tiende a formar nanoflores (Figura 25d.1) semejantes a las obtenidas con agua; se indexaron los pétalos (Figura 25d.3) encontrando que las distancias interplanares  $2.332\pm 0.003\text{\AA}$ ,  $2.034\pm 0.005\text{\AA}$ ,  $1.442\pm 0.001\text{\AA}$ ,  $1.233\pm 0.005\text{\AA}$  correspondientes a los planos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) y (3 1 1). Los índices mencionados corresponden a una estructura FCC del oro.

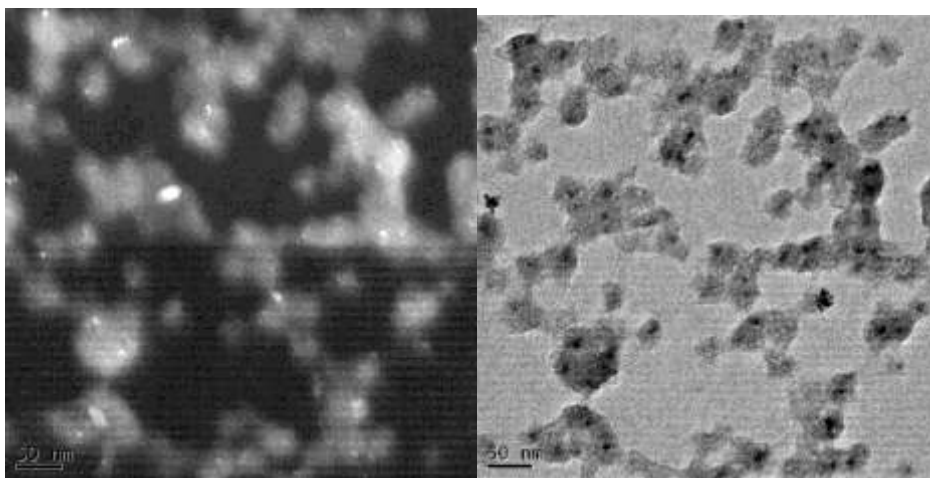


Figura 28 Micrografías de campo claro y oscuro de las Nanopartículas de oro obtenidas con extractos de *C. sinensis* en isopropanol

En la micrografía de campo oscuro se puede observar cómo se encuentran dispersas las nanoestructuras de oro, los puntos con mayor brillo en la micrografía de campo oscuro se puede relacionar con los núcleos que se encuentran rodeados de nanoestructuras más pequeñas, formando una estructura muy similar a las clasificadas como “nanoflores” las cuales tienen una estructura interna principal y a su alrededor estructuras pequeñas (pétalos).

### **3.5 Estudio Raman de la molécula de prueba (azul de metileno), utilizando como sustrato nanopartículas de plata y oro.**



El azul de metileno es un compuesto heterocíclico aromático, cuya fórmula y nombre químico es  $C_{16}H_{18}ClN_3S$  (figura 29 ) y 3-amino-7-dimetilamino-2-metilfenazationiocloruro respectivamente, también es conocido como cloruro de metiltionina.

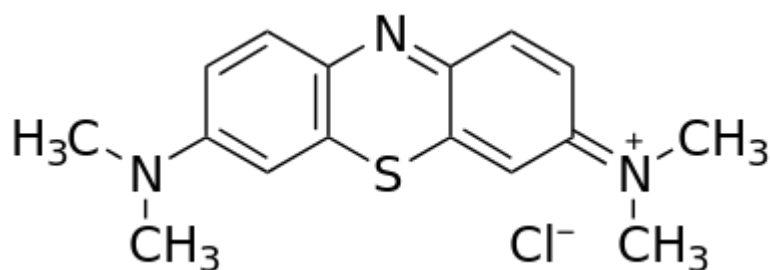
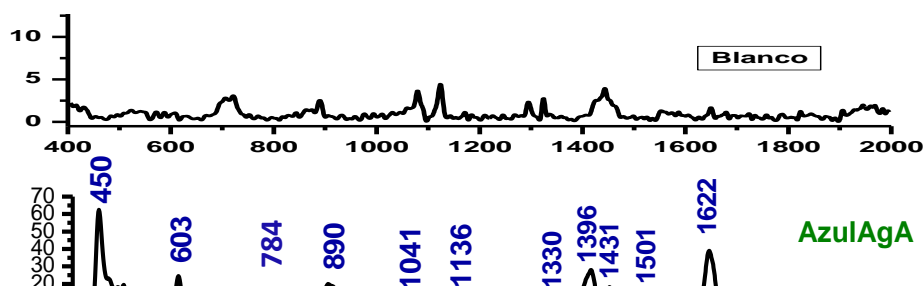


Figura 29 : Estructura química del azul de metileno.

### Evaluación del efecto SERS con nanopartículas de plata

A continuación, se presentan los resultados del efecto SERS con las nanopartículas de plata obtenidas con los diferentes extractos de *C. sinensis*, utilizando la molécula de azul de metileno. En la figura 30 a) blanco, hace referencia al espectro del azul de metileno sin agregarle nanopartículas, los espectros b) AzulAgA, c) AzulAgM, d) AzulAgEt, e)AzulAgP, son las muestras de azul de metileno con las nanopartículas de plata obtenidas con extractos acuosos, metanol, etanol e isopropanol respectivamente. Podemos observar que casi todos los sistemas muestran una ligero aumento en algunos picos Raman, sin embargo, los más evidentes se presentan en  $450, 603, 1622\text{ cm}^{-1}$  el primer y el segundo pico hacen referencia a la deformación esquelética del enlace C-N-C (carbono-nitrógeno-carbono) y el pico en  $1622\text{ cm}^{-1}$  se le puede atribuir al estiramiento del enlace C-C (carbono-carbono) del anillo (Morales Méndez, 2017) , es importante resaltar que solamente las nanopartículas de plata obtenidas con el extracto acuoso evidenciaron las bandas características de Raman del azul de metileno y no así de manera significativa las NP's obtenidas con los extractos restantes.





Intensidad Raman (cps )

*Figura 30 Evaluación del efecto SERS con azul de metileno utilizando como sustrato nanopartículas de plata a): Espectro Raman del azul de metileno sin nanopartículas de plata. b) **AzulAgA**: Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de plata obtenidas a partir del extracto en agua. c) **AzulAgM**: Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de plata obtenidas a partir del extracto en metanol. d) **AzulAgEt**: Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de plata obtenidas a partir del extracto en etanol. e) **AzulAgA**: Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de plata obtenidas a partir del extracto en isopropanol.*

### **Evaluación del efecto SERS con nanopartículas de Oro**

En la figura 31 podemos observar la mejora en el efecto SERS de las bandas Raman características del azul de metileno con las nanopartículas de oro; el espectro a) blanco, hace referencia al azul de metileno sin agregarle nanopartículas, los espectros b) AzulAuA, c) AzulAuM, d) AzulAuEt y e) AzulAuP, son las muestras de azul de metileno con las nanopartículas de oro obtenidas mediante el extracto acuoso, seguidas de las sintetizadas con metanol, etanol e isopropanol respectivamente. Así mismo la figura 31 nos muestra que todos los sistemas presentan una mejora del efecto SERS comparado con el blanco, sin embargo, las nanopartículas de oro obtenidas con el extracto de *C. sinensis* en etanol exhiben una mejor respuesta incluso que las nanopartículas de plata en

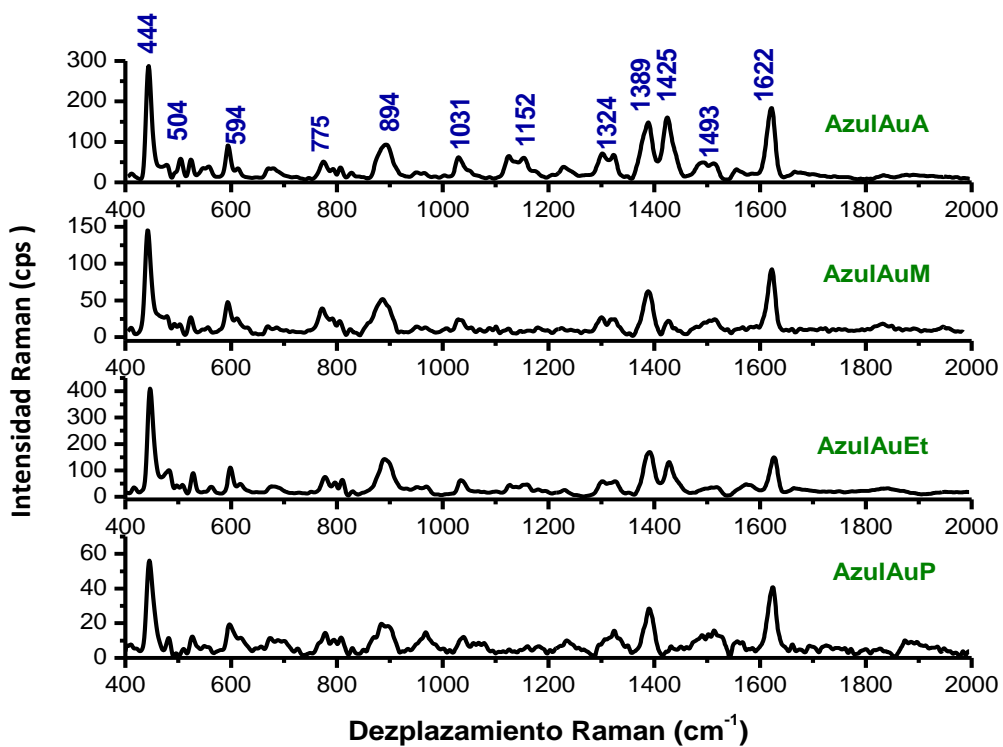


Figura 31: Evaluación del efecto SERS con azul de metileno utilizando como sustrato nanopartículas de oro a): Espectro Raman del azul de metileno sin nanopartículas de oro. b) **AzulAgA**: Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de oro obtenidas a partir del extracto de *C.sinensis* en agua. c) **AzulAgM**: Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de oro obtenidas a partir del extracto de *C.sinensis* en metanol. d) **AzulAgEt**: Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de oro obtenidas a partir del extracto de *C.sinensis* en etanol. e) **AzulAgA**: Espectro Raman del azul de metileno con nanopartículas de oro obtenidas a partir del extracto de *C.sinensis* en isopropanol.

agua.

Respecto al blanco las NP's de oro en etanol tiene incremento en la señal Raman de casi 140 veces, seguidas de las NP's de oro en agua que presentan una mejora de 96 veces,

las nanopartículas de oro en metanol incrementaron la señal Raman 48 veces y las NP's de oro en isopropanol casi 20 veces.

Las bandas Raman del azul de metileno ubicadas en 444,504, 594  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a las vibraciones de deformación esquelética de C-N-C (carbono-nitrógeno-carbono), el pico ubicado en 775  $\text{cm}^{-1}$  aparece debido a la deformación esquelética de C-N-C, C-S-C (carbono-azufre-carbono) y al estiramiento N-CH<sub>3</sub> (Nitrógeno-Metilo), por otra parte el pico 1031  $\text{cm}^{-1}$  se le puede atribuir a la flexión en el plano C-H (carbono-hidrógeno), la señal Raman en 1152  $\text{cm}^{-1}$  se le puede adjudicar a la flexión fuera del plano de C-H y al estiramiento C-N, aunado a estas señales, el pico 1324  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a la deformación del anillo C-H en el plano, la señal 1425  $\text{cm}^{-1}$  se ha atribuido a la vibración de estiramiento asimétrico del enlace C-N-C. La banda Raman ubicada en 1389  $\text{cm}^{-1}$  se observa debido estiramiento asimétrico C-N, las últimas bandas observadas se ubican en la posición 1493 y 1622  $\text{cm}^{-1}$  que se atribuyen a la deformación esquelética C-C-C y a l estiramiento C-C del anillo. (Quester, Avalos-Borja, Vilchis Nestor, Camacho-López, & Castro-Longoria, 2013).

En la tabla 6 se realiza un concentrado de la ubicación de las bandas asignadas al espectro del azul de metileno, se observa que aunque en general casi todas presentas las mismas bandas la ubicación de ellas se desplaza ligeramente a la izquierda comparado con el espectro de azul de metileno con las nanopartículas de oro en etanol. (Quien se obtuvo los mejores resultados)

Tabla 6 Principales Bandas asignadas para el espectro del azul de metileno utilizando como sustrato nanopartículas de oro.

Azul de metileno (cm <sup>-1</sup> )	Azul de metileno+ NP'sAuEt (cm <sup>-1</sup> )	Azul de metileno+ NP'sAuA (cm <sup>-1</sup> )	Azul de metileno+ NP'sAuM (cm <sup>-1</sup> )	Azul de metileno+ NP'sAuP (cm <sup>-1</sup> )	Resultados reportados	Asignación de los picos
440	446	444	441	445	450 <sup>a</sup> , 449 <sup>b</sup>	δ(C-N-C)
-	-	504	-		503 <sup>a</sup> , 502 <sup>b</sup>	δ(C-N-C)
-	598	594	594	597	599 <sup>a</sup>	δ(C-N-C)
-					673 <sup>a</sup>	γ(C-H)
721	777	775	772	777	774 <sup>a</sup>	δ(C-N-C), δ(C-S-C), ν(N-CH <sub>3</sub> )
889	890	894	886	895	893 <sup>a</sup>	-
-	1034	1031		1039	1042 <sup>a</sup> , 1030 <sup>b</sup>	β(C-H)
-	-	1152	-		1159 <sup>a</sup>	γ(C-H) ν(C-N)
1324	1325	1324	1318	1325	1329 <sup>a</sup>	α(C-H)
-	1391	1389	1389	1390	1397 <sup>a</sup>	ν <sub>asimétrico</sub> (C-N)
-	1427	1425			1425 <sup>c</sup>	ν <sub>asimétrico</sub> (C-N-C)
-	-	1493	1504	1490	1504 <sup>a</sup> ,	δ <sub>asimétrico</sub> (C-C-C)
-	-	-	-		1513 <sup>b</sup>	ν <sub>antisimétrico</sub> (C-

1) NP'sAuEt: Nanopartículas de oro sintetizadas con extracto de *C. sinensis* en etanol.  
 NP'sAuA: Nanopartículas de oro sintetizadas con extracto de *C. sinensis* en agua.  
 NP'sAuM: Nanopartículas de oro sintetizadas con extracto de *C. sinensis* en metanol.  
 NP'sAuP: Nanopartículas de oro sintetizadas con extracto de *C. sinensis* en isopropanol.

Abreviaciones. α, deformación del anillo en el plano; β, flexión en el plano; γ, flexión fuera del plano; δ, deformación esquelética, ν estiramiento.

#### Referencias

<sup>a</sup> (Quester, Avalos-Borja, Vilchis Nestor, Camacho-López, & Castro-Longoria, 2013)

<sup>b</sup> (Morales Méndez, 2017)

<sup>c</sup> (Virdee & Hester, 1988)

ar que los extractos de *C. sinensis* funcionan como un excelente agente reductor amigable con el ambiente para la síntesis de nanopartículas de oro y plata. Por otro lado,

Co  
ncl  
usi  
on  
es

El  
est  
udi  
o  
nos  
per  
mit  
e  
con  
firm

el disolvente utilizado para obtener los extractos afecta directamente el tamaño, forma y dispersión de las nanoestructuras, éstas características influyen directamente en la señal Raman y el efecto SERS.

El análisis por espectrofotometría UV-Vis y TEM nos permite confirmar la relación que existe entre el ancho del plasmón y su desplazamiento mostrado en los espectros UV-Vis con la forma y dispersión de tamaño de las nanopartículas, así como la formación de las mismas.

Podemos concluir que las nanopartículas de oro tienen un mayor potencial para ser utilizadas como sustrato para la identificación del azul de metileno. No obstante, quien exhibe mejores resultados son las nanopartículas de oro obtenidas con extractos de *C. sinensis* en etanol presentado una amplificación de 136 veces la señal de Raman del azul de metileno. En general, podríamos afirmar que, las nanopartículas obtenidas con éste método y los resultados obtenidos en la evaluación del efecto SERS nos puede dar pie a investigaciones posteriores con resultados prometedores en la identificación de microorganismos o moléculas, sin embargo, al utilizar *C. sinensis* que es un agente de origen natural, su composición podría variar y afectar directamente la forma, tamaño, dispersión, de las NP's obtenidas por lo que sería necesario evaluar la reproducibilidad de los resultados.

## Bibliografía

- Almeida, R. S., Souto Teixeira, B., Silva Sauthier, M. C., Almeida Santana, M. V., Lopes dos Santos, W. N., & Andrade Santana, D. (2019). Multivariate analysis of the composition of bioactive in tea of the species *Camellia sinensis*. *Food Chemistry*, 39-44.
- Atomssa, T., & Gholap, V. (2015). Characterization and determination of catechins in green tea leaves using UV-visible spectrometer. *Journal of Engineering and Technology Research Vol 7 (1)*, 22-31.
- Bernardi, L. A. (15 de Enero de 2019). *Perfil del Té (Camellia sinensis)*, Ministerio de Agroindustria, Presidencia de la Nación. Obtenido de Perfil del Té (Camellia sinensis): [https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/ss\\_mercados\\_agropecuarios/areas/regional/es/\\_archivos/000030\\_Informes/000061\\_Infusiones/010000\\_Perfil%20del%20T%C3%A9.pdf](https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/ss_mercados_agropecuarios/areas/regional/es/_archivos/000030_Informes/000061_Infusiones/010000_Perfil%20del%20T%C3%A9.pdf)
- Cang, H., Labno, A., Lu, C., Yin, X., Liu, M., Gladden, C., . . . Zhang, X. (2011). Probing the electromagnetic field of a 15-nanometre hotspot by single molecule imaging. *Nature*, 385-388.
- Cano Olivera, L. E., & Pérez Castillo, J. N. (2008). Simulación de Nanosensores para detectar partículas contaminantes utilizando Sistemas de Información. *ingeniería*, vol. 13, núm. 2, 29-35.
- Cheng, Y., Dong, Y., Wu, J., Yang, X., Bai, H., Hongyan, Z., . . . Ming, L. (2010). Screening melamine adulterant in milk powder with laser Raman spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis Vol 23:2*, 199-202.
- Chu, H., Huang, Y., & Zhao, Y. (2008). Silver Nanorod Arrays as a Surface-Enhanced Raman Scattering Substrate for Foodborne Pathogenic Bacteria Detection. *Applied Spectroscopy*, 922-931.
- Coral, D. F., & Mera, J. A. (2017). Una guía para el estudio de nanopartículas magnéticas de óxidos de hierro con aplicaciones biomedicas. *Parte I Ingeniería y Ciencia*, Vol. 13 No25, 229-249.
- Cornejo, L. (18 de Agosto de 2015). *Nuevas tecnologías y materiales*. Recuperado el Junio de 2019, de Propiedades de las nanopartículas: <http://nuevatecnologiasymateriales.com/propiedades-de-las-nano-particulas/>
- Cornejo, L. (11 de Agosto de 2015). *Nuevas Tecnologías y Materiales*. Recuperado el Enero de 2019, de Resonancia del plasmón de la superficie (RPS); Propiedades Optoelectrónicas: <http://nuevatecnologiasymateriales.com/resonancia-del-plasmon-de-la-superficie-rps-propiedades-optoelectronicas/>
- Craig, A. P., Franca, A. S., & Irudayaraj, J. (2013). Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Applied to Food Safety. *Ann Rev Food Sci and Technol*. 4, 369-380.
- Dowgiallo, A. M., & Guenther, D. A. (2019). Determination of the Limit of Detection of Multiple Pesticides Utilizing Gold Nanoparticles and Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.*

- Fleischmann, M., Hendra, P. J., & Mc Quillan, A. J. (1974). Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chemical physics Letters*, 163-166.
- Fu, G., Sun, D.-W., Pu, H., & Wei, Q. (2018). Fabrication of Gold Nanorods for SERS Detection of Thiabendazole in Apple. *Talanta*.
- García Martínez, J., Abellán, G., Carrillo, A. I., & Linares, N. (2007). Nanomateriales para aplicaciones avanzadas. *Actas 2006-2007*, 1-9.
- Gopal, J., Muthu, M., Paul, D., Kim, D.-H., & Chun, S. (2016). Bactericidal activity of green tea extracts: the importance of catechin containing nano particles. *Scientific Reports* 6 .
- Gubin, S. P., Khomutov, G., Koksharov, Y., & Yurkov, G. Y. (2005). Magnetic nanoparticles: preparation, structure and properties. *Russian Chemical Reviews*, 74 (6), 489.520.
- He, L., Kim, N. J., Li, H., Hu, Z., & Lin, M. (2008). Use of of a Fractal Like Gold Nanostructure in Surface- Enhanced Raman Spectroscopy for Detection of Selected Food Contaminants. *J. Agric Food Chem*, 56, 9843-9847.
- He, L., Liu, Y., Lin, M., Mustapha, A., & Wang, Y. (2008). Detecting single Bacillus spores by surface enhanced Raman spectroscopy. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, 2, 247.
- Hernando, A. (2007). Nanotecnología y nanopartículas magnéticas: La física actual en lucha contra la enfermedad. *Rev. R.Acad. Cienc, Exact. Fis. Nat Vol 101(2)*, 321-327.
- Jiang, J., Zou, S., Ma, L., Wang, S., Liao, J., & Zhang, Z. (2018). Surface-Enhanced Raman Scattering Detection of Pesticide Residues Using Transparent Adhesive Tapes and Coated Silver Nanorods. *ACS applied Materials & Interfaces* 10,10, 9129-9135.
- Jiji, S., & Gopchandra, K. (2015). Synthesis of Gold Nanoflowers and their High SERS Performance. *Materialstoday proceedings*, 928-933.
- Kalyan Kamal, S. S., Sahoo, P. K., Vimala, J., & Premkumar, M. (2010). A Novel Green Chemical Route for Synthesis of Silver Nanoparticles Using Camellia Sinensis. *Acta Chimica Slovenica*, 808-812.
- Lin, M., He, L., Awika, J., Yang, L., Ledoux, D., Li, H., & Mustapha, A. (2008). Detection of Melamine in Gluten, Chicken Feed, and Processed Foods Using Surface Enhanced Raman Spectroscopy and HPLC. *Journal of Food Science*, T129-T134.
- Liu, B., Han, G., Zhang, Z., Liu, R., Jiang, C., Wang, S., & Han, M.-Y. (2012). Shell Thickness-Dependent Raman Enhancement for Rapid Identification and Detection of Pesticide Residues at Fruit Peels. *Analytical Chemistry* 84,1, 255-261.
- Liu, H.-b., Zang, Y.-X., Li, P., & Wang, S. (2017). SERS-Based Lateral Flow Strip Biosensor for Simultaneous Detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 10290-10299.
- López, J., Vilchis Nestor, A., Sánchez, V., & Avalos, M. (2013). Obtención y caracterización de nanopartículas de plata soportadas en fibra de algodón. *Superf. vacío vol.26 No3*.

- López Luengo, T. (2002). El Té verde. *Elsevier, Fitoterapia Vol 21 (5)*, 1-4.
- Maher, R. C. (2012). SERS Hot Spots. *Raman Spectroscopy for Nanomaterials Characterization*, 215-260.
- Marzuki, A., Suryanti, V., & Virginia, A. (2016). Spectroscopic Study of Green Tea (Camelliasinensis) Leaves Extraction . *International Conference On Food Science and Engineering*, 1-4.
- Mecker, L. C., Tyner, K. M., Kauffman, J. F., Arzhantsev, S., Mans, D. J., & Gryniewicz-Ruzicka, C. (2012). Selective melamine detection in multiple sample matrices with a portable Raman instrument using surface enhanced Raman spectroscopy-active gold. *Analytica Chimica Acta 733*, 48-55.
- Mirgorod, Y. A., & Borodina, V. G. (2013). Preparation and Bactericidal Properties of Silver Nanoparticles. *Inorganic Materials 49 (10)*, 980-983.
- Morales Méndez, J. G. (25 de julio de 2017). Preparación de sustratos metálicos nanoestructurados por depósito láser pulsado para espectroscopia Raman amplificada por superficie. *Preparación de sustratos metálicos nanoestructurados por depósito láser pulsado para espectroscopia Raman amplificada por superficie*. México, México.
- Moskovits, M. (1985). Surface-enhanced spectroscopy. *Rev. Mod. Phys. 57*, 783.
- Moskovits, M. (2006). Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: a Brief Perspective. En K. Kneipp, M. Moskovits, & H. Kneipp, *Surface-Enhanced Raman Scattering* (págs. 4-17). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Muñoz Guerra, S. (1991). Microscopia electrónica de transmisión y difracción de electrones. *Butkk. Soc. Cat. Cien, VolXI*.
- Noguez, C. (2013). Física a la escala nanométrica. En O. M. Volke, *Fronteras de la Física en el Siglo XXI* (págs. 1-16). México.
- Pauli, E. D., Bruns, R. E., & Scarmino, I. S. (2016). UV-Vis spectral fingerprinting and chemometric method applied in the evaluation of Camellia sinensis leaves from different harvests. *Analytical methods 8 (41)*.
- Pei, L., Huang, Y., Li, C., Zhang, Y., Rasco, B. A., & Lai, K. (2014). Detection of Triphenylmethane Drugs in Fish Muscle by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Coupled with Au-Ag Core-Shell Nanoparticles. *Journal of Nanomaterials Vol2014*, 1-8.
- Peralta, L. (2018). Promesas nanométricas. *Manufactura, información estratégica para la industrial edición 267*, 98-100.
- Quester, K., Avalos-Borja, M., Vilchis Nestor, A. R., Camacho-López, M. A., & Castro-Longoria, E. (2013). SERS Properties of Different Sized and Shaped Gold Nanoparticles Biosynthesized under Different Environmental Conditions by Neurospora crassa Extract. *PLoS ONE Vol 8 (10)*, e77486- e77486.



- Saldaña, D. (2019). El imperio de las nanotecnologías. *Mnufactura, Información estratégica para la Industria No 278*, 70-71.
- Sannegowda - Lokesh, K., Shambhulinga, A., Manjunatha, N., Imadadulla, M., & Hojamberdiev, M. (2015). Porphyrin macrocycle-stabilized gold and silver nanoparticles and their application in catalysis of hydrogen peroxide. *Dyes and Pigments*, 155-160.
- Santillán, J. M. (Febrero de 2013). Estudio de las propiedades ópticas de materiales nanoestructurados y aplicaciones. *Trabajo de tesis para optar por el título de Doctor de la Universidad Nacional de La Plata en el área de Física*.
- Sergiienko, S., Moor, K., Gudun, K., Yelemessova, Z., & Bukasov, R. (2017). Nanoparticle-nanoparticle vs nanoparticle-substrate hot spot contributions to SERS signal: studying Raman labelled monomers, dimers and trimers. *Physical Chemistry Chemical Physics* 19(6), 4478-4478.
- Sikora, E., & Ogonowski, J. (2011). Study of antioxidant properties of green tea extract. *Chemik* 65 (10), 968-973.
- Sun-Waterhouse, D., & I.N Waterhouse, G. (2016). Recent Advances in the application of nanomaterials and nanotechnology in food research. *Novel Approaches Nanotechnology in food* , 21-59.
- Tan, C. L., Lee, K. S., & Lee, T. Y. (2015). Bi-SERS sensing and enhancement by Au-Ag bimetallic non-alloyed nanoparticles on amorphous and crystalline silicon substrate. *Optics Express Vol 23* (5), 6254-6263.
- Temur, E., Boyaci, I. H., Tamer, U., Unsal, H., & Aydogan, N. (2010). A highly sensitive detection platform based on surface-enhanced Raman scattering for Escherichia coli enumeration. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 397(4), 1595-1604.
- Vilchis-Nestor, A. R., Sánchez-Mendieta, V., Camacho-López, M. A., & Arenas-Alatorre, J. A. (2008). Solventless synthesis and optical properties of Au and Ag nanoparticles using. *Materials Letters* 62 (17-18), 3103-3105.
- Virdee, H. R., & Hester, R. E. (1988). Surface-Enhanced Raman Spectroscopy of Thionine-modified Gold Electrodes. *Laser Chemistry*, 401-410.
- Vo-Dinh, T., Liu, Y., Fales, A., Ngo, H., Wang, H., Register, J., . . . Griffin, G. (2015). SERS nanosensors and nanoreporters: golden opportunities in biomedical applications. *Rev Nanomed Nanobiotechnol* 7(1), 17-33.
- Wang, H., Xing, W., Chen, J., Liu, G., & Xu, G. (2017). Green synthesis of dendritic silver nanostructure and its application in conductive ink. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 6152-6158.
- Wang, Y., Lee, K., & Irudayaraj, J. (2010). Silver Nanosphere SERS Probes for Sensitive Identification of Pathogens. *J. Phys. Chem. C*, 114, 39, 16122-16128.

- Wilson, G. S., & Gifford, R. (2005). Review Biosensors for real-time in vivo measurements. *Biosensors and Bioelectronics* 20, 2388–2403.
- Yang, D.-P., Lui, X., Teng, C. P., Owh, C., Win, Y. K., Lin, M., . . . Ye, E. (2017). Unexpected formation of gold nanoflowers by a green synthesis method as agents for a safe and effective photothermal therapy. *J. Nanoescale*, 15753-15759.
- Ying Loo, Y., Chieng, B. W., Nishibuchi, M., & Radu, S. (2012). Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia Sinensis*. *International Journal of Nanomedicine*, 4263-4267.
- Zaveri, N. T. (2006). Green tea and its polyphenolic catechins: Medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life Sciences* 78(18), 2073-2080.
- Zhang, G., Sun, S., Norouzi, B., Ruying, L., Cai, M., & Sun, X. (2011). Morphology-Controlled Green Synthesis of Single Crystalline Silver Dendrites, Dendritic Flowers, and Rods, and Their Growth Mechanism. *Cristal growth Design*, 2493-2499.
- Zhong Zhang, J. (2009). Spectroscopic Techniques for Studying Optical Properties of Nanomaterials. En *Optical Properties and Spectroscopy of Nanomaterials* (págs. 11-26). World Scientific.