



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS

SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA PARA EL DESARROLLO DE UN NANOSENSOR DE FENOL Y LA DETECCIÓN DE Cu^{2+}

Por: Macarena Saavedra Reveco

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas de la
Universidad de Concepción para optar al grado académico de Magíster en
Ciencias con Mención en Física

Agosto 2024
Concepción, Chile

Profesora Guía: Dra. Noelia Benito
Profesora Co-Guía: Dra. Mariela Yevenes

© 2024, Macarena Saavedra

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento

AGRADECIMIENTOS

El primer lugar se lo merecen mis padres, por su apoyo incondicional. Sin ellos no habría estado en este punto. Obviamente quiero mencionar a Luna, mi gata, que me ha acompañado durante toda la carrera y que se acostaba en mis hojas cuando estudiaba. También me ha acompañado Amanda, mi perra, pero ella desde la mitad de la carrera.

Quiero agradecer a la Dra. Noelia Benito, que me acogió en un momento de desesperación. Por su apoyo y guía a lo largo de este trabajo. Gracias por su tiempo y orientación.

A "la manada", que fueron mi primer grupo de amigos en la carrera, con quienes sufrimos y reímos juntos los primeros años. A los amigos que me hice luego (con la pandemia): Pablo Pérez, Sebastián González, Diego Ulloa y Matias Villouta, gracias por acompañarme en el proceso y por esos almuerzos en los patos. Una mención especial a Pablo, por estar siempre ahí. También quiero agradecer a Leonardo Sanhueza, que varias veces me tiró para arriba durante la carrera.

A Hernan Escobar, que me ayudó pacientemente a tomar las medidas de fenol.

A la Dra. Mariela Yevenes, por su disposición durante la investigación; quien además me apoyó en el financiamiento del magíster con el proyecto FONDEF ID23I10126.

A mi profesor del colegio, Marcelo Toledo, que me enseñó tan bien física, que me influenció a estudiarla.

Resumen

La síntesis verde de nanomateriales ofrece una alternativa sustentable y ecológica en comparación a los métodos convencionales de síntesis, utilizando recursos naturales como extractos de planta y microorganismos como agentes estabilizadores y reductores. Este estudio se enfoca en la síntesis verde de nanopartículas (AgNPs) a partir de extracto de hojas de *Peumus Boldus* (boldo), para su aplicación en el monitoreo de calidad del agua mediante la detección de fenol y de iones de cobre. Las AgNPs fueron sintetizadas variando la concentración de nitrato de plata (AgNO_3) y el volumen del extracto de boldo, encontrando que las concentraciones óptimas fueron AgNO_3 al 5mM y un 10% de extracto. Se encontró que las AgNPs poseen una forma esférica y un diámetro promedio de 22.8 ± 4.2 nm. Para la detección de fenol, se fabricó un sensor electroquímico modificando un electrodo de óxido de estaño dopado con fluor (FTO) con las nanopartículas sintetizadas, el cual logró detectar en un rango de 5 - 100 μM utilizando la técnica de voltamperometría de pulso diferencial (DPV). Para la detección de cobre, se empleó espectroscopia UV-Visible con las AgNPs sin modificar, observándose que a medida que se aumenta la concentración de sulfato de cobre (CuSO_4), el *peak* de la resonancia de plasmones superficiales (RSP) de las AgNPs disminuye y una nueva banda de absorción aparece, atribuible a la presencia de iones de cobre, la cual se hace más intensa junto con la concentración de CuSO_4 , detectando en un rango de 1 - 6 mM. Este estudio demuestra el potencial de las AgNPs de síntesis verde para la detección eficaz y sensible de contaminantes en el agua.

Keywords – Síntesis verde, nanopartículas de plata, fenol, iones de cobre, sensor.

Abstract

Green synthesis of nanomaterials offers a sustainable and environmentally friendly alternative to conventional synthesis methods, using natural resources such as plant extracts and microorganisms as stabilising and reducing agents. This study focuses on the green synthesis of nanoparticles (AgNPs) from the leaf extract of *Peumus Boldus* for application in water quality monitoring by detecting phenol and copper ions. AgNPs were synthesised by varying the concentration of silver nitrate (AgNO_3) and the volume of boldo extract, finding that the optimum concentrations were AgNO_3 at 5mM and 10 % extract. AgNPs were found to have a spherical shape and an average diameter of 22.8 ± 4.2 nm. For phenol detection, an electrochemical sensor was fabricated by modifying a fluorine-doped tin oxide (FTO) electrode with the synthesised nanoparticles, which was able to detect in the range of 5 - 100 μM using the differential pulse voltammetry (DPV) technique. For the detection of copper, UV-Visible spectroscopy was employed with the unmodified AgNPs, observing that as the concentration of copper sulphate (CuSO_4) is increased, the surface plasmon resonance (SPR) of the AgNPs decreases and a new absorption band appears, attributable to the presence of copper ions, which becomes more intense along with the concentration of CuSO_4 , detecting in a range of 1 - 6 mM. This study demonstrates the potential of green-synthesised AgNPs for the efficient and sensitive detection of contaminants in water.

Keywords – Silver nanoparticles, green synthesis, phenol, copper ions, sensor.

Índice general

AGRADECIMIENTOS	I
Resumen	II
Abstract	III
1. Introducción	1
2. Marco Teórico	5
2.1. Nanopartículas	5
2.1.1. Nanopartículas metálicas en el desarrollo de sensores	6
2.2. Síntesis de nanopartículas	6
2.2.1. Síntesis verde de nanopartículas	7
2.3. Resonancia de plasmones superficiales	8
2.4. Técnicas de caracterización	10
2.4.1. Espectroscopía ultravioleta-visible	10
2.4.2. Microscopía electrónica de transmisión	11
2.4.3. Voltamperometría de pulso diferencial	11
2.5. Fenol	12
3. Metodología	13
3.1. Materiales	13
3.2. Preparación del extracto	13
3.3. Síntesis verde de nanopartículas de plata	14
3.3.1. Elección de planta	14

Índice general	v
3.3.2. Elección de concentraciones óptimas	15
3.3.2.1. Lavado de nanopartículas	15
3.4. Instrumentación	16
3.5. Fabricación del sensor	16
3.5.1. Detección de fenol	17
3.6. Detección de cobre	17
4. Resultados y discusión	18
4.1. Síntesis de AgNPs	18
4.2. Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	22
4.3. Detección de fenol	23
4.4. Detección de cobre	27
5. Conclusión	31
Referencias	33

Índice de cuadros

3.3.1. Distintos casos de síntesis de AgNPs, variando concentración de sal y volumen de extracto, respectivamente.	15
4.1.1. Pesos en mg de los distintos casos de AgNPs sintetizadas.	21
4.3.1. Comparación del rango de concentración de fenol detectado con otros trabajos	26

Índice de figuras

2.2.1.Métodos de síntesis de nanoparticulas. Imagen tomada de [31]. . .	7
2.2.2.Síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs)	8
2.3.1.A la izquierda se pueden ver los electrones de conducción dentro de la nanopartícula y el campo eléctrico generado por la interacción con luz. A la derecha se puede ver la formación del dipolo, el cual genera un campo eléctrico opuesto al de la luz. Figura tomada de [29].	9
2.3.2.Banda de absorción usual de las nanopartículas de plata y región del espectro UV-Visible que absorbe.	10
3.2.1.Extractor Soxhlet	14
3.3.1.Proceso de lavado. Las AgNPs en solución fueron puestas en tubos Eppendorf, se centrifugaron y luego se quita el sobrenadante, reemplazandolo por agua desionizada. El proceso se repite 3 veces.	16
3.5.1.Proceso de fabricación del sensor	16
3.5.2.Sensor en una celda electroquímica	17
4.1.1.Espectros de absorción obtenidos con espectroscopía UV-Visible de a) extracto de romero y b) extracto de boldo.	18
4.1.2.Comparación entre espectros de absorción de AgNPs-B y AgNPs-R	19
4.1.3.Espectros de absorción obtenidos con espectroscopía UV-Visible de los distintos casos de AgNPs sintetizadas.	20
4.2.1.Imágenes TEM de AgNPs sintetizadas con AgNO_3 al 5mM y 10 % de volumen de extracto de boldo.	22
4.2.2.Histograma de la distribución de diámetros de 152 AgNPs sintetizadas, elaborado midiendo distintas imágenes TEM con el programa ImageJ; con ajuste gaussiano con media y desviación típica igual a 22.79 y 4.24, respectivamente.	23

4.3.1.Voltamperograma del sensor FTO/AgNPs usando DPV antes y después de la adición de 100 μ M de fenol	24
4.3.2.Voltamperograma del sensor FTO/AgNPs usando DPV para distintas concentraciones de fenol	25
4.3.3.Ajuste lineal de voltamperograma de distintas concentraciones de fenol. Los datos representan la diferencia de corriente obtenida entre el caso base (agua desionizada) y cada concentración de fenol a 0.4 V. El ajuste está descrito por la ecuación $y = 1,09 \times 10^{-3}x + 6,45 \times 10^{-2}$, con coeficiente R^2 igual a 0.85	27
4.4.1.Espectro de absorción obtenido con espectroscopía UV-Visible de las AgNPs antes y después de la adición de Cu^{2+}	28
4.4.2.Posible mecanismo de detección de iones de cobre. Los iones de cobre se unen a la superficie de la AgNPs y remueven los agentes estabilizadores provenientes del extracto de planta, provocando una desestabilización y por lo tanto una agrupación.	29
4.4.3.Espectro de absorción obtenido con espectroscopía UV-Visible de las AgNPs con distintas concentraciones de Cu^{2+}	29
4.4.4.Ajuste lineal de espectro UV-Visible de distintas concentraciones de cobre. Los datos representan la relación entre la intensidad de los <i>peaks</i> de absorbancia a 451 y 809 nm (A_{809}/A_{451}). El ajuste está descrito por la ecuación $y = 2,81x - 2,05$, con coeficiente R^2 igual a 0.887.	30

Capítulo 1

Introducción

Tener un control de la calidad del agua es de vital importancia debido a su directo impacto en la salud humana y el medio ambiente. Los contaminantes presentes en el agua, pueden causar problemas de salud en humanos a corto y largo plazo, así como ser una amenaza para los ecosistemas y la biodiversidad. Estos pueden ser metales pesados, bacterias, productos químicos industriales, pesticidas, entre otros [1]. Es crucial implementar medidas de monitoreo para asegurar una calidad óptima del agua y evaluar los contaminantes presentes.

Los fenoles son contaminantes presentes en el agua y pueden proceder de la naturaleza o de procesos industriales. Estos compuestos orgánicos son generados en la producción de plásticos, productos farmacéuticos, antioxidantes, papel y en la industria petroquímica [2]. Los fenoles son tóxicos para el ser humano y pueden entrar al cuerpo por inhalación, causando lesiones en las vías respiratorias y pulmones, por contacto con la piel, causando quemaduras de la piel y al ser ingeridos, provocando quemaduras internas [3]. Se ha comprobado que la intoxicación por fenol produce coma, convulsiones, hemólisis, edema cerebral y pulmonar e incluso, una exposición prolongada, paraliza el sistema nervioso central, pudiendo provocar la muerte [4]. Según la EPA, la concentración de fenol en agua no debería exceder los 3.4mg/l para proteger la salud humana [5] y se han reportado casos de efectos severos y muerte por intoxicación de fenol en un rango de 125 a 606 mg/kg [6]. El fenol, en agua clorada para consumo doméstico, contribuye a la formación de clorofenoles, lo cual transmite toxicidad a quien la ingiere [4] además de ser cancerígeno [7].

En este mismo orden, metales como el cobre, a pesar de ser esencial para el cuerpo humano en pequeñas cantidades para diversas funciones biológicas, un alto nivel de este podría causar serios problemas para la salud. Los niveles normales de cobre en sangre debería ser de 0.62 - 1.4 mg/l [8] y según la Organización Mundial de la Salud, el agua potable no debería tener más de 2mg/L de cobre [9]. La exposición al cobre proviene principalmente de la ingesta de comida y agua potable [10]. El cobre puede filtrarse al agua potable desde tuberías y accesorios de cobre, especialmente cuando el agua ha estado en contacto con estos materiales durante largos periodos de tiempo. Se ha encontrado que a concentraciones iguales o mayores a 3mg/l de cobre en agua potable produce síntomas gastrointestinales agudos, como náuseas, dolor abdominal y vómitos [11]. Además, la intoxicación por cobre ha mostrado desarrollo de cirrosis hepática, hemólisis, daño renal, daño cerebral, entre otros [12].

Existen técnicas para la detección de metales pesados, como la espectroscopía de absorción atómica de llama convencional (FAAS), espectroscopía de absorción atómica de horno de grafito (GF-AAS), espectroscopía de emisión óptica por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES), espectroscopia de masas por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS), entre otros [13, 14]. Sin embargo, estos métodos pueden ser costosos, difíciles de usar y requerir mucho tiempo [13]. Así mismo, en la detección de fenol usualmente también se utilizan técnicas complejas, largas y costosas, como: análisis por inyección en flujo (FIA) [15], cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS), cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) [16].

Para abordar estas preocupaciones y garantizar un monitoreo eficaz de la calidad del agua, se hace indispensable contar con herramientas tecnológicas de detección. En este contexto, la utilización de sensores se torna fundamental. Los sensores, son dispositivos diseñados específicamente para detectar y medir la presencia de sustancias químicas y biológicas en un medio. Estos sensores ofrecen una solución efectiva y precisa para el monitoreo de la calidad del agua, permitiendo una detección eficaz de contaminantes. Ciertos sensores, como los ópticos y electroquímicos, han demostrado ser altamente sensibles y selectivos [13] en la detección de analitos, además de ser métodos simples y rápidos.

Diversos estudios han explorado la aplicación de sensores colorimétricos (ópticos) para la detección de Fe^{2+} [17], de peróxido de hidrógeno[18] (H_2O_2) y de metales

pesados [19–21] en agua, tales como Cd^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} , entre otros. Asimismo, se ha estudiado el desarrollo de sensores electroquímicos para la detección de Bisfenol A (BPA) [22], fármacos [23, 24] y también metales pesados [24]. Muchos de estos estudios utilizaron nanopartículas de plata (AgNPs) [18, 21] y de oro (AuNPs) [17] como elemento reconocedor del analito.

Las nanopartículas metálicas han ganado gran atención debido a sus aplicaciones en diferentes áreas como la medicina, catálisis, electrónica, tecnologías de detección, entre otros [25, 26]. En particular, la síntesis de nanopartículas mediante métodos ecológicos, es decir, la síntesis verde, ha atraído un interés considerable en los últimos años, ya que ofrece una alternativa sostenible, no tóxica y sencilla en comparación a los métodos convencionales. Este método utiliza recursos naturales, como extractos de plantas, como agentes reductores y estabilizadores en la síntesis. Este enfoque no sólo reduce el impacto ambiental, sino que también los nanomateriales sintetizados a partir de este método exhiben aplicaciones potenciales en actividades como la liberación de fármacos, antimicrobianas, sensores [27], entre otros.

Las nanopartículas de plata tienen propiedades ópticas y eléctricas únicas [28], tales como la resonancia de plasmones superficiales [29] y su alta conductividad eléctrica [30], respectivamente, que las convierten en candidatas ideales para el desarrollo de sensores. Es así como en este trabajo se detalla el proceso de la síntesis de nanopartículas de plata a partir de extracto de hojas de boldo, la optimización de los parámetros de síntesis, la caracterización de las nanopartículas sintetizadas mediante espectroscopia UV-Visible y microscopía electrónica de transmisión (TEM), para luego analizar su rendimiento en la detección de fenol y de iones de cobre en agua, utilizando un enfoque electroquímico y óptico, respectivamente. Para la detección de fenol se usa la técnica de voltamperometría de pulso diferencial (DPV), modificando un electrodo de óxido de estaño dopado con fluor (FTO) con las nanopartículas sintetizadas; y para la detección de cobre, se utiliza espectroscopia UV-Visible con las nanopartículas de plata sin modificar.

Los objetivos principales de esta tesis son:

- Sintetizar nanopartículas de plata ecológicamente.
- Caracterizar las nanopartículas de plata sintetizadas.
- Estudiar la detección fenol e iones de cobre en agua desionizada utilizando

las nanopartículas de plata.

Capítulo 2

Marco Teórico

2.1. Nanopartículas

Una nanopartícula es una partícula que posee sus tres dimensiones menores que 100nm. A esta escala, las nanopartículas poseen propiedades únicas y pueden comportarse de manera diferente a los materiales en forma macroscópica, pudiendo adquirir o potenciar sus propiedades mecánicas, eléctricas, magnéticas, ópticas, catalíticas y antibacterianas [31].

Al reducir el tamaño de un material a nanopartículas, se obtiene una mayor relación superficie-volumen, lo que significa, a un mismo volumen, al trabajar con nanopartículas, se tiene una superficie total considerablemente mayor que el mismo material a macroescala al mismo volumen. Los tipos más comunes de nanopartículas son las metálicas, las basadas en carbono, las semiconductoras, las cerámicas y las poliméricas [32].

Las aplicaciones de las nanopartículas son diversas y abarcan campos como la medicina (por ejemplo, en la liberación de medicamentos) [33], la electrónica (por ejemplo, mejorando la capacidad y velocidad de dispositivos de almacenamiento de datos) [34], la energía (como en baterías y pilas de combustible) [34], y el medio ambiente (en la remediación de contaminantes y sensores para escenarios medioambientales) [35].

2.1.1. Nanopartículas metálicas en el desarrollo de sensores

Las nanopartículas metálicas poseen propiedades ópticas excepcionales que las hacen altamente útiles en el desarrollo de sensores, destacándose la resonancia de plasmones superficiales (SPR) [29]. Esta propiedad es particularmente valiosa porque permite analizar espectros de absorbancia [29], lo que posibilita la detección de sustancias al interactuar con las nanopartículas. Cuando una sustancia se adhiere o interactúa con la superficie de las nanopartículas, se producen cambios en el espectro de absorción [17]-[21], que pueden manifestarse como un desplazamiento en la longitud de onda de absorción máxima o como una variación en la intensidad del *peak* de absorbancia. Estas modificaciones en el espectro ofrecen información sobre la presencia y la concentración de sustancias, permitiendo su detección.

En particular, las nanopartículas de plata destacan por sus sobresalientes propiedades eléctricas, como su alta conductividad [30], y sus notables actividades catalíticas [36], lo que las convierte en componentes ideales para el desarrollo de sensores electroquímicos. La alta conductividad eléctrica de las nanopartículas de plata permite mejorar la eficiencia de los electrodos [37], potenciando la transferencia de electrones y, en consecuencia, aumentando la sensibilidad y precisión en la detección de sustancias. Además, su actividad catalítica facilita y acelera las reacciones químicas entre el analito y el electrodo [37], permitiendo una detección más rápida y eficiente incluso en concentraciones muy bajas.

2.2. Síntesis de nanopartículas

La síntesis de nanopartículas se refiere a la creación de nanopartículas a través de diversos métodos. Existen dos enfoques para la síntesis: el enfoque "top-down", que implica la descomposición del material para generar las nanopartículas y el enfoque "bottom-up" que implica el ensamblamiento de átomos y moléculas individuales para formar las nanopartículas. Junto a esto, existen procesos físicos, químicos y biológicos [31]. En la Figura 2.2.1 se pueden apreciar algunos de los métodos existentes según su enfoque y proceso.

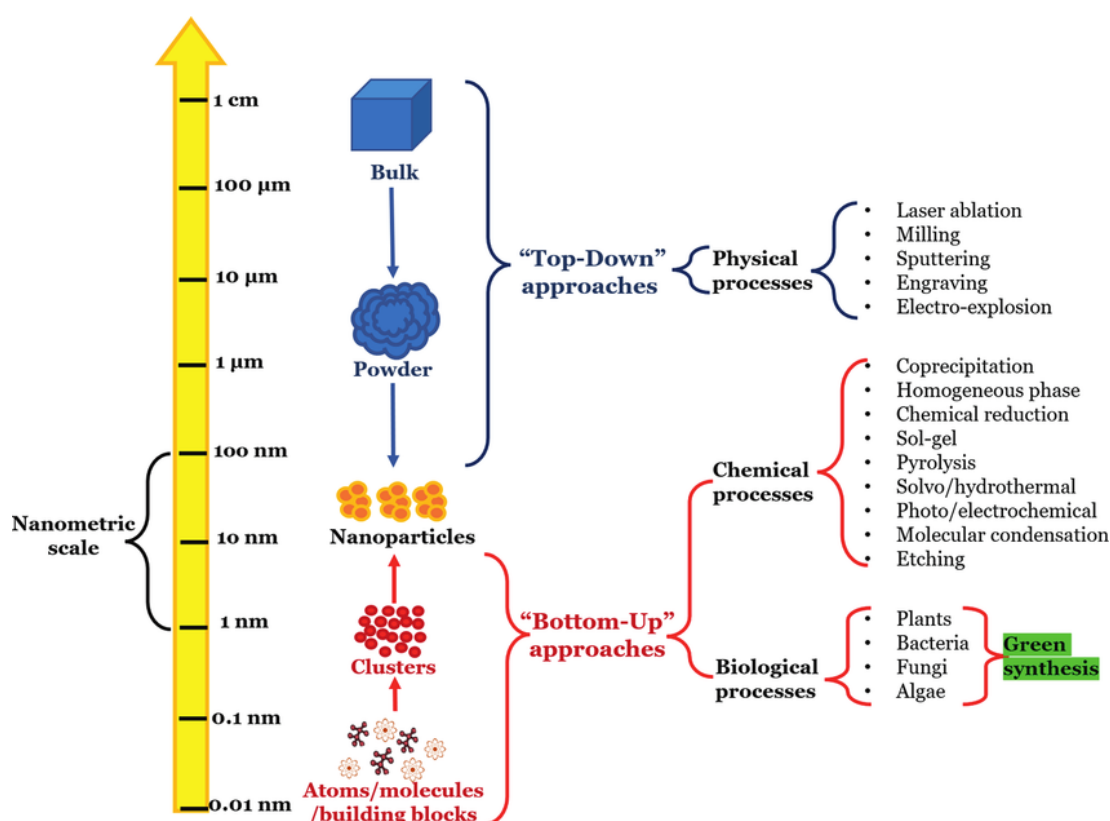


Figura 2.2.1: Métodos de síntesis de nanopartículas. Imagen tomada de [31].

2.2.1. Síntesis verde de nanopartículas

La síntesis verde de nanopartículas es un método biológico y amigable con el medio ambiente para producir nanopartículas utilizando fuentes naturales como plantas (hojas, flores, frutas) y microorganismos (bacterias, hongos, algas) [38], que no libera sustancias tóxicas, evitando así la contaminación producida por otros métodos tradicionales. La síntesis verde está dentro del método "bottom-up".

En particular, las plantas contienen varios compuestos (terpenos, flavonoides, polifenoles, alcaloides, proteínas, etc.) que reducen los iones metálicos (como plata, oro, hierro, entre otros) para formar nanopartículas metálicas y luego estabilizarlas.

La síntesis verde consta de las siguientes fases [31]:

- Fase inicial: Se tiene un medio de reacción, que es el extracto acuoso de la especie vegetal o el medio de cultivo para el crecimiento de microorganismos, además de la sal precursora, que es la fuente de iones metálicos.
- Fase de activación: Los compuestos activos del recurso biológico producen

la reducción química de los iones metálicos a átomos.

- Fase de crecimiento: Los átomos metálicos adyacentes comienzan a fusionarse en partículas más grandes, formando agregados.
- Fase de terminación: Los compuestos que participan en la reacción ayudan a estabilizar las nanopartículas y se determina la forma final.

Este proceso se ilustra en la Figura 2.2.2.

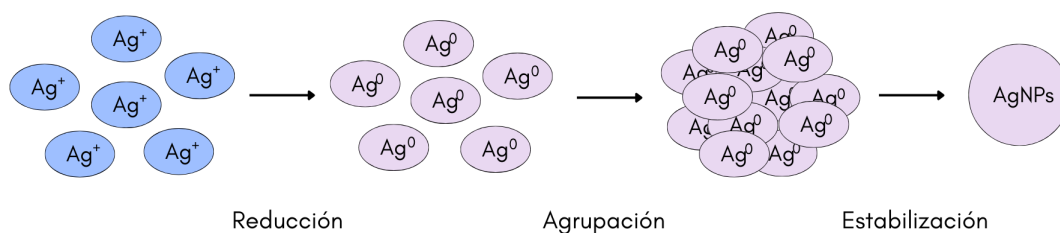


Figura 2.2.2: Síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs)

2.3. Resonancia de plasmones superficiales

La resonancia de plasmón superficial (RPS) es la propiedad óptica más sobresaliente de las nanoestructuras metálicas. Corresponde a la interacción entre la materia y el campo electromagnético de la luz. Así, el análisis exacto de los plasmones superficiales implica resolver la ecuaciones de Maxwell con las condiciones de borde apropiadas [29]. Sin embargo, una imagen clásica simplificada puede resultar más útil para comprender qué son los plasmones superficiales.

Una nanopartícula metálica puede ser descrita por una red de núcleos atómicos, con electrones de conducción moviéndose casi libremente dentro de la nanopartícula (Figura 2.3.1). Cuando la nanopartícula interactúa con la luz, el campo electromagnético ejerce una fuerza en estos electrones, desplazándolos hacia la superficie de la nanopartícula. Como los electrones están confinados en la nanopartícula, se acumulará carga negativa en un lado de la superficie y carga positiva en el lado opuesto, creando un dipolo eléctrico (Figura 2.3.1). Este dipolo genera un campo eléctrico dentro de la nanopartícula, opuesto al de la luz, que hará que los electrones vuelvan a su posición de equilibrio. Mientras mayor sea el desplazamiento, mayor será el dipolo eléctrico y en consecuencia, la fuerza de restauración. Si los electrones son desplazados desde la posición de equilibrio al

interactuar con una fuerza externa y luego esta se quita, ellos comienzan a oscilar; así, se le llama plasmones superficiales a las oscilaciones colectivas de los electrones de conducción. Estos van a oscilar con cierta frecuencia que es llamada frecuencia de resonancia; que en el caso de los plasmones superficiales se le llama frecuencia plasmónica, la cual depende del tamaño, la forma y el material de la nanopartícula. Sin embargo, las oscilaciones se amortiguan ligeramente debido a la interacción con los núcleos atómicos y la superficie de la nanopartícula y eventualmente dejan de oscilar.

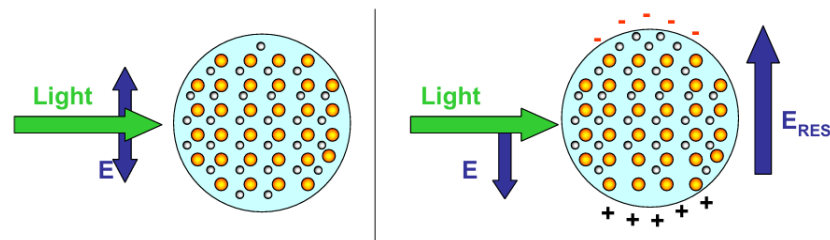


Figura 2.3.1: A la izquierda se pueden ver los electrones de conducción dentro de la nanopartícula y el campo eléctrico generado por la interacción con luz. A la derecha se puede ver la formación del dipolo, el cual genera un campo eléctrico opuesto al de la luz. Figura tomada de [29].

Al interactuar la nanopartícula con la luz, si la frecuencia de esta última coincide con la frecuencia plasmónica, los electrones oscilarán con mayor facilidad y amplitud. No obstante, no podemos observar el movimiento de electrones para determinar cual es su amplitud de oscilación, pero podemos hacerlo indirectamente. La oscilación de electrones implica un incremento en la energía cinética y electrostática asociado con el campo eléctrico del dipolo; como la energía debe ser conservada este aumento debe provenir de la luz que ilumina la nanopartícula, en consecuencia, la luz se debilita parcialmente al excitar a los plasmones dentro de la nanopartícula [29]. Entonces, mientras mayores sean las oscilaciones de electrones, mayor será la extinción de la luz, por lo que, podemos detectar la excitación de los plasmones midiendo el espectro de absorción óptica (cuanta luz absorbe la nanopartícula a diferentes frecuencias). La frecuencia de resonancia para estas oscilaciones en nanopartículas metálicas corresponde típicamente a las de la región UV-Visible [29], por que los plasmones generan bandas de absorción en esta parte del espectro electromagnético (Figura 2.3.2).

Una propiedad importante que se desprende de la RPS en las nanopartículas

metálicas es el efecto plasmónico, el cual explica el cambio de color en una solución que contiene nanopartículas metálicas sintetizadas. Como la RPS produce una banda de absorción, en el caso particular de las nanopartículas de plata, esta banda se produce usualmente alrededor de los 400 - 450 nm [39]. Es decir, en el espectro UV-Visible, se absorbe la zona cercana al UV y por lo tanto, la solución reflejará un tono rojizo (Figura 2.3.2).

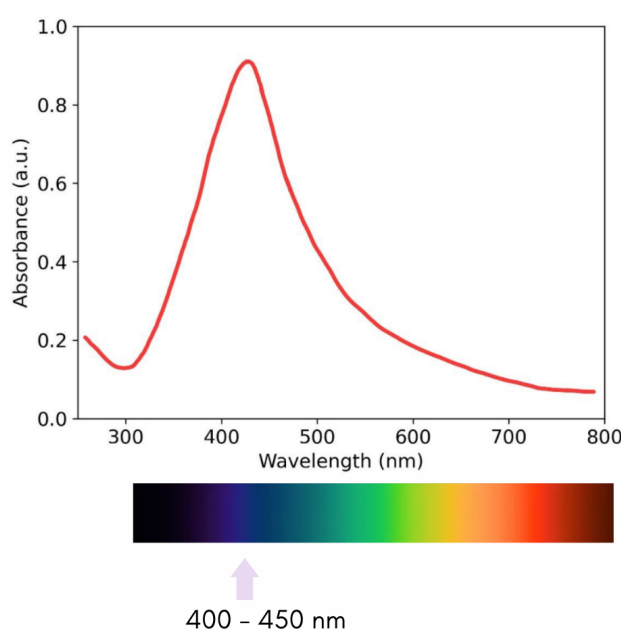


Figura 2.3.2: Banda de absorción usual de las nanopartículas de plata y región del espectro UV-Visible que absorbe.

2.4. Técnicas de caracterización

La caracterización en ciencia de materiales es el estudio de las propiedades y estructura de los materiales a través de distintas técnicas, ya sea microscopía o espectroscopía. Se puede obtener información sobre las propiedades químicas, físicas, mecánicas y eléctricas [40]. Algunas técnicas de caracterización son:

2.4.1. Espectroscopía ultravioleta-visible

La espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Visible) es una técnica analítica que mide la cantidad de longitudes de onda discretas de luz ultravioleta o visible que absorbe o transmite una muestra en comparación con una muestra de referencia o en blanco. El principio físico de esta técnica es que la luz tiene una determinada

cantidad de energía que es inversamente proporcional a su longitud de onda. Se necesita una cantidad específica de energía para que los electrones de una sustancia pasen a un estado de mayor energía que podemos detectar como absorción [41]. Por lo tanto, la luz puede describirse por su longitud de onda, lo que es útil en espectroscopia UV-Vis para analizar diferentes sustancias localizando las longitudes de onda específicas correspondientes a la absorbancia máxima.

2.4.2. Microscopía electrónica de transmisión

La microscopía electrónica de transmisión (TEM) es una técnica de imagen, en la que se emiten electrones que viajan a través del microscopio y mediante lentes electromagnéticos estos se enfocan en un haz muy fino, el cual se dirige a la muestra de interés y la atraviesa [42], algunos electrones son absorbidos, mientras que otros son transmitidos [43]. Son estos últimos los que llegan a un dispositivo de captura, formando una imagen altamente detallada, de la cual se puede observar directamente el tamaño y la forma de la muestra [44]. Este método proporciona imágenes de alta resolución que superan significativamente a las obtenidas con los microscopios ópticos tradicionales debido a la corta longitud de onda de los electrones [45].

2.4.3. Voltamperometría de pulso diferencial

La voltamperometría de pulso diferencial (DPV) es una técnica electroquímica que se basa en la medición de la corriente eléctrica que fluye en una celda electroquímica en respuesta a la aplicación de un potencial en forma de pulsos sobre una solución que contiene el analito de interés. Este método puede reducir la influencia de las interferencias de fondo y por lo tanto, consigue una mayor sensibilidad de detección y un límite de detección más bajo [46].

El funcionamiento de la DPV se basa en el uso de tres electrodos: un electrodo de trabajo, un electrodo de referencia y un contraelectrodo. Al medir, se aplica una serie de pulsos de potencial al electrodo de trabajo en un rango específico. Los pulsos tienen una amplitud específica y una duración definida.

2.5. Fenol

Los fenoles son compuestos orgánicos que tienen un grupo hidroxilo (-OH) unido a un anillo aromático. Su fórmula molecular es C_6H_5OH y su peso molecular es 94.11 g/mol. El nombre de la I.U.P.A.C. del fenol es 1-hidroxibenceno y también se le conoce como ácido carbólico, ácido fénico, monohidróxibenceno, oxibenceno, hidroxibenceno o hidróxido de benceno. Se encuentra de forma natural (en la madera de pino y en el alquitrán de hulla), pero predomina su manufacturación sintética [4]. En su estado puro es un sólido cristalino incoloro, con un olor fuerte y característico a alquitrán [3]. Los fenoles son similares a los alcoholes, pero forman enlaces de hidrógeno más fuertes. Por tanto, son más solubles en agua que los alcoholes y tienen puntos de ebullición más altos [47].

Los fenoles son generados en la producción de plásticos, productos farmacéuticos, antioxidantes, papel y en la industria petroquímica [2]. Son tóxicos para el ser humano y pueden entrar al cuerpo por inhalación, por contacto con la piel y al ser ingeridos [3]. Los fenoles se encuentran presentes en las aguas superficiales, como resultado de la contaminación ambiental y de los procesos naturales de descomposición de la materia orgánica [48], también pueden estar presentes en las aguas residuales domésticas e industriales, en las aguas naturales y en los suministros de agua potable.

Los fenoles naturales generalmente tienen buena degradación, ya que la acción bacteriana provoca la descomposición de este en dióxido de carbono. Sin embargo, los fenoles manufacturados se degradan con menos facilidad ya que muchos de ellos son tóxicos para los microorganismos que podrían degradarlo, permaneciendo por esta razón en el medio ambiente [4].

Capítulo 3

Metodología

3.1. Materiales

Para la síntesis de nanopartículas de plata, se utilizaron hojas de boldo (*Peumus boldus*) y romero (*Salvia rosmarinus*) y nitrato de plata (AgNO_3). Para los estudios de detección, se usó una solución al 1mM de fenol y sulfato de cobre (CuSO_4). También se necesitó acetilacetona ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) y Tritón X-100 para la preparación de la pasta que permite la adhesión de las AgNPs, la cual se detallará en la sección 3.5. Todas las soluciones se hicieron con agua desionizada.



(a) Boldo



(b) Romero

3.2. Preparación del extracto

Para la preparación de los extractos, las hojas se lavaron con agua desionizada, se secaron en el horno por 40 minutos y luego se cortaron en trozos pequeños.



Figura 3.2.1: Extractor Soxhlet

Usando un extractor Soxhlet (Figura 3.2.1) con 200ml de agua desionizada y 1.5 gramos tanto de hojas de boldo como de romero por aproximadamente 4 horas, se obtuvieron los extractos.

3.3. Síntesis verde de nanopartículas de plata

Para la síntesis de nanopartículas de plata, se preparó una solución de 20ml con un volumen del 10 % de extracto de boldo y AgNO_3 al 5mM en disolución acuosa. Esta solución se dejó agitar durante 24 horas en un agitador magnético. El mismo procedimiento se repitió para el extracto de romero. Luego de esto, se aplicó espectroscopía UV-Visible a las nanopartículas diluidas para verificar su formación.

3.3.1. Elección de planta

Tras verificar la formación de nanopartículas mediante espectroscopía UV-Visible en ambos casos, se observa el espectro de absorción para elegir qué extracto obtiene el mejor resultado para el estudio.

3.3.2. Elección de concentraciones óptimas

Posterior a la primera síntesis y a la elección de la planta, se realizó un estudio de rendimiento con el fin de encontrar las cantidades óptimas de nitrato de plata y extracto. Para esto se hizo una solución de 30ml, variando volumen de extracto (%) y concentración de sal (mM) y esta vez se dejó agitar por 22 horas. Una vez formadas las nanopartículas, se centrifugan y se lavan 3 veces (ver Subsubsección 3.3.2.1). Se destinaron 18 ml de solución para pesar las nanopartículas y 12 ml para medir su espectro UV-Visible. Se realizaron los siguientes casos (Tabla 3.3.1):

Caso	Condiciones
1	0.5mM+5 %
2	0.5mM+10 %
3	0.5mM+15 %
4	0.5mM+20 %
5	1mM+5 %
6	1mM+10 %
7	1mM+15 %
8	1mM+20 %
9	5mM+5 %
10	5mM+10 %
11	5mM+15 %
12	5mM+20 %
13	10mM+5 %
14	10mM+10 %
15	10mM+15 %

Cuadro 3.3.1: Distintos casos de síntesis de AgNPs, variando concentración de sal y volumen de extracto, respectivamente.

Analizando espectroscopía UV-Vis y pesando los 15 casos, se escogen las condiciones óptimas de síntesis de AgNPs.

3.3.2.1. Lavado de nanopartículas

Para el lavado de AgNPs, es necesario vertir la solución que las contiene, en tubos Eppendorf. Los tubos se ponen en una centrífuga a 8.000 rpm durante 15 minutos; luego de esto, se forma claramente el sobrenadante y el precipitado (correspondiente a las AgNPs). Se quita el sobrenadante con una micropipeta y se reemplaza con agua desionizada, para volver a poner los tubos en la centrífuga y repetir el proceso 2 veces más. Así, las nanopartículas fueron finalmente lavadas.

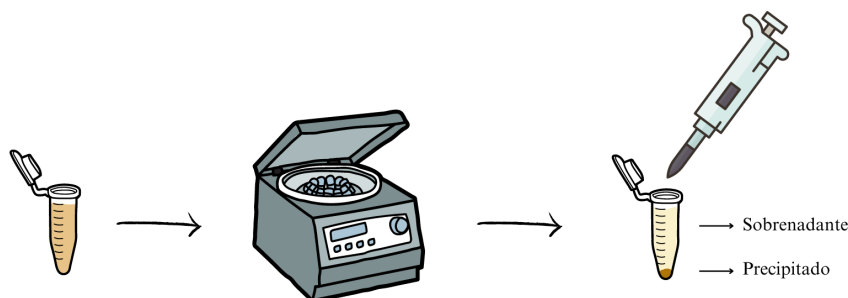


Figura 3.3.1: Proceso de lavado. Las AgNPs en solución fueron puestas en tubos Eppendorf, se centrifugaron y luego se quita el sobrenadante, reemplazándolo por agua desionizada. El proceso se repite 3 veces.

3.4. Instrumentación

Para medir espectroscopía UV-Visible se usó un V-760 UV-Vis Spectrophotometer (Jasco). Las imágenes TEM fueron obtenidas usando un microscopio JEOL JEM 1200EX II. Las mediciones electroquímicas se hicieron utilizando un SP-50e Potentiostat (Biologic).

3.5. Fabricación del sensor

Para la fabricación del nanosensor, primero, se preparó una pasta, que permite que las AgNPs se adhieran más establemente, utilizando 1g de AgNPs, 30 μ l de acetilacetona, 1.6 ml de agua y 15 μ l de tritón x-100 y se dejó agitar en un agitador magnético durante 24 horas. Después de esto, se agregaron 20 μ l de esta pasta en el centro de un sustrato de vidrio con una capa conductora de FTO. Posteriormente, se pegó un adhesivo aislante a la placa con un agujero de 11.5 mm de diámetro en el centro, con el fin de focalizar las AgNPs en esa región. Este proceso se ilustra en la Figura 3.5.1

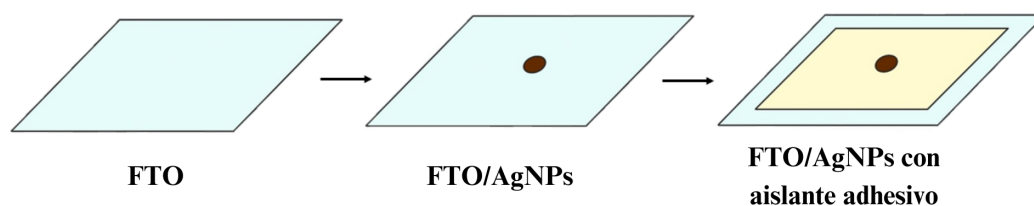


Figura 3.5.1: Proceso de fabricación del sensor

Finalmente, se pone la placa en una celda electroquímica (Figura 3.5.2), como electrodo de trabajo, y el sensor ha sido fabricado.

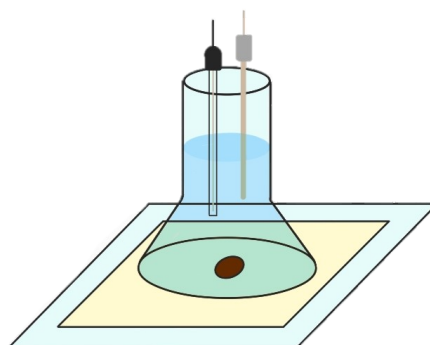


Figura 3.5.2: Sensor en una celda electroquímica

3.5.1. Detección de fenol

Una vez montado el nanosensor, la celda electroquímica se conecta al potenciostato, usando un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl) y un contraelectrodo de platino (Pt). Se usa la técnica de voltamperometría de pulso diferencial (DPV) para, en primer lugar, estudiar si el sensor detecta fenol y en segundo lugar, para medir distintas concentraciones de este. Se usaron los siguientes parámetros: rango de potencial de 0.1 a 0.9V, alto y ancho de pulso de 2.5mV y 100ms, respectivamente, alto de step de 5mV y tiempo de step de 500ms. Se usó 30ml de solución de fenol, que fue diluida gradualmente con agua desionizada para estudiar las concentraciones deseadas.

3.6. Detección de cobre

Se realizaron 6 soluciones de sulfato de cobre, con distintas concentraciones, y AgNPs, cada solución contiene $10\mu\text{l}$ de solución de AgNPs y 2.99ml de solución de CuSO_4 y $10\mu\text{l}$, es decir, una razón de 1:299, respectivamente. Luego se mide espectroscopía UV-Visible de cada caso.

Capítulo 4

Resultados y discusión

4.1. Síntesis de AgNPs

En primer lugar, se obtuvieron los espectros UV-Visible de los extractos de romero y boldo, antes y después de la síntesis de AgNPs con 10 % de volumen de extracto y AgNO_3 al 5mM, para ambos casos. Estos se muestran en la Fig 4.1.1. Notamos que los extractos tuvieron un espectro similar y presentan máximos de absorción en la región menor a 400 nm. Luego de la síntesis es evidente un claro *peak* de absorbancia el cual se atribuye a la resonancia de plasmones superficiales (SPR) de las AgNPs, lo que nos indica que para ambos extractos se formaron exitosamente las nanopartículas [49].

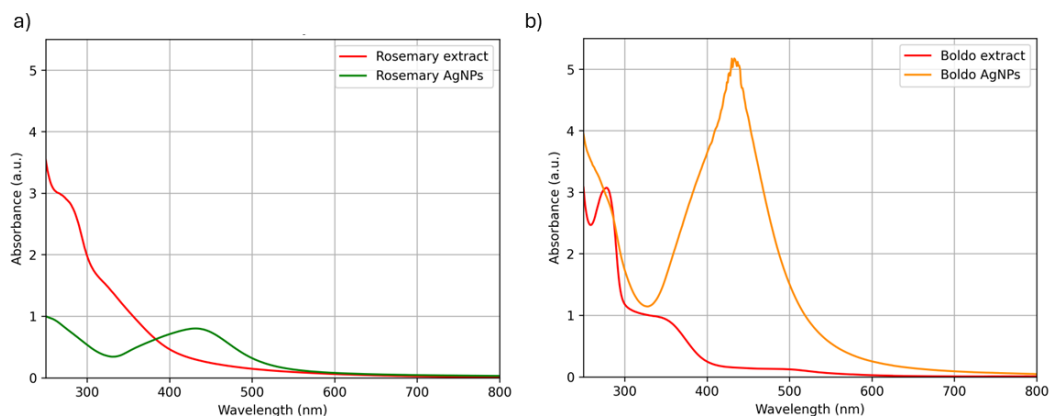


Figura 4.1.1: Espectros de absorción obtenidos con espectroscopía UV-Visible de a) extracto de romero y b) extracto de boldo.

Una comparación entre los espectros obtenidos luego de la síntesis de nanopartículas de ambos extractos se muestra en la Figura 4.1.2. Las AgNPs formadas a partir de romero (AgNPs-R), presentaron un *peak* en 432nm y las AgNPs formadas a partir de boldo (AgNPs-B), en 433nm. Ambos valores están dentro del rango de longitud de onda característico de las nanopartículas de plata [15] de tamaño menor a 50 nm [29]. Bandas de absorción similares en esta misma región se observaron en otros trabajos [50]-[51].

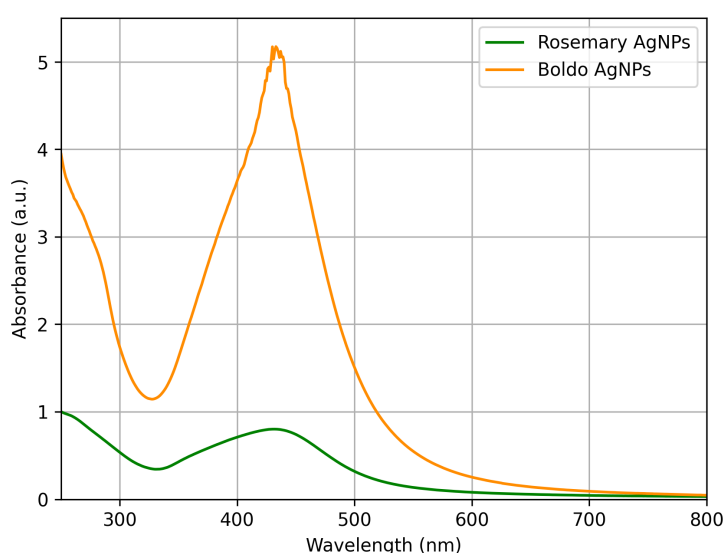


Figura 4.1.2: Comparación entre espectros de absorción de AgNPs-B y AgNPs-R

De la Figura 4.1.2, podemos notar que el ancho de ambas bandas de absorción se sitúa entre 325 y 550 nm, aproximadamente. Vemos que las AgNPs-B presentaron un resultado más eficiente que las AgNPs-R, es decir, mostraron un *peak* más delgado e intenso; esto indica una menor dispersión de tamaño [29] y una mayor cantidad de AgNPs [17], respectivamente, lo cual es beneficioso para los fines de este estudio. Por lo que, evidentemente, se escoge el extracto de boldo. Un único máximo de absorción sugiere la formación de nanopartículas esféricas de un tamaño menor a 50 nm [29].

El boldo contiene diversas moléculas como alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y aceites esenciales [52], las cuales actúan como agentes reductores y estabilizadores en la síntesis de nanopartículas [49]. Ver subsección 2.2.1.

Una vez escogido el extracto, se realiza el estudio de rendimiento para encontrar las concentraciones óptimas de síntesis. En la Figura 4.1.3, se muestran los espectros UV-Visible para los 15 casos, variando la concentración de sal y el volumen de extracto y posteriormente centrifugando y lavando las nanopartículas tres veces con agua desionizada. Vemos que el máximo de absorbancia se mueve entre 425 y 440 nm, observando que el caso 1mM + 10 % ¹ prácticamente no presentó un *peak*, mientras que los casos de 5mM + 10 % ¹ y 1mM + 20 % ¹ presentaron los *peaks* de mayor intensidad, además de ser los más estrechos. Así, estos últimos dos casos son candidatos a concentraciones óptimas, ya que, como fue mencionado anteriormente, un resultado más delgado e intenso es más eficiente.

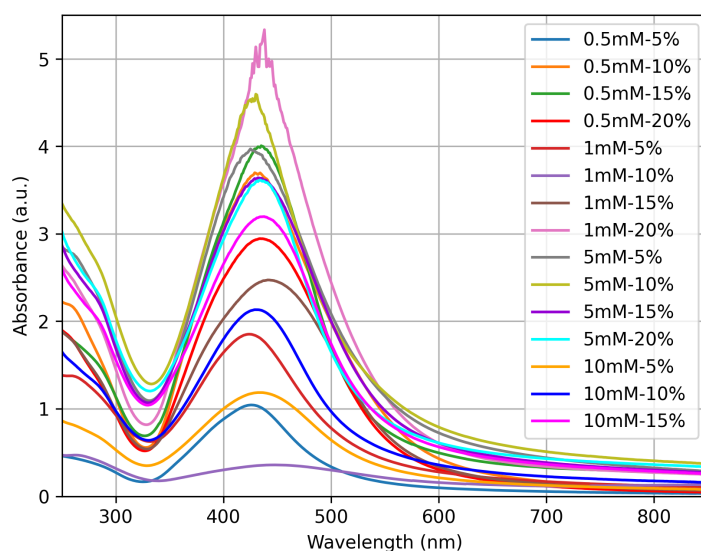


Figura 4.1.3: Espectros de absorción obtenidos con espectroscopía UV-Visible de los distintos casos de AgNPs sintetizadas.

Luego de lavar, secar y pesar las AgNPs, se obtuvieron los pesos mostrados en el Cuadro 4.1.1, donde se considera el error asociado al instrumento. Ya que, específicamente, los casos 8 (1mM + 20 %) y 10 (5mM + 10 %) son de interés, se presta especial atención a ellos. Se observa que el caso 10 presentó un mayor peso, lo que significa una mayor cantidad de nanopartículas, por lo tanto, es evidente que este caso demostró un mayor rendimiento, por lo que se escogen estas AgNPs para el estudio.

¹Concentración de sal y volumen de extracto, respectivamente.

Ya que en algunos casos el peso fue prácticamente igual al error del instrumento (0.1mg), no podemos confiar en esos datos. Esto es netamente debido a la capacidad del instrumento utilizado (microbalanza) y su límite medición. Aun así, con aquellos datos podemos concluir que dichas condiciones de síntesis produjeron muy poca cantidad de AgNPs, en comparación con los casos 10 al 15; que fue el criterio usado para elegir el caso óptimo.

Caso	Caso	Peso (mg)
1	0.5mM+5 %	0.2 ± 0.1
2	0.5mM+10 %	0.1 ± 0.1
3	0.5mM+15 %	0.1 ± 0.1
4	0.5mM+20 %	0.1 ± 0.1
5	1mM+5 %	0.2 ± 0.1
6	1mM+10 %	0.1 ± 0.1
7	1mM+15 %	1.1 ± 0.1
8	1mM+20 %	0.3 ± 0.1
9	5mM+5 %	0 ± 0.1
10	5mM+10 %	1.1 ± 0.1
11	5mM+15 %	2.2 ± 0.1
12	5mM+20 %	1.2 ± 0.1
13	10mM+5 %	1 ± 0.1
14	10mM+10 %	2.5 ± 0.1
15	10mM+15 %	2.5 ± 0.1

Cuadro 4.1.1: Pesos en mg de los distintos casos de AgNPs sintetizadas.

Asimismo, es importante considerar el error humano involucrado en la medición. En el proceso de lavado de las nanopartículas, al quitar el sobrenadante, es muy posible que también se pasen a extraer algunas nanopartículas. También ocurre que en algunos casos el espectro UV-Visible se satura, debido a la gran cantidad de AgNPs contenidas en la solución, y para esto es necesario diluir la solución con agua desionizada. Es por todo esto que el espectro UV-Visible puede no ser un reflejo al 100 % del desempeño de cada caso de síntesis. De igual modo, para pesar las nanopartículas, estas se depositan (luego de ser lavadas) en una placa Petri, se dejan secar y luego se traspasan a una lámina para ser pesadas en el instrumento. En este proceso puede que también se hayan perdido nanopartículas, ya sea al depositarlas o al traspasarlas. Es así como se explica que AgNPs con un *peak* de absorción más intenso hayan presentado un menor peso que otros *peaks* menos intensos. Sin embargo, ambos resultados (espectros y pesos) muestran una

interpretación confiable, ya que cada medición se realizó de la misma manera.

4.2. Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La microscopía electrónica de transmisión se usó para visualizar la forma de las AgNPs sintetizadas a partir de 5mM de nitrato de plata y 10 % de volumen de extracto, y determinar el tamaño de las mismas. Para aplicar TEM, las nanopartículas necesitan ser previamente sonicadas, luego, en solución acuosa, se depositan en la rejilla del microscopio y se dejan secar para posteriormente tomar las imágenes. Tal como se puede ver en la Figura 4.2.1, casi no hubo aglomeración de nanopartículas. También se puede confirmar su forma esférica y se puede observar que, según lo previsto, las AgNPs tienen un diámetro menor a 50 nm.

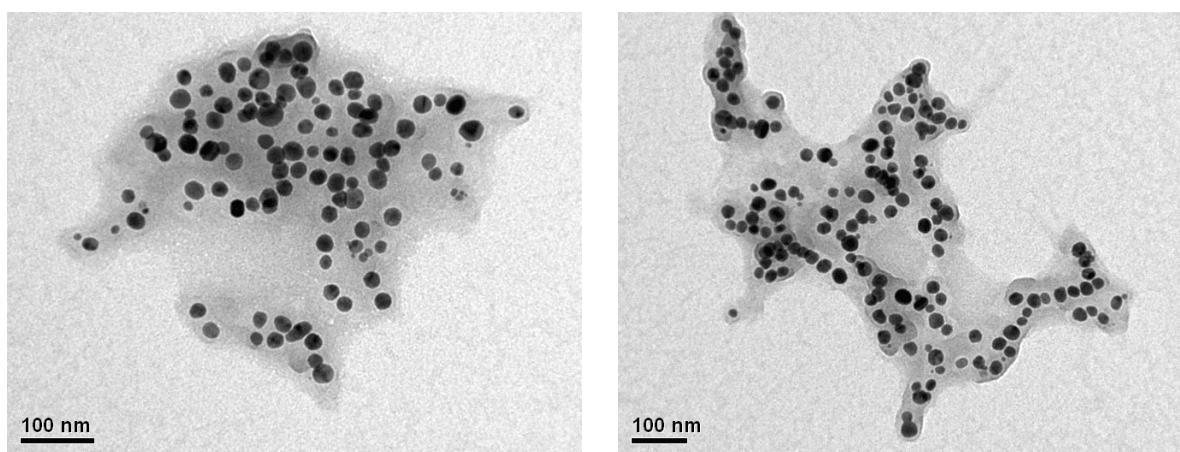


Figura 4.2.1: Imágenes TEM de AgNPs sintetizadas con AgNO_3 al 5mM y 10 % de volumen de extracto de boldo.

Se realizó un histograma (4.2.2) que muestra la distribución de tamaños de las AgNPs, el cual se elaboró midiendo el diámetro de las nanopartículas de varias imágenes TEM distintas, utilizando el programa ImageJ, que es un programa de procesamiento digital de imágenes. En total se midieron los diámetros de 152 nanopartículas y se obtuvo la distribución mostrada en la Figura 4.2.2, indicando que el diámetro promedio es de 22.8 ± 4.2 nm, con un rango de 12.4 a 35.9 nm. Por lo que, como fue mencionado anteriormente, las AgNPs exhibieron una baja dispersión de tamaño. La figura además muestra un ajuste gaussiano sobre el histograma, con media de 22.79 y desviación típica de 4.24.

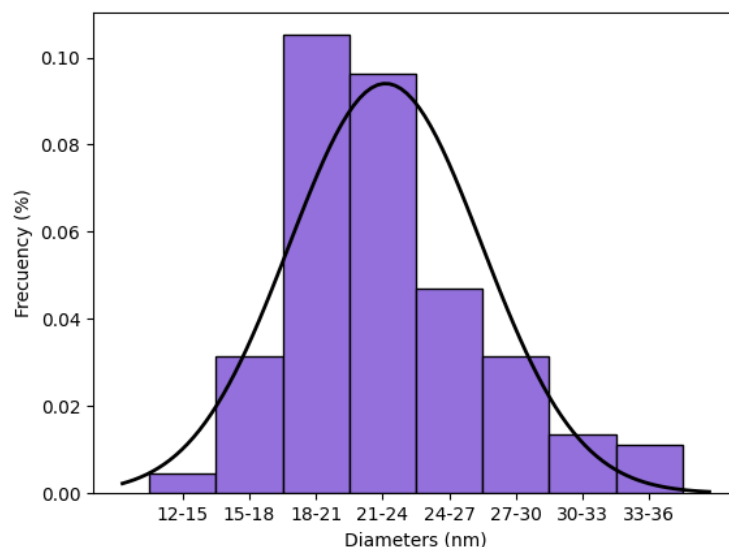


Figura 4.2.2: Histograma de la distribución de diámetros de 152 AgNPs sintetizadas, elaborado midiendo distintas imágenes TEM con el programa ImageJ; con ajuste gaussiano con media y desviación típica igual a 22.79 y 4.24, respectivamente.

4.3. Detección de fenol

Para el estudio de detección de fenol, en primer lugar, se aplicó DPV a la celda electroquímica, que tiene como electrodo de trabajo al sustrato FTO/AgNPs, conteniendo solamente agua desionizada. Luego, se agregó fenol a la celda con agua desionizada, quedando una solución de 100 μ M de concentración de fenol y se mide DPV nuevamente. La Figura 4.3.1, muestra que después de añadir fenol aparece un *peak* aproximadamente a 0.4 V, lo que indica una detección exitosa del sensor.

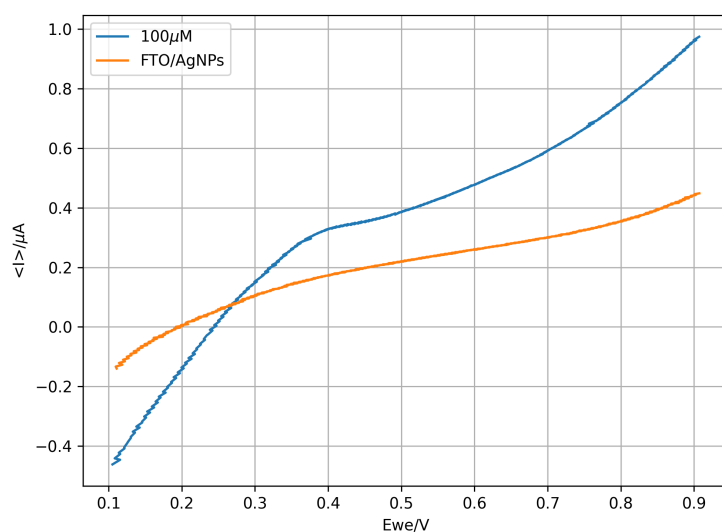


Figura 4.3.1: Voltamperograma del sensor FTO/AgNPs usando DPV antes y después de la adición de 100 μM de fenol

Ahora, se disminuye gradualmente la concentración de fenol a 50, 20, 10, 9, y 5 μM y se aplica DPV cada vez. En el Cuadro 4.3.1 se muestra una comparación de los rangos de concentración detectados con otros sensores de fenol, demostrando que este trabajo se encuentra entre los rangos de detección más bajos. Como muestra el voltamperograma en la Figura 4.3.2, el *peak* disminuye a medida que la concentración también disminuye, estableciendo una relación directamente proporcional entre la corriente y la concentración de fenol. El límite de detección del sensor en agua desionizada se determinó en 5 μM .

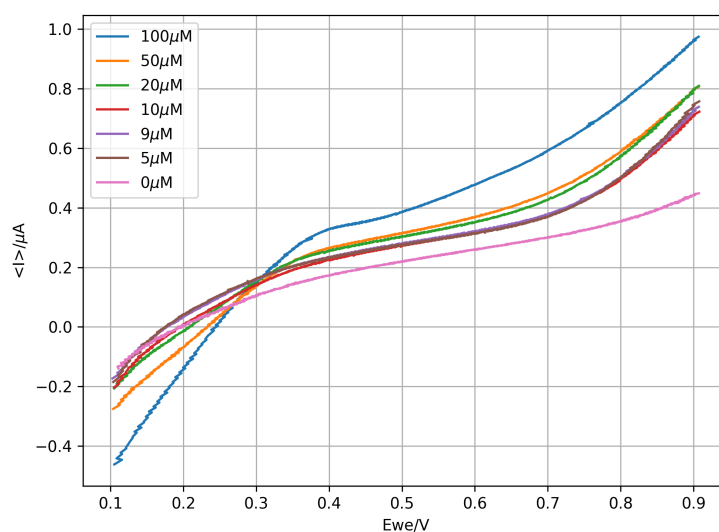


Figura 4.3.2: Voltamperograma del sensor FTO/AgNPs usando DPV para distintas concentraciones de fenol

El Cuadro 4.3.1 recopila una serie de sensores de fenol reportados por otros autores que utilizan técnicas electroquímicas para la detección, como la voltamperometría y la cronoamperometría. Algunos trabajos utilizaron electrodos de trabajo sin modificar, como el electrodo de carbono vítreo (GCE, por sus siglas en inglés) y el electrodo de diamante dopado con boro (BDD, por sus siglas en inglés), mientras que otros modificaron electrodos con nanopartículas y con nanotubos de carbono multipared (MWCNT). Jebril et al. modificaron GCE con nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extracto de *Melia azedarach* (síntesis verde) [15] y Goulart et al. modificaron GCE con MWCNT y nanopartículas de plata sintetizadas por procesos químicos [53]. En el Cuadro 4.3.1 se comparan los rangos de concentración de fenol detectados por esta serie de sensores, demostrando que este trabajo se encuentra entre los rangos de detección más bajos. Entre las ventajas y diferencias con respecto al trabajo de Jebril et al., este estudio emplea un material de electrodo más económico, lo que reduce el costo del dispositivo. Además, se utiliza una pasta que mejora la adhesión de las AgNPs, lo que proporciona mayor durabilidad y estabilidad al sensor. Todo esto se logra en un rango de detección comparable al del estudio antes mencionado.

Electrodo	Técnica	Rango (μ M)	Ref.
GCE	CV ^e	20-1000	[54]
BDD	DPV	50-1000	[16]
MnO ₂ ^a /SPCE ^b	SWV ^f y CrA ^g	10-1000	[55]
Ni/a-MWCNT ^c /GCE	CV ^e	10-480	[56]
AgNPs/GCE	DPV	0.8-20	[15]
AgNPs/MWCNT/GCE	SWV ^f	2.4-152	[53]
CPE ^d /poly(zincon)	DPV	21-992	[57]
AgNPs/FTO	DPV	5-100	Este trabajo

^a Dióxido de manganeso (Manganese dioxide)

^b Electrodo de carbono serigrafiado (Screen-printed carbon electrode)

^c Nanotubo de carbono multipared acidificado (Acidified multiwalled carbon nanotube)

^d Electrodo de pasta de carbono (Carbon paste electrode)

^e Voltamperometría cíclica (Cyclic voltammetry)

^f Voltamperometría de onda cuadrada (Square wave voltammetry)

^g Cronoamperometría (Chronoamperometry)

Cuadro 4.3.1: Comparación del rango de concentración de fenol detectado con otros trabajos

Se elaboró una curva de calibración con los datos obtenidos del voltamperograma de la Figura 4.3.2, calculando la diferencia de corriente entre el caso base (agua desionizada) y cada concentración de fenol a 0.4 V, es decir, donde se observan los *peaks*. El resultado se muestra en la Figura 4.3.3, donde el ajuste lineal es descrito por la ecuación $y = 1,09 \times 10^{-3}[\text{fenol}](\mu\text{M}) + 6,45 \times 10^{-2}$ con un coeficiente de determinación R^2 igual a 0.85, lo cual indica que es un buen ajuste.

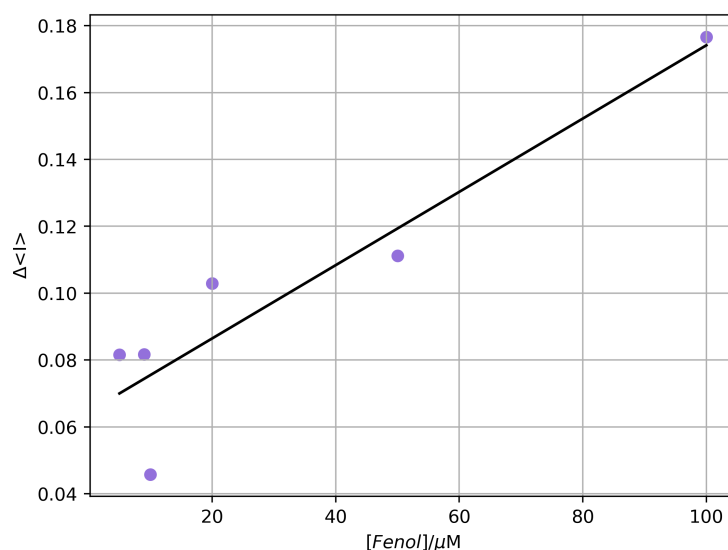


Figura 4.3.3: Ajuste lineal de voltamperograma de distintas concentraciones de fenol. Los datos representan la diferencia de corriente obtenida entre el caso base (agua desionizada) y cada concentración de fenol a 0.4 V. El ajuste está descrito por la ecuación $y = 1,09 \times 10^{-3}x + 6,45 \times 10^{-2}$, con coeficiente R^2 igual a 0.85

4.4. Detección de cobre

Para estudiar la detección de cobre, se midió el espectro UV-Visible de una solución de AgNPs y agua desionizada en una razón 1:299, respectivamente, este se muestra en la Figura 4.4.1. Podemos notar una banda de absorción en 451 nm, que corresponde a la SPR de las AgNPs. Luego, el agua desionizada se reemplaza con solución al 6mM de sulfato de cobre y se aplica espectroscopía UV-Visible nuevamente. Como también se puede observar en la Figura 4.4.1 aparece una banda de absorción en 809 nm, atribuible a la presencia de iones de cobre [58, 59]. La adición de estos, provoca una disminución de la intensidad del *peak* de absorción a 451 nm.

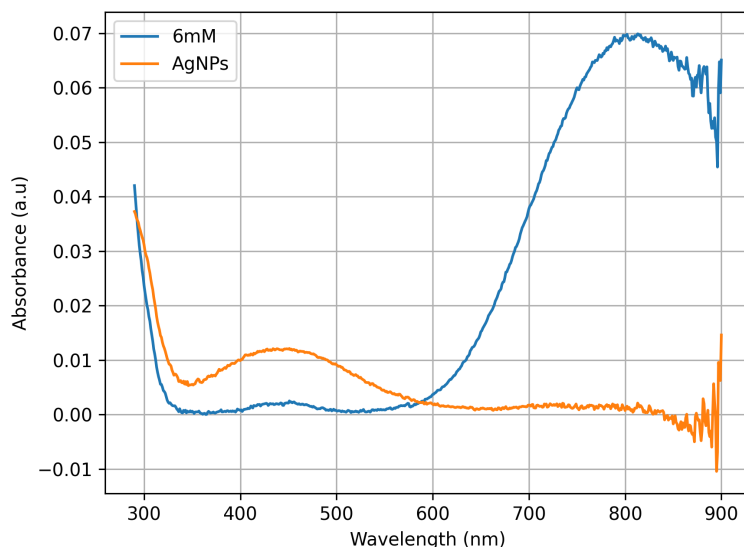


Figura 4.4.1: Espectro de absorción obtenido con espectroscopía UV-Visible de las AgNPs antes y después de la adición de Cu^{2+} .

Luego de esto, se disminuye la concentración de sulfato de cobre a 5, 4, 3, 2 y 1 mM y se miden nuevamente los espectros UV-Visible obteniendo la Figura 4.4.3. Es evidente que el máximo de absorbancia a 809 nm disminuye a medida que la concentración de sulfato de cobre disminuye, mientras que el *peak* a 451 nm aumenta. Esto podría ser explicado por la interacción entre los iones de cobre y las AgNPs. Luego de la adición de $CuSO_4$, los iones de cobre se unen a la superficie de las AgNPs, desplazando los agentes estabilizadores, es decir, los compuestos bioactivos provenientes de las hojas de boldo presentes en las nanopartículas [20], provocando una desestabilización; en consecuencia, comienza a ocurrir una agrupación. Este mecanismo se ilustra en la Figura 4.4.2. A medida que mayor sea la concentración de iones de cobre, mayor cantidad de ellos se unirán a la superficie de la nanopartículas, lo que conduce a una mayor aglomeración de AgNPs. Esta agrupación provoca un ensanchamiento de la banda de absorción y una reducción de la intensidad del *peak* de esta misma [58].

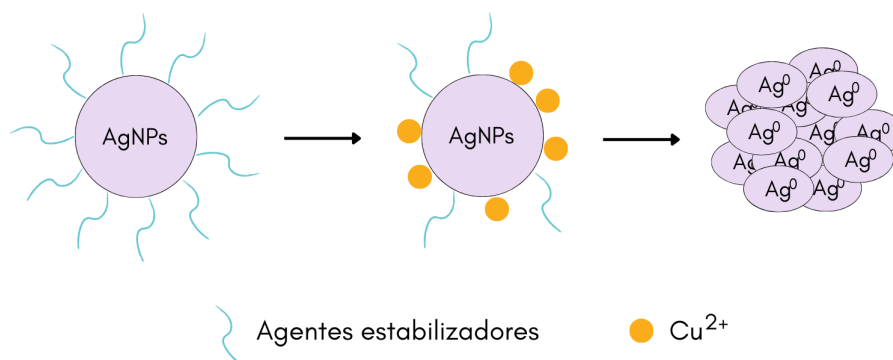


Figura 4.4.2: Posible mecanismo de detección de iones de cobre. Los iones de cobre se unen a la superficie de la AgNPs y remueven los agentes estabilizadores provenientes del extracto de planta, provocando una desestabilización y por lo tanto una agrupación.

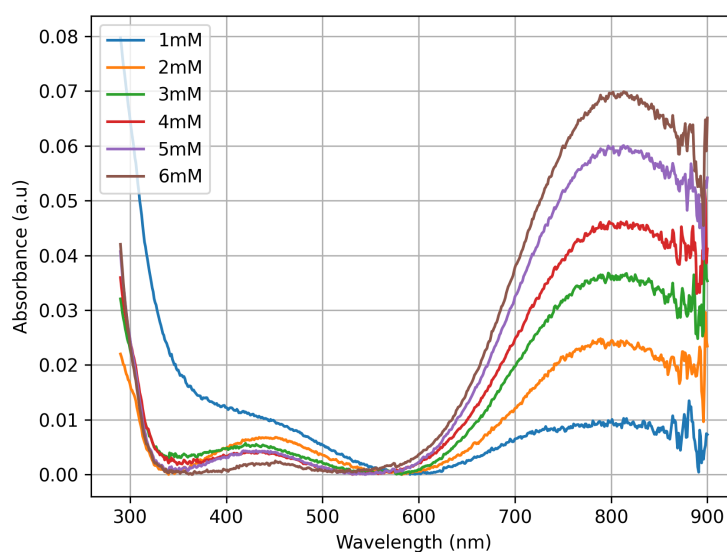


Figura 4.4.3: Espectro de absorción obtenido con espectroscopía UV-Visible de las AgNPs con distintas concentraciones de Cu^{2+}

A partir de esto, se realiza una curva de calibración, la cual se efectuó utilizando la relación entre la intensidad de los *peaks* a 451 y 809 nm para cada concentración y repitiendo el experimento 3 veces. El ajuste lineal se muestra en la Figura 4.4.4 y fue descrito por la ecuación $y = 2,81[\text{Cu}^{2+}](\text{mM}) - 2,05$, con un coeficiente de determinación R^2 igual a 0.887, lo que significa que es bastante preciso.

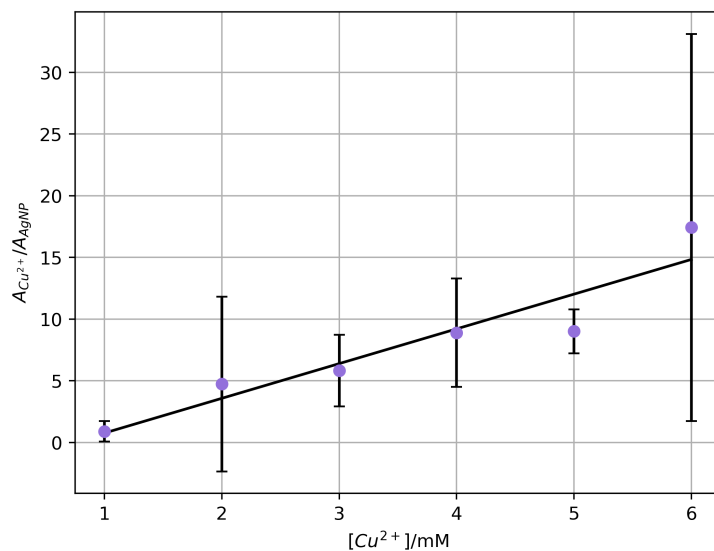


Figura 4.4.4: Ajuste lineal de espectro UV-Visible de distintas concentraciones de cobre. Los datos representan la relación entre la intensidad de los *peaks* de absorbanza a 451 y 809 nm (A_{809}/A_{451}). El ajuste está descrito por la ecuación $y = 2,81x - 2,05$, con coeficiente R^2 igual a 0.887.

Capítulo 5

Conclusión

Esta investigación ha demostrado que la síntesis de nanopartículas de plata es posible en una vía amigable con el medioambiente, utilizando extractos de hojas de romero y boldo, mostrando además que el boldo presentó un resultado más eficiente, pues, permitió la formación de una mayor cantidad de nanopartículas y de tamaños uniformes. Con el objetivo de profundizar el análisis, se realizó un estudio de rendimiento para encontrar las concentraciones óptimas de la sal precursora (nitrato de plata) y del extracto, las cuales fueron de 5mM y de 10 % de volumen, respectivamente. La caracterización de las nanopartículas fue llevada a cabo midiendo espectroscopía UV-Visible, técnica de la cual se obtuvieron las bandas de absorción que permitieron analizar el caso más eficiente de síntesis, tanto para la elección de la planta como para encontrar las concentraciones óptimas. Asimismo, se utilizó microscopía electrónica de transmisión, cuyas imágenes mostraron que las nanopartículas formadas fueron esféricas con un diámetro promedio de 22.8 ± 4.2 nm.

El sensor de fenol fue fabricado modificando una placa de FTO con estas nanopartículas, utilizando un método electroquímico, y en particular, la técnica de voltamperometría de pulso diferencial, demostró una alta sensibilidad, detectando en un rango de concentración de $100 \mu\text{M}$ a $5 \mu\text{M}$, estando dentro de los rangos más bajos reportados por la literatura. La detección de iones de cobre fue llevada a cabo con las nanopartículas sin modificar, usando un método óptico. Se detectó en un rango de 1 mM a 6 mM. Para ambas detecciones se obtuvieron ecuaciones que modelan los ajustes lineales de cada caso, con las cuales se podrían encontrar

las concentraciones de las sustancias en cuestión, en función ya sea de la corriente o de la absorbancia, según el caso.

Todo esto indica el potencial de las nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extractos de planta para aplicaciones prácticas en la monitorización medioambiental y la detección de contaminantes. Este método de síntesis verde es sostenible y eficiente, y es capaz de producir nanopartículas con propiedades ópticas y eléctricas óptimas, ideales para el desarrollo de sensores.

Bibliografía

- [1] A. M. Graboski, J. Martinazzo, S. C. Ballen, J. Steffens, C. Steffens, Nanosensors for water quality control, in: *Nanotechnology in the beverage industry*, Elsevier, 2020, pp. 115–128. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819941-1.00004-3>.
- [2] N. Zain, N. Abu Bakar, S. Mohamad, N. Saleh, Optimization of a greener method for removal phenol species by cloud point extraction and spectrophotometry, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 118 (2014) 1121–1128. doi:<https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.09.129>.
- [3] ATSDR, Resumen de Salud Pública: Fenol (Phenol), <https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxFAQs/ToxFAQsDetails.aspx?faqid=147&toxid=27>, acceso: 25/05/2024 (2008).
- [4] E. Carrillo, Evaluación de fenol y clorofenoles en agua purificada, Ph.D. thesis, Universidad Autónoma de Baja California (2008).
- [5] E. P. Agency, Phenol: Ambient water quality criteria, <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockkey=9100H4VJ.tx>, acceso: 14/08/2024 (1978).
- [6] N. A. P. (US), Phenol acute exposure guideline levels. acute exposure guideline levels for selected airborne chemicals, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK214904/>, acceso: 06/08/2024 (2009).
- [7] Análisis de agua - determinación de fenoles totales en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - método de prueba (cancela a la nmx-aa-050-1981), <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166783/NMX-AA-050-SCFI-2001.pdf>, acceso: 26/07/2024 (2001).
- [8] U. S. D. Health, Cobre total (en sangre), https://myhealth.ucsd.edu/Spanish/RelatedItems/167,total_copper_blood_ES, acceso: 05/08/2024 (2022).
- [9] O. P. de la Salud, Directrices de la oms sobre vivienda y salud [internet], <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK583409/>, acceso: 06/08/2024 (2022).
- [10] B. Stern, M. Solioz, D. Krewski, P. Aggett, T. Aw, S. Baker, K. Crump, M. Dourson, L. Haber, R. Hertzberg, C. Keen, B. Meek, L. Rudenko, R. Schoeny, W. Slob, T. Starr, Copper and human health: Biochemistry, genetics, and strategies for modeling dose-response relationships, *Journal of*

- Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews 10 (2007) 157–222. doi:[10.1080/10937400600755911](https://doi.org/10.1080/10937400600755911).
- [11] F. Pizarro, M. Olivares, R. Uauy, P. Contreras, A. Rebelo, V. Gidi, Acute gastrointestinal effects of graded levels of copper in drinking water., *Environmental Health Perspectives* 107 (1999) 117–121. doi:[10.1289/ehp.99107117](https://doi.org/10.1289/ehp.99107117).
- [12] L. M. Gaetke, C. K. Chow, Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients, *Toxicology* 189 (2003) 147–163. doi:[https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00159-8](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00159-8).
- [13] S. O. Fakayode, C. Walgama, V. E. Fernand Narcisse, C. Grant, Electrochemical and colorimetric nanosensors for detection of heavy metal ions: A review, *Sensors* 23 (2023). doi:[10.3390/s23229080](https://doi.org/10.3390/s23229080).
- [14] A. M. Elkhatat, M. Soliman, R. Ismail, S. Ahmed, N. Abounahia, S. Mubashir, S. Fouladi, M. Khraisheh, Recent trends of copper detection in water samples, *Bulletin of the National Research Centre* 45 (2021) 218. doi:[10.1186/s42269-021-00677-w](https://doi.org/10.1186/s42269-021-00677-w).
- [15] S. Jebril, A. Fdhila, C. Dridi, Nanoengineering of eco-friendly silver nanoparticles using five different plant extracts and development of cost-effective phenol nanosensor, *Scientific Reports* 11 (2021) 22060. doi:[10.1038/s41598-021-01609-4](https://doi.org/10.1038/s41598-021-01609-4).
- [16] G.-H. ZHAO, Y.-T. TANG, M.-C. LIU, Y.-Z. LEI, X.-E. XIAO, Direct and simultaneous determination of phenol, hydroquinone and nitrophenol at boron-doped diamond film electrode, *Chinese Journal of Chemistry* 25 (2007) 1445–1450. doi:<https://doi.org/10.1002/cjoc.200790267>.
- [17] B. Francis, M. Umadevi, Green synthesized gold nanoparticles as a probe for the detection of Fe^{3+} ions in water, *Journal of Cluster Science* 25 (2013) 969–978. doi:[10.1007/s10876-013-0679-8](https://doi.org/10.1007/s10876-013-0679-8).
- [18] K. B. Teodoro, F. L. Migliorini, W. A. Christinelli, D. S. Correa, Detection of hydrogen peroxide (H_2O_2) using a colorimetric sensor based on cellulose nanowhiskers and silver nanoparticles, *Carbohydrate Polymers* 212 (2019) 235–241. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.053>.
- [19] V. Vinod Kumar, S. P. Anthony, Silver nanoparticles based selective colorimetric sensor for Cd^{2+} , Hg^{2+} and Pb^{2+} ions: Tuning sensitivity and selectivity using co-stabilizing agents, *Sensors and Actuators B: Chemical* 191 (2014) 31–36. doi:<https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.09.089>.
- [20] K. Farhadi, M. Forough, R. Molaei, S. Hajizadeh, A. Rafipour, Highly selective Hg^{2+} colorimetric sensor using green synthesized and unmodified silver nanoparticles, *Sensors and Actuators B: Chemical* 161 (2012) 880–885. doi:<https://doi.org/10.1016/j.snb.2011.11.052>.

- [21] D. Karthiga, S. P. Anthony, Selective colorimetric sensing of toxic metal cations by green synthesized silver nanoparticles over a wide ph range, *RSC Adv.* 3 (2013) 16765–16774. doi:10.1039/C3RA42308E.
- [22] M. B. Jaballah, N. B. Messaoud, C. Dridi, Development of cost-effective and sustainable sensing nanoplatform based on green agnps for the determination of bpa in water, *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 33 (2022) 6981. doi:10.1007/s10854-022-07877-8.
- [23] N. T. A. Thu, H. V. Duc, N. Hai Phong, N. D. Cuong, N. T. V. Hoan, D. Quang Khieu, Electrochemical determination of paracetamol using fe₃o₄/reduced graphene-oxide-based electrode, *Journal of Nanomaterials* 2018 (2018) 7619419. doi:10.1155/2018/7619419.
- [24] A. U. Alam, D. Clyne, H. Jin, N.-X. Hu, M. J. Deen, Fully integrated, simple, and low-cost electrochemical sensor array for in situ water quality monitoring, *ACS Sensors* 5 (2020) 412–422. doi:10.1021/acssensors.9b02095.
- [25] S. Jebril, R. Khanfir Ben Jenana, C. Dridi, Green synthesis of silver nanoparticles using melia azedarach leaf extract and their antifungal activities: In vitro and in vivo, *Materials Chemistry and Physics* 248 (2020) 122898. doi:https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.122898.
- [26] J. Kadam, P. Dhawal, S. Barve, S. Kakodkar, Green synthesis of silver nanoparticles using cauliflower waste and their multifaceted applications in photocatalytic degradation of methylene blue dye and hg²⁺ biosensing, *SN Applied Sciences* 2 (2020) 738. doi:10.1007/s42452-020-2543-4.
- [27] N. Chaudhry, S. Dwivedi, V. Chaudhry, A. Singh, Q. Saquib, A. Azam, J. Musarrat, Bio-inspired nanomaterials in agriculture and food: Current status, foreseen applications and challenges, *Microbial Pathogenesis* 123 (2018) 196–200. doi:https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.07.013.
- [28] L. Wei, J. Lu, H. Xu, A. Patel, Z.-S. Chen, G. Chen, Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications, *Drug Discovery Today* 20 (2015) 595–601. doi:https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.11.014.
- [29] M. A. Garcia, Surface plasmons in metallic nanoparticles: fundamentals and applications, *Journal of Physics D: Applied Physics* 44 (2011) 283001.
- [30] M. Diantoro, T. Suprayogi, U. Sa'adah, N. Mufti, A. Fuad, A. Hidayat, H. Nur, Modification of electrical properties of silver nanoparticle, in: *Silver Nanoparticles*, IntechOpen, 2018, Ch. 12. doi:10.5772/intechopen.75682.
- [31] R. Álvarez Chimal, J. Ángel Arenas-Alatorre, Green synthesis of nanoparticles: A biological approach, in: *Advances in Green Chemistry*, IntechOpen, 2023, Ch. 5. doi:10.5772/intechopen.1002203.
- [32] T. Mahbub, M. E. Hoque, Chapter 1 - introduction to nanomaterials and nanomanufacturing for nanosensors, in: *Nanofabrication for Smart Nanosensor*

- Applications, Elsevier, 2020, pp. 1–20. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820702-4.00001-5>.
- [33] S. D. Sarker, L. Nahar, Chapter 3 - characterization of nanoparticles, in: *Advances in Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems*, Elsevier, 2022, pp. 45–82. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-88450-1.00011-9>.
- [34] K. A. Altammar, A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges, *Frontiers in Microbiology* 14 (2023) 1155622. doi:[10.3389/fmicb.2023.1155622](https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1155622).
- [35] I. Khan, K. Saeed, I. Khan, Nanoparticles: Properties, applications and toxicities, *Arabian Journal of Chemistry* 12 (2019) 908–931. doi:<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>.
- [36] N. Narayan, A. Meiyazhagan, R. Vajtai, Metal nanoparticles as green catalysts, *Materials* 12 (2019) 3602. doi:[10.3390/ma12213602](https://doi.org/10.3390/ma12213602).
- [37] T. R. Tsekeli, T. I. Sebokolodi, H. Karimi-Maleh, O. A. Arotiba, A silver-loaded exfoliated graphite nanocomposite anti-fouling electrochemical sensor for bisphenol a in thermal paper samples, *ACS omega* 6 (2021) 9401–9409. doi:[10.1021/acsomega.0c05836](https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05836).
- [38] J. Singh, T. Dutta, K.-H. Kim, M. Rawat, P. Samaddar, P. Kumar, 'green' synthesis of metals and their oxide nanoparticles: Applications for environmental remediation, *Journal of Nanobiotechnology* 16 (2018) 1–24. doi:[10.1186/s12951-018-0408-4](https://doi.org/10.1186/s12951-018-0408-4).
- [39] G. Rajkumar, R. Sundar, Biogenic one-step synthesis of silver nanoparticles (agnps) using an aqueous extract of persea americana seed: Characterization, phytochemical screening, antibacterial, antifungal and antioxidant activities, *Inorganic Chemistry Communications* 143 (2022) 109817. doi:<https://doi.org/10.1016/j.inoche.2022.109817>.
- [40] M. D. of Materials Science, Engineering, Characterization, <https://dmse.mit.edu/research-impact/materials-research-type/characterization/>, acesso em: 12/03/2024 (2023).
- [41] J. Tom, Uv-vis spectroscopy: Principle, strengths and limitations and applications, <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/uv-vis-spectroscopy-principle-strengths-and-limitations-and-applications-349865>, acesso: 23/07/2024 (2021).
- [42] University of Nottingham, Transmission electron microscopy (tem), <https://www.nottingham.ac.uk/nmrc-commercial/nmcs-facilities/tem.aspx>, acesso: 23/07/2024.
- [43] University of Pretoria, Transmission electron microscopy (tem), <https://www.up.ac.za/electron-microscope-unit/article/3199635/transmission-electron-microscopy-tem>, acesso: 23/07/2024 (2024).

- [44] L. Chekli, B. Bayatsarmadi, R. Sekine, B. Sarkar, A. M. Shen, K. Scheckel, W. Skinner, R. Naidu, H. Shon, E. Lombi, E. Donner, Analytical characterisation of nanoscale zero-valent iron: A methodological review, *Analytica Chimica Acta* 903 (2016) 13–35. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.10.040>.
- [45] N. Instruments, Transmission electron microscopy, <https://www.nanoscience.com/techniques/transmission-electron-microscopy/>, acceso: 23/07/2024 (2024).
- [46] Q. Zhang, Y. Lu, S. Li, J. Wu, Q. Liu, 20 - peptide-based biosensors, in: *Peptide Applications in Biomedicine, Biotechnology and Bioengineering*, Woodhead Publishing, 2018, pp. 565–601. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100736-5.00024-7>.
- [47] L. G. Wade, Phenol | Definition, Structure, Uses, & Facts, <https://www.britannica.com/science/phenol>, acceso: 25/07/2024 (1998).
- [48] Prtr-España, Fenoles, <https://prtr-es.es/Fenoles,15658,11,2007.html>, acceso: 25/07/2024.
- [49] T. P. Erico R. Carmona, Noelia Benito, G. Recio-Sánchez, Green synthesis of silver nanoparticles by using leaf extracts from the endemic buddleja globosa hope, *Green Chemistry Letters and Reviews* 10 (2017) 250–256. doi:[10.1080/17518253.2017.1360400](https://doi.org/10.1080/17518253.2017.1360400).
- [50] M. M. Zangeneh, S. Bovandi, S. Gharehyakheh, A. Zangeneh, P. Irani, Green synthesis and chemical characterization of silver nanoparticles obtained using allium saralicum aqueous extract and survey of in vitro antioxidant, cytotoxic, antibacterial and antifungal properties, *Applied Organometallic Chemistry* 33 (2019) e4961. doi:<https://doi.org/10.1002/aoc.4961>.
- [51] M. M. Zangeneh, Z. Joshani, A. Zangeneh, E. Miri, Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of stachys lavandulifolia flower, and their cytotoxicity, antioxidant, antibacterial and cutaneous wound-healing properties, *Applied Organometallic Chemistry* 33 (2019) e5016. doi:<https://doi.org/10.1002/aoc.5016>.
- [52] C. A. G. Maro, H. E. G. Gálvez, O. d. J. N. Olivas, M. L. Morales, D. V. Hernández, H. G. Flores, V. M. O. Carmona, M. d. J. C. Chinchillas, *Peumus boldus* used in the synthesis of zno semiconductor nanoparticles and their evaluation in organic contaminants, *Materials* 16 (2023). doi:[10.3390/ma16124344](https://doi.org/10.3390/ma16124344).
- [53] L. A. Goulart, R. Gonçalves, A. A. Correa, E. C. Pereira, L. H. Mascaro, Synergic effect of silver nanoparticles and carbon nanotubes on the simultaneous voltammetric determination of hydroquinone, catechol, bisphenol a and phenol, *Microchimica Acta* 185 (2017) 1–9. doi:[10.1007/s00604-017-2540-5](https://doi.org/10.1007/s00604-017-2540-5).
- [54] L. Fotouhi, M. Ganjavi, D. Nematollahi, Electrochemical study of iodide in

- the presence of phenol and o-cresol: Application to the catalytic determination of phenol and o-cresol, *Sensors* 4 (2004) 170–180. doi:10.3390/s41100170.
- [55] R. Di Chio, F. Arena, S. G. Leonardi, K. Moulaei, G. Neri, N. Donato, Development of a mno₂-modified screen-printed electrode for phenol monitoring, *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement* 70 (2021) 1–9. doi:10.1109/TIM.2020.3045808.
- [56] Y. Wang, J. Wang, Z. Yao, C. Liu, T. Xie, Q. Deng, Z. Jiang, Ni nanoparticle anchored on mwcnt as a novel electrochemical sensor for detection of phenol, *Nano* 13 (2018) 1850134. doi:10.1142/S1793292018501345.
- [57] W. Qin, X. Liu, H. Chen, J. Yang, Amperometric sensors for detection of phenol in oilfield wastewater using electrochemical polymerization of zincon film, *Anal. Methods* 6 (2014) 5734–5740. doi:10.1039/C3AY41855C.
- [58] M. Bindhu, M. Umadevi, G. A. Esmail, N. A. Al-Dhabi, M. V. Arasu, Green synthesis and characterization of silver nanoparticles from moringa oleifera flower and assessment of antimicrobial and sensing properties, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 205 (2020) 111836. doi:https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111836.
- [59] M. Bindhu, M. Umadevi, Silver and gold nanoparticles for sensor and antibacterial applications, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 128 (2014) 37–45. doi:https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.02.119.