



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS
DE PLATA SOPORTADAS EN HIDROXIAPATITA**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIA E INGENIERA DE MATERIALES**

PRESENTA

DANIEL LARRAÑAGA ORDAZ

TUTOR PRINCIPAL

DR. RAMIRO PÉREZ CAMPOS, CFATA

COMITÉ TUTOR

Dr. RODRIGO ALONSO ESPARZA MUÑOZ, CFATA

Dr. GERARDO ANTONIO ROSAS TREJO, UMSNH

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO 24 DE MARZO DEL 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Contenido

RESUMEN.....	3
OBJETIVO GENERAL	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
1. MARCO TEÓRICO	5
1.1 INTRODUCCIÓN.....	5
1.2 NANOTECNOLOGÍA, NANOCIENCIA Y NANOMATERIALES.	5
1.2.1 Definición.....	6
1.2.2 Leyes fundamentales de la nanotecnología	9
1.2.3 Clasificación de los nanomateriales	10
1.2.4 Producción de nanomateriales	12
1.2.5 Métodos físicos.....	13
1.2.6 Métodos químicos.	14
1.2.7 Riesgos de los nanomateriales.....	16
1.3 NANOPARTÍCULAS.....	17
1.4 NANOPARTÍCULAS DE PLATA.	19
1.4.1 Mecanismos de acción.....	20
1.4.2 Citotoxicidad de las nanopartículas de plata	21
1.5 HIDROXIAPATITA.....	22
1.5.1 Aplicaciones de la hidroxiapatita.....	25
1.5.2 Nanocompuesto Ag-HAP	25
2. METODOLOGÍA.....	27
2.1 MATERIALES.....	27
2.1.1 Síntesis de las nanopartículas de plata	27
2.1.2 Síntesis por el método de reducción química con borohidruro de sodio (reducción química)	28
2.1.3 Síntesis de reducción química utilizando como agente reductor etilenglicol (poliol)	29
2.1.4 Metodología utilizada para soportar plata sobre hidroxiapatita.....	31
2.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN.....	31
2.2.1 Espectroscopia UV-visible.....	31
2.2.2 Difracción de rayos X	34
2.2.3 Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier.....	38
2.2.4 Microscopía electrónica.....	40
2.2.5 Microscopía electrónica de barrido	42
2.2.6 Microscopía electrónica de transmisión	43
2.2.7 Microscopía electrónica de barrido-transmisión (STEM)	44
2.2.8 Antibiograma por el método Kirby-Bauer	46
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
3.1 NANOPARTÍCULAS DE PLATA	47
3.1.1 Análisis por Espectroscopia UV-Visible	48

3.1.2 Análisis por Difracción de Rayos X	50
3.1.3 Análisis por Microscopía Electrónica de Barrido.	51
3.1.4 Antibiograma por el Método Kirby-Bauer	58
3.2 Nanopartículas de Plata Soportadas en Hidroxiapatita	62
3.2.1 Difracción de Rayos X.....	62
3.2.2 Análisis por Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier	69
3.2.3 Análisis por Microscopía Electrónica de Barrido	71
4. CONCLUSIONES.....	79
BIBLIOGRAFÍA	82

RESUMEN

En el presente trabajo se sintetizaron nanopartículas de plata, o AgNPs por su nombre en inglés "*Silver Nanoparticles*", con una baja variabilidad de tamaño; se buscó un tamaño de partícula promedio de 15 nm \pm 5 nm, y una vez obtenidas las partículas del tamaño deseado, se prosiguió a soportarlas sobre hidroxiapatita sintética, la cual se escogió de esta manera para tener propiedades homogéneas de este material y obtener características combinadas de Ag y HAP en un mismo material.

Se utilizaron y compararon dos métodos de síntesis química, el método de *reducción química con borohidruro de sodio en medio acuoso* comúnmente conocido como "*reducción química*" y el método de *reducción química utilizando etilenglicol* mejor conocido como "*el método del poliol*", haciendo uso del polímero biocompatible polivinilpirrolidona (PVP) como surfactante. Se probaron tres diferentes concentraciones, 5, 10 y 20 mM, escogiendo una por cada método para combinarla con la hidroxiapatita (HAP). Se tomaron en cuenta dos factores para decidir que concentración usar por método: el tamaño promedio y el intervalo de diámetro de las partículas sintetizadas; el tamaño promedio de las AgNPs fue de 16 nm, con una variación de \pm 5 nm. Para soportar las nanopartículas de plata sobre la hidroxiapatita se llevó a cabo la síntesis en presencia del mineral.

Las técnicas de caracterización utilizadas fueron difracción de rayos X (DRX), espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis), microscopía electrónica de barrido (SEM) y para medir el efecto bactericida se utilizó la técnica de difusión en agar en cepas de *E. Coli* (*Gram Negativa*) y *Staphylococcus Aureus* (*Gram Positiva*). Para el material compuesto de los métodos anteriores, solo se utilizaron las técnicas de DRX y SEM, además fue necesaria la técnica de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

OBJETIVO GENERAL

El objetivo principal de este trabajo es soportar AgNPs sobre hidroxiapatita para que en un futuro el uso combinado de estos materiales pueda ser utilizado en aplicaciones biomédicas, con la intención de que con la ayuda de estas partículas se evite cualquier posible infección al utilizar la hidroxiapatita en cirugías ortopédicas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Encontrar las condiciones óptimas de síntesis para las nanopartículas de plata con una distribución de tamaño homogénea, mediante los métodos de reducción química y el método del poliol.
- Sintetizar AgNPs con un intervalo de tamaño entre los 10 y 20 nm.
- Caracterizar las nanopartículas de plata mediante microscopía electrónica, difracción de rayos X, espectroscopía ultravioleta-visible, espectroscopía infrarroja, y antibiogramas por el método Kirby-Bauer.
- Caracterizar el material de soporte mediante difracción de rayos X, espectroscopía infrarroja y microscopía electrónica de barrido.
- Soportar las nanopartículas de plata sobre la hidroxiapatita, y mantenerlas estables químicamente sobre la superficie de la hidroxiapatita.
- Caracterizar el material combinado de plata con hidroxiapatita (AgHAP) mediante difracción de rayos X, espectroscopía infrarroja y microscopía electrónica.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 INTRODUCCIÓN

Desde que el premio Nobel de Física de 1965, Richard Feynman, hizo referencia a la nanociencia y la nanotecnología en su discurso que dio en el Caltech (Instituto Tecnológico de California) hace casi 50 años la comunidad científica se ha interesado en gran medida por la misma; ya que nos ofreció manipular la materia de forma totalmente distinta a lo que se había hecho hasta ese momento. Al poder modificar la materia desde tal escala nos permite diseñar materiales con mejores propiedades físico-químicas, además si consideramos que actualmente es común el combinar diversos materiales para hacer usos de sus diferentes propiedades en conjunto en ciencia e ingeniería para todo tipo de aplicaciones, ya que con esto también se pueden obtener propiedades únicas que no se consiguen con los materiales individuales. Haciendo uso de lo anterior aplicado a la nanotecnología, se tienen materiales mucho más eficientes y que pueden ser aplicados en nuevas áreas. Cabe destacar en este punto que la plata como nanomaterial es el que mayor número de aplicaciones industriales tiene actualmente y especialmente en el área de la salud. Otro material muy común actualmente es la hidroxiapatita que al ser un componente esencial en el cuerpo humano se utiliza actualmente para procedimientos quirúrgicos y especialmente en la ortopedia, es interesante estudiar las ventajas que se pueden obtener al combinarla con diferentes nanomateriales¹. Hay estudios en donde se sintetiza la hidroxiapatita, pero con la singularidad de sustituir iones Ca^+ con iones M^+ para observar si existe actividad antimicrobiana.

1.2 NANOTECNOLOGÍA, NANOCIENCIA Y NANOMATERIALES.

Actualmente existe una gran variedad de productos que utilizan nanomateriales. Las principales aplicaciones son en la electrónica, la informática, la industria textil, la industria alimenticia, la medicina, y algunas otras².

El objetivo de la nanotecnología es poder manipular los átomos y moléculas de forma precisa, ya sea para tener materiales altamente complejos y diminutos o para llevarlos a macroescala pero con propiedades totalmente diferentes a las conocidas del mismo material en bulto³.

1.2.1 Definición

Para poder empezar a hablar de nanotecnología y nanociencia primero es necesario entender lo que es, y como su nombre lo indica hace uso del prefijo “nano” que se refiere al prefijo 10^{-9} , en este caso se refiere a la unidad del nanómetro (nm), se puede visualizar mejor si pensamos en la idea de un metro dividido en mil millones de partes muy pequeñas, esto está ligado a la definición de nanotecnología ofrecida por la comisión europea en la segunda revisión de la normativa sobre los nanomateriales⁴:

- *Un material natural, secundario o fabricado que contenga partículas, sueltas o formando un agregado o aglomerado y en el que el 50% o más de las partículas en la granulometría numérica presente una o más dimensiones externas en el intervalo de tamaños comprendido entre 1 nm y 100 nm*

A esto se le puede sumar otra definición no oficial, pero si comúnmente usada por los expertos en el tema:

- *Además de contar el material con las dimensiones y características de estar comprendido entre 1 nm y 100 nm debe exhibir propiedades diferentes a las del mismo material en bulto acorde a la aplicación que se le quiera dar.*

El argumento que ofrecen los expertos para tal definición es el hecho de que no tendría sentido la gran cantidad de tiempo y recursos invertidos para su fabricación

e investigación si los nanomateriales no ofrecieran ventajas sobre sus homólogos a macro escala.

En la Figura 1.1 se muestra una escala en donde se visualiza el tamaño de las nanopartículas (1-100 nm) contra diferentes objetos, empezando por el cuerpo de una persona, el cual oscila entre 1 y 2 m de altura dependiendo de factores como la etapa de crecimiento y la genética. Así mismo es posible ver como algo tan común como un insecto, que para nosotros es diminuto, resulta mucho más grande que cualquier nanomaterial; además se ven otros ejemplos comparando el tamaño de los nanomateriales⁽⁵⁾⁽⁶⁾.

También es interesante mencionar las causas que generan las nuevas propiedades en los nanomateriales, y la explicación es sencilla, lo que hace que tengan estas propiedades a tal escala es que el nanomaterial tiene una alta relación superficie/volumen, como cada átomo superficial en un nanomaterial tiene una alta relación de superficie expuesta al ambiente con respecto a su volumen, y por consiguiente los niveles de energía que se manejan a esta escala son discretos como el de los átomos individuales en lugar de manejar energía con valores continuos como los que manejan los materiales en bulto^[6,7]; por tal motivo se puede concluir que las leyes de la física clásica se van sustituyendo por las de la física cuántica, o dicho en otras palabras, mientras que las dimensiones vayan disminuyendo las nuevas propiedades aumentarán y se irán apreciando con mayor intensidad los efectos cuánticos. Al ser los nanomateriales tan pequeños y eficientes se han vuelto extremadamente atractivos para cualquier aplicación y se pueden encontrar en cualquier sector industrial, en la Figura 1.2 se muestran diversos campos de aplicación; un dato curioso es que para octubre del 2013 se contaban con 1814 productos para el consumo humano de 622 compañías en 32 países alrededor del mundo en donde el 42% total de los productos ofrecidos eran para la salud⁹.

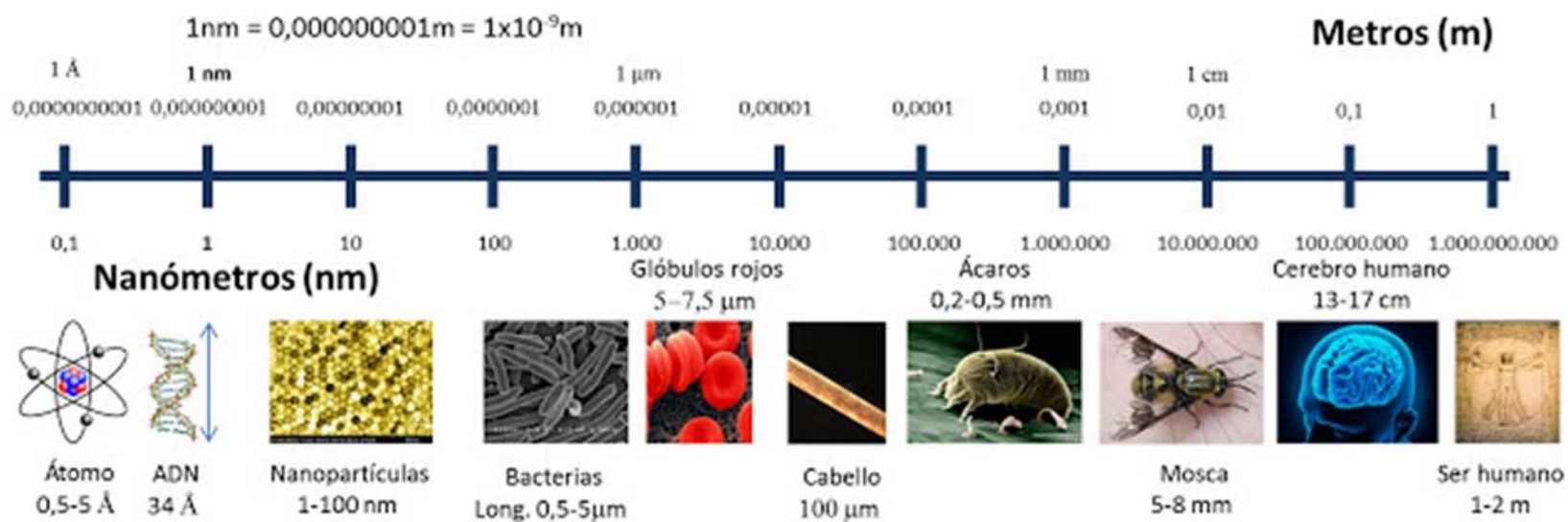


Figura 1.1 Escala comparativa de la nanotecnología⁶

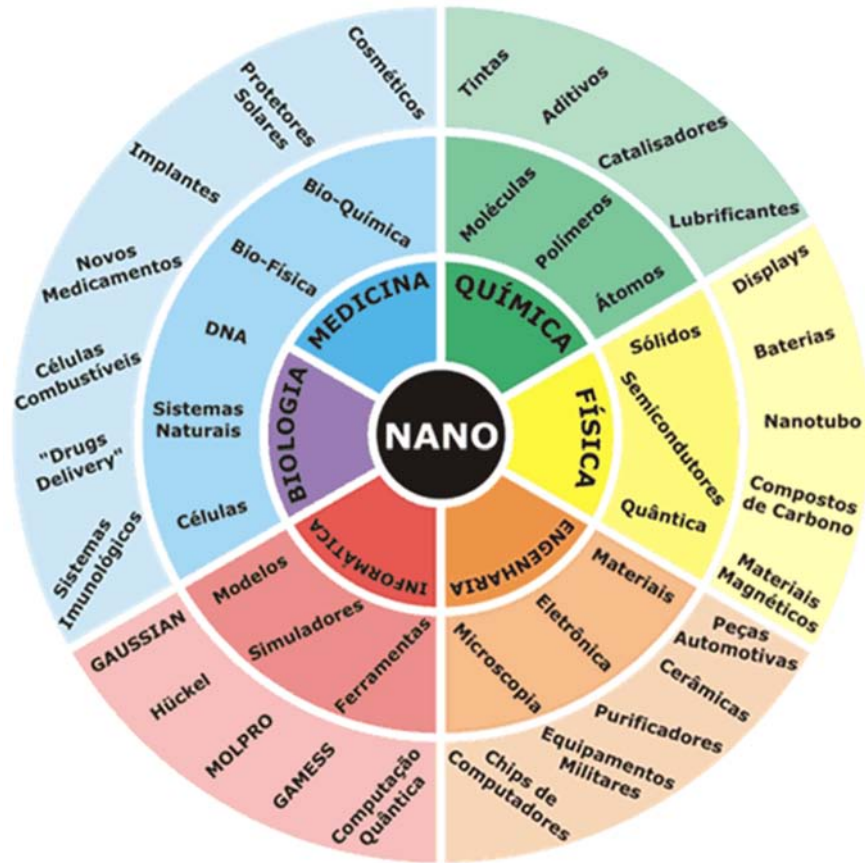


Figura 1.2 Aplicações de la nanotecnología y los nanomateriales¹⁰.

1.2.2 Leyes fundamentales de la nanotecnología

Las leyes que rigen la materia a escala nanométrica son distintas a las de la escala macroscópica. Algunos principios fundamentales de la mecánica cuántica son¹¹:

- El intercambio de energía entre átomos y partículas solo puede ocurrir en paquetes discretos llamados *cuantos de energía*.
- Las ondas de luz, bajo determinadas condiciones, se pueden comportar como partículas.
- Además, en algunas circunstancias, las partículas se pueden comportar como ondas.

- Es imposible conocer al mismo tiempo la velocidad y la posición exacta de una partícula, mejor conocido como el *Principio de Incertidumbre de Heisenberg*.

Las reglas que permiten entender el comportamiento de este “nanouniverso” están dadas por las leyes de la mecánica cuántica, mencionadas anteriormente, las cuales determinan las propiedades de la materia cuando se ubican en el rango de interés de la nanotecnología.

1.2.3 Clasificación de los nanomateriales

Los nanomateriales se pueden dividir en tres diferentes sistemas dependiendo del tamaño en sus dimensiones en “X”, “Y” y/o “Z”, considerando si una, dos o las tres dimensiones son de tamaño nanométrico, y se clasifican de la siguiente manera¹²:

- Sistemas de cero dimensión (0D), en este tipo de sistemas todas las dimensiones que se tiene son de orden nano y aquí es donde encontramos a las nanopartículas (Figura 1.3), como se hace referencia en su nombre las nanopartículas tienen dimensiones nanométricas en “X”, “Y” y “Z” y en este caso resulta mucho más apropiado utilizar como medida el diámetro para referirse al tamaño de las mismas, aunque es cierto que su geometría no es necesariamente esférica.

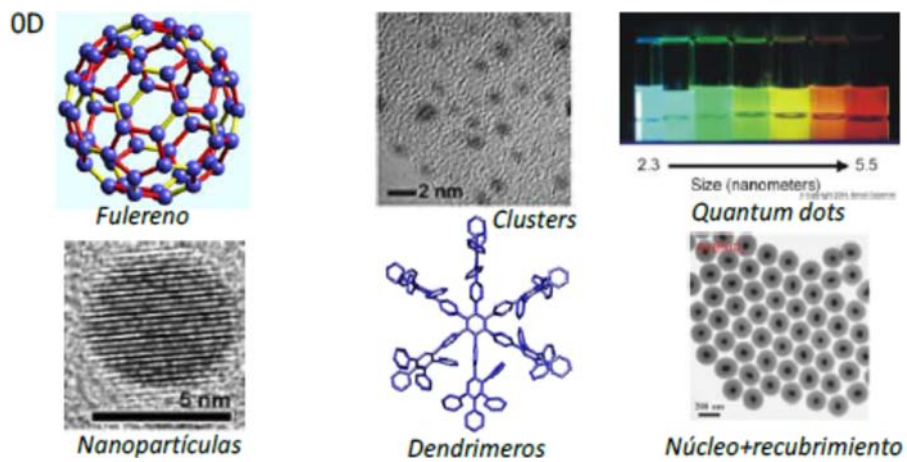


Figura 1.3 Diferentes ejemplos de nanomateriales de 0D.

- Sistemas de una dimensión (1D), para este caso se puede extrapolar la definición de los sistemas 2D, pero en lugar son dos las dimensiones confinadas a unos pocos nanómetros y la tercera dimensión muy superior en tamaño con relación a las otras dos. En estos se encuentran los nanoalambres y los nanotubos (Figura 1.4), la diferencia entre unos y otros son los efectos cuánticos derivados del tamaño ya que los efectos cuánticos se observan generalmente por debajo de los 5 nanómetros; y aquí también resulta, por convención, más apropiado hablar de diámetro que de dimensiones cartesianas.

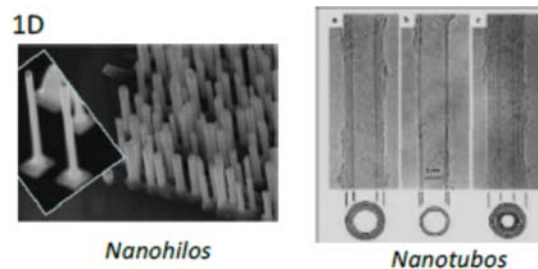


Figura 1.4 Nanomateriales de 1D.

- Sistemas de dos dimensiones (2D), son aquellos materiales que se extienden significativamente a lo largo de las dimensiones “X” y “Y” pero en el caso de la dimensión “Z” apenas tienen unos cuantos nanómetros de espesor. A esta clasificación entran los materiales conocidos como el grafeno (Figura 1.5) y las películas delgadas, y sus aplicaciones más comunes son como electrónicos semiconductores y recubrimientos ópticos y para sustratos.

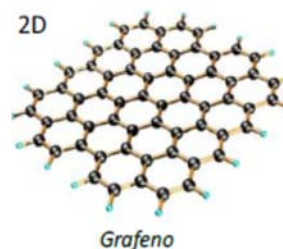


Figura 1.5 Grafeno, nanomaterial de 2D.

- Sistemas de tres dimensiones (3D), la característica de estos materiales es que los elementos 0D, 1 D y 2D forman interfaces manteniendo un contacto entre sí; pueden ser multicapa y policristalinos como el mostrado en la Figura 1.6. Las interfaces y la "desaparición" de la superficie de nanopartículas es la diferencia fundamental entre nanomateriales compactos tridimensionales y polvos nanocristalinos con diversos grados de aglomeración.

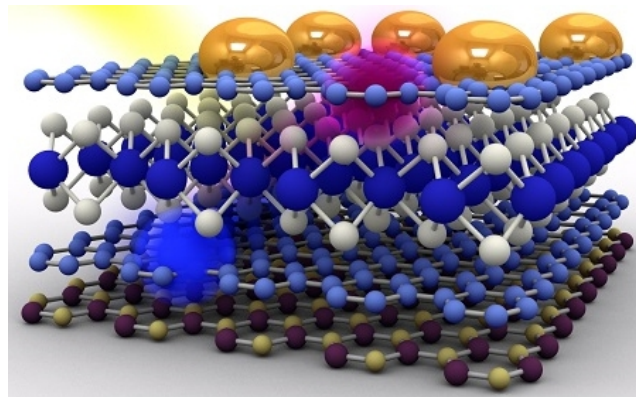


Figura 1.6 Nanomaterial en 3D.

1.2.4 Producción de nanomateriales

Existen dos métodos principales para la obtención de nanomateriales de los que se derivan los demás. Por un lado, existen los métodos denominados “de arriba hacia abajo” o *Top-Down*, que son aquellos que utilizan estructuras de mayores tamaños que los nanómetros, como micrómetros, para llegar a partir de ellas a estructuras nanométricas. Esto se logra tras la realización de distintos procesos, un ejemplo sería el que se utiliza para la construcción de los microchips utilizados en electrónica, en donde por técnicas de litografía se dibujan patrones en materiales semiconductores para obtener circuitos integrados de 32 nm de tamaño. Por el otro lado, se encuentran los métodos de “abajo hacia arriba” o en inglés *Bottom-Up*, en los cuales a partir de procesos físicos y químicos, como la síntesis, se controlan y manipulan los átomos y moléculas para formar y hacer crecer nanoestructuras ¹³.

En lo que se refiere a las técnicas *Bottom-Up* para entenderlas mejor podemos separarlas además en tres tipos¹¹:

1. Síntesis química, estos métodos son comunes para producir materias primas como moléculas o partículas, que se puedan utilizar directamente como productos o bien, para fabricar materiales más avanzados o complejos.
2. Autoensamble, es una técnica en la que los átomos o moléculas se ordenan a sí mismas dentro de nanoestructuras mediante interacciones físicas y/o químicas entre las unidades básicas. El autoensamble ha ocurrido en la naturaleza durante todo el tiempo, pues es la base de la formación de todo organismo vivo, de los cristales de sal y de los copos de nieve. Su uso en la industria es relativamente nuevo, produce pocos desperdicios y utiliza poca energía. Pero, hasta hoy, a través de esta técnica solo se pueden crear sistemas muy simples y rudimentarios, y para mejorarlos es necesario perfeccionar los conocimientos en procesos termodinámicos y cinéticos a nivel nanométrico.
3. Ensamble posicional, en este caso los átomos, moléculas o sus agregados son manipulados deliberadamente y posicionados uno por uno. Este método es extremadamente laborioso y aun no es conveniente como proceso industrial.

1.2.5 Métodos físicos

Algunos métodos físicos se llevan a cabo mediante la evaporación de materiales sólidos llevándolos a gases súper-saturados en donde el tamaño de partículas es controlado con la velocidad de evaporación y la subsecuente adición de partículas al coloide gaseoso¹⁴:

- a) Condensación de gas inerte, este es el método más usado. Una lámina de metal se calienta en un crisol de cerámica, se coloca en una cámara llena de

un gas inerte, típicamente argón sin mucha presión, a continuación, el vapor metálico se enfría rápidamente perdiendo energía en colisión con los átomos del gas, produciendo de ese modo nanopartículas.

- b) Arco de descarga, otro método de vaporizar metales consiste en establecer un arco entre los electrodos metálicos en presencia de un gas inerte.
- c) Bombardeo de iones, en este método se aceleran iones, tales como Ar^+ , y se dirigen hacia la superficie de un objetivo para expulsar átomos y pequeños clusters de su superficie, los iones se llevan al sustrato bajo una presión relativamente alta (~ 1 mTorr) de un gas inerte, provocando la agregación de las especies.
- d) Ablación laser, este procedimiento además de ser útil para metales también lo es para materiales refractarios, mediante la irradiación de una superficie con un láser es posible extraer los átomos de ella; con un flujo de radiación bajo, la superficie del metal se calienta al absorber la energía de los fotones y se evapora.
- e) Pirolisis laser, un precursor en estado gaseoso se mezcla con un gas inerte y se calienta con láser infrarrojo (continuo o pulsado), cuya energía puede ser absorbida por el precursor o por un fotosensibilizador inerte.
- f) Molienda mecánica, este método es de los denominados *Top-Down*; puede causar cambios energéticos en los sólidos debido a la acumulación de defectos en situaciones de no-equilibrio y como consecuencia puede que los sólidos reaccionen químicamente, este efecto se utiliza con frecuencia para crear materiales compuestos nanoestructurados¹⁵.

1.2.6 Métodos químicos.

Los métodos químicos de síntesis por lo general son muy sencillos y se llevan a cabo en tres pasos: nucleación, crecimiento y recubrimiento de la nanopartícula¹⁶:

- a) Reducción química, este es el método más común de síntesis química y se puede llevar a cabo con compuestos orgánicos e inorgánicos y consiste en una reacción de óxido-reducción simple. Básicamente lo necesario para llevar a cabo este procedimiento son mínimo dos precursores, uno con el reductor y otro con el compuesto que se planea reducir y de donde se obtendrá el material con el que fabricaremos las nanopartículas; también en muchas ocasiones se utiliza un tercer precursor que es el surfactante y cuya función es la de brindarle una mayor estabilidad a las nanopartículas, pero sin que este interactúe en la reacción de óxido-reducción.
- b) Método sol-gel, es un proceso que se lleva a cabo en fase húmeda, se parte de una solución líquida (sol) que actúa como precursor de una red tridimensional (gel) ya sea de partículas discretas o poliméricas, la red atrapa al líquido impidiendo que se separe, y a su vez el líquido impide que el sólido se colapse en una masa compacta.
- c) Síntesis solvotermal, es la síntesis que se lleva a cabo en un recipiente cerrado en donde se emplean temperaturas mayores a la temperatura de ebullición del solvente, facilitando la interacción entre el solvente y el precursor; usualmente se emplean como solventes agua, etanol y/o tolueno.
- d) Técnicas de microemulsión, la síntesis de nanopartículas por este método se basa en la separación inicial espacial de reactivos (precursor de metal y el agente reductor) en dos fases inmiscibles. La interfaz entre los dos líquidos y la intensidad del transporte entre dos fases, que está mediada por la sal cuaternaria de amonio-alquilo, afecta la velocidad de las interacciones entre los precursores y agentes reductores de metal.
- e) Reducción fotoquímica, la reducción se lleva a cabo al inducir un haz de luz en el espectro ultravioleta sobre el precursor de la sal metálica¹⁵.
- f) Síntesis electroquímica, este método consiste en seis pasos básicos, disolución oxidativa del ánodo, migración de los iones metálicos al cátodo, reducción de los iones a un estado de valencia cero, formación de partículas mediante nucleación y crecimiento, recubrimiento de las partículas, precipitación de las partículas¹⁴.

1.2.7 Riesgos de los nanomateriales

Si bien la nanotecnología y los nanomateriales ofrecen propiedades muy superiores a las que tiene el material en bulto, también en ciertos casos resultan riesgosos; estos riesgos son consecuencia de las características que los hacen tan eficientes y versátiles, por ejemplo su tamaño que los hace inclusive más pequeños que las células humanas les permite interactuar directamente con ellas y al ser tan activos los nanomateriales influyen fuertemente en los organismos vivos si se tiene la cantidad suficiente, por lo tanto es necesario utilizarlos con prudencia y conocer tanto su lado positivo como el negativo. Las personas, animales y plantas estamos expuestos a estos en diversas formas¹⁷:

- En el aire, en el ambiente se encuentran flotando diversas partículas de manera natural partículas volcánicas, y de manera artificial podemos encontrar nanopartículas en los diferentes gases emitidos por los vehículos automotores y fábricas.
- En el agua, tenemos partículas de óxido de hierro o plata para desinfectar el agua que se utiliza para el consumo humano, y también se encuentran partículas de materiales radioactivos que se van erosionando o que se van filtrando al suelo hasta llegar a los mantos acuíferos.
- En la comida, se pueden encontrar nanopartículas diversas en la comida para evitar el crecimiento de hongos y otros microorganismos.
- En la medicina, se encuentran las nanopartículas de plata para combatir microorganismos no deseados, se utilizan nanopartículas fluorescentes para la detección de cáncer, y otros tipos de nanopartículas para combatir diversas enfermedades.

Dado que los nanomateriales se encuentran prácticamente en todos lados y los posibles riesgos son muchos, es necesario regular su uso, ya que generalmente los artículos que los usan no especifican que nanomateriales contienen, actualmente el

Consejo Internacional de Gobierno de Riesgos o *The International Risk Governance Council* (IRGC) es la encargada de analizar esta situación¹⁸.

1.3 NANOPARTÍCULAS.

Anteriormente se explicó que las nanopartículas son aquellas en donde todas sus dimensiones son de orden nanométrico y por consiguiente son considerados con dimensión cero. Además, se mostraron las diferentes técnicas que tenemos para obtener nanomateriales, aunque también se pueden producir en la naturaleza o de manera accidental por las diferentes actividades del ser humano.

Pero además de lo anterior cabe mencionar que las nanopartículas tienen geometrías muy bien definidas y ordenadas, dado que los átomos se comportan como esferas a la hora de formar las nanopartículas crean geometrías que se encuentran dentro de los cinco sólidos de Platón que se aprecian en escala de grises y los trece sólidos de Arquímedes que se muestran a color en la Figura 1.7. Los sólidos de Platón o sólidos regulares son poliedros convexos en donde todas sus caras son polígonos regulares iguales entre sí, y en que todos los ángulos sólidos son iguales; mientras que los sólidos de Arquímedes son poliedros convexos cuyas caras son polígonos regulares de al menos dos tipos¹⁹.

La geometría de las partículas influye en las propiedades que tienen éstas, mientras más caras que contengan el plano más activo ésta será más activa; por ejemplo en el caso del oro o de la plata en donde su celda unitaria es cubica centrada en las caras o FCC del inglés *face cubic center*, el plano más activo es el (111)²⁰, y por lo tanto la geometría que resulta más activa es un icosaedro porque tiene un total de 20 caras con el plano (111)²¹.

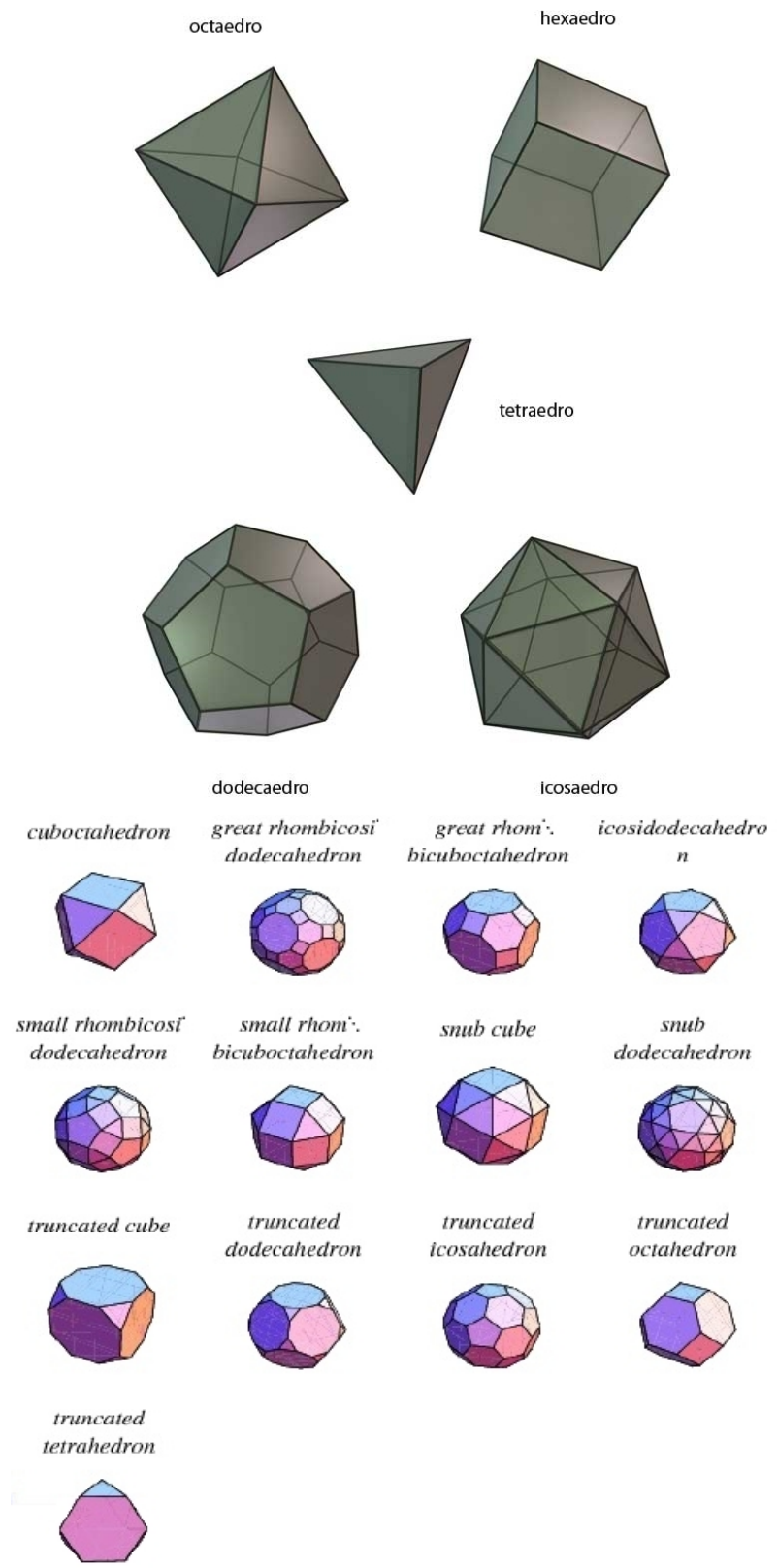


Figura 1.7 Solidos de Platón en escala de grises y solidos de Arquímedes a color.

1.4 NANOPARTÍCULAS DE PLATA.

Desde la antigüedad la plata ya era usada no solo como dinero o joyas, sino también para cocinar, guardar agua potable e inclusive en instrumentos quirúrgicos²². En la actualidad se usa en la medicina a nano, micro o macro escala. Las nanopartículas de plata son utilizadas para una gran variedad de aplicaciones en la investigación y desarrollo tecnológico en las industrias, ya que tienen una gran conductividad eléctrica y estabilidad química. Por ejemplo, las nanopartículas de plata se utilizan en diversos dispositivos optoelectrónicos, en sensores químicos y biológicos debido a que poseen una gran sensibilidad, además sirven como excelentes catalizadores para una variedad infinita de reacciones. Sus más amplias aplicaciones son en sectores como el alimentario para la conservación de alimentos, en la industria textil para eliminar olores causados por las bacterias, en diferentes productos cosméticos y de higiene personal como los desodorantes; así como para aplicaciones en el área de las ciencias biomédicas debido que son potentes agentes antimicrobianos, bactericidas y fungicidas ²³.

En 1965 Moyer concluyó en base a estudios *in vitro* e *in vivo* que un 0.5% de nitrato de plata en solución es la concentración mínima en donde se obtienen propiedades bactericidas para los siguientes microorganismos: *Staphylococcus aureus*, *Haemolytic streptococci*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*²⁴. En 2010 fue demostrado que se puede inhibir la capacidad del virus de VIH para unirse con la célula huésped con ayuda de las nanopartículas de plata²⁵. En 2014 el Dr. Humberto Lara Villegas desarrolló una crema a base de nanopartículas de plata para evitar el contagio de enfermedades de transmisión sexual. Estos son solo algunos ejemplos de los miles que hay actualmente, básicamente se utilizan en cualquier producto comercial que esté directamente en contacto con los seres humanos.

1.4.1 Mecanismos de acción

El efecto bactericida de las nanopartículas de plata se le atribuye a diversas causas, se ha demostrado que las nanopartículas de plata no presentan actividad bactericida si no tienen un porcentaje mínimo iones de Ag^{+2627} . A pesar de que no está claro cuál es el principal mecanismo de acción contra microorganismos, existen una gran variedad de estudios que apuntan diversos caminos que sigue la plata nanométrica para lograr esto; los mecanismos reportados al momento son (Figura 1.8):

- Las nanopartículas de plata tienen la cualidad de poder anclarse a la membrana y pared celular de los microorganismos acumulándose y posteriormente forman huecos cambiando estructuralmente la membrana celular, afectando directamente la permeabilidad celular y como consecuencia se produce la muerte celular²⁸.
- Al realizar una síntesis química regularmente no se lleva a cabo una reducción del 100% de la sal de plata, por lo que quedan iones Ag^{+} y como se expuso anteriormente ayudan al efecto bactericida; éstos pueden interactuar directamente con el citoplasma y el ácido nucleico, lo que inhibe la respiración de la cadena de enzimas²⁹.
- Otro efecto importante es que ayudan a incrementar la producción de especies reactivas del oxígeno, aunque éstas siempre están presentes, al haber un incremento se produce un desbalance por parte del sistema de los microorganismos para poder asimilar éstas especies y se producen efectos tóxicos o mejor llamado estrés oxidativo³⁰.
- Las nanopartículas de plata son capaces de causar genotoxicidad, daño a la estructura del ADN, a cualquier tipo de microorganismo³¹.

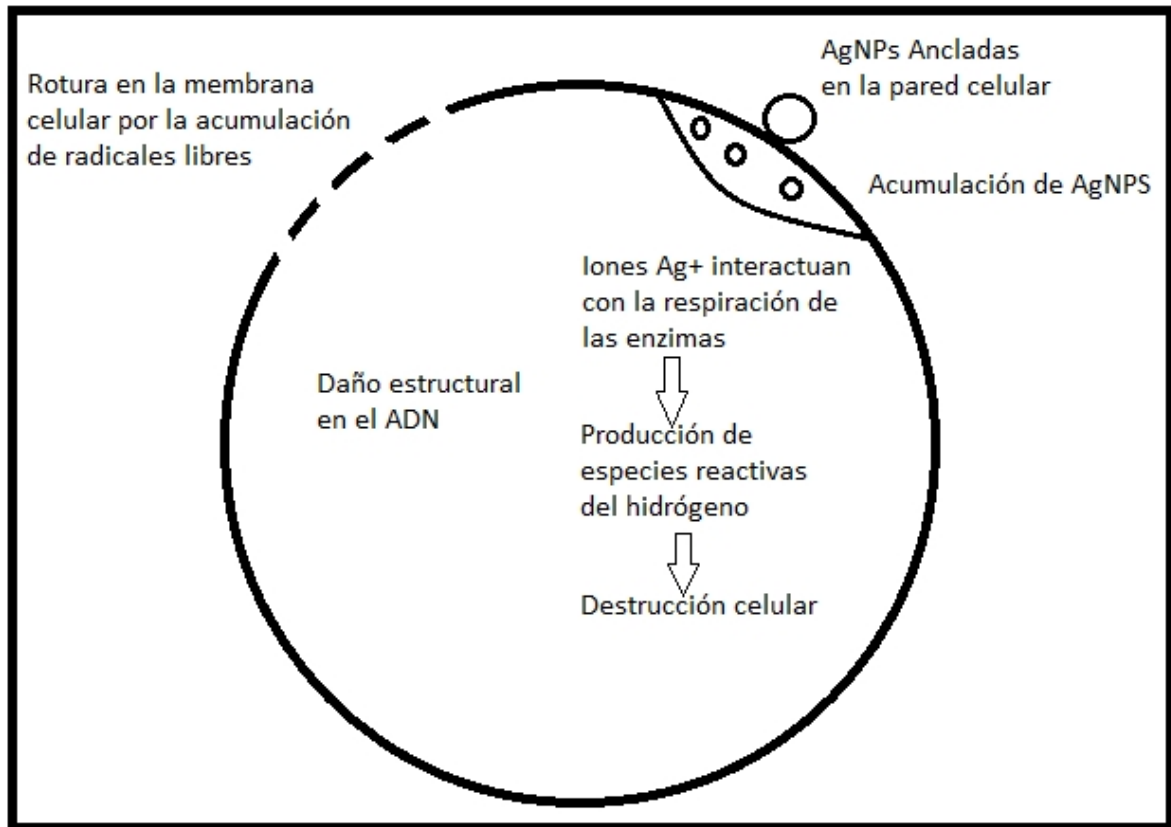


Figura 1.8 Mecanismos de acción de las nanopartículas de plata²⁸.

1.4.2 Citotoxicidad de las nanopartículas de plata.

Las nanopartículas de plata tienen la ventaja de tener un gran poder antimicrobiano y esto es porque atacan directamente a las células. Un inconveniente que tienen es que no son selectivas al momento de distinguir entre células procariontas (bacterias y arqueas) y células eucariotas (animales, plantas, hongos, etc.). La célula es el elemento más pequeño considerado vivo, las células presentan una membrana citoplasmática que separa el citoplasma del medio exterior; lo que diferencia a las células procariontas de las células eucariotas es la ausencia de un núcleo definido y que poseen una pared celular que las hace más resistentes en la mayoría de las ocasiones en comparación con las células eucariotas. En la Figura 8 se observan las diferencias entre una célula eucariota y una célula procarionta.

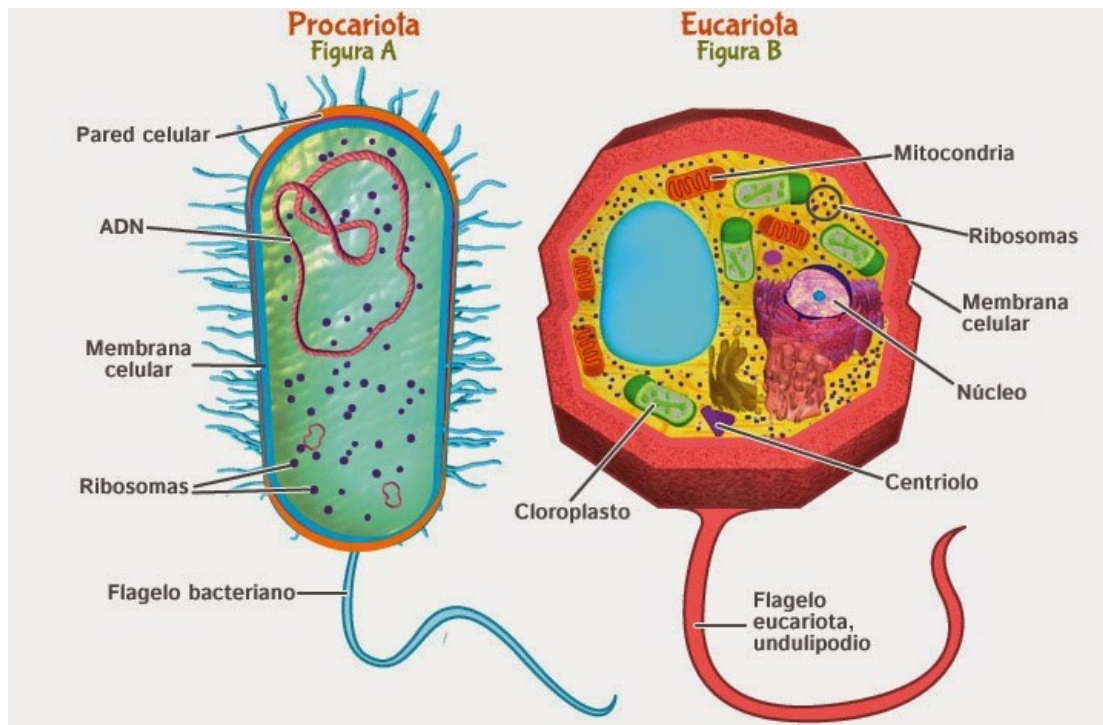
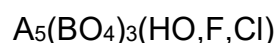


Figura 1.9 a) Estructura interna de una célula procariota, **b)** estructura interna de una célula eucariota³².

Debido a que las nanopartículas de plata no presentan selectividad en el tipo de célula y los mecanismos de acción de las nanopartículas de plata funcionan de igual manera en ambos tipos de células éstas pueden causar necrosis en bacterias, pero también pueden causarla en células animales incluyendo a las humanas ³³.

1.5 HIDROXIAPATITA.

La hidroxiapatita es un biomaterial cristalino formado por fosfatos de calcio e hidróxido de calcio. Se encuentra en toda la estructura ósea siendo el principal componente de los huesos, el hueso contiene cerca del 96% de hidroxiapatita lo que le da su dureza y color característicos (Figura 1.10)³⁴³⁵. La fórmula química general de las apatitas, nombre general para un grupo de minerales, es:



En donde A pueden ser los cationes metálicos, calcio, bario, sodio, plomo, estroncio, lantano o cerio. Los cationes B pueden ser fósforo, vanadio o arsénico. Los grupos del anión de carbonato, CO₃, los grupos del anión de carbonato, CO₃, y los grupos del anión de silicato, SiO₄, pueden sustituir en un grado limitado a los grupos BO₄³⁶.

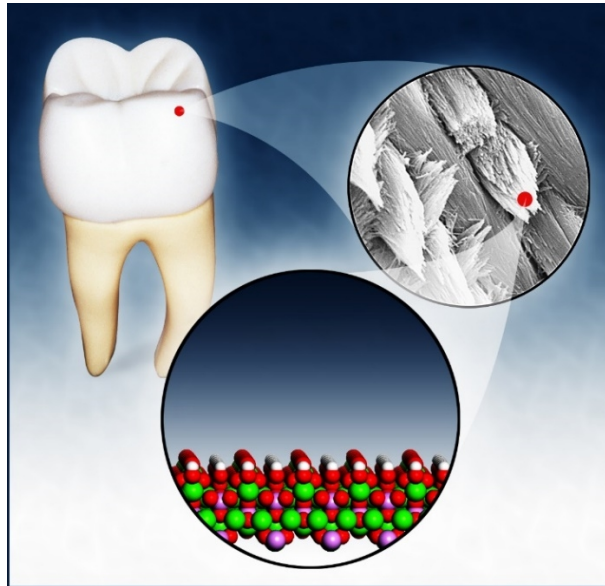


Figura 1.10: Hidroxiapatita en dientes.

En el caso de la hidroxiapatita la fórmula es Ca₅(PO₄)₃(HO) aunque usualmente se escribe como Ca₁₀(PO₄)₆(HO)₂, esto debido a que la celda unitaria requiere dos entidades para completarse, en la Tabla 1.1 podemos apreciar las características cristalográficas de la celda unitaria de la hidroxiapatita, tales como los parámetros de red, el grupo espacial P6₃/m que nos dice que tiene estructura hexagonal, y la posición atómica de cada uno de los átomos que la conforman, en la Figura 1.11 es posible ver la forma de la celda unitaria de la hidroxiapatita utilizando los datos de la Tabla 1.1. La densidad teórica puede ser calculada de la siguiente manera³⁷:

- Peso molecular

$$P = 40.1(10) + (30.98 + 16(4))(6) + 16(2) + 1(2) = 1004.88$$

- Volumen de la celda unitaria

$$V = \frac{1}{2}a \left(\frac{3}{2}a \right) 2c = 528.714^{-2} \text{ cm}^3$$

- Peso de la celda unitaria

$$W = \frac{1004.88}{N_A} = \frac{1004.88}{6.02 \times 10^{23}} \text{ g}$$

- por lo tanto la densidad

$$\rho = \left(\frac{1004.88}{6.02 \times 10^{23}} \text{ g} \right) (528.714 \times 10^{-23} \text{ cm}^3)^{-1} = 3.1564 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$$

Tabla 1.1 Características de la estructura cristalina de la hidroxiapatita³⁶.

Celda	a = 9.36Å	b = 9.36Å	c = 6.86Å;
	$\alpha = 90^\circ$	$\beta = 90^\circ$	$\gamma = 120^\circ$
SGR	P 6 ₃ / m		
Clase	6 / m		
Átomo	Coordenada*		
	X	Y	Z
Ca	0.67	0.33	0.0016
Ca	-0.0070	0.2416	0.25
P	0.3694	0.3984	0.25
O	0.4859	0.3273	0.25
O	0.4667	0.5882	0.25
O	0.2575	0.3414	0.0707
OH	0.00	0.00	1.00

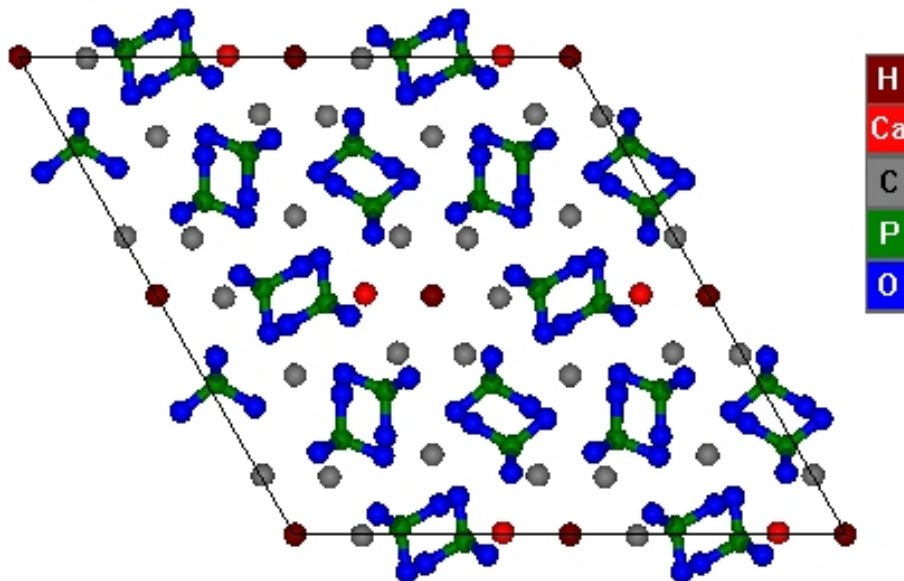


Figura 1.11 Celda unitaria de hidroxiapatita.

1.5.1 Aplicaciones de la hidroxiapatita.

A partir de diversas investigaciones se sabe que la hidroxiapatita, como cualquier apatita o diversos minerales como las zeolitas, tiene la capacidad de realizar intercambio iónico, esto es posible realizarlo al sumergir el mineral en soluciones acuosas con cationes metálicos M^+ disueltos, al encontrarse la hidroxiapatita en el medio acuoso se pueden intercambiar ciertos iones Ca^{2+} superficiales con los disueltos en la solución³⁸. Lo anterior resulta útil dando paso a diversas aplicaciones, por ejemplo captar iones de metales no deseados en soluciones acuosas como aguas de desecho; otra aplicación es sustituir los iones Ca^{2+} superficiales por iones metálicos específicos como el Pd^+ y Ru^+ , generando un complejo fosfato estable monómero, que exhibe, según Kohsuke Mori, un buen desempeño catalítico para varias reacciones de oxidación³⁹. Pero las principales aplicaciones de la hidroxiapatita están enfocadas en el área de las ciencias biomédicas, más específicamente para ayudar a la regeneración de huesos; y en procedimientos quirúrgicos como implantes óseos, dentales y oculares esto debido a su gran biocompatibilidad.

Actualmente la ciencia, en torno a la aplicación de la hidroxiapatita para fines biológicos, se está enfocando en mejorar las propiedades o darle nuevas características que no son propias de la hidroxiapatita combinándola con diferentes iones metálicos, la ruta más común es la de insertar iones metálicos, por ejemplo Pd^+ , durante la síntesis de la hidroxiapatita⁴⁰.

1.5.2 Nanocompuesto Ag-HAP

Como ya se mencionó anteriormente debido a la gran proporción de hidroxiapatita en el cuerpo humano, principalmente en el sistema óseo, la hidroxiapatita se utiliza ampliamente en aplicaciones biológicas más específicamente en cirugías ortopédicas, y aunque ha arrojado resultados realmente buenos un problema que presenta es que se deben realizar intervenciones quirúrgicas para implantarla

dentro del cuerpo. Las implicaciones de tipo infeccioso siguen siendo el principal motivo de muerte en procesos post-operatorios de los pacientes sometidos a cirugía electiva siendo el riesgo de infección del 2% aunque se realice una cirugía limpia, eso sin considerar los factores que implica el estar hospitalizado y los propios de cada persona como la edad y hábitos de dicha persona. En el caso específico de las cirugías ortopédicas una infección implica la remoción del implante, lo cual además de la salud repercute en la economía del paciente, por lo cual siempre se recomienda aplicar antibióticoterapia profiláctica "pre, trans y post-operatoria"[39,40].

Para resolver ésta problemática se realizan estudios científicos para combinar la hidroxiapatita con plata, esto con el propósito de darle propiedades antimicrobianas para eliminar un posible contagio de cualquier tipo infección durante procedimientos quirúrgicos⁴³ o sobre la superficie de los implantes en un periodo posterior a la operación. Se está trabajando con varios métodos para llevar a cabo la combinación del mineral con el metal, aunque la manera más habitual de obtener el material Ag-HAP es mediante la sustitución de cationes de calcio Ca^{2+} con cationes de plata Ag^+ al momento de sintetizar la hidroxiapatita⁴⁴. Otro método utilizado, es el de sumergir la hidroxiapatita en soluciones acuosas con alguna sal de plata disuelta en el medio; esto con la intención de que se pueda llevar a cambio el intercambio iónico, igualmente entre la plata y el calcio, pero en esta ocasión solo se produce con el calcio superficial⁴⁵⁴⁶.

Con base en toda la información mostrada hasta este punto, para asegurar una buena actividad bactericida, se busca obtener AgNPs con un tamaño promedio aproximado de 15 nm ($\varnothing_{\text{prom}}$), con una distribución de tamaño lo más homogénea posible; y además con un tamaño por encima de 10 nm, ya que los trabajos consultados nos dicen que aquellas partículas con un diámetro menor a 10 nm tienen un alto grado de citotoxicidad⁴⁷.

2. METODOLOGÍA

2.1 MATERIALES

Para las síntesis se utilizó nitrato de plata (AgNO_3 con una pureza del 99%). Como agentes reductores se utilizaron borohidruro de sodio (NaBH_4 granular con una pureza del 99.99%) y etilenglicol al 96% de pureza. Como surfactante se utilizó polivinilpirrolidona (PVP40, MW 40000). La hidroxiapatita (grado reactivo en polvo) se compró ya sintetizada para asegurar homogeneidad en este material. Sigma-Aldrich fue la compañía encargada de proveer todos los reactivos mencionados anteriormente. Para las síntesis por reducción química con borohidruro de sodio se utilizó agua destilada con una resistividad de 15 $\text{M}\Omega$ obtenida en el CFATA.

2.1.1 Síntesis de las nanopartículas de plata

Las rutas de obtención de nanopartículas que se utilizaron son síntesis químicas de reducción; sin embargo, en la literatura se le suele llamar síntesis por reducción química a la realizada en medios acuosos utilizando cualquier agente reductor, y se les conoce como el método del poliol aquellas en las que se utilizan polioles (comúnmente etilenglicol) como medios de solución y agente reductor a la vez. La manera de limpiar las nanopartículas para ambos métodos fue la misma, la suspensión coloidal se mezcló con un volumen similar de acetona, después se centrifugó (8000 rpm por 30 min), se repitió el proceso tres veces; seguido se procedió a realizar la misma limpieza, pero sustituyendo la acetona con agua desionizada.

2.1.2 Síntesis por el método de reducción química con borohidruro de sodio (reducción química)

La metodología de síntesis utilizada se deriva de la descrita por Ruíz-Baltazar ⁴⁸. El proceso completo debe ser llevado a agitación constante y continua. En la Figura 2.1 se muestra la síntesis en proceso con el equipo utilizado para la misma, siendo el método el siguiente:

- Se prepararon los precursores de AgNO_3 en 10ml de agua destilada a:
 - 5 mM
 - 10 mM
 - 20 mM
- Se preparó el precursor de NaBH_4 a 20mM en 10ml de agua.
- Se preparó el precursor de PVP 40 a 100mM en 10ml de agua.
- Se mezclaron los precursores de AgNO_3 y PVP.
- Se adicionó por goteo el NaBH_4 , para asegurar que la adición del reductor fuera de esta manera se empleó un embudo de separación posicionado de manera vertical y abierto a la atmosfera para que cayera únicamente por efecto de la presión hidrostática del fluido siendo el precursor del reductor en este caso particular.
- Se dejó estabilizar la reacción por 10 minutos más.

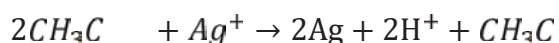
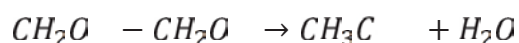


Figura 2.1: Síntesis en proceso por el método de reducción química.

2.1.3 Síntesis de reducción química utilizando como agente reductor etilenglicol (poliol)

Para el caso del poliol se probaron diferentes metodologías encontradas en la literatura, pero al final se optó por combinar elementos de dos diferentes artículos (49)(50). Es importante que el proceso sea realizado con agitación constante y continua, esto para asegurar que al calentar la reacción se lleve de manera homogénea, así mismo para asegurar que la reducción sea también homogénea en cualquier parte de la solución al momento de adicionar el nitrato de plata.

El mecanismo general de reducción del etilenglicol puede ser representado por las reacciones siguientes⁵¹:



En las Figuras 2.2 y 2.3 se puede ver el equipo empleado para este proceso de síntesis, el método para la misma es el siguiente:

- Se prepararon los precursores de AgNO₃ en 15ml de etilenglicol a:
 - 5 mM
 - 10 mM
 - 20 mM
- Se preparó el precursor de PVP 40 a 100mM en 15ml de etilenglicol.
- El precursor de etilenglicol se llevó a una temperatura de 100°C y se dejó estabilizar.
- Se adiciono el precursor de AgNO₃ a un flujo promedio de 1.5ml/s.
- Se dejó la reacción a una temperatura de 100°C por 30 min.
- Se mantuvo en reposo la reacción, por 2 días, en un cuarto a temperatura ambiente.



Figura 2.2: Equipo utilizado para la síntesis por el método del poliol.



Figura 2.3: Equipo utilizado para la síntesis por el método del poliol.

2.1.4 Metodología utilizada para soportar plata sobre hidroxiapatita

La metodología que se siguió para llevar a cabo el soporte de las nanopartículas de plata fue la misma que en las síntesis de las mismas, pero con la diferencia de que la hidroxiapatita, a 200mM sobre la solución final, fue introducida al principio de la síntesis: para el caso del método de reducción química se introdujo al momento de mezclar los precursores de AgNO_3 y PVP, y para el caso del método del poliol se adiciono al precursor de PVP antes de ser calentado a 100°C . Lo anterior es posible gracias a la propiedad de la hidroxiapatita de intercambiar iones con otras sustancias, propiedad sustentada en la introducción de este trabajo cuando se habló de la hidroxiapatita; esta técnica se extrapoló a utilizarse con etilenglicol que al ser una sustancia polar también es capaz de diluir sales, y por tal motivo cumple perfectamente esta función como medio de solución en el método del poliol al momento de soportar las nanopartículas sobre la hidroxiapatita.

2.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

2.2.1 Espectroscopia UV-visible

La espectroscopia UV-Visible es una técnica de caracterización que nos permite llevar a cabo mediciones de longitud de onda fija. El funcionamiento de los equipos de este tipo es básicamente el hacer incidir un haz de luz, con un rango de longitud de onda comprendido entre el espectro de luz visible y el ultravioleta, en una muestra en solución y captando ya sea la reflectancia o transmitancia característica de dicha muestra (Figura 2.4). Estos equipos se basan en la relación empírica conocida como “*la Ley de Beer-Lambert-Bouguer*”; esta ley relaciona la intensidad del haz incidente en un medio con la intensidad del haz después de pasar por el medio:

$$T^{-1} = \frac{I_S}{I_E} = 10^{-A}$$

Donde:

T = Transmitancia

I_E = Intensidad de haz de incidente o de entrada

I_S = Intensidad del haz al haber pasado por la muestra o de salida

A = Absorbancia

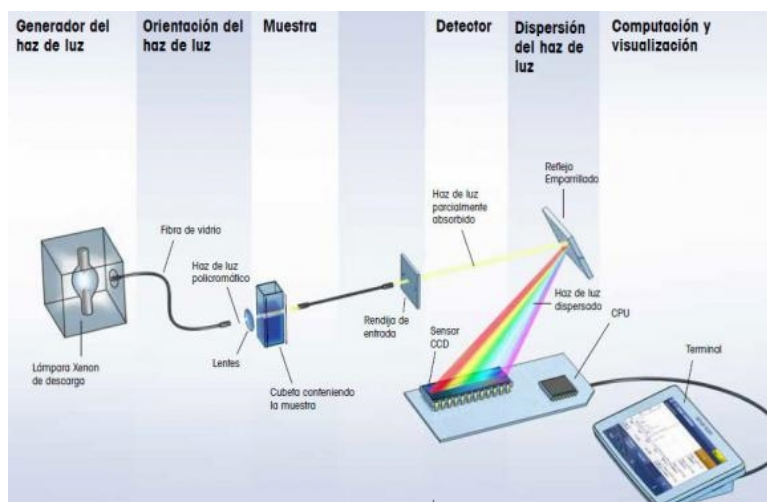


Figura 2.4: Funcionamiento de un espectrofotómetro de UV-Vis.

Las nanopartículas metálicas del grupo 11 en la tabla periódica (Figura 2.5), como es el caso de la plata, presentan frecuencias de resonancia plasmónica en el rango de la luz visible, estas frecuencias dependen del tamaño y la forma que tengan (Figura 2.6)⁵².

hydrogen 1 H 1.0079												helium 2 He 4.0026							
lithium 3 Li 6.941	beryllium 4 Be 9.0122	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"> Key: element name atomic number symbol atomic weight (mean relative mass) </div>										boron 5 B 10.811	carbon 6 C 12.011	nitrogen 7 N 14.007	oxygen 8 O 15.999	fluorine 9 F 18.998	neon 10 Ne 20.180		
sodium 11 Na 22.990	magnesium 12 Mg 24.305	scandium 21 Sc 44.956	titanium 22 Ti 47.887	vanadium 23 V 50.942	chromium 24 Cr 51.996	manganese 25 Mn 54.938	iron 26 Fe 55.845	cobalt 27 Co 58.933	nickel 28 Ni 58.693	copper 29 Cu 63.546	zinc 30 Zn 65.39	gallium 31 Ga 69.723	germanium 32 Ge 72.61	arsenic 33 As 74.922	selenium 34 Se 78.96	bromine 35 Br 79.904	krypton 36 Kr 83.80		
potassium 19 K 39.098	calcium 20 Ca 40.078	yttrium 39 Y 88.906	zirconium 40 Zr 91.224	niobium 41 Nb 92.906	molybdenum 42 Mo 95.94	technetium 43 Tc [98]	ruthenium 44 Ru 101.07	rhodium 45 Rh 102.91	palladium 46 Pd 106.42	silver 47 Ag 107.87	cadmium 48 Cd 112.41	indium 49 In 114.82	tin 50 Sn 118.71	antimony 51 Sb 121.76	tellurium 52 Te 127.60	iodine 53 I 126.90	xenon 54 Xe 131.29		
rubidium 37 Rb 85.468	strontium 38 Sr 87.62	cesium 55 Cs 132.91	barium 56 Ba 137.33	*lanthanoids 57-70 * lanthanum 71 La 138.91	hafnium 72 Hf 178.49	tantalum 73 Ta 180.95	wolfram 74 W 183.84	reuterium 75 Re 186.21	osmium 76 Os 190.23	iridium 77 Ir 192.22	platinum 78 Pt 195.08	gold 79 Au 196.97	mercury 80 Hg 200.59	thallium 81 Tl 204.38	lead 82 Pb 207.2	bismuth 83 Bi 208.98	polonium 84 Po [209]	astatine 85 At [210]	radon 86 Rn [222]
francium 87 Fr [223]	radium 88 Ra [226]	**actinoids 89-102 ** actinium 89 Ac [227]	thorium 90 Th 232.04	protactinium 91 Pa 231.04	uranium 92 U 238.03	neptunium 93 Np [237]	plutonium 94 Pu [244]	americium 95 Am [243]	curium 96 Cm [247]	berkelium 97 Bk [247]	californium 98 Cf [251]	einsteinium 99 Es [252]	fermium 100 Fm [257]	mendelevium 101 Md [258]	nobelium 102 No [259]				
												unbinilium 111 Ubu [272]	ununilium 112 Ubu [273]						
												unununium 113 Ubu [274]	unununium 114 Ubu [275]						

Figura 2.5: Grupo 11 en la tabla periódica de elementos.



Figura 2.6: Localización de diferentes morfologías típicas de nanopartículas de plata y oro en el espectro de luz según la absorción provocada por la resonancia del plasmón superficial.

El equipo utilizado para el análisis fue un espectrofotómetro UV-1600PC marca VWR para líquidos, con una fuente de luz de halógeno de Deuterio/Tungsteno, un rango de longitud de onda de 190-1100 nm y un detector de silicón que otorga 1200 líneas/mm, ubicado en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) de la UNAM Campus Juriquilla en Querétaro, Qro, Mex. (Figura 2.7a). El software de análisis utilizado es el M. Wave Professional para Windows. Estos

equipos utilizan un patrón del medio para medir las propiedades ópticas del soluto en la solución.

La preparación de la muestra se llevó a cabo en celdas para líquidos de acrílico (Figura 2.7b), se vertieron 100 μ l de cada una de las seis muestras de nanopartículas, para el caso de las muestras sintetizadas por reducción química se completaron con 1ml de agua desionizada, y para el caso de las sintetizadas por el método del polirol fue con 1ml de etilenglicol; se homogenizó la reacción mediante agitación por un minuto.



Figura 2.7: a) Izquierda, espectrofotómetro UV-1600PC marca VWR localizado en el CFATA; b) derecha, celda para líquidos de acrílico para UV-Vis.

2.2.2 Difracción de rayos X

Difracción de rayos X es una técnica de caracterización de carácter no destructivo, ya que los rayos x es radiación electromagnética (figura 20) de la misma naturaleza que la luz, pero con una longitud de onda de angstroms (\AA), aproximadamente entre 0.5-2-5 \AA , un valor muy por debajo de la longitud de onda de la luz visible que se encuentra en el rango de 380-750nm; esta técnica proporciona información de las fases cristalinas de la muestra a analizar. Se pueden obtener tanto datos cualitativos

como cuantitativos. Es por la dispersión elástica del haz de fotones, al incidir sobre un material cristalino, que se produce el espectro de difracción de rayos x, pero para esto es necesario que se cumpla la ley de Bragg (Figura 2.8) ⁵³:

$$n \lambda = 2d_{hkl} \sin \theta$$

λ = Longitud de onda de los fotones incidentes.

d_{hkl} = Distancia interplanar en la red cristalina (familia de planos).

θ = Ángulo de difracción con respecto al plano de difracción.

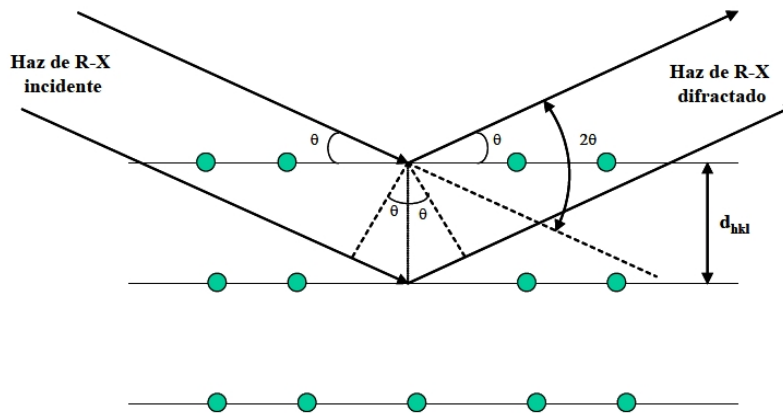


Figura 2.8: Componentes de la ley de Bragg para que haya difracción de rayos x.

En la Figura 2.9 se muestra el espectro de radiación electromagnética, en dicha imagen se especifica la clasificación de la luz de acuerdo a la longitud de onda correspondiente, haciendo énfasis en la luz visible por el ojo humano.

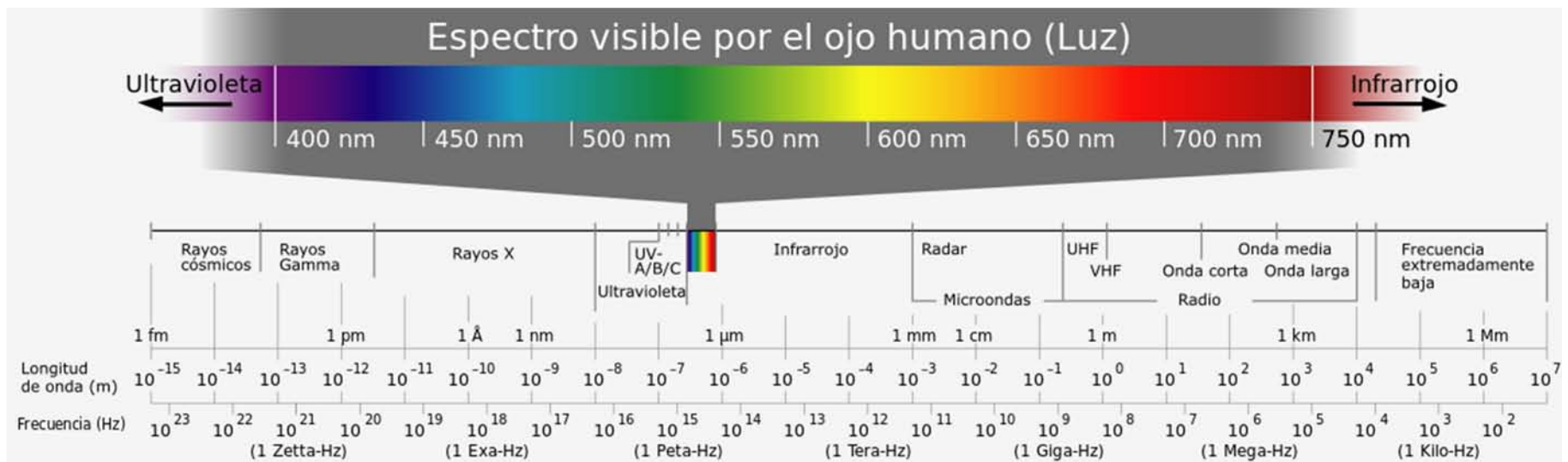


Figura 2.9: Espectro de radiación electromagnética ³

Para la caracterización de las muestras se utilizó el difractor Rigaku Ultima IV (Figura 2.10), equipado con un generador de Rayos X con potencia máxima de 3 kW, con una fuente de Cu con $K\alpha = 1.54 \text{ \AA}$ a 40 kV y una corriente de salida de 2-60 mA, ubicado en las instalaciones del CFATA Campus UNAM Juriquilla.



Figura 2.10: Difractor Rigaku Ultima IV

Para las nanopartículas se utilizó la técnica para películas delgadas, las muestras se prepararon dejando secar partículas en solución sobre un portaobjetos a 80°C hasta eliminar toda la humedad. Para las muestras de hidroxiapatita e hidroxiapatita con plata se utilizó la técnica de difracción de polvos, la preparación de las muestras consiste únicamente en colocarlas sobre el portamuestras de manera homogénea.

Existe una expresión matemática, llamada ecuación de Scherrer, que relaciona el tamaño y posición de los picos de un difractograma con el tamaño promedio del cristal, aunque esta ecuación está limitado al rango nanométrico.

$$\tau = \frac{K}{\beta \cos \theta}$$

τ = ~~τ~~ *Tamaño promedio del cristal.*

K = *Factor de forma de cristal con valor igual a 1.0.*

λ = ~~λ~~ *Longitud de onda de la radiación.*

θ = *Angulo de la ley de Bragg*

β = *Ancho del pico a la altura media con radianes como unidad de medida.*

2.2.3 Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier

Al igual que cualquier otra espectroscopia, la espectroscopia infrarroja tiene como principio básico de funcionamiento el hacer incidir un haz de radiación electromagnética, con longitud de onda perteneciente al espectro infrarrojo, sobre una muestra, pero esta tiene la peculiaridad de medir la absorción del mismo haz que presenta la muestra. Lo que marca la diferencia entre cada una de ellas es el tipo de interacción que tiene con la materia y el proceso que se usa para medir esa misma interacción. Para esto es útil conocer la energía del haz, y esto se puede conocer mediante la ecuación:

$$E = \frac{hc}{\lambda}$$

En donde:

E = Energía del haz.

h = Constante de Planck (6.63×10^{-34} J·s).

c = Velocidad de la luz (aproximadamente 3×10^8 m/s).

λ = Longitud de onda.

Por la cantidad de energía que tiene la luz infrarroja generalmente se usa para excitar los enlaces moleculares, y por consiguiente lo que se mide mediante la espectroscopia infrarroja es la energía entre los niveles vibracionales y rotacionales de los enlaces sin que haya transición electrónica entre estos, siendo así como se originan los espectros⁵⁴. En la Figura 2.11 se puede apreciar los componentes de un espectrofotómetro de luz infrarroja.

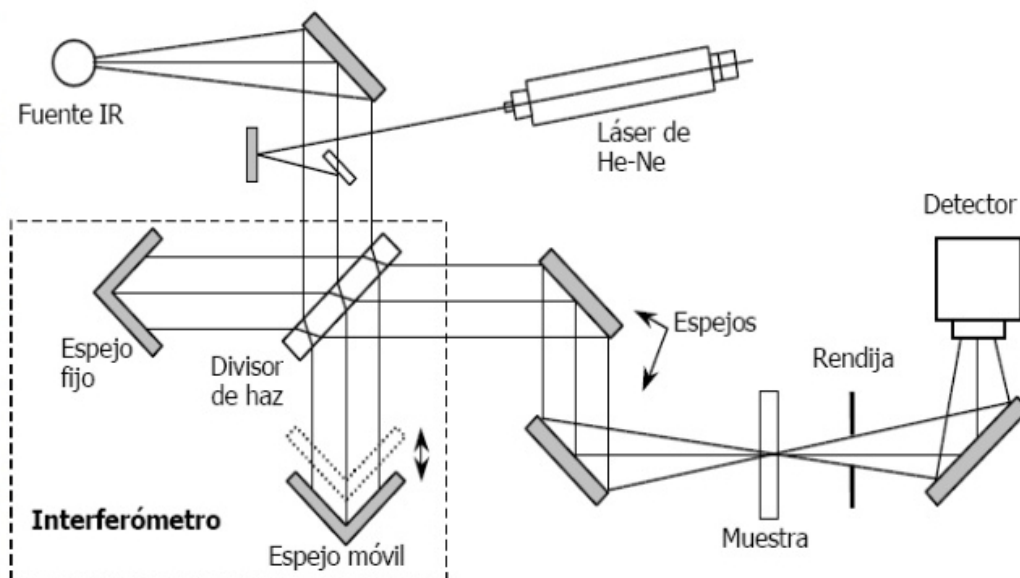


Figura 2.11: Componentes de un espectrofotómetro de luz infrarroja.

El equipo utilizado es un espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier, marca Bruker (Figura 2.12), modelo Vector 33, con el accesorio ATR (Attenuated Total Reflection) con un cristal de diamante, tiene una longitud de onda de 1064 nm, con resolución de 4 cm^{-1} , y trabaja a 32 barridos, ubicado en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada. Las muestras no necesitaron una preparación especial, solo bastó con ponerlas sobre el detector, esto se hizo tanto con las muestras líquidas como las sólidas o en forma de polvo.

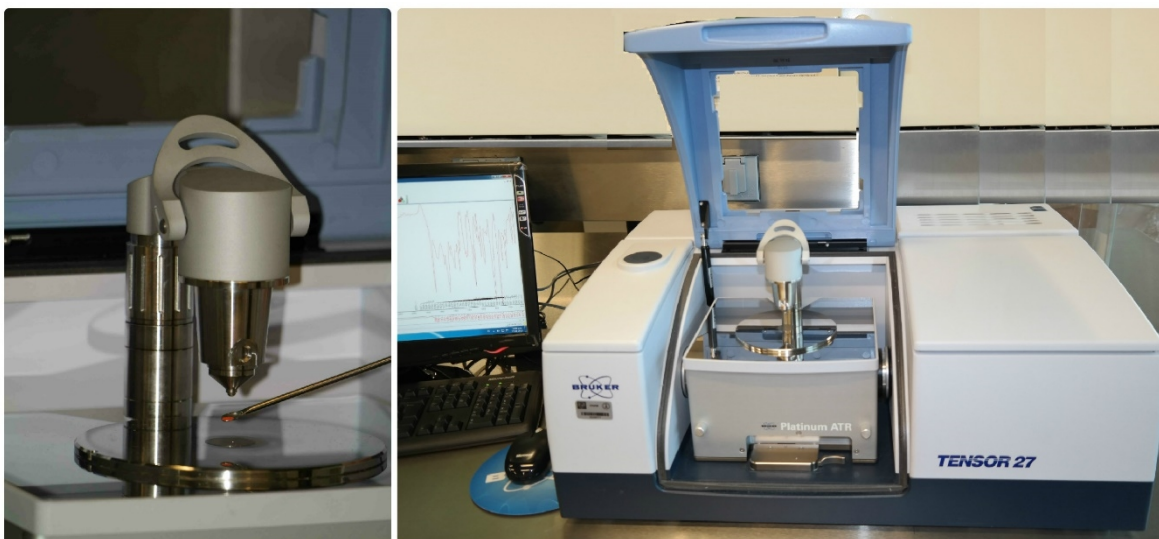


Figura 2.12: Espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier.

2.2.4 Microscopía electrónica

La microscopía electrónica es una técnica fundamental y una poderosa herramienta si se pretende estudiar los nanomateriales; como cualquier microscopía, su meta es poder ver los átomos de la materia. Las limitaciones de cualquier microscopio óptico están dadas por las limitaciones del ojo humano, pero en la microscopía electrónica estas limitaciones se ven reducidas a las de los electrones. La microscopía electrónica puede mostrar desde la forma de un cristal hasta el ordenamiento de los átomos de una muestra, también es posible conocer su composición química.

El funcionamiento de la microscopía electrónica es similar a la de la microscopía óptica, con la gran diferencia que en esta técnica se sustituye el haz de luz por un haz de electrones, esto tiene como consecuencia que en lugar de usar lentes ópticos se utilizan bobinas electromagnéticas o lentes electromagnéticas (Figura 2.13).

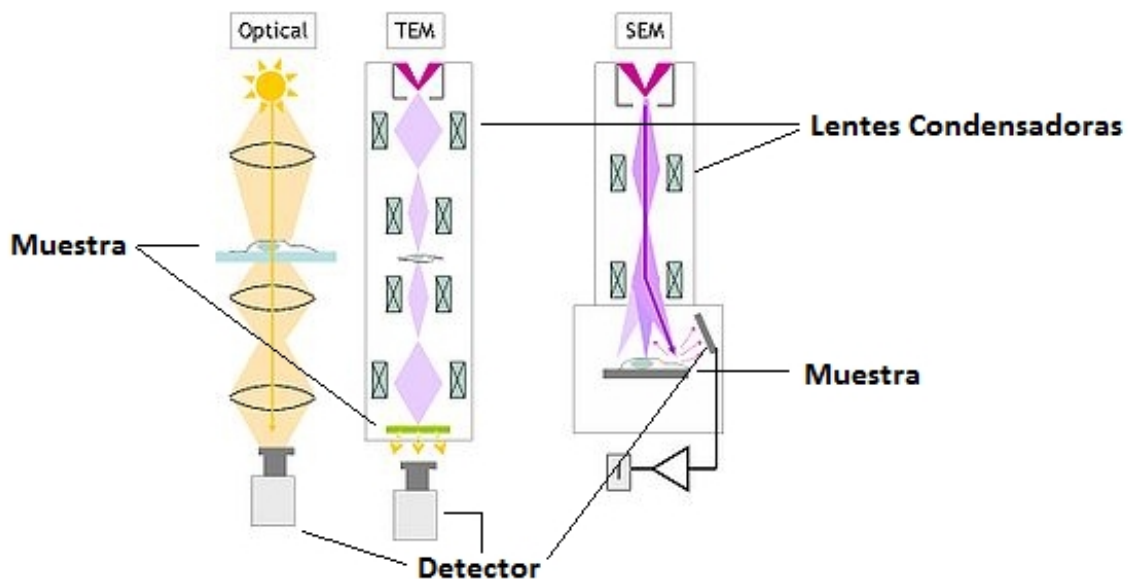


Figura 2.13: Diagrama del funcionamiento de un microscopio óptico, uno electrónico de transmisión y uno electrónico de barrido.

Para la resolución del equipo hay varios factores a considerar, entre los que destacan⁵⁵:

- Tipo de filamento de emisión de electrones, en la Figura 2.14 se pueden observar los diferentes tipos de filamentos utilizados para la emisión de electrones y sus respectivas características.
- Las lentes electromagnéticas, tanto condensadoras como objetivo. Las aberraciones en los lentes pueden afectar la resolución entre 10 y 100 veces.
- Lo diferentes correctores de aberración esférica, cromática y astigmatismo.
- El voltaje de aceleración.
- Calidad y tecnología de los detectores.

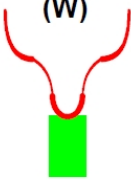
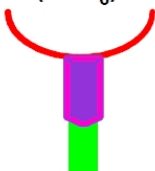


Tungsten (W)	Lanthanum Hexaboride (LaB ₆)	Thermally-Assisted FE (Schottky)	Cold-Cathode FE
			
10 - 20kÅ Beam Diameter 2300°C Operation 1x Brightness 300hrs. Life	10 - 20kÅ Beam Diameter 1500°C Operation 10x Brightness 500 - 1000 hrs.	100 - 250Å Beam Diameter 1500°C Operation 500x Brightness >4000 hrs. Life	30 - 50Å Beam Diameter Ambient Temp. 1000x Brightness >10000 hrs. Life
10 ⁻⁵ Torr Vacuum	10 ⁻⁷ Torr Vacuum	10 ⁻⁹ Torr Vacuum	10 ⁻¹¹ Torr Vacuum

Figura 2.14: Diferentes tipos de filamentos y sus condiciones de operación.

En el campo de la microscopía electrónica existen tres tipos de microscopios electrónicos dependiendo de lo que se quiera obtener de la muestra, esto con ayuda de los diferentes detectores con los que cuente el microscopio, dependiendo de la interacción haz-muestra) y la fuente del haz (Figura 2.15):

1. Microscopía electrónica de barrido (SEM), es más útil para determinar la composición química y la superficie de una muestra.

2. Microscopía electrónica de transmisión (TEM), permite una mayor resolución ya que se pueden observar las columnas atómicas.
3. Microscopía electrónica de transmisión-barrido (STEM), es una combinación de las técnicas mencionadas anteriormente, con lo que se obtienen las ventajas de ambos tipos en los más avanzados tecnológicamente hablando.



Figura 2.15: Diferentes dispersiones que sufre el haz de electrones al interactuar con la muestra.

2.2.5 Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido o SEM por sus siglas en inglés (Scanning Electron Microscopy), se llama de tal manera porque el haz de electrones barre la muestra con lo que se obtiene la imagen de la superficie. Con esta técnica se puede obtener diferente tipo de información dependiendo de los electrones que se tomen en cuenta (Figura 2.16).

- a) Con ayuda de los electrones Auger podemos llevar a cabo un análisis químico de una pequeña parte de la superficie de la muestra.

- b) Los electrones secundarios de la muestra son los responsables de poder crear una imagen topográfica de la muestra.
- c) Los electrones retrodispersados se utilizan para obtener información de la composición superficial de la muestra, esto se debe a que la intensidad de estos depende del número atómico de la muestra.

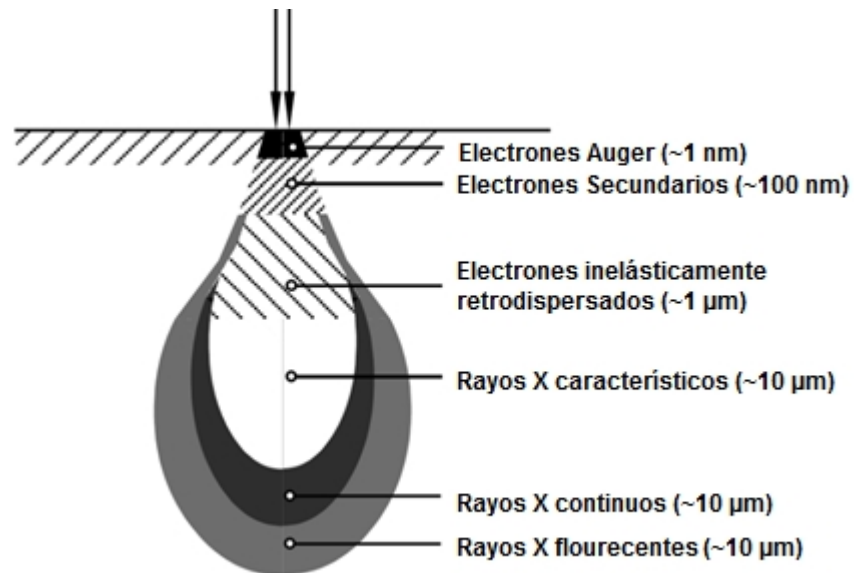


Figura 2.16: Profundidad característica de los diferentes tipos de electrones retrodispersados.

2.2.6 Microscopía electrónica de transmisión

La microscopía electrónica de transmisión está más enfocada a las propiedades cristalográfica de la muestra por su alta resolución, pudiendo ser de hasta 0.0023nm a 200kV, esto se debe a que toma en cuenta los electrones que atraviesan la muestra (Figura 2.15), conocidos como transmitidos y dispersados; la muestra tiene que ser extremadamente delgada para que pueda ser atravesada por el haz. Esta técnica permite realizar análisis químico por contraste de número atómico

En la preparación de las muestras se utilizaron rejillas de Cu con una malla de 300 y con una película de carbón fino con un espesor aproximadamente de 5 nm. Para depositar de las muestras se colocó 1μg de muestra en 1.5 ml de alcohol isopropílico

y se mezcla para formar una suspensión homogénea. Se coloca la rejilla sobre papel filtro se agregan 20 μl de la suspensión sobre la rejilla y se deja secar a 100°C para eliminar cualquier residuo o contaminación orgánica alguna.

2.2.7 Microscopía electrónica de barrido-transmisión (STEM)

Esta es una combinación de las dos técnicas anteriores, a configuración de los equipos puede ser:

- Microscopio de barrido con un detector de electrones transmitidos.
- Microscopio de transmisión con el cañón adaptado para realizar barrido y los respectivos detectores adaptados.
- Microscopios diseñados especialmente para esta modalidad.

Este tipo de equipos combina la tecnología y ventajas de ambos métodos en un solo equipo, para el caso de los microscopios de barrido adaptados a transmisión se tienen que utilizar de igual manera muestras tan delgadas como en transmisión pura para que los electrones alcancen a traspasar la muestra.

El equipo utilizado para el análisis de SEM y STEM fue un microscopio marca Hitachi, modelo SU8230, con un filamento de emisión de campo de cátodo frío ubicado en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, este es mostrado en la Figura 2.17.



Figura 2.17: Microscopio STEM ubicado en CFATA.

Se utilizaron láminas de silicio (Figura 2.18) para observar las muestras de nanopartículas, para ello primero fue necesario limpiar las láminas sumergiéndolas en una solución que contenía agua desionizada con acetona y se les aplicó ultrasonido por 15 minutos para remover cualquier contaminante. Una vez limpias las láminas se les depositó una gota de nanopartículas de plata en solución y se dejaron secar a 80°C. Las láminas con nanopartículas eran colocadas sobre el portaobjetos del microscopio. En el caso de las muestras de hidroxiapatita con nanopartículas de plata, se aplicó una capa de pintura de carbón y a continuación se esparció un poco de la muestra en polvo sobre la pintura, se dejó secar el portaobjeto para introducirlo dentro del microscopio.

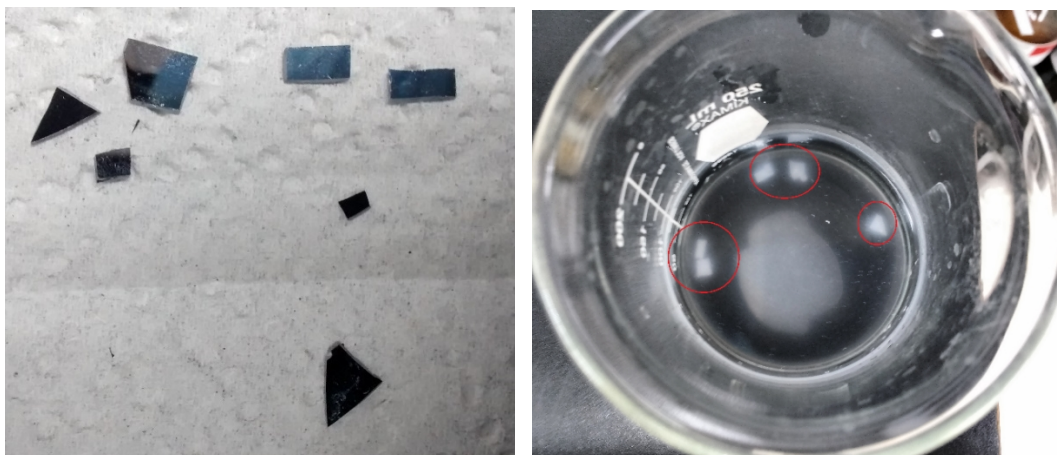


Figura 2.18: Laminas de Si en solución de agua desionizada y acetona.

2.2.8 Antibiograma por el método Kirby-Bauer

El método Kirby-Bauer es ampliamente utilizado *In Vitro* para medir la susceptibilidad de los microorganismos a diferentes agentes antimicrobianos. Es un método estandarizado por NCCLS (*National Commite Clinical Laboratory Standart*)⁵⁶. Siendo la metodología la siguiente⁵⁷:

1. Se llenaron cuatro placas Petri hasta la mitad con agar Müller-Hinton, medio de cultivo diseñado específicamente para ensayos de este tipo, similares a la mostrada en la Figura 2.19.
2. Se llevó a cabo la inoculación de los cultivos con distintas cepas bacterianas sobre la superficie del agar de manera uniforme, dos con *E. Coli* y dos con *Staphylococcus Aureus* para tener una medición estadística.
3. Se colocaron discos de papel filtro (diámetro = 6mm) igual al número de agentes antimicrobianos (muestras de nanopartículas de plata) que fueron evaluados y además un disco control sin tratamiento alguno.
4. Se colocaron 20µl de cada muestra de AgNPs sobre los discos de papel filtro.
5. Se incubó la placa durante 24 horas a 37°C.
6. Se midieron los halos (discos) de inhibición.

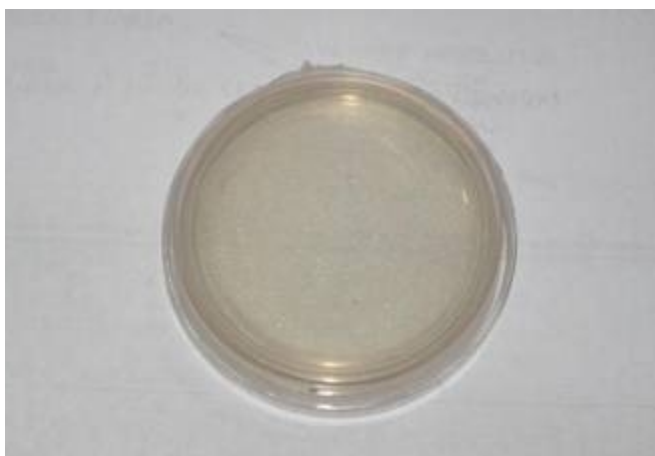


Figura 2.19: Caja Petri con agar nutritivo.

También se probó esta técnica de caracterización bactericida para el material compuesto, aunque este método no se utiliza para muestras sólidas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 NANOPARTÍCULAS DE PLATA

En la Figura 3.1 se muestra las diferentes AgNPs resultantes de las síntesis después de las 48 horas de estabilización de las partículas, están acomodadas en orden de 5, 10 y 20 mM. En la fotografía de la izquierda se muestran las nanopartículas sintetizadas por reducción química en donde se observa cómo su color varia de un color naranja transparente a un color rojo muy oscuro dependiendo de la concentración. De igual manera en la fotografía de la derecha se ve como de un color rojo se va aclarando hasta llegar a un color amarillo al ir aumentando la concentración de la plata.



Figura 3.1: AgNPs sintetizadas por reducción química (izquierda) y polirol (derecha).

Los colores que van del rojo al amarillo son típicos de las nanopartículas de plata, estos son indicadores que hubo formación de nanopartículas con geometrías cercanas a esferas simétricas. El color varía dependiendo de la geometría que se presente pudiendo ser cuboctaedros, decaedros, icosaedro o cualquier otra con cierta similitud a una esfera⁽⁵⁸⁾⁽⁵⁹⁾.

3.1.1 Análisis por Espectroscopía UV-Visible

En la Figura 3.2 se observan los espectros de absorbancia de las tres diferentes muestras realizadas por el método de reducción química. La muestra con una concentración de 5 mM es ilustrada con una línea color negro, aquí se puede apreciar un pico máximo correspondiente al plasmón de superficie en una longitud de onda de 393 nm, para el caso de las nanopartículas de plata esto indica que se tiene mayormente nanopartículas con una geometría que se puede considerar esférica. La muestra a 10 mM (línea de color rojo) mostró un pico máximo similar a la anterior (en 389 nm) lo cual también indica en su mayoría partículas con geometrías esféricas y esferoides. En la caso de la muestra de 20 mM (línea de color azul) se tiene una meseta con un punto máximo en 353 nm, pero con otros puntos importantes en 367, 445 y 463 nm; lo cual indica presencia de geometrías esféricas, así como posibles cuboctaedros e icosaedros ⁶⁰.

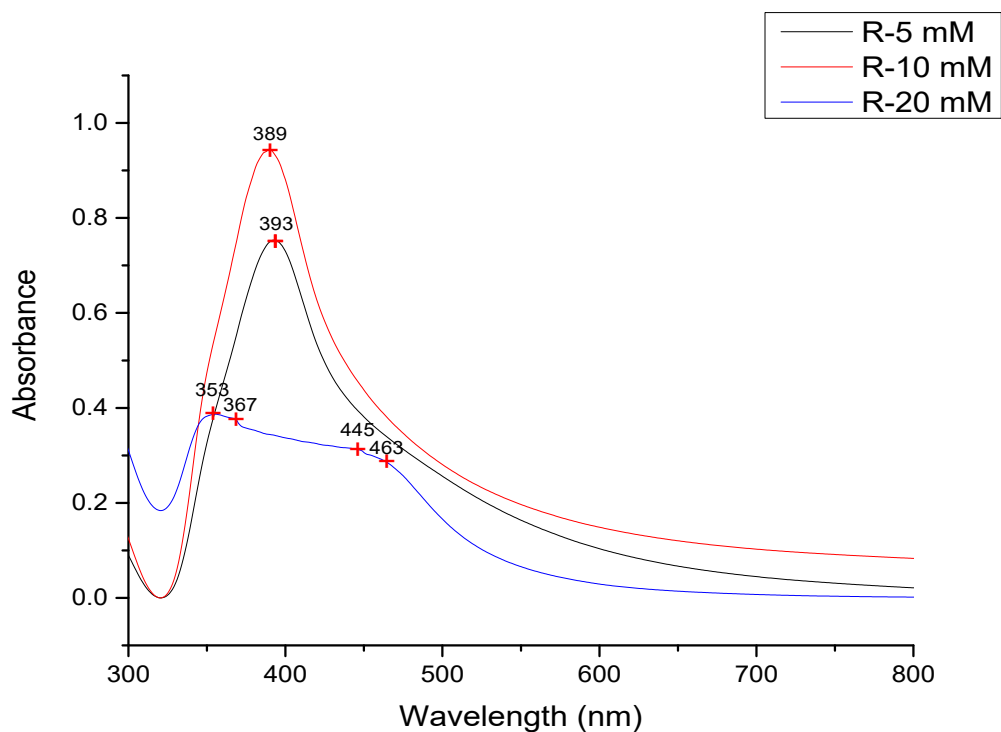


Figura 3.2: Espectro UV-Vis de las AgNPs sintetizadas por reducción química.

En la Figura 3.3 se observan los espectros de absorbancia de las tres diferentes muestras realizadas por el método del poliol, se conservó el mismo código de colores para las tres diferentes concentraciones. En la muestra a 5 mM se aprecia un pico máximo de 447 nm, en este caso indica nanopartículas de plata con una geometría mayormente conformada por cuboctaedros, la curva se extiende hasta los 670 nm lo que indica una diversidad grande de tamaño de las nanopartículas⁸. La muestra a 10 mM mostró un pico máximo en 407 nm lo cual es indicativo de partículas esféricas. Para la muestra de 20 mM se observa un pico en 421 nm con un mayor ancho de pico, por su ubicación además de indicar diferentes morfologías también es indicador de una dispersión de tamaño mayor a la presentada por la muestra a 10 mM sintetizada por este mismo método.

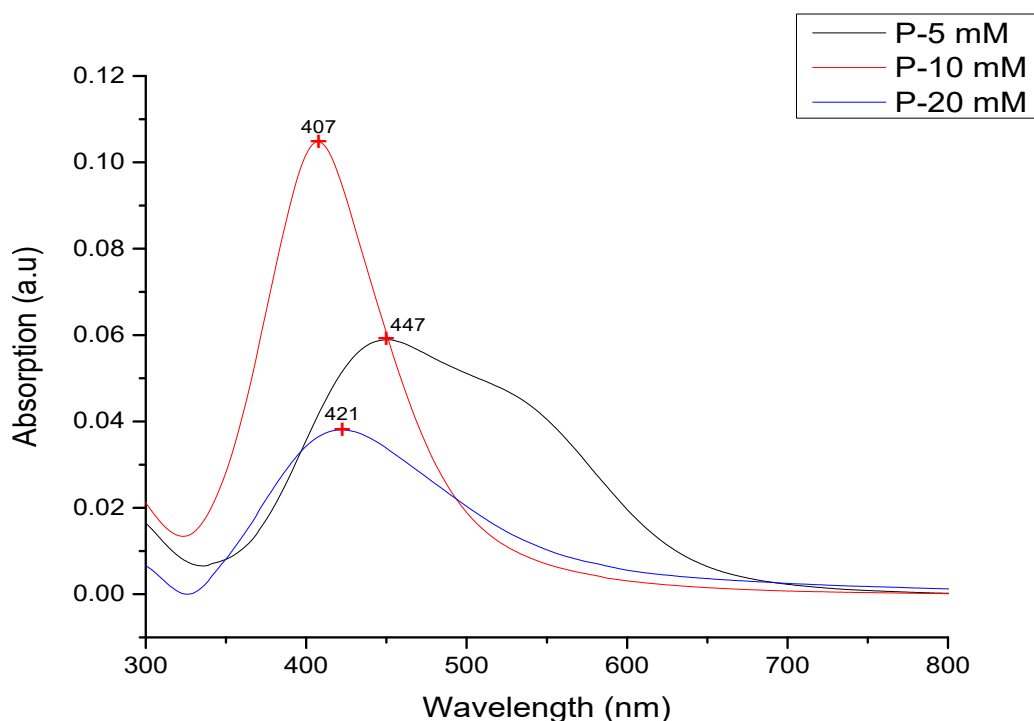


Figura 3.3: Espectro UV-Vis de las AgNPs sintetizadas por poliol.

En los resultados obtenidos por UV-Vis se ve como los diferentes picos que aparecen aquí, sugieren morfologías para la plata que concuerdan con el color de las diferentes muestras sintetizadas tanto por el método de reducción química como para el método del poliol.

3.1.2 Análisis por Difracción de Rayos X

El análisis de difracción de rayos X se realizó mediante la técnica de haces paralelos, únicamente para la muestra sintetizada por poliol a 10mM. El difractograma es mostrado en la Figura 3.4, en éste se observan ángulos de difracción 2θ en 38° , 44.3° , 64.5° y 77.4° , los cuales corresponden a los planos (111), (200), (220), (311) de la estructura FCC (Faced Centered Cubic). Conociendo los ángulos de Bragg de los diferentes picos, tomando en cuenta que la fuente emisora de rayos X es de Cu con $\lambda = 1.54 \text{ \AA}$ y la ecuación de Scherrer (la cual considera que el efecto de los esfuerzos y otras imperfecciones son despreciables) es posible determinar el tamaño de cristalita en cada pico midiendo el ancho a la altura media de cada uno. Para obtener el valor promedio de la cristalita de las nanopartículas de plata se utilizó la solución gráfica a la ecuación de Williamson-Hall (esta involucra los diferente valores obtenidos a partir de la ecuación de Scherrer pero considerando el efecto de las imperfecciones de los cristales), siendo éste de $15.25 \text{ nm} \pm 2.25 \text{ nm}^{61}$.

En este patrón de difracción de rayos X se puede observar que las partículas poseen una alta cristalinidad y un tamaño pequeño de cristal; al comparar este resultado con el obtenido para la misma muestra por UV-Vis, se observa el pico de UV-Vis con una longitud de onda que indica partículas con un tamaño de partícula bajo (de acuerdo a su posición) y con una poca variedad de posibles morfologías.

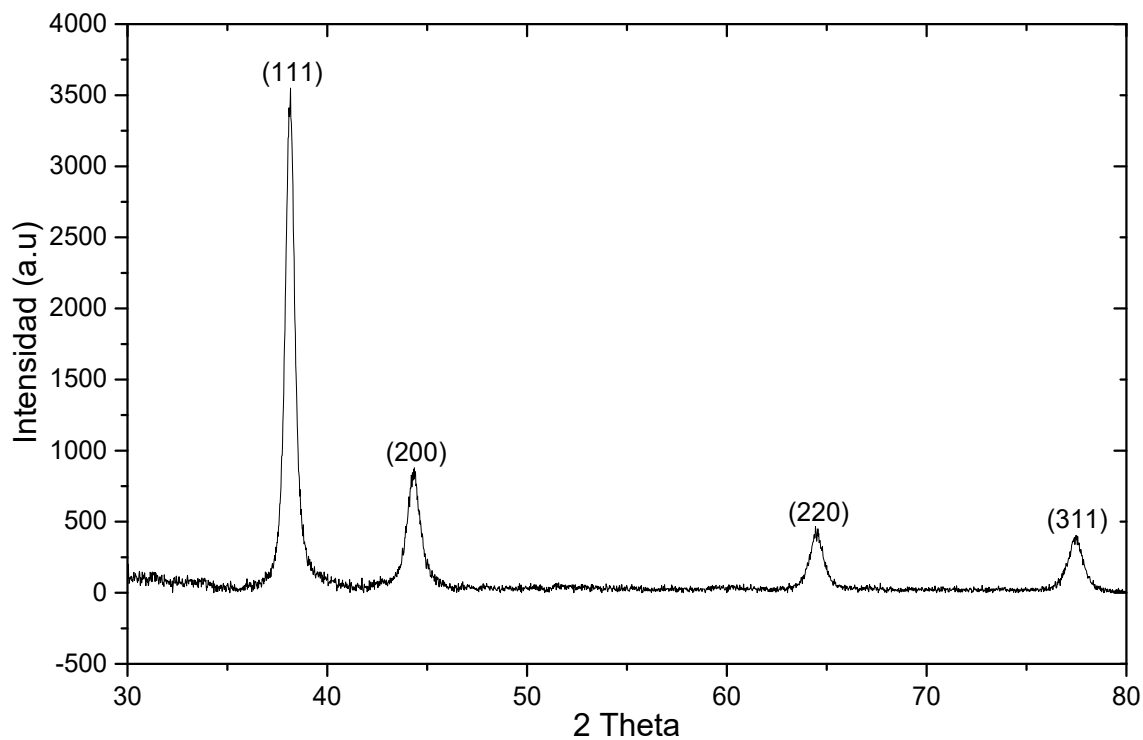


Figura 3.4: Difractograma de las nanopartículas de plata.

Solo se muestra el análisis de una muestra dado que se consideró la más representativa siendo la que se utilizó para soportar las nanopartículas de plata sobre la hidroxiapatita; de realizarse el análisis para la demás muestras se obtendrían cuatro picos en posiciones muy similares, con un una diferencia de decimas de grados para cada muestra, variando en las mismas posiciones el ancho del pico (de donde se obtiene el tamaño de la cristalita) y su intensidad (que involucra el grado de cristalinidad).

3.1.3 Análisis por Microscopía Electrónica de Barrido.

En la Figura 3.5 se muestran 2 micrograffas de la síntesis por reducción química utilizando AgNO_3 a 5 mM, en esta síntesis se tiene una relación reductor-plata de

2:1, es posible apreciar que las nanopartículas de plata formaron aglomerados y además se observa una capa de PVP alrededor de ellas.

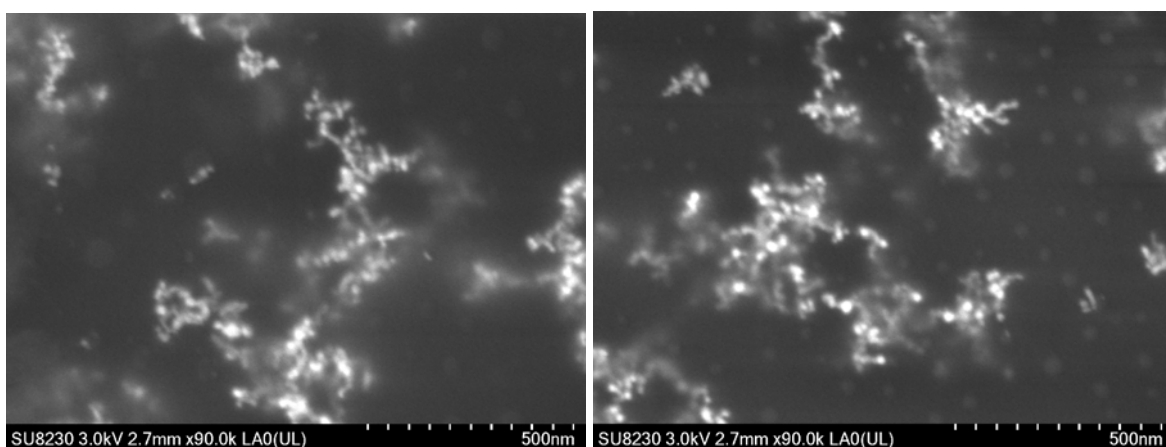


Figura 3.5: Micrografías de SEM de la síntesis por reducción química a 5 mM.

La Figura 3.6 muestra tres micrografías (a, b y c) de diferentes zonas de las AgNPs obtenidas por reducción química utilizando AgNO_3 a 10 mM, se observa una amplia distribución del tamaño de partícula que va desde los 2 nm hasta 12 nm de diámetro, además se observa una buena dispersión de partículas.

En la figura 3.6d se muestra una gráfica de barras ilustrando la distribución de tamaño de partícula en función de su porcentaje, en donde se puede observar que tienen mayor frecuencia las partículas de 2 y 3 nm, pero también con una aparición importante de tamaños que llegan hasta los 12 nm, inclusive en la Figura 3.6a se aprecia una nanopartícula de mayor tamaño.

Para realizar la medición de tamaño de las AgNPs en las micrografías, tanto en esta imagen como en las posteriores, se utilizó el software libre “ImageJ”, el cual nos permite medir el área de las partículas en imágenes con un alto contraste.

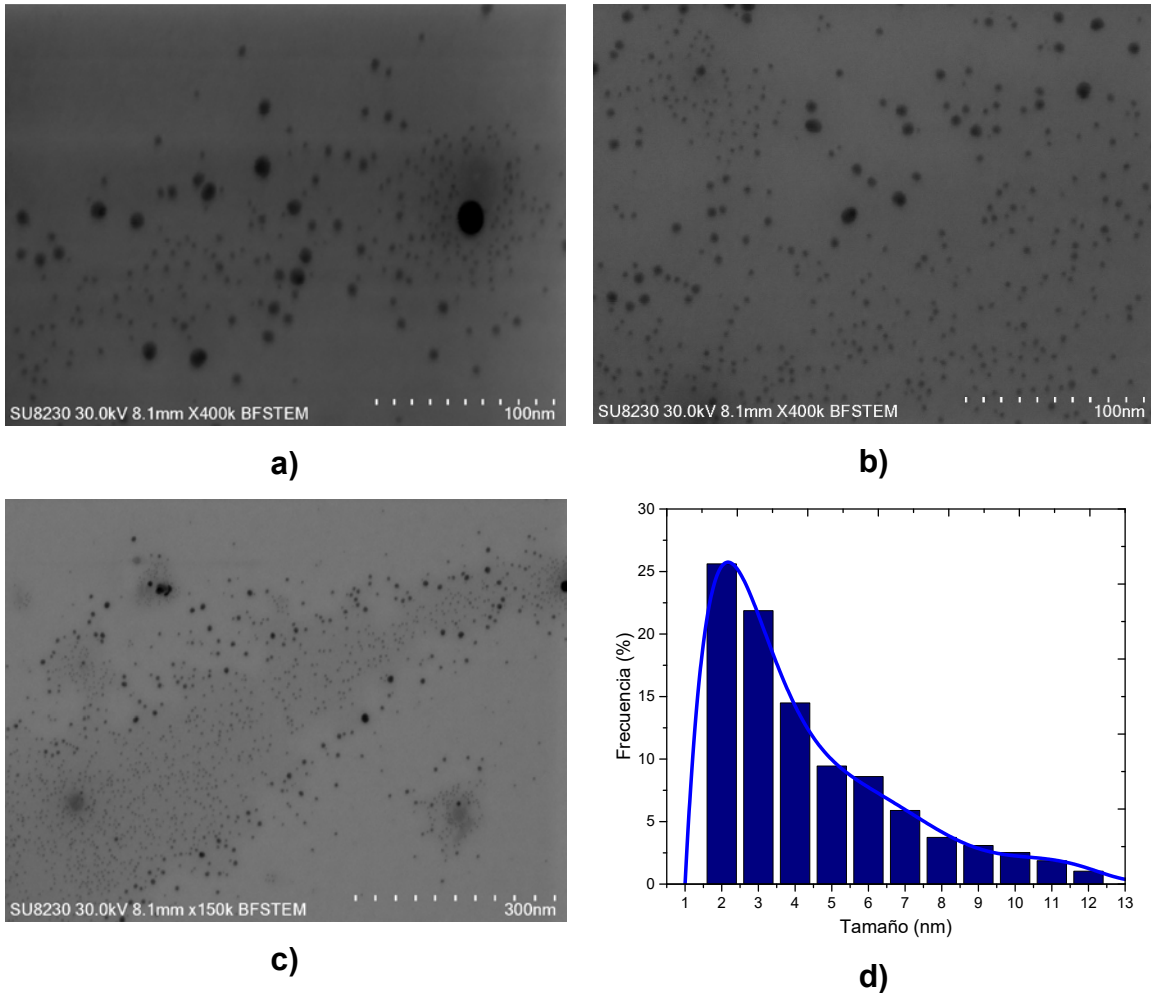


Figura 3.6: a), b) y c) Micrografías de SEM de la síntesis por reducción química a 10 mM. d) Se muestra la gráfica de barras de la distribución del tamaño de las partículas.

En la Figura 3.7 se muestran tres micrografías (a, b y c) de diferentes zonas de la muestra de las AgNPs obtenidas por reducción química utilizando AgNO_3 a 20 mM, para esta síntesis se obtuvo una distribución de tamaño con mayor homogeneidad que en las síntesis anteriores, obteniendo un tamaño promedio de $16 \text{ nm} \pm 4 \text{ nm}$, en donde el 90% de las partículas están dentro de este rango, esto es representado en la gráfica de barras mostrada en la Figura 3.7d. Para esta muestra se puede apreciar una clara dispersión de las nanopartículas, sin tendencias a formar aglomerados.

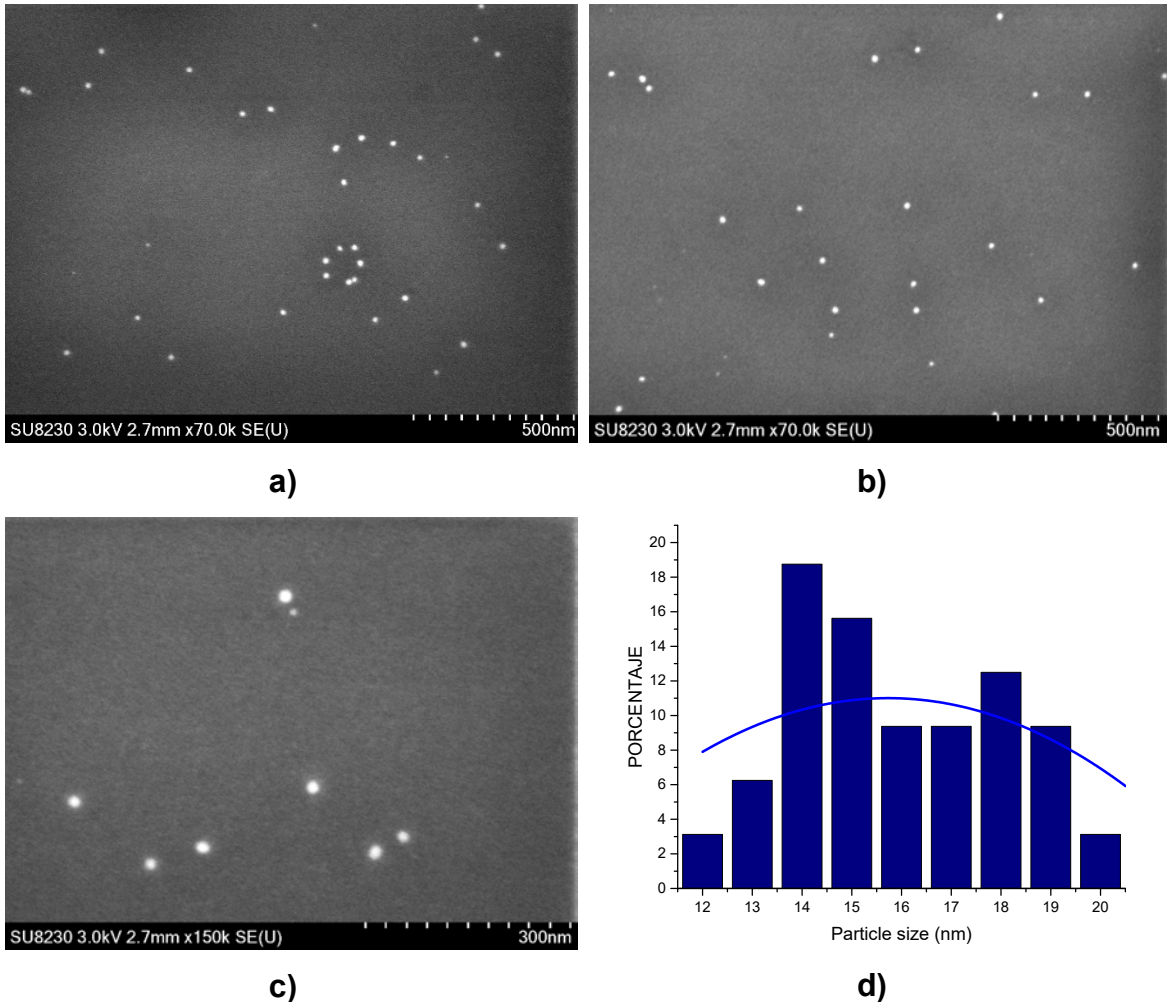


Figura 3.7: a), b) y c) Micrografías de SEM de la síntesis por reducción química a 20 mM. d) Se muestra la gráfica de barras de la distribución del tamaño de las partículas.

Al analizar las micrografías de barrido de las diferentes muestras de las AgNPs que se obtuvieron por el método del poliol, es posible apreciar como una alta relación reductor-plata produce un proceso en extremo descontrolado. Lo anterior se debe a una velocidad de reducción muy alta, ya que se sabe que el borohidruro de sodio es uno de los agentes reductores químicos más potentes. En el caso de las partículas sintetizadas a 5 mM (relación reductor-plata de 4:1) se tiene una gran cantidad de iones de plata en el medio que necesitan estabilizarse debido a una gran velocidad de reducción sobre la sal de plata, lo que ocasiona una nucleación y crecimiento demasiado acelerados, y como consecuencia se forman los aglomerados antes vistos. Para el caso de 10 mM y 20 mM se observan AgNPs con

buena dispersión y distribución de tamaño, aunque para el caso de 10 mM se obtuvieron en general partículas con un tamaño menor a 10 nm⁶². Con la muestra 20 mM (relación reductor-plata de 1:1), se lograron partículas dentro de los parámetros establecidos anteriormente (partículas de 15 nm de diámetro) y con una mejor dispersión, esto se debe por un lado a una relación menor plata-reductor, ocasionado una reducción más acelerada, pero con una nucleación y crecimiento más pausado. Además, se ha encontrado en investigaciones previas que cuando se utiliza PVP como surfactante el tamaño aumenta proporcionalmente a la concentración de plata⁵⁹. Por tal motivo la muestra seleccionada para soportar la plata sobre la hidroxiapatita por el método de reducción química fue la de 20 mM.

Para la Figura 3.8 se muestran dos micrográficas de las AgNPs sintetizadas por el método del poliol utilizando una concentración de 5 mM de nitrato de plata, es posible observar partículas con un tamaño que van desde los 3 nm hasta 60 nm, esto es una distribución extremadamente heterogénea y por lo tanto sus propiedades también lo son.

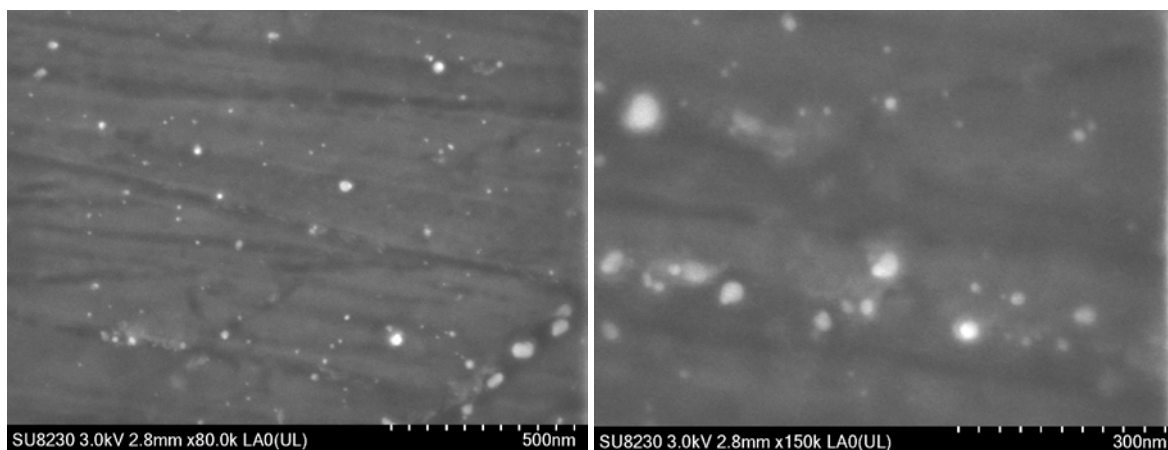


Figura 3.8: Micrográficas de la síntesis por el método del poliol a 5 mM.

En la Figura 3.9 se muestran tres micrográficas (a, b y c) de diferentes zonas de las AgNPs obtenidas por el método del poliol utilizando AgNO_3 a 10 mM, con esta concentración para este síntesis se obtuvo una buena dispersión de las partículas así como una distribución de tamaño con la mayor homogeneidad obtenida para

éste método, en donde su tamaño se encuentra en un rango entre los 10 nm y 20 nm, dando un valor medio de partícula de $15 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$, ya que el 90% de las partículas entran dentro de éste rango de valores. En la Figura 3.9d se muestra una gráfica de barras de la distribución de los diferentes tamaños de la nanopartículas por éste método de síntesis a 10 mM, aquí se puede ver un pico máximo en la curva Gaussiana en 16 nm.

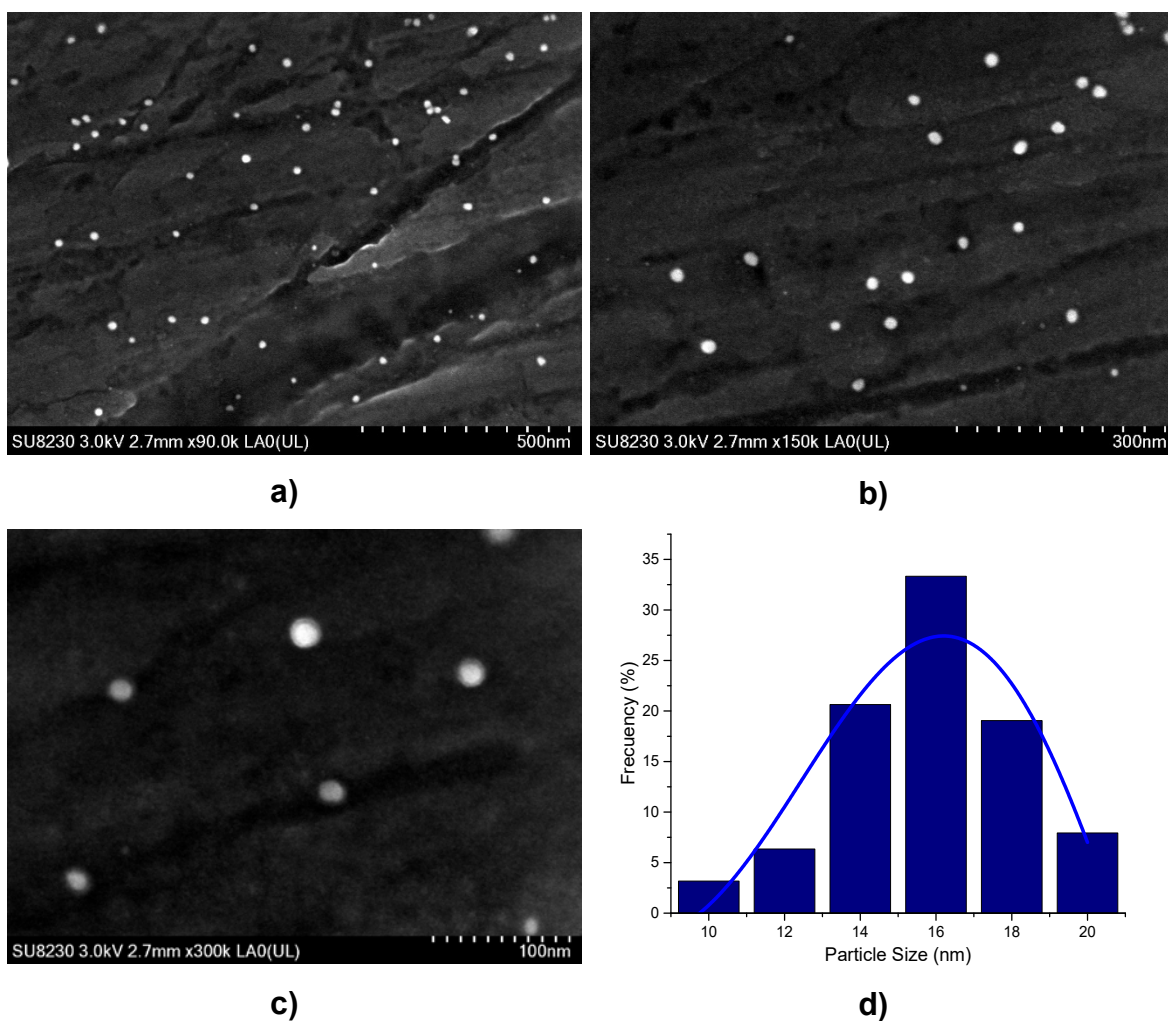


Figura 3.9: a), b) y c) Micrografías de SEM de la síntesis por poliol a 20 mM. d) Se muestra la gráfica de barras de la distribución del tamaño de las partículas.

En la Figura 3.10 se muestran tres micrografías (a, b y c) de diferentes zonas de las AgNPs obtenidas por el método del poliol utilizando AgNO_3 a 20 mM, para esta síntesis las nanopartículas tendieron a agruparse, pero sin llegar a formar aglomerados, mostrando una buena dispersión y estabilidad. En la Figura 3.10d se

muestra la gráfica de barras representando el rango de valores para las diferentes AgNPs encontradas en la muestra, el cual va desde los 4 nm hasta los 28 nm, siendo bastante amplio y cayendo unas incluso en el límite inferior de 10 nm.

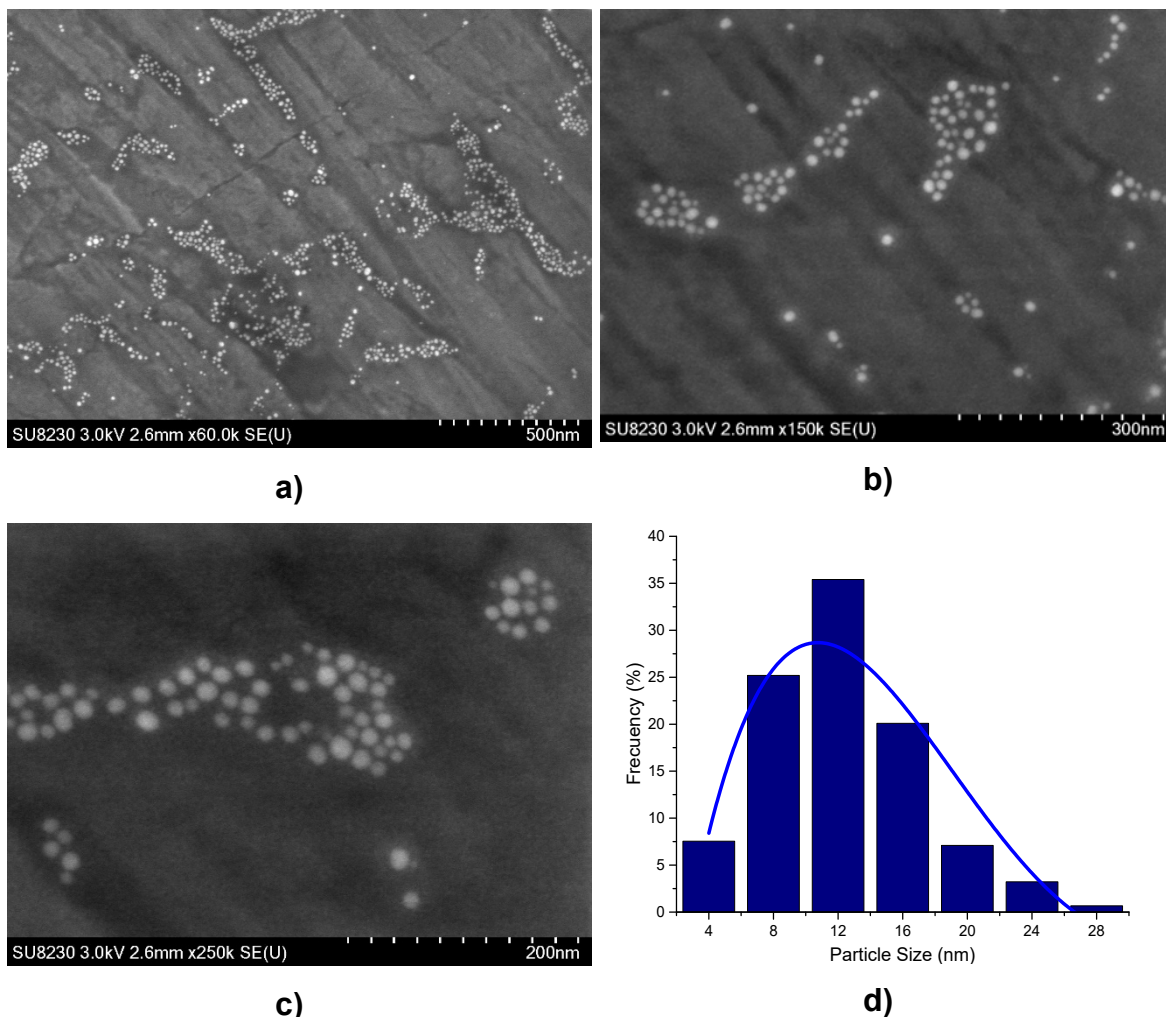


Figura 3.10: a), b) y c) Micrográficas de SEM de la síntesis por poliol a 20 mM. d) Se muestra el histograma de la distribución del tamaño de las partículas.

Para este método de reducción química utilizando etilenglicol se corroboró con lo leído en la literatura, que el principal factor que afecta el tamaño es la temperatura de reacción, ya que éste afecta la velocidad con que se lleva a cabo la nucleación y el crecimiento de las AgNPs, siendo requerida una temperatura de 100°C para obtener un tamaño medio de partícula de 15 nm. A lo anterior se suman dos factores:

- El tiempo de reacción con un rango observado de 30 min a 4 h (sin que se observen cambios significativos en tamaño y/o dispersión).
- La relación plata-etilenglicol. Anteriormente se dijo que la relación plata-PVP afectaba el tamaño de partícula, pero en este método bajo las condiciones establecidas este factor se vio opacado por la contribución de la temperatura.

En este método de síntesis se encontró que la muestra a 10 mM ofrecía una mejor relación plata-reductor para asegurar una distribución más homogénea que las muestras de 10 mM y 20 mM. Las AgNPs sintetizadas a 10 mM ofrecen valores dentro de los parámetros establecidos en un inicio ($\sigma_{prom} = 15 \text{ nm}$ y $\sigma_{min} > 10 \text{ nm}$); y dado que fue la que tuvo una dispersión menor en cuanto a tamaños de partícula, ésta concentración fue la seleccionada como síntesis base por poliol para soportar las AgNPs en HAP.

3.1.4 Antibiograma por el Método Kirby-Bauer

Las pruebas para medir la capacidad bactericida de las diferentes muestras de nanopartículas de plata, sintetizadas tanto por el método de reducción química como por el método del poliol, se muestran en las Figura 3.11 y 3.12, en las cuales se observa el efecto de las AgNPs en las cepas de *E. Coli* y *Staphylococcus Aureus*, el disco central sin indicación alguna es el control de la prueba. Las muestras sintetizadas por el método de reducción química son representadas con “RQ”, así mismo las correspondientes al método del poliol se representan con “P”. La Figura 3.11 es la correspondiente del antibiograma realizado contra *E. Coli*, en donde se puede ver que la mayor actividad bactericida fue provocada por las muestras “P 10” y “P 20”, las cuales resultaron muy eficientes. La muestra “RQ 20” presenta un halo con un diámetro de 11 mm, pero con una eficiencia baja, en este caso no se habla de actividad bactericida, sino más bien bacteriostática, lo que indica que aunque no

produce su muerte pero detiene el crecimiento celular. Las muestras restantes (P5, RQ 5, RQ 10) presentan una actividad bacteriostática débil para las bacterias *E. Coli*. Los diámetros medidos de los halos de inhibición para esta prueba, así como la capacidad bactericida se muestran en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1: Resultados del antibiograma realizado para *E. Coli*.

Actividad Bactericida contra <i>E. Coli</i>				
Método	Concentración	Código	Diámetro del Halo de Inhibición	Tipo de Actividad Bactericida
Reducción Química	5 mM	RQ 5	9 mm	Bacteriostática
Reducción Química	10 mM	RQ 10	11 mm	Bacteriostática
Reducción Química	20 mM	RQ 20	11 mm	Bacteriostática
Poliol	5 mM	P 5	9 mm	Bacteriostática
Poliol	10 mM	P 10	14.5 mm	Bactericida
Poliol	20 mM	P 20	16 mm	Bactericida

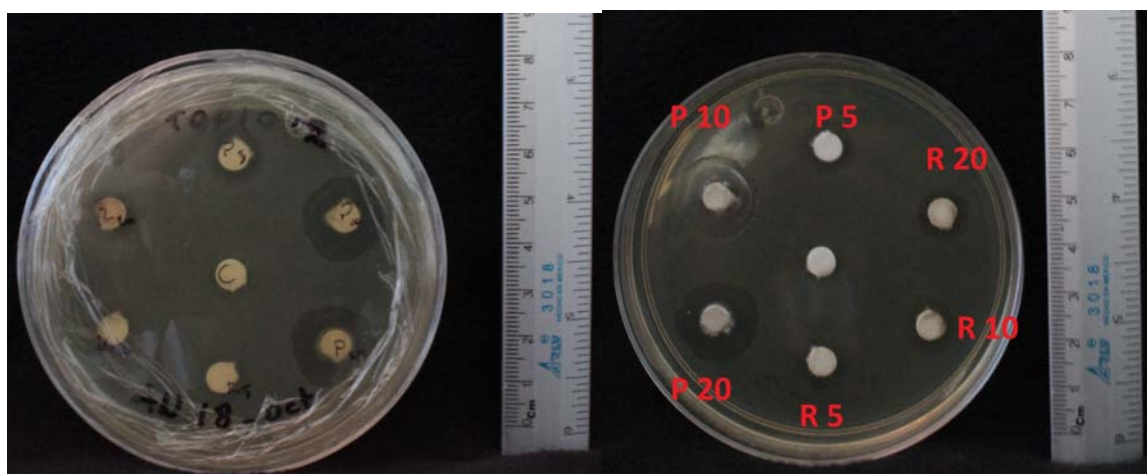


Figura 3.11: Antibiograma en *E. Coli* de las nanopartículas de plata.

El caso del antibiograma realizado en *Staphylococcus Aureus* ilustrado por la Figura 3.12, se observa la misma tendencia en la actividad bactericida que en la prueba contra *E. Coli*, siendo las muestras “P 10” y “P 20” las que mostraron mayor capacidad bactericida, mientras que las muestras “P 5” y “RQ 20” mostraron un halo

de 9 mm con una actividad bacteriostática. En el caso de la muestra “RQ 10” presenta una actividad bacteriostática con un halo apenas perceptible de 7 mm. La muestra “RQ 5” no presentó efecto alguno en esta cepa bacteriana. Los diámetros medidos de los halos de inhibición y la capacidad bactericida se muestran en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2: Resultados del antibiograma realizado para *Staphylococcus Aureus*.

Actividad Bactericida contra <i>Staphylococcus Aureus</i>				
Método	Concentración	Código	Diametro del Halo de Inhibición	Tipo de actividad Bactericida
Reducción Química	5 mM	RQ 5	--	Nula
Reducción Química	10 mM	RQ 10	7 mm	Bacteriostática
Reducción Química	20 mM	RQ 20	9 mm	Bacteriostática
Poliol	5 mM	P 5	9 mm	Bacteriostática
Poliol	10 mM	P 10	12 mm	Bactericida
Poliol	20 mM	P 20	12.5 mm	Bactericida

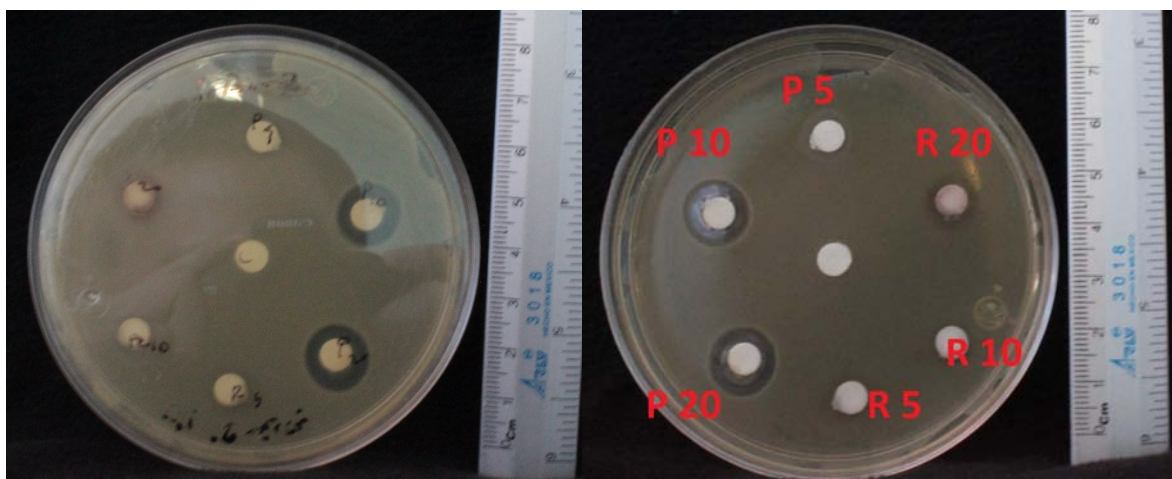


Figura 3.12: Antibiograma en *Staphylococcus Aureus* de las nanopartículas de plata.

Los antibiogramas para *E. Coli* y *Staphylococcus Aureus* muestran una tendencia ascendente dentro del mismo método de síntesis, se tiene mayor actividad en las cepas bacterianas a mayor concentración de Ag, aunque las partículas sintetizadas

por el método del poliol resultaron más eficientes. Lo anterior se debe dos factores principalmente:

- Geometría de las partículas: investigaciones anteriores sugieren que por el método de reducción química se obtienen partículas cuboctaedrales principalmente, mientras que por el método del poliol resultan mayormente partículas icosaedrales, siendo esta última la geometría más activa para el caso de los cristales FCC⁶³.
- Cantidad de materia de plata para cada método, ya que aunque se realizaron los mismos volúmenes para todas las muestras sintetizadas, en el caso de reducción química la concentración de AgNO_3 se refiere a una tercera parte de la solución final, mientras que en el caso del método del poliol esta representa el 50% de la solución total.

3.2 Nanopartículas de Plata Soportadas en Hidroxiapatita

3.2.1 Difracción de Rayos X

Primeramente, se obtuvo el patrón de difracción de rayos X de la hidroxiapatita adquirida, el cual se ilustra en la Figura 3.13, el difractograma fue comparado con la tarjeta 00-009-0432, se puede ver que las posiciones de los picos coinciden con los de la tarjeta, en la Tabla 3.5 se presentan los picos de dicha tarjeta indicando la posición de cada uno y sus respectivos índices de Miller. Con la ecuación de Scherrer, midiendo el ancho de los diferentes picos de hidroxiapatita a la altura media, se obtuvieron los tamaños de cristalita de cada una; y con ayuda de la solución gráfica a la ecuación de Williamson-Halls, tomando los datos obtenidos por medio de la ecuación de Scherrer, se obtuvo un tamaño promedio de cristalita de 53 nm.

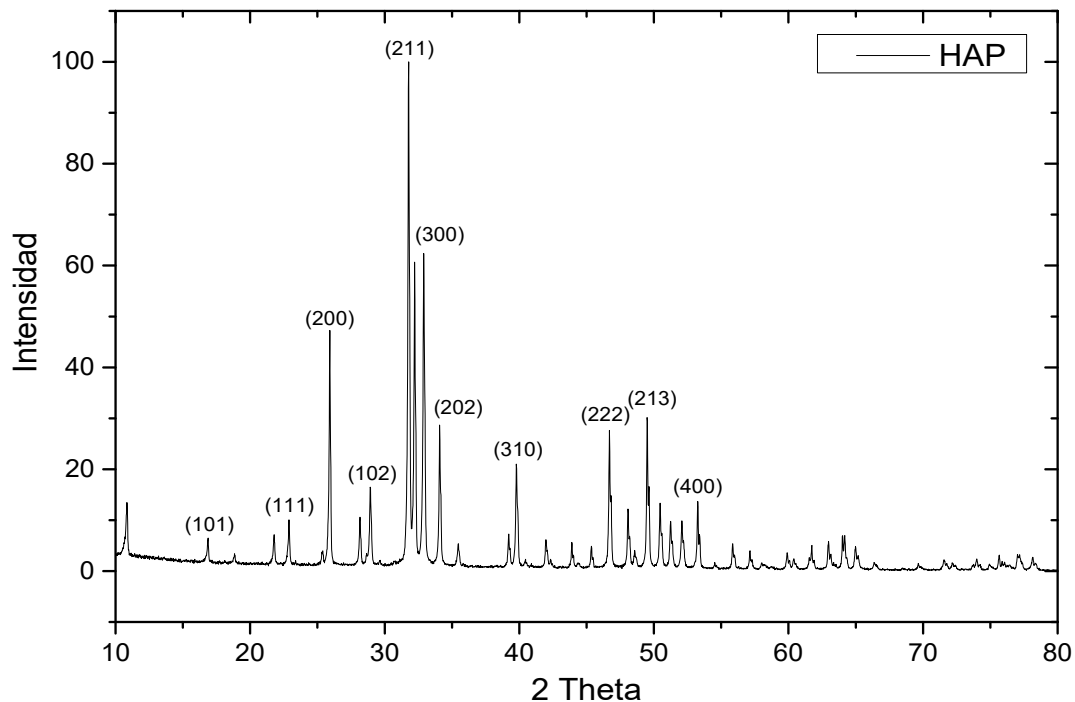


Figura 3.13: Difractograma de la hidroxiapatita, se indican los índices de Miller de los planos principales.

Era de esperarse que resultados de este análisis arrojaran un difractograma con los picos en las posiciones mostradas en la Figura 3.13, ya que se adquirió sintetizada con un grado de pureza del 99.9%, con el fin de tener la mayor homogeneidad en sus características estructurales (tamaño promedio de cristalita y cristalinidad), para determinar únicamente la influencia de la plata en la hidroxiapatita.

En el caso del estudio realizado mediante la técnica de difracción de rayos X para las nanopartículas de plata soportadas en hidroxiapatita (Ag-HAP) se caracterizaron los materiales obtenidos por ambos métodos de síntesis (reducción química y poliol), el análisis se realizó para un rango de valores 2θ de 10° a 80° .

En la figura 3.14 se muestra el patrón de difracción de rayos X obtenido para la muestra de Ag-HAP obtenida por reducción química en donde se aprecian, además de los picos característicos de la hidroxiapatita los cuales se pueden ver en la Tabla 3.5 en la columna "RQ", los cuatro picos pertenecientes a la plata en las posiciones de 38.1° , 44.5° , 64.5° y 77.5° que corresponden a los planos cristalográficos (111), (200), (220) y (311) respectivamente. Se alcanza a ver un pico con gran intensidad que no aparece identificado porque no forma parte de la plata o de la hidroxiapatita, pero este aparece al quedar residuos de la síntesis y el cual es característico del nitrato de sodio⁶⁴. Al igual que en los difractogramas anteriores, se determinó con la ecuación de Scherrer y la gráfica de Williamson-Halls un tamaño promedio de cristalita para las AgNPs, midiendo el ancho de los picos a la altura media, de $24.6 \text{ nm} \pm 2.23 \text{ nm}$. En el caso de la hidroxiapatita se obtuvo un tamaño promedio de cristalita de $44.7 \text{ nm} \pm 6.5 \text{ nm}$, lo cual indica que hubo una disminución en el tamaño de los cristales, también se observó disminución en la intensidad de los picos de la misma, lo cual indica que disminuyó la cristalinidad del material de soporte.

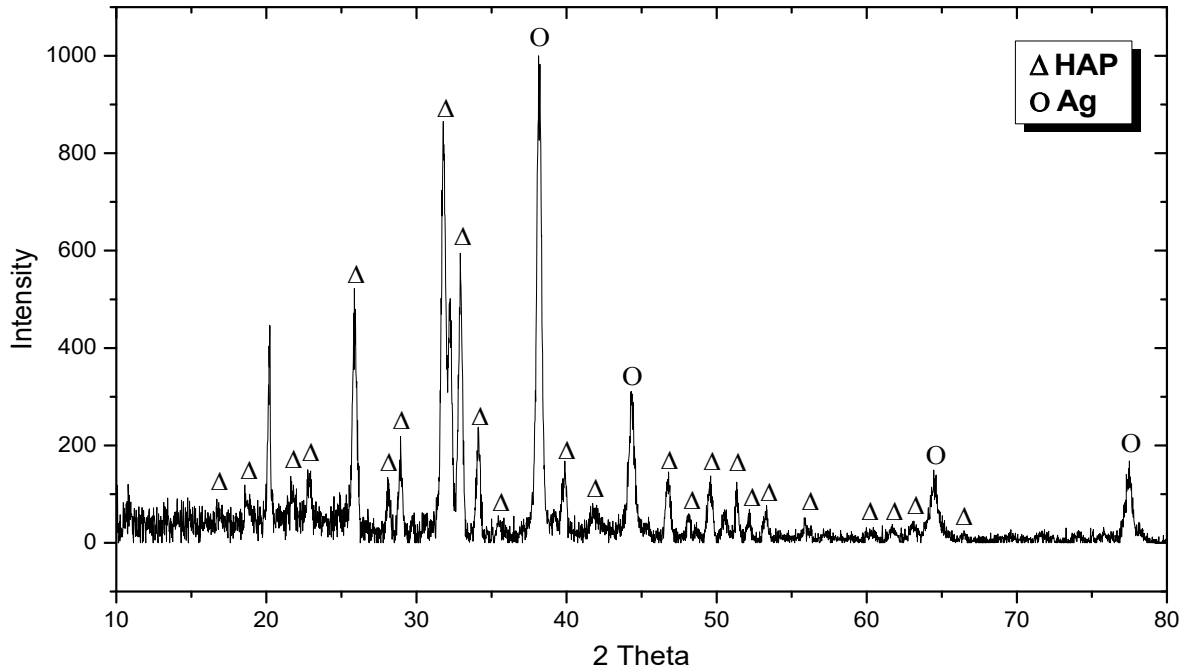


Figura 3.14: Difractograma de las AgNPs soportadas en hidroxiapatita por el método de reducción química.

Con ayuda del software “*Materials Studio*” se llevó a cabo la cuantificación de fases, con este programa se simularon los patrones de difracción de rayos X para Ag, HAP y el material combinado Ag-HAP, una vez obtenidos, se procedió a comparar el difractograma experimental del material Ag-HAP, obtenido por reducción química, contra los simulados anteriormente (los diferentes difractogramas se pueden ver en la Figura 3.15), esto con el fin de determinar cuál es la contribución de la Ag y la HAP, con esto nos fue posible obtener el porcentaje en peso de la plata y de la hidroxiapatita los cuales se representan en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3: Porcentaje en peso de ambas fases del material Ag-HAP obtenido por reducción química.

	Porcentaje en peso
Ag	9.92%
HAP	90.08%

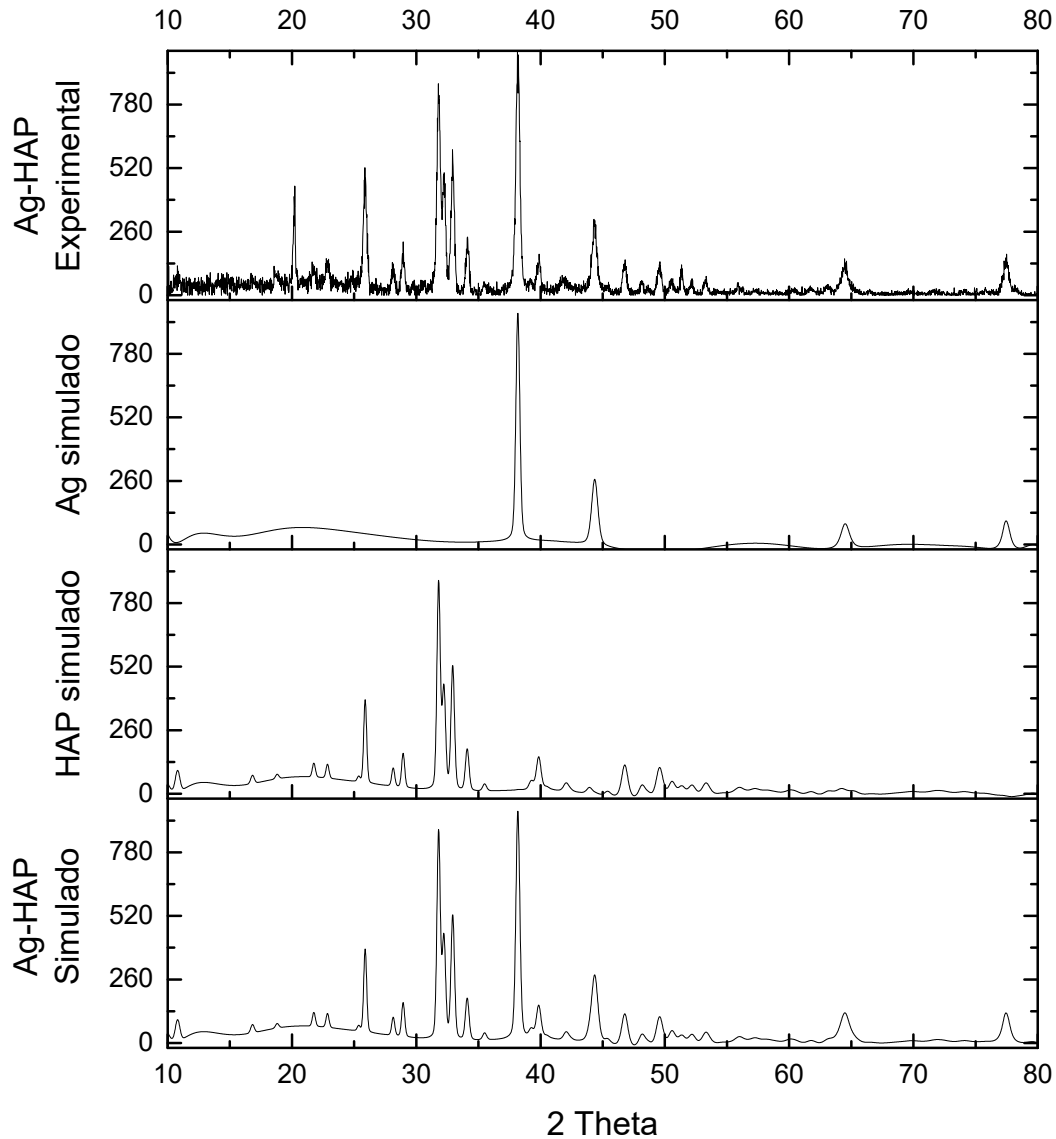


Figura 3.15: Difractograma simulado contra el experimental del material Ag-HAP obtenido por reducción química, además se muestra la contribución de Ag y de HAP.

El difractograma obtenido de rayos X para la muestra de Ag-HAP de poliol es mostrado en la Figura 3.16, en este caso también se observan los picos de la hidroxiapatita muy bien definidos y en posiciones casi idénticas a las de la tarjeta, los cuales se muestran en la Tabla 3.5, columna “P”, con sus correspondientes índices de Miller. Los cuatro picos característicos de la plata están presentes en las posiciones de 38.1° , 44.3° , 64.4° y 77.4° a los cuales les corresponden los planos cristalográficos de (111), (200), (220) y (311) respectivamente. Se determinó el

tamaño promedio de cristalita, midiendo el ancho de los diferentes picos, con la ecuación de Scherrer, y con los datos obtenidos y aplicándolos en la gráfica de Williamson-Halls se obtuvo un tamaño promedio de cristalita de 18 nm para la plata y de 20 nm para la hidroxiapatita, al igual que en la síntesis anterior se tiene una disminución de la intensidad de los picos que refleja una disminución en la cristalinidad.

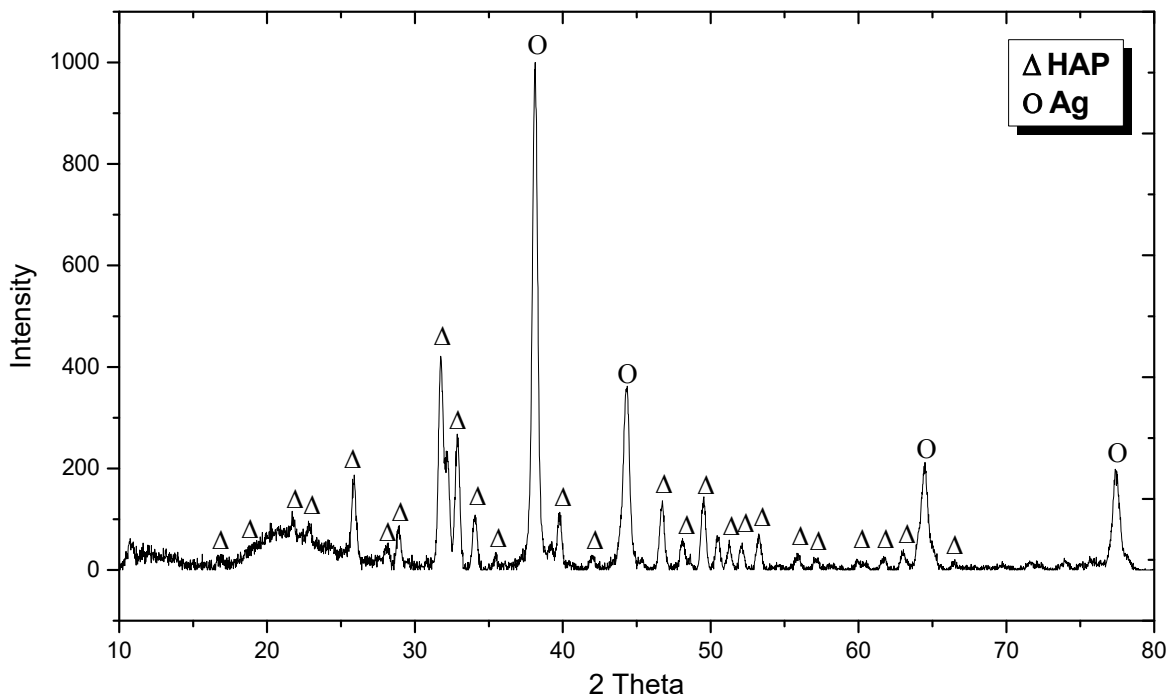


Figura 3.16: Difractograma de las AgNPs soportadas en hidroxiapatita por el método del poliol.

En la Figura 3.17 se muestran los patrones de difracción de rayos X simulados de Ag, HAP y Ag-HAP, además del experimental obtenido por el método del poliol. Los cuales se compararon entre sí, llevándose a cabo la cuantificación de las distintas fases y así determinando la contribución de Ag y HAP, gracias a esto sabemos el porcentaje el peso igualmente de Ag y HAP (Tabla 3.4), esto se realizó en el mismo software que en el caso anterior (Materials Studio).

Figura 3.4: Porcentaje en peso de ambas fases del material Ag-HAP.

	Porcentaje en peso
Ag	19.55%
HAP	80.45%

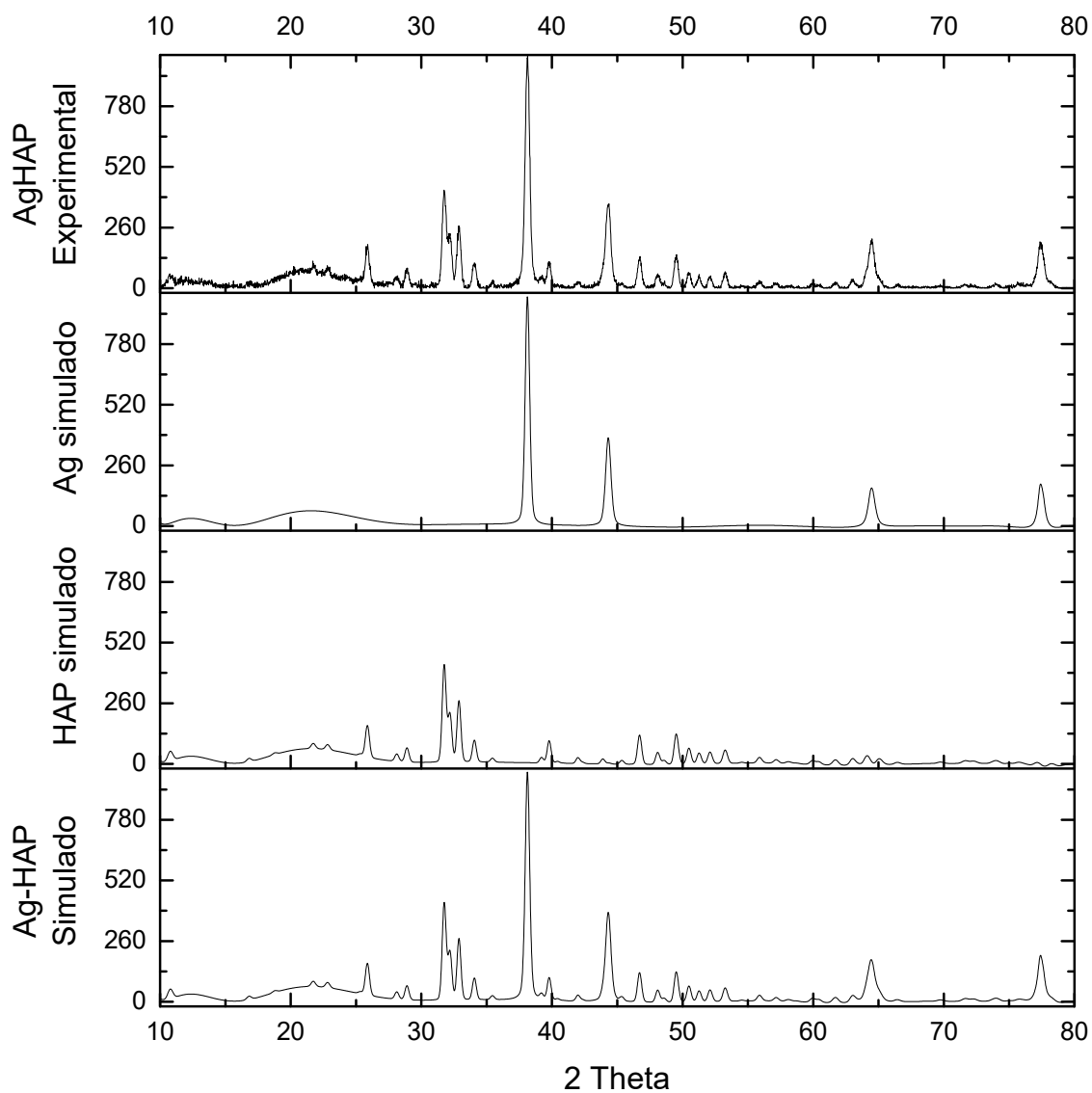


Figura 3.17: Difractograma simulado contra el experimental del material AgHAP obtenido por poliol, además se muestra la contribución individual de Ag y de HAP.

Tabla 3.5: Picos característicos del patrón de difracción de rayos X de hidroxiapatita: obtenidos de la tarjeta 00-009-0432, obtenidos por reducción química y obtenidos por poliol, con sus correspondientes índices de Miller correspondientes a cada pico.

00-009-0432 (°)	RQ	P	Índices de Miller	00-009-0432 (°)	RQ	P	Índices de Miller
	2 Theta (°)	2 Theta (°)			2 Theta (°)	2 Theta (°)	
16.84	16.6	16.6	(101)	48.16	48.17	48.07	(312)
18.8	18.5	18.5	(110)	48.6	48.57	48.61	(320)
21.6	21.64	21.7	(200)	49.51	49.5	49.5	(213)
22.97	22.7	22.8	(111)	50.53	50.48	50.41	(321)
25.9	25.9	25.82	(200)	51.33	51.29	51.24	(410)
28.2	28.14	28.08	(102)	52.24	52.04	52.12	(402)
29.14	29.01	28.95	(210)	53.27	53.36	53.29	(400)
31.86	31.86	31.7	(211)	54.45	54.46	54.51	(104)
32.2	32.14	32.08	(112)	55.87	55.89	55.9	(322)
32.9	33	32.86	(300)	57.15	57.12	57.08	(313)
34.22	34.14	34.02	(202)	58.17	58.17	58.13	(501)
35.51	35.46	35.6	(301)	60	60	60	(420)
39.26	39.12	39.13	(212)	60.45	60.36	60.41	(331)
39.86	39.83	39.86	(310)	61.66	61.78	61.74	(214)
42.1	41.87	41.9	(311)	63.07	63.21	63	(502)
43.8	43.36	43.38	(113)	63.96	63.89	63.87	(304)
45.32	45.25	45.3	(203)	64.92	64.87	64.91	(511)
46.69	46.7	46.71	(222)	66.3	66.41	66.41	(422)

De acuerdo con la bibliografía consultada en caso de observarse los picos de Ag y HAP en los difractogramas de rayos X para el material compuesto Ag-HAP como se obtuvieron, tanto para el caso de reducción química como de poliol, es posible afirmar que la hidroxiapatita fue capaz de sustituir los iones Ca^+ superficiales por iones Ag^+ , encontrándose la plata dispersada sobre la superficie de la hidroxiapatita⁽⁶⁵⁾⁽⁶⁶⁾⁽⁶⁷⁾; aunque también la alta intensidad de los picos de Ag sugiere la formación cristales de Ag. En el caso de la HAP se observan dos situaciones:

- Se tiene una disminución en la intensidad de los picos, la cual se debe a la presencia de Ag sobre la superficie de la HAP, la cual altera los campos electrostáticos, que se traduce en cambios en la distribución de las cargas⁶⁸.
- Se tiene una disminución del tamaño de cristal, esto puede deberse al hecho de que al momento de verse sustituidos los iones Ca^+ por los iones Ag^+ , no

tienen el mismo radio atómico ($r_{Ag}=165$ pm y $r_{Ca} = 194$ pm), el cual es 15% menor, lo que generó defectos puntuales en la superficie de la HAP ocasionando la ruptura de los cristales⁶⁹. Estos efectos son más notorios en la síntesis por poliol porque la relación Ag/HAP es mayor. Cabe aclarar que esto no modificó la estructura cristalina de la hidroxiapatita.

3.2.2 Análisis por Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier

El análisis de espectroscopía infrarroja se realizó con la intención de detectar cualquier posible interacción de la plata con la hidroxiapatita. En la Figura 3.18 se muestra el espectro de la hidroxiapatita antes de ser utilizada para la síntesis, se ve claramente una mayor intensidad en la banda de absorción con un punto máximo en 1022 la cual deriva de los enlaces PO_4 característicos de la hidroxiapatita. Aparecen bandas que van desde los 2850 a 2980 las cuales se le atribuyen a las vibraciones simétricas y asimétricas de CH_2 . Se tienen además bandas que van desde 3050 a 3500 indicando los grupos de H_2O y OH , estas bandas corresponden a la parte hidratada de la hidroxiapatita.

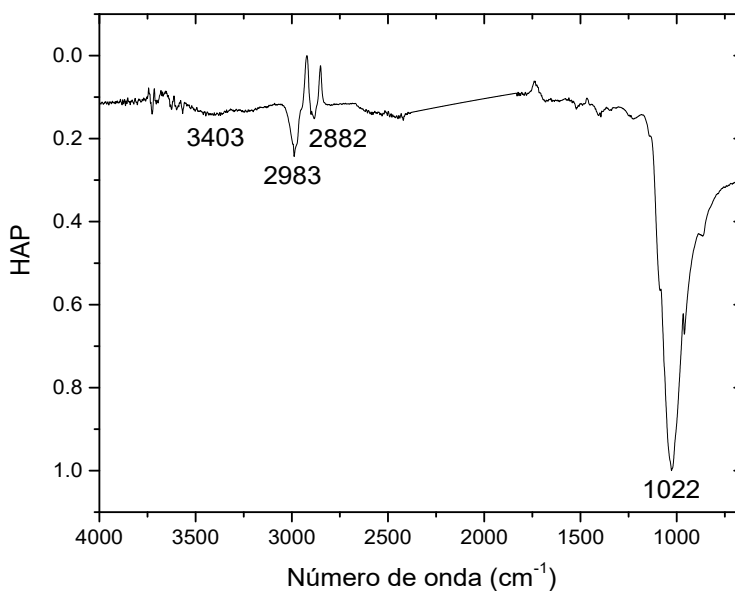


Figura 3.18: Espectro FTIR de hidroxiapatita.

Los espectros de hidroxiapatita con plata por ambos métodos de síntesis se muestran en la Figura 3.19, los cuales se hicieron con un equipo diferente con el que se tiene mayor rango de número de onda, aunque también bajo la técnica de ATR (Attenuated Total Reflection). Para estos espectros se obtuvieron bandas de absorción que van desde 460 hasta 602 cm^{-1} las cuales corresponden a los enlaces del grupo PO_4 de la HAP. En 640 cm^{-1} aparece un pequeño pico perteneciente al grupo hidroxilo. En todos los espectros se pueden ver bandas aproximadamente en 1026-1140 que derivan de los enlaces PO_4 pertenecientes a la HAP, aunque para el caso de los espectros de AgHAP se tiene una menor intensidad para ambos. Las bandas de absorción que van desde los 1220 hasta 1500 corresponden a diferentes tipos de enlaces C-O y N-C los cuales provienen tanto del etilenglicol como del PVP utilizado como surfactante, el enlace N-C se ve confirmado por las bandas en el rango de 1400-1450; así mismo en las bandas de 1634 y 1647 localizadas en los espectros se le atribuyen al doble enlace C=O. En 2164 y 2168, para las síntesis de reducción química y poliol respectivamente, se alcanza a apreciar la presencia de un pequeño pico de absorbancia el cual de acuerdo a la bibliografía indica la presencia de AgNPs⁽⁴⁸⁾⁽⁶³⁾. Aparecen bandas que van desde los 2850 a 2990 las cuales se le atribuyen a las vibraciones simétricas y asimétricas de CH_2 . Se tienen además bandas que van desde 3050 a 3650 indicando los grupos de H_2O y OH, estas bandas son las correspondientes a la parte hidratada de la hidroxiapatita; se sabe que la capa de agua de los cristales de hidroxiapatita contiene una alta concentración de iones de calcio y fosfato⁷⁰, y estos iones son fácilmente intercambiables en una solución, por lo tanto se puede esperar que los iones Ag^+ se incorporen a los cristales de hidroxiapatita⁽⁷¹⁾⁽⁷²⁾, el porcentaje de iones Ca^+ intercambiables son únicamente del 4% del calcio total⁴⁴.

Las bandas de absorbancia correspondientes a la HAP después de ser utilizada como soporte de las AgNPs tienen una intensidad relativa menor, la cual se vio afectada por la relación Ag/HAP de cada muestra, siendo en la muestra de poliol mayor, reafirmando los resultados obtenidos por DRX.

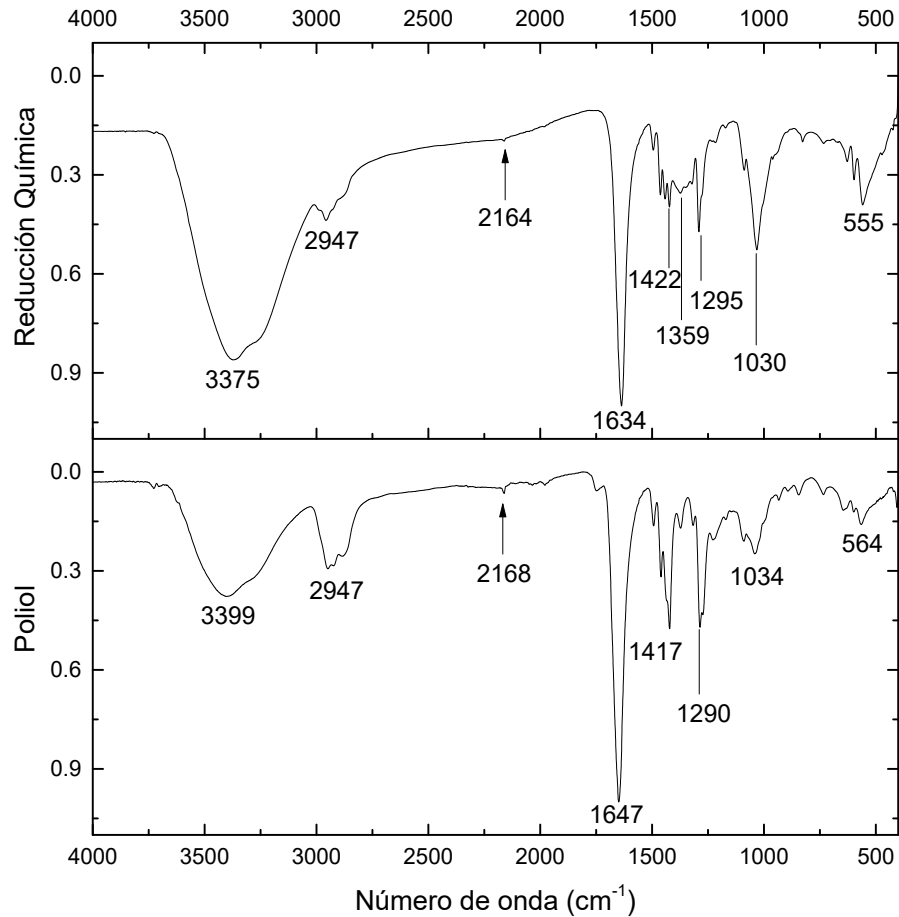


Figura 3.19: Espectros FTIR del material AgHAP obtenido por los métodos de reducción química y polirol.

3.2.3 Análisis por Microscopía Electrónica de Barrido

Esta técnica de caracterización se realizó de igual manera tanto para la HAP como para el material Ag-HAP (obtenido por ambos métodos de síntesis) para observar la distribución de las AgNPs sobre el material de soporte.

En la Figura 3.21 se muestran dos micrografías de barrido de la hidroxiapatita sintética en donde se observan partículas en forma de prismas hexagonales muy bien definidas, esto se debe a que la celda unitaria de la hidroxiapatita es hexagonal

compacta y este tipo de estructuras cristalinas presenta un crecimiento preferencial a lo largo de “C” tomando como referencia la Figura 3.20. Las caracterizaciones de este material se tomaron, a pesar de saber que fue sintetizada por una compañía con un alto grado de pureza, para poder compararlas al momento de combinarlo con las nanopartículas de plata.

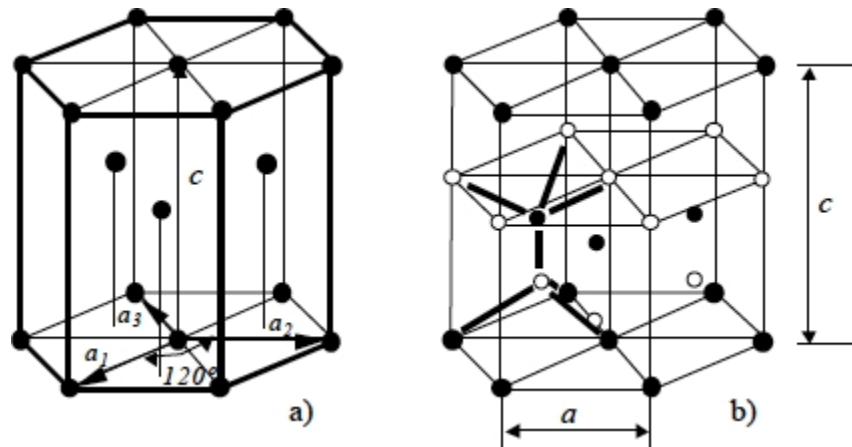


Figura 3.20: Diagrama de una estructura cristalina hexagonal compacta.

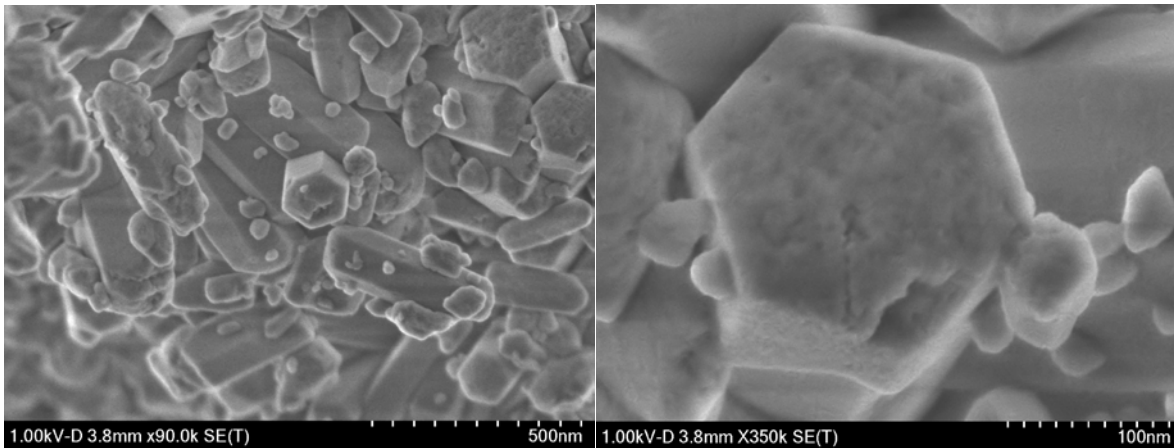


Figura 3.21: Micrografías de barrido de la hidroxiapatita.

Teniendo como referencia la HAP antes de ser utilizada en el proceso de síntesis es posible mostrar los resultados de SEM para el nanomaterial AgHAP. Primero se muestra, siguiendo el orden del trabajo aquí presente, los resultados de la muestra de reducción química y luego los del método del poliol.

En el método de reducción química únicamente se varían las concentraciones a utilizar, por lo que se tiene un bajo grado de control sobre las distintas características de las nanopartículas sintetizadas, esto se vio reflejado al momento de soportar la plata sobre la hidroxiapatita como se observa en la Figura 3.22. En este caso solo se pudieron obtener imágenes con el detector de electrones secundarios (ya que fue necesario recubrir la muestra con oro) los cuales ofrecen información topográfica de la muestra⁷³, en donde se ve la forma del material Ag-HAP pero sin apreciar el contraste entre Ag y HAP por causa del recubrimiento.

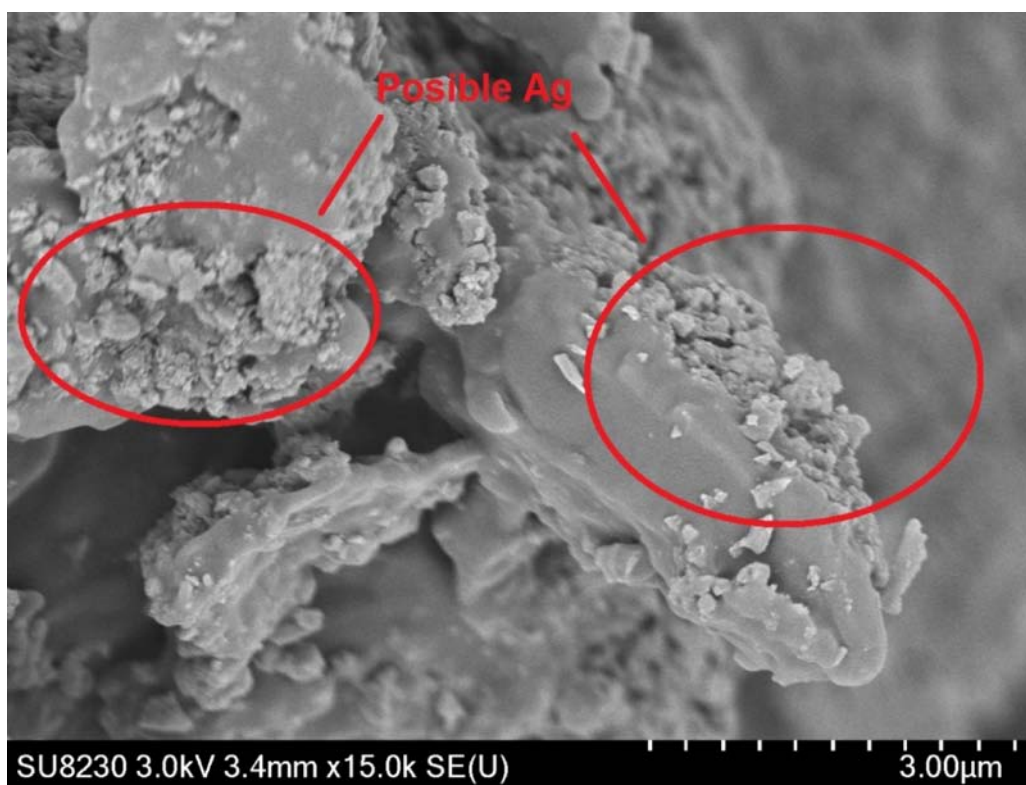
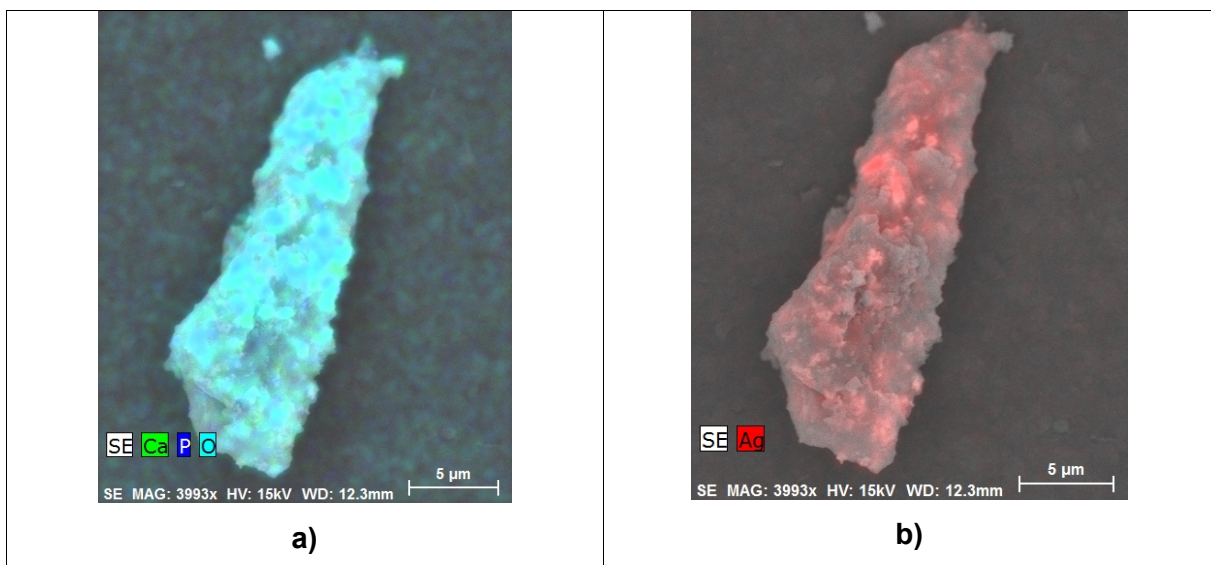


Figura 3.22: Micrografías del material compuesto AgHAP por reducción química.

Se tienen en la Figura 3.22 zonas que probablemente sean Ag, pero al no tener un contraste por número atómico se necesitan una prueba adicional. Por tal motivo se realizaron mapeos de la misma muestra del material Ag-HAP (Figura 3.23), esto con el fin de corroborar la presencia de la plata sobre la hidroxiapatita. Se identificó la presencia de Ag y los elementos propios de HAP (Ca, P y O), el único que no fue posible identificar debido a la técnica es el H, además se ve de manera clara la

distribución de los elementos en la muestra. Dichos mapeos fueron realizados con ayuda del detector de energía dispersiva (EDS) con que cuenta el microscopio. En la Figura 3.23a es posible reafirmar que el material de soporte es hidroxiapatita. En la Figura 3.23b se tiene la imagen de la zona en donde se muestra únicamente la localización de la plata sobre la partícula del soporte. Combinando la señal de las Figura 3.23a y 3.23b se tiene la Figura 3.23c la cual muestra la presencia superficial de Ag sobre HAP. De igual manera con ayuda del detector EDS se obtuvo el espectro correspondiente que se muestra en la Figura 3.23d, en donde es posible reafirmar la presencia de los materiales que corresponden a la HAP y además la presencia de plata en la muestra. Por último, aparecen ciertos picos con poca relevancia los cuales corresponden al Na residual del reductor utilizado en la síntesis, el portamuestras de Al, y el del oro utilizado para recubrir la muestra.

De las Figura 3.22 y 3.23 es posible decir que hubo formación de Ag sobre la superficie de la hidroxiapatita, aunque no en forma de nanopartículas, sino más bien como pequeños aglomerados sin una morfología definida.



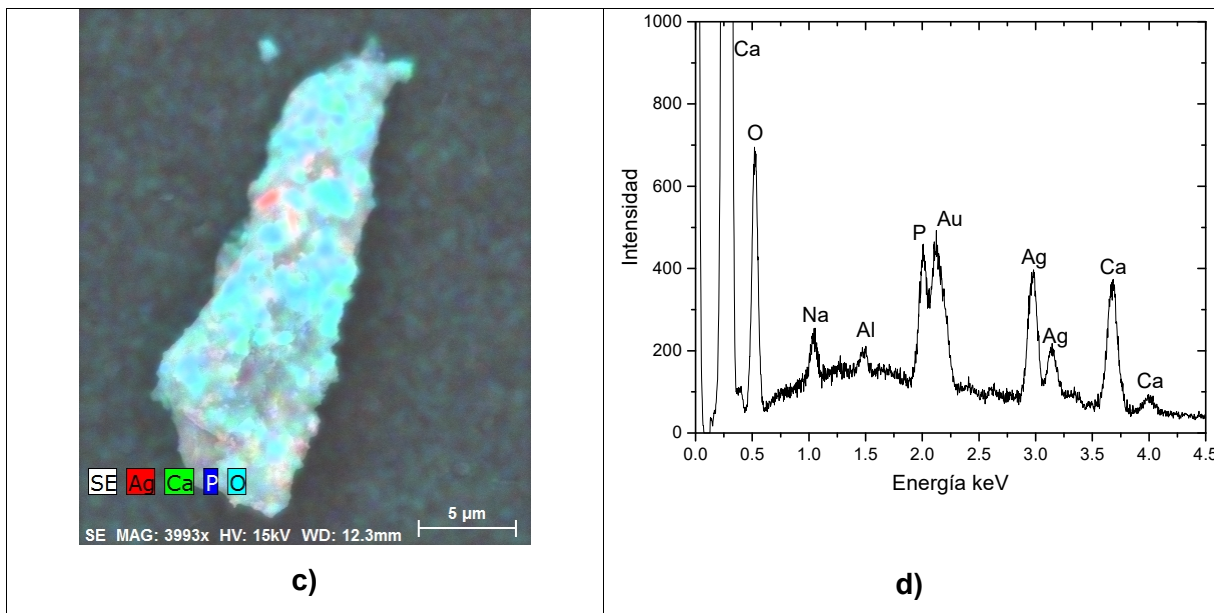


Figura 3.23: Mapeos de los diferentes elementos del nanomaterial AgHAP obtenido en el método de reducción química.

El método del poliol al ser un proceso en donde se controlan factores como la concentración, temperatura, tiempo de reacción y la velocidad con que se agrega el precursor, lo vuelve un proceso más lento, pero con resultados más estables. Esto se observa en la Figura 3.24, en donde se muestran dos micrografías de barrido de una misma zona con diferentes contrastes con lo que resulta más sencillo visualizar las nanopartículas de plata, esto es debido a los detectores con que se obtuvieron ambas imágenes, los diferentes contrastes se deben al detector con el cual fueron obtenidas las imágenes. La Figura 3.24a fue obtenida por medio del detector de electrones secundarios, que nos ofrece información topográfica de la muestra, con la cual es posible apreciar claramente las AgNPs sobre las partículas de HAP. En la Figura 3.24b se muestra la misma zona pero resaltando las AgNPs, esto se debe a que la imagen se obtuvo con el detector de alto ángulo (HA = High Angle), el cual detecta los electrones de mayor energía, y esto permite obtener imágenes con un contraste por número atómico⁷³.

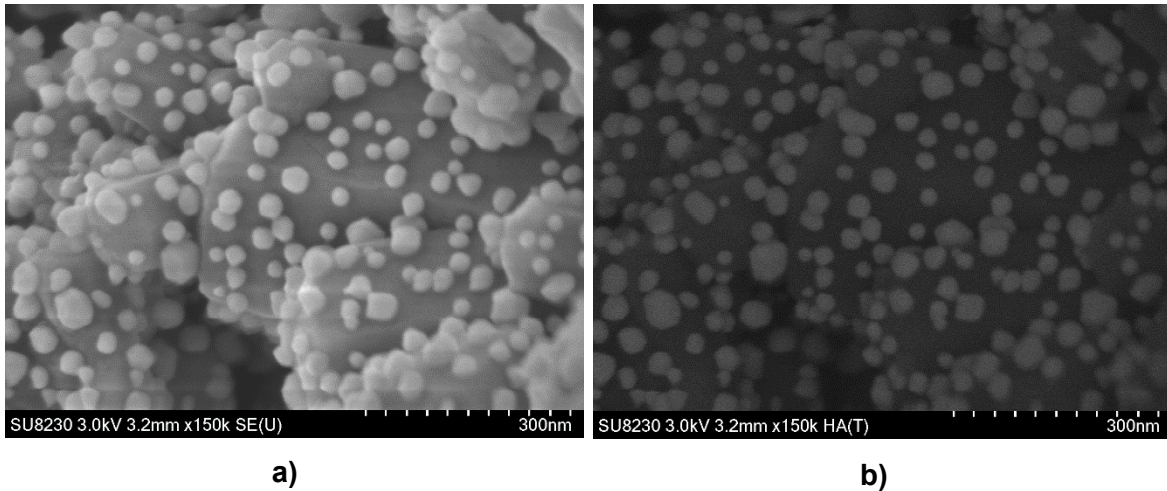


Figura 3.24: Micrográficas del material compuesto AgHAP por el método del poliol.

En la Figura 3.25 se muestran los mapeos EDS realizados para este método de síntesis, con estos se corrobora la distribución de las AgNPs sobre la superficie de la HAP. En la Figura 3.25a se ve únicamente la señal proveniente de la hidroxiapatita, corroborándose la presencia de los elementos que la componen (Ca, P y O). Así mismo la Figura 3.25b muestra los lugares en donde se encuentra la plata. Por último, en la Figura 3.25c se muestra la combinación de las señales de Ag y HAP. También en este caso se obtuvo el espectro EDS encontrando las señales de cada elemento que componen a la HAP, así como los picos que son característicos de Ag. Se ve también un pico de Al el cual corresponde al portamuestras utilizado para el análisis.

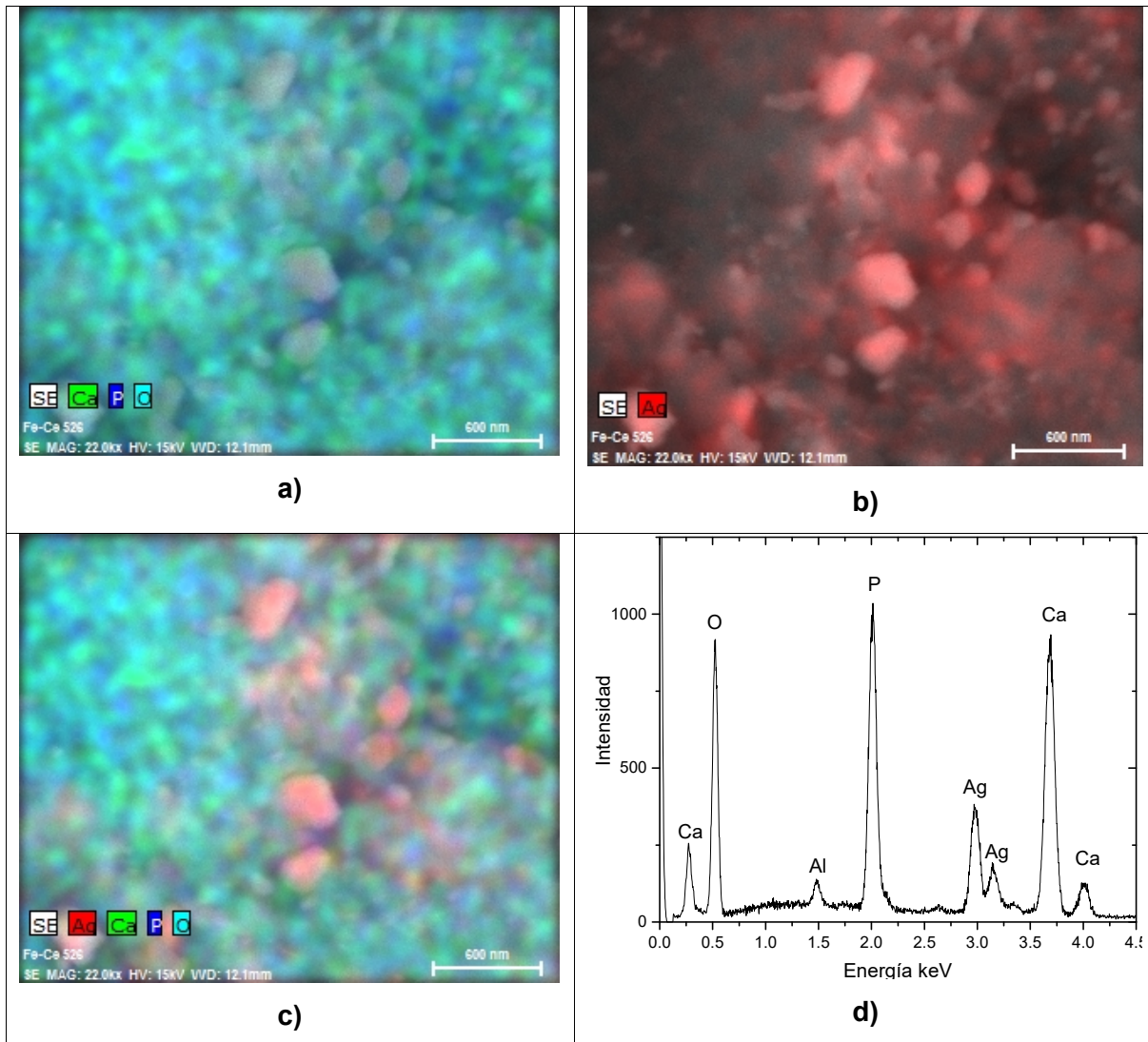


Figura 3.25: Mapeos de los diferentes elementos del nanocompuesto AgHAP obtenido por el método del polioli.

Con este método de síntesis se lograron sintetizar AgNPs con una buena dispersión sobre la superficie del material de soporte, pero se ve una distribución con un mayor rango de tamaños, llegándose a obtener partículas de hasta 100 nm. La distribución del tamaño de AgNPs resultó menos homogénea para ambos métodos de síntesis al realizarlos en presencia de HAP. Este resultado puede atribuirse a que la energía necesaria para llevar a cabo la nucleación de las partículas es menor, ya que la superficie de la hidroxiapatita ofrece un sitio de nucleación para las AgNPs, es decir se favorece un proceso de nucleación heterogénea, por lo cual los iones liberados

en el medio al tener energía “extra” tienden a aumentar su movimiento ocasionando un acomodo atómico menos ordenado⁷⁴. Para obtener partículas con menos variabilidad de tamaño, sería necesario reajustar algunos parámetros para disminuir su velocidad de nucleación o incluso su velocidad de reducción. En el caso de reducción química el primer factor sería adicionar por goteo de manera aún más pausada el agente reductor, para así prolongar más la nucleación y crecimiento de las partículas. Para el método del poliol los primeros factores a disminuir serían la temperatura y/o el tiempo de reacción. El que la Ag esté dispersa sobre la superficie de la HAP influyó en la intensidad relativa de los picos en DRX e FTIR por el cambio en la distribución de cargas superficiales.

4. CONCLUSIONES

Se logró sintetizar con éxito las AgNPs con un tamaño promedio de partícula de 15 nm y una desviación estándar de 5 nm, lo cual no rebasa el límite inferior propuesto (10 nm). Siendo la velocidad de reducción el principal factor a considerar en este tipo de síntesis química, independientemente del método utilizado, ya que si es demasiada acelerada genera una gran cantidad de iones libres en poco volumen, estos buscan estabilizarse lo más pronto posible y como consecuencia se producen aglomerados en fracciones de tiempo muy breves; pero si la reducción es muy lenta ocurre que las partículas tengan una distribución de tamaños muy amplia, esto se debe a que mientras unas partículas ya se están formando, otras apenas están nucleando o inclusive apenas se estén reduciendo los iones M^+ , lo que ocasiona una distribución poco homogénea de esos iones M^+ en las diferentes partículas.

En reducción química se observaron tres factores que interfieren en la obtención de AgNPs con un cierto tamaño, poca variabilidad de tamaño, y una buena dispersión.

- El primer factor y quizás el más importante es controlar la velocidad de adición del reductor, al ser el borohidruro de sodio uno de los agentes con mayor potencial reductor, es necesario agregarlo lo más lentamente posible para obtener partículas con un tamaño de partícula homogéneo.
- El segundo factor es la relación de la $AgNO_3/NaBH_4$, en el caso del presente trabajo fue de 1:1, la cual también influye en la velocidad de reducción.
- El tercer factor es la relación Ag/PVP , siendo este el que influye en el tamaño de las AgNPs, ya que éste afecta su velocidad de nucleación y crecimiento.

Para el método del poliol se observaron otros factores, además de los que se tuvieron en reducción química, teniendo algunos un mayor impacto que otros. Primero está la concentración de Ag, ya que está directamente relacionada a la velocidad de reducción, lo cual se debe a que el medio de solución (etilenglicol) al mismo tiempo es el agente reductor. Otro factor de gran importancia es la velocidad

de agregación del precursor de Ag, esto sigue afectando a la velocidad de reducción, pero en este caso el etilenglicol tiene un efecto mucho más lento, por lo que resulta necesario agregarlo a un flujo constante mínimo de 1.5 ml/s para asegurar la homogeneidad en el tamaño de las partículas; la razón de esto es que al tener un flujo pausado unas partículas se encontraran en la fase de crecimiento mientras que otras se encontraran nucleando con una menor cantidad de Ag^+ para la formación de las nanopartículas. Para la formación de las AgNPs por este método se requiere un tiempo mínimo de 30 min de reacción, sin embargo, el extender este tiempo hasta 4 h no afectó significativamente al crecimiento de AgNPs, cabe aclarar que esto no se corroboró para otros sistemas metálicos o de ningún tipo. De hecho el principal factor para la obtención de un tamaño específico de partícula es la temperatura a la que se lleva a cabo la reacción, esto se debe a que el calor transferido al sistema se transforma en energía cinética que ocasiona una colisión entre partículas, lo que provoca adhesión entre las mismas y subsecuentemente coalescencia, a este fenómeno se le conoce como movimiento browniano; aunque aquí también influye la relación Ag/PVP pero en menor medida que en el anterior método de síntesis.

Al momento de realizar las diferentes síntesis en presencia de la HAP las velocidades de nucleación y crecimiento se vieron afectadas. En el caso de reducción química la influencia fue tal que se formaron diversos aglomerados de plata sobre la superficie de la HAP, por lo cual sería necesario encontrar nuevos parámetros para que este método de síntesis arroje mejores resultados. Hablando del método del poliol se obtuvieron mejores resultados en cuanto a dispersión de las partículas formadas sobre la hidroxiapatita, esto se dedujo apoyado de los resultados que obtenidos por DRX y SEM; refiriéndose a que la distribución de tamaño resultó ser más amplia para este caso.

De acuerdo con las caracterizaciones por DRX y FTIR, la estructura cristalina de la HAP no cambió al llevarse a cabo el intercambio entre los iones de Ca^+ con los de

Ag^+ , aunque si se dio una disminución en el tamaño del cristal porque la Ag ocupa menos espacio que el Ca en la estructura cristalina de la HAP, lo que hace que se creen concentradores de esfuerzos y se rompan los cristales a tamaños más pequeños.

El método de soporte empleado resultó funcional, ya que si se deseará extrapolar este método con biohidroxiapatita, la cual tiene gran cantidad de iones metálicos (siendo no estequiométrica) sobre su superficie que la vuelven más asimilable para el cuerpo humano, es probable que estos mismos iones funcionen como sitios activos ayudando a soportar las AgNPs con mayor facilidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Huang, S., Zhu, J. & Zhou, K. Synthesis and Luminescence properties of Tb³⁺ -doped Hydroxyapatites. *Adv. Mater. Res.* **401**, 1582–1587 (2012).
2. www.nanotechproject.org/inventories.
3. es.wikipedia.org.
4. POTOČNIK, J. Commission Recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial. *Off. J. Eur. Union* **38**, 3 (2011).
5. Engineering, T. R. S. & T. R. A. of. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. 116 (2004).
6. Laura M. ¿Que es la nanotecnología? El tamaño si importa. 1 (2016). Available at: <http://elfaronanotec.blogspot.mx/2016/10/que-es-la-nanotecnologia-el-tamano-si.html>.
7. Rao, C. N. R., Cheetham, A. K. & Barbara, S. Science and technology of nanomaterials: current status and future prospects. 2887–2894 (2001). doi:10.1039/b105058n
8. Aguirre, F. M. A. Síntesis y estabilización de nanopartículas de plata y óxido de plata, caracterizadas mediante espectroscopias raman, uv-visible y microscopia electrónica. (Universidad Nacional Autónoma de México, 2012).
9. Vance, M. E. *et al.* Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein J. Nanotechnol.* **6**, 1769–1780 (2015).
10. Martaelm. Aplicaciones de la nanotecnología en la agricultura e industria alimentaria. *septiembre 29*, (2014). Available at: <https://lamamapachama.com/2014/09/29/aplicaciones-de-la-nanotecnologia-en-la-agricultura-e-industria-alimentaria/>.
11. G. Mendoza; J. L. Rodríguez. La nanociencia y la nanotecnología: una revolución en curso. *Perfiles Latinoam.* **29**, 161–186 (2007).
12. Ferrando, R., Jellinek, J. & Johnston, R. L. Nanoalloys: From Theory to Applications of Alloy Clusters and Nanoparticles. *Am. Chem. Soc.* **108**, (2008).

13. Maximiliano, L. & Vila, F. Nanotecnología : Su desarrollo en Argentina , sus características y tendencias a nivel mundial . (Universidad Nacional de General Sarmiento).
14. C. N. R. Rao, P. J. Thomas, G. U. K. *Nanocrystals: Synthesis, Properties and Applications*. (Springer, 2007).
15. Zanella, R. Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano* **5**, 69–81 (2012).
16. S. Irvani, H. Korbekandi, S.V. Mirmohammadi, B. Z. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Res. Pharm. Sci.* **9**, 385–406. (2014).
17. Handy, R. D. & Shaw, B. J. Toxic effects of nanoparticles and nanomaterials: Implications for public health , risk assessment and the public perception of nanotechnology. *Health. Risk Soc.* **9**, 125–144 (2007).
18. Renn, O. & Roco, M. C. Nanotechnology and the need for risk governance. *J. Nanoparticle Res.* **8**, 153–191 (2006).
19. Bruño, G. M. *Elementos de Geometría*. (Bouret, 1909).
20. Callister, W. D. & Rethwisch, J. D. G. *Materials Science and Engineering an Introduction*. (2010).
21. Kim, D. Y., Im, H., Ok, O. & Taik, Y. Evolution of gold nanoparticles through Catalan , Archimedean , and Platonic solids †. *CrystEngComm* **12**, 116–121 (2010).
22. Ramírez, R. M. Historia de la plata : su impacto en las antiguas civilizaciones y la sociedad moderna. *Rev. Digit. _Universitaria* **11**, 1–9 (2010).
23. Alexander, J. W. History of the Medical Use of Silver. *Surg. Infect. (Larchmt)*. **10**, 6 (2009).
24. Klasen, H. J. A historical review of the use of silver in the treatment of burns . II . Renewed interest for silver. *Burns* **26**, 131–138 (2000).
25. Núñez, N. V. A. Nanopartículas de plata como microbicidas: actividad y mecanismos de acción contra la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y diferentes bacterias resistentes a antibióticos. (Universidad Autónoma de Nuevo León, 2010).

26. Kumar-krishnan, S. *et al.* Chitosan / silver nanocomposites : Synergistic antibacterial action of silver nanoparticles and silver ions. *Eur. Polym. J.* **67**, 242–251 (2015).
27. Jung, W. K. *et al.* Antibacterial Activity and Mechanism of Action of the Silver Ion in Staphylococcus aureus and Escherichia coli Antibacterial Activity and Mechanism of Action of the Silver Ion in Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *Appl. Environmental Microbiol.* **74**, 2171–2178 (2008).
28. Prabhu, S. & Poulouse, E. K. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action , synthesis , medical applications , and toxicity effects. *Int. Nano Lett.* **2**, 1–10 (2012).
29. Lok, C. *et al.* Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *J Biol Inorg Chem* **12**, 527–534 (2007).
30. Foldbjerg, R. *et al.* Silver nanoparticles – wolves in sheep’s clothing? *Toxicol. Res.* **4**, 563–575 (2015).
31. Ahamed, M. *et al.* DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **233**, 404–410 (2008).
32. Admin1. Cuadros comparativos de células procariotas y eucariotas. (2016). Available at: <http://cuadroscomparativos.com/cuadros-comparativos-de-celulas-procariotas-y-eucariotas-diferencias-y-caracteristicas/>.
33. Parker, M. T. M. J. M. M. J. *Brock Biología de los Microorganismos*. (Prentice Hall, 2003).
34. Kokubo, T. Formation of biologically active bone-like apatite on metals and polymers by a biomimetic process. *Thermochim. Acta* **281**, 479–490 (1996).
35. Stott, M. J. Electronic and crystallographic structure of apatites. *Phys. Rev.* **67**, 1–7 (2003).
36. Luis, J., Ortega, G. & Villarreal, N. E. Visualización cristalográfica de la hidroxiapatita. *Ingenierías* **7**, 46–50 (2004).
37. OSHIDA, Y. *Hydroxyapatita: Synthesis and Applications*. (2015).
38. Ruíz-baltazar, A. & Pérez, R. Kinetic Adsorption Study of Silver Nanoparticles on Natural Zeolite: Experimental and Theoretical Models.

- Applied Sci.* **5**, 1869–1881 (2015).
39. Mori, K., Hara, T., Mizugaki, T., Ebitani, K. & Kaneda, K. Hydroxyapatite-Supported Palladium Nanoclusters : A Highly Active Heterogeneous Catalyst for Selective Oxidation of Alcohols by Use of Molecular Oxygen. *Jacs Artic.* **126**, 10657–10666 (2004).
 40. Cui, Q. *et al.* Electrochimica Acta Based on a new support for synthesis of highly efficient palladium / hydroxyapatite catalyst for ethanol electrooxidation. *Electrochim. Acta* **132**, 31–36 (2014).
 41. Barker, C. O. Antibióticos profilácticos en cirugía. *Med. U. P. B.* **11**, 51–58 (1992).
 42. Cardoso, O. P. Metodología de empleo de la hidroxiapatita coralina HAP-200 en ortopedia y traumatología. *Rev. Cuba. Ortop. y Traumatol.* **19**, (2005).
 43. Feng, Q. L. & Cui, F. . Z. Ag-substituted hydroxyapatite coatings with both antimicrobial effects and biocompatibility. *J. Mater. Sci. Lett.* **18**, 559–561 (1999).
 44. Shirkhazadeh, M., Azadegan, M. & Liu, G. Q. Bioactive delivery systems for the slow release of antibiotics: incorporation of Ag + ions into micro-porous hydroxyapatite coatings. *Mater. Lett.* **24**, 7–12 (1995).
 45. Mocanu, A. *et al.* Synthesis; characterization and antimicrobial effects of composites based on multi-substituted hydroxyapatite and silver nanoparticles. *Appl. Surf. Sci.* **298**, 225–235 (2014).
 46. Takashi, S., Hatsuchika, T. & Hayakawa, Y. Synthetic Hydroxyapatites Employed as Inorganic. *J. Chem.* **77**, 1059–1062 (1980).
 47. Kim, S. *et al.* Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicol. Vitro.* **23**, 1076–1084 (2009).
 48. Universitaria, C. & Juriquilla, C. Spectroscopy study of silver nanoparticles produced by chemical. *Mater. Sci. Forum* **755**, 15–20 (2013).
 49. Zhao, T. *et al.* Size-controlled preparation of silver nanoparticles by a modified polyol method. *Colloids Surfaces A Physicochem. and engineering Asp.* **366**, 197–202 (2010).
 50. Kim, D., Jeong, S. & Moon, J. Synthesis of silver nanoparticles using the

- polyol process and the influence of precursor injection. *Nanotechnology* **17**, 4019–4024 (2006).
51. Morales, J., Morán, J., Quintana, M. & Estrada, W. síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por la ruta Sol-Gel a partir de nitrato de plata. *Rev. la Soc. Química Perú* **75**, 177–184 (2009).
 52. Vallejo, S. S. Síntesis de nanopartículas plata-sílice a través de un método organometálico. (Universidad de la rioja, 2012).
 53. B. D. Cullity, S. R. S. *Elements of X-RAY DIFFRACTION*.
 54. José Luis, P., Rogelio, M. & Raúl, G. *Espectroscopías Infrarroja y Raman*.
 55. Jones, C. *FE SEM TRAINING: Hitachi High Technologies Hitachi S-4800 II Field Emission Scanning Electron Microscopy*.
 56. B, I. A. & L, A. M. Resistencia antimicrobiana de Salmonella, Shigella y Vibrio cholerae. *Rev. Perú Médica* **21**, 2002–2004 (2004).
 57. Báze, C. & Camou, T. *Manual Básico de Control de Calidad en el Laboratorio de Microbiología*. (2007).
 58. Pal, B., Rana, S. & Kaur, R. Influence of different reducing agents on the Ag nanostructures and their electrokinetic and catalytic properties. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **15**, 2753–2760 (2015).
 59. Zielinska, A., Skwarek, E., Zaleska, A., Gazda, M. & Hupka, J. Preparation of silver nanoparticles with controlled particle size. *Procedia Chem.* **1**, 1560–1566 (2009).
 60. Tian, X., Wang, W. & Cao, G. A facile aqueous-phase route for the synthesis of silver nanoplates. *Sci. Direct* **61**, 130–133 (2007).
 61. Martínez, V., Marín, J. & C, O. S. A. Evolución del tamaño nanocristalino en aleaciones Cu-Mo medio de aleado mecánico. *Congr. CONAMET/SAM 2004* **6** (2004).
 62. Wang, H., Qiao, X., Chen, J. & Ding, S. Preparation of silver nanoparticles by chemical reduction method. *Sci. Direct* **256**, 111–115 (2005).
 63. Ruíz-baltazar, Á. D. J., Reyes-lópez, S. Y., Larrañaga, D. & Pérez, R. Comparative study of Ag nanostructures: molecular simulations, electrochemical behavior, and antibacterial effect. *Hindawi* **2016**, 9 (2016).

64. Jesús, S. Síntesis y caracterización de nano-monocristales de Glicina-Nitrato de Sodio, GSN, con propiedades ópticas no-lineales. *Tecnura* **9**, 4–9 (2006).
65. KIM, T. N. *et al.* Antimicrobial effects of metal ions (Ag⁺ , Cu²⁺ , Zn²⁺) in hydroxyapatite. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **9**, 129–134 (1998).
66. Takashi, S., Hatsuchika, T. & Hayakawa, Y. Synthetic Hydroxyapatites as Inorganic Cation Exchangers. *J. Chem.* **80**, 3157–3165 (1984).
67. Fages Santana, E. Investigación de fibras de polipropileno aditivadas con nanopartículas de plata para la mejora de propiedades bioactivas en el sector textil. (UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALENCIA).
68. Karatas, Y. & Yurderi, M. Palladium(0) nanoparticles supported on hydroxyapatite nanospheres: active, long-lived, and reusable nanocatalyst for hydrogen generation from the dehydrogenation of aqueous ammonia – borane solution. *J. Nanoparticle Res.* **16**, 12 (2014).
69. Askeland, D. R. & Phule, P. P. *The Science and Engineering of Materials.* (2003).
70. Robertson, W. G. & Morgan, D. S. Effect of pyrophosphate on the exchangeable calcium pool of hydroxyapatite crystals. *Biochim. Biophys. Acta* **230**, 495–503 (1971).
71. Pak, C. Y. C. & Bartter, F. C. ionic interaction with bone mineral. Evidence for an isoionic calcium exchange with hydroxyapatite. *Biochim. Biophys. Acta* **141**, 401–409 (1967).
72. Avnimelech, Y. Analysis of P32 and Ca45 exchange between hydroxyapatite and its equilibrium solution. *Isr. J. Chem.* **6**, 375–385 (1968).
73. http://www.jeol.co.jp/en/applications/pdf/sm/465_en.pdf. 3–5 (2011).
74. Alejo, D. P. Potencial de nanopartículas de plata inmovilizadas mediante la técnica de ultrasonido recubiertas en corcho granular como agente microbiano. (Universidad Politecnica de Cataluña, 2015).