



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES
UNIDAD LEÓN

ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE ESTERILIZACIÓN DE
NANOPARTÍCULAS DE SULFURO DE PLATA SINTETIZADAS
POR ULTRASONIDO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN ODONTOLOGÍA

P R E S E N T A:

KARLA ANGÉLICA FERNÁNDEZ MENDOZA

TUTOR:

MTRA. EDNA PAMELA VILCHIS VALADEZ

ASESOR:

DRA. MA. CONCEPCIÓN ARENAS ARROCENA



LEÓN, GUANAJUATO, MÉXICO

2024



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.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad de crecer profesionalmente.

A la ENES Unidad León por permitirme pertenecer a esta comunidad y convertirse en mi segundo hogar durante los últimos años.

A mi tutora, la Mtra. Edna Pamela Vilchis Valadez por alentarme a no rendirme y cumplir mis objetivos, por compartir sus conocimientos conmigo, regalarme tiempo, su confianza, paciencia, cariño y amistad.

A mi asesora, la Dra. Ma. Concepción Arenas Arrocena por los conocimientos compartidos conmigo, por su enseñanza, paciencia y todo el apoyo brindado para este proyecto.

A la Dra. Lourdes Palma Tirado del INB-UNAM por las mediciones en TEM, a la Dra. Marina Vega González del Centro de Geociencias de la UNAM por las mediciones en SEM y EDS.

Al proyecto PAPIIT-DGAPA IN112921: Síntesis *in situ* de compositos de politiofenos/sulfuros metálicos funcionalizados para aplicaciones fotovoltaicas por el apoyo parcial para el desarrollo de este proyecto de tesis.

A mis profesores, quienes compartieron su pasión y conocimientos conmigo y fueron parte fundamental en mi formación.

A mis pacientes, por depositar su confianza en mí y permitirme aprender de todos y cada uno de ustedes.

A todos aquellos que han contribuido a mi formación personal y profesional.

Sinceramente, gracias.

DEDICATORIAS

*Este trabajo está dedicado principalmente a mis padres, **Angélica**, gracias por darme la vida y siempre ser luz y protección en mi camino, **Lety**, gracias por siempre haberme motivado a todo y ser mi apoyo incondicional, por enseñarme a no rendirme y todo lo que sé, por ser una gran amiga y siempre creer en mí, gracias a ambas por cuidarme desde el cielo e infinitas gracias por todo el amor que siempre me demostraron; a **Juan Carlos**, gracias por el apoyo incondicional que siempre me has brindado, por guiarme y confiar en mí, por ser mi primer paciente, por permitirme crecer, motivarme y darme la oportunidad de llegar hasta aquí.*

*A mi hermana, **Mariana**, gracias por todo el apoyo emocional que me das, por ser mi consejera, confidente, mi mejor amiga y alma gemela, por acompañarme en todo siempre, por cada lágrima, risa y enojo, por ayudarme con mis tareas cuando más lo necesité, por tenerme paciencia, y por creer y confiar en mí en todo momento.*

*A mi abuelita **Rosario** y a mi tía **Mar**, gracias por enseñarme que cualquier sueño se consigue trabajando, por formar parte importante de mi vida, por siempre recibirme con una sonrisa, por su apoyo incondicional y todo el amor que siempre me tuvieron.*

*A mi tita, **Margarita**, gracias por siempre preocuparte y orar por mí, por escucharme, por estar presente en toda mi trayectoria académica, por alegrarte de todos y cada uno de mis logros, y por darme y demostrarme tu amor incondicional.*

*A mis amigos **Diana** y **Memo**, gracias por permanecer conmigo a lo largo de estos años, por estar en las buenas y en las malas siempre, por escucharme, por el apoyo que me han dado sobre todo en los momentos más difíciles y demostrarme que la familia sí se puede elegir. A **Carla, Alejandro y Yareth**, por ser mi compañía y hacer mi vida universitaria más amena y por acompañarme en los momentos más difíciles que he vivido, gracias por siempre estar y enseñarme el significado de la amistad.*

A todos y cada uno a quien debo mi agradecimiento y no he nombrado aquí, están en mi corazón.

RESUMEN

Objetivo: Para que las nanopartículas de sulfuro de plata sintetizadas en el LII puedan ser probadas y aplicadas en el campo biomédico, es necesario que cuenten con propiedades fisicoquímicas adecuadas, y así poder cumplir su función, entre las propiedades se encuentran el tamaño y forma de la partícula, la capacidad de ser esterilizadas sin que dichas características resulten modificadas, y sean viables en futuros proyectos.

El objetivo de este estudio es demostrar la viabilidad de protocolos de esterilización estandarizados para nanoestructuras en dónde no se afecten propiedades, funciones y que sean efectivos para su uso en el LII de la ENES León.

Material y método: Se sintetizaron nanopartículas de sulfuro de plata Ex y Peg mediante el uso de ultrasonido durante 2 horas, luego se recolectaron, almacenaron, y compararon con Ag₂S Com de Sigma Aldrich, se formaron 14 grupos experimentales, cada uno conformado por una muestra de Ag₂S Com, Ex y Peg.

Obtenidos los grupos: **Ag₂S en solución acuosa:** grupo control a (muestras sin esterilizar), grupos 1, 2, 3 (estériles mediante uso de autoclave), grupos 4, 5, 6 (estériles mediante luz UV); **Ag₂S polvo-líquido:** grupo control b (muestras sin esterilizar), grupos 7, 8, 9 (estériles mediante uso de autoclave), grupos 10, 11 y 12 (estériles mediante luz UV).

Las muestras fueron sometidas a diferentes tiempos y procesos de esterilización, los cuales fueron mediante el uso de autoclave y de luz ultravioleta (UV), en periodos de 20, 30 y 40 minutos.

Finalmente se realizaron caracterizaciones (TEM, SEM y DRx) y espectrometrías (con el método UV-Vis) de cada muestra para clasificar sus propiedades y evaluar posibles cambios estructurales.

Resultados: Los resultados demuestran que las nanopartículas de sulfuro de plata no sufren modificaciones estructurales ni morfológicas después de ser sometidas a diferentes procesos de esterilización y se clasificaron de acuerdo al grupo experimental al que pertenecían las muestras, al tiempo y método de esterilización que se sometieron. Posteriormente se realizó una comparación entre los resultados obtenidos mediante diferentes métodos de caracterización, en dónde se encontró que las nanopartículas de sulfuro de plata con polietilenglicol presentan mejores propiedades de dispersión.

Conclusión: El uso de autoclave es el mejor método para llevar a cabo los procesos de esterilización de las nanopartículas de sulfuro de plata, ya que sus propiedades físicas, químicas y morfológicas se mantienen sin alteraciones.

Palabras Clave: Ag₂S, autoclave, luz UV

ABSTRACT

Objective: To nanoparticles can be tested and applied in biomedical area, it is necessary that they have appropriate physicochemical properties, to be able to fulfill their function, among which are the size and shape of the particle, their ability to be sterilized without their aforementioned features being affected, and they will be easy to be applied to future projects.

The objective of this study is to demonstrate that it is possible to create sterilization protocols for nanostructures where they do not affect their properties, functions, and effectiveness for future use in LII at ENES León.

Material and method: Ex and Peg silver sulfide nanoparticles were synthesized by using ultrasound for 2 hours, then collected, stored, and compared with Ag₂S Com from Sigma Aldrich, 14 experimental groups were formed, each consisting of a sample of Ag₂S Com, Ex and Peg.

Obtained the groups: **Ag₂S in aqueous solution:** control group a (samples no sterilized), groups, 1, 2, 3 (sterilized by autoclave), groups 4, 5, 6 (sterilized by UV light); **Ag₂S powder-liquid:** control group b (samples no sterilized), groups, 7, 8, 9 (sterilized by autoclave), groups 10, 11, 12 (sterilized by UV light).

The samples were subjected to different times and sterilization processes, which were by autoclave and ultraviolet (UV) light, in periods of 20, 30 and 40 minutes.

Finally, micrographs (TEM, SEM y DRx) and spectrometry (UV-Vis) of each sample from each sample were performed to classify their properties.

Results: The results demonstrate that silver sulfide nanoparticles do not undergo structural or morphological modifications after being subjected to different sterilization processes and were classified according to the experimental group to which samples belonged, to the time and sterilization method to which they were subjected.

Subsequently, a comparison was made between the results obtained by different characterization methods, where it was found that silver sulfide nanoparticles with polyethylene glycol have better dispersion properties.

Conclusion: Use of autoclave is the best method to carry out sterilization processes of silver sulfide nanoparticles, since its physical, chemical, and morphological properties remain unchanged.

Key words: Ag₂S, autoclave, UV light

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	II
DEDICATORIAS	III
RESUMEN	IV
MARCO TEÓRICO	4
1.1 NANOTECNOLOGÍA	4
1.1.1 NANOPARTÍCULAS	5
1.2 NANOPARTÍCULAS DE SULFURO DE PLATA (Ag₂S)	7
1.3 PROCESO DE ESTERILIZACIÓN	8
1.3.1 MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN	8
1.4 MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN	9
ANTECEDENTES	12
2.1 APLICACIÓN DE LAS NPS Ag₂S	12
2.2 SÍNTESIS ASISTIDA POR ULTRASONIDO	13
METODOLOGÍA	16
3.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
3.2 JUSTIFICACIÓN	16
3.3 HIPÓTESIS	16
3.4 OBJETIVO GENERAL	17
3.4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3.5 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	17
3.5.1 TIPO DE ESTUDIO	17
3.5.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN	17
3.5.3 TAMAÑO DE LA MUESTRA	18
3.5.4 VARIABLES	18
MATERIALES Y MÉTODO	21
4.1 SÍNTESIS Y OBTENCIÓN DE NPS Ag₂S	23
4.1.1 MATERIAL Y EQUIPO	23
4.1.2 REACTIVOS Y SOLVENTES	23
4.1.3 MÉTODO DE SÍNTESIS	23
4.2 LAVADO DE NPS Ag₂S	25
4.2.1 MATERIAL Y EQUIPO	25

4.2.2	REACTIVOS Y SOLVENTES.....	25
4.2.3	PROCEDIMIENTO DE LAVADO	25
4.3	SECADO DE NPS Ag ₂ S	26
4.3.1	MATERIAL Y EQUIPO.....	26
4.3.2	MÉTODO DE SECADO.....	26
4.4	ESTERILIZACIÓN DE NPS Ag ₂ S	27
4.4.1	MATERIAL Y EQUIPO.....	27
4.4.2	REACTIVOS Y SOLVENTES.....	27
4.4.3	MÉTODO DE ESTERILIZACIÓN	27
4.5	CARACTERIZACIÓN DE NPS Ag ₂ S	31
4.5.1	MATERIAL Y EQUIPO.....	31
4.5.2	REACTIVOS Y SOLVENTES.....	31
4.5.3	MÉTODO DE CARACTERIZACIÓN	32
RESULTADOS		34
5.1	MÉTODO DE ESTERILIZACIÓN.....	34
5.1.1	ABSORCIÓN ÓPTICA POR ESPECTROSCOPIA UV-vis	34
5.1.2	MORFOLOGÍA POR MICROGRAFÍA TEM	44
5.1.3	MORFOLOGÍA POR MICROGRAFÍA SEM	46
5.1.4	ESTRUCTURA CRISTALINA POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)	48
5.1.5	ANÁLISIS ELEMENTAL O ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSIVA (EDS) ..	50
5.2	EFFECTO DEL TIEMPO DE ESTERILIZACIÓN POR AUTOCLAVE EN LA ABSORCIÓN ÓPTICA DE Ag ₂ S	51
5.3	EFFECTO DEL TIEMPO DE ESTERILIZACIÓN POR LUZ UV EN LA ABSORCIÓN ÓPTICA DE Ag ₂ S	52
DISCUSIÓN.....		54
CONCLUSIÓN		57
REFERENCIAS.....		59
ANEXOS		VI

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 NANOTECNOLOGÍA

La nanotecnología es la parte de la ciencia encargada de la creación, diseño y síntesis de nuevas estructuras a niveles atómicos y moleculares que se encuentran en una escala de 0 a 100 nm (10^{-9} m) (Boisseau y Loubatonb, 2011). Actualmente utilizada para el diseño de nuevas estructuras a escala nanométrica, las cuales se han aplicado en diversas áreas del conocimiento como la química, física y biología (área médica) (Pájaro *et al.*, 2013).

La nanotecnología se encarga principalmente de la creación y la construcción de materiales, estructuras y dispositivos a escala nanométrica, cuyas propiedades mecánicas, físicas y químicas son útiles en una amplia gama de aplicaciones, tales como; en la biodetección, la resonancia magnética, la detección óptica, los sistemas de administración de fármacos y muchos otros (Gajewicz *et al.*, 2012).

Las propiedades físicas y químicas de algunos nanomateriales suelen ser las mismas a las del material a gran escala; sin embargo, en algunos casos estas características se modifican de acuerdo con el tamaño de la partícula. Hay varias razones por las cuales ocurre este cambio, por ejemplo; las propiedades termodinámicas pueden ser alteradas por la presencia de curvaturas de las nanoestructuras, por el área superficial y por la energía superficial libre, entre otros factores. Además, está el hecho de que a medida que disminuye el tamaño de las partículas, la proporción de átomos que se encuentran en su superficie aumenta drásticamente (Powers *et al.*, 2005).

Gracias a la nanotecnología se han diseñado adelantos en la monitorización, la reparación de tejidos, el diagnóstico, el tratamiento y la prevención de enfermedades mediante el uso de nanomateriales que pueden ser de diferentes tipos (Figura 1), entre los cuales se encuentran principalmente los nanocristales, las nanofibras, los nanocables, los nanotubos y las nanopartículas (Yang, 2008).

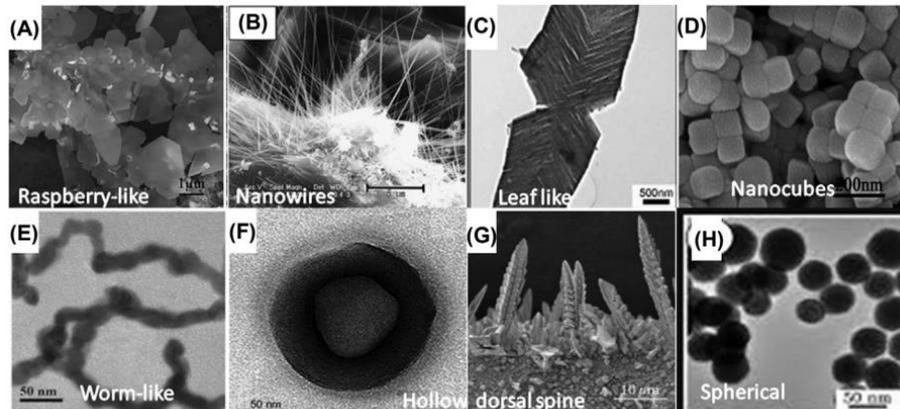


Figura 1. Diferentes morfologías de nanoestructuras (Tiwari y Dhoble, 2022).

1.1.1 Nanopartículas

Las nanopartículas son el resultado de la creación de un nuevo material a partir de la síntesis de diferentes compuestos químicos que poseen propiedades ópticas, electrónicas, magnéticas y catalíticas únicas, que son de gran utilidad en diversas aplicaciones. Las nanopartículas son estructuras elaboradas artificialmente a base de carbono (C) y metales como el oro (Au), la plata (Ag), el titanio (Ti), entre otros. Sus propiedades pueden ser moduladas cambiando el tamaño, forma, o la funcionalización de la superficie de las nanopartículas sin cambiar la composición del material (Zanella, 2012).

Se considera como nanopartícula a aquellas partículas que cuentan con un tamaño que oscila entre 0 y 100 nm al menos en una dimensión. De acuerdo con la disminución del tamaño, el radio entre el área de la superficie y el volumen se incrementa de manera muy importante, lo que conlleva a modificaciones significativas en sus propiedades físicas, químicas y biológicas (Cardoso, 2016).

Las nanopartículas se pueden obtener mediante dos diferentes procesos de preparación (Figura 2), los cuales se clasifican en técnicas descendentes (**top-down**), los cuales consisten en la utilización de métodos físicos y procesos de trituración, es decir, se obtiene algo pequeño a partir de algo más grande; y en técnicas ascendentes (**bottom-up**) en los cuales se utilizan métodos químicos en solución coloidal y procesos de formación de partículas a partir de una solución, es decir, se obtiene algo grande a partir de algo más pequeño (Leyva, 2013).

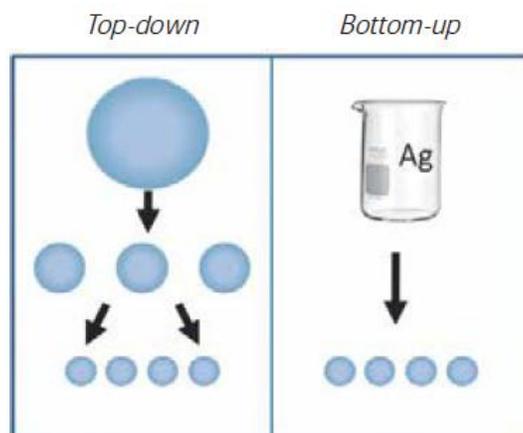


Figura 2. Métodos generales de obtención de nanopartículas (Leyva, 2013).

Es posible sintetizar nanopartículas mediante diferentes rutas, y esto genera la existencia de tamaños, morfología, e incluso estabilidad de variables. Por lo general, estos métodos se clasifican en tres grandes categorías: de síntesis física, química y biológica, también conocida como síntesis verde (Cardoso, 2016).

Existen diversos métodos para la síntesis de nanopartículas, de los cuales, los más empleados son los procedimientos químicos con técnicas **bottom-up**. Por lo general, estos procedimientos de síntesis inician con la reducción de iones a átomos, los cuales se van agregando de manera controlada. Los métodos químicos son más convenientes para la obtención de nanopartículas uniformes y pequeñas (Leyva, 2013). Los métodos más representativos son:

a) El método coloidal

Este método consiste en disolver un precursor (una sal), un reductor y un estabilizante (un líquido). Al inicio de la síntesis se puede controlar el tamaño y la morfología de las nanopartículas, al hacer variaciones en la concentración de los reactivos, del reductor y del estabilizante. Las partículas contenidas en una solución coloidal generalmente tienen un tamaño medido en nanómetros, por eso es considerado un método eficiente para producir nanopartículas (Zanella, 2012).

b) Reducción fotoquímica y radioquímica

Este método consiste en la modificación del sistema químico de las partículas metálicas a partir de síntesis que generan reductores fuertes muy activos (electrones y radicales en estado de excitación). Estos métodos presentan ventajas sobre el método de reducción química, ya que se producen nanopartículas en estado sólido, a temperaturas más bajas y de alta pureza; frecuentemente utilizadas para sintetizar partículas de metales nobles. Estas partículas son obtenidas a partir de sales disueltas en agua, alcohol o solventes orgánicos (Wang *et al.*, 2021).

c) Irradiación con microondas

Este método consiste en producir nanopartículas con tamaños (controlados) y morfologías (imprecisas), gracias a que los materiales contenidos en la solución se calientan y generan cargas eléctricas en el solvente, lo cual permite el crecimiento de las partículas. La termorregulación asistida por microondas es considerada una alternativa muy atractiva para la síntesis de nanomateriales ya que es un método rápido y efectivo. Frecuentemente las nanopartículas de Ag se preparan a partir de sales precursoras del metal y son disueltas en soluciones de etilenglicol por calentamiento con microondas (Al-Shehri *et al.*, 2020).

d) Síntesis solvotermal

Este método utiliza un precursor metálico disuelto en un líquido distinto al agua (como líquidos orgánicos, amoníaco líquido, etc.), en un recipiente cerrado, que se calienta por encima de su punto de ebullición, generando presión superior a la atmosférica (regulada). Esta técnica generalmente se realiza a tiempos de reacción más largos (comparados con otros métodos de síntesis química) y su objetivo es lograr una mejor disolución de los componentes, y de esta manera es posible disolver o hacer reaccionar especies muy poco solubles en condiciones habituales (Zanella, 2012).

1.2 NANOPARTÍCULAS DE SULFURO DE PLATA (Ag_2S)

El sulfuro de plata (Ag_2S) es un calcogenuro metálico semiconductor polimórfico (Shakouri y Salavati, 2014), es decir que es un material que tiene propiedades de un conductor y un aislante, y se puede encontrar en diferentes acomodos cristalográficos bajo ciertas condiciones de temperatura, las cuales son tres fases diferentes: monoclinico, cúbico centrado en el cuerpo o argentita y cúbico centrado en la cara (Sadovnikov *et al.*, 2018).

El sulfuro de plata cuenta con una estabilidad química y buenas propiedades ópticas, correspondiente a la familia de los sulfuros, es el más utilizado además de los de los sulfuros de plomo, zinc, cadmio y cobre (Gunawan, *et al.*, 2022).

Las nanopartículas de sulfuro de plata (Ag_2S) son el producto de la síntesis de diferentes compuestos químicos en solución coloidal que se obtiene mediante un método *bottom-up* (Leyva, 2013) entre los cuales se encuentran el nitrato de plata (AgNO_3) y el sulfuro de sodio (Na_2S). Tras años de estudios, se han demostrado propiedades antimicrobianas presentes en las nanopartículas de sulfuro de plata (Ag_2S), donde Ag_2S actúa como un semiconductor directo con buena estabilidad química y buenas propiedades de limitación óptica (Kumari *et al.*, 2014). Actualmente en el campo biomédico son utilizadas por sus propiedades antimicrobianas, no tóxicas, como bactericida y como un auxiliar antiinflamatorio (Aydemir *et al.*, 2020; Peng *et al.*, 2019).

Se sabe que el tiempo de síntesis y la irradiación de luz y calor influyen en la formación, tamaño y morfología de las nanopartículas de sulfuro de plata cuando se hace uso de microondas u ondas ultrasónicas para su obtención. Con este método se aplica energía rápidamente y esto genera una aceleración en las reacciones químicas a partir de los 15 minutos de trabajo. El nitrato de plata (AgNO_3) es el mejor precursor para la obtención NPs Ag_2S , con experimentos de tiempo y exposición a la luz variables, dando como resultado nanoestructuras donde su tamaño oscila entre los 4 a 10 nm, además se descubrió que al añadir etilenglicol a su composición y al ajustar sus proporciones, se obtienen nanocristales con morfología bien definida con tendencia a estructuras rectangulares (Magalhães *et. al*, 2020).

1.3 PROCESO DE ESTERILIZACIÓN

El medio de esterilización ideal es aquel que reúne características que aseguren su eficacia actuando como bactericida, tuberculicida, esporicida, fungicida y virucida, que sea un medio seguro, sencillo y fácil de manejar, inofensivo para la salud de quienes lo utilizan, además de que pueda ser monitorizado y/o controlado, de rápida actividad en poco tiempo, y dónde se pueda esterilizar cualquier tipo de material (Mc Graw Hill).

Existen diversos procesos de esterilización, sin embargo, todos y cada uno deben llevarse a cabo mediante sistemas o mecanismos que garanticen y controlen el éxito de los procesos (Pérez-Uz *et al.*, 2010; Garrido *et al.*, 2013).

1.3.1 Métodos de esterilización

Método físico: proceso que se lleva a cabo mediante calor, presión, radiación, o una combinación de dos o más, donde es indispensable tener control mecánico de la temperatura mediante un sensor que permita realizar un registro durante todo el proceso (Garrido *et al.*, 2013).

Calor seco. La destrucción microbiana se lleva a cabo mediante un proceso de oxidación de componentes celulares y desnaturalización de proteínas. Es un proceso poco eficaz debido a la ausencia de agua, por lo tanto, es necesario incrementar la temperatura y el tiempo de exposición (Pérez-Uz *et al.*, 2010).

Autoclave. Mediante la aplicación de calor y presión se destruye de manera eficaz a todos los microorganismos y enzimas, gracias a que sus membranas se desestabilizan. Es el procedimiento más habitual de esterilización y consiste en someter los materiales a 121°C y 1.1 bar, durante 20 minutos (Ardehna *et al.*, 2022).

Radiación. Se utilizan diferentes tipos de radiación con la finalidad de esterilizar diferentes tipos de superficies.

- * **Luz ultravioleta (UV).** Suele ser poco eficaz ya que no cuenta con el suficiente poder para penetrar en materiales como cristal o agua, sin embargo, es muy útil para esterilizar el aire y las superficies. Se utiliza con una longitud de onda de unos 260 nm (Igal-Munoz *et al.*, 2023).

Método químico: se realiza mediante inmersión de materiales en líquidos químicos, principalmente en glutaraldehído al 2 %, o por medio de gas de óxido de etileno o gas-plasma de peróxido de hidrógeno (Garrido *et al.*, 2013).

1.4 MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN

Las pruebas de caracterización sirven para identificar y evaluar las propiedades físicas y químicas que presenta un material. En el caso de los nanomateriales se evalúan tamaños, morfología, características estructurales y composición elemental, y complementariamente detección de contaminantes, todo esto con técnicas a nanoescala (Silva y Patrón, 2017).

Algunos ejemplos son:

- **Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-vis):** es una técnica analítica que permite medir la cantidad de longitudes de onda de luz UV o visible que absorbe o transmite una estructura. Esta técnica es utilizada en áreas como biología, física y química. Además, brinda información sobre lo que hay en la muestra y su concentración (Picollo *et al.*, 2018).
- **Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM):** es una técnica de análisis que muestra de manera cualitativa y cuantitativa los volúmenes de una muestra en micras cúbicas, muestra información sobre la estructura de la muestra (amorfa o cristalina) y su morfología, así como los defectos de un material. Las imágenes presentan distintas intensidades de gris que corresponden al grado de dispersión de los electrones (Silva y Patrón, 2017).
- **Microscopía Electrónica de Barrido (SEM):** es una técnica de análisis que proporciona información sobre la morfología y la composición química de una estructura; en esta técnica, la muestra es barrida y a partir de esto se construyen imágenes detalladas de la superficie de dicho material. Esta técnica es utilizada ya que las imágenes que se obtienen son de alta resolución, se obtienen de cualquier tipo de superficie, material o tejido de manera rápida (Labrada y Peña, 2017).
- **Difracción de Rayos X (DRX):** es un método analítico capaz de suministrar información cualitativa y cuantitativa de la geometría tridimensional de los compuestos cristalinos que presenta un sólido, y determinar los tamaños de los cristales. Se lleva a cabo mediante la irradiación de rayos X, para obtener imágenes del espacio interatómico dentro de un cristal (UNLP, 2010).

- **Espectroscopia de energía dispersada (EDS):** es un método analítico que proporciona información sobre la composición química y asociación entre los elementos que conforman una partícula o muestra (Orozco, 2014).

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES

Actualmente, ante la llegada de la nanotecnología ha sido posible crear, desarrollar y aplicar materiales que son capaces de traspasar barreras biológicas y llegar a cualquier parte del cuerpo; lo cual ha sido de gran impacto para el campo de la medicina (Reyes *et al.*, 2019); existen diferentes tipos de nanomateriales o nanoestructuras que son nombradas de acuerdo a su morfología, entre las cuales se encuentran los nanocristales, las nanofibras, los nanocables, los nanotubos y las nanopartículas (Yang, 2008).

Los biomateriales pueden poseer varias propiedades, como la no toxicidad, bioactividad, biodegeneración, biocompatibilidad, entre otros; sin embargo, hoy en día ninguna estructura ha logrado cumplir con todos los requerimientos necesarios para su función, por este motivo es de gran interés su modificación y funcionalización, con la finalidad de brindarles mayores propiedades (Reyes *et al.*, 2019).

Las nanopartículas (NPs) son el principal referente ya que dieron lugar a varias aplicaciones físicas, químicas y biológicas; ya que poseen propiedades únicas. Las nanopartículas de sulfuro de plata (NPs Ag₂S) han dado origen a una gran variedad de aplicaciones, como celdas solares, fotodetectores, fotoconductores, detectores IR, sensores de campo magnético, filtros ópticos, conductores superiónicos, revestimientos selectivos solares, entre otros (Kumari *et al.*, 2014).

La plata (Ag) y los compuestos a base de plata son conocidos como materiales con propiedades antibacterianas debido a su amplio espectro de actividad antimicrobiana contra diferentes tipos de bacterias Gram - (Ma *et al.*, 2012), por esta razón, en la actualidad y con el uso de la nanotecnología se ha empleado este elemento para sintetizar nanomateriales que comúnmente contienen metales pesados en su composición, ya que aún presentan inconvenientes para ser aplicados biológicamente, principalmente por la toxicidad.

Por lo tanto, el uso de nanomateriales aún genera preocupaciones debido a su seguridad y trayectoria en el campo biomédico o clínico; ya que la interacción entre un material y el sistema biológico debe investigarse a profundidad y caracterizarse para garantizar su uso (Aydemir *et al.*, 2020).

2.1 APLICACIÓN DE LAS NPS Ag₂S

Las nanopartículas de sulfuro de plata (NPs Ag₂S) poseen una actividad antimicrobiana de amplio espectro y por este motivo se pueden utilizar para combatir bacterias patógenas Gram (-), debido a que estas liberan lipopolisacáridos (LPS) como consecuencia de su reproducción o multiplicación (lisis). Los LPS son los principales constituyentes de la membrana externa de dichos microorganismos, por esta razón sus

características estructurales y biológicas son extensamente estudiadas; la mayoría del conocimiento y estudios actuales han sido obtenidos principalmente de pruebas realizadas a microorganismos como *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* (Romero e Iregui, 2010; Ma *et al.*, 2012).

Estas moléculas tienen gran influencia en la activación del sistema inmunológico, ya que a altas concentraciones pueden inducir a reacciones tales como la fiebre, el aumento del ritmo cardíaco y dar lugar a un choque séptico (por infecciones bacterianas); en concentraciones relativamente bajas, algunos LPS pueden inducir la resistencia a los microorganismos invasores (Aldapa-Vega *et al.*, 2016). Por tal motivo, en la actualidad son un objetivo de estudio importante desde el punto de vista farmacológico y terapéutico (Romero e Iregui, 2010).

Así las NPs de Ag₂S han dado lugar a varias aplicaciones de uso biomédico, ya que poseen propiedades que les permiten adherirse a las membranas celulares (alterando sus funciones y permeabilidad), y esto les permite poder entrar al interior de una bacteria (Leyva, 2013). Gracias a esto, su uso puede evidenciarse en el tratamiento de enfermedades como el cáncer y la diabetes (Pájaro *et al.*, 2013); así como en implantes biocompatibles o como nanosistemas de liberación de fármacos (Reyes *et al.*, 2019).

Además, se ha considerado a la citotoxicidad como uno de los mayores inconvenientes que presentan las nanopartículas en la actualidad, ya que se produce debido a diferentes mecanismos, entre ellos, la liberación de iones tóxicos y la elevación del estrés oxidativo (Aydemir *et al.*, 2020), algunos estudios han delimitado el efecto tóxico de las NPs Ag₂S contra las líneas celulares humanas, lo que les permitirá su uso en el campo de la nanomedicina (Subramaniyan *et al.*, 2019).

2.2 SÍNTESIS ASISTIDA POR ULTRASONIDO

Las ondas ultrasónicas o microondas generan que los reactivos contenidos en una solución actúen como campos eléctricos, capaces de calentar cualquier material conteniendo cargas eléctricas en un disolvente. La facilidad y corto tiempo de trabajo, además del bajo costo, permiten que este método sea óptimo en comparación con otros (Zanella, 2012).

La síntesis mediante el uso de ultrasonido es una técnica que en la actualidad se utiliza principalmente para producir nanopartículas con baja dispersión de tamaño, aunque no siempre se logra tener un control preciso de su morfología (Figura 3). Durante este proceso se genera la creación, el crecimiento y el colapso de burbujas (en un tamaño nanométrico) dentro de la solución que induce la reacción; aquí se producen vapores que se difunden por toda la solución creando burbujas que cuando alcanzan cierto tamaño, se colapsan, se libera calor (a temperaturas extremadamente altas), y esto desencadena el rompimiento de los enlaces químicos que se estuvieron formando en el soluto; después se presenta una etapa

de enfriamiento, la cual da lugar a la organización y cristalización de los productos. Es así como con este método de síntesis se pueden obtener materiales nanoestructurados (Rodríguez, 2020).

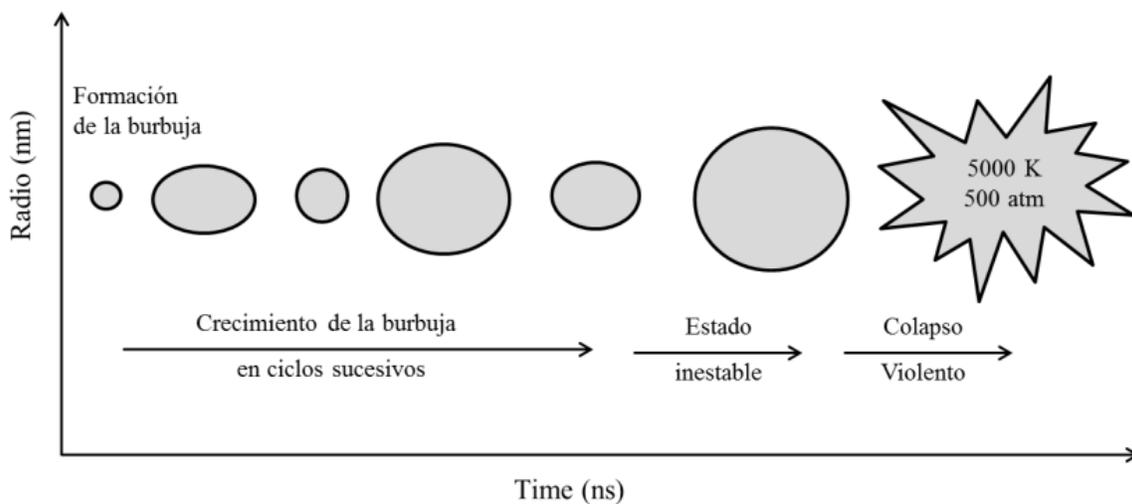


Figura 3. Representación esquemática de la formación de cristales mediante el uso de ultrasonido (Rodríguez, 2012).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Uno de los retos que se enfrentan al emplear este tipo de nanoestructuras es que la literatura no reporta la suficiente información para desarrollar protocolos de esterilización de nanopartículas de sulfuro de plata, influyendo en la necesidad de crear y establecer procedimientos y protocolos para su obtención y esterilización.

Dentro de la ENES León el Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria (LII) en conjunto con la clínica de odontología, se ha observado la problemática que desarrollan los microorganismos presentes en la cavidad oral, por lo cual se han desarrollado nanoestructuras, las cuales ayuden a combatir a estos microorganismos mayormente patógenos. Además, cabe mencionar, que hoy en día autores como Delgado-Beleño y colaboradores (en 2018) han investigado y aplicado estas nanoestructuras en el área biomédica gracias a sus propiedades antimicrobianas (Delgado-Beleño et al., 2018), mencionando también que dentro de la literatura no se reporta la existencia de protocolos establecidos para la síntesis y esterilización de nanopartículas de sulfuro de plata (Ag_2S) que posteriormente puedan ser utilizados y aplicados a cultivos biológicos, líneas celulares, o biomateriales de uso médico/odontológico (Vilchis, E., 2021).

Gracias a las investigaciones realizadas en 2018 por Prasanth y colaboradores se sabe que es posible obtener nanoestructuras con cambios o mejoras en algunas de sus propiedades físicas-químicas en comparación con el material original y por esta razón se ha pensado en sintetizar y obtener nanopartículas que posteriormente puedan ser esterilizadas, con el objetivo de reducir la carga microbiana, y finalmente aplicarlas a materiales de uso odontológico con la finalidad de potencializar sus propiedades.

3.2 JUSTIFICACIÓN

Las nanopartículas de sulfuro de plata tienen una gran variedad de aplicaciones útiles en la actualidad, siendo una de las más importantes en el área de la biomedicina (Argueta-Figueroa et al., 2017), su obtención resulta fácil de lograr y para poder aplicarse a diversos biomateriales, es necesario someterlas a procesos de esterilización adecuados, mediante los cuales se maximice la eliminación de residuos orgánicos e inorgánicos que se encuentran en su superficie, y de esta manera se pretende estandarizar protocolos que puedan ser replicables para su síntesis, esterilización y caracterización y así abrir nuevas líneas de investigación y aplicación de estas nanoestructuras.

3.3 HIPÓTESIS

Las propiedades estructurales y ópticas de las nanopartículas de sulfuro de plata no se modificarán por el protocolo de esterilización de luz UV y autoclave.

Nula: Las propiedades estructurales y ópticas de las nanopartículas de sulfuro de plata se modificarán por el protocolo de esterilización de luz UV y autoclave.

3.4 OBJETIVO GENERAL

Estandarizar un método de esterilización a partir del uso de autoclave y luz UV en diferentes periodos de tiempo y diferentes condiciones de esterilización, para poder identificar el método más eficiente y óptimo para las nanopartículas de sulfuro de plata.

3.4.1 Objetivos específicos

- Obtener nanopartículas de sulfuro de plata (Ag_2S) a través de una síntesis química en medio acuoso asistida por ultrasonido.
- Determinar cristalinidad, morfología y tamaño de las nanopartículas de sulfuro de plata mediante Difracción de Rayos X, Espectroscopia Óptica UV- Vis, Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) y Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).
- Estandarizar el método de esterilización de nanopartículas de Sulfuro de Plata (Ag_2S) en función del tiempo.

3.5 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

3.5.1 Tipo de estudio

Experimental puro, prospectivo

3.5.2 Criterios de selección

3.5.2.1 Criterios de inclusión

- Nanopartículas de sulfuro de plata (Ag_2S) Ex, Peg y Com esterilizadas mediante el uso de autoclave durante 20, 30 y 40 min
- Nanopartículas de sulfuro de plata (Ag_2S) Ex, Peg y Com esterilizadas mediante el uso de luz UV durante 20, 30 y 40 min

3.5.2.2 Criterios de exclusión

- Nanopartículas de sulfuro de plata (Ag_2S) Ex, Peg y Com esterilizadas mediante el uso de autoclave a tiempos diferentes 20, 30 y 40 min

- Nanopartículas de sulfuro de plata (Ag₂S) Ex, Peg y Com esterilizadas mediante el uso de luz UV a tiempos diferentes 20, 30 y 40 min
- Muestras contaminadas

3.5.3 Tamaño de la muestra

- 14 muestras de nanopartículas de sulfuro de plata (Ag₂S Ex) sintetizadas en el LII de la ENES León
- 14 muestras de nanopartículas de sulfuro de plata con polietilenglicol (Ag₂S Peg) sintetizadas en el LII de la ENES León
- 14 muestras de nanopartículas de sulfuro de plata comerciales (Ag₂S Com) de la marca Sigma Aldrich (Lot # MKCK5301)

3.5.4 Variables

3.5.4.1 Variables independientes

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	NATURALEZA Y ESCALA DE MEDICIÓN
Tipo de nanopartículas	Partículas a escala microscópica con un tamaño entre 1 y 100 nm (Boisseau y Loubatonb, 2011)	Nanopartículas de sulfuro de plata sintetizadas bajo 2 condiciones: experimentales y PEG	Cualitativa, ordinal, discreta
Método de esterilización	Modo de proceder la inactivación de todo aquel microorganismo vivo, incluidas esporas y virus (RAE, s.f.)	Esterilización por autoclave y luz UV	Cualitativa, nominal
Tiempo de esterilización	Duración de un ciclo de esterilizado (RAE, s.f.)	20, 30 y 40 minutos	Cuantitativa, ordinal

3.5.4.2 Variables dependientes

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	NATURALEZA Y ESCALA DE MEDICIÓN
Absorción óptica	Proceso mediante el cual la radiación es captada, amortiguada o extinta por la materia (RAE, s.f.)	Caracterización de nanopartículas de sulfuro de plata por método UV-Vis	Cuantitativa, de razón

Morfología	Forma o estructura de algo (RAE, s.f.)	Caracterización de nanopartículas de sulfuro de plata por métodos TEM, SEM, DRX	Cualitativa, nominal
Tamaño	Dimensiones físicas de algo, de mayor o menor volumen (RAE, s.f.)	Caracterización de nanopartículas de sulfuro de plata por métodos TEM, SEM	Cuantitativa

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODO

La fase experimental se dividió en etapas, las cuales se describen a continuación (Figura 4), la fase 1 consistió en la síntesis y obtención de las nanopartículas (NPs) mediante el uso asistido de ultrasonido, en la fase 2 se realizó el lavado de las NPs y secado mediante la aplicación de calor de manera controlada, además se realizó un proceso de trituración manual con un mortero de Ágata, en la fase 3 se llevaron a cabo el proceso de esterilización mediante dos métodos (autoclave y luz UV) y en la fase 4 se realizó la caracterización de las muestras mediante distintas técnicas (espectrometría UV-vis, micrografía TEM y SEM, DRX y EDS).

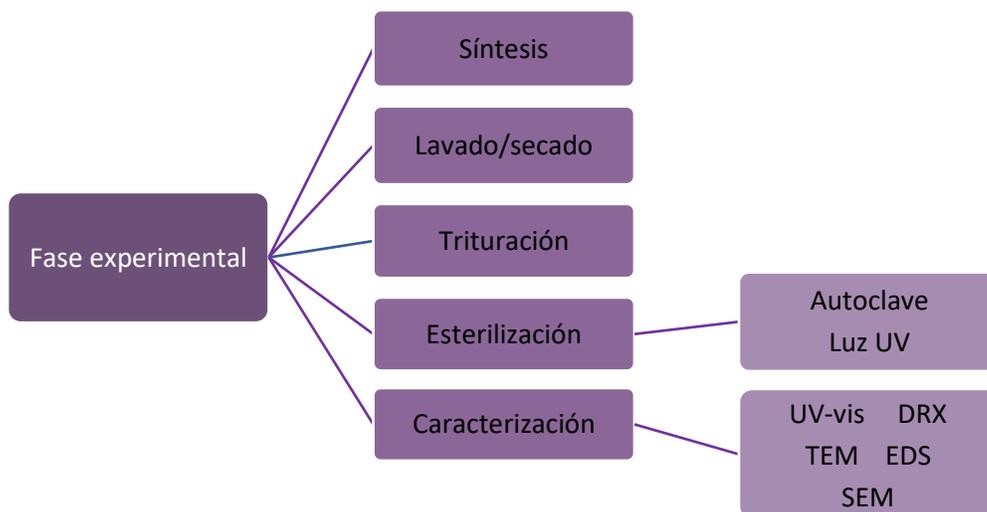


Figura 4. Fase experimental: procedimiento.

Las nanopartículas de sulfuro de plata se obtuvieron por síntesis química asistida con ultrasonido. La síntesis se llevó a cabo bajo dos condiciones, es decir sin ($\text{Ag}_2\text{S Ex}$) y con polietilenglicol ($\text{Ag}_2\text{S Peg}$); se lavaron, secaron, trituraron y almacenaron, distribuyéndose en grupos experimentales donde finalmente fueron comparadas con las nanopartículas comerciales de la marca Sigma Aldrich ($\text{Ag}_2\text{S Com}$).

Se crearon 14 grupos como se detalla en la (Figura 5), donde 2 de fueron grupos control y 12 grupos experimentales; cada uno conformado por una muestra de NPs $\text{Ag}_2\text{S Com}$, Ex y Peg .

Muestras en solución acuosa:

- Control a (muestras sin esterilizar)
- Grupo 1, grupo 2, grupo 3 (sometidos a un proceso de esterilización mediante uso de autoclave)
- Grupo 4, grupo 5, grupo 6 (sometidos a un proceso de esterilización mediante uso de luz UV)

Muestras polvo-líquido:

- Control b (muestras sin esterilizar)
- Grupo 7, grupo 8, grupo 9 (sometidos a un proceso de esterilización mediante uso de autoclave)
- Grupo 10, grupo 11, grupo 12 (sometidos a un proceso de esterilización mediante uso de luz UV)

Obtenidos los grupos, se dividieron una vez más para ser sometidos a diferentes tiempos de esterilización (Figura 6): los grupos 1, 4, 7 y 10 fueron esterilizados durante 20 min, los grupos 2, 5, 8 y 11 durante 30 min, y los grupos 3, 6, 9 y 12 durante 40 min.

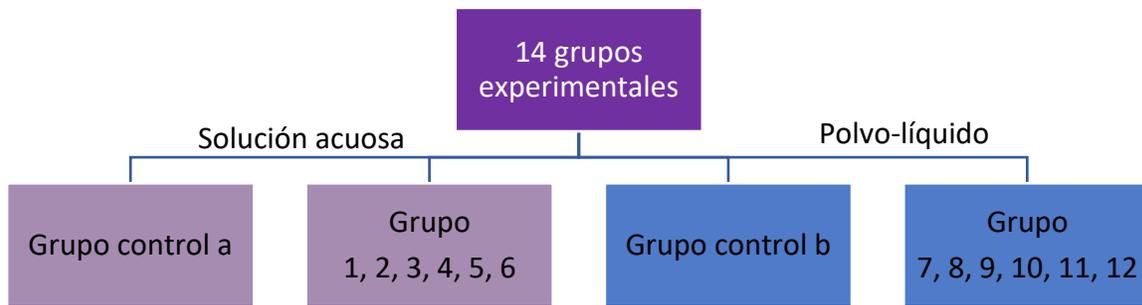


Figura 5. Clasificación de grupos experimentales.

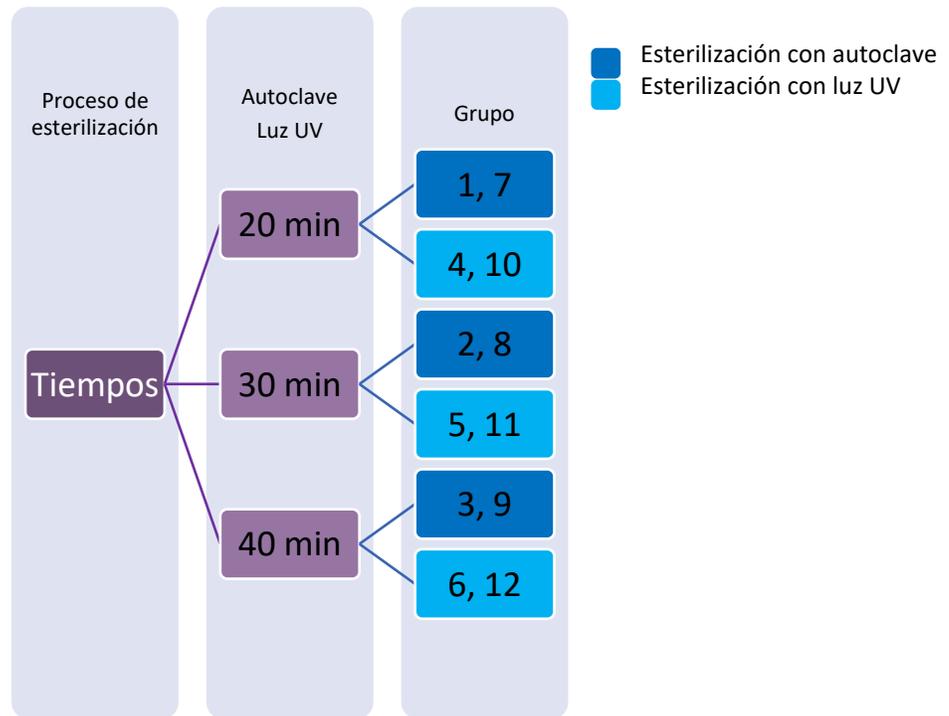


Figura 6. Tiempos y métodos de esterilización según el grupo.

4.1 SÍNTESIS Y OBTENCIÓN DE NPS Ag₂S

4.1.1 Material y equipo

- Balanza analítica (Denver Instruments)
- Tina ultrasónica (Branson, 2510 - 42 kHz)
- Matraz Erlenmeyer de 500 mL
- Matraces para aforar de 25, 50 y 100 mL
- Vasos de precipitado de 10 y 50 mL
- Papel de aluminio
- Tapón de gasas
- Papel para pesaje
- Campo desechable
- Equipo de protección (bata, lentes, cubrebocas, guantes desechables)

4.1.2 Reactivos y solventes

Tabla 1. Especificación de reactivos y solventes utilizados para la síntesis de nanopartículas de sulfuro de plata (Ag₂S) experimental con y sin polietilenglicol

Nombre del reactivo	Fórmula	Número de lote	Marca
Nitrato de plata	AgNO ₃	V14C24	J. T Baker
Sulfuro de sodio	Na ₂ S	68912	Fermont
Citrato de sodio	Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇	19726	Karal
Polietilenglicol	H(OCH ₂ CH ₂) _n OH	MKCK5301	Aldrich
Agua destilada	H ₂ O	32214	Karal

4.1.3 Método de síntesis

Las nanopartículas de sulfuro de plata se obtuvieron mediante una síntesis química asistida con ultrasonido, la cual se llevó a cabo bajo dos condiciones, nanopartículas experimentales (Ag₂S Ex) y con adición de polietilenglicol (Ag₂S Peg).

Tabla 2. Especificación, concentración y características de reactivos y solventes

Reactivo	Cantidad (g o mL)
Nitrato de plata (AgNO ₃)	0.424
Sulfuro de sodio (Na ₂ S)	0.195
Sulfuro de sodio (Na ₂ S)	0.0004
Citrato de sodio (Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇)	0.129
Polietilenglicol (H(OCH ₂ CH ₂) _n OH)	0.1
Agua destilada	225

En una balanza granataria se pesaron las cantidades de los reactivos anteriormente descritos, y se utilizó agua como solvente para la preparación de las soluciones.

Se preparó cada una de las soluciones en matraces volumétricos y en un matraz Erlenmeyer de 100 mL se agregaron dichas soluciones en el siguiente orden: citrato de sodio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), nitrato de plata (AgNO_3), sulfuro de sodio (Na_2S) y finalmente un excedente de sulfuro de sodio (Na_2S) (Figura 7).

Se cubrió en su totalidad el matraz Erlenmeyer con papel aluminio, se colocó un tapón de algodón y gasas y la boquilla se selló con cinta, se llevó a la tina ultrasónica durante 2 h a una frecuencia de 42 kHz y a una temperatura de 40 °C. Transcurridas las 2 horas de síntesis, se observó un cambio evidente en la coloración de la solución tornándose negro con presencia de precipitado.



Figura 7. Protocolo de síntesis del sulfuro de plata asistida por ultrasonido (fuente propia).

Para la síntesis en condición Peg, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 100 mL se agregaron las soluciones en el siguiente orden: citrato de sodio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), nitrato de plata (AgNO_3), 100 μL de polietilenglicol, sulfuro de sodio (Na_2S) y finalmente un excedente se sulfuro de sodio (Na_2S) (Figura 8).

Se cubrió en su totalidad el matraz Erlenmeyer con papel aluminio, se colocó un tapón de algodón y gasas y la boquilla se selló con cinta, se llevó a la tina ultrasónica durante 2 h a una frecuencia de 42 kHz y a una temperatura de 40 °C. Transcurridas las 2 h de síntesis, se observó un cambio evidente en la coloración de la solución tornándose negro con presencia de precipitado.



Figura 8. Protocolo de síntesis del sulfuro de plata con adición PEG asistida por ultrasonido (fuente propia).

4.2 LAVADO DE NPS Ag_2S

4.2.1 Material y equipo

- Centrífuga (Cole Parmer)
- Agitador vórtex (Daigger, Genie 2)
- Tubos Falcon de 15 mL
- Rotulador
- Campos desechables
- Equipo de protección (bata, lentes, cubrebocas, guantes desechables)

4.2.2 Reactivos y solventes

- Ag_2S Ex (LII-ENES León)
- Ag_2S Peg (LII-ENES León)
- Agua destilada

4.2.3 Procedimiento de lavado

Se retiró el matraz Erlenmeyer del ultrasonido y se cubrió nuevamente con láminas de papel aluminio, ya que éste se vio deteriorado posterior al proceso de sonicado. La muestra se dividió en 6 partes iguales, colocándose en tubos Falcon de 15 mL (Figura 9), cada uno con la misma cantidad de crudo de reacción.

Se introdujeron en la centrífuga durante 5 minutos a 5000 rpm, posteriormente se retiró el solvente y se desechó, se conservó el precipitado concentrado en el fondo de los tubos. Los tubos se llenaron sucesivamente con el crudo de reacción con la finalidad de obtener la

mayor cantidad de NPs. Después cada tubo se aforó con agua destilada y se colocaron en la centrífuga durante 5 minutos a 5000 rpm, este paso se repitió 4 veces.

Cuando el solvente se observó de color más claro se retiró por completo conservando únicamente el precipitado al fondo de los tubos, se llevaron al agitador vórtex durante 1 min cada tubo para deshacer los aglomerados. Se les colocó agua destilada y se almacenaron en tubos Falcon resguardados de la luz visible durante 18 h.

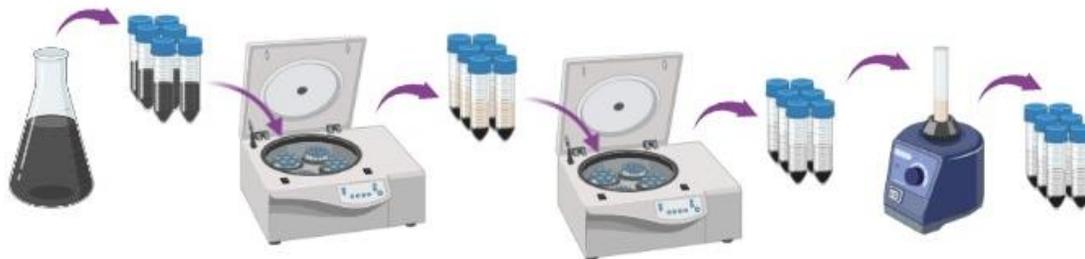


Figura 9. Protocolo de lavado del sulfuro de plata (fuente propia).

4.3 SECADO DE NPS Ag_2S

4.3.1 Material y equipo

- Ag_2S Ex (LII-ENES León)
- Ag_2S Peg (LII-ENES León)
- Parrilla eléctrica (Ika, C-MAG HS 7 – 60°C)
- Caja de Petri (cristal)
- Mortero de ágata
- Tubos Eppendorf
- Campos desechables
- Equipo de protección (bata, lentes, cubrebocas, guantes desechables)

4.3.2 Método de secado

Una vez limpias y recolectadas las muestras de los 6 tubos, se colocaron en una caja Petri, que posteriormente fue colocada en una parrilla de calentamiento para comenzar el secado a una temperatura de 60 °C durante 20 minutos. Una vez secas, se colocaron poco a poco en el mortero de Ágata para triturar durante 3 minutos por superficie y reducir su tamaño hasta obtener un polvo muy fino color negro y brillante con aspectos de microcristales, se obtuvo un rendimiento de 1.52 mg de nanopartículas por síntesis. Finalmente se almacenaron en tubos Eppendorf rotulados y protegidos de la luz (Figura 10).

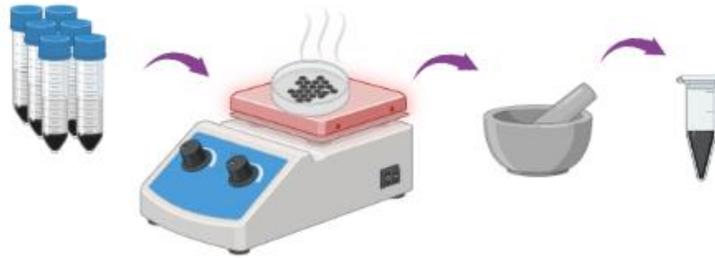


Figura 10. Protocolo de secado del sulfuro de plata (fuente propia).

4.4 ESTERILIZACIÓN DE NPS Ag_2S

4.4.1 *Material y equipo*

- Balanza analítica (Denver Instruments)
- Autoclave (Tuttnauer, 2340 – 121°C, 1.1 bar)
- Campana luz UV (Thermo, 1300 – 315 a 400 nm)
- Frascos con tapa
- Tubos de ensayo con tapa
- Rejilla para tubos de ensayo
- Papel de aluminio
- Rotulador
- Campos desechables
- Equipo de protección (bata, lentes, cubrebocas, guantes desechables)

4.4.2 *Reactivos y solventes*

- Ag_2S Ex (LII-ENES León)
- Ag_2S Peg (LII-ENES León)
- Ag_2S Com (Sigma Aldrich)
- Agua destilada

4.4.3 *Método de esterilización*

Se pesaron 7.5 mg de NPs Ag_2S Ex, Peg y Com, y se colocaron individualmente en frascos de cristal con tapa. Se realizaron 36 muestras, las cuales correspondían a 12 grupos experimentales, y fueron agrupadas según el proceso, el método y el tiempo de esterilización al que serían sometidos (Figura 11).

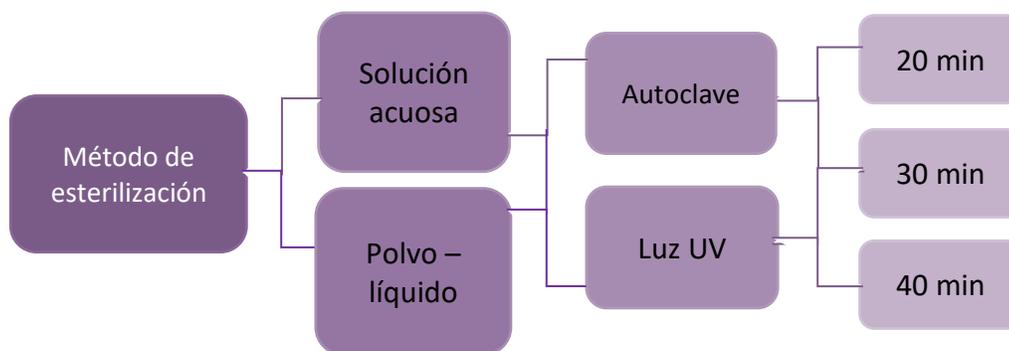


Figura 11. Clasificación de muestras de acuerdo a los métodos y procesos de esterilización.

El proceso de esterilización se realizó bajo las mismas condiciones tanto para las muestras disueltas en solución acuosa como para las muestras donde se esterilizó el polvo de las NPs y el dispersante por separado (121°C, 1.1 bar) (Figura 12).

Se realizaron tres ciclos de esterilización, cada uno con muestras de cada grupo experimental, siendo el primer ciclo a 20 min, el segundo a 30 min y el tercero a 40 min. Después de cada ciclo de esterilización cada frasco con NPs se rotuló y cubrió con papel de aluminio para proteger las nanopartículas de la luz visible.

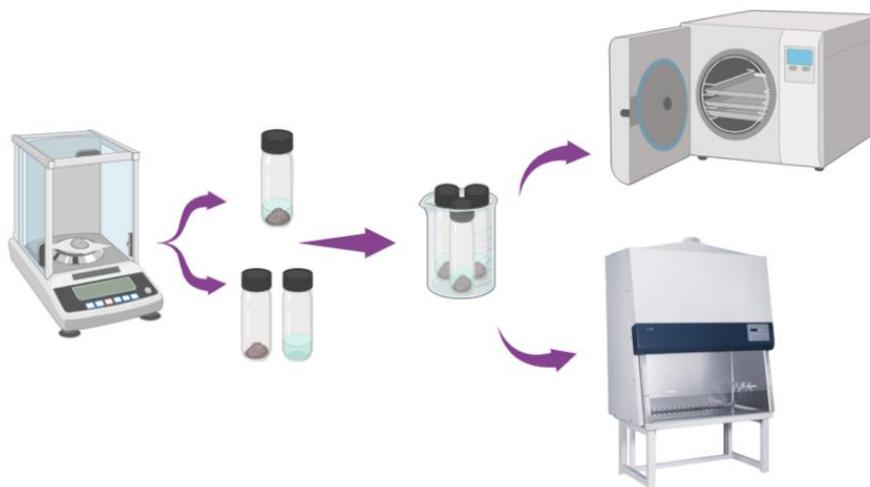


Figura 12. Clasificación de sulfuro de plata de acuerdo al método de esterilización (fuente propia).

- **Esterilización de muestras en solución acuosa:**

Durante este proceso las muestras de Ag_2S , fueron dispersadas 7.5 mg de polvo de nanopartículas en 1 mL agua destilada, formando soluciones acuosas que posteriormente se sometieron a los procesos de esterilización correspondientes para cada grupo (autoclave

o luz UV), las cuales posteriormente serían caracterizadas mediante los métodos UV-vis, TEM, SEM y DRX.

○ **Esterilización con autoclave:**

Se tomó una muestra de cada grupo experimental (Ag₂S Ex, Peg y Com), se crearon las soluciones acuosas con 7.5 mg de NPs y 1 mL de agua destilada, se colocaron individualmente en frascos de cristal rotulados y con tapa, y se colocaron en un vaso de precipitado dentro de la autoclave para ser esterilizados bajo las condiciones de temperatura y presión de 121°C y 1.1 bar, durante periodos de 20, 30 y 40 min según lo correspondiente a cada grupo experimental (Figura 13).



Figura 13. Esterilización de nanopartículas de sulfuro de plata (solución) mediante el uso de autoclave (fuente propia).

○ **Esterilización con luz UV:**

Se tomó una muestra de cada grupo experimental (Ag₂S Ex, Peg y Com), se crearon las soluciones acuosas con 7.5 mg de NPs y 1 mL de agua destilada y se depositaron cada una y por separado en frascos de cristal, rotulados y con tapa, se colocaron dentro de la campana de luz UV para ser esterilizados (Figura 14). Se realizaron tres ciclos de esterilización diferentes, cada uno con una muestra de cada grupo experimental, siendo el primer ciclo a 20 min, el segundo a 30 min y el tercero a 40 min.



Figura 14. Muestras estériles (luz UV) y dispersas (fuente propia).

- **Esterilización de muestras polvo-líquido:**

En este proceso se pesaron 7.5 mg de polvo de nanopartículas de cada muestra (Ag_2S Ex, Peg y Com) y 3 mL de agua destilada, los cuales fueron esterilizados por separado (autoclave y luz UV), una vez estériles se formaron las soluciones acuosas de manera individual y posteriormente se sometieron los métodos UV-vis, TEM, SEM y DRX.

- **Esterilización en autoclave:**

Se tomó una muestra de cada grupo experimental (Ag_2S Ex, Peg y Com), se colocaron 7.5 mg de cada una y por separado en tubos de cristal, rotulados y con tapa, envueltos con papel de aluminio, y por otro lado en un vaso de precipitado dentro de la autoclave para ser esterilizados, al igual que el agua destilada (3 mL) que sería utilizada como dispersante (Figura 15). Las muestras se esterilizaron bajo las condiciones de temperatura y presión de 121°C y 1.1 bar, durante periodos de 20, 30 y 40 min según lo correspondiente a cada grupo experimental (Fig. 13).



Figura 15. Esterilización de nanopartículas de sulfuro de plata (polvo-líquido) mediante el uso de autoclave (fuente propia).

- **Esterilización con luz UV:**

Se tomó una muestra de cada grupo experimental (Ag_2S Ex, Peg y Com), se colocaron 7.5 mg de cada una y por separado en tubos de ensayo de cristal, rotulados y con tapa, en una rejilla dentro de la campana de luz UV para ser esterilizados (este proceso se realizó retirando las tapas de todos los frascos para permitir el paso de la Luz UV, al igual que el agua destilada que sería utilizada como dispersante (Figura 16). Se realizaron tres ciclos de esterilización diferentes, cada uno con una muestra de cada grupo experimental, siendo el primer ciclo a 20 min, el segundo a 30 min y el tercero a 40 min.



Figura 16. Esterilización de nanopartículas de sulfuro de plata (polvo-líquido) mediante el uso de luz UV (fuente propia).

4.5 CARACTERIZACIÓN DE NPS Ag₂S

4.5.1 Material y equipo

- Balanza analítica (Denver Instrument)
- Tina ultrasónica (Branson, 2510 – 42 kHz)
- Espectrofotómetro (Thermo, Multiskan GO)
- Micropipeta
- Punta para micropipeta
- Frascos con tapa
- Papel de aluminio
- Rotulador
- Campos desechables
- Equipo de protección (bata, lentes, cubrebocas, guantes desechables)

4.5.2 Reactivos y solventes

- Ag₂S Ex (LII-ENES León)
- Ag₂S Peg (LII-ENES León)
- Ag₂S Com (Sigma Aldrich)
- Agua destilada

- Solución estéril Ag₂S Ex (LII-ENES León)

- Solución estéril Ag₂S Peg (LII-ENES León)
- Solución estéril Ag₂S Com (Sigma Aldrich)

- Polvo Ag₂S Ex estéril (LII-ENES León)

- Polvo Ag₂S Peg estéril (LII-ENES León)
- Polvo Ag₂S Com estéril (Sigma Aldrich)
- Agua destilada estéril

4.5.3 Método de caracterización

Una vez realizados los procesos de esterilización correspondientes a cada grupo, se realizaron distintas pruebas de caracterización a las NPs para así poder identificar, conocer, analizar y evaluar las propiedades físicas y químicas de cada material.

- **Caracterización UV-vis de muestras:**

En el caso de las muestras sin esterilizar, se pesaron 7.5 mg de NPs Ag₂S (Ex, Peg y Com), se colocaron y dispersaron individualmente en 1 mL de agua destilada. Los frascos se rotularon y cubrieron con papel aluminio. Luego se colocaron en ultrasonido durante 30 min para dispersar las soluciones (Figura 17). Después se colocó una a una cada muestra en una cubeta de cuarzo para realizar espectroscopía con el método UV-vis (Thermo, Multiskan GO), los resultados se analizaron en un rango de 200 a 800 nm.

Para el caso de las muestras previamente estériles, después de los procesos de esterilización se colocaron los frascos en el ultrasonido durante 30 min para dispersar las soluciones. Después se colocó una a una cada muestra en una cubeta de cuarzo para realizar espectroscopía con el método UV-vis (Thermo, Multiskan GO), los resultados se analizaron en un rango de 200 a 800 nm.



Figura 17. Vibración ultrasónica de muestras estériles (fuente propia).

Por último, se seleccionaron y enviaron las muestras polvo-líquido esterilizadas durante 40 minutos mediante uso de autoclave y luz UV, para realizar la caracterización de dichas muestras mediante las técnicas TEM, SEM, EDS y DRX.

- **Caracterización TEM de muestras:**

Se formó una solución con 7.5 µg de nanopartículas de sulfuro de plata y 3 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) y se dispersó en ultrasonido durante 30 min, después la solución se colocó en un portaobjetos, se formó una gota y en ella se sumergió una rejilla para microscopía de 400 mesh Cu (Ted Pella Inc.), posteriormente se colocó en una parrilla a 40°C, se secó y se llevó a un porta muestras.

- **Caracterización SEM de muestras:**

Las muestras se observaron en un Microscopio Electrónico de Barrido (Hitachi TM 1000) en el Centro de Geociencias de la UNAM, utilizando un voltaje de aceleraciones de 15 kV y obtuvieron imágenes en diferentes magnificaciones con electrones retrodispersados.

- **Caracterización EDS de muestras:**

Se realizaron análisis elementales con un equipo EDS acoplado en el microscopio SEM (Oxford Instruments).

- **Caracterización DRX de muestras:**

El polvo de las nanopartículas se midió en un equipo minireflex (Rigaku) con una radiación de cobre $K\alpha$ 1.5406Å generada a 30 kV y 30 mA, en un intervalo de 10 a 70° 2θ a un paso de 0.02° con un tiempo de conteo de 0.06 s por punto.

CAPÍTULO V

RESULTADOS

5.1 MÉTODO DE ESTERILIZACIÓN

Para evaluar el método de esterilización, se realizó cada procedimiento según el tiempo establecido, se realizó el pesaje de nanopartículas de sulfuro de plata (NPs Ag₂S) para posteriormente ser dispersadas con agua destilada (100 µL) en una proporción de 7.5 mg/mL.

Esto se realizó de dos formas, en la primera, las muestras de NPs Ag₂S fueron dispersadas en agua destilada antes de ser sometidas a los procesos de esterilización. Por otra parte, el resto de las muestras de NPs Ag₂S fueron esterilizadas por separado el polvo de las NPs del dispersante, se realizaron las soluciones acuosas y finalmente se llevaron a cabo las caracterizaciones mediante el método UV-vis, TEM, SEM y DRX.

El proceso de esterilización se llevó a cabo bajo las mismas condiciones para todos los grupos experimentales mediante el uso de autoclave (Tuttnauer, 2340) a una temperatura de 121 °C y una presión de 1.1 bar, y mediante el uso de una campana de luz ultravioleta (UV) (Thermo, 1300) en un rango de luz de 260 nm.

5.1.1 Absorción óptica por espectroscopía UV-vis

Las muestras pertenecientes a los 14 grupos (control y experimentales) fueron sometidas a esta técnica de caracterización, con la finalidad de identificar, analizar y evaluar el comportamiento del material, cambios ópticos, físicos y morfológicos que sufrieron las NPs Ag₂S después de ser sometidas a los procesos de esterilización correspondientes para cada grupo. Con esta técnica se midió la cantidad de longitudes de onda de luz UV o luz visible que fueron absorbidas o transmitidas por la nanoestructura.

▪ **Muestras en solución acuosa**

Se realizó una comparación entre las muestras de NPs Ag₂S Com, Ex y Peg pertenecientes al grupo control (muestras no estériles). Se puede observar que el material no muestra absorción óptica dentro de la región visible.

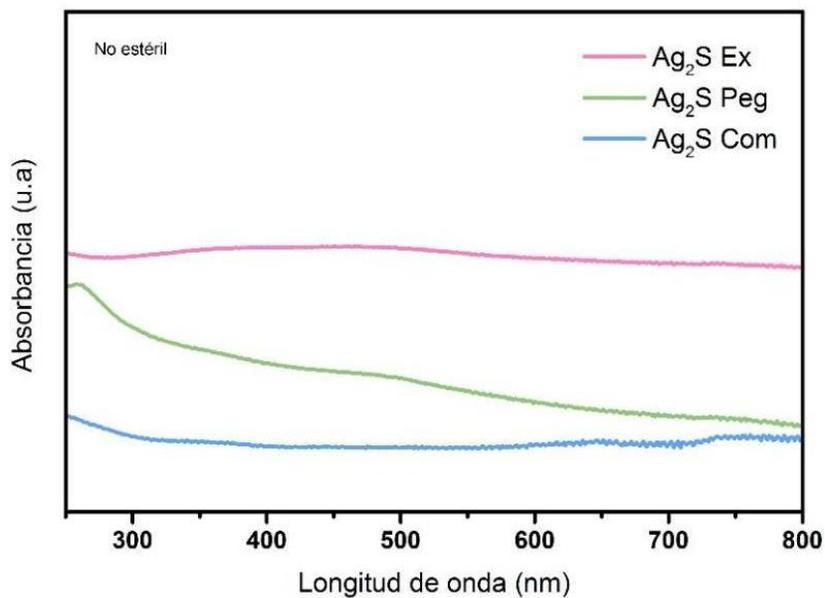


Figura 18. Espectrometría UV-vis del grupo control a (no estéril) de las NPs Ag₂S Com, Ex y Peg.

○ **Muestras estériles con autoclave:**

Se realizó una comparación entre las muestras pertenecientes a los grupos 1, 2 y 3, agrupándolos de acuerdo con el tiempo de esterilización al que fueron sometidos (20 min, 30 min y 40 min respectivamente) y al tipo de muestra (Ag₂S Com, Ex y Peg).

En estos espectros de absorbancia se observa que las bandas de absorción de las NPs Ex y Peg muestran cambios significativos en comparación con NPs Ag₂S Com; mostrando mayor absorción óptica, bandas de absorción mejor definidas, donde se mantiene una constante en la longitud de onda y encontrando su punto máximo entre los 420 y 460 nm (dentro del rango característico para Ag₂S, que va desde los 410 y los 440 nm), según estudios reportados por Suresh y colaboradores en 2011.

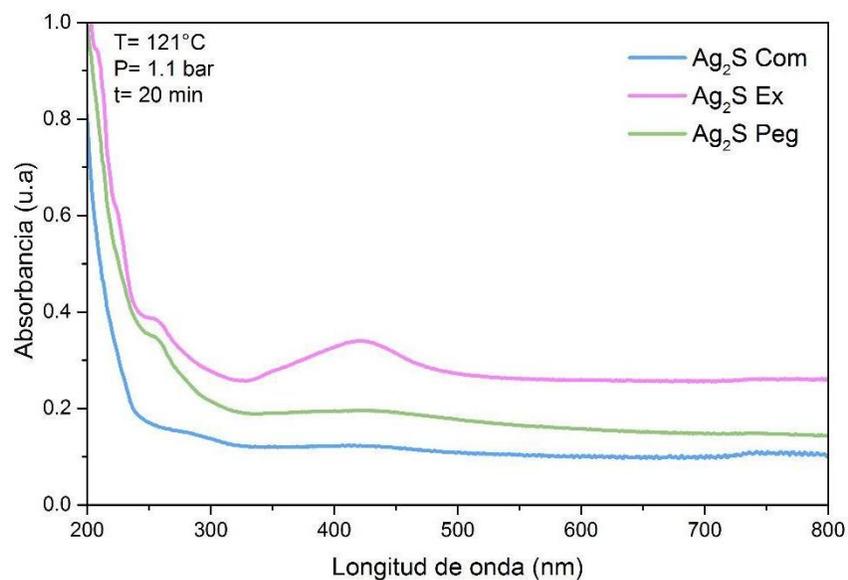


Figura 19. Espectrometría UV-vis del grupo 1 (estériles 20 min) de las NPs Ag₂S Com, Ex y Peg.

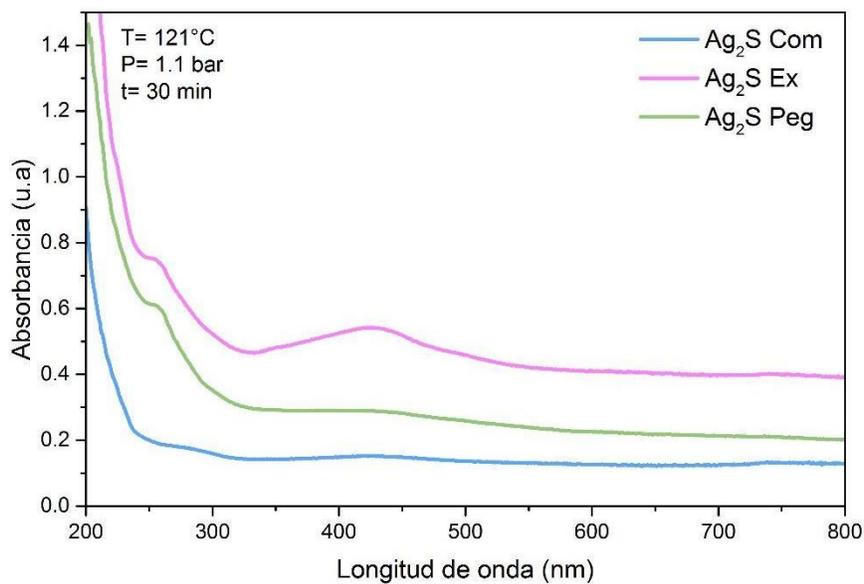


Figura 20. Espectrometría UV-vis del grupo 2 (estériles 30 min) de las NPs Ag₂S Com, Ex y Peg.

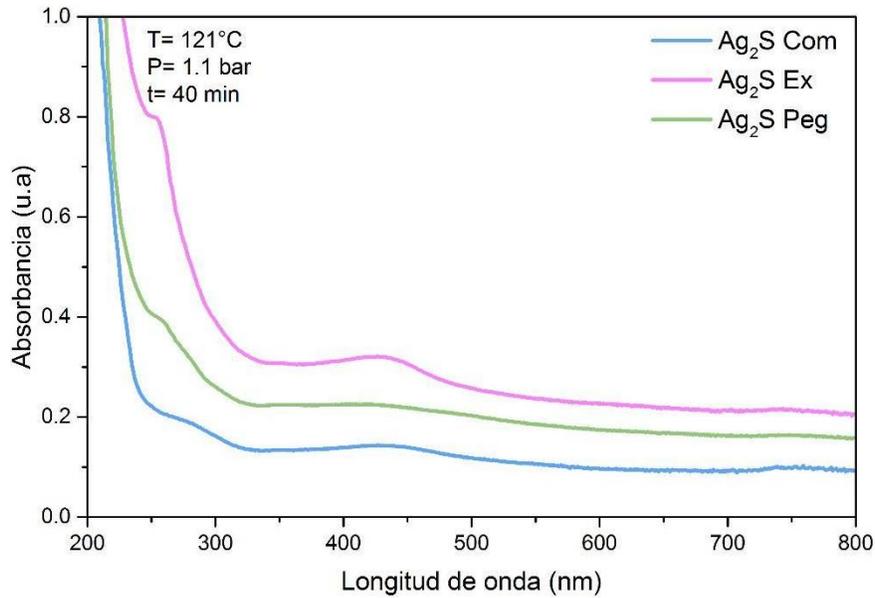


Figura 21. Espectrometría UV-vis del grupo 3 (estériles 40 min) de las NPs Ag₂S Com, Ex y Peg.

○ **Muestras estériles con luz UV:**

Se realizó una comparación entre las muestras que pertenecían a los grupos 4, 5 y 6, se agruparon de acuerdo al tiempo de esterilización al que se sometieron (20 min, 30 min y 40 min) y al tipo de muestra (Ag₂S Com, Ex y Peg).

Se puede observar que las NPs Ag₂S Ex y Peg muestran cambios en comparación con NPs Ag₂S Com; las bandas de absorción muestran una constancia y se mantienen similares entre sí a diferentes tiempos de esterilización, aunque no son tan evidentes en comparación con los resultados obtenidos con los procesos de esterilización mediante el uso de autoclave, donde las bandas de absorción muestran su punto máximo dentro del rango característico para Ag₂S oscilando entre 400 y 460 nm, según lo reportado por Suresh en su estudio.

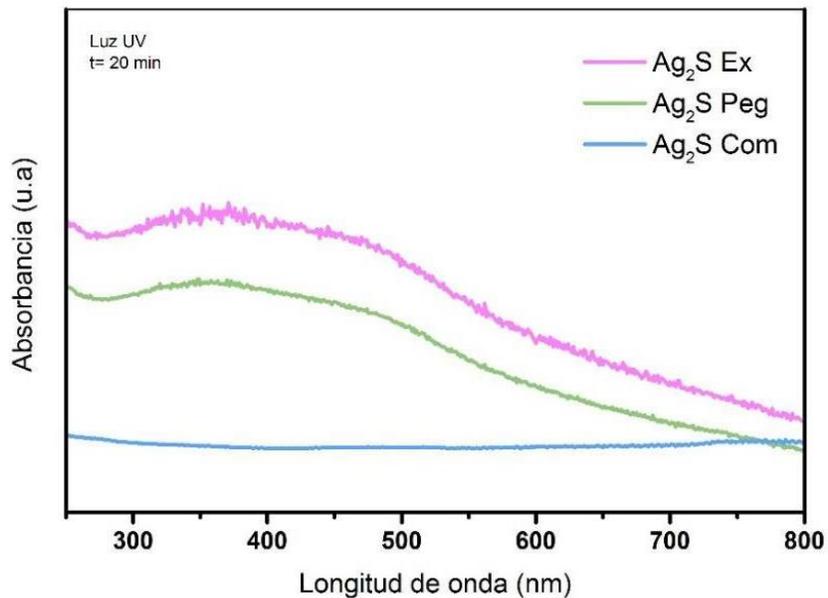


Figura 22. Espectrometría UV-vis del grupo 4 (estériles 20 min) de las NPs Ag₂S Com, Ex y Peg.

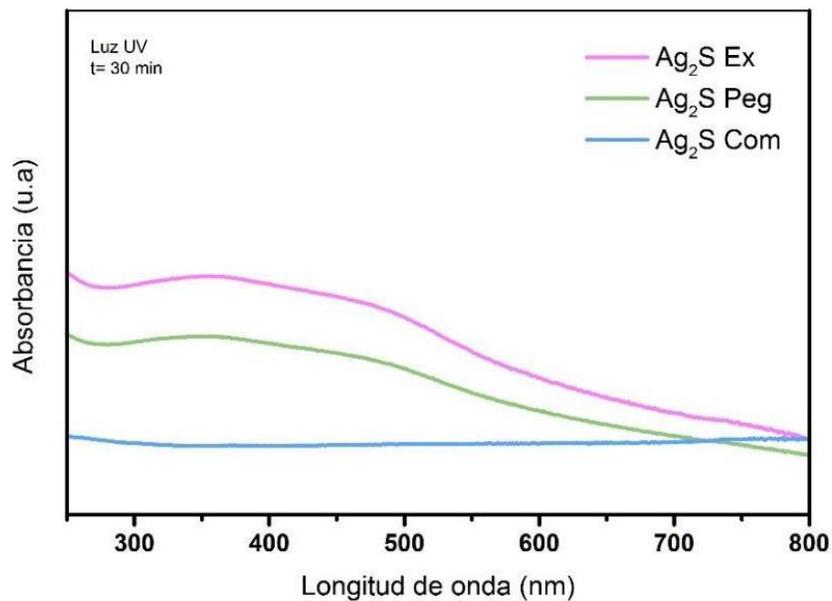


Figura 23. Espectrometría UV-vis del grupo 5 (estériles 30 min) de las NPs Ag₂S Com, Ex y Peg.

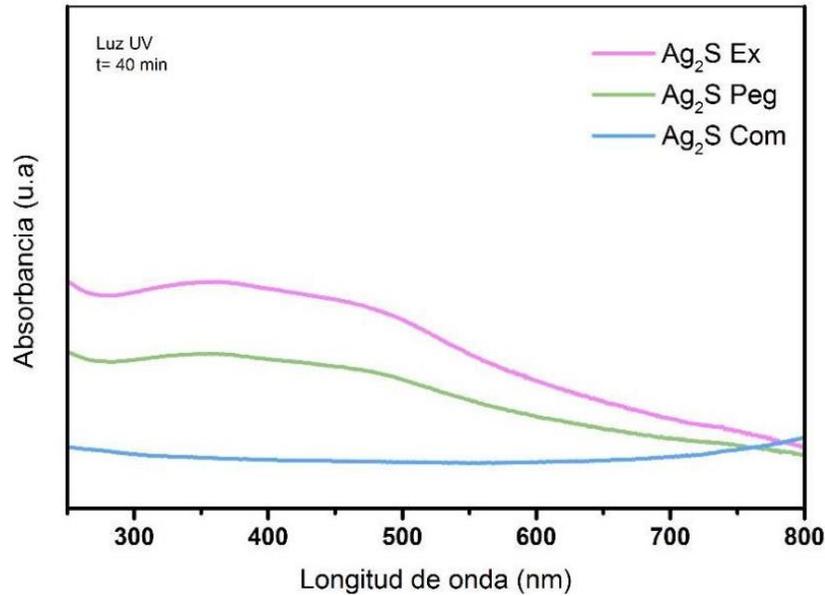


Figura 24. Espectrometría UV-vis del grupo 6 (estériles 40 min) de las NPs Ag₂S Com, Ex y Peg.

▪ **Muestras en presentación polvo-líquido**

Se realizó una comparación entre las muestras de NPs Ag₂S Com, Ex y Peg pertenecientes al grupo control b (muestras no estériles). Se pueden observar patrones similares entre sí, mostrando bandas de absorción similares a diferentes tiempos de esterilización, y mostrando cambios significativos entre NPs Ag₂S Com y Ag₂S Ex y Peg.

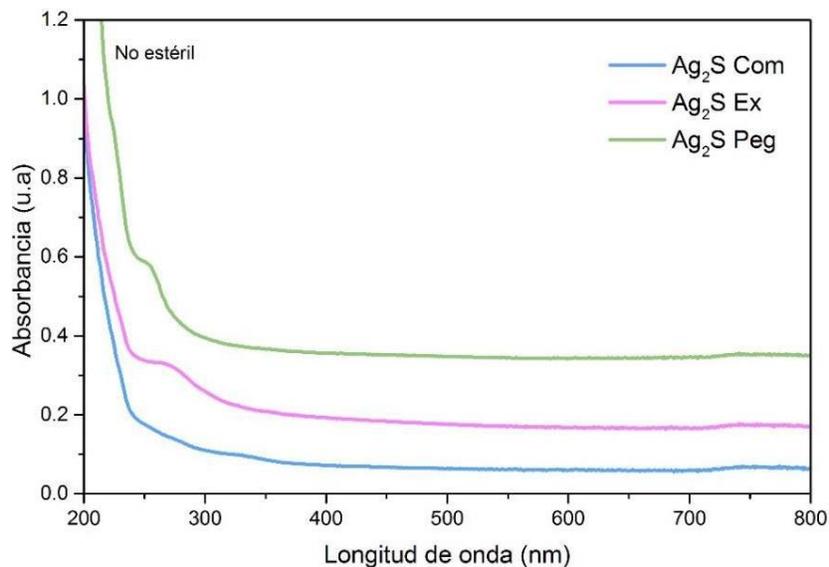


Figura 25. Espectrometría UV-vis del grupo control b (no estéril) de NPs Ag₂S Com, Ex y Peg.

○ **Muestras estériles con autoclave**

Se realizó una comparación entre las muestras pertenecientes a los grupos 7, 8 y 9 agrupándolos de acuerdo con el tiempo de esterilización al que fueron sometidas (20 min, 30 min y 40 min) y al tipo de muestra (Ag_2S Com, Ex y Peg), con un rango de máxima absorción en 420 nm para Ex, 423 nm para Peg y 431 nm para Com.

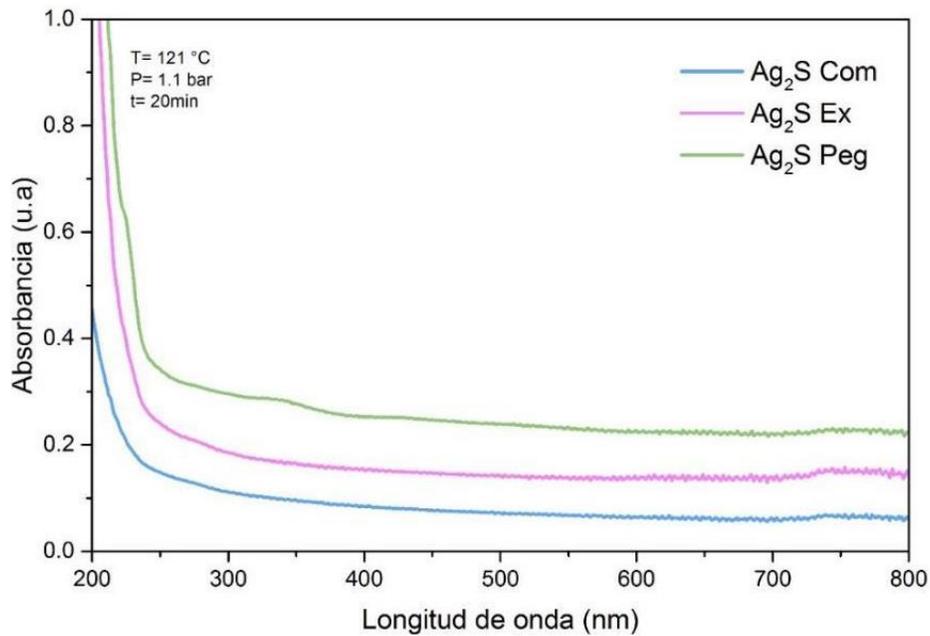


Figura 26. Espectrometría UV-vis del grupo 7 (estériles 20 min) de las NPs Ag_2S Com, Ex y Peg.

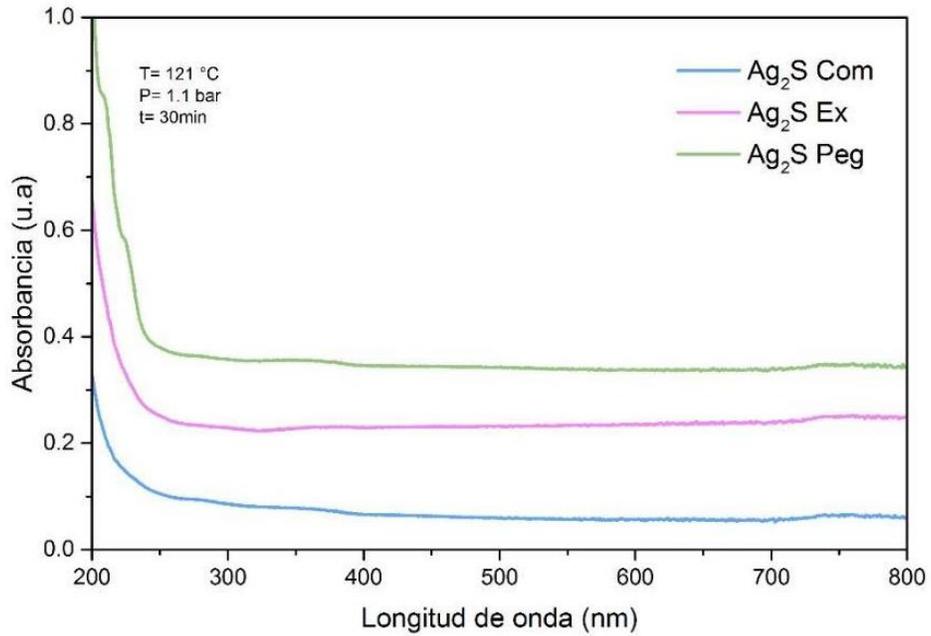


Figura 27. Espectrometría UV-vis del grupo 8 (estériles 30 min) de las NPs Ag₂S Com, Ex y Peg.

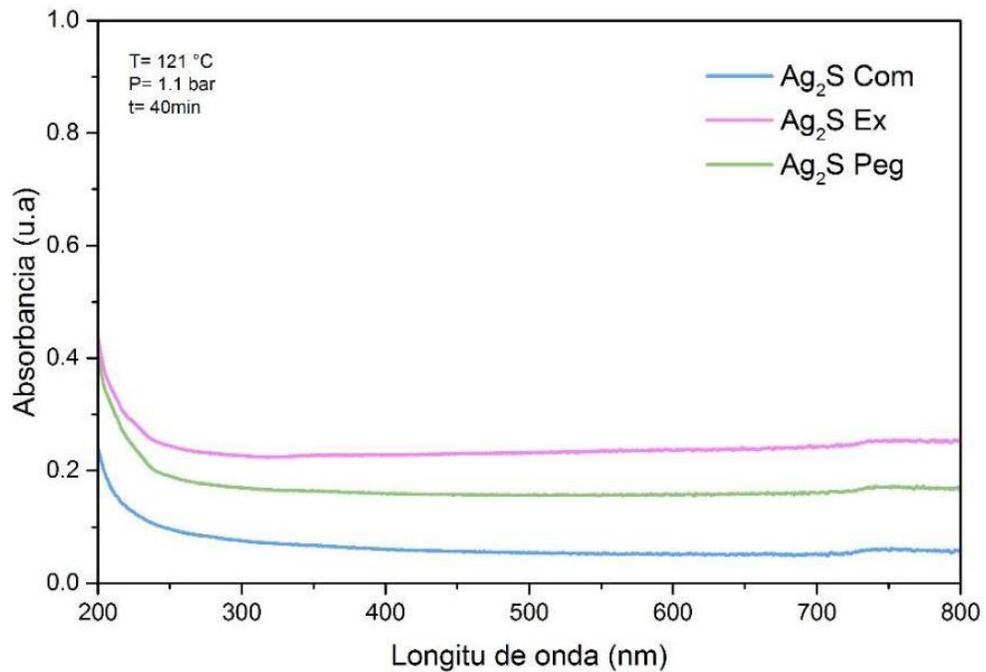


Figura 28. Espectrometría UV-vis del grupo 9 (estériles 40 min) de las NPs Ag₂S Com, Ex y Peg.

- **Muestras estériles con luz UV:**

Se realizó una comparación entre las muestras pertenecientes a los grupos 10, 11 y 12, agrupándolos de acuerdo al tiempo de esterilización al que fueron sometidas (20 min, 30 min y 40 min) y al tipo de muestra (Ag_2S Com, Ex y Peg), con un rango de máxima absorción en 423 nm para Ex, 427 nm para Peg y 430 nm para Com.

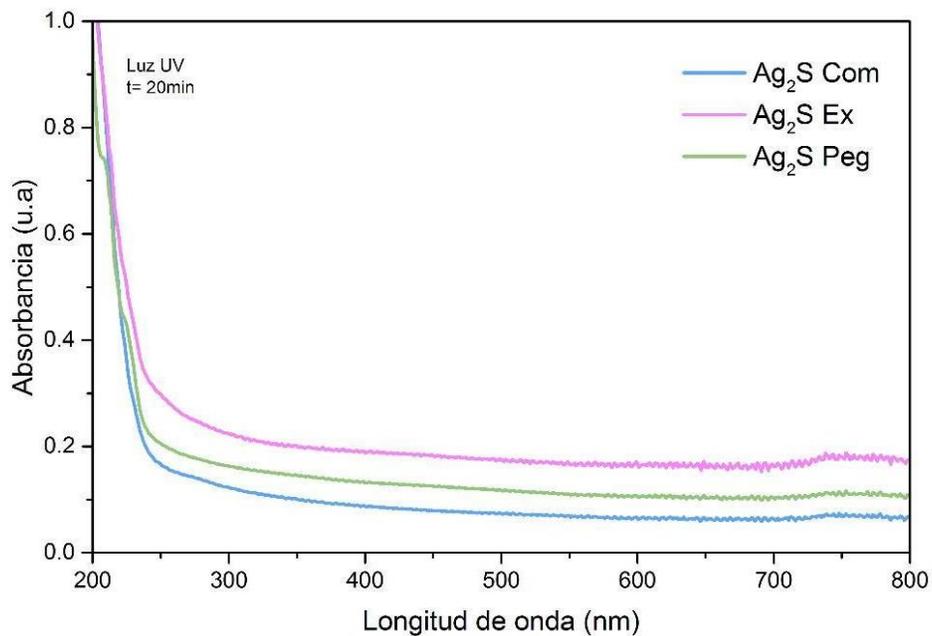


Figura 29. Espectrometría UV-vis del grupo 10 (estériles 20 min) de NPs Ag_2S Com, Ex y Peg.

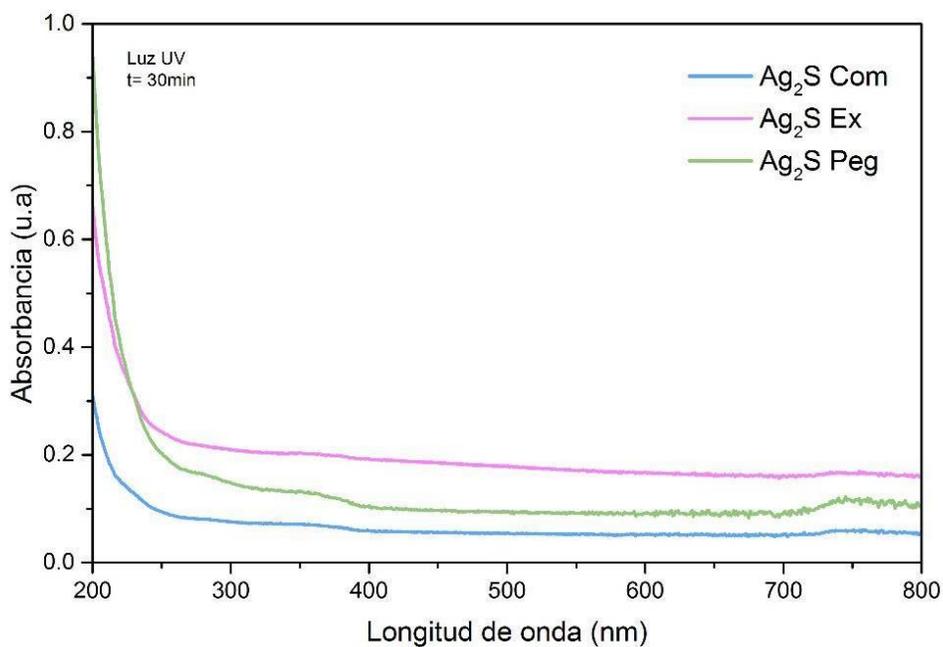


Figura 30. Espectrometría UV-vis del grupo 11 (estériles 30 min) de NPs Ag₂S Com, Ex y Peg.

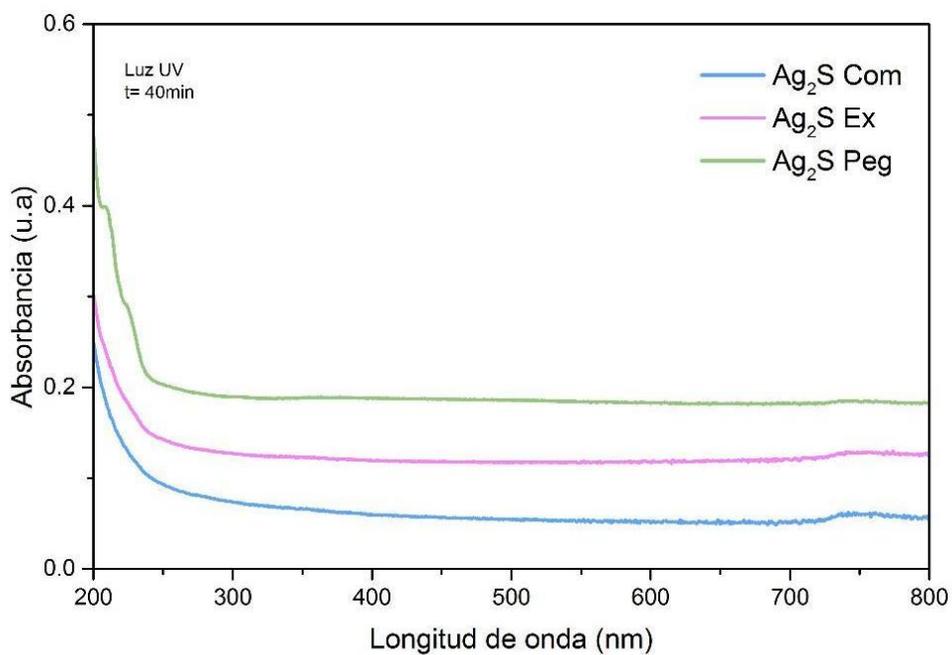


Figura 31. Espectrometría UV-vis del grupo 12 (estériles 40 min) de NPs Ag₂S Com, Ex y Peg.

5.1.2 Morfología por micrografía TEM

Se seleccionaron las muestras de los grupos 6 y 12 (las cuales fueron esterilizadas durante 40 min mediante el uso de autoclave y luz UV, respectivamente), para ser caracterizadas y analizadas mediante la técnica de microscopía de transmisión electrónica (TEM), con esta técnica se realizó un análisis cualitativo de los volúmenes (tamaño, morfología y estructura) de cada muestra enviada.

▪ Muestras estériles 40 min con autoclave

Se obtuvieron micrografías TEM a diferentes magnificaciones de las muestras de NPs de Ag_2S (Com, Ex y Peg) estériles, en las cuales es posible observar el sulfuro de plata con tamaños que oscilan entre los 5 y 9 nm (obtenidos con el programa image J), de forma semiesféricas señaladas con un cuadrado de color amarillo (Figura 32A, 33C, 34A), a su vez, también se observan aglomeraciones del material señaladas con círculos color azul (Figura 32B y C, 33A y B, 34B y C), las cuales son una característica importante de Ag_2S .

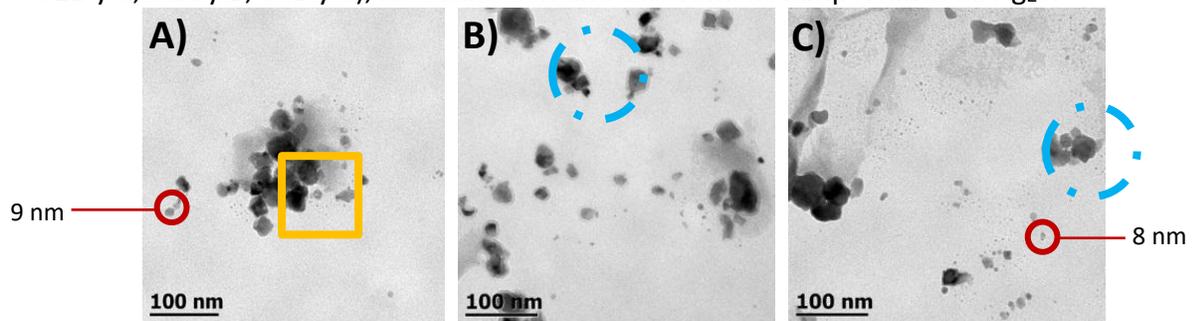


Figura 32. Micrografías TEM de NPs Ag_2S comerciales estériles 40 min mediante uso de autoclave a 100 Kx: A) morfología semiesférica; B y C) aglomeraciones.

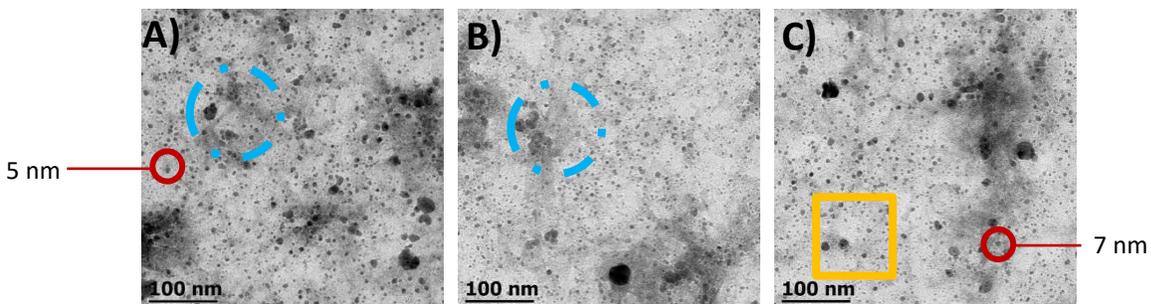


Figura 33. Micrografías TEM de NPs Ag_2S experimentales estériles 40 min mediante uso de autoclave a 100 Kx: A) y B) aglomeraciones C) morfología semiesférica.

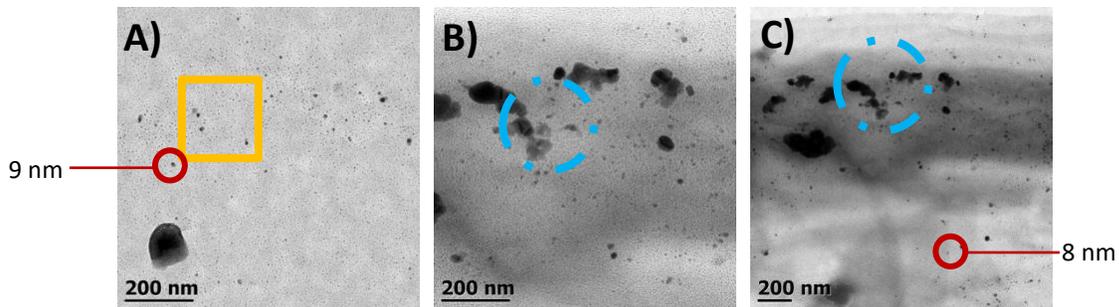


Figura 34. Micrografías TEM de NPs Ag_2S con polietilenglicol estériles 40 min mediante uso de autoclave a 200 Kx: A) morfología semiesférica; B y C) aglomeraciones.

▪ **Muestras estériles 40 min con luz UV**

Se observaron NPs de sulfuro de plata con características similares a las muestras esterilizadas mediante el uso de autoclave con mismos tamaños y morfología semiesférica, que están señaladas con un cuadrado de color amarillo (Figura 35A, 36A, B y C, 37A y B), también se presentan aglomeraciones del material señaladas con círculos color azul (Figura 35B y C, 37B y C).

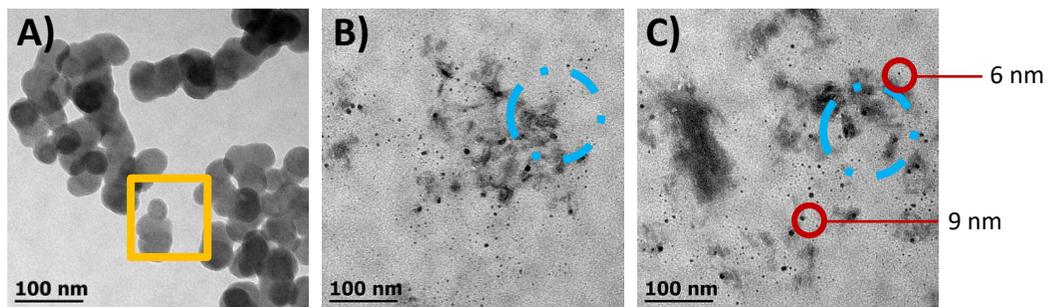


Figura 35. Micrografías TEM de NPs Ag_2S comerciales estériles 40 min mediante uso de luz UV a 100 Kx: A) morfología semiesférica; B y C) aglomeraciones del material.

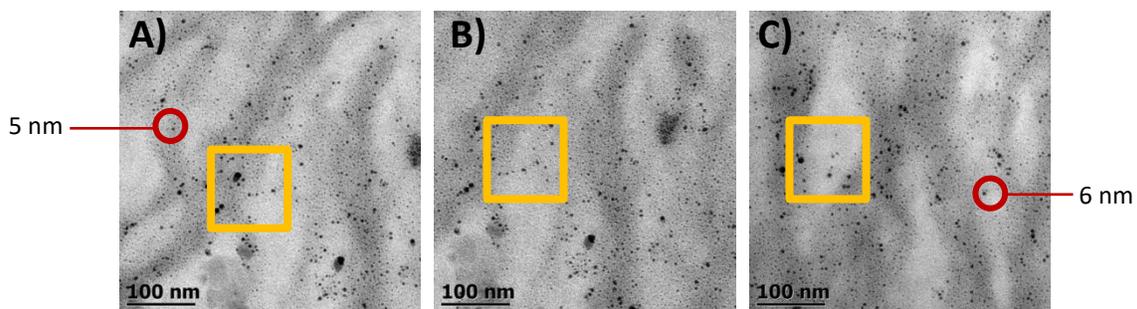


Figura 36. Micrografías TEM de NPs Ag_2S experimentales estériles 40 min mediante uso de luz UV a 100 Kx: A, B y C) morfología semiesférica del material.

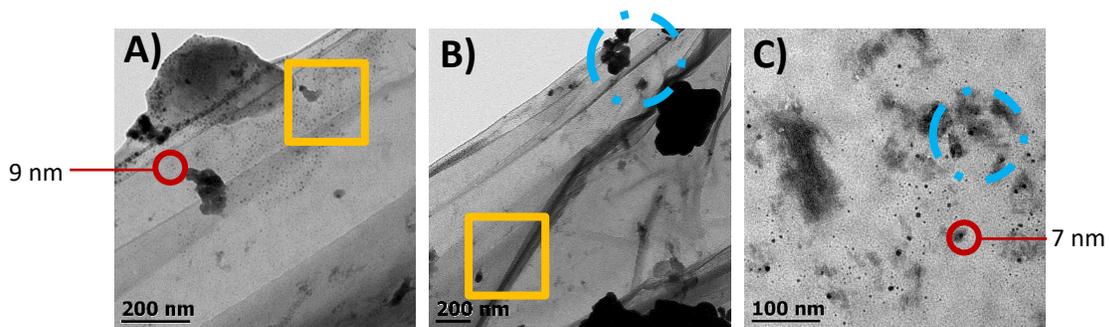


Figura 37. Micrografías TEM de NPs Ag₂S con polietilenglicol estériles 40 min mediante uso de luz UV: A) acercamiento a 200 Kx, morfología semiesférica; B) acercamiento a 100 Kx y morfología semiesférica; C) acercamiento a 100 Kx, aglomeraciones del material.

5.1.3 Morfología por micrografía SEM

Se seleccionaron las muestras de los grupos 6 y 12 (las cuales fueron esterilizadas durante 40 min mediante el uso de autoclave y luz UV, respectivamente), para ser caracterizadas y analizadas mediante la técnica de microscopía de barrido electrónico (SEM), con esta técnica se realizó un análisis morfológico de cada muestra enviada.

▪ Muestras no estériles

En el caso de la NPs Ag₂S Com se observan partículas con tamaños similares y morfologías semiesféricas sin dispersión (Figura 38C), comparadas con las NPs sintetizadas para este estudio (Ex y Peg) donde además de mostrar tamaños similares estructuras con forma semiesférica y apariencia de roca y poca dispersión también se puede observar la presencia de un segundo tipo de estructuras (Figura 39B y C, 40C) asemejando prismas con bordes bien definidos señaladas dentro de un cuadro color verde.

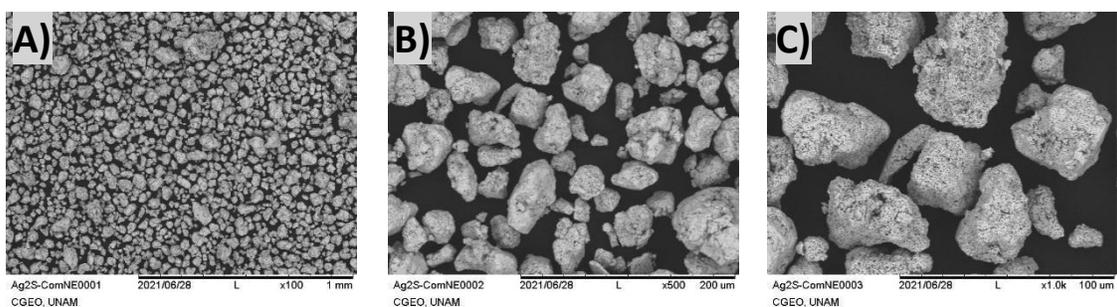


Figura 38. Micrografías SEM de nanopartículas de sulfuro de plata comercial vistas en diferentes magnificaciones: A) 100 Kx; B) 500 Kx; C) 1000 Kx.

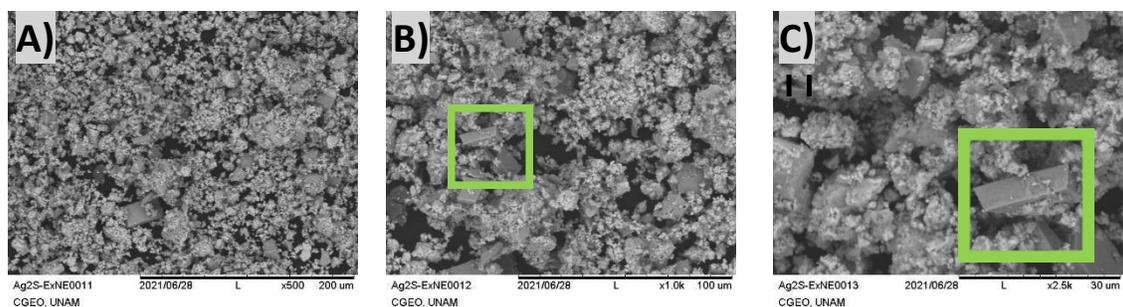


Figura 39. Micrografías SEM de nanopartículas de sulfuro de plata experimental vistas en diferentes magnificaciones: A) 500 Kx; B) 1000 Kx; C) 2500 Kx.

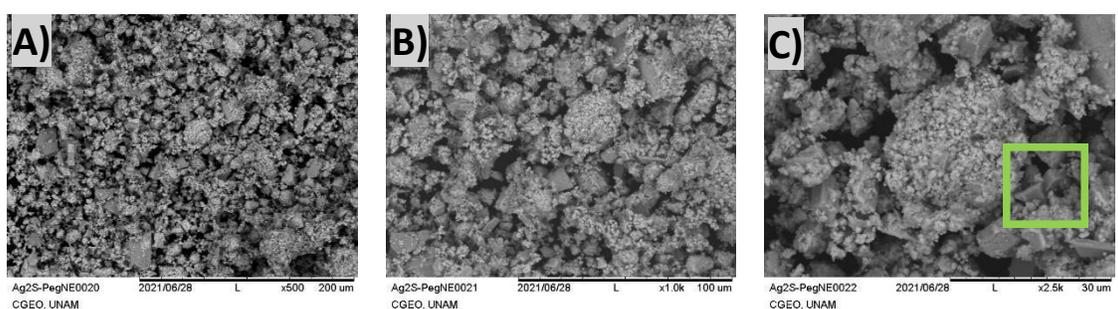


Figura 40. Micrografías SEM de nanopartículas de sulfuro de plata con polietilenglicol vistas en diferentes magnificaciones: A) 500 Kx; B) 1000 Kx; C) 2500 Kx.

▪ Muestras estériles en luz UV

En las muestras esterilizadas bajo luz UV se observa que las NPs de Ag_2S también presentan las mismas características, presentando morfología semiesférica, apariencia de roca, porosa y con bordes irregulares (Fig. 41). En el caso de Ex y Peg, de igual manera se observa la presencia de un segundo tipo de estructuras no características del Ag_2S con bordes regulares (Fig 42B, 43A y B) y con morfología de prismas, identificadas dentro de los recuadros color verde, intuyendo que estas estructuras pertenecen a los precursores de la reacción.

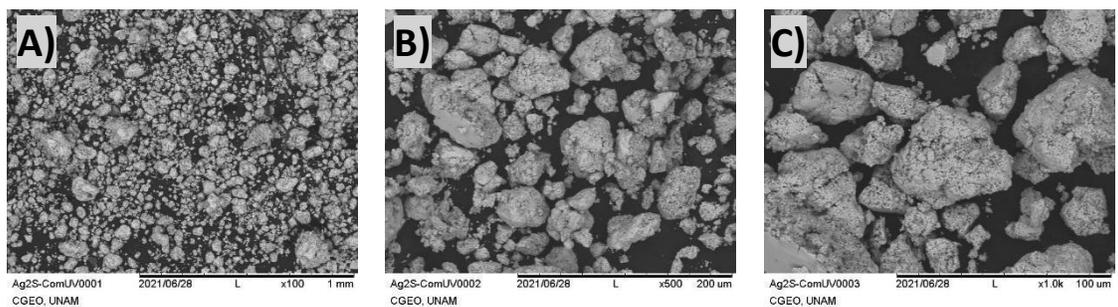


Figura 41. Micrografías SEM de nanopartículas de sulfuro de plata comercial estéril 40 min en luz UV vistas en diferentes magnificaciones: A) 100 Kx; B) 500 Kx; C) 1000 Kx.

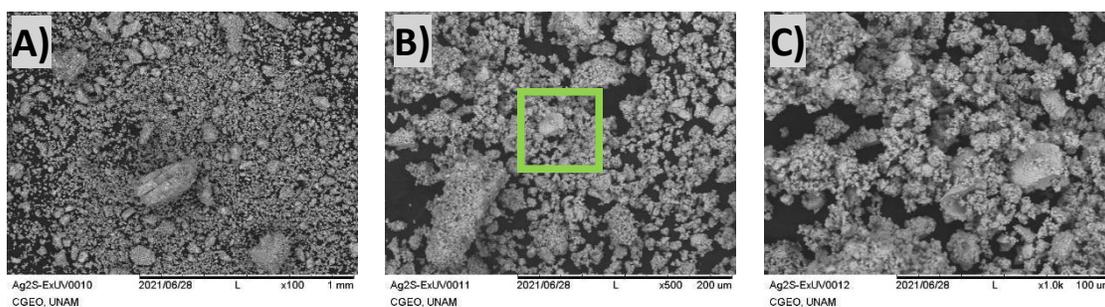


Figura 42. Micrográficas SEM de nanopartículas de sulfuro de plata experimental estéril 40 min en luz UV vistas en diferentes magnificaciones: A) 100 Kx; B) 500 Kx; C) 1000 Kx.

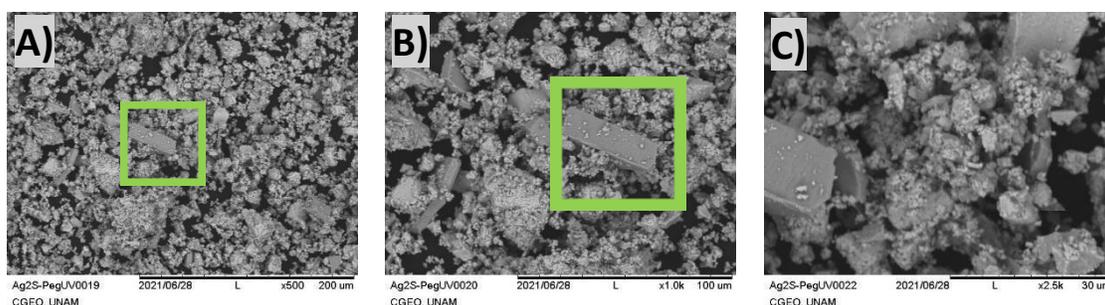


Figura 43. Micrográficas SEM de nanopartículas de sulfuro de plata con polietilenglicol estéril 40 min en luz UV vistas en diferentes magnificaciones: A) 500 Kx; B) 1000 Kx; C) 2500 Kx.

5.1.4 Estructura cristalina por Difracción de Rayos X (DRX)

Se utilizaron las muestras de los grupos 6 y 12 (las cuales fueron esterilizadas 40 min mediante el uso de autoclave y luz UV, respectivamente), para ser caracterizadas mediante difracción de rayos X (DRX) miniflex de Rigaku con el intervalo angular de 2θ de 10 a 70 grados, con un tamaño de paso de 0.02° para determinar la cristalinidad y la presencia de compuestos de Ag_2S en el precipitado, ya que las muestras vistas mediante SEM presentaban estructuras adicionales al Ag_2S . Se observó que las muestras presentaban una variación a la carta cristalográfica PDF#00-014-0072 correspondiente a la fase acantita del sulfuro de plata, presente entre 22 y 25° , asumiendo la presencia de algún contaminante.

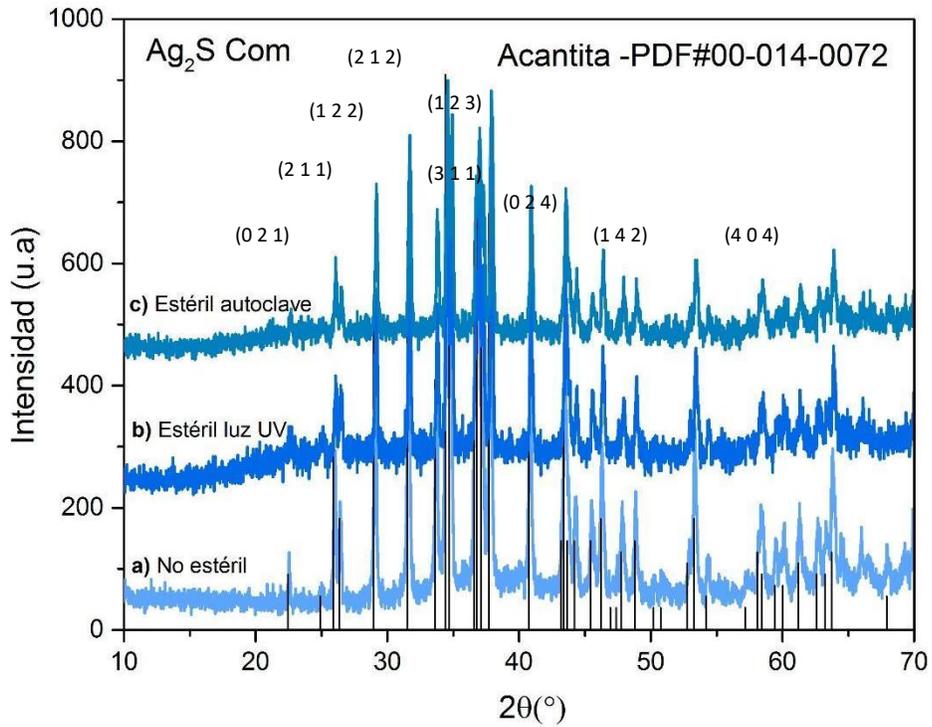


Figura 44. Patrón de difracción de rayos X de sulfuro de plata comercial comparado con la fase acantita del sulfuro de plata.

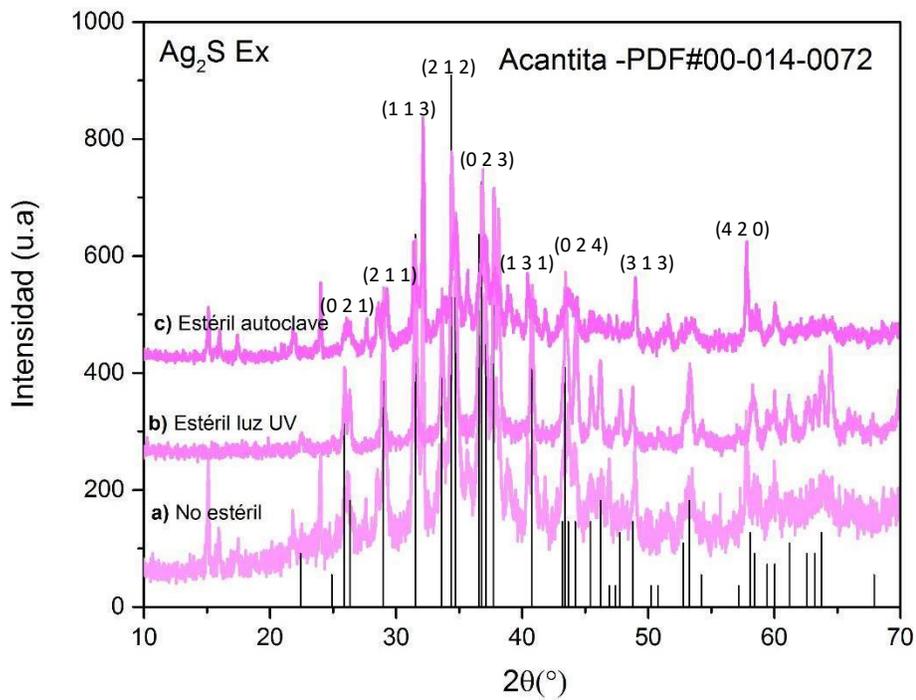


Figura 45. Patrón de difracción de rayos X de sulfuro de plata comercial con variación en fase acantita de Ag_2S .

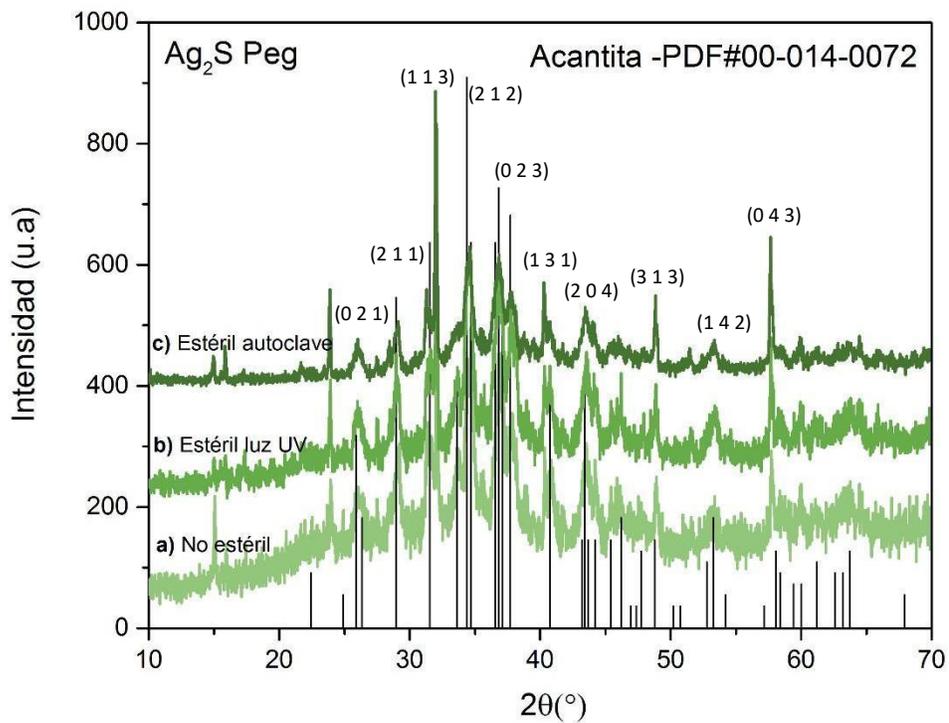


Figura 46. Patrón de difracción de rayos X de sulfuro de plata con polietilenglicol con variación en fase acantita de Ag₂S.

5.1.5 Análisis elemental o Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS)

Debido a las variaciones en la carta cristalográfica de las muestras de sulfuro de plata, se decidió realizar un análisis elemental para poder identificar qué elementos estaban presentes. En los resultados del análisis se encontraron azufre, plata y aluminio.

Tabla 3. Análisis de elementos presentes en las muestras de sulfuro de plata no estériles.

Micrografía a) Ag ₂ S Com			Micrografía b) Ag ₂ S Ex			Micrografía c) Ag ₂ S Peg			
Nombre	Al	S	Ag	Al	S	Ag	Al	S	Ag
Elemento %	0	11.6	88.4	6.3	7.4	86.3	1.8	6.8	91.4

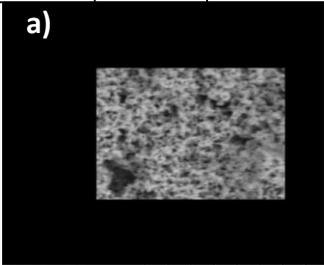
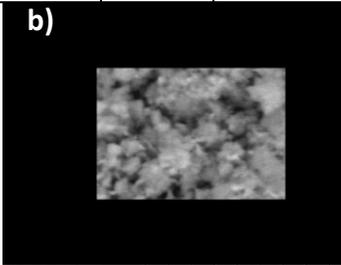
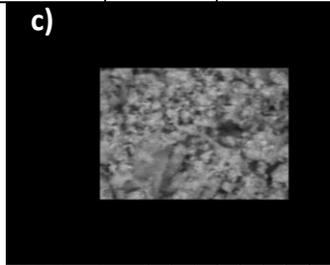
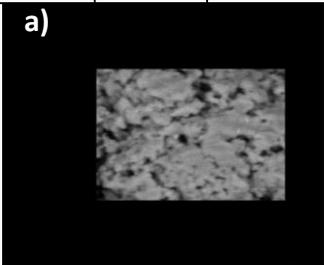
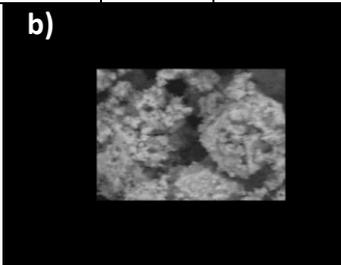
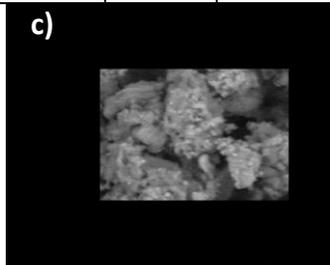
a)		b)		c)	
Ag2S-ComNE0007 CGEO, UNAM	2021/06/28 L x5.0k	Ag2S-ExNE0018 CGEO, UNAM	2021/06/28 L x10k	Ag2S-PegNE0025 CGEO, UNAM	2021/06/28 L x5.0k

Tabla 4. Análisis de elementos presentes en las muestras de sulfuro de plata estériles 40 min con luz UV.

Micrografía a) Ag ₂ S Com			Micrografía b) Ag ₂ S Ex			Micrografía c) Ag ₂ S Peg			
Nombre	Al	S	Ag	Al	S	Ag	Al	S	Ag
Elemento %	0	18.5	81.5	6.5	9.7	86.3	2.2	2.9	94.9

a)		b)		c)	
Ag2S-ComUV0007 CGEO, UNAM	2021/06/28 L x8.0k	Ag2S-ExUV0015 CGEO, UNAM	2021/06/28 L x5.0k	Ag2S-PegUV0025 CGEO, UNAM	2021/06/28 L x5.0k

5.2 EFECTO DEL TIEMPO DE ESTERILIZACIÓN POR AUTOCLAVE EN LA ABSORCIÓN ÓPTICA DE Ag₂S

Se observó que el tiempo de esterilización mediante el uso de autoclave no influyó de manera significativa en la absorción óptica del material, demostrado en las espectrometrías donde las muestras sometidas a caracterización con la técnica UV-vis reflejan bandas de absorción con buena definición con rangos de absorción máxima entre los 420 y 431 nm,

que a pesar del aumento en el tiempo de esterilización se mantienen constantes, dentro de los rangos reportados por la literatura (Suresh et al. 2011).

5.3 EFECTO DEL TIEMPO DE ESTERILIZACIÓN POR LUZ UV EN LA ABSORCIÓN ÓPTICA DE Ag₂S

En comparación con las muestras estériles mediante autoclave, la exposición de las muestras luz UV en diferentes tiempos de esterilización no influyó en la absorción óptica del material, ya que se muestran longitudes de onda similares entre sí, con bandas de absorción no tan definidas en donde a pesar de que el tiempo de esterilización va aumentando, las bandas de absorción no presentan cambios significativos, manteniéndose constantes dentro de los rangos de 423 a 430 nm.

CAPÍTULO VI

DISCUSIÓN

Sadovnikov y Gusev en 2018 reportaron un método para la obtención de Ag_2S , en la cual utilizaron AgNO_3 , Na_2S y $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ como precursores y se obtuvieron nanopartículas semiesféricas con tamaños que oscilan entre los 6 y 10 nm, en el presente estudio se siguió la misma técnica de Sadovnikov y Gusev y se obtuvieron nanopartículas de sulfuro de plata con morfología semiesférica con tamaños que oscilan entre los 4 y 9 nm (Sadovnikov y Gusev, 2018).

Varios estudios hacen referencia al uso de nitrato de plata (AgNO_3) como precursor de las nanopartículas de sulfuro de plata, ya que es un reactivo de fácil manejo y estable para su almacenamiento en condiciones ambientales (Sadovnikov et al., 2016, Magalhães Sousa et al., 2020). La sonicación constante de AgNO_3 durante 15 min produce Ag_2S cristalino (Tiwari y Dhoble, 2022).

Un estudio realizado por Geravand y Jamaili-Sheini en 2019 menciona que el uso de frecuencia ultrasónica a 200 W durante 15 min representa una alternativa viable de síntesis en la cual se pueden acelerar o retrasar los tiempos de reacción y se obtienen nanopartículas de formas semiesféricas. En este estudio el tiempo de trabajo y la frecuencia en el ultrasonido fueron de 2 horas a 42 kHz obteniendo nanopartículas de forma semiesférica de apariencia rocosa.

Otro estudio realizado por Magalhães Sousa y colaboradores en 2020 reporta que la exposición intencional o accidental de los compuestos de plata a alguna fuente de luz durante la síntesis, repercute en la morfología de las nanopartículas, generando que las nanopartículas expuestas a una fuente de luz aumenten su tamaño (Magalhães Sousa et al., 2020).

Es sabido que el sulfuro de plata se puede encontrar en tres formas cristalinas: fase α (acantita), fase β (argentita) y fase γ ; en el presente estudio se obtuvo como resultado de la síntesis sulfuro de plata (Ag_2S) en su fase acantita, corroborando esto gracias al análisis por difracción de Rayos X (DRX) realizado a las muestras de los grupos 1 y 12 de esta investigación (Argueta-Figueroa et al., 2017, Sadovnikov y Rempel, 2019).

Uno de los objetivos principales de este estudio es la aplicación de las nanopartículas de sulfuro de plata en futuros proyectos, Mendoza y colaboradores en 2021 realizaron una revisión sistemática, en donde encontraron que el sulfuro de plata puede ser utilizado en la biomedicina debido a que cuenta con propiedades antimicrobianas y una baja citotoxicidad (Mendoza, et al., 2021).

Dentro de la literatura existen estudios en los cuales se han sintetizado nanopartículas de sulfuro de plata recubiertas con PEG, lo cual le proporciona buena estabilidad a largo plazo además de volverlas hidrófilas (Prasanth et al., 2018). En este estudio se observó una mejor

dispersión en un medio acuoso y al momento de caracterizar se observaron menos aglomeraciones en comparación con Ag₂S Ex.

Suresh y colaboradores en 2011 encontraron que factores como el tiempo, el calor y la luz influyen significativamente en la morfología y las propiedades físicas de las nanopartículas al momento de la síntesis (Suresh et al., 2011). Al ser sometidas a diversos procesos de esterilización no se observaron cambios significativos ni en la morfología ni el tamaño final de las nanopartículas.

CAPÍTULO VII

CONCLUSIÓN

Se acepta la hipótesis enunciada ya que las propiedades estructurales y ópticas de las nanopartículas de sulfuro de plata no se modificaron por el protocolo de esterilización de luz UV y autoclave, siendo el método más apropiado para su obtención a partir de una técnica química de una solución acuosa sobresaturada asistida mediante el uso de ultrasonido, de esta manera se obtienen estructuras con tamaños y una dispersión controlados.

Los factores como el tiempo, el calor y la radiación de luz durante el proceso de síntesis influyen significativamente en el tamaño y la morfología final de las nanopartículas de sulfuro de plata (Ag_2S), a medida que se someten a uno o más de estos factores como lo mencionan Magalhães Sousa y colaboradores.

Las nanopartículas de sulfuro de plata recubiertas con PEG muestran una mejor dispersión en medios acuosos ya que este las vuelve hidrófilas mejorando y facilitando su dispersión, lo cual les otorga propiedades adicionales a las nanopartículas experimentales y comerciales.

El método y tiempo de esterilización óptimo es mediante el uso de autoclave en un periodo de 20 minutos, ya que al aumentar el tiempo de esterilización, las nanopartículas no muestran cambios significativos y mantienen sus propiedades fisicoquímicas como semiconductores en los tres casos, siendo innecesario someterlas a procesos de esterilización de mayor tiempo.

CAPÍTULO VIII

REFERENCIAS

- Al-Shehri, B. Shkir, M. Bawazeer, T. AlFaify, S. Hamdy, M. (2020). A rapid microwave synthesis of Ag₂S nanoparticles and their photocatalytic performance under UV and visible light illumination for water treatment applications. *Physica E*: 121: 104060.
- Aldapa-Vega G, Pastelín-Palacios R, Isibasi A, Moreno-Eutimio MA, López-Macías C. (2016). Modulación de la respuesta inmune por los lipopolisacáridos bacterianos. *Rev Alerg Mex*: 63(3): 293-302.
- Ardeschna, A. Chavan, K. Prakasam, A. Ardeschna, D. Shah, D. Velliyagouder, K. (2022). Effectiveness of Different Sterilization Methods on Clinical Orthodontic Materials. *Journal of Indian Orthodontic Society*: 52(2): 98-105.
- Argueta-Figueroa, L. Martínez-Álvarez, O. Santos-Cruz, J. García-Contreras, R. Acosta-Torres, L.S. de la Fuente-Hernández, J. Arenas-Arrocena, M.C. (2017). Nanomaterials made of non-toxic metallic sulfides: A systematic review of their potential biomedical applications. *Materials Science and Engineering*: 76: 1305–1315.
- Aydemir, D. Hashemkhani, M. Acar, H. Ulusu, N (2020). Evaluation of the biocompatibility of the GSH-coated Ag₂S quantum dots in vitro: a perfect example for the non-toxic optical probes. *Molecular Biology Reports*: 47, 4117–4129.
- Boisseau, P. Loubatonb, B. (2011). Nanomedicine, nanotechnology in medicine. *CR Physique*. 12(7): 620-636.
- Cardoso, P. (2016). Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud. *Rev. Hosp. Niños*: 58(260), 19-28.
- Delgado-Beleño, Y. Martinez-Nuñez, C. Cortez-Valdez, M. Flores-López, N. Flores-Acosta, M. (2018). Optical properties of silver, silver sulfide and silver selenide nanoparticles and antibacterial applications. *Materials Research Bulletin*: 99: 385–392
- Esterilización. Procedimientos relacionados. Mc Graw Hill Interamericana de España. España. Mc Graw Hill Education. URL disponible: <http://www.mcgraw-hill.es/bcv/guide/capitulo/8448164180.pdf>
- Gajewicz, A. Rasulev, B. Dinadayalane, T. Urbaszek, P. Puzyn, T. Leszczynska, D. Leszczynski, J (2012). Advancing risk assessment of engineered nanomaterials: Application of computational approaches. *Adv Drug Deliv Rev*: 64(15), 1663-1693.
- Garrido, M. Perea, B. Labajo, E. (2013). Efectividad y seguridad de los procesos de esterilización en Odontología. *Gaceta Dental*: 246, 190-198.
- Gao, F. Lu, Q. Komarneni, S. (2005). Interface Reaction for the Self-Assembly of Silver Nanocrystals under Microwave-Assisted Solvothermal Conditions. *Chem. Mater*: 17: 856-860.
- Gunawan. Sinaga, D. Muhammad, C. Haris, A (2022). Variation of annealing temperatura with excess of NaOH concentration on Ag₂S synthesis from argentometry titration waste as NTC thermistor. *Materials today: Proceedings* 63: S385-S390.
- Igual-Munoz, A. Genilloud, JL. Jolles, B. Mischler, S. (2023). Influence of Different Sterilization Methods on the Surface Chemistry and Electrochemical Behavior of Biomedical Alloys. *Bioengineering*: 10:749.

Kumari, P. Chandran, P. Khan, S (2014). Synthesis and characterization of silver sulfide nanoparticles for photocatalytic and antimicrobial applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 141 (2014) 235–240.

Labrada, G. Peña. A. (2017). *Microscopios Electrónicos de Barrido (SEM)*. LINAN IPICYT. http://www.linan-ipicyt.mx/Microscopio_de_Barrido.html

Leyva, G (2013). Nanopartículas de plata: tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica. *Investigación en discapacidad*: 2(1): 18-22.

Ma, X. Zhao, Y. Jiang, X. Liu, W. Liu, X. Tang, Z (2012). Facile Preparation of Ag₂S/Ag Semiconductor/Metal Heteronanostructures with Remarkable Antibacterial Properties. *ChemPhysChem* 0000, 00, 1 – 5.

Magalhães, D. Chiappim, W. Leitaó, J. Lima, J. Ferreira, I (2020). Microwave Synthesis of Silver Sulfide and Silver Nanoparticles: Light and Time Influence. *ACS Omega*. <https://dx.doi.org/10.1021/acsomega.0c00656>

Orozco Rivera, Gabriela (2014). “Caracterización de partículas de aerosoles atmosféricos aplicando análisis de imágenes acoplado a SEM-EDS”. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. Recuperado de <http://eprints.uanl.mx/4553/1/1080253756.pdf#>

Pájaro, N. Olivero, J. Redondo, J (2013). Nanotecnología aplicada a la medicina. *Rev Científica Guillermo de Ockham*: 11(1), 125-133.

Peng, X. Liu, J. Li, B. Guang, G. Zhang, W. Huang, X. Chen, W. Zou, R. Lu, X. Hu, J. (2019). Janus Ag/Ag₂S beads as efficient photothermal agents for the eradication of inflammation and artery stenosis. *The Royal Society of Chemistry*: 11, 20324–20332.

Peng, E. Shi Guang Choo, E. Shi Hua Tan, C. Tang, X. Sheng, Y. Xue, J (2013). Multifunctional PEGylated nanoclusters for biomedical applications. *Nanoscale*: 5, 5994

Pérez-Uz, B. de Silóniz, I. Torralba, B. Vázquez, C. (2010). Metodología de esterilización en el laboratorio microbiológico. *Reduca (Biología)*. Serie Microbiología. 3(5): 1-14.

Piccollo, M. Aceto, M. Vitorino, T. (2018). UV-Vis spectroscopy. *Physical Sciences Review*, 0(0). doi:10.15115/prs-2018-0008

Powers, K. Brown, S. Krishna, V. Wasdo, S. Moudgil, B. Roberts, S. (2005). Research strategies for safety evaluation of nanomaterials. Part VI. Characterization of nanoscale particles for toxicological evaluation. *Toxicol Sci*. 90(2): 296-303.

Prasanth, S. RitheshRaj, D. Vineeshkumar, TV. Sudarsanakumar, C. (2018). Spectroscopic exploration of interaction between PEG-functionalized Ag₂S nanoparticles with bovine serum albumin. *Chemical Physics Letters* 700: 15-21

Real Academia Española. (s.f.). *Absorción*. Diccionario de la lengua española. <https://dle.rae.es/absorci%C3%B3n?m=form>

Real Academia Española. (s.f.). *Método*. Diccionario de la lengua española. <https://dle.rae.es/m%C3%A9todo>

Real Academia Española. (s.f.). *Morfología*. Diccionario de la lengua española. <https://dle.rae.es/morfolog%C3%ADa?m=form>

Real Academia Española. (s.f.). *Tiempo*. Diccionario de la lengua española. <https://dle.rae.es/tiempo?m=form>

Reyes, H. Olivas, I. Martel, S. Valencia, L. (2019). Uso de Biomateriales Funcionalizados con Moléculas Bioactivas en la Ingeniería Biomédica. *Rev. mex. ing. Biomed*: 40(3).

Rodríguez Núñez, Luis Fernando. (2012). "Compuestos híbridos basados en polímeros semiconductores y nanopartículas inorgánicas para aplicaciones optoelectrónicas: síntesis y caracterización". Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, México. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/77629>

Romero, S. Iregui, C. (2010). El Lipopolisacárido. *Revista de Medicina Veterinaria*: 19: 37-45.

Sadovnikov, S. Gusev A. (2018). The Effect of Temperature on the Particle Sizes and the Recrystallization of Silver Sulfide Nanopowders. *Physics of the Solid State*: 60(7): 1308–1315.

Sadovnikov, S. Kuznetsova, Y. Rempel, A (2016). Ag₂S silver sulfide nanoparticles and colloidal solutions: Synthesis and properties. *Nano-Structures & Nano-Objects*: 7: 81-91.

Sadovnikov, S. Rempel, A. y Gusev, A. (2018). Nanostructured silver sulfide Ag₂S nanostructured lead, cadmium, and silver sulfides. En *Nanostructured lead, cadmium, and silver sulfides*. Suiza: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-56387-9>

Sadovnikov, S. Rempel, A. (2019). Precipitation of Nanocrystalline Silver Sulfide from Aqueous Solutions Containing a Stabilizer. *Russian Journal of Applied Chemistry*: 92(7): 893–901.

Shakouri, M. Salavati, M. (2014). Structural and spectroscopic characterization of prepared Ag₂S nanoparticles with a novel sulfuring agent. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*: 133: 463-471.

Silva, H. Patron, O. (2017). *Microscopios Electrónicos de Transmisión (TEM)*. LINAN IPICYT. http://www.linan-ipicyt.mx/Microscopio_HR-TEM.html

Subramaniyan, S. Megarajan, S. Vijayakumar, S. Mariappan, M. Anbazhagan, V. (2019). Evaluation of the toxicities of silver and silver sulfide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *IET Nanobiotechnology*: 13(3): 326-331.

Suresh, A. Doktycz, M. Wang, W. Moon, J. Gu, B. Meyer, H. Hensley, D. Allison, D. Phelps, T. Pelletier, D. (2011). Monodispersed biocompatible silver sulfide nanoparticles: Facile extracellular biosynthesis using the γ -proteobacterium, *Shewanella oneidensis*. *Acta Biomaterialia*: 7(12): 4253-4258.

Técnicas de Caracterización. Conceptos Generales. SEDICI. Argentina. Repositorio institucional de la Universidad Nacional de la Plata (UNLP). URL disponible: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2681/IV_-_T%C3%A9cnicas_de_caracterizaci%C3%B3n_Conceptos_generales.pdf?sequence=8&isAllowed=1

Tiwari, A. Dhoble, S. (2022). Synthesis, functional properties, and applications of Ag₂S semiconductor nanocrystals. *Nanoscale Compound Semiconductors and their Optoelectronics Applications*: (7): 191-228.

Vilchis Valadez, E. (2021). "Efecto antifúngico de nanopartículas desulfuro de plata en *Candida albicans* para aplicación en acondicionadores de tejido". Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, México. Recuperado de <http://132.248.9.195/ptd2022/marzo/0823636/Index.html>

Wang, Y. Tu, K. Cheng, J. He, E. Wang, J. Zhang, L. Cheng, Z. (2021). Facile photochemical synthesis of main-chain-type semifluorated alternating copolymers catalyzed by conventional amines or halide salts. *Chem. Commun*: 57: 11354

Yang, L. Wang, H. Yang, H. Liu, S. Zhang, B. Wang, K. Ma, X. Zheng, Z. (2008). *Shape-controlled synthesis of protein-conjugated silver sulfide nanocrystals and study on the inhibition of tumor cell viability*. *Chem Comm*: 2995-2997

Zanella, R. (2012). *Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño*. *Mundo nano*: 5(1): 69-81

ANEXOS

Tabla de abreviaturas

nm	Nanómetro unidad (1×10^{-9} m)
NPs	Nanopartículas
Ag	Plata
Ag ₂ S	Sulfuro de plata
T	Temperatura
°	Grados
°C	Grados Celsius
P	Presión
bar	Bar unidad (1×10^5 Pa)
t	Tiempo
h	Horas
min	Minutos
L	Litros
mL	Mililitros
μL	Microlitros
g	Gramos
kHz	Kilo Hertz (unidad de frecuencia)
u.a	Unidades arbitrarias
AC	Autoclave
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta visible
TEM	Microscopio electrónico de transmisión
SEM	Microscopio electrónico de barrido
DRX	Difracción de rayos x
Ex	Experimentales
Peg	Polietilenglicol
Com	Comerciales

Equipo de laboratorio



Figura 47. Balanza analítica, Denver Instrument TP-214 (fuente directa).



Figura 48. Tina ultrasónica, Branson 2510 (fuente directa).



Figura 49. Centrífuga, Cole Parmer (fuente directa).

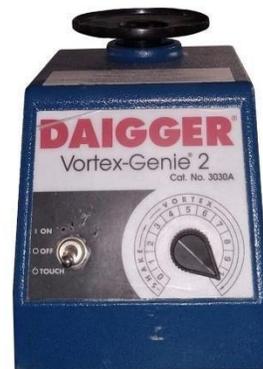


Figura 50. Agitador vortex, Daigger Genie 2 (fuente directa).



Figura 51. Parrilla eléctrica, Ika C-MAG HS 7 (fuente directa).

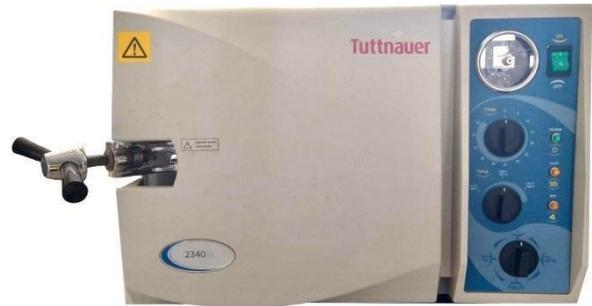


Figura 52. Autoclave, Tuttnauer 2340 (fuente directa).

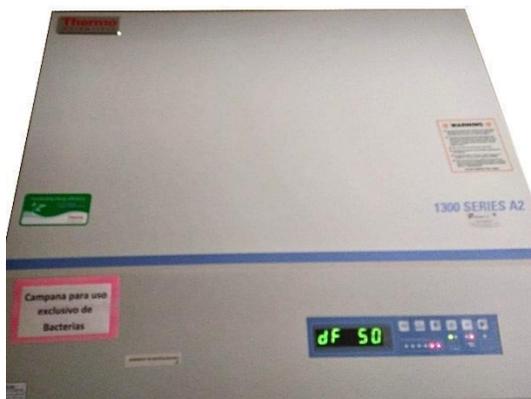


Figura 53. Campana luz UV, Thermo 1300 (fuente directa).



Figura 54. Espectrofotómetro, Thermo Multiskan GO (fuente directa).

Reactivos



Figura 55. Sulfuro de sodio, Fermont (fuente directa).



Figura 56. Citrato de sodio, Karal (fuente directa).



Figura 57. Nitrato de plata, J. T Baker (fuente directa).



Figura 58. Polietilenglicol, Aldrich (fuente directa).



Figura 59. Sulfuro de plata, Aldrich (fuente directa).



Figura 60. Polietilenglicol, Karal (fuente directa).

Gráficas comparativas de muestras

Las siguientes gráficas representan la comparación de cada muestra al ser sometidas a los procesos de esterilización a diferentes periodos de tiempo.

- Muestras en presentación polvo-líquido

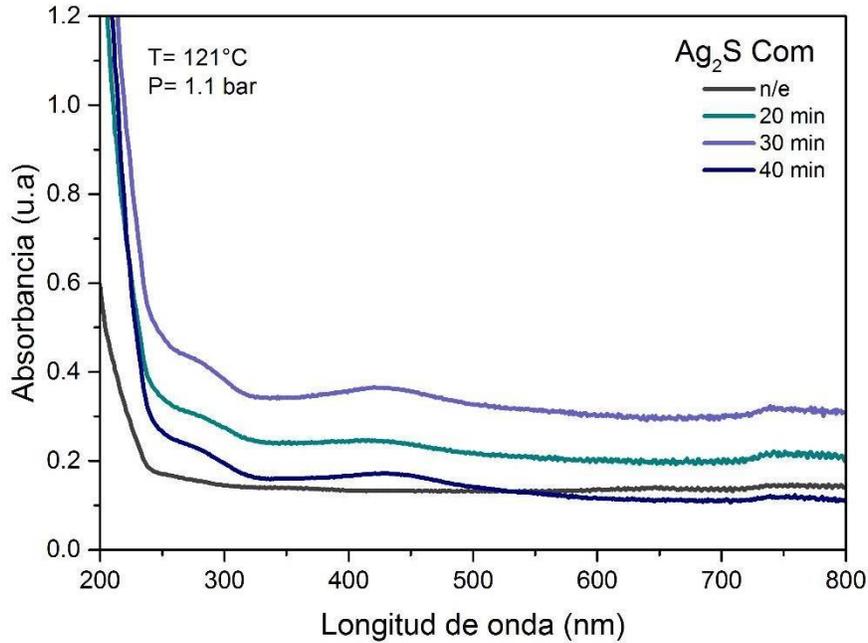


Figura 61. Comparación NPs Ag_2S Com estériles (20, 30 y 40 min en autoclave) y no estériles.

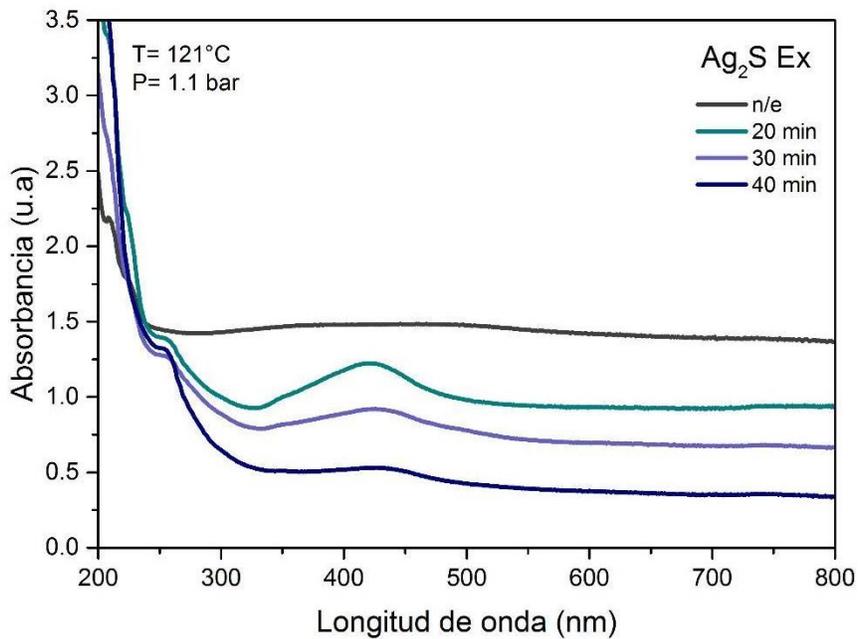


Figura 62. Comparación NPs Ag₂S Ex estériles (20, 30 y 40 min en autoclave) y no estériles.

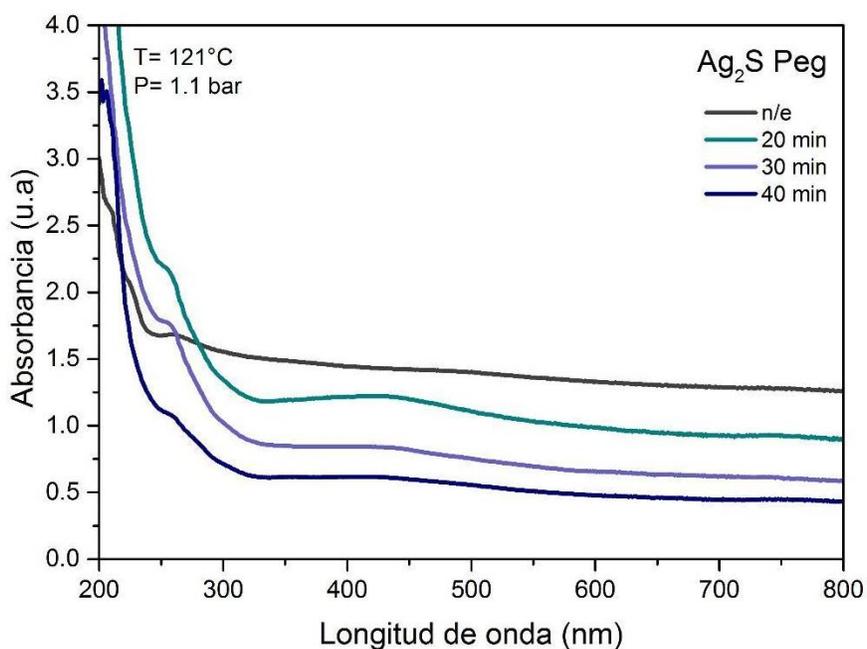


Figura 63. Comparación NPs Ag₂S Peg estériles (a 20, 30 y 40 en autoclave) y no estériles.

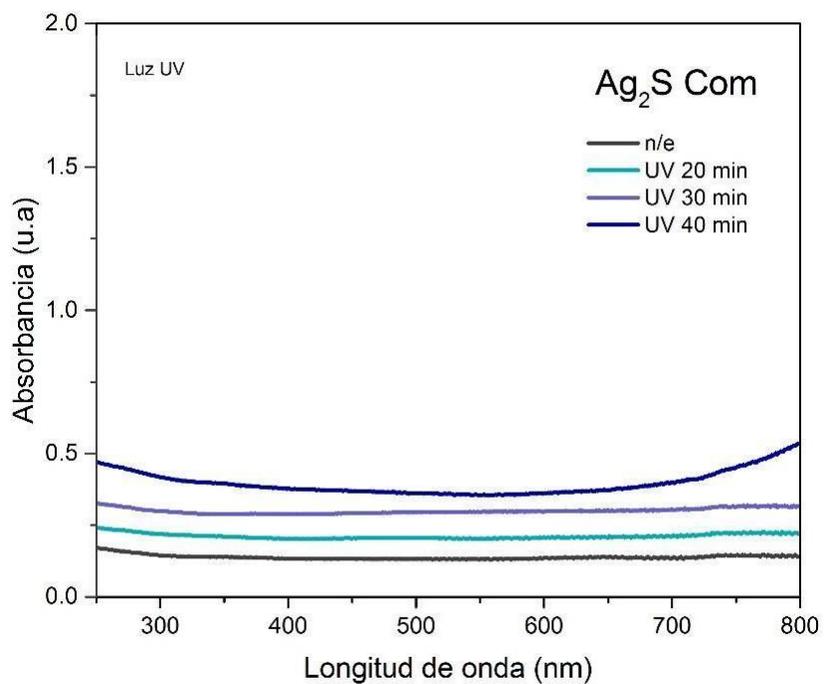


Figura 64. Comparación Ag₂S Com (a 20, 30 y 40 min en luz UV) y no estériles.

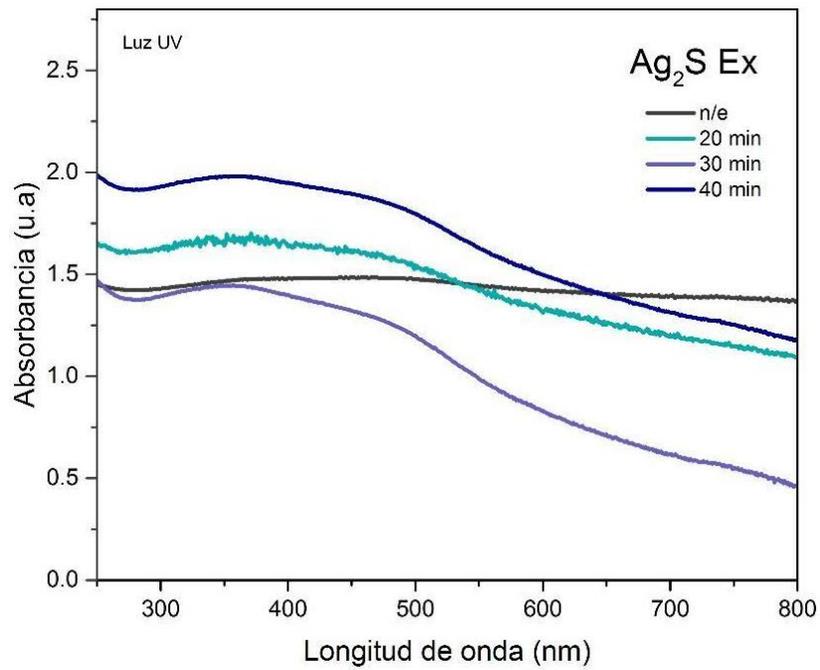


Figura 65. Comparación Ag₂S Ex (a 20, 30 y 40 min en luz UV) y no estériles.

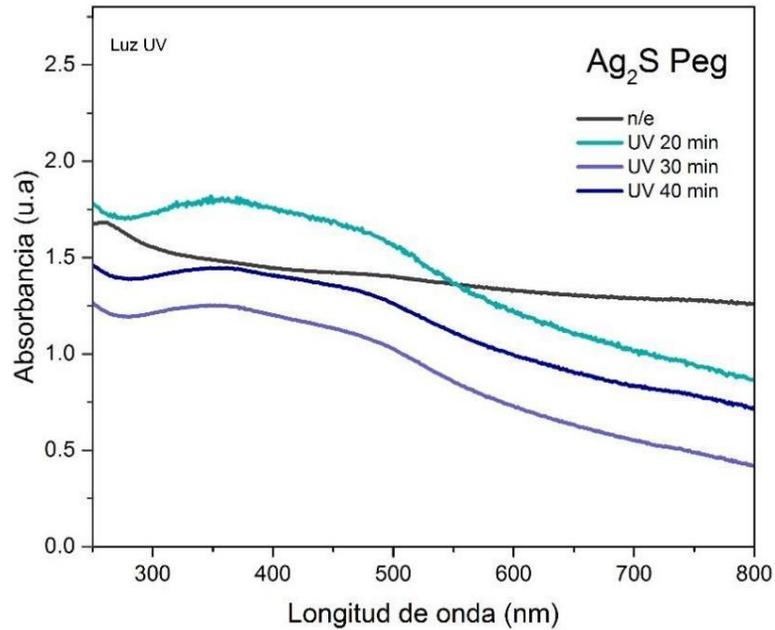


Figura 66. Comparación Ag₂S Peg (a 20, 30 y 40 min en luz UV) y no estériles.

- Muestras en presentación polvo-líquido

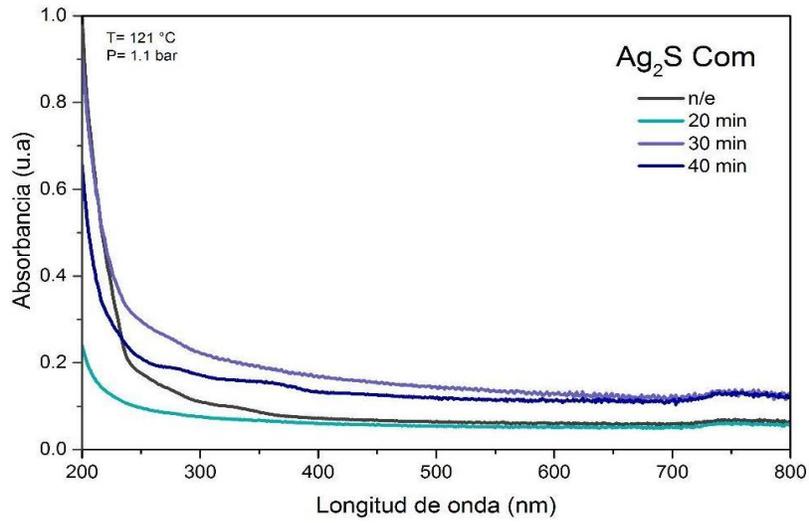


Figura 67. Comparación NPs Ag_2S Com estériles (20, 30 y 40 min en autoclave) y no estériles.

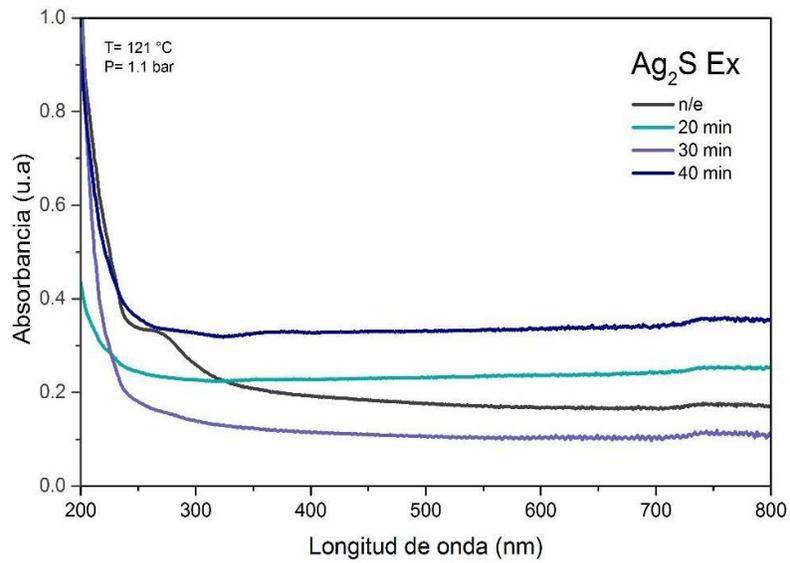


Figura 68. Comparación NPs Ag_2S Ex estériles (20, 30 y 40 min en autoclave) y no estériles.

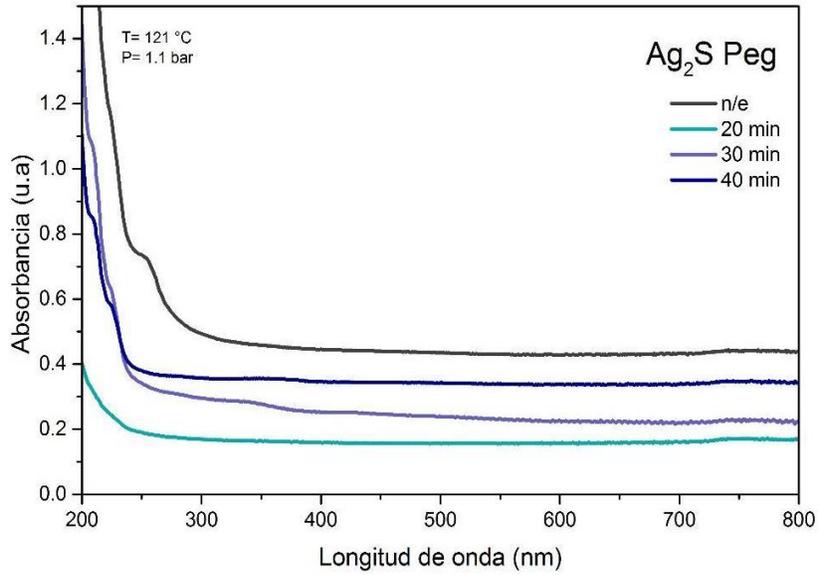


Figura 69. Comparación NPs Ag₂S Peg estériles (20, 30 y 40 min en autoclave) y no estériles.

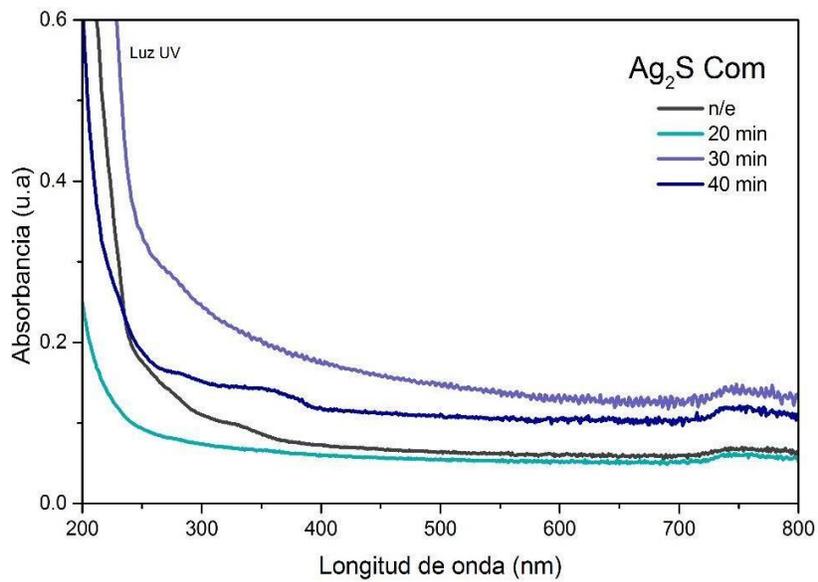


Figura 70. Comparación NPs Ag₂S Com estériles (a 20, 30 y 40 min mediante uso de luz UV) y no estériles.

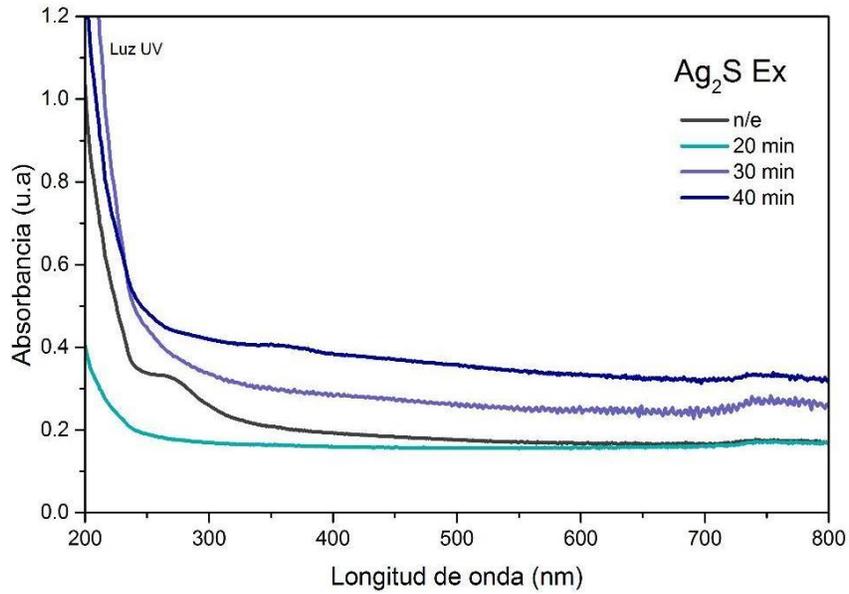


Figura 71. Comparación NPs Ag₂S Ex estériles (a 20, 30 y 40 min mediante uso de luz UV) y no estériles.

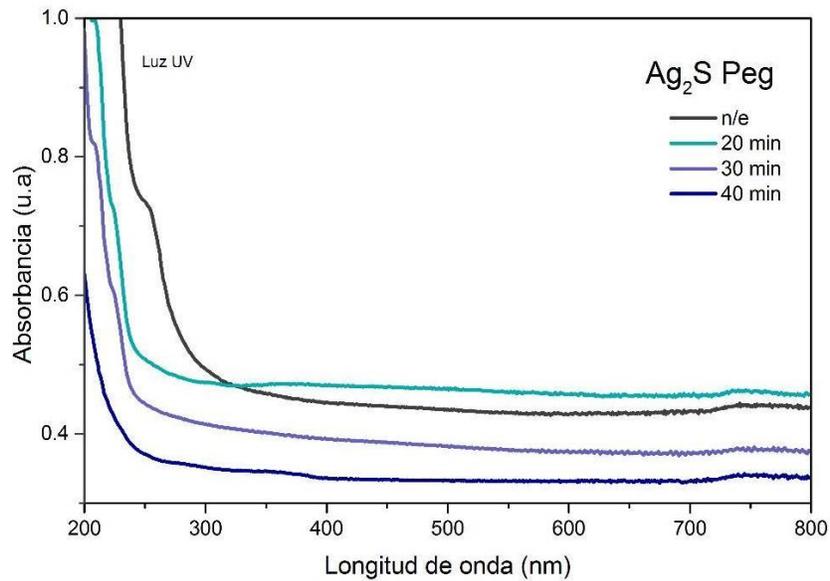


Figura 72. Comparación NPs Ag₂S Peg estériles (a 20, 30 y 40 min mediante uso de luz UV) y no estériles.