



## **BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA MEDIANTE EL EXTRACTO *LARREA TRIDENTATA***

Miguel Ángel Vázquez González, Gerardo Antonio Rosas Trejo

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, [mike.93@live.com.mx](mailto:mike.93@live.com.mx),  
[grtrejo07@yahoo.com.mx](mailto:grtrejo07@yahoo.com.mx).

### **RESUMEN**

En la actualidad las nanopartículas de plata (AgNps) tienen una amplia variedad de aplicaciones en diferentes campos como la medicina, tratamientos de aguas residuales y catálisis, sin embargo, los métodos convencionales de síntesis, requieren materiales tóxicos y costosos, los cuales causan un déficit en su aplicación en diversas áreas. Por consiguiente, existe un gran interés por métodos de síntesis de nanopartículas empleando materiales orgánicos que reduzcan los costos, la toxicidad y cuyos subproductos sean amigables al medio ambiente.

En el presente trabajo, se exhibe la síntesis AgNps a partir del extracto de la planta medicinal *Larrea tridentata* como agente reductor y estabilizador y la sal precursora  $\text{AgNO}_3$  en solución acuosa. También se realizó su caracterización estructural y evaluación antibacterial contra *E.coli*. Se confirmó la síntesis de nanopartículas por medio de espectroscopía de UV-Vis e infrarroja, rayos X, microscopía electrónica de barrido y de transmisión, así como la actividad antibacterial en cultivos de *E. coli* mediante discos de inhibición cubiertos de nanopartículas de plata.

Después de la síntesis de partículas de plata, se concluye que una mayor uniformidad de tamaño se obtuvo a la concentración del extracto 1.5 gr y con una solución 5mM de  $\text{AgNO}_3$ . UV-Vis indicó un rango de absorción entre 350-500 nm con una banda delgada y orientada hacia la izquierda confirmando la existencia de nanopartículas de plata, además, mediante microscopía se observó la morfología y el análisis químico que corrobora a la plata reducida. Se comprobó el efecto antibacterial de las nanopartículas contra la bacteria *E.coli*.

### **1. INTRODUCCIÓN**

En los últimos años ha aumentado el desarrollo de ciertas ciencias, tal como el caso de la nanotecnología, donde se han realizado grandes avances principalmente en la área de los nanomateriales, los cuales adquieren nuevas propiedades a las convencionales, cambiando su estructura física y comportamiento químico [1]. Un aspecto importante de estos nuevos materiales es su síntesis, reto a resolver de las nanopartículas de metal. Existe una amplia variedad de métodos de obtención físicos y químicos que han resultado eficaces debido a la producción controlada que se caracteriza por forma y tamaños bien definidos de Nps. Para ello es importante resaltar que la mayoría de estas metodologías emplean sustancias químicas tóxicas que generan subproductos altamente peligrosos, donde muchas de las veces son absorbidos en la superficie del nanomaterial sintetizado, ocasionando efectos adversos en sus aplicaciones. Por lo tanto, existe un gran interés por desarrollar nuevos procedimientos capaces de disminuir el uso de sustancias dañinas y al mismo tiempo que sean rentables [2-3].

Para lograr este objetivo, se emplea la síntesis verde, la cual consiste en utilizar fuentes biológicas como es el caso de las algas, hongos, bacterias, plantas, entre otras. La síntesis utilizando la última de éstas es preferida, debido a su simplicidad, fácil adquisición, alta efectividad, bajo costo, y a su obtención con forma y tamaño homogéneo a partir del extracto. Las Nps de oro como de plata han sido de mayor interés debido a sus potenciales aplicaciones que incluyen el suministro



en fármacos, terapias, diagnósticos, sensores, purificación de agua, manejo de alimentos, industria textil, etc [4].

Algunos ejemplos de plantas muy conocidas utilizadas en esta metodología son: *Acalypha indica*, *Allium sativum*, *Calotropis procera*, *Dioscorea bulbifera*, *Geranium*, entre otras. Así como éstas, varios tipos de flora originaria del país, contienen los compuestos químicos capaces de reducir y estabilizar Nps, reduciendo los iones metálicos provenientes de las sales precursoras, evitando la aglomeración de las mismas generando la síntesis de AgNps. *Larrea tridentata* no ha sido utilizada en síntesis de AgNps, constituyendo entonces una área de oportunidad para su estudio y sus posibles aplicaciones.

*Larrea tridentata* es una especie de planta de la familia *Zygophyllaceae*. Está distribuida en los desiertos de Norteamérica. Se le conoce como “Gobernadora”, debido a su gran habilidad para atrofiar el desarrollo de otras plantas que conviven con ella. Las propiedades medicinales de la gobernadora son muy diversas, siendo su uso más común aliviar enfermedades de origen renal urinario. Los principales compuestos en la planta reportados en la literatura son los lignanos fenólicos, seguidos por las saponinas, flavonoides, aminoácidos y minerales [5-6].

La idea central de esta investigación es sintetizar AgNps utilizando extracto de *Larrea tridentata* y como sal precursora  $\text{AgNO}_3$ , en las cuales se estudiará la capacidad reductora y estabilizadora de iones en suspensión coloidal, su caracterización con diferentes técnicas de microscopía y evaluación antibacterial contra *E.coli*.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

A partir de la revisión bibliográfica se tomó la siguiente metodología partiendo de la adquisición de la planta *Larrea tridentata* y la molienda de la misma, para proseguir con la preparación acuosa del extracto a diferentes concentraciones (0.5, 1, 1.25, 1.5 y 1.75 g), enseguida se preparó las soluciones de  $\text{AgNO}_3$  a 5, 7 y 9 mM, una vez realizados estos pasos, se llevó a cabo la reacción del extracto acuoso de la planta y la sal precursora con sus respectivas concentraciones para sintetizar las AgNps a temperatura ambiente y se continuó con la caracterización por medio de espectrofotometría de UV-Visible, y a partir de esta técnica se evaluaron las diferentes muestras para obtener el mejor resultado y llevarlo a otros equipos de caracterización como infrarrojo(IR), difracción de rayos X, microscopía de electrónica de barrido (SEM), microscopía electrónica de transmisión(TEM) y por último la prueba antibacterial.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

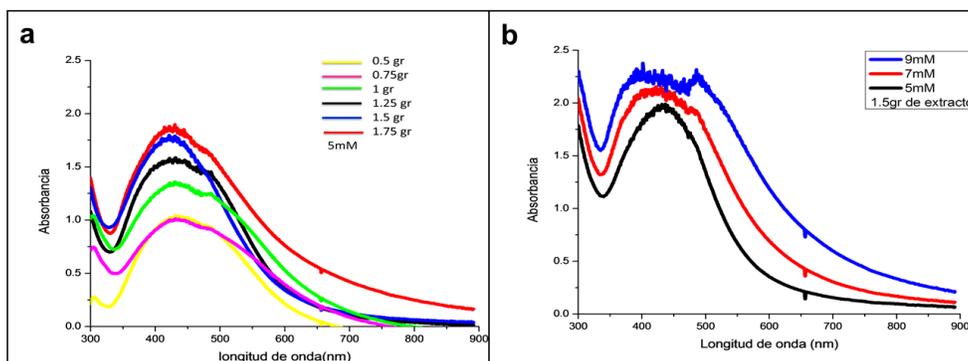
De los diferentes experimentos realizados, se escogió el mejor resultado en UV-Visible con una concentración de extracto de 1.5 g y la concentración de la sal precursora  $\text{AgNO}_3$  en 5mM. De manera inmediata no se observan cambios, pero al paso de 5 minutos la coloración café claro cambia a un café oscuro, conforme avanza el tiempo el color se intensifica. El cambio de color es una indicativo de síntesis verde de nanopartículas [4], que una vez observados permite continuar con los diferentes experimentos y caracterizaciones.

El espectro de absorción de ultravioleta-visible de las probetas que contienen el extracto de *Larrea tridentata*, observando que a medida que aumenta la concentración de extracto de la planta 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5 y 1.75 gr con solución de  $\text{AgNO}_3$  a 5mM, se incrementa la banda de absorción entre el rango de 350 a 550 nm, correspondiente a la presencia de AgNps indicando su obtención. Se ha reportado, que dependiendo de las constantes dieléctricas de la solución las posiciones de los picos difieren, es decir su longitud de onda. La posición y la forma del pico de absorción en UV-Vis, dependen principalmente de factores como el tamaño, forma y polidispersividad de las partículas [7]. Donde cada uno de los picos de menor a mayor intensidad y consecuentemente de mayor concentración fueron los siguientes 1.008, 1.039, 1.358, 1.574, 1.775 y 1.897.

Entre los resultados aquí obtenidos, claramente se distinguen diferencias entre una concentración y otra, sin embargo, la concentración de 1.5g de extracto presenta la mejor banda en cuestiones



estéticas; es muy delgada, está mejor formada lo que permite concluir, en primer lugar, un tamaño de partícula más pequeño y una mejor distribución de nanopartículas, es decir, más homogéneas y que cuentan con una forma esférica. Contrariamente, los demás experimentos presentan un doble pico, que indica una distribución bimodal (dos distribuciones diferentes de nanopartículas) y también un tamaño de partícula mayor (véase figura 1a). En base a esto se realizaron otros experimentos para someterlos a diferentes condiciones, variando ahora la molaridad de la sal precursora que fue de 7 y 9 mM, presentándose los resultados en la figura 1b donde claramente se observa el mejor resultado a la concentración de 1.5g de extracto con 5mM de  $\text{AgNO}_3$  para proseguir con las siguientes caracterizaciones mencionadas.



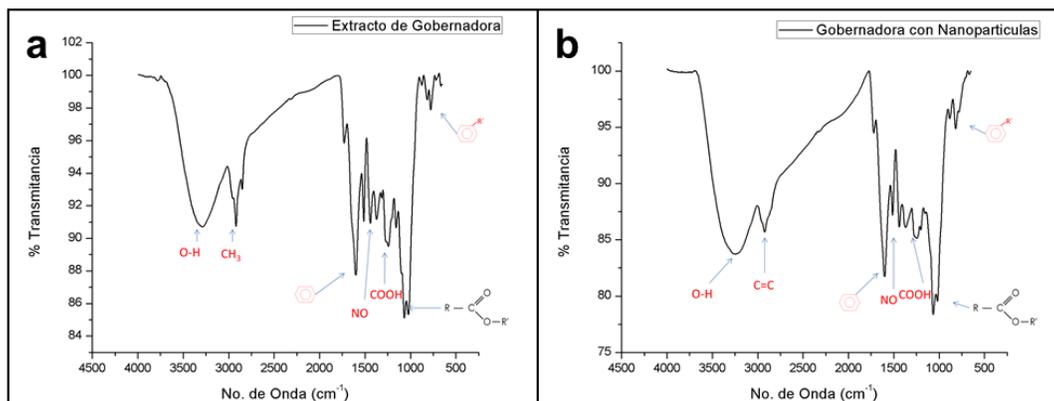
**Figura 1.** Espectroscopía de UV-Vis a diferentes concentraciones (a) del extracto de *Larrea tridentata* y (b) de sal metálica  $\text{AgNO}_3$ .

A continuación se presentan los resultados derivados de Espectroscopía de IR. Se analizó una muestra de la planta *Larrea tridentata* para evaluar la variedad de grupos funcionales contenidos en ella. La Figura 2a muestra el espectro donde se presenta un pico en  $3296\text{ cm}^{-1}$ , esta banda corresponde a las vibraciones por tensión del enlace O-H. Las bandas encontradas en  $2954$ ,  $2920$  y  $2850\text{ cm}^{-1}$  con intensidad de media a baja indican al grupo  $\text{CH}_3$  (alcanos). Las siguientes bandas en  $1730$ ,  $1602$  y  $1514\text{ cm}^{-1}$  se toman en conjunto que pertenecen al enlace C=C del grupo de los aromáticos con núcleo bencénico. Posteriormente encontramos las bandas  $1442$  y  $1373\text{ cm}^{-1}$  las cuales se le pueden asignar al enlace N-O de los compuestos con nitrógeno. La banda  $1240\text{ cm}^{-1}$  pertenece a los ácidos carboxílicos. Enseguida se observan los picos  $1159$ ,  $1068$  y  $1024\text{ cm}^{-1}$  donde se presenta el enlace C-O correspondiente al grupo éster. Los últimos picos  $875$ ,  $815$  y  $777\text{ cm}^{-1}$  corresponden a la presencia de sustituciones en aromáticos con núcleo bencénico.

La figura 2b presenta el espectro de IR, después de la reacción a una concentración de 1.5 g de la planta *Larrea tridentata* con el nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) a 5mM y para 72 h de la reacción, arrojando la siguiente información; el pico  $3271\text{ cm}^{-1}$  al igual que en el espectro del extracto puro, (figura 2a), se observa el pico de absorción correspondiente al grupo funcional O-H de los alcoholes. El siguiente pico ubicado en  $2933\text{ cm}^{-1}$ , en contraste con el espectro del extracto puro (figura 2a), muestra la presencia del grupo  $\text{CH}_3$ , que se caracteriza en este rango por la presencia de dos o más bandas. Sin embargo, ahora se observa que una banda desapareció. En base a esto, se establece que también encontramos un enlace C-H característico de los alquenos. Lo anterior nos indica que estos compuestos están reaccionando efectivamente para la formación de otros diferentes. A continuación se ubican picos en  $1722$ ,  $1602$  y  $1514\text{ cm}^{-1}$ , estos picos de absorción corresponden al enlace C=C del grupo de los aromáticos con núcleo bencénico. A diferencia de lo observado en el extracto puro, las absorciones secundarias disminuyen su intensidad, deduciendo que estos compuestos reaccionan efectivamente. Los picos  $1440$  y  $1372\text{ cm}^{-1}$  en conjunto corresponden al enlace N-O de los compuestos con Nitrógeno, al igual que lo observado en el

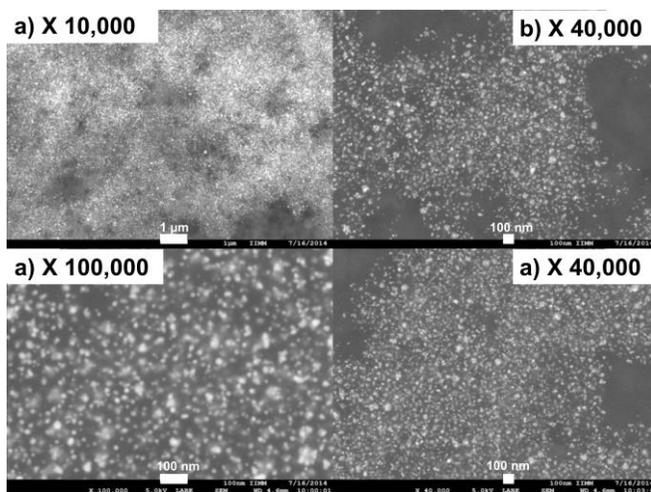


extracto puro. Por lo tanto, se concluye que los grupos alcoholes y bencénicos son los que están reaccionando al momento de la síntesis de AgNps. Los demás picos siguen el mismo comportamiento que las bandas anteriores.



**Figura 2.** Espectros de IR (a) de la planta y (b) de las nanopartículas sintetizadas con la planta Gobernadora.

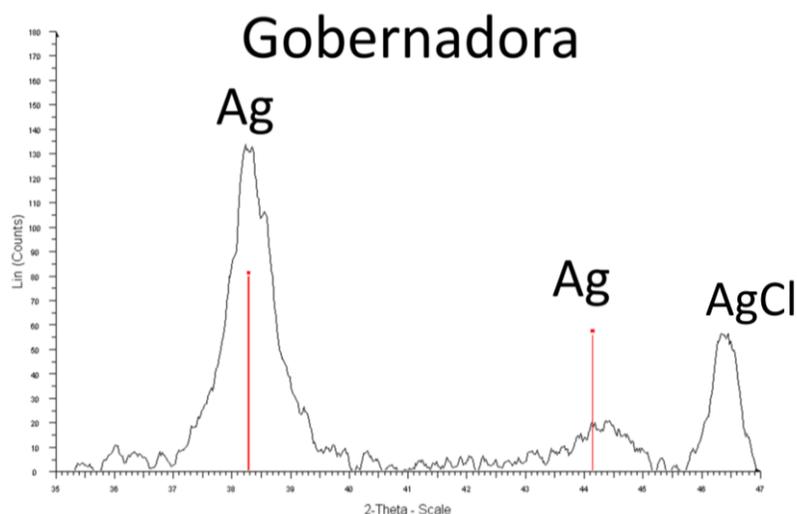
Una de las grandes ventajas de la microscopía electrónica de barrido, respecto a otro tipo de microscopía, es la facilidad de preparación de muestras ya que sólo en casos especiales puede ser muy compleja. Se presenta en la Figura 3 a-d, imágenes de microscopía de barrido a diversas ampliaciones, en donde se observan los productos de la síntesis entre el extracto de *Larrea tridentata* y la sal precursora, se aprecia una gran cantidad de AgNps representadas por los puntos brillantes, concluyéndose la síntesis exitosa, fácil y ecológica de AgNps. Puede percatarse que todas las partículas están distribuidas uniformemente y el tamaño se mantiene homogéneo por debajo de los 30 nm, lo que confirma la síntesis de sólidos en estado nanométrico y las formas semi-esféricas obtenidas en su totalidad.



**Figura 3.** Incisos a-d, imágenes de AgNps registradas a diferentes ampliaciones por microscopía electrónica de barrido (SEM).

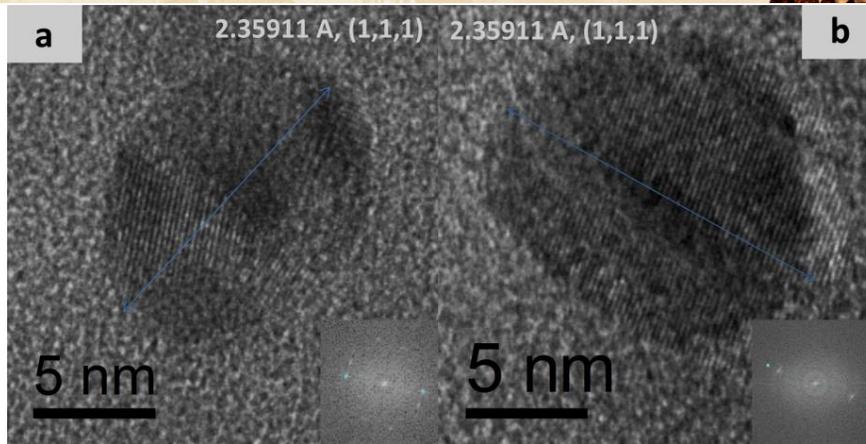


La Figura 4 muestra el difractograma de rayos X correspondiente a la concentración 1.5 g con 5mM de  $\text{AgNO}_3$ , las cuales fueron analizadas con ayuda del programa Match (V. Demo). Realizando la indexación de los picos, se encuentra que aparecen los planos (1,1,1) y (2,0,0) correspondientes a la estructura cúbica centrada en las caras de la plata y así concluyendo la presencia de este elemento, hacia la derecha del espectro, también aparece otro pico que corresponde al cloruro de plata. Con esto se confirma la estructura de las nanopartículas observadas en la figura 3.



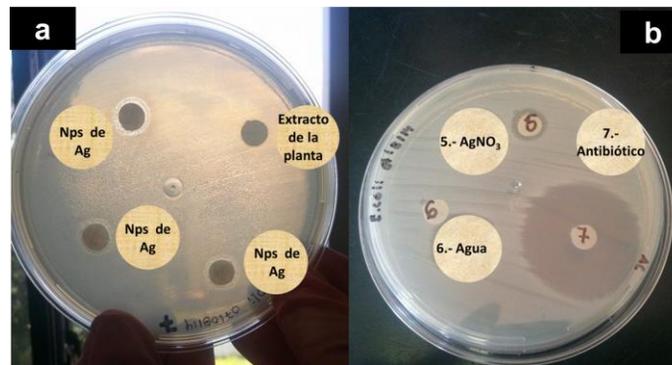
**Figura 4.** Difractograma de rayos X mostrando la composición de AgNps y parte de los residuos de la reacción.

En la Figura 5 se observan imágenes por la técnica de microscopía de alta resolución (TEM), en donde se puede observar la estructura de las AgNps, denotada por la resolución lineal dentro de ellas, como se podrá notar ambas imágenes (a y b) ilustran un tamaño aproximado de 13.5 nm, cuya morfología de las mismas es cuasiesférica lo que indica que el extracto de la planta contiene modificadores de la forma. Mediante la transformada rápida de Fourier (recuadro anexo) se confirma la naturaleza cristalina, así como las distancias interplanares entre los puntos de difracción, los que presentan una distancia aproximada a 2.35 Å que coinciden muy bien con la distancia interplanar correspondiente a los planos del tipo (1,1,1) de la estructura cúbica centrada en las caras (fcc) de la plata metálica. De acuerdo al rayado la primera de estas partículas presenta una estructura del tipo mtp (múltiple macla) y la segunda del tipo fcc.



**Figura 4.** Imágenes de TEM de alta resolución con anexos de la transformada de Fourier, planos de tipo (1,1,1) y distancias interplanares.

La figura 6a muestra los halos de inhibición por triplicado de las pruebas antibacteriales que se realizaron en la caja Petri con las Nps obtenidas, también se muestra al extracto puro como control para descartar un efecto por parte de los componentes del extracto de la planta. La figura 6-b muestra los halos de inhibición para nitrato de plata, antibiótico y agua destilada. Como se puede notar el mayor halo de inhibición correspondió al antibiótico. Los diámetros de inhibición fueron: para las AgNps 9.5mm, agua destilada 0mm, antibiótico 33.25mm, nitrato de plata 10.75mm y extracto de la planta 0mm así como las concentraciones utilizadas  $3.5955 \times 10^{-4}$  gAg/mL, 0 gAg/mL, cefatoxima  $35.25 \times 10^{-3}$  g/mL,  $5.3933725 \times 10^{-4}$  gAg/mL y 0 gAg/mL respectivamente de cada sustancia. La concentración de antibiótico utilizada no es equiparable a las concentraciones de nitrato de plata y de AgNps debido a que esta prueba fue preliminar, sin embargo, se puede apreciar que efectivamente las AgNps tienen efecto antibacterial, ya que presenta un halo de inhibición[8]. Este resultado genera una pauta para un nuevo experimento en el cual se utilicen concentraciones equivalentes de las sustancias probadas para lograr generar una referencia cuantitativa, así mismo, se requiere un estudio microscópico usando SEM para demostrar daños y muerte de las bacterias.



**Figura 5.** Halos de inhibición por diferentes sustancias.



#### 4. CONCLUSIONES

Con este proyecto se pone en evidencia la efectividad de la planta *Larrea tridentata* como agente reductor y estabilizador, ya que a partir de la sal precursora ( $\text{AgNO}_3$ ) biosintetiza AgNps de forma y tamaños homogéneos como lo presentan las diferentes caracterizaciones demostradas con las diferentes técnicas de microscopía. Los mejores resultados obtenidos fueron con la concentración de 1.5 g de extracto y nitrato de plata al 5mM. En los experimentos realizados la morfología de las AgNps se obtuvieron en su mayoría homogéneas, teniendo un tamaño por debajo de los 30 nm y de forma cuasiesférica, observándose nanopartículas casi perfectas que por lo tanto, caen en rango nanométrico. Además, su efecto antibacterial resultó positivo como se esperaba y se probó que las sustancias involucradas en la biosíntesis AgNps no tuvieron influencia en el efecto causado por la plata al momento de eliminar las bacterias.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Bindhu, M R y Umadevi, M. *Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver*. s.l. : Elsevier, 2015, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, Vol. 135, págs. 373–378.
2. Doble, Mukesh y Kumar Kruthiventi, Anil. *Green Chemistry and Processes*. The United States of America : AP, 2007. págs. 1-10.
3. Monge, Miguel. *Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas*. 2009, Anales de Química, págs. 33-41.
4. Ávalos, y otros, y otros. *NANOPARTÍCULAS DE PLATA: APLICACIONES Y RIESGOS TÓXICOS PARA LA SALUD HUMANA Y EL MEDIO AMBIENTE*. [ed.] Universidad Complutense de Madrid. 2, Madrid, España : s.n., 1 de Julio de 2013, Revista Complutense de Ciencias Veterinarias, Vol. 7, págs. 1-23.
5. Argueta, V A. *Atlas plants Mexican traditional medicine*. México : Instituto Nacional Indigenista(INI), 1994.
6. Lira-Saldívar. *Estado Actua del Conocimiento Sobre las Propiedades Biocidas de la Gobernadora (Larrea Tridentata)*, R.H. 21(10), 2003. 214-222.
7. Ashokkumar, S, y otros, y otros. s.l. *Synthesis of silver nanoparticles using A. indicum leaf extract and their antibacterial activity*. Elsevier, 2015, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and, Vol. 134, págs. 34–39.
8. Tamboli, D. P., & Lee, S. D. (2013). Mechanistic antimicrobial approach of extracellularly synthesized silver nanoparticles against gram positive and gram negative bacteria. *Journal of Hazardous Materials*, 260, 878– 884.