



SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA USANDO EXTRACTO ACUOSO DE *VALERIANA OFFICINALIS* Y SU EVALUACIÓN COMO AGENTES ANTIBACTERIALES

Noemi Alejandra Fletes y Gerardo Rosas

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, noemi_fletes@hotmail.com,
grtrejo07@yahoo.com.mx

RESUMEN

Las nanopartículas de plata (NPsAg) fueron sintetizadas vía química verde, haciendo uso de extracto acuoso de *Valeriana officinalis* como agente reductor y nitrato de plata (AgNO_3) como precursor. La reacción de reducción de iones Ag^{+1} a Ag^0 fue sometida a diferentes pruebas en las cuales se hicieron variaciones en la concentración del extracto y en la molaridad de la sal de plata. Posteriormente, la caracterización de las nanopartículas se realizó mediante técnicas como: espectroscopia ultravioleta visible (UV-vis) para saber de forma rápida la presencia de nanopartículas en solución, microscopia electrónica de transmisión (MET) para determinar el tamaño y distribución de las partículas nanométricas, microscopia electrónica de barrido (MEB) para observar la morfología de las nanopartículas de Ag, difracción de rayos X (DRX) para comprobar la naturaleza cristalina de los sólidos en solución y espectroscopia de infrarrojo (IR) para identificar los compuestos responsables de la biorreducción del ion y la estabilización de Ag^0 . Estas técnicas confirman la formación de nanopartículas de plata, lo cual nos indica que dicha planta contiene las sustancias adecuadas y capaces de realizar la reducción del ion plata a plata elemental, además se observó que a medida que se incrementa la molaridad del nitrato de plata la formación de nanopartículas es mayor. La distribución de tamaños presentó una tendencia bimodal con nanopartículas de 10-20 nm y 45-60 nm.

1. INTRODUCCIÓN

En años recientes, el desarrollo y uso de las nanopartículas de plata ha aumentado considerablemente debido a las inusuales propiedades ópticas, químicas, electrónicas, foto-electroquímicas, magnéticas, catalíticas y antibacterianas que presentan [1-4]. Por lo tanto, las nanopartículas de plata han atraído el interés de la investigación en nanociencia y nanotecnología, debido a sus aplicaciones ventajosas en: biomedicina, administración de fármacos, industria de alimentos, agricultura, industrias textiles, tratamiento de aguas, catálisis, antibacteriales y anti fúngicas [5-6]. Recientemente [7-8], la síntesis biológica o verde de nanopartículas recibió una enorme atención sobre la síntesis física y química, ya que es un método limpio, no tóxico y respetuoso del medio ambiente, que incluye un diseño y desarrollo que utiliza materiales de alta eficiencia energética renovables, medios de reacción benignos y no peligrosos. El desarrollo de procesos experimentales de base biológica para la síntesis de las mismas se considera como una rama importante de la nanotecnología. La síntesis verde de nanopartículas de Ag utilizando bacterias, hongos, algas, plantas, así como otros compuestos biológicos ha sido reportada en los últimos años [9-10].

El presente trabajo, expone la biosíntesis de NPs de Ag por reducción química de Ag^{+1} a Ag^0 a partir de nitrato de plata en solución (AgNO_3), utilizando extracto acuoso de Valeriana (*Valeriana officinalis*) como agente reductor, en condiciones estándar de temperatura y presión, variando



únicamente la concentración de extracto de planta a concentración de sal precursora y la cinética de la reacción.

La composición química de la raíz de valeriana incluye principalmente sesquiterpenos e iridoides, todos ellos compuestos de naturaleza terpénica. Los sesquiterpenos son oxigenados y pueden ser cetonas, alcoholes, ésteres, aldehídos y ácidos. Además de los compuestos citados, la raíz de valeriana contiene glúcidos, almidón, ácidos grasos, ácidos fenólicos, GABA, glutamina y arginina [11]. Por lo tanto, las características de esta planta proponen sustancias activas que pueden actuar como agentes reductores que permiten utilizarla para la biosíntesis de nanopartículas de plata.

2. PARTE EXPERIMENTAL

La raíz de *V. officinalis* previa a su uso en la preparación del extracto se molió con la finalidad de obtener polvos finos y asegurar una mayor lixiviación de sustancias activas. Los téis se prepararon con concentraciones diferentes variando el peso del polvo en 0.25, 0.50, 0.75 y 1.0 g de Valeriana en 50 mL de agua destilada. Posteriormente, se prepararon mezclas de reacción con cada una de las concentraciones del extracto, variando la molaridad de la sal de plata en 5, 7, 9, 11 y 15 mM (previamente preparadas). El cambio de color del extracto acuoso de amarillo pálido a marrón indicó la formación de nanopartículas de plata en la mezcla de reacción. Las nanopartículas fueron caracterizadas mediante UV-vis, DRX, MEB, MET e IR.

3. RESULTADOS

3.1 Análisis mediante espectroscopia UV-vis.

Una vez que se prepararon las mezclas de reacción descritas en el apartado anterior, se tomaron alícuotas de 10 mL de cada uno de los experimentos y se analizaron mediante espectroscopia de UV-vis. Se observó la aparición de un pico de absorción entre 420-450 nm, el cual se debe a la presencia de nanopartículas de plata en solución [12]. A medida que aumenta la concentración del extracto de *V. officinalis* manteniendo constante la concentración de sal de plata en 5 mM (Fig. 1 a) y 7 mM (Fig. 1 b), la densidad de nanopartículas aumentó. Se observó el mismo comportamiento aumentando la concentración de la sal de plata, manteniendo constante la concentración del extracto de Valeriana (Fig. 1 c).

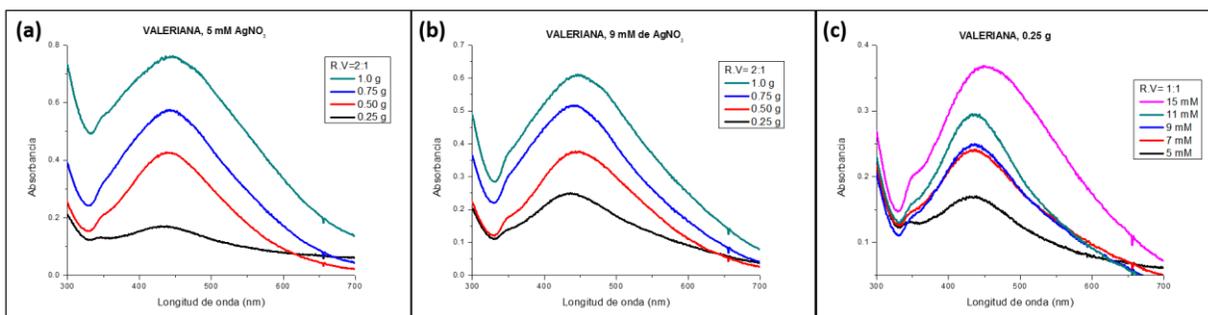


Fig. 1. Espectros de UV – vis de mezclas de reacción con una concentración constante en (a) 5 mM, (b) 9 mM de sal de plata y (c) concentración de extracto constante en 0.25 g variando la molaridad de la sal.

3.2 Microscopia electrónica de barrido (MEB)

Mediante análisis de MEB se confirmó la formación de nanopartículas de plata en el medio de reacción. En la Fig. 2 (a) se observan partículas polidispersas, en su mayoría esféricas y con



tamaños por debajo de los 100 nm. En la Fig. 2 (b) mediante un análisis de energía dispersiva (EDS) se confirma que las nanopartículas en solución son de plata. Generalmente, nanocristales de plata metálica muestran un pico típico aproximadamente a 2.983 keV [13].

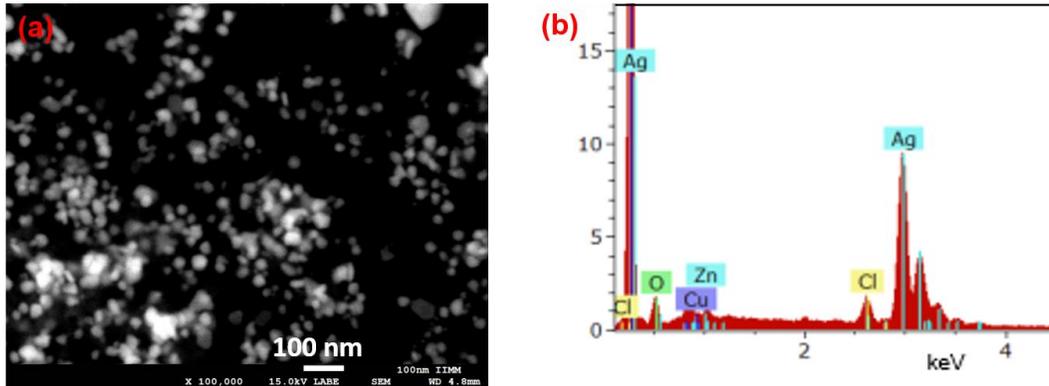


Fig. 2. Imagen de microscopia electronica de barrido (a) y analisis EDS (b).

3.3 Difraccion de rayos X (DRX)

El patrón de difracción representado en la figura 3 muestra la naturaleza cristalina de las nanopartículas de plata sintetizadas mediante extracto acuoso de *V. officinalis*, el difractograma presenta cuatro picos de difracción diferentes observados en el rango 2θ de 20-80°, los cuales pudieron ser indexados como los planos (111), (200), (220) y (311), reflexiones de la red cubica centrada en las caras de la plata metálica, consistente con los datos de Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS) archivo [99-101-3078].

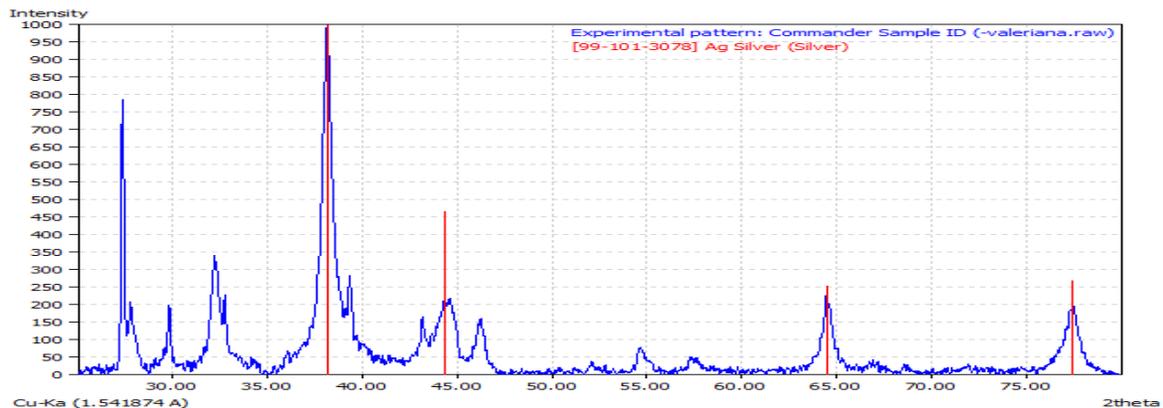


Fig. 3. Patrón DRX de nanopartículas de plata.

3.4 Microscopia electrónica de transmisión (MET)

El tamaño y la morfología de las nanopartículas sintetizadas fueron determinados mediante imágenes de TEM (Fig. 4). La forma de las NPs sintetizadas fue esférica. El rango de tamaños de las nanopartículas se encuentra entre 10-60 nm con un tamaño promedio de 22 nm. Se observa mayor densidad de nanopartículas a una concentración de sal de plata de 5 mM (Fig. 4 a) comparada con 9 mM (Fig. 4 b). En la Fig. 4c se muestra una imagen de alta resolución (HRTEM) de una nanopartícula y dentro de la misma figura en el recuadro se muestra el patrón de difracción (FFT), en el cual los puntos brillantes revelan la naturaleza cristalina de las NPsAg.



3.5 Espectroscopia de Infrarrojo (IR)

El espectro IR es una herramienta útil para analizar las posibles interacciones de las NPsAg con los diferentes grupos funcionales presentes en la raíz de *V. officinalis*, en la figura 5 (a) se muestra el espectro IR de la raíz y la gráfica 5 (b) representa el espectro IR de los grupos funcionales que tiene interacción con las nanopartículas sintetizadas con dicho extracto. Las bandas anchas (por polimerización) y fuertes a 3411 , 3387 y 1033 cm^{-1} se deben a enlaces ($-\text{OH}$) o grupos amino ($-\text{NH}$) del extracto. El pico observado a 2929 cm^{-1} puede ser asignado al grupo C- H [14]. Los picos localizados en 1735 y 1635 cm^{-1} pueden atribuirse a modos de vibración de enlaces C=O (derivados de ácidos carboxílicos) y C=C (dienos y polienos). Dos bandas entre 1300 - 1050 cm^{-1} se observan en la presencia de esteres (C-O), la banda en 771 cm^{-1} se debe a anillos aromáticos (C-H). Los picos localizados en 605 , 530 y 462 cm^{-1} se pueden vincular a estiramientos del enlace C-X (fluoroalcanos). De acuerdo a los espectros IR, las bandas que permanecen en la misma posición en ambos espectros (3400 , 2900 , 1630 , 1030 y 610 cm^{-1}) podrían ser atribuidas a los grupos funcionales que son responsables del encapsulamiento de las NPs de Ag y los picos 1735 , 1504 y 1427 cm^{-1} desaparecen en el espectro IR de la figura 5 (b) podrían ser asignados a los compuestos responsables de la bioreducción.

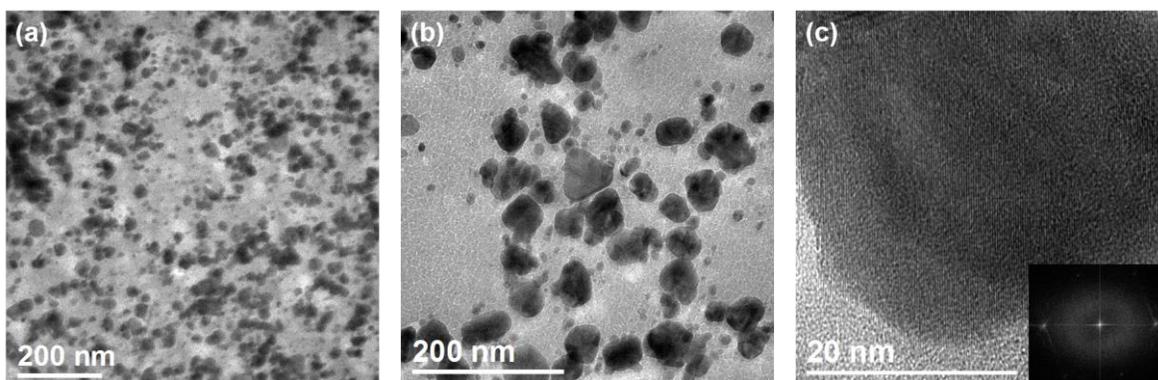


Fig. 4. Imágenes de MET de nanopartículas de Ag sintetizadas con 1.5 g de extracto de *V. officinalis* a diferentes concentraciones de sal (a) 5 mM, (b) 9 mM e imagen de alta resolución (c). El recuadro insertado es el patrón de las NPs de Ag.

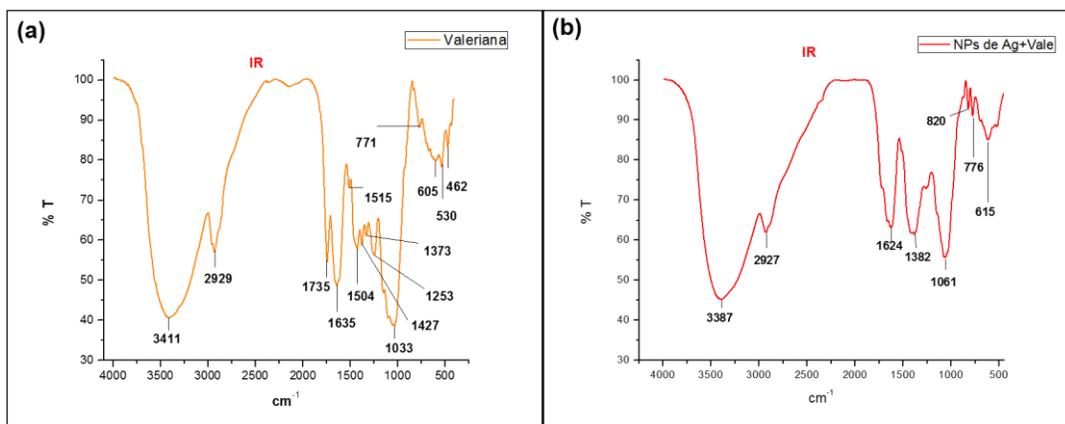


Fig. 5. Espectros IR de *Valeriana officinalis* (a) y nanopartículas de plata con extracto de *V. officinalis* (b).



3.6 Análisis antibacterial

La prueba antibacterial se realizó por medio del método de difusión de disco, es un procedimiento relativamente sencillo y rápido para determinar la efectividad de las nanopartículas contra la bacteria *E. coli*. Se realizó el ensayo con diferentes concentraciones de nanopartículas, las cuales fueron las siguientes: 0.1, 0.2 y 0.3 mL (Figura 6, a-c), los diámetros de inhibición de dichas cantidades de nanopartículas fueron 9.75, 10 y 9.25 cm, respectivamente, comparados con la referencia (extracto) se observó un halo de inhibición del crecimiento de la bacteria, demostrando de esta manera la efectividad de las NPsAg sintetizadas con *V. officinalis* contra *E. coli* (Fig. 6).

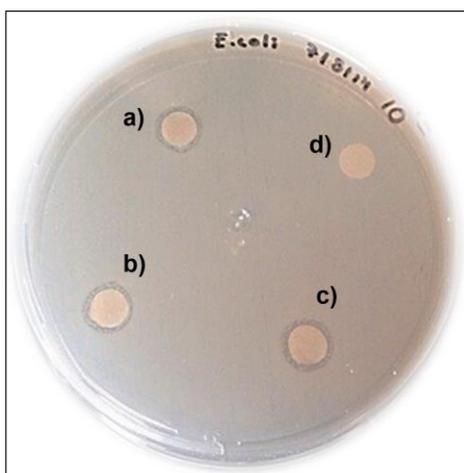


Fig. 6. Análisis antibacterial de nanopartículas de plata sintetizadas con *V. officinalis* contra la bacteria *E. coli*. Diámetros de inhibición de las diferentes cantidades de NPsAg empleadas, 0.1 mL (a), 0.2 mL (b), 0.3 mL (c) y extracto (d)

4. CONCLUSIONES

Las nanopartículas de plata fueron sintetizadas mediante un método biológico usando extracto acuoso de *Valeriana officinalis* como agente reductor. La naturaleza cristalina de las nanopartículas sintetizadas se evidencia con los picos de difracción en los análisis mediante DRX, los puntos brillantes en el patrón de difracción y con los análisis de energía dispersiva (EDS). Los estudios morfológicos mostrados en las imágenes de las microscopias electrónicas de barrido y transmisión, muestran nanopartículas de forma regularmente esférica y con un tamaño promedio de 22 nm. La caracterización mediante espectroscopia UV-vis permitió monitorear la síntesis de nanopartículas, la cual mostró el pico de resonancia del plasmón superficial a 440 nm, lo cual es característico de las NPsAg. El análisis de la propiedad antibacterial de las partículas nanométricas de plata, se realizó mediante el método de difusión de disco, las zonas de inhibición del crecimiento de la bacteria con diámetros de 9.75, 10 y 9.25 cm demuestran la efectividad de las NPsAg sintetizadas con *V. officinalis* contra *E. coli*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Palaniyandi Velusamy, et. al., *Greener approach for synthesis of antibacterial silver nanoparticles using aqueous solution of neem gum (Azadirachta indica L.)*. Industrial Crops and Products, 2015. **66**: p. 103-109.



2. Umesh B., et. al., *Green synthesis of silver nanoparticles using Artocarpus heterophyllus Lam. seed extract and its antibacterial activity*. Industrial Crops and Products, 2013. **46**: p. 132-137.
3. B. Ajitha, et. al., *Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Lantana camara leaf extract*. Materials Science and Engineering C, 2015. **49**: p. 373-381.
4. Kesarla Mohan Kumar, et. al., *Green synthesis of silver nanoparticles using Terminalia chebula extract at room temperature and their antimicrobial studies*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2012. **91**: p. 228-233.
5. V. Kathiravan, et. al., *Green synthesis of silver nanoparticles using Croton sparsiflorus morong leaf extract and their antibacterial and antifungal activities*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015. **139**: p. 200-205.
6. Abdolhossein Miri, et. al., *Plant-mediated biosynthesis of silver nanoparticles using Prosopis farcta extract and its antibacterial properties*, 2015. **141**: p. 287-291.
7. Shikuo Li, et. al., *Green synthesis of silver nanoparticles using Capsicum annum L extract*, 2007. Green Chemistry.
8. T. C. Prathna, et. al., *Sunlight Irradiation Induced Green Synthesis of Stable Silver Nanoparticles Using Citrus limon Extract*. B Biol. Sci, 2014. **84**: p. 65-70.
9. Muthu Karuppiah and Rangasamy Rajmohan, *Green synthesis of silver nanoparticles using Ixora coccinea leaves extract*. Materials Letters, 2013. **97**: p. 141-143.
10. Vivek Ahluwalia, et. al., *Green synthesis of silver nanoparticles by Tricoderma harzianum and their bio-efficacy evaluation against Staphylococcus aureus and Klebsiella pneumonia*. Industrial Crops and Products, 2014. **55**: p. 202-206.
11. Ángel Ma. Villar Del Fesno, et. al., *Valeriana officinalis. Fitoquímica, farmacología y terapéutica*. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia, 2001.
12. Babak Sadeghi, et. al., *A study on the stability and green synthesis of silver nanoparticles using Ziziphora tenuior (Zt) extract at room temperature*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015. **134**: p. 310-315.
13. Umesh B., et. al., *Green synthesis of silver nanoparticles using Artocarpus heterophyllus Lam. seed extract and its antibacterial activity*. Industrial Crops and Products, 2013. **46**: p. 132-137.
14. V. Kathiravan, et. al., *Green synthesis of silver nanoparticles using Croton sparsiflorus morong leaf extract and their antibacterial and antifungal activities*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015. **139**: p. 200-205.