

V.6- CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AgNPS) OBTENIDAS MEDIANTE QUÍMICA VERDE

L. García Hernández^{1*}, P.A. Ramírez Ortega¹, D. Arenas Islas¹, M.U. Flores Guerrero¹

¹Centro de Desarrollo en Nanotecnología, Área Electromecánica Industrial, Universidad Tecnológica de Tulancingo. Camino a Ahuehuetitla No. 301 Colonia Las Presas, Tulancingo, Hidalgo, C.P. 43642, México

*Autor de correspondencia: laura.garcia@utec-tgo.edu.mx

RESUMEN

En los últimos años la síntesis verde de nanopartículas metálicas ha tenido un gran auge debido al uso de extractos vegetales, que han mostrado su viabilidad frente a los métodos físicos y químicos con el uso de extractos de plantas. Por lo tanto, surge la necesidad de identificar algunas especies que posean la capacidad de para la síntesis de nanopartículas metálicas. El extracto de la especie *Cupressus goveniana* que se caracterizó por FTIR, indicando la presencia de grupos funcionales carboxilo ($-C=O$), hidroxilo ($-OH$) y amino ($-NH$) atribuidos a las proteínas y compuestos con grupos terpenicos los cuales se les atribuye la capacidad como agentes reductores de los iones Ag^+ . La formación de las nanopartículas de plata fue caracterizada por espectroscopia de UV-Vis, observándose el plasmon característico de absorbancia entre los 418-430 nm. Esto reveló la reducción de Ag^+ a plata metálica Ag^0 . Una muestra de la dispersión coloidal obtenida se caracterizó por SEM-EDS, donde se observaron partículas que presentan una morfología esférica. Mediante la caracterización electroquímica se observaron procesos de reducción en el intervalo de potencial de -210 a -580 mV vs ECS, en las diferentes concentraciones de Ag^+ ; los cuales son atribuidos al depósito plata sobre el electrodo de carbón vítreo. Por lo que se demuestra que mediante condiciones de baja temperatura y presión atmosférica normal, es viable la obtención de nanopartículas a tiempos cortos.

Palabras Clave: Nanopartículas, Electroquímica, Síntesis, Verde, Cupressus.

1. INTRODUCCIÓN

La síntesis de nanopartículas metálicas se puede llevar a cabo por métodos químicos, físicos y biológicos con diversas técnicas obteniéndose diversas propiedades [1]. Los microorganismos tales como bacterias, levaduras, algas, hongos y actinomicetos son viables en la biosíntesis de las nanopartículas de metálicas; por lo que se han mostrado como una posible alternativa a los métodos físicos y químicos más populares que prevalecen actualmente [2].

Diversos estudios han demostrado que el tamaño, morfología, la estabilidad y las propiedades fisicoquímicas de las partículas metálicas, están fuertemente influenciadas por las condiciones experimentales, la cinética de interacción de los iones metálicos con los agentes reductores y los procesos de adsorción de agentes estabilizantes [3]. Por lo tanto, surge la necesidad de desarrollar

procedimientos de alto rendimiento, bajo costo, no tóxicos y amigables con el medio ambiente para la síntesis de nanopartículas metálicas. De esta manera, el enfoque biológico para la síntesis de nanopartículas se vuelve importante. Una gran variedad de recursos biológicos disponibles en la naturaleza, incluidas las plantas y productos vegetales, algas, hongos, levaduras, bacterias y virus, podrían ser empleados para la síntesis de nanopartículas [4].

La síntesis verde de nanopartículas de plata ofrece numerosos beneficios y compatibilidad para aplicaciones farmacéuticas y biomédicas entre otros, ya que no utilizan productos químicos tóxicos para la síntesis. En contraste, los métodos de síntesis química conducen a la presencia de alguna sustancia química tóxica absorbida en la superficie de las partículas, que pueden tener efectos adversos en las aplicaciones médicas. Además, la síntesis verde proporciona mejores ventajas debido a que es más rentable y fácil de escalar, gracias a que no hay necesidad de usar presiones, energías o temperaturas altas, ni el abuso de productos químicos tóxicos [5].

Por su parte, las nanopartículas de plata han mostrado diversas propiedades para la nanobiotecnología y han recibido mucha atención debido a sus propiedades físicas, químicas y biológicas, entre las cuales destaca su acción antibacteriana [6]. Para la obtención de NPs, se destacan las relacionadas con química verde, que mediante el uso de extractos de plantas permite llevar a cabo síntesis como lo demuestran estudios previos con diversas especies como *Rosa rugosa* [7], *Morus sp* [8], *Cocos nucifera* [9], *Chenopodium album* [10].



Figura 1. Rama de *Cupressus goveniana* mostrando ambas estructuras reproductivas; en los bordes apicales, distingue estructuras masculinas como conos amarillos. En la base de la rama (a la izquierda), se puede apreciar una estróbilos maduros

Algunas especies que se han probado presentan una distribución restringida limitada a una zona geográfica particular, por lo que surge la necesidad de identificar grupos vegetales de fácil acceso que permitan aplicar su potencial para síntesis de NPs. Lo anterior implica la búsqueda exhaustiva de géneros relacionados a los grupos ya trabajados o incluso grupos nuevos que presenten el mismo potencial de síntesis, como la especie *Cupressus goveniana*. Esta especie que muestra en la figura 1, pertenece a la familia Cupresaceae consta de árboles que pueden alcanzar una altura de 43 m con 12 m de diámetro al tomar forma de corona. El follaje es oscuro de color verde, hojas escamosas con formas aciculares de puntas redondeadas. Las estructuras reproductivas constan de conos pequeños que van de 11 a 24 mm de largo y casi esféricos con escalas pares opuestas decusadas, tienen una bráctea pequeña visible en forma de bulto o espina en la escala. Las semillas de 3 a 5 mm de largo muestran un par de alas laterales. Esta especie se encuentra ampliamente distribuida en México principalmente por motivos ornamentales, su cultivo no representa problemas en climas templados [11].

En general el género *Cupressus* ha presentado propiedades medicinales que actualmente se siguen estudiando [12,13,14]. Entre los principales compuestos identificados para el género se encuentran los hidrocarburos monoterpénicos, entre los que destacan el pineno [13,14], fenaldreno [14] y flavonoides como la quercetina glicosídica [12,13,15].

El presente trabajo muestra la síntesis de AgNPs, usando el extracto de una especie del género *Cupressus* cuya distribución local la hace una especie de fácil acceso, de bajo costo, con condiciones de reacción de baja temperatura y presión atmosférica, las cuales se pueden caracterizar por diferentes técnicas, así como el evaluar la caracterización electroquímica de las nanopartículas obtenidas.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1 Síntesis de AgNPs

Se pesaron y lavaron 10 g de hojas sanas y frescas. Una vez secas se sometieron a ebullición con 100 ml de agua desionizada durante cinco minutos, el líquido resultante fue filtrado, se midieron 50 ml del extracto que fue calentado previamente a 80°C con agitación, este fue mezclado en una relación 10:1 con la solución de AgNO_3 a 10 mgL^{-1} , por 60 minutos.

2.2 Caracterización de AgNPs

Mediante espectroscopia de Infrarrojo (FTIR) con un equipo Perkin Elmer FT-IR 2000, se realizó la identificación de los grupos funcionales, presentes en el extracto de la hoja, a los cuales se les atribuye ser agentes reductores de los iones Ag^+ . El seguimiento en la formación de nanopartículas se realizó mediante un espectrómetro de UV visible Perkin Elmer Lambda 35, delimitando un rango de longitud de onda de 600nm a 350nm, para dar seguimiento a la cinética de reacción.

Una vez terminado el tiempo de reacción, se reservaron las muestras y se prepararon para un análisis de microscopia electrónica de barrido, para determinar tamaño y morfología, para lo cual se utilizó un Microscopio electrónico de barrido marca JEOL modelo JSM-5900 LV a una potencia de 30KV con un EDS acoplado marca Thermo.

Durante la formación de las nanopartículas, se realizó la caracterización electroquímica mediante la formación de las nanopartículas se realizó con la técnica voltamperometría cíclica en una celda típica de tres electrodos, utilizando como electrodo de trabajo carbón vítreo, un electrodo DSA como contra electrodo y como referencia un electrodo de Calomel.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización del extracto de *Cupressus goveniana*

Para determinar los grupos funcionales presentes en las macromoléculas del extracto de las hojas de *Cupressus goveniana* se llevó a cabo un estudio de FT-IR, el espectro se muestran en la Figura 2. En dicho espectro se observa una serie de bandas de absorción que refleja su naturaleza compleja del extracto. Se presentó una banda amplia e intensa en $\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$ asignado a la frecuencia de estiramiento N-H que surge de los enlaces peptídicos presentes en las proteínas del extracto. Los picos alrededor de esta banda se pueden especificar como el sobretono de la banda de amida secundaria y la frecuencia de estiramiento de la banda O-H, posiblemente derivadas de los carbohidratos y / o proteínas presentes en la muestra.

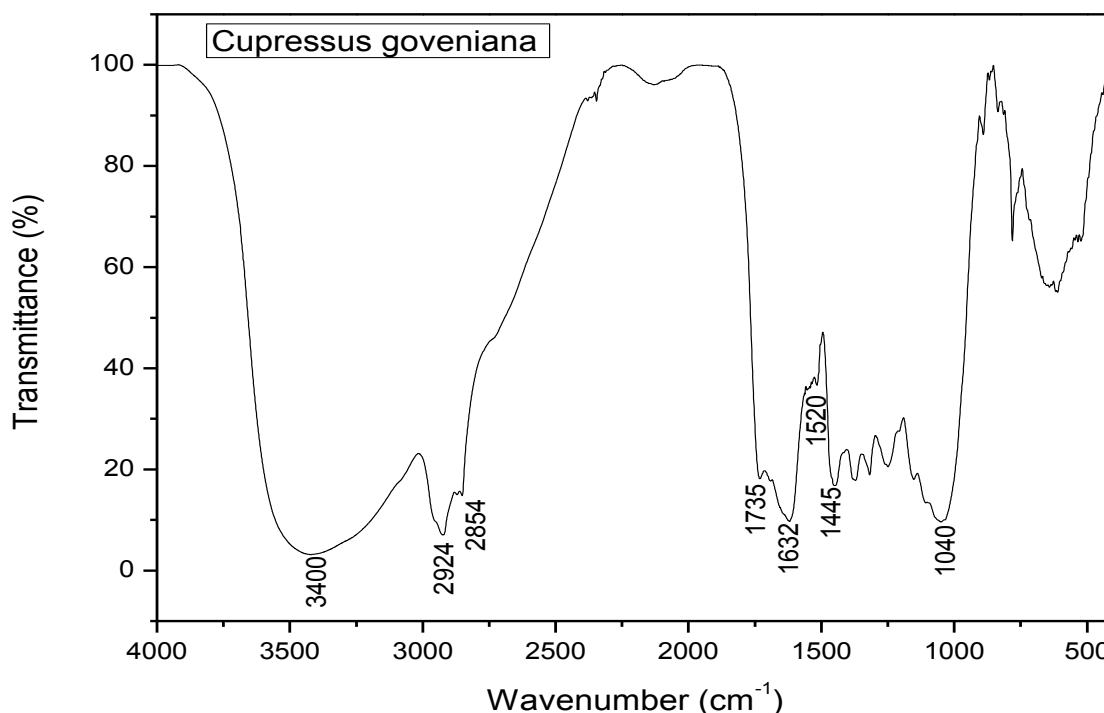


Figura 2. Espectro de FT-IR del extracto de *Cupressus goveniana*, donde se muestran los diversos picos de absorción, atribuidos a grupos funcionales presentes en la macromoléculas biológicas presentes en el extracto.

Además, el espectro revela dos picos de absorción a $2924 \sim$ y $\sim 2854 \text{ cm}^{-1}$ se atribuyeron a la $-\text{CH}_2$ de estiramiento asimétrica y la $-\text{CH}_2$ de estiramiento simétrico, respectivamente. El pico de la banda 1735 cm^{-1} son asignadas para grupo de ácidos carboxílicos ($\text{C}=\text{O}$). Los picos ~ 1735 y $\sim 1632 \text{ cm}^{-1}$ indican la región de $\text{C}-\text{O}$ y los grupos $\text{O}-\text{H}$. El espectro de FT-IR también muestra bandas a 1520 y $\sim 1445 \text{ cm}^{-1}$ identificó como amida primaria y amida secundaria que surgen debido al estiramiento de carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) y la amina ($-\text{NH}$) en los enlaces amida de las proteínas, respectivamente. La banda de absorción a $\sim 1445 \text{ cm}^{-1}$ podría atribuirse a vibraciones tijereteo del metileno presente en las proteínas. La banda de $\sim 1040 \text{ cm}^{-1}$ podría ser en gran medida debido a los grupos $-\text{C}-\text{O}-$ de los polioles, flavonas, terpenoides y los polisacáridos presentes. A partir de estos resultados se atribuya a los grupos carboxilo ($-\text{C}=\text{O}$), hidroxilo ($-\text{OH}$), y la amina ($\text{N}-\text{H}$) presentes en el extracto de hoja, actuar como agentes reductores de iones Ag^+ . Por lo que se puede atribuir que las proteínas presentes en el extracto de hoja *Cupressus goveniana* actúa como un agente reductor y estabilizador para las nanopartículas de plata, ya evita la aglomeración. El grupo carbonilo de residuos de aminoácidos tiene una capacidad de unión fuerte con el metal, lo que sugiere la formación de una capa que cubre las nanopartículas de plata, y puede actuar como un agente estabilizante para evitar la aglomeración en el medio acuoso.

3.2 Caracterización de la formación de nanopartículas de plata

La producción de AgNPs se monitoreó mediante espectrómetro UV-Visible la formación de AgNPs de reacción se presentan en las Figuras 3, utilizando el extracto de *Cupressus goveniana* como agente de reducción.

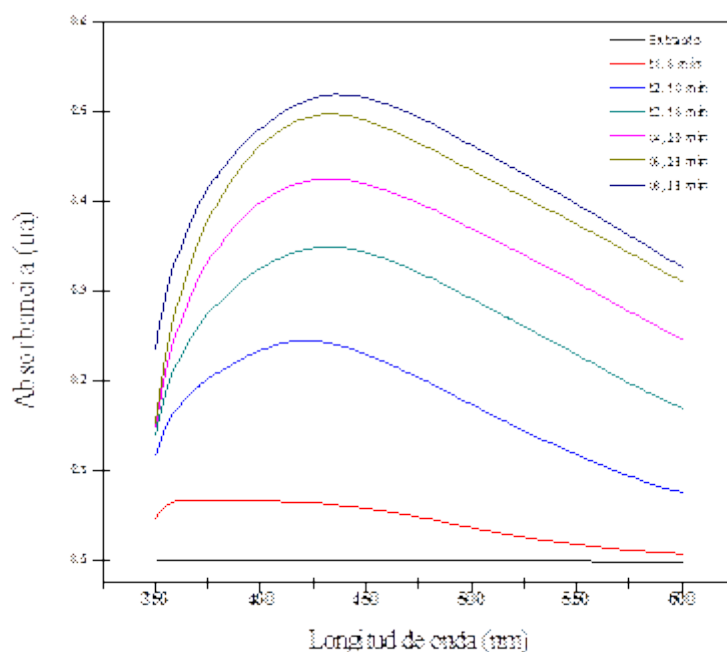


Figura 3. Espectro de UV-Vis obtenidos para la síntesis de AgNPs mediante el extracto de *Cupressus goveniana* a diferentes concentraciones de los iones de Ag^+ .

Durante la síntesis se fueron tomando muestras a diferentes intervalos de tiempo, y se fueron analizando en un espectrofotómetro UV-vis en un rango de 350 a 700 nm con la finalidad de dar seguimiento a la formación de nanopartículas, con lo que se puede apreciar que conforme va transcurriendo el tiempo, el plasmon de absorbancia aumenta en intensidad, como se presenta en la grafica

La síntesis de AgNPs utilizando hojas de *Cupressus goveniana* implica la reducción de los iones Ag^+ . En la gráfica se muestra que el extracto, no muestra evidencia de la absorbancia pero cuando se mezcla con soluciones de AgNO_3 se empieza a preciar el plasmon superficial (SPR) de absorbancia característico para las AgNPs, el máximo de absorbancia se encontró en el rango de longitud de onda de 418-430 nm, atribuido a la formación de nanopartículas, las cuales empiezan a absorber la radiación intensamente a una longitud de onda de 400 nm debido a la transición de electrones. El mecanismo exacto de la biosíntesis para la reducción de iones Ag^+ a nanopartículas metálicas (Ag^0) aún no se comprende bien ya que es complejo.

La figura 4 muestra el análisis de microscopia electrónica de barrido (MEB) y espectroscopia de energía dispersiva (EDS). En la imagen (izquierda) de la figura 4 se puede apreciar una morfología uniforme de tipo esferoidal y relativamente uniforme de las nanopartículas formadas, con un diámetro de partícula en el rango de 67 a 200 nm.

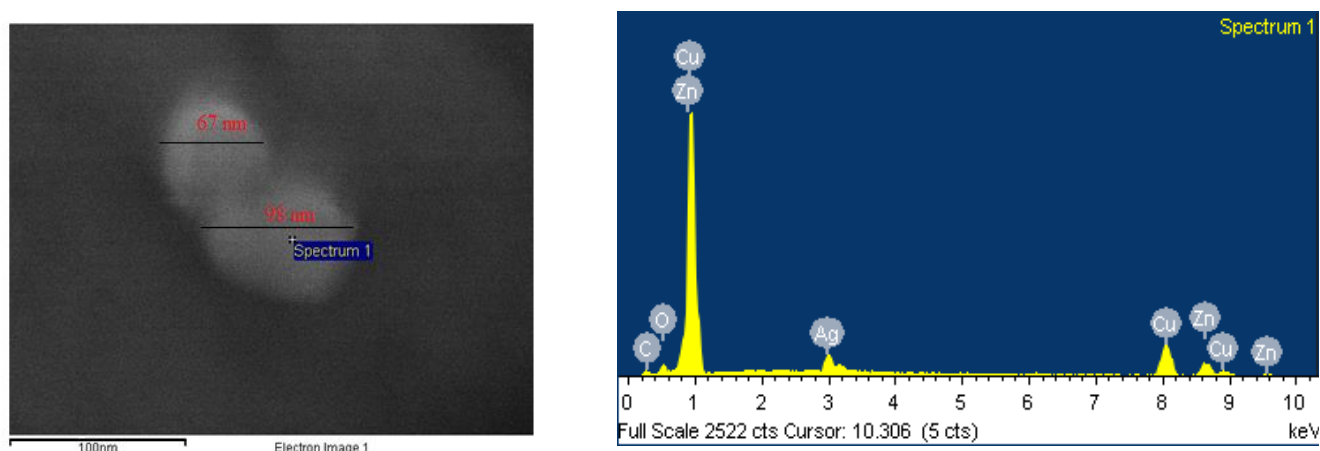


Figura 4. Micrografía de MEB y análisis de EDS de las AgNPs obtenidas mediante la síntesis de Cupresus goveniana.

Es muy probable que las partículas de plata con un diámetro mayor, corresponda a la agregación de las más pequeñas. El análisis de EDS confirmó que el precipitado está compuesto principalmente de plata, cobre y zinc, los cuales son atribuidos a algún compuesto organometálico presente en el extracto.

Se realizó un estudio electroquímico mediante la técnica voltamperometría cíclica a la solución que contiene la presencia de los iones de plata y la que contiene las AgNPs obtenidas mediante el extracto en estudio. Lo anterior, con la finalidad de identificar los procesos de reducción de los iones Ag^+ que aún no han sido reducidos por el extracto. En la Figura 5 se presentan las respuestas voltamperométricas a diferentes concentraciones de plata.

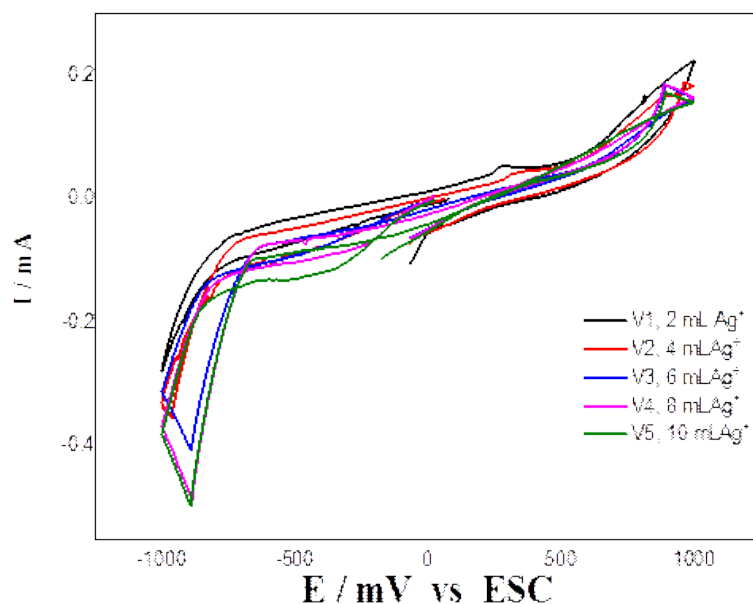


Figura 5. Voltamperograma del extracto a diferentes concentraciones de Ag^+ , en una ventana de potencial de -1 a 1 V y una velocidad de barrido de 25 mV/s.

La voltamperometría cíclica se utiliza generalmente para estudiar las propiedades electroquímicas de un analito en solución, el electrodo de carbono vítreo se pulió y se limpió por ultrasonidos durante dos minutos en agua, después se enjuagó con agua desionizada. En los voltamperogramas de la figura 5 se observa un proceso de reducción en el barrido catódico en un intervalo de potencial de -210 a -580 mV vs ESC, se analizaron muestras a diferentes relaciones de solución de AgNO_3 /extracto, los resultados muestran, que conforme se va agregando mas solución de AgNO_3 , el pico de reducción de los iones de Ag^+ , aumenta, cabe mencionar que la diferencia de tiempo entre la toma de la muestra V1 y V5, es de 30 minutos, durante este tiempo continua el proceso de biosíntesis, al analizar los voltamperogramas, se observa que conforme va aumentando la cantidad de iones Ag^+ , la reducción de estos iones continua y por consiguiente la formación de nanopartículas, lo cual se pudo evidenciar con los espectros de UV-vis, sin embargo al realizar los voltamperogramas, se puede observar en el voltamperograma V5, hay una mayor cantidad de la especie electroactiva en la solución lo cual queda evidenciado en el correspondiente pico de reducción.

4. CONCLUSIONES

La especie *Cupressus goveniana* contiene en su extracto la presencia de diversos grupos funcionales de los compuestos presentes cuya función es ser agentes reductores para la obtención y estabilización de AgNPs, por lo que se propone esta especie para su uso en la síntesis de AgNPs, ya que esta especie es de amplia distribución y fácil adaptación, por otra parte el método de síntesis biológica es amigable con el medio ambiente cuando se compara con métodos físicos y químicos de síntesis, y se pueden obtener tamaños de partículas de rango nanométrico, lo cual se evidenció mediante la espectroscopia de UV-vis y microscopia electrónica de barrido, ya que se obtuvo el plasmon superficial de resonancia característico a los 430 nm atribuido a las nanopartículas de plata. Con base en el presente estudio se propone que pueden utilizarse otras especies del género *Cupressus* con para la obtención de resultados similares. La caracterización electroquímica sirvió para evidenciar la capacidad del extracto como agente reductor en la obtención de nanopartículas, ya que conforme va aumentando la concentración de los iones de Ag^+ , el tiempo de reacción continua y el pico de reducción que se aprecia en las soluciones va disminuyendo, por lo que la reducción se atribuye exclusivamente a los grupos funcionales presentes en las biomoléculas del extracto.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Tecnológica de Tulancingo y al Centro de Desarrollo en Nanotecnología por las facilidades otorgadas para el desarrollo del presente trabajo.

REFERENCIAS

- [1] Tavakoli A, Sohrabi M, Kargari A, (2007), A Review of Methods for Synthesis of Nanostructured Metals with Emphasis on Iron Compounds, *Chem. Pap.* 61 (3) 151—170 DOI: 10.2478/s11696-007-0014-7
- [2] Mandal D, Bolander ME, Mukhopadhyay D, Sarkar G, Mukherjee P, (2006), The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application, *Appl Microbiol Biotechnol* 69: 485–492. DOI 10.1007/s00253-005-0179-3
- [3] Reza Ghorbani H, Akbar Safekordi A, Attar H, and Rezayat Sorkhabadib SM, (2011), Biological and Non-biological Methods for Silver Nanoparticles Synthesis, *Chem. Biochem. Eng. Q.* 25 (3) 317–326

- [4] Kaushik N. Thakkar, MS, Snehit S. Mhatre, MS, Rasesh Y. Parikh MS, (2010) Biological synthesis of metallic nanoparticles, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 6 257–262, doi:10.1016/j.nano.2009.07.002
- [5] Gavahane A, Padmanabhan P, Kamble SP & Jangle SN (2012), Synthesis of Silver Nanoparticles Using Extract of Neem Leaf and Triphala and Evaluation of their Antimicrobial Activities, *Int. Journal of Pharma and Bio Sciences*, 3(3): P 88 – 100
- [6] Okafor F, Janen A, Kukhtareva T, Edwards V, Curley M, (2013), Green Synthesis of Silver Nanoparticles, Their Characterization, Application and Antibacterial Activity, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **10**, 5221-5238 doi:10.3390/ijerph10105221
- [7] Dubey SP, Lahtinen M, Sillanpää M, (2010), Green synthesis and characterizations of silver and gold nanoparticles using leaf extract of *Rosa rugosa*, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 364 34–41, doi:10.1016/j.colsurfa.2010.04.023
- [8] Awwad AM, Salem NM, (2012). Green Synthesis of Silver Nanoparticles by Mulberry Leaves Extract, *Nanoscience and Nanotechnology*, 2(4): 125-128 DOI: 10.5923/j.nn.20120204.06
- [9] Mariselvam R, Ranjitsingh AJA, Usha Raja Nanthini A, Kalirajan K, Padmalatha C, Mosae Selvakumar P, (2014), Green synthesis of silver nanoparticles from the extract of the inflorescence of *Cocos nucifera* (Family: Arecaceae) for enhanced antibacterial activity, *Spectrochimica Acta Part A: Mol. and Biomol. Spectro*; 129: 537–541, doi: 10.1016/j.saa.2014.03.066
- [10] Dwivedi AD, Gopal K, (2010), Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 369 27–33, doi:10.1016/j.colsurfa.2010.07.020
- [11] Hogan M. 2012. iNaturalista. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad y uBio. conabio.inaturalist.org/taxa/325546-Cupressus-goveniana-pigmea
- [12] Selim SA , Adam ME, Hassan SM, and Albalawi AR, (2014), Chemical composition antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil and methanol extract of the Mediterranean cypress (*Cupressus sempervirens* L.), *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14:179 <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/14/179>
- [13] Zavarin E, Lawrence L and Thomas MC (1971), Compositional Variations of leaf Monoterpenes in *Cupressus Macrocarpa*, *C. Pygmaea*, *C. Goveniana* , *Phytochemistry*, Vol. 10, pp. 379 to 393. Pergamon Press. Printed in England.
- [14] Nouri AB, Dhifi W, Bellili S, Ghazghazi H, Aouadhi C, Chérif A, Hammami M, and Mnif W, (2015), Chemical Composition, Antioxidant Potential and Antibacterial Activity of Essential Oil Cones of Tunisian *Cupressus sempervirens*, *Hindawi Publishing Corporation Journal of Chemistry*, Volume, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/538929>
- [15] Natarajan S, Murti VVS, and Seshadri TR, (1970), Biflavones of Some Cupressaceae Plants, *Phytochemistry* Vol. 9, 575-579. Pergamon Press. Printed in Endand.