

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA PREPARADAS CON EXTRACTO ACUOSO DE CILANTRO (*Coriandrum sativum*) Y RECUBIERTAS CON LÁTEX DE SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*)

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF SILVER
NANOPARTICLES PREPARED WITH AQUEOUS EXTRACT
OF CORIANDER (*Coriandrum sativum*) AND COATED WITH
DRAGON'S BLOOD LATEX (*Croton lechleri*)

Marcelo Salguero S.¹ & Fernanda Pilaquinga F.¹

Recibido: 5 abril 2017 / Aceptado: 26 junio 2017

Palabras claves: cilantro, DLS, FT-IR, nanopartículas de plata,
sangre de drago, SEM-EDX

Keywords: coriander, DLS, FT-IR, silver nanoparticles, dragon's blood,
SEM-EDX

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue sintetizar nanopartículas de plata con métodos de química verde, combinando extractos de plantas. En la primera etapa se sintetizaron nanopartículas de plata a partir de AgNO_3 10 mM con un extracto

¹ Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Químicas, Quito Ecuador (mpilaquingaf@puce.edu.ec).

acuoso de cilantro al 5 %. En la segunda etapa se colocó el látex de sangre de drago al 10 % en etanol-agua (1:1 v/v), como aditivo a la disolución acuosa de nanopartículas. Por espectrofotometría UV-Visible se comprobó la formación de nanopartículas de plata a 422 nm y 439 nm respectivamente. Para la caracterización se realizaron análisis por Espectrofotometría de Infrarrojos con transformadas de Fourier acoplada a un accesorio horizontal de reflectancia total atenuada (FTIR-HATR), Microscopía Electrónica de Barrido con detector de rayos X (SEM-EDX), Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama (FAAS) y Dispersión de Luz Dinámica (DLS). En los resultados obtenidos, se observaron cambios evidentes en las bandas de los espectros FTIR, al comparar las nanopartículas sintetizadas con el extracto de cilantro y mezcladas con el látex de sangre de drago. Se determinó el tamaño de nanopartícula a través de SEM, obteniendo un tamaño de nanopartícula de 50 y 72 nm en cada etapa. El análisis EDX mostró la presencia de plata en un 14,9 % durante la síntesis y únicamente un 0,6 % del elemento al adicionar el látex, lo cual sugiere un adecuado recubrimiento alrededor de las nanopartículas. Para contrastar este resultado, se determinó contenido de plata por FAAS antes y después de la adición del látex, el mismo que no evidenció cambios. Además, mediante DLS se encontraron los tamaños hidrodinámicos de las nanopartículas obtenidas con y sin látex, cuyos valores fueron 259,0 y 294,3 nm respectivamente. Finalmente, se concluye que la metodología empleada para la síntesis fue exitosa y permite obtener nanopartículas de plata susceptibles de recubrirse con varios extractos vegetales, mejorando así su aplicabilidad en investigaciones biomédicas y microbiológicas.

ABSTRACT

The aim of this study was to synthesize and characterize silver nanoparticles by means of Green Chemistry methods; plant extracts were used in the procedure. First, silver nanoparticles were synthesized with 10 mM AgNO_3 and a coriander aqueous extract 5 %. Later, latex obtained from dragon's blood 10 % in ethanol-water (1:1), was spiked to the preparation mixture. Silver nanoparticle formation was established with UV-visible spectroscopy by means of measurements at 422 and 439 nm, before and after latex addition, respectively.

Characterization was performed by Fourier transform Infrared Spectrophotometry with Horizontal Attenuated Total Reflectance accessory (FTIR-HATR), Scanning Electron Microscopy coupled to X-ray (SEM-EDX), Flame Atomic Absorption Spectrophotometry (FAAS) and, Dynamic Light Scattering (DLS). Changes in FTIR spectra bands were evident when comparing nanoparticles obtained with the initial extract and with the colloidal dissolution (latex). Nanoparticle size was determined using SEM; an average value of 50 nm and 72 nm was obtained at each stage. EDX analysis showed the presence of silver: 14.9 % in the product of the synthesis and 0.6 % after adding latex, suggesting the formation of an organic coating around the nanoparticles. However, silver concentration, estimated with FAAS, did not show differences between nanoparticles with and without dragon's blood. Besides, nanoparticle hydrodynamic size was found by means of DLS, being the ones without cover, those with a higher value (294.3 vs. 259.0 nm). Finally, it was concluded that the methodology used for this synthesis was successful, and it allows silver nanoparticles coating with other plant extracts, thus improving its applicability in biomedical and microbiological investigations.

INTRODUCCIÓN

Gracias al perfeccionamiento tecnológico, el ser humano ha sido capaz de manipular la materia a escala nanométrica, lo cual permite mejorar y desarrollar nuevos materiales denominados nanomateriales (partículas con diámetro de hasta 100 nm) (Rai *et al.*, 2008). Algunos metales nobles como la plata, el oro y el platino, presentan propiedades bactericidas a escala nanométrica.

Las nanopartículas de plata (AgNPs), se han empleado desde hace siglos de manera no intencionada. El ejemplo más representativo que se puede citar es la copa de Lycurgus del siglo IV, formada por un vidrio coloreado que dispersa luz verde y transmite luz roja, debido a que contiene nanopartículas metálicas de unos 70 nm de una aleación de plata y oro en proporción 70:30 (Monge, 2009).

Este tipo de nanopartículas pueden ser sintetizadas por una gran variedad de métodos, ya sean físicos, químicos o biológicos. La mayoría de ellos desencadenan productos no deseados, lo cual no permite la implementación de ciertas aplicaciones especial-

mente en el campo médico. Sin embargo, se ha comprobado que el empleo de extractos vegetales como agentes reductores presenta varias ventajas, entre ellas, que son fácilmente disponibles, seguros, no tóxicos y en la mayoría de casos, tienen una amplia variedad de metabolitos, y que además de facilitar la reducción de iones plata, aportan con sus propiedades medicinales. La reducción química ocurre esencialmente por acción de los principios activos tales como las flavonas, ácidos carboxílicos y quinonas (Aguilar, 2009).

Se han reportado un sinnúmero de publicaciones respecto a la síntesis verde de las nanopartículas de plata empleando extractos de plantas (Haider & Kang, 2015; Shameen *et al.* 2014). El cilantro (*Coriandrum sativum*) por ejemplo, presenta una gran capacidad antioxidante, dentro de su composición presenta una serie de metabolitos secundarios tales como los ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos y cumarinas (Salazar, 2008). La mayor parte de publicaciones respecto a la síntesis verde de nanopartículas de plata se enfocan en la

caracterización y efecto bactericida de una sola especie de planta (Sharma *et al.*, 2009), es por ello que es necesario considerar el efecto de mezcla sobre la nanopartícula.

Un aditivo interesante es el látex de sangre de drago (*Croton lechleri*), empleado para fines curativos. Tradicionalmente se aplica sobre la piel para mejorar las inflamaciones provocadas por las picaduras de insectos, quemaduras y heridas. Se usa, además, para ayudar a cicatrizar las úlceras. Los principios activos del látex incluyen a la taspina y alcaloides antitumorales como: piridonas, indoles,

quinoleínas, tropanos, ácidos grasos insaturados, compuestos fenólicos, antraquinonas y triterpenos (Torres, 2013).

Aprovechando el poder bactericida de la plata a nanoescala y las propiedades fitoquímicas y etnofarmacológicas de los extractos vegetales, en el presente estudio se sintetizaron nanopartículas de plata con extracto de cilantro (*Coriandrum sativum*) representadas como AgNPs-Cil a las que se adicionó el látex de la sangre de drago (*Croton lechleri*) AgNPs-Ci-SD, por sus potenciales aplicaciones biomédicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestras

Las muestras de cilantro fueron adquiridas en un supermercado de la ciudad de Quito, Ecuador. Se tomaron cinco paquetes de la planta por muestreo aleatorio simple. El látex de sangre de drago fue proporcionado por la comunidad Kichwa de Cotococha en la provincia de Pastaza, Ecuador. La identificación taxonómica de las plantas se realizó en el Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Bio-

lógicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Obtención del extracto de cilantro (Cil)

Las hojas de cilantro se lavaron con agua destilada para eliminar partículas de polvo o cualquier elemento contaminante, se secaron a temperatura ambiente y se molieron en un mortero para reducir el tamaño de partícula. Posteriormente, se hirvieron 5 g de la muestra en un matraz

Erlenmeyer con 100 mL de agua destilada por un tiempo de 5 minutos y agitación magnética a 300 rpm. Se filtró en un sistema de vacío, se dejó reposar a temperatura ambiente (Sathyavathi *et al.*, 2010).

Preparación del látex de sangre de drago usada como aditivo (SD)

El látex de sangre se secó en una estufa a una temperatura de 25 °C. Se pesaron 3 g de látex seco y se mezclaron con 30 mL de etanol-agua (1:1). La muestra se agitó a 300 rpm a 25 °C, hasta su homogeneidad, se filtró y se refrigeró para uso posterior (Hasan *et al.*, 2015).

Síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs-Cil)

Se calentaron 10 mL de la solución de AgNO₃ (10 mM) a 60 °C, y se agregaron 2,2 mL de extracto de cilantro a una velocidad aproximada de una gota por segundo y agitación constante de 300 rpm (Sathyavathi *et al.*, 2010). Se observó el cambio del color de la solución a amarillo-anaranjado. Inmediatamente, la solución se trasvasó a frascos ámbar y se enfrió a temperatura ambiente. La disolución coloidal se mantuvo en refrigeración para posteriores análisis.

Mezcla AgNPs-Cil y SD

Se tomaron 10 mL de la disolución de AgNPs y se adicionaron lentamente 10 mL del extracto del látex de sangre de drago. La mezcla se calentó a 25 °C y se mantuvo con agitación constante de 300 rpm durante 30 minutos. Posteriormente, se agitó en vórtex 30 minutos para asegurar la mezcla homogénea.

Caracterización de las nanopartículas de plata

Para obtener los espectros UV-Vis de las muestras de nanopartículas, se empleó un espectrómetro de doble haz Cary 60 de marca Agilent Technologies. Los espectros FT-IR se obtuvieron en un espectrómetro Perkin Elmer Spectrum BX FT-IR con complemento ATR. Las imágenes SEM y el análisis elemental EDX se adquirieron de un Microscopio de Barrido Electrónico Phenom 1255. La cuantificación de plata se realizó en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer modelo AA-analyst 400 equipado con una lámpara de cátodo hueco de plata. Para la determinación del tamaño hidrodinámico de las muestras de nanopartículas se empleó un equipo 90Plus Particle Size Analyzer.

RESULTADOS

La Figura 1. (a) muestra la disolución coloidal de nanopartículas de plata sintetizadas con el extracto de cilantro. En el apartado 1. (b) se aprecia la mezcla de las nanopartículas de plata junto con el látex de sangre de drago.

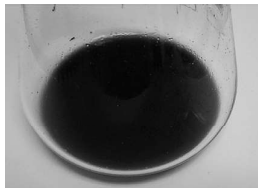


Figura 1. (a) Disolución coloidal AgNPs-Ci
(b) AgNps-Ci-SD

Caracterización de AgNPs Espectroscopia UV-Vis

En la Figura 2, se presentan los espectros UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de cilantro (b) con el látex de sangre de drago (d) y los extractos de cilantro y sangre de drago (a y c). El máximo de

absorción de AgNPs-Cil es 422 nm y para AgNPs-Cil-SD es 439 nm.

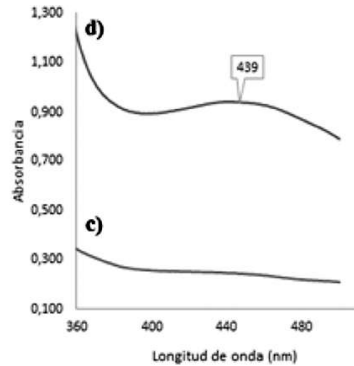
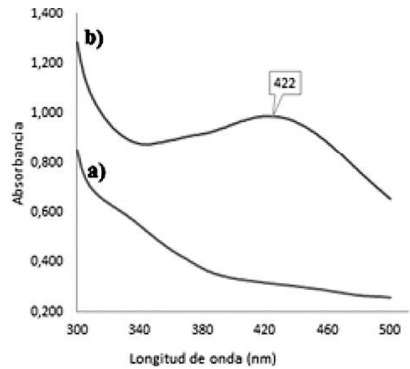


Figura 2. Espectro UV-Vis: a) Extracto de Cil,
b) AgNPs-Cil, c) SD y d) AgNPs-Cil-SD

Espectroscopia de Infrarrojos (FT-IR)

Los espectros FT-IR del extracto de Cil, AgNPs-Cil, AgNPs-Cil-SD y SD, se muestran en la Figura 3.

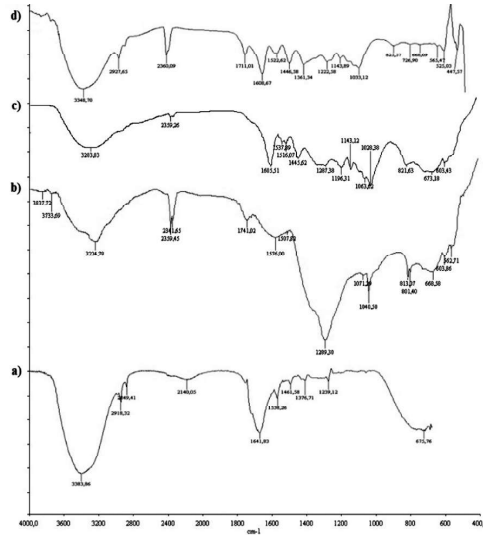


Figura 3. Espectros FT-IR: a) Extracto de Cil, b) AgNPs-Cil, c) AgNPs-Cil-SD y d) SD (Transmitancia 100%)

Microscopía electrónica de Barrido (SEM)

En la Figura 4, se aprecian las imágenes SEM de las AgNPs-Cil. Las nano-

partículas presentan forma esférica sin evidencia de agregación y su tamaño promedio es de 50 nm.

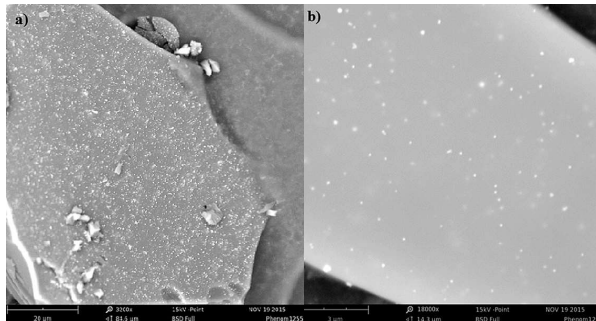


Figura 4. Imágenes SEM de AgNPs-Cil a) 3200 X b) 18000 X

En la Figura 5, se indican las imágenes SEM de las AgNPs-Cil-SD. Las nanopartículas presentan forma esférica, sin tendencia a formar agregados. El tamaño promedio de las nanopartículas es de 72 nm.

rica, sin tendencia a formar agregados. El tamaño promedio de las nanopartículas es de 72 nm.

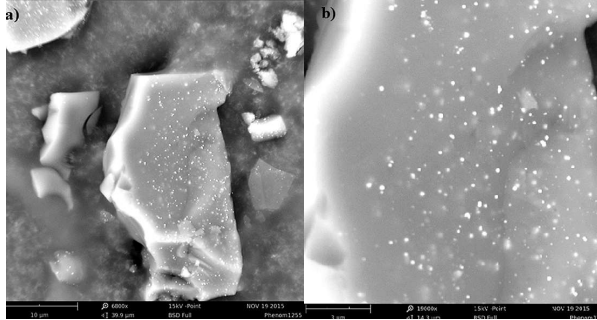


Figura 5. Imágenes SEM de AgNPs-Cil-SD a) 6800 X b) 19000 X

Análisis elemental (EDX)

En la Figura 6a se muestra el espectro EDX de las AgNPs-Cil y en 6b el espectro EDX correspondiente a AgNPs-Cil-SD. Respecto al análisis elemental, en AgNPs-Cil el porcen-

taje de Ag es del 14,9 %, de C 49,1 % y en AgNPs-Cil-SD el contenido de Ag es de 0,6 % y de C 80,1 %, lo cual sugiere el recubrimiento con SD a las AgNPs-Cil.

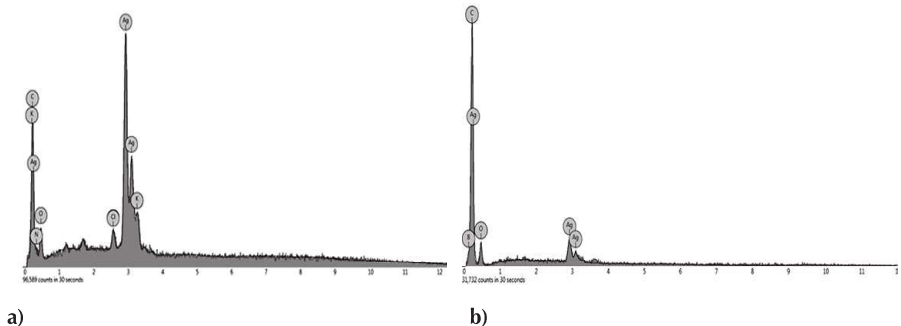


Figura 6. Espectro EDX de a) AgNPs-Cil y b) AgNPs-Cil-SD

Espectroscopia de Absorción Atómica de Llama (FAAS)

Para verificar que el contenido de plata no varía en la etapa de síntesis y de adición del látex, se analizó el elemento por FAAS. En la etapa de síntesis el contenido de Ag fue de 415,27 ppm y luego de la adición de SD fue de 414,63 ppm.

Dispersión de luz dinámica (DLS)

En la Figura 7, se presentan los histogramas de distribución del tamaño hidrodinámico para a) AgNPs-Cil correspondientes a 259,0 nm y b) AgNPs-Cil-SD de 294,3 nm.

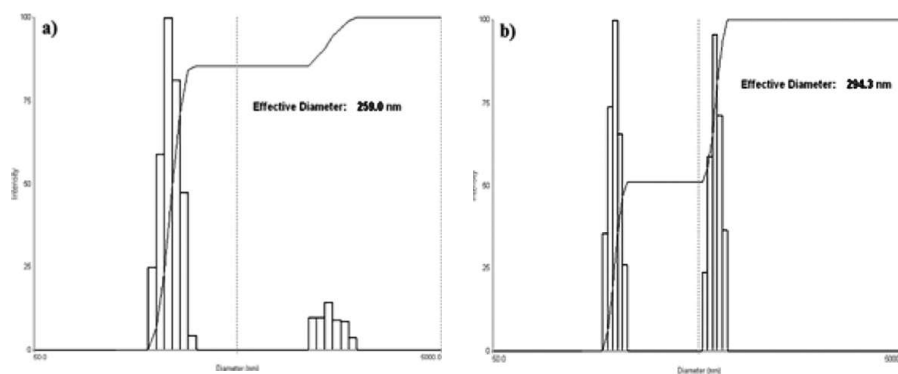


Figura 7. Histograma de distribución del tamaño hidrodinámico de: a) AgNPs-Cil, b) AgNPs-Cil-SD

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El desplazamiento del pico de absorción máxima en UV-Vis, la modificación de los espectros obtenidos por FT-IR, el aumento de tamaño de NPs medidas por SEM, DLS y la cuantificación por FAAS, son señales evidentes del recubrimiento que tienen

lugar en las AgNPs-Cil por mezcla con SD.

Por espectroscopia UV-Vis es posible predecir el tamaño de nanopartículas obtenido, según los rangos de tamaños reportados por Pradeep, T.

(2012). Para las AgNPs-Cil con un máximo de absorción a 422 nm, el tamaño aproximado de nanopartícula se encuentra entre 35-50 nm. Para las AgNPs-Cil-SD, el tamaño se estima entre 60-80 nm. La presencia de un pico aproximadamente a los 420 nm comprueba la formación de las nanopartículas por la resonancia de su plasmón superficial (Sathyavathi et al., 2010). A medida que el tamaño de nanopartículas aumenta, el pico de absorción tiende a ubicarse a longitudes de onda mayores por lo que, mediante la posición y la forma del pico es posible predecir el tamaño y polidispersidad de las partículas. Al comparar los espectro UV-Vis de los extracto de cilantro y sangre de drago, se verifica que no absorben a la longitud de onda específica para AgNPs. Resultados similares se presentan en el trabajo realizado por Camacho & Deschamps (2013).

En los espectros infrarrojos FT-IR, se pueden apreciar las bandas características de los principales grupos funcionales del extracto de cilantro. En torno a los 3383,86 cm^{-1} se observa una banda ancha y de gran intensidad la cual corresponde a la tensión

de los grupos -OH, dos bandas pequeñas a los 2918,32 y 2849,41 cm^{-1} representan tensiones del enlace C-H. Aproximadamente a 1641,83 cm^{-1} se muestra una banda de mediana intensidad, la cual pertenece al enlace de tensión entre N-H correspondiente a amidas primarias, cuya deformación y ancho de banda se genera del estiramiento del grupo carbonilo en los aminoácidos. Para los 1239,12 cm^{-1} se observa un pico de baja intensidad, el cual puede ser representativo del enlace C-O de ácidos carboxílicos. En su mayoría los picos coinciden con los espectros experimentales citados en la literatura (Sathyavathi et al., 2010; Camacho & Deschamps, 2013). Los espectros FT-IR de AgNPs-Cil-SD y SD presentan gran similitud entre ellos. Entre las bandas que más destacan se presenta la correspondiente a la tensión de los grupos -OH a 3348,70 cm^{-1} y del grupo carbonilo C=O a 1608,67 cm^{-1} . En el espectro de SD se aprecia un ligero desplazamiento hacia números de onda mayores y disminución en la intensidad. Además, se aprecia un pico a 1222,58 cm^{-1} , correspondiente al enlace C-O de ácidos carboxílicos y a 1033,12 cm^{-1} del enlace C-N de amina. De manera

general, se puede mencionar que en la zona de 1600 cm^{-1} hasta los 400 cm^{-1} , las bandas se presentan con intensidad menor respecto a AgNPs-Cil-SD. Esto se presume que sucede por la interacción entre las nanopartículas de plata formadas y los diferentes grupos funcionales presentes en el cilantro y la sangre de drago.

Las imágenes SEM muestran que las nanopartículas de AgNPs-Cil poseen forma esférica y moderada polidispersidad sin tendencia a formar agregados. El tamaño promedio de las nanopartículas es de 50 nm, el mismo que se encuentra dentro del rango estimado por espectroscopia UV-Vis (35 y 50 nm). Las AgNPs-Cil-SD conservan su forma esférica pero con un tamaño de partícula mayor y como consecuencia de ello, un aumento en la polidispersidad. El tamaño promedio de las nanopartículas es de 72 nm, valor que se encuentra dentro del rango de (60-80 nm), estimado por espectroscopia UV-Vis.

Por DLS, se confirma el aumento del recubrimiento, con un tamaño hidrodinámico de 259 nm en AgNPs-Cil a 294 nm en AgNPs-Cil-SD.

En los espectros EDX se aprecian porcentajes de carbono y oxígeno en mayor proporción que la plata cuyo valor corresponde al 14,9 % en AgNPs-Cil y 0,6 % en AgNPs-Cil-SD. La presencia de varios elementos, indica la diversa composición química de los extractos de cilantro y sangre de drago. La diferencia considerable de plata sugiere el recubrimiento de SD sobre las nanopartículas de AgNPs-Cil.

El análisis del contenido de plata en las dos etapas por FAAS, demuestra que la cantidad del elemento, es alrededor de los 415 ppm. Es decir, no se evidencia pérdida alguna de la cantidad de plata presente, debido al proceso de recubrimiento de las nanopartículas.

CONCLUSIONES

Se sintetizaron nanopartículas de plata con extracto acuoso de cilantro al 5 %. Las nanopartículas presenta-

ron un tamaño promedio de 50 nm. A las nanopartículas preparadas, se añadió látex de sangre de drago al

10 % en una proporción 1:1. El nuevo tamaño de nanopartícula fue de 72 nm. Se confirmó por espectroscopia UV-Vis que la adición del látex no altera las propiedades ópticas de las nanopartículas de plata, se sugiere un aumento en el tamaño de nanopartícula, al presentar un máximo de absorción a 422 y 439 nm en cada etapa. El recubrimiento efectivo se analizó por espectroscopia de infrarrojos FT-IR, al comparar los espectros de los extractos en relación con las nanopartículas sintetizadas con el

extracto de cilantro y con el látex como aditivo. Por DLS se midió el tamaño hidrodinámico del recubrimiento orgánico con y sin látex de sangre de drago. El contenido de plata de las nanopartículas sintetizadas y del aditivo se mantuvo constante alrededor de 415 ppm.

Se concluye que se obtuvieron nanopartículas de plata recubiertas con extracto de cilantro y sangre de drago de 72 nm y un tamaño hidrodinámico final de 249,3 nm.

RECOMENDACIONES

Se recomienda complementar el estudio con otras técnicas instrumentales de caracterización que por razones de disponibilidad no se emplearon: Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) y la Microscopia de Fuerza Atómica (AFM). Se aconseja ensayar diferentes proporciones de la mezcla de los extractos, concentración de

AgNO_3 , pH, temperatura y tiempo de reacción con la finalidad de optimizar el proceso de síntesis.

Se plantea ampliar el estudio y ensayar la actividad bactericida que pueden presentar las nanopartículas de plata preparadas AgNps-Cil versus AgNPs-Cil-SD.

Agradecimiento

Este estudio fue realizado con financiamiento del proyecto PUCE N13438-2016. Agradecemos al Laboratorio de Nuevos Materiales de la EPN y a la empresa Nanoinstrumentos.

LITERATURA CITADA

- Aguilar, M. (2009). Síntesis y caracterización de nanopartículas de Plata: Efecto sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. Tesis Doctoral, Instituto Politécnico Nacional, México.
- Camacho, J., y Deschamps, L. (2013). Síntesis de nanopartículas de plata y modificación con pulpa de papel para la aplicación antimicrobial. Tesis de pregrado, Universidad de Cartagena, Colombia.
- Haider, A., y Kang, I. (2015). Preparation of Silver Nanoparticles and Their Industrial and Biomedical Applications: A Comprehensive Review, *Advances in Materials Science and Engineering*, 1-17.
- Hasan, M., Iqbal, J., Awan, U., Saeed, Y., Ranran, Y., Liang, Y., Dai, R., y Deng, Y. (2015). Mechanistic Study of Silver Nanoparticle's Synthesis by Dragon's Blood Resin Ethanol Extract and Antiradiation Activity, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 15, 1320-1326.
- Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas, *An. Quím*, 105, 33-41.
- Pradeep, T. (2012). *A Textbook of Nanoscience and Nanotechnology*, 1ra edición, McGraw Hill, Nueva Deli, India.
- Rai, M., Yadav, A., y Gade, A. (2008). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, *Biotechnology Advances*, 27, 76-83.
- Salazar, G. (2008). El Cilantro (*Coriandrum sativum*) como planta medicinal emergente. *Infármate*. 3, 17.
- Sathyavathi, R., Balamurali Krishna¹, M., Venugopal S., Saritha, R. y Narayana, D. (2010). Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Coriandrum Sativum* Leaf Extract and Their Application in Nonlinear Optics, *Advanced Science Letters*, 3, 1-6.
- Sharma, V., Yngard, R., y Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities, *Advances in Colloid and Interface Science*, 145, 83-96.

Torres, G. (2013). El aprovechamiento de la sangre de drago. Manual de buenas prácticas de recolección del látex, Fundación Chankuap, Gráficas Iberia, Ecuador.

Vijay-Kumar, P., S.V.N. Pammi, Pratap, K., Satyanarayana, K., y Shameem, U. (2014). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Boerhaavia difusa plant extract and their antibacterial activity, Industrial Crops and Products, 52, 562-566.