



Síntesis y estimación del tamaño por espectroscopía uv/visible de nanopartículas de plata (NPsAg) empleando quercetina como agente reductor

Franklin Pacheco-Coello ¹.

Marialis Montero ².

Gabriela Ojeda ³.

¹Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Sede Aragua, Escuela de Bioanálisis, Departamento de Ciencias Básicas, Laboratorio de Metales Pesados y Solventes Orgánicos, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Dr. Francisco J. Triana Alonso

²Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Sede Aragua, Escuela de Bioanálisis

³Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Sede Aragua, Escuela de Bioanálisis

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

RESUMEN

La grandes potencialidades biológicas de las nanopartículas de plata (NPsAg), ha originado la búsqueda de nuevas y más económicas alternativas para su síntesis. En el presente estudio se planteó como objetivo obtener o sintetizar NPsAg empleando quercetina (QCT) como agente reductor. Para la síntesis se prepararon cuatro soluciones de QCT (2, 4, 8 y 16 $\mu\text{g/mL}$), mezclándolas con una solución de nitrato de plata 3,5 M en proporción 1:1 a pH de 6,8 y calentada a 90°C por 15 min. Luego se procedió a centrifugar para la obtención de las NPsAg. Empleando un espectrofotómetro UV/Vis se procedió a realizar un barrido espectral (410-450 nm), para la estimación del tamaño de la NPs formada. El barrido espectral arrojo que a mayor concentración de QCT, se obtuvo una mayor absorbancia a 426 nm (pico de máxima absorción), indicando que el tamaño de las NPsAg estuvo en un rango de 38-40 nm. Considerando los resultados obtenidos podemos concluir que la quercetina es una excelente alternativa para la síntesis de NPsAg. Si bien los resultados por UV/Vis son una buena técnica para estimar el tamaño del producto obtenido, se requieren de otras técnicas que permitan visualizar distribución del tamaño la morfología de las NPsAg.

PALABRAS CLAVE: nitrato de plata, agente reductor, caracterización, flavonoides

SYNTHESIS AND SIZE ESTIMATION BY UV/VISIBLE SPECTROSCOPY OF SILVER NANOPARTICLES (NPsAg) USING QUERCETIN AS A REDUCING AGENT

SUMMARY

The great biological potential of silver nanoparticles (NPsAg) has led to the search for new and more economical alternatives for their synthesis. In the present study, the objective was to obtain or synthesize NPsAg using quercetin (QCT) as a reducing agent. For the synthesis, four solutions of QCT (2, 4, 8 and 16 $\mu\text{g/mL}$) were prepared by mixing them with a 3.5 M silver nitrate solution in a 1:1 ratio at pH 6.8 and heated at 90°C for 15 min. Then they were centrifuged to obtain the NPsAg. Using a UV/Vis spectrophotometer, a spectral scan (410-450 nm) was performed to estimate the size of the NPs formed. The spectral scan showed that the higher the concentration of QCT, the higher the absorbance at 426 nm (maximum absorption peak), indicating that the size of the AgNPs was in the range of 38-40 nm. Considering the results obtained, we can conclude that quercetin is an excellent alternative for the synthesis of NPsAg. Although UV/Vis results are a good technique to estimate the size of the obtained product, other techniques are required to visualize the size distribution and morphology of the NPsAg.

INTRODUCCIÓN

La bionanotecnología constituye el presente y el futuro de buena parte de los avances en biomedicina, lo que ha motivado la búsqueda y desarrollo de nano materiales que exhiban propiedades adecuadas para ciertas aplicaciones. La síntesis de nanopartículas de plata (NPsAg) puede obtenerse a partir de métodos químicos, físicos, sin embargo, en la actualidad

los métodos biológicos han tomado un auge muy importante debido a su bajo impacto ambiental (Zhang, et al., 2008; Gómez, 2020).

Dentro de los métodos biológicos está el uso de extracto de plantas con alto contenido en biomoléculas con actividad reductora, siendo una de ellas la quercetina, la cual es un flavonoide abundantemente y presente en cebollas, bayas, manzanas, uvas rojas, brócoli y cerezas, así como en el té y el vino tinto (Morones et al., 2005; De la calle, et al., 2016; Yadavalli & Shukla, 2017).

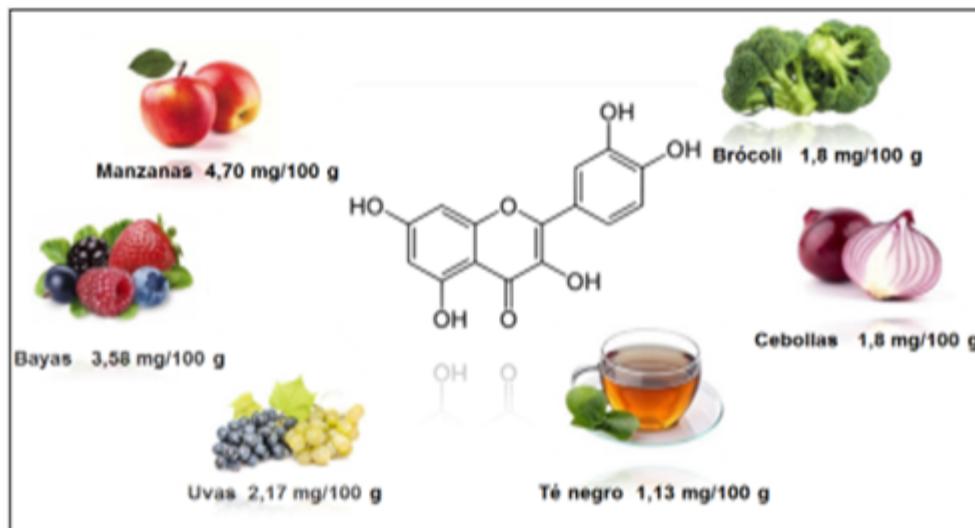


Figura 1. Estructura y diversidad de alimentos con alto contenido de quercetina

Fuente: Elaboración propia

El interés biomédico de las AgNPs, está principalmente por su actividad antimicrobiana exhibiendo. En este sentido se ha evidencia que las AgNPs poseen efecto antibacteriano sobre cepas como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* causantes de más 240.00 infecciones anuales sol en los Estados Unidos (Shaikh, et al., 2019). Además de su aplicación como potente antibacteriano, las AgNPs ese emplean también uso en diversos campos como en diagnóstico in vitro de enfermedades trasmittidas por virus como el VIH, virus de la hepatitis B (VHB), virus respiratorio sincitial recombinante (VSR), virus de la viruela del mono, el norovirus murino (MNV) -1 y el virus A / H1N1 de la gripe, antiparasitaria, terapéutica específicamente como transportador de fármacos con fines oncológicos y moléculas con potencial antioxidante (Anuj, et al., 2019)

La síntesis de NPsAg empleado productos naturales se realiza en tres etapas: activación, crecimiento y terminación. Durante la activación, se producirá la reducción de iones metálicos, y esto conduce a la formación de nuevas estructuras mediante autoorganización (nucleación) reducción de átomos metálicos. La segunda etapa implica el crecimiento de la estructura recién formada y una mayor reducción de los iones metálicos con un aumento de la

estabilidad termodinámica de las NPsAg formadas (Thakur, et al. 2018; Jonapá-Hernández, et al., 2020).

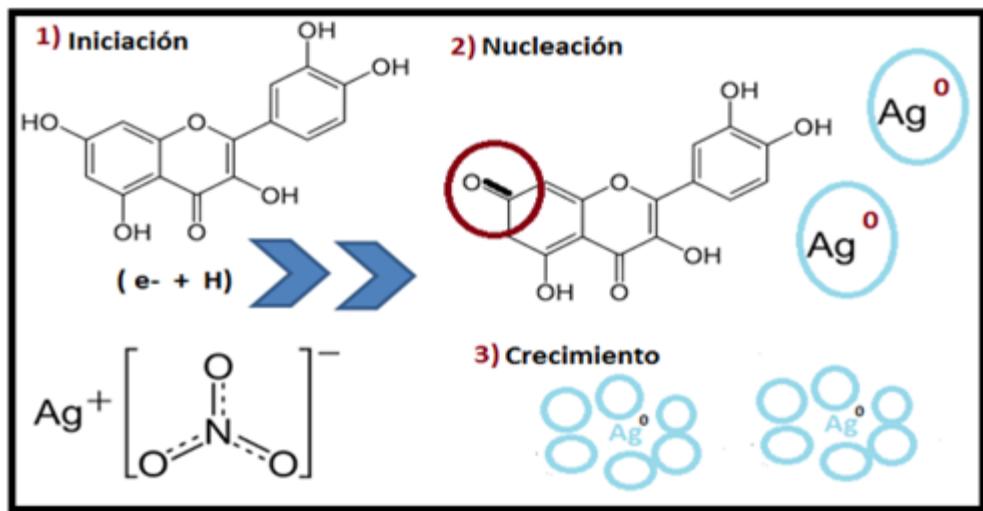


Figura 2.Síntesis de nanopartículas de plata (NPsAg) empleando quercetina
Fuente:Elaboración propia.

Considerando entonces que en general las NPs exhiben actividad antibacterianas, antivirales, antifúngicas, propiedades anticancerígenas y catalíticas, una elevada relación superficie-volumen, ductilidad, dureza, flexibilidad y rigidez y lo factible de esta vía de síntesis(Melchior, et al., 2006 ; Malachowa, & DeLeo, 2010; Malachowa, & DeLeo, 2011; Meza-Chavarría, 2012; Khan,et al., 2019; Crisan, et al., 2022), el presente trabajo tuvo como objetivo sintetizar y estimar el tamaño de NPsAg empleando un agente reductor como la quercetina

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las soluciones de quercetina (QCT)

Se emplearon 4 soluciones de quercetina a concentraciones de 2, 4, 8 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$, preparadas a partir de una solución madre a una concentración de 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$, preparada pesando en una balanza analítica 3.2×10^{-2} mg de QCT y diluyendo con 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) en un micro-vial de 1,5 mL. Estas se mantuvieron bajo sombra a 25 $^{\circ}\text{C}$.

Preparación de la solución de nitrato de plata (AgNO₃)

Se empleó una solución 3,5 mM de AgNO₃, la cual fue preparada disolviendo 6 mg de la sal en 10 ml de agua bidestilada.

Optimización y síntesis de las nanopartículas de plata (NPsAg)

Para la síntesis de las NPsAg se mezclaron en una beaker, 10 ml de cada una de las soluciones de quercetina con 10 ml de la solución de AgNO₃. Empleado una plancha de calentamiento se procedió a calentar por 15 min la solución a una temperatura de 90 °C, estabilizando el pH de la solución a 6,8 con hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 M. Posteriormente se transfirió a tubos de ensayos polipropileno para de 50ml y centrifugado a 5rpm por 8 minutos, retirando luego el sobrenadante y obteniendo así las NPsAg en el fondo del tubo (Pacheco, 2021).

Análisis espectrofotométrico por UV-VIS de las NPsAg

La formación de nanopartículas se analizó mediante espectrofotometría UV-Vis (Thermo Scientific™ GENESYS™ 20, USA). Se realizó un barrido espectral de cada síntesis, en un rango de longitudes de onda de 410 a 450 nm, estimando el tamaño de las nanopartículas de (2 a 40 nm). Para el análisis de las nanopartículas, se re suspendieron con agua bidestilada hasta un volumen final de 4 mL. Se colocó 1 mL de la dilución anterior en una celda con 1 cm de recorrido óptico y se realizó el barrido espectral (Kannan, et al., 2013; Rodríguez-León, et al., 2013).

Análisis estadístico

Los ensayos se realizaron por triplicados expresando los valores obtenidos como media ± desviación estándar empleando el programa estadístico Statistic 9.0 para Windows.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El método más reportado de síntesis de NPsAg es a partir de la reducción química de una sal en presencia de un catalizador, el cual se basa en la reducción de los iones metálicos por la inducción de un catalizador en un medio líquido (Pattanayak, Lee, Y y Cols 2008). En general la química verde, está basada en el uso de metabolitos, extractos vegetales, células, tejidos, semillas o estructuras para reproducción vegetativa, órganos y organismos completos para la síntesis de NPs (Pradeep, & T. Anshup, 2009; Morales-Díaz, 2016). Como se observa en los resultados el tamaño estimado de las NPsAg halladas en el estudio estuvo alrededor de los 38 a 40 nm, lo que coincide por lo reportado por Wiley, et al., (2010) y Dubey, et al., (2020), los cuales reportaron picos de máxima absorción entre 422y 426 nm.

Por otra parte, Khodadad, et al. (2021), hallaron que las nanopartículas de plata obtenidas con un tiempo de reacción de 3 minutos presentaron un tamaño medio de 12 nanómetros y una forma casi forma esférica, concluyendo que en general, el extracto acuoso de *Vaccinium arctostaphylos* tiene un buen potencial para producir NPsAg con alto potencial biológico. Así mismo Ranjbar, et al. (2020), optimizaron su síntesis de NPsAg con un extracto acuoso de *Allium paradoxum* empleando una

concentración de nitrato de plata de 5mM y un tiempo de reacción de 30 min.

Si bien existen técnicas más avanzadas para cateterización de NPsAg espectroscopia UV-Vis es una herramienta muy poderosa para monitorizar la síntesis de las NPsAg ya que las nanopartículas metálicas poseen una propiedad conocida como resonancia de plasmón superficial que se debe principalmente a la oscilación de los electrones libres presentes en la superficie de las nanopartículas metálicas cuando son excitadas por cualquier fuente de energía externa.

Por lo mencionado es evidente que la síntesis de NPsAg a partir de biomoleculas aisladas, partes de plantas y sus extractos, constituye una tecnología sencilla y relativamente barata con respecto a otras empleadas para estos fines, a la vez que posibilita obtener en poco tiempo, cantidades considerables de partículas (Wu SH, & Chen DH; 2003; Palhares, 2015). Por último, es fundamental resaltar que la intención de sintetizar NPsAg por vías más económicas y sencillas está en función de sus múltiples usos en los diversos campos de la química, física y biomedicina.

Conclusiones

Existe una enorme necesidad de diseñar nuevas alternativas terapéuticas contra las enfermedades producidas por microorganismos y el cáncer. En este sentido las nanopartículas de plata (NPsAg), son una de esas interesantes alternativas, las cuales pueden ser sintetizadas empleando métodos biológicos, en especial el uso de extractos con alto contenido de biomoléculas activas. El uso de quercetina para sintetizar NPsAg resulta ser factible y económico, lo que da paso a evaluar su actividad biológica empleando este flavonoide como agente reductor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anuj, S. A., Gajera, H. P., Hirpara, D. G. & Golakiya, B. A. (2019). "Bacterial membrane destabilization with cationic particles of nano-silver to combat efflux-mediated antibiotic resistance in gram-negative bacteria," *Life Sciences*, 230, 178-187.
2. Crisan, M.C., Teodora, M., & Lucian, M. (2022). *Copper Nanoparticles: Synthesis and Characterization, Physiology, Toxicity and Antimicrobial Applications*. *Applied Sciences*. 12, 141-156.
3. De la Calle, I., Menta, M. & Séby, F. (2016). Current trends and challenges in sample preparation for metallic nanoparticles analysis in daily products and environmental samples: A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 125, 66-96. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2016.09.007>
4. Dubey, S.P., Lahtinen, M., & Sillanpää, M. (2020). Green synthesis and characterizations of silver and gold nanoparticles using leaf extract of rosa rugosa, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 364(1-3), 34-41. <https://doi.org/10.1016/j>
5. Gómez-Villarraga, F., Radnik, J., Martin, A. & Köckritz, A. (2016). Synergistic effect in the

- oxidation of benzyl alcohol using citrate-stabilized gold bimetallic nanoparticles supported on alumina. *Journal of Nanoparticle Research*, 18(6). <https://doi.org/10.1007/s11051-0163453-7>
6. Khan, I., Saeed, K. & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908-931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
 7. Khodadadi, S., Mahdinezhad, N., Fazeli-Nasab, B., Heidari, MJ., Fakheri, B. & Miri. (2021). A. Investigating the Possibility of Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Vaccinium arctostaphylos Extract and Evaluating Its Antibacterial Properties. *BioMed Research International*, 1(1), 1-13. <https://doi.org/10.1155/2021/5572252>.
 8. Malachowa, N., & DeLeo, F. R. (2010). Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 67(18), 3057-3071. <https://doi.org/10.1007/s00018-010-0389-4>
 9. Malachowa, N. & DeLeo, F. R. (2011). *Staphylococcus aureus* survival in human blood. *Virulence*, 2(6), 567-569. <https://doi.org/10.4161/viru.2.6.17732>
 10. Melchior, M., Vaarkamp, H. & Fink-Gremmels, J. (2006, mayo). Biofilms: A role in recurrent mastitis infections? *The Veterinary Journal*, 171(3), 398-407. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.01.006>
 11. Meza-Chavarría, P. (2012). Guía: flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) e (*Hibiscus caudatus* Bertol). Asociación para el Desarrollo Eco-Sostenible (ADEES). Chinandega, Nicaragua.
 12. Morales-Díaz, América Berenice, Juárez-Maldonado, Antonio, Morelos-Moreno, Álvaro, González-Morales, Susana, & Benavides-Mendoza, Adalberto. (2016). Biofabricación de nanopartículas de metales usando células vegetales o extractos de plantas. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(5), 1211-1224. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.ox?id=263146723020> [
 13. Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T. & Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10), 2346-2353. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/16/10/059>
 14. Pacheco-Coello, F. (2021). Synthesis and size estimation of silver nanoparticles, by reduction with aqueous extracts of calyces leaves and seeds *hibiscus sabdariffa* linn: promotion of green synthesis. *Revista Boliviana de Química*, 38, (3), 126-131
 15. Palhares, R. M., Gonçalves Drummond, M., dos Santos Alves Figueiredo Brasil, B., Pereira Cosenza, G., das Graças Lins Brandão, M. & Oliveira, G. (2015). Medicinal Plants Recommended by the World Health Organization: DNA Barcode Identification Associated with Chemical Analyses Guarantees Their Quality. *PLOS ONE*, 10(5), e0127866. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127866>
 16. Pradeep, T. & Anshup. (2009, octubre). Noble metal nanoparticles for water purification: A critical review. *Thin Solid Films*, 517(24), 6441-6478. <https://doi.org/10.1016/>

17. Ranjbar, T., Sadeghian, F., Goli, H. R., Ahanjan M. & Ebrahimzadeh, A M. (2020). "Green synthesis of silver nanoparticles with Allium paradoxum extract and evaluation of their antibacterial activities," *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 29(182), 1-11.
18. Shaikh, S., Nazam, N., Rizvi, S.M.D., Khurshid, A., Hassan, B., Eun J.L. & Choi I. (2019). "Mechanistic insights into the antimicrobial actions of metallic nanoparticles and their implications for multidrug resistance," *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2468-2479.
19. Thakur, S., Sharma, S., Thakur, S., Rai R. (2018). Green synthesis of copper nanoparticles using *Asparagus adscendens roxb.* Root and leaf extract and their antimicrobial activities.. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(12), 683694.
20. Wiley, B.J., Im, S.H., Li, Z.Y., McLellan, J., & Xia, Y. (2016). Maneuvering the surface plasmon resonance of silver nanostructures through shape-controlled synthesis, *The Journal of Physical Chemistry*, 110(32), 15666-15675. <https://doi.org/10.1021/jp0608628>
21. Wu, S. H. & Chen, D. H. (2003). Synthesis and characterization of nickel nanoparticles by hydrazine reduction in ethylene glycol. *Journal of Colloid and Interface Science*, 259(2), 282-286. [https://doi.org/10.1016/s0021-9797\(02\)00135-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9797(02)00135-2)
22. Yadavalli, T. & Shukla, D. (2017). Role of metal and metal oxide nanoparticles as diagnostic and therapeutic tools for highly prevalent viral infections. *Nanomedicine:Nanotechnology, Biology and Medicine*, 13(1), 219-230. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.08.016>
23. Zhang, X., Wang, G., Liu, X., Wu, J., Li, M., Gu, J., Liu, H. & Fang, B. (2008). Different CuO Nanostructures: Synthesis, Characterization, and Applications for Glucose Sensors. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(43), 16845-16849. <https://doi.org/10.1021/jp806985k>