



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS**

Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata usando como reductor químico el extracto acuoso de las hojas de sensitiva (*Mimosa albida*)

Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica

**DENNIS IVONNE AMAGUAÑA PACHECO**

Quito, 2018

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica, de la Srta. Dennis Ivonne Amaguaña Pacheco ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Mtr. María Fernanda Pilaquina  
Directora de la Disertación  
Quito, 26 de junio de 2018

*A la niña de mis ojos, el gran amor de mi vida e inspiración, mi hija Mara Cristel*

*Hernández Amaguaña.*

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por el don de saber y ser.

A mi familia, en especial a mis padres Washington Amaguaña e Isabel Pacheco, por todo el amor, comprensión, tiempo y confianza depositados en mí, por su apoyo incondicional inclusive cuando las cosas se pusieron difíciles y nuestros planes cambiaron repentinamente, hoy su esfuerzo diario se refleja en una gran profesional llena de principios y valores. ¡Lo logramos!

A mi complemento, compañero de risas y enojos, mi amor más grande mi amado esposo Marlon Hernández.

A mis hermanos, Karla y David por no dejar de creer en mí.

A todos mis maestros por impartirme sus conocimientos, y lograr contagiarme de la pasión por la química.

Especialmente un agradecimiento profundo a mi directora de tesis, María Fernanda Pilaquinga por la oportunidad de compartirme e infundirme sus conocimientos en el campo de la Nanotecnología, por su apoyo, paciencia y destreza profesional en este arduo trabajo.

Al Dr. Alexis Debut y al Dr. Carlos Arroyo del CENCINAT de la ESPE, por realizar el análisis TEM y por su ayuda con la Teoría de Mie respectivamente.

A mis amigas Andrea Coello, Domenique Aldaz y Nicol Maleza, por los momentos compartidos llenos de risas, peleas, llantos y emociones, por cada palabra de aliento y apoyo incondicional, sin duda mis hermanas de corazón.

Y como no mencionarlos a mis amigos Nicolay y David, por su paciencia y buenos momentos, por su cuidado haciendo muchas veces la labor de hermanos mayores, por sus consejos y el gran cariño que me han brindado, pero sobre todo por ser como nosotras y comprender que ser mujer suele ser más complicado de lo que piensan los quiero chicos.

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>2</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>6</b>
<b>1. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>6</b>
1.1 HISTORIA DE LA NANOCIENCIA.....	6
1.2 NANOTECNOLOGÍA.....	6
1.3 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS.....	7
1.4 NANOPARTÍCULAS DE PLATA .....	8
1.4.1 APLICACIONES .....	9
1.4.2 TOXICIDAD DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA.....	10
1.4.3 MÉTODOS DE SÍNTESIS .....	11
1.5 SENSITIVA .....	13
1.6 TAMIZAJE FITOQUÍMICO .....	15
1.7 POLIFENOLES .....	17
1.7.1 TANINOS .....	17
1.8 MÉTODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES.....	18
1.9 CARBOHIDRATOS .....	19
1.10 MÉTODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES.....	20
1.11 MECANISMO DE FORMACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA A PARTIR DE EXTRACTOS VEGETALES.....	21
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>23</b>
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>23</b>
2.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO .....	23
2.2 OPTIMIZACIÓN DE LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA.....	23
2.3 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA OPTIMIZADA .....	24
2.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA.....	24
2.4.1 ESPECTROSCOPIA UV-Vis .....	25
2.4.1.1 INSTRUMENTACIÓN .....	28
2.4.1.2 PREPARACIÓN DE MUESTRA.....	29
2.4.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM) .....	29
2.4.2.1 INSTRUMENTACIÓN .....	31
2.4.2.2 PREPARACIÓN DE MUESTRA .....	31

2.4.3	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM-EDS).....	32
2.4.3.1	INSTRUMENTACIÓN .....	33
2.4.3.2	PREPARACIÓN DE MUESTRA.....	34
2.5	TAMIZAJE FITOQUÍMICO .....	34
2.5.1	ENSAYO DE CLORURO FÉRICO .....	34
2.5.2	ENSAYO DE SHINODA .....	35
2.5.3	ENSAYO DE FEHLING .....	35
2.6	ANÁLISIS CUANTITATIVO.....	36
2.6.1	POLIFENOLES .....	36
2.6.1.1	ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO GÁLICO Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS.....	36
2.6.2	AZÚCARES REDUCTORES.....	37
2.6.2.1	ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE GLUCOSA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS.....	37
<b>CAPÍTULO III .....</b>		<b>39</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>		<b>39</b>
3.1	PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE LA PLANTA SENSITIVA ( <i>Mimosa albida</i> ).....	39
3.2	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA .....	40
3.3	CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA.....	41
3.3.1	ESPECTROSCOPIA UV-VIS .....	41
3.3.1.1	CONTROL DE TEMPERATURA .....	41
3.3.1.2	CONTROL DE TIEMPO.....	42
3.3.1.3	CONTROL DE LA CONCENTRACIÓN DE NITRATO DE PLATA.....	44
3.3.1.4	CONTROL DE VOLUMEN DE EXTRACTO .....	45
3.3.1.5	CONTROL DE PH.....	46
3.3.1.6	ESTIMACIÓN DEL TAMAÑO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA.....	47
3.3.2	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMICIÓN (TEM).....	49
3.3.3	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO CON DETECTOR EDS..	51
3.4	TAMIZAJE FITOQUÍMICO .....	53
3.5	ANÁLISIS CUANTITATIVO DE POLIFENOLES .....	56
3.5.1	CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO GÁLICO .....	56
3.5.2	CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES A PARTIR DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO GÁLICO.....	58
3.6	ANÁLISIS CUANTITATIVO DE AZÚCARES REDUCTORES .....	59

3.6.1	CURVA DE CALIBRACIÓN DE GLUCOSA .....	59
3.6.2	CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES A PARTIR DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE GLUCOSA .....	60
	<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>62</b>
<b>4.</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>62</b>
4.1	CONCLUSIONES .....	62
4.2	RECOMENDACIONES .....	63
	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>64</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>71</b>

## LISTA DE TABLAS

<b>TABLA 1.1</b> Taxonomía de la planta sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> ) .....	13
<b>TABLA 1.2</b> Ensayos correspondientes al tamizaje fitoquímico para identificación de metabolitos secundarios.....	15
<b>TABLA 2.1</b> Parámetros para la optimización de la síntesis de nanopartículas de plata.....	24
<b>TABLA 2.2</b> Condiciones para preparación de muestras de extracto vegetal y solución de nanopartículas de plata .....	37
<b>TABLA 2.3</b> Condiciones para preparación de muestras de extracto vegetal y solución de nanopartículas de plata .....	38
<b>TABLA 3.1</b> Parámetros para establecer las condiciones óptimas de la elaboración de extracto vegetal de sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> ) .....	39
<b>TABLA 3.2</b> Parámetros óptimos para la síntesis de nanopartículas de plata .....	48
<b>TABLA 3.3</b> Valores de absorbancia y longitud de onda para las repeticiones de la síntesis .....	48
<b>TABLA 3.4</b> Tamaño de partícula según la posición del pico en base al espectro UV-Vis	48
<b>TABLA 3.5</b> Principales elementos identificados en las nanopartículas de plata.....	52
<b>TABLA 3.6</b> Pruebas correspondientes al Tamizaje fitoquímico .....	53
<b>TABLA 3.7</b> Datos de la curva de calibración de ácido gálico para cuantificación de polifenoles .....	57
<b>TABLA 3.8</b> Componentes de la curva de calibración para la cuantificación de polifenoles en el extracto de la planta sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> ) y en la solución coloidal de las nanopartículas de plata .....	58
<b>TABLA 3.9</b> Concentración de polifenoles en el extracto acuoso de la planta sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> ) y de la solución coloidal de nanopartículas de plata.....	58
<b>TABLA 3.10</b> Datos de la curva de calibración de glucosa para cuantificación de azúcares reductores.....	59
<b>TABLA 3.11</b> Componentes de la curva de calibración para la cuantificación de azúcares reductores en el extracto de la planta sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> ) y en las nanopartículas de plata .....	60
<b>TABLA 3.12</b> Concentración de azúcares reductores en el extracto acuoso de la planta sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> ) y de la solución coloidal de nanopartículas de plata.....	61

## TABLA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.1</b> Tamaño de nanopartícula en función de su forma.....	8
<b>FIGURA 1.2</b> Mecanismo de formación de nanopartículas de plata por el método de reducción química, a partir de una sal metálica.....	12
<b>FIGURA 1.3</b> Planta sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> ).....	14
<b>FIGURA 1.4</b> Estructura química de un polifenol (quercetina).....	17
<b>FIGURA 1.5</b> Estructura de tanino hidrolizable (ácido gálico) y estructura de tanino condensado (flavan-3-ol).....	18
<b>FIGURA 1.6</b> Mecanismo de acción del método de Folin Ciocalteu .....	19
<b>FIGURA 1.7</b> Estructura de la glucosa .....	20
<b>FIGURA 1.8</b> Mecanismo de formación de nanopartículas de plata con polifenol como agente reductor .....	22
<b>FIGURA 2.1</b> Esquema de espectrofotómetro de haz sencillo (A) y de doble haz (B) .....	26
<b>FIGURA 2.2</b> Resonancia de los plasmones superficiales .....	28
<b>FIGURA 2.3</b> Espectrofotómetro Uv-Vis, Carry 60.....	29
<b>FIGURA 2.4</b> Esquema de un microscopio TEM.....	31
<b>FIGURA 2.5</b> Esquema de un microscopio SEM .....	32
<b>FIGURA 3.1</b> Extracto acuoso de las hojas de la planta sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> ).....	40
<b>FIGURA 3.2</b> Solución coloidal con nanopartículas de plata.....	40
<b>FIGURA 3.3</b> Espectro UV-Vis del efecto de la temperatura sobre la síntesis de las nanopartículas de plata .....	41
<b>FIGURA 3.4</b> Espectro UV-Vis del efecto del tiempo sobre la síntesis de las nanopartículas de plata.....	43
<b>FIGURA 3.5</b> Espectro UV-Vis del efecto de la concentración de nitrato de plata sobre la síntesis de las nanopartículas de plata .....	44
<b>FIGURA 3.6</b> Espectro UV-Vis del efecto del volumen de extracto sobre la síntesis de las nanopartículas de plata .....	45
<b>FIGURA 3.7</b> Espectro UV-Vis del efecto del pH sobre la síntesis de las nanopartículas de plata .....	47
<b>FIGURA 3.8</b> Imagen TEM de las nanopartículas de plata sintetizadas .....	50
<b>FIGURA 3.9</b> Histograma de frecuencias para determinar el tamaño de las nanopartículas de plata sintetizadas.....	51

<b>FIGURA 3.10</b> Imagen SEM-EDS de la composición elemental de las nanopartículas de plata .....	52
<b>FIGURA 3.11</b> Ensayo de Cloruro Férrico. (a) Extracto de planta sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> ). (b) Solución coloidal de nanopartículas de plata.....	54
<b>FIGURA 3.12</b> Ensayo de Azúcares Reductores. (a) Extracto de planta sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> ). (b) Solución coloidal de nanopartículas de plata .....	55
<b>FIGURA 3.13</b> Ensayo de Shinoda. (a) Extracto de planta sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> ). (b) Solución coloidal de nanopartículas de plata .....	55
<b>FIGURA 3.14</b> Curva de calibración de ácido gálico para la cuantificación de polifenoles totales en el extracto de la planta sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> ) y en la solución coloidal de nanopartículas de plata .....	57
<b>FIGURA 3.15</b> Curva de calibración de glucosa para la cuantificación de azúcares reductores en el extracto de la planta sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> ) y en las nanopartículas de plata .....	60

## RESUMEN

En el presente estudio se sintetizaron nanopartículas de plata empleando nitrato de plata como precursor y extracto acuoso de las hojas de sensitiva (*Mimosa albida*) como agente reductor. En la optimización de la síntesis se controlaron varios parámetros: concentración de nitrato de plata, temperatura, volumen de extracto, tiempo y pH. Las condiciones óptimas se obtuvieron al emplear una solución de  $\text{AgNO}_3$  1.0 mM, a una temperatura de 60°C, con 2 mL de extracto acuoso de planta, a pH 8 con agitación constante durante 50 minutos. Para la estimación de formación de nanopartículas de plata, se empleó Espectrofotometría UV-Vis. El tamaño de nanopartículas se confirmó por Microscopía electrónica de Transmisión (TEM). Para determinar el contenido de plata en las nanopartículas, se empleó Microscopía Electrónica de Barrido con detector de Rayos X (SEM-EDS). Para determinar el posible grupo orgánico responsable de la reducción química se realizó el tamizaje fitoquímico aplicándolo tanto al extracto acuoso de la planta sensitiva como a la solución de nanopartículas de plata, las pruebas colorimétricas de identificación realizadas fueron: Cloruro férrico (polifenoles), Shinoda (flavonoides) y Fehling (azúcares reductores). Las pruebas fueron positivas para polifenoles y azúcares reductores, siendo este el indicio para su cuantificación. Como resultado se obtuvieron nanopartículas de plata de  $7.2 \pm 1.57$  nm de tamaño a una longitud de onda de máxima de absorción de 411 nm. En el análisis cuantitativo de polifenoles se determinó en el extracto acuoso de la sensitiva 1.13 mg/mL y en la solución de nanopartículas de plata 0.88 mg/mL expresados como equivalentes de ácido gálico, mientras tanto el contenido de azúcares reductores para el extracto acuoso de la planta sensitiva fue de 36.35 mg/mL y para la solución de nanopartículas de plata de 2.78 mg/mL expresados como glucosa. Se demostró una disminución significativa de azúcares reductores en la solución de nanopartículas relacionado a la reducción de mayor cantidad de iones plata, por lo que se lo considera como el principal agente de la reducción química confirmando el recubrimiento adecuado de las nanopartículas con el extracto.

**Palabras clave:** nanopartículas de plata, sensitiva (*Mimosa albida*), polifenoles, azúcares reductores.

## ABSTRACT

In the present study, silver nanoparticles were synthesized using silver nitrate as precursor and aqueous extract of the sensitive plant (*Mimosa albida*) as reducing agent. In the synthesis several parameters were controlled: silver nitrate concentration, temperature, time, volume of extract and pH. Optimal conditions were obtained by using a solution of 1.0 mM AgNO<sub>3</sub>, at a temperature of 60 °C, with 2 mL of aqueous plant extract, at a pH of 8 with constant stirring for 50 minutes. UV-Vis spectrophotometry was used to evaluate the formation of the nanoparticle. Scanning Electron Transmission Microscopy (TEM) confirmed the diameter length of the nanoparticles. To determine the content of silver in the nanoparticles, Scanning Electron with energy disperse (SEM-EDS) was used. In order to determine the possible organic group responsible for the chemical reduction, phytochemical screening was done by applying it to both the aqueous extract of the sensitive plant (*Mimosa albida*) and to the silver nanoparticle solution. The colorimetric identification tests carried out were: Ferric Chloride (polyphenols), Shinoda (flavonoids), and Fehling (reducing sugars). Those tests were positive for polyphenols and reducing sugars. As a result, silver nanoparticles of  $7.2 \pm 1.57$  nm in size were obtained at a wavelength of maximum absorption 411 nm. The quantitative analysis of polyphenols in the aqueous extract of the sensitive plant was determined to be 1.13 mg/mL and in the solution of silver nanoparticles was 0.88 mg/mL expressed as gallic acid equivalents. Meanwhile, the content of reducing sugars for the aqueous extract of the sensitive plant was 36.35 mg/mL and for the silver nanoparticle solution 2.78 mg/mL expressed as glucose. A significant decrement of reducing sugars in the nanoparticle solution was noticed, related with the reduction of a greater quantity of silver ions, which is why it is considered as the main agent of chemical reduction, confirming the adequate coating of the nanoparticles with the extract.

**Key words:** sensitive plant (*Mimosa albida*), phytochemical screening, polyphenols, reducing sugars, silver nanoparticles.

## INTRODUCCIÓN

El campo en el que se desarrolla la nanotecnología abarca procesos de síntesis, aplicación de materiales y sistemas funcionales a través de su control a nivel de nanoescala ( $10^{-9}$ m) (Serena, 2010). Aprovechando las diversas propiedades físicas, químicas y biológicas únicas de los nanomateriales, se emplean en varios campos de la ciencia, tecnología e investigación (Ahmad & Sharma, 2012).

Las propiedades de las nanopartículas metálicas, radican en su forma, composición, estructura y morfología. A ello se suman sus propiedades ópticas, electrónicas, catalíticas, magnéticas, antimicrobianas, entre otras (Rojas, Castrejón, & González, 2016). Siendo las de mayor interés las nanopartículas metálicas de hierro, cobre, zinc, titanio, oro y plata (Vijay, Pammi, Kollu, Satyanarayana, & Shameem, 2014).

Las nanopartículas de plata (AgNPs) han sido empleadas por sus propiedades bactericidas y ópticas (Flores, 2014), convirtiéndose en importantes agentes antimicrobianos y antivirales (González & Rosas, 2014). En general la obtención de nanopartículas de plata se realiza a través de métodos físicos, químicos y biológicos (Guzmán, Dille, & Godet, 2009). Siendo el método más común para la síntesis la reducción química, empleando una sal metálica de plata como precursor y agentes reductores de diferente naturaleza. La tendencia es emplear reductores “verdes”, provenientes de extractos de plantas (Neira, 2015).

La principal razón por la que se emplean extractos vegetales en la síntesis de nanopartículas de plata, se debe a que las plantas presentan diversos compuestos químicos denominados metabolitos secundarios responsables de la reducción de los iones del metal, entre los que podemos mencionar a los polifenoles, taninos, flavonoides, azúcares reductores, cumarinas, alcaloides, etc., que difieren por su carácter químico, estructura y concentración (Cano, 2014). Este tipo de compuestos se pueden identificar por tamizaje o “*screening*” fitoquímico, proceso en el cual se realizan pruebas colorimétricas en un esquema general de extracción sucesiva con solventes de polaridad creciente (Martínez, 2001).

El empleo de extractos vegetales se ha convertido en una opción de agente reductor natural, que reemplaza el uso de reactivos químicos para la síntesis de nanopartículas de plata convirtiéndose en un proceso de síntesis “verde”. Razón por la cual el objetivo principal de la presente investigación comprende sintetizar nanopartículas de plata usando el extracto acuoso de las hojas de sensitiva (*Mimosa albida*), planta nativa de la provincia de Imbabura específicamente de la Loma de Guayambillas, empleada tradicionalmente como antioxidante, analgésico, anticoagulante, cicatrizante y bactericida (Encarnación, 2013), cuyo poder reductor se evaluará empleando diferentes técnicas instrumentales.

Durante el proceso de síntesis, se variará parámetros como: temperatura, tiempo, volumen de extracto, concentración de nitrato de plata y pH. El tamaño de las nanopartículas de plata se estimará por Espectrofotometría UV-Vis y se confirmará por Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM). El tamizaje o “*screening*” fitoquímico se aplicará en el extracto acuoso de la sensitiva y en la solución coloidal de las nanopartículas de plata para determinar los posibles metabolitos secundarios responsables de la reducción química. Finalmente la cuantificación de los posibles reductores químicos se realizará mediante Espectrofotometría UV-Vis para definir los metabolitos principales que se encuentra en mayor concentración y que por lo tanto permite el recubrimiento adecuado de las nanopartículas con el extracto.

Para mejorar la comprensión del presente trabajo se ha optado por distribuir la información en capítulos.

En el Capítulo I, se tratan conceptos generales relacionados con la Nanotecnología, además de los métodos de síntesis, aplicaciones y toxicidad de las nanopartículas de plata. También se presenta la descripción botánica de la planta de sensitiva, que va a ser utilizada en el proceso de síntesis. Finalmente se muestra información sobre el tamizaje fitoquímico, necesario para el reconocimiento de metabolitos secundarios de la planta.

En el Capítulo II, se describe la metodología utilizada para la síntesis de nanopartículas de plata, así como las principales técnicas instrumentales empleadas en su caracterización tales como: Espectrofotometría UV-VIS, Microscopía Electrónica de Transmisión(TEM, por sus siglas en inglés), Microscopía Electrónica de Barrido con

detector de rayos X (SEM-EDS, por sus siglas en ingles). Además se incluye la descripción de las pruebas colorimétricas del Tamizaje Fitoquímico de mayor interés.

En el Capítulo III, se destacan los resultados obtenidos y su respectiva discusión. Finalmente, en el capítulo IV, se muestran las conclusiones y recomendaciones de este estudio.

# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 HISTORIA DE LA NANOCIENCIA

A pesar que en la antigüedad los conceptos de nanociencia y nanotecnología eran desconocidos, se han mostrado evidencias del uso de nanopartículas hace 300 años A.C. que han sido aplicados en la fabricación de diversos materiales como por ejemplo: la Espada de Damasco (presencia de nanotubos de carbono ocluidos en la matriz metálica del acero), las piezas del arte Romano del siglo IV D.C. conocida como la copa de Lycurgus (presencia de nanopartículas de oro y plata), entre las más conocidas (Gamo & Sánchez, 2015).

A partir de estos indicios y varios eventos procedentes como la invención del microscopio de emisión de campo en 1936 por Erwin Müller, que posibilitó la obtención de imágenes cercanas a la resolución atómica de los materiales y la aparición del término “Ingeniería molecular” en 1956 por Arthur Von Hippel (Canabal, 2015), surge la primera mención sobre la nanotecnología en 1959 por el Dr. Richard Feynman en su conferencia: “Hay mucho espacio en el fondo” (*There is plenty of room at the bottom*), en la cual describió un proceso por medio del cual se podría desarrollar la habilidad de manipular átomos y moléculas individuales en la fabricación de materiales, dando inicio a la Nanociencia como tal. En 1974 ya se hablaba de la nanotecnología como un proceso, separación, consolidación y deformación de materiales átomo por átomo, y molécula por molécula (Desurvire, 2010). El desarrollo de la nanotecnología ha trascendido las barreras de las principales disciplinas científicas tales como la Física, Química, Biología e Ingeniería, proporcionando nuevas perspectivas sobre la materia y aumentando posibilidades para la nueva tecnología.

### 1.2 NANOTECONOLOGÍA

La nanotecnología hace referencia al control de la materia a nivel de nanoescala ( $10^{-9}$ m) (Serena, 2010). La manipulación de la materia ha permitido explorar el amplio campo de la ciencia de los nuevos materiales llamados “nanomateriales”, que se definen como partículas que presentan un diámetro en el orden de 100 nanómetros (nm) como una

de sus características. Los nanomateriales han recibido atención especial por sus propiedades electrónicas, magnéticas, ópticas y catalíticas superiores a la de los materiales convencionales, y esto se debe principalmente a la forma, tamaño, composición y estructura de las nanopartículas, lo cual ha permitido involucrarse en varios campos de la ciencia como Química (estudios de reactividad química y catálisis), Física (estudio de propiedades magnéticas y mecánicas), y Biología (estudio de estructuras y procesos biológicos que abordan problemas en medicina, biotecnología y farmacia) (Flores, 2014).

El proceso de síntesis de nanomateriales es una de las ramas más activas e innovadoras dentro de la nanociencia, siendo los métodos convencionales de obtención: técnicas descendentes o “*top-down*” que consiste en la reducción del tamaño de materiales másicos hasta límites nanométricos, empleando procesos fisicoquímicos; y las técnicas ascendentes o “*bottom-up*” que corresponde a la síntesis de nanomateriales mediante unidades de construcción más pequeñas como átomos y moléculas (García, 2006).

La nueva modalidad de crear materiales a nanoescala está en su mayor auge, lo cual pone a la nanotecnología como pilar importante en torno a un giro revolucionario en el que la mayoría de los países han optado por ponerla en práctica, principalmente para mejorar sus procesos industriales y por ende su producción (Mendoza & Rodríguez, 2007)..

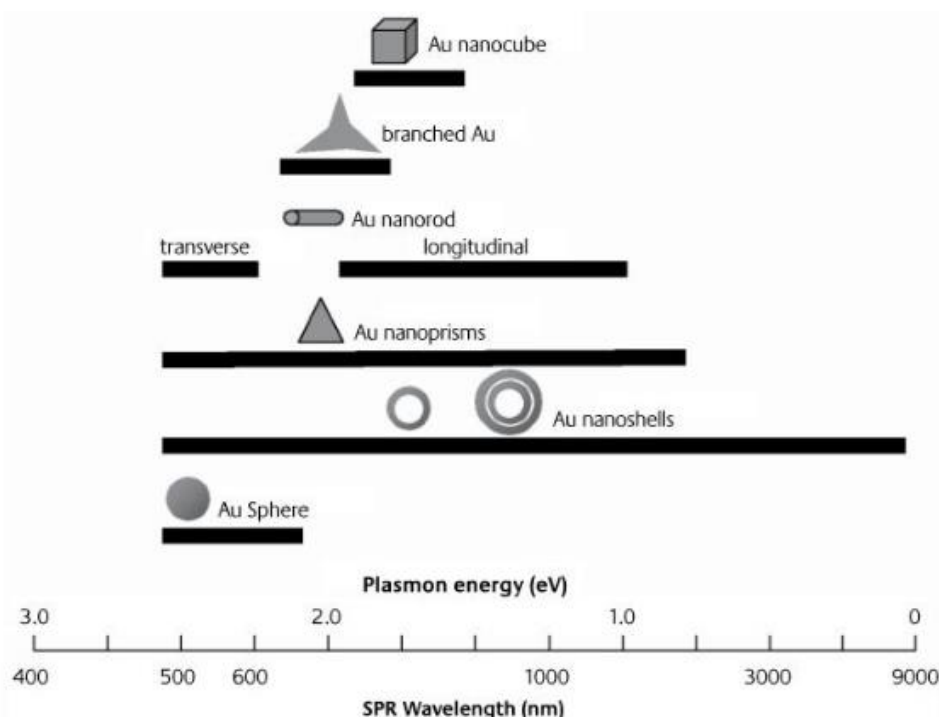
### **1.3 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS**

Una nanopartícula se define como la unidad más pequeña que puede comportarse como una unidad completa en términos de propiedades y transporte. Sus dimensiones se encuentran entre 1-100 nm, sin embargo a medida que se aproximan al tamaño de 1-10 nm, los efectos de tamaño, morfología y composición se tornan más evidentes lo cual se manifiesta en sus propiedades bactericidas, magnéticas, ópticas, reactividad química, transporte, entre otras (López, y otros, 2016). Siendo las nanopartículas de metales nobles principalmente oro y plata, las que exhiben actividad bactericida incrementada gracias a su relación superficie/volumen, que permite un mayor contacto e interacción con microorganismos por lo que son de gran interés debido a su extenso rango de aplicaciones en el campo de la ciencia y la tecnología (Flores, 2014)

## 1.4 NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Desde la antigüedad la plata (Ag) ha sido ampliamente utilizada, es así que civilizaciones antiguas como los griegos la empleaban para cocinar, preservar el agua e inclusive como antimicrobiana en medicina tradicional (Devaraj, P, Aarti, & Renganathan, 2013).

En los últimos años, la plata ha ganado interés por sus distintas propiedades dentro de las cuales se destacan: buena conductividad, estabilidad química, actividad catalítica y antibacteriana, siendo esta última las que le han dado mayor relevancia para la síntesis de nanopartículas (AgNPs), pues al poder controlar la forma y tamaño durante la síntesis permite aumentar el poder bactericida, es así que mientras más pequeño sea el tamaño de partícula (entre 1-100 nm), mayor será la superficie de contacto y por ende el efecto antimicrobiano incrementará. (Ayala, 2010). En cuanto a su forma se ha demostrado que nanopartículas esféricas y triangulares cumplen mejor la función bactericida por tener mayor densidad de átomos en sus caras (Fernández T. , 2017). La forma y el tamaño están directamente relacionados pues nanopartículas esféricas y triangulares se encuentran a longitudes de onda menores a los 800 nm como se puede observar en la Figura 1.1, lo cual es esencial para obtener nanopartículas con tamaños menores a 100 nm según Pradeep, 2012.



**FIGURA 1.1** Tamaño de nanopartícula en función de su forma(Campos, 2015)

La acción bactericida de las nanopartículas de plata se otorga a la acción de los iones plata que actúan interfiriendo en la respiración celular y una vez en el interior de la célula alteran su sistema enzimático inhibiendo su metabolismo y producción de energía modificando su material genético, provocando que el microorganismo pierda toda capacidad de crecer, reproducirse y por consiguiente su muerte (Fernández T. , 2017).

Las nanopartículas de plata presentan propiedades ópticas gracias a la oscilación colectiva de los electrones libres con la radiación electromagnética, para lo cual el campo eléctrico generado por la radiación induce la formación de un dipolo, que ocasiona una fuerza en la nanopartícula que compensa el dipolo generado, el producto este fenómeno se manifiesta con el color característico que presentan las disoluciones coloidales de las nanopartículas, esto se conoce como resonancia de los plasmones de superficie (Monge, 2009).

#### **1.4.1 APLICACIONES**

La actividad microbiana es la propiedad principal que permite la elaboración de productos con nanopartículas de plata, esto gracias a la acción de los iones plata que poseen efectos inhibidores y bactericidas además que su forma y tamaño permiten su acción de manera más efectiva (Pal, Kyung, & Myong, 2012).

Las nanopartículas de plata se han aplicado en varios campos de la ciencia siendo la medicina donde se han utilizado ampliamente, para la elaboración de apósitos de heridas, dispositivos anticonceptivos, instrumental quirúrgico, prótesis óseas, entre otros (Cheng et al., 2004; Cohen et al., 2007). Se ha demostrado también que las nanopartículas tienen efecto bactericida sobre ciertas bacterias como por ejemplo: *Escherichia coli*, *Vibrio cholera* y *Pseudomonas aeruginosa*, inclusive se han evaluado el efecto de la concentración de las nanopartículas de plata en los fármacos que son utilizados contra el tratamiento de enfermedades dirigidas a células u órganos (Carr, Wlodkowski, & Rosenkranz, 1973).

Un caso particular se muestra en el estudio realizado por Elechiguerra *et al*, 2005 sobre el tratamiento *in vitro* de las nanopartículas de plata con el VIH, donde se pretende inhibir la capacidad del virus para unirse a las células huésped (Elechiguerra, y otros, 2005).

Dentro de otros campos de aplicación de las nanopartículas de plata se encuentra la industria textil para la elaboración de prendas de vestir, que gracias a la introducción de las nanopartículas en fibras sintéticas o naturales consiguen una potenciación de la actividad iónica. En la industria alimenticia, principalmente en la agricultura y envasado de alimentos, donde las nanopartículas se emplean para prolongar su conservación, pues su poder bactericida impide la proliferación de hongos fitopatógenos, eliminando hasta en un 90% el crecimiento de microorganismos, además en la purificación del agua, productos cosméticos, materiales de construcción, electrónica, entre otros. En fin, un sin número de aplicaciones que abarcan muchos campos y que son aprovechados al máximo principalmente para mejorar los productos y aumentar la producción (Ávalos, Haza, Mateo, & Morales, 2013).

#### **1.4.2 TOXICIDAD DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA**

La administración de nanopartículas de plata al cuerpo humano puede darse por contacto dérmico, vía oral, inhalación o circulación sanguínea. Los niveles de toxicidad estudiados en ratas por Hyun *et al.* 2008, muestra una influencia biológica insignificante en la mucosa respiratoria ( $0.5-61 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) por inhalación, no se encontró restos de plata en pulmones ni en cavidad nasal. En un estudio realizado por Lee, *et al.* 2012 sobre la exposición de los trabajadores que fabrican nanomateriales expuestos a concentraciones de  $0.35-0.35 \text{ (g}/\text{m}^3)$ , se encontró a penas restos de  $0.0135-0.034 \text{ (mg}/\text{m}^3)$  en la sangre y  $0.043 \text{ (g}/\text{m}^3)$  en la orina con lo que no afecta considerablemente su salud. En cuanto al contacto dérmico, el riesgo de absorción percutánea es bajo y que el uso de hilos de sutura y fibras textiles no presenta evidencia de aumento de plata en la sangre o acumulación. Los riesgos tóxicos por ingestión son bajos no existen precedentes alarmantes de intoxicación ni acumulación (Fernández T. , 2017), sin embargo se debería analizar su efecto en el estómago, pues al tener un pH ácido provoca liberación de iones plata causando el ciclo tóxico de las nanopartículas dentro de las células en la actividad antimicrobiana (Domenech, 2017).

En cuanto a los daños ambientales, puede haber contaminación por reacciones de oxidación que produce la liberación de iones plata, si estos llegaran a combinarse con iones como el sulfuro o el cloruro causarían deterioro del sistema acuático, sin embargo no existen precedentes de este tipo de contaminación. (Domenech, 2017).

No se ha establecido una normativa para el uso de nanopartículas en productos alimenticios, textiles, farmacéuticos y cultivos, debido a que los niveles de toxicidad son relativamente bajos, esto se debe relacionar directamente al método de síntesis empleado, el tamaño de nanopartícula, la presencia o ausencia de agentes estabilizantes, los diferentes organismos y células de cultivo (Ávalos, Haza, Mateo, & Morales, 2013).

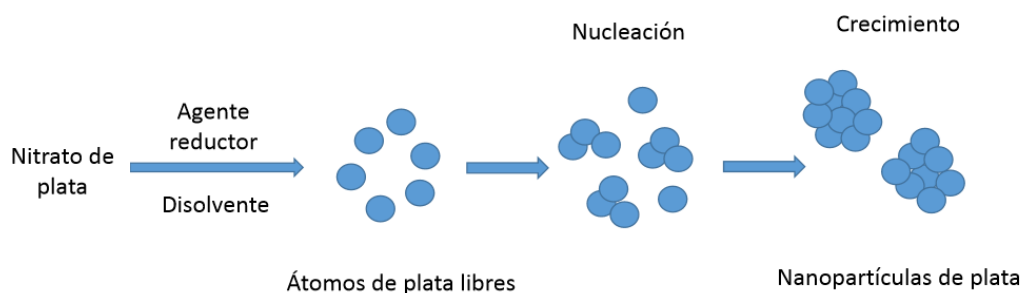
### 1.4.3 MÉTODOS DE SÍNTESIS

La preparación de nanopartículas de plata son de interés por sus distintas propiedades las cuales dependen del tamaño, forma y dispersión que son controladas por el proceso de síntesis, así la obtención de nanopartículas de plata se puede realizar a través de métodos físicos, entre los que figuran procesos de ablación láser o molienda y la evaporación-condensación; y por varios métodos químicos y biológicos (Guzmán, Dille, & Godet, 2009).

En el caso particular de los métodos químicos, se emplean procesos de reducción, técnicas electroquímicas y fotoquímicas; siendo el método de reducción química el más usual, donde se emplea comúnmente una sal de un metal noble como por ejemplo el nitrato de plata, aunque puede usarse también otros compuestos como acetatos o complejos organometálicos de diaminoplatina. El objetivo común para la formación de nanopartículas de plata es que cada catión  $Ag^+$ , se reduce ganando un electrón para convertirse en  $Ag^0$  (Camacho & Deschamps, 2013).

La síntesis de nanopartículas en disolución permiten obtener un control preciso sobre el tamaño y la forma de las nanopartículas con lo cual se pretende obtener población de partículas monodispersas que presenten propiedades determinadas. En este proceso es esencial que exista: precursor metálico, agente reductor y agente estabilizante, que influyen principalmente en la morfología de las nanopartículas (Monge, 2009). Este tipo de reacciones presentan un alto potencial de reducción haciendo posible la obtención de suspensiones acuosas y alcohólicas sin la ayuda de agentes estabilizantes, además inhiben la agregación gracias a la presencia de dobles capas eléctricas de baja fuerza iónica alrededor de las nanopartículas (Martínez, Zúñiga, Sánchez, & Lafarg, 2013).

Existen dos etapas diferentes en el mecanismo de formación de nanopartículas de plata y corresponden a la nucleación y al crecimiento. En la etapa de nucleación se requiere una alta energía de activación para la formación de los núcleos respectivos, por otro lado y en inversa se requiere menor energía para que se dé el proceso de crecimiento (Mubayi, Chatterji, Rai, & Watal, 2012), por lo tanto la velocidad con la que se producen será importante para determinar el tamaño y la forma ya sea cristalina si el proceso se da en condiciones óptimas logrando obtener reordenamiento de átomos o amorfa cuando no lo existe (Zanella, 2012), Este proceso de manera esquematizada se puede observar en la Figura 1.2.



**FIGURA 1.2** Mecanismo de formación de nanopartículas de plata por el método de reducción química, a partir de una sal metálica (Zanella, 2012)

Además, el tamaño de las nanopartículas se pueden modificar variando parámetros como: la concentración del precursor metálico que permite aumentar o disminuir la distancia de difusión para lograr tamaños de partículas variados, pH que ayuda a la desprotonación de iones presentes en el agente reductor necesarios para la reducción de iones plata, temperatura que ayuda al control de la dispersión en el tamaño, agitación que mejora la formación de núcleos en la solución aumentando su distribución, agente reductor para lograr estabilización y recubrimiento eficaz de las nanopartículas, entre otros (Zanella, 2012).

El método de reducción química más empelado es aquel en el que se utiliza como precursor el nitrato de plata y como agente reductor el borohidruro de sodio conocido como método *Creighton*, que si bien permite obtener nanopartículas de plata estables y con tamaño y morfología adecuada, su nivel de toxicidad es considerable al igual que la contaminación ambiental que representa (Camacho & Deschamps, 2013). Por tal motivo, se ha optado por reemplazarlo por extractos de plantas, a través de los cuales se obtienen dispersiones coloidales estables (Flores, 2014). Este método considerado como una “síntesis verde”,

representa una alternativa muy interesante, pues evita el empleo de reactivos químicos tóxicos (Neira, 2015) y permite controlar el tamaño de las nanopartículas variando la concentración del extracto vegetal sin necesidad de utilizar agentes surfactantes o estabilizantes que inclusive resulta efectivo económicamente. (Devaraj, P, Aarti, & Renganathan, 2013).

Este método de síntesis aprovecha los metabolitos de las plantas que actúan como agentes reductores y estabilizantes, puesto que se pueden encontrar alcaloides, enzimas, aminoácidos, alcoholes, terpenoides, polifenoles, flavonoides, glúcidos, entre otros que difieren por su carácter químico, estructura y concentración, podrían ser considerados como los posibles responsables de la formación de las nanopartículas (Martínez, Zúñiga, Sánchez, & Lafarg, 2013). Adicionalmente se crea un efecto sinérgico entre las propiedades antimicrobianas de la plata, con los beneficios antibacterianos, antivirales, antiinflamatorios, antiúlceras, cicatrizantes, entre otros, que brindan las plantas (Romero, Domínguez, & Guzmán, 2014).

## 1.5 SENSITIVA

La plata sensitiva conocida como *Mimosa albida*, pertenece a la familia de las Fabáceas cuya taxonomía se puede apreciar en la Tabla 1.1 o a su vez en el Anexo 1. Esta familia es considerada una de las más numerosas que agrupa distintos tipos de especies como árboles, arbustos, lianas y plantas herbáceas, de extensa distribución mundial. Muchas de ellas son empeladas en varios campos dentro de los cuales podemos mencionar: forrajero, alimenticio, medicinal, ornamental, entre los comunes (Cabreba, 2006).

**TABLA 1.1** Taxonomía de la planta sensitiva (*Mimosa albida*)

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Fabales
Familia:	Fabácea
Género:	Mimosa
Especie:	Mimosa albida

La sensitiva pertenece al género *Mimosa* el cual representa el género más importante de las Mimosoideae, pues comprende alrededor de 500 especies de las cuales el 90% se encuentran en el continente americano, principalmente en Sudamérica; sin embargo por la ausencia o dispersión de la información etnobotánica, las especies de este género no han sido consideradas como un recurso natural importante. A pesar de ello su uso tradicional entre culturas es muy reconocida por sus diversos usos en medicina tradicional como por ejemplo: para el tratamiento de problemas del corazón, infecciones, migraña, insomnio, fiebre, dolores de hígado, tos, contra el reumatismo y fatiga, dolores de riñón y heridas, principalmente (Cabreba, 2006).

La sensitiva (*Mimosa albida*) es una planta nativa de la provincia de Imbabura, específicamente de la ciudad de Ibarra, se la puede encontrar en la zona conocida como Loma de Guayambillas (Encarnación, 2013). Son arbustos trepadores, con abundantes espinas encorvadas, hojas pecioladas sensibles al tacto, con unas cabezuelas globosas de color violeta que se pueden apreciar en la Figura 1.3 (Yandún, 2015).



**FIGURA 1.3** Planta sensitiva (*Mimosa albida*)

Sus usos medicinales son similares a los mencionados para el género mimosa, los cuales se ven relacionados con la presencia de compuestos químicos denominados metabolitos secundarios.

Los posibles metabolitos secundarios identificados en el tamizaje fitoquímico según el estudio de Quezada, 2015 menciona la presencia en forma general de: taninos que le dan la propiedad de analgésico, cicatrizante y antibacterianos, azúcares reductores como

antioxidante, flavonoides como analgésico, desinflamatoria y cicatrizante, triterpenos, esteroides, antocianidinas, saponinas como anticoagulante (Gueno, 2010).

Si bien los estudios sobre este género no han sido profundizados se puede relacionar su composición química con especies del género similar así podemos mencionar: *Mimosa púdica* que presenta alcaloides, esteroides, triterpenos, taninos, naftaquinonas, saponinas y flavonoides (Arrollo, 2010). *Mimosa tenuiflora* que contiene: taninos, saponinas, alcaloides, lípidos, fitoesteroles, glucósidos y xilosa (Camargo, 2000). Dentro de los cuales los taninos importantes en ambas plantas mencionadas corresponden al ácido gálico y al galato de etilo; apigenina, quercetina y canferol como flavonoides de interés; saponinas triterpénicas y chalconas en el grupo de saponinas; y una serie de glúcidos como azúcares reductores (Cabreba, 2006).

## 1.6 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico o “*screening*” fitoquímico, es una serie de pruebas cualitativas que permiten determinar los principales grupos químicos de una planta, a los cuales se denomina metabolitos secundarios, llamados así por no ser parte vital de los tejidos de las plantas, pues no intervienen en su crecimiento y desarrollo (Ringuelet & Viña, Productos Naturales Vegetales, 2013).

El tamizaje fitoquímico comprende el tratamiento de los extractos vegetales con reactivos que dan lugar a la producción de colores o precipitados característicos, mediante el uso de solventes apropiados. Existen varios metabolitos secundarios, por lo que es esencial una técnica en específico para su identificación que a continuación se pueden apreciar en la Tabla 1.2 (Martínez, 2001).

**TABLA 1.2** Ensayos correspondientes al tamizaje fitoquímico para identificación de metabolitos secundarios

<b>Ensayo</b>	<b>Metabolito secundario</b>
Sudán	Aceites y grasas
Liebermann-Buchard	Triterpenos/ Esteroides
Espuma	Saponinas

Ninhidrina	Aminoácidos libres
Mayer y Wagner / Dragendorff	Alcaloides
<b>Ensayo</b>	<b>Metabolito secundario</b>
Baljet	Cumarinas
Fehling	Azúcares reductores
Cloruro Férrico	Polifenoles/ Taninos
Borntrager	Quinonas
Shinoda	Flavonoides

Fuente: Martínez, 2001

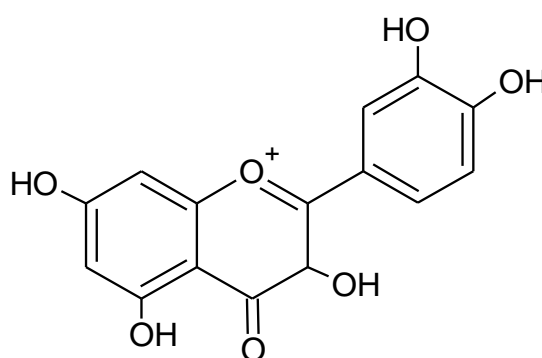
La polaridad de los compuestos a identificar es esencial para la selección correcta del disolvente, es así que los solventes fuertemente polares disuelven solutos iónicos o altamente polares, mientras que los solventes poco polares disuelven de manera eficiente a los solutos de baja polaridad (Ringuelet & Viña, Productos Naturales Vegetales, 2013). Es así que en el tamizaje fitoquímico se emplean solventes de extracción selectivos de distinta polaridad que presenten afinidad con el metabolito a identificar, siendo los más usuales:

- ❖ Extracto etéreo, es un solvente de tipo no polar en cuya estructura predominan las uniones químicas C-C, aquí se destaca principalmente el éter de petróleo. Este extracto contiene compuestos liposolubles como: materia grasa, aceites esenciales, esteroides, carotenoides, alcaloides.
- ❖ Extracto alcohólico, cuyo solvente corresponde a alcoholes de bajo peso molecular como metanol y etanol. Se destacan por la presencia de uniones interatómicas y la presencia de grupos funcionales polares (hidroxilo). Este extracto contiene taninos, flavonoides, quinonas, cumarinas, aminoácidos libres.
- ❖ Extracto acuoso, cuyo solvente es el agua, su principal característica es poder formar uniones de tipo puente de hidrógeno. Este extracto contiene compuestos hidrosolubles como saponinas, azúcares, flavonoides, taninos, vitaminas hidrosolubles, glucósidos.

El método de extracción desarrollado en el presente estudio se realiza por vía acuosa, por lo tanto los ensayos del tamizaje fitoquímico de interés son: Shinoda (flavonoides), Cloruro férrico (taninos-polifenoles), Fehling (azúcares reductores).

## 1.7 POLIFENOLES

Los polifenoles son metabolitos secundarios que se caracterizan por su amplia distribución en la naturaleza. Estructuralmente puede tener uno o más grupos hidroxilo (-OH) unidos a uno o más anillos bencénicos como se muestra en la Figura 1.4 (Cartaya & Reynaldo, 2001), la presencia de grupos -OH le confieren al polifenol la habilidad de actuar como donante de un átomo de hidrógeno o como donante de un electrón y a ello se debe las propiedades farmacológicas que se le atribuyen: cicatrizante, antibacteriano, antioxidante, antiinflamatorio. Por su reactividad se puede combinar con ácidos orgánicos, moléculas de azúcar o unirse entre sí para formar polímeros (Martínez A. , 2015). Los polifenoles de mayor importancia son: ácidos fenólicos, cumarinas, fenoles libres, cumarinas, lignanos, xantonas, quinonas, flavonoides y taninos (Flor & Parra, 2017). Siendo estos últimos de interés en el presente estudio.

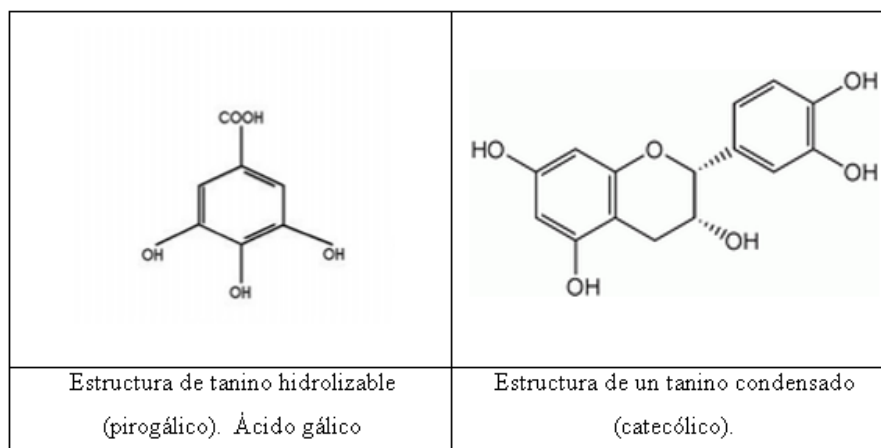


**FIGURA 1.4** Estructura química de un polifenol (quercetina) (Flor & Parra, 2017)

### 1.7.1 TANINOS

Los taninos son polifenoles de alto peso molecular, son sustancias amorfas, no cristalizables, solubles en agua y alcohol. Su estructura comprende la combinación de un fenol con un azúcar. Con respecto a sus estructuras moleculares tenemos: taninos hidrolizables y condensados (no hidrolizables). Los taninos hidrolizables conocidos como pirogálicos son ésteres de ácidos aromáticos carboxílicos derivados de ácido gálico.

Mientras que los taninos condensados o catecólicos son estructuras de flavonoides (Jiménez & Lazo, 2005), como se puede apreciar en la Figura 1.5.



**FIGURA 1.5** Estructura de tanino hidrolizable (ácido gálico) y estructura de tanino condensado (flavan-3-ol). (Jiménez & Lazo, 2005)

Los taninos hidrolizables presentan una amplia aplicación por lo que son los de mayor interés. Gracias a su propiedad de formar complejos solubles e insolubles con las proteínas, es utilizado como cicatrizante es así que al formar “costras” en la piel detiene el sangrado creando un medio “seco” impidiendo el desarrollo de bacterias. Además al precipitar con proteínas se tornan resistentes a la enzima proteolítica dándoles la propiedad de astringentes. Finalmente la presencia de grupos (-OH) le permiten actuar como antioxidantes y antiinflamatorio (Álvarez & Lock, 1992).

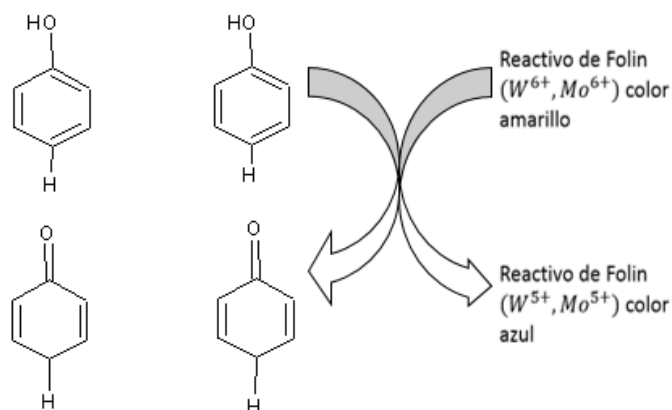
## 1.8 MÉTODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES

En la actualidad, se han desarrollado dos técnicas para la cuantificación de polifenoles y son: el método de Folin Ciocalteu y el método de Price y Butler, los cuales se fundamentan en reacciones de óxido reducción.

- ❖ El método de Price y Butler, se fundamenta en la oxidación del ion fenolato, mientras que el ion férrico se reduce a ion ferroso que se detecta mediante la formación de un complejo azul con el reactivo ferricianuro de potasio. El complejo formado se conoce como azul de Prusia. La intensidad de color obtenida es la que se determina espectrofotométricamente a 720 nm y el

contenido de fenoles totales se lo expresa en equivalentes de ácido gálico o de ácido tánico (Ricco, Agudelo, & Wagner, 2015).

- ❖ El método de Folin Ciocalteu, el cual es el más empleado, permite la reacción del ion fenolato con agentes oxidantes como lo son los componentes del reactivo de Folin Ciocalteu el cual es una mezcla de tungstato sódico y molibdato sódico (mezcla amarilla) (García, Fernández, & Fuentes, 2009), que a pH básico da una coloración azul intenso producto de la reducción del complejo fosfomolibdico- fosfotúngstico en óxidos debido a la transferencia de electrones, siendo así una reacción redox cuyo mecanismo se puede apreciar en la Figura 1.6. La intensidad de color obtenida es la que se determina espectrofotométricamente a 765 nm y el contenido de fenoles totales se lo expresa en equivalentes de ácido gálico (Gutiérrez, Ortiz, & Mendoza, 2008).

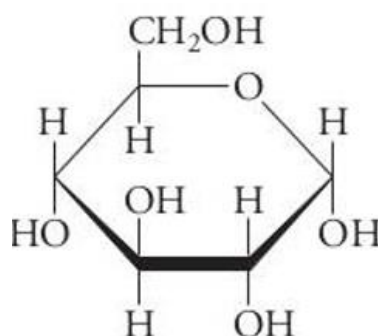


**FIGURA 1.6** Mecanismo de acción del método de Folin Ciocalteu (García, Fernández, & Fuentes, 2009)

## 1.9 CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos llamados también azúcares reductores son compuestos orgánicos polihidroxilados que presentan en su estructura un grupo aldehído o cetona como se observa en la Figura 1.7. Son incoloros e inodoros, presentan sabor dulce y son solubles en agua. Se los encuentra en la naturaleza como monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Sus propiedades químicas se deben a las funciones aldehído y cetona libre (alta reactividad del grupo carbonilo) capaces de reducir fácilmente soluciones alcalinas de sales metálicas. Se clasifican en dos grupos: los no reductores y los reductores. Pertenecen

a este último grupo todos los monosacáridos y la mayoría de disacáridos, los cuales poseen al menos un grupo hidroxilo (-OH) y que dan positivo ha: reacción de Benedict, reacción de Maillard, reactivo de Tollens y Fehling permitiendo su identificación (Toledo, 2013).



**FIGURA 1.7** Estructura de la glucosa (Toledo, 2013)

### 1.10 MÉTODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES

Existen diversos métodos colorimétricos empleados para la cuantificación de carbohidratos, que se basan principalmente en la capacidad reductora de los azúcares, algunos de estos métodos se describen a continuación:

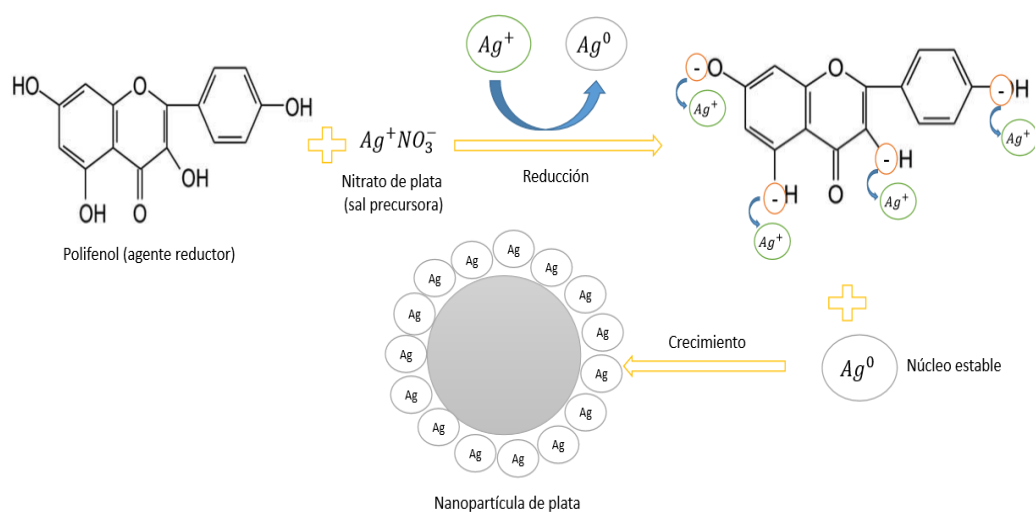
- ❖ Método Eynon-Lane, es un método volumétrico en el cual los carbohidratos en medio alcalino reducen el ion cúprico ( $Cu^{2+}$ ) a ion cuproso ( $Cu^{1+}$ ), el cual forma un precipitado rojo ladrillo. Este método emplea azul de metileno como indicador, el cual se decolora en el fin de la titulación indicando la reducción del cobre (Rivero, 2013).
- ❖ Método de Dubois (fenol-ácido sulfúrico), consiste en la reacción de carbohidratos en presencia de ácido sulfúrico y fenol, a partir del cual se obtienen derivados del furano que al condensarse producen compuestos coloridos amarillo-naranja, permitiendo su cuantificación por espectrofotometría UV-Vis cuya absorbancia se mide a 492 nm. La hidrólisis ácida que se produce permite la reducción de oligosacáridos y polisacáridos en azúcares simples (monosacáridos). Es un método ampliamente utilizado pues es sencillo, rápido, sensible a bajos niveles de azúcar (5 ug), no existe interferencia con proteínas y la coloración es estable a 24 horas (Capelo &

Pérez, 2011). Por tal motivo es el método seleccionado para la identificación de azúcares en el presente estudio.

- ❖ Método de Miller, consiste en la reacción de los azúcares reductores con el ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) en presencia de calor, desarrollándose una coloración café, cuya absorbancia se mide a 540 nm (Ávila, Rivas, Hernández, & Chirinos, 2012).

### **1.11 MECANISMO DE FORMACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA A PARTIR DE EXTRACTOS VEGETALES.**

El contenido de metabolitos secundarios presentes en la planta es muy variado, existe la presencia de polifenoles (flavonoides, taninos), saponinas, azúcares reductores, entre otros, que presentan grupos químicos en común correspondientes al grupo hidroxilo (-OH), cetona y aldehído, los cuales les permiten actuar como agentes reductores en la formación de nanopartículas, esto depende de su concentración en la planta y de los parámetros de síntesis mencionados anteriormente. El grupo fenólico es capaz de unirse a un metal ( $Ag^+$ ) el cual resulta de la disociación del nitrato de plata (sal precursora) proporcionando estabilidad. El extracto de la planta proporciona proteínas y enzimas a la solución de nitrato de plata en la que los iones plata se combinan formando un complejo, con la reducción del ion plata ( $Ag^+$ ) a ion plata ( $Ag^0$ ) y por consiguiente la respectiva formación de la nanopartícula (Jafar, y otros, 2017). El mecanismo de reacción se puede apreciar en la Figura 1.8.



**FIGURA 1.8** Mecanismo de formación de nanopartículas de plata con polifenol como agente reductor (Jafar y otros, 2017)

## CAPÍTULO II

### 2. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO

El material vegetal correspondiente a las hojas de sensitiva (*Mimosa albida*), se recolectaron en la Loma de Guayambillas ubicada en la Provincia de Imbabura, específicamente en la ciudad de Ibarra. Se lavaron con agua corriente y agua destilada en el laboratorio, luego se secaron a temperatura ambiente durante 48 horas; la muestra seca fue triturada en un molino hasta obtener un polvo fino. La preparación del extracto se realizó en medio acuoso agregando 20 mL de agua destilada a 1 gramo de muestra seca triturada, y se llevó a agitación constante por 30 minutos a  $60 \pm 1$  °C, posteriormente se centrifugó, filtró y almacenó el extracto a 4°C para análisis posteriores.

#### 2.2 OPTIMIZACIÓN DE LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Los parámetros de optimización del proceso de síntesis corresponden a: temperatura, tiempo, cantidad de extracto, concentración de nitrato de plata y pH. Para evaluar cada parámetro se siguió el protocolo propuesto por Bodaiah *et al.* (2016) y Willy *et al.* (2014) donde se controlan las variables propuestas, además se tomaron cinco valores de referencia para optimizar cada parámetro; las pruebas para cada uno de ellos se realizaron por separado con modificaciones en una sola variable. Los valores tomados para cada parámetro se pueden observar en la Tabla 2.1

**TABLA 2.1** Parámetros para la optimización de la síntesis de nanopartículas de plata

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Volumen de extracto (mL)	Concentración de nitrato de plata (mM)	pH
25	10	1.0	0.5	7
30	20	1.5	1.0	8
40	30	2.0	2.0	9
50	40	2.5	3.0	10
60	50	3.0	5.0	11

### 2.3 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA OPTIMIZADA

Se tomaron 20 mL de una solución de nitrato de plata 1 mM, la cual fue preparada a partir del reactivo *Merck* 99.9% de pureza. A esta solución se le añadió gota a gota 2 mL del extracto de las hojas de sensitiva (*Mimosa albida*). Posteriormente se reguló el pH a 8 añadiendo de 3 a 4 gotas de hidróxido de sodio 1%. La mezcla resultante se llevó a agitación constante durante 50 minutos a una temperatura de  $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . La solución final se almacenó en frascos ámbar y se almacenó a  $4^{\circ}\text{C}$  para posteriores análisis.

### 2.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Las nanopartículas de plata se caracterizaron por:

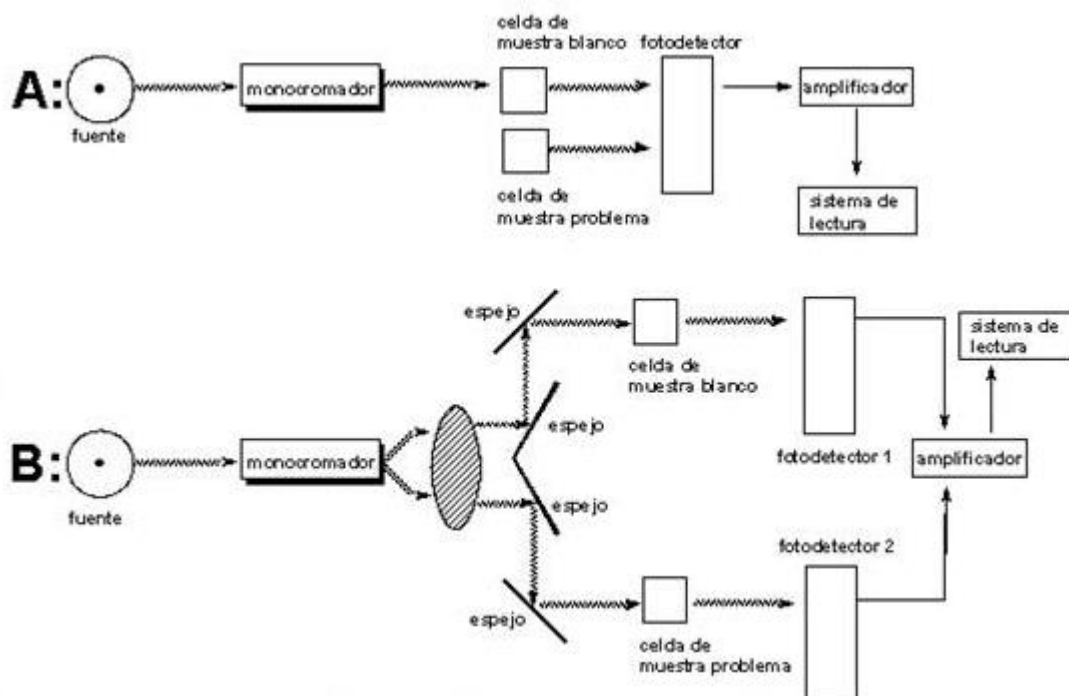
- ❖ Espectroscopia UV-Vis: estimación de formación de nanopartículas de plata.
- ❖ Análisis TEM para confirmar el tamaño de las nanopartículas de plata sintetizadas.
- ❖ Análisis SEM-EDX para determinar el análisis elemental de las nanopartículas de plata sintetizadas.

### 2.4.1 ESPECTROSCOPIA UV-Vis

La espectrofotometría UV-VIS es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Para lo cual las moléculas absorben radiaciones electromagnéticas en el rango ultravioleta-visible que va aproximadamente de 195-200nm y 400-780 nm respectivamente, provocando el salto de un electrón a un nivel superior de energía, lo cual se conoce como excitación electrónica (Díaz et al, 2010).

Para realizar este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, equipo en el cual se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por la solución con el fin de medir la cantidad de luz absorbida por la misma (Díaz et al, 2010)

Un espectrofotómetro se compone principalmente de: selector de longitud de onda que por lo general es un monocromador que permite la dispersión de la luz en diferentes ángulos para la selección de una longitud de onda específica. Detector de radiación, cuya función es convertir la señal radiante en señal eléctrica. Fuente de radiación que emita un espectro continuo, cuyo haz debe ser homogéneo y generar ruido en mínimas cantidades, las más empleadas por estas características son la lámpara de hidrógeno y deuterio para la región ultravioleta y las lámparas de filamento de wolframio o de arco de xenón en la región visible. Un portador de muestra, básicamente para colocar la muestra, cuyo material debe ser de cuarzo o sílice para el paso del haz de luz ultravioleta, y de plástico o vidrio para el paso de luz visible. Finalmente el procesador de señal que emite los resultados en espectros. (Skoog, Holler, & Neiman, 2001). El esquema general se puede apreciar en la Figura 2.1.



**FIGURA 2.1** Esquema de espectrofotómetro de haz sencillo (A) y de doble haz (B) (Sorgob, 2004)

Existen limitaciones en el uso de la espectrofotometría UV-Vis que se asocian a desviaciones químicas como consecuencia de cambios de concentración o cuando las especies absorbentes experimentan disociación, asociación o reacción con el disolvente, originando productos con características absorbentes distintas de las del analito, lo cual dificulta su lectura a la longitud de onda determinada provocando picos desplazados a longitudes de onda mayores, no es posible analizar fases cristalinas que permiten determinar el tamaño exacto de las nanopartículas, además la dispersión de la luz por parte del monocromador se da en diferentes ángulos y no en ángulo determinado por lo que la selección de longitud de onda se torna menos precisa (De Lamo Santamaría, 2015). Sin embargo en la presente investigación se empleó la técnica para asegurar la formación de las nanopartículas, su estudio se amplió incluyendo otros análisis instrumentales.

En la región UV-Vis, se pueden identificar los compuestos orgánicos altamente conjugados responsables de la coloración de la solución que corresponde a la longitud de onda que se transmite pero que no se absorbe y respecto a esto se puede identificar el máximo de absorción característico de cada material. (Martínez & Pérez, 2009). En el caso de los compuestos inorgánicos se debe a la teoría de bandas del material.

Dentro de los conceptos más relevantes y de interés que se manejan en la espectrofotometría Uv-Vis se encuentra la transmitancia y la absorbancia. Cuando una cantidad de luz incidente sobre un cuerpo traslúcido y esta disminuye su intensidad debido a las interacciones entre los fotones y las partículas absorbentes de la muestra, se habla de Transmitancia (T) (Valladares, 2004) y se expresa según la fórmula:

$$\%T = \frac{P}{P_o} * 100$$

(2.1)

Donde:

$P_o$  = Intensidad de luz emergente

$P$  = Intensidad de luz incidente

Mientras que la absorbancia se conoce como el logaritmo negativo en base 10 de la Transmitancia, según la fórmula:

$$A = -\log_{10}T$$

(2.2)

Según la ley de Lambert-Beer, se puede determinar de manera cuantitativa la concentración de las especies absorbentes en solución. Es así que a mayor cantidad de luz absorbida por el cuerpo, mayor será su absorbancia y menor la cantidad de luz transmitida (Hernández & González, 2002). Según la fórmula:

$$A = \varepsilon * b * c$$

(2.3)

Donde:

A= absorbancia

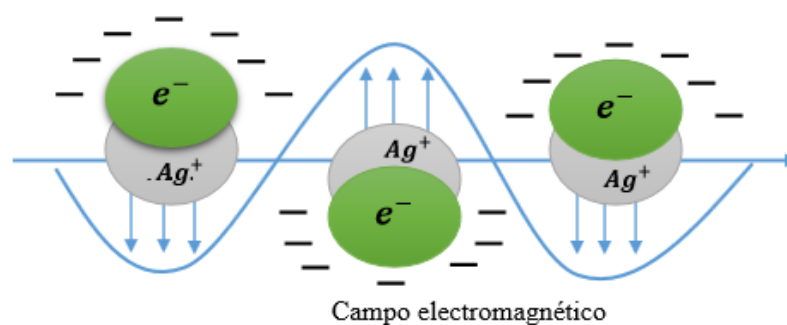
$\varepsilon$ = absortividad molar (L/mol\*cm)

$b$ = longitud de camino óptico (cm)

$c$ = concentración molar (mol/L)

Como una interesante propiedad de las nanopartículas metálicas destaca la presencia de plasmones de superficie localizados (LSPR), que se refiere a las oscilaciones grupales de

los electrones en volúmenes muy pequeños, lo cual facilita la interacción. Sin embargo esta interacción depende ampliamente del tamaño, forma, cristalinidad y naturaleza química de las nanopartículas, inclusive del medio de formación donde los parámetros a controlar como temperatura, intensidad de agitación, pH, fuerza iónica, etc deben ser rigurosos para lograr obtener un tamaño apropiado de nanopartícula asegurando la formación de los plasmones superficiales (Cruz, Rodríguez, López, Herrera, & Creus, 2012), que se puede apreciar en la Figura 2.2.



**FIGURA 2.2** Resonancia de los plasmones superficiales

Esta propiedad se presenta gracias al tamaño de partícula de las NPs, que se da por que la proporción de átomos en la superficie es mayor a la cantidad de átomos en el interior de metal, cuya interacción produce ondas electromagnéticas evanescentes que presentan un máximo de absorción en el rango de 390-420 nm, perfeccionando su forma esférica y tamaño en la longitud de onda de los 400 nm (Santorum, 2017)

#### 2.4.1.1 INSTRUMENTACIÓN

Se utilizó un espectrofotómetro de doble haz *Cary 60* marca *Agilent Technologies* como se observa en la Figura 2.3, para el análisis de nanopartículas de plata. El intervalo de longitud de onda empleado fue de 350 a 800 nm con resolución de 1 nm. Se utilizó agua destilada como blanco para la corrección de la línea base (*background*). Mediante la aplicación Scan y el software *Cary WinUV 3.1* se analizaron los datos obtenidos.



**FIGURA 2.3** Espectrofotómetro Uv-Vis, Carry 60

#### **2.4.1.2 PREPARACIÓN DE MUESTRA**

Las soluciones coloidales obtenidas del proceso de síntesis fueron diluidas en porción 1:10 con agua destilada. Se colocó la solución en celdas de poliestireno de 1 cm de camino óptico.

#### **2.4.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM)**

El microscopio de transmisión, TEM (*Transmission Electron Microscopy*) por sus siglas en inglés, es un instrumento que aprovecha los fenómenos físico-anatómicos que resultan de la colisión de un haz de electrones acelerados con la muestra (Peris, 2005), durante la colisión parte de ellos rebotan y otros atraviesan la muestra, esto se da en función del grosor y del tipo de átomos que la componen (Raisman & González, 2013).

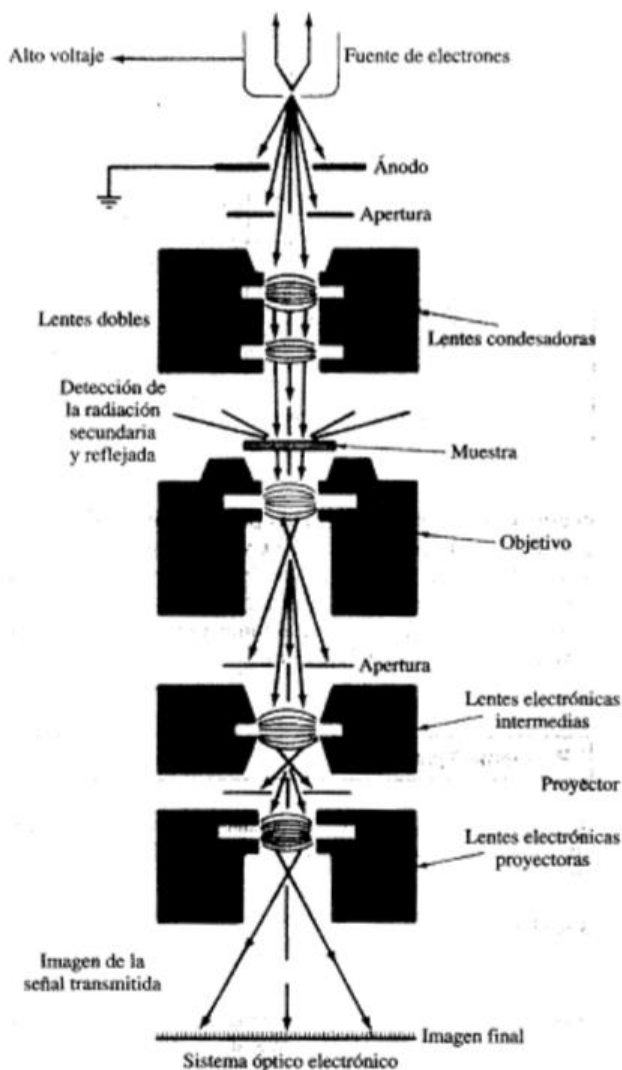
Los electrones difractados que atraviesan la muestra son enfocados y dirigidos a campos que son creados por las lentes magnéticas para generar un difractograma, con lo cual se obtiene una imagen de alta resolución aproximadamente 0.23 nm (Peris, 2005), además que permite focalizar la estructura interna de la muestra así como el tamaño y distribución de partículas que la componen, su red cristalina, interfaces y defectos puntuales de la red atómica (Fernández, 2011).

La penetración de los electrones es en función del grosor y del tipo de átomos que conforman la muestra, por tal motivo su preparación es imprescindible. Todas las técnicas

de preparación deben lograr obtener una muestra con secciones finas menores 100 nm (Fernández, 2011), con el fin de afectar en lo mínimo su estructura original y que la colisión sea efectiva. Las muestras pueden ser en polvo o sólidas y de distintos materiales inclusive material biológico (Raisman & González, 2013).

Los componentes principales del microscopio de Transmisión TEM se aprecian en la Figura 2.4 y son los siguientes: cañón de electrones, lentes magnéticas, sistema de vacío, placa fotográfica o pantalla fluorescente y sistema de registro (Fernández, 2011).

- ❖ El cañón de electrones: genera el barrido electrónico que chocan o atraviesan el espécimen proporcionando la imagen resuelta.
- ❖ Lentes magnéticas: produce campos magnéticos que enfocan el haz de electrones.
- ❖ Sistema de vacío: emplea bajas presiones generando un vacío casi total, con el fin de conseguir un flujo constante de electrones sin que sean afectados por moléculas de aire que los puedan desviar.
- ❖ Placa fotográfica o pantalla fluorescente: es aquella que se coloca detrás del objeto que se va a visualizar permitiendo registrar la imagen aumentada.
- ❖ Sistema de registro: por lo general un computador en el que se visualiza la imagen creada por los electrones.



**FIGURA 2.4** Esquema de un microscopio TEM (Peris, 2005)

### 2.4.2.1 INSTRUMENTACIÓN

El análisis TEM fue realizado por el Centro Nacional de Nanotecnología (CENCINAT) de la ESPE en el microscopio electrónico de transmisión FEI Tecnai G2 marca Spirit Twin a un voltaje de 80 kV.

### 2.4.2.2 PREPARACIÓN DE MUESTRA

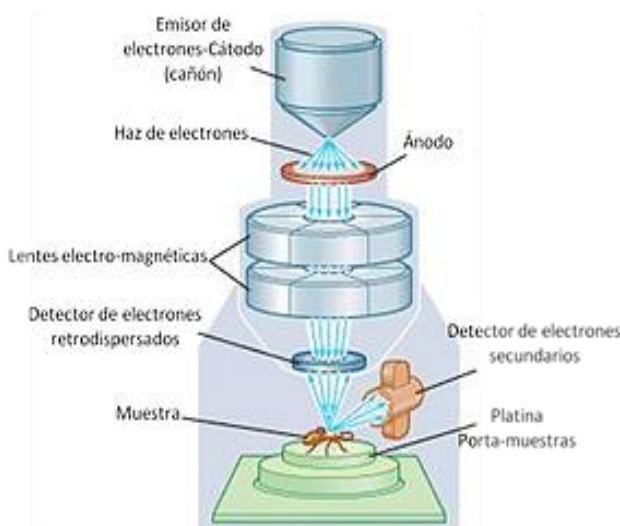
Las nanopartículas en solución coloidal fueron enviadas en un frasco ámbar rotulado al CECINAT para su análisis.

### 2.4.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM-EDS)

El microscopio electrónico de barrido, SEM (*Scanning Electron Microscopy*) por sus siglas en inglés, sustituye al haz de luz por un haz de electrones lo que permite obtener una imagen de alta resolución ( $\sim 3 - 20$  nm dependiendo del quipo), gracias al mayor enfoque hacia las dimensiones y área de la muestra permitiendo determinar su composición química y estructura cristalina, por tal motivo esta técnica es utilizada para estudiar nano y microestructuras (Pineda, 2013) .

Las muestras a analizar en el SEM deben ser sólidas y conductoras, caso contrario se opta por recubrir la muestra con una capa de carbón o de algún metal (oro-plata), proceso denominado *sputtering* o pulverización catódica (Santorum, 2017). Estas propiedades son importantes para poder trabajar con altos vacíos que permitan que el haz de electrones llegue a la muestra sin desviaciones causadas por moléculas de aire, es decir que permita tener un haz uniforme de electrones que amplifiquen la imagen mejorando su calidad (Cabrera, 2006).

Los componentes principales del microscopio de barrido SEM son los siguientes: fuente de electrones o cañón de electrones, lentes electromagnéticas y detectores (Labrada & Peña, 2001), que se pueden apreciar en la Figura 2.5.



**FIGURA 2.5** Esquema de un microscopio SEM (Labrada & Peña, 2001)

La fuente de electrones es responsable de generar el haz de electrones que inciden sobre la superficie de la muestra (Cabrera, 2006). Esta emisión de electrones puede ser por efecto termoiónico que emplea un filamento de tungsteno o hexaboruro de lantano sometidos a calentamiento y aplicando diferencia de potencial entre el cátodo y el ánodo para provocar la aceleración de electrones. Mientras que el efecto de campo se aplica un campo eléctrico intenso y alto vacío que permiten la liberación de electrones (Domenech, 2017).

Las lentes electromagnéticas se encargan de dirigir y enfocar el haz de electrones hacia la muestra con el fin de amplificar la imagen. Esta parte del equipo se compone de un conjunto de placas mantenidas a un diferente potencial, cada una presenta un orificio en el centro por donde pasan los electrones generando una curvatura del campo eléctrico enfocando la imagen (Cabrera, 2006).

Finalmente, tenemos los detectores que captan la señal emitida por el haz de electrones, el tipo de detector que se usa depende del tipo de análisis que se quiera dar a la muestra. Existen varios tipos, y los más conocidos son: el detector de electrones secundarios (SEI), para obtener imágenes de la morfología y topografía de la muestra. Detector de electrones retrodispersivos (BEI) para obtener imágenes de la composición de la superficie de la muestra. Detector de energía dispersiva (EDS o EDX) para determinar la composición elemental de la muestra (Cabrera, 2006), siendo este último de interés en el presente estudio pues recibe los rayos X procedentes de varios puntos de la superficie de la muestra por donde incide el haz de electrones, como cada rayo X es específico de cada elemento facilita el análisis cualitativo y cuantitativo de los elementos presentes en la muestra (Caballero, 2011).

#### **2.4.3.1 INSTRUMENTACIÓN**

El análisis SEM-EDS fue realizado por Nanoinstrumentos. Para lo cual se empleó el equipo Phenom Pro X con un voltaje de 10kV. Para el análisis de datos se utilizó el software Prosuit-EDS.

### 2.4.3.2 PREPARACIÓN DE MUESTRA

Las nanopartículas en solución coloidal fueron secadas en la estufa P Selecta 200 a 50°C por 24 horas y luego se colocaron en un pin de carbono para su análisis.

## 2.5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico emplea una extracción sucesiva con solventes de polaridad creciente. Se inicia el análisis en un extracto etéreo, seguido del extracto alcohólico y finalmente el extracto acuoso. Es una técnica que permite identificar rápidamente los metabolitos secundarios, utilizando reactivos apropiados que dan lugar a reacciones de color y precipitación (Martínez M. , 2001). En el presente estudio únicamente se realizaron las pruebas correspondientes a la vía acuosa debido a que el extracto inicial de la planta se preparó en agua destilada. El procedimiento a seguir se basó en el protocolo sugerido por Martínez, 2010. Con este método se identificó los metabolitos secundarios importantes de la planta de sensitiva (*Mimosa albida*) y se verificó su presencia en la solución final que contiene las nanopartículas de plata.

Los ensayos empleados para identificar la presencia de estos metabolitos fueron los siguientes:

### 2.5.1 ENSAYO DE CLORURO FÉRRICO

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos, específicamente taninos hidrolizables en extractos acuosos. Un tanino hidrolizable es una sustancia amorfa, no cristizable, solubles en agua y alcohol. Su estructura comprende la combinación de un fenol con un azúcar (Jiménez & Lazo, 2005), lo cual permite la formación de un complejo de hierro con índice de coordinación VI lo cual se observa con un cambio de coloración a púrpura o verde intenso, esto gracias a la oxidación del fenol y reducción de reducción de  $Fe^{2+}$  (ion ferroso) a  $Fe^{3+}$  (ion férrico) (Flor & Parra, 2017).

Para el reconocimiento de taninos, se tomó una alícuota del extracto (2mL), a la cual se añadió acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de la solución de cloruro férrico al 5%. La prueba es positiva cuando presenta una coloración verde intensa verificando la presencia

de taninos pirocatecólicos (taninos hidrolizables) y si la coloración es azul-púrpura la presencia de taninos pirogalotánicos (taninos no hidrolizables).

### 2.5.2 ENSAYO DE SHINODA

Este ensayo permite reconocer la presencia de flavonoides, que es un metabolito secundario soluble en agua, cuya estructura presenta un número variable de grupos hidroxilos (Cartaya & Reynaldo, 2001). Su identificación se da gracias a la formación del complejo cloruro de magnesio ( $MgCl_2$ ) que es producto de la reacción de oxidación del magnesio metálico por parte del ácido clorhídrico concentrado con liberación de gas hidrógeno (Flor & Parra, 2017).

Para el reconocimiento de flavonoides, por la prueba de Shinoda, se añadió 1mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedazo de cinta de magnesio a una alícuota (2mL) del extracto vegetal. Se dejó que termine la reacción durante 5 minutos, para añadir 1mL de alcohol amílico. Se considera prueba positiva cuando la fase de alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo.

### 2.5.3 ENSAYO DE FEHLING

Este ensayo permite reconocer los azúcares reductores en una muestra. Estas sustancias químicas tienen un esqueleto carbonado con un grupo carbonilo que puede ser aldehído o cetona, además de la presencia de grupos hidroxilo. Estos azúcares presentan un poder reductor que viene dado por la presencia del grupo carbonilo, el cual se oxida a un grupo carboxilo por una agente oxidante, en este caso el Cobre presente en el reactivo de Fehling, el mismo que pasa de  $Cu^{2+}$  a  $Cu^+$ . Si fuera el caso de la presencia de azúcares reductores la prueba resulta positiva con la presencia de un precipitado rojo ladrillo (Aguar, Carrillo, Días, Parreño, & Vallejo, 2014) .

Para el ensayo aplicado en este estudio se procedió a colocar 2mL del reactivo de Fehling a la alícuota (2mL) del extracto expuesto a baño maría por 5-10 minutos.

## 2.6 ANÁLISIS CUANTITATIVO

Los polifenoles y los azúcares reductores dieron positivas a las pruebas colorimétricas del tamizaje fitoquímico, en el cual se observó disminución de color en la solución coloidal de nanopartículas de plata indicando que se ha producido una reacción química, razón por la cual se optó por cuantificar su contenido antes y después de la reacción con el fin de identificar el agente reductor principal.

### 2.6.1 POLIFENOLES

Los compuestos fenólicos se determinaron cuantitativamente por el método de Folin Ciocalteu el cual permite medir la coloración azulada por Espectrofotometría UV-Vis a 765 nm, para lo cual se tomó como referencia el protocolo propuesto por Flor, *et al.* (2017), Gutiérrez, *et al.* (2008) y García, *et al.* (2009).

#### 2.6.1.1 ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO GÁLICO Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS.

Se preparó una solución madre de ácido gálico marca *Merck* 99% de pureza, de concentración 100 mg/L, a partir del cual se preparó 10 mL de soluciones de concentración 1, 3, 5, 7, 9 y 10 mg/L para la curva de calibración. Posteriormente se añadió 250  $\mu$ L del reactivo de Folin Ciocalteu, se dejó reposar 2 minutos, a continuación se colocó 750  $\mu$ L de carbonato de sodio (20 %v/v), se tapó el balón de aforo con papel aluminio y se dejó en reposo 2 horas a temperatura ambiente. El blanco fue tratado de la misma manera incluyendo todos los componentes excepto la disolución de ácido gálico. Finalmente, se midió la absorbancia a 765 nm en el espectrofotómetro UV-VIS, *Carry 60* marca *Agilent Technologies*. Con los resultados obtenidos se elaboró el gráfico de linealidad entre concentración de ácido gálico vs absorbancia.

Para el tratamiento de las muestras se procedió de la misma manera que se indicó para la elaboración de la curva calibración incluyendo todos los reactivos excepto la disolución de ácido gálico con los parámetros descritos en la Tabla 2.2 Con los datos

obtenidos se calculó la concentración de polifenoles mediante la ecuación de la curva de calibración del ácido gálico.

**TABLA 2.2** Condiciones para preparación de muestras de extracto vegetal y solución de nanopartículas de plata

Muestra N.	Volumen de extracto acuoso de sensitiva (mL)	Solución coloidal de nanopartículas de plata (mL)	Volumen de aforo (mL)
1	10	1	10
2			
3			

## 2.6.2 AZÚCARES REDUCTORES

Los azúcares reductores se determinaron cuantitativamente por el método de Dubois conocido como método fenol- ácido sulfúrico con el que se obtiene una reacción colorimétrica por Espectrofotometría UV-Vis a 492 nm. El procedimiento se llevó a cabo siguiendo el protocolo de Ávila, *et al.* (2012), López, *et al.* (2017) y Capelo, *et al.* (2011).

### 2.6.2.1 ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE GLUCOSA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS.

Se preparó una solución madre de glucosa de 500 mg/L, a partir de la cual se preparó 10mL de soluciones de concentraciones 100, 200, 300, 400, 500 y 600 mg/L para la curva de calibración. Una vez preparadas las soluciones se tomó 1 mL de cada una de ellas y se las colocó en diferentes tubos de ensayo a continuación se agregó gota a gota 2 mL de ácido sulfúrico concentrado y 1mL de fenol al 5%, se enfrió en un baño de hielo durante 2 minutos y se dejó reposar durante 20 minutos a temperatura ambiente. El blanco fue tratado de la misma manera incluyendo todos los componentes excepto la solución de glucosa. Finalmente, transcurrido este tiempo se midió la absorbancia a 492 nm en el espectrofotómetro UV-Vis, *Carry 60* marca *Agilent Technologies*. Con los resultados obtenidos se elaboró el gráfico de linealidad concentración vs absorbancia.

Para el tratamiento de muestras se siguió el mismo procedimiento aplicado para la preparación de la curva de calibración incluyendo la disolución de glucosa con los parámetros descritos en la Tabla 2.3 Con los datos obtenidos se calculó la concentración de azúcares reductores a partir de la ecuación de la curva de calibración.

**TABLA 2.3** Condiciones para preparación de muestras de extracto vegetal y solución de nanopartículas de plata

<b>Preparación extracto vegetal</b>		<b>Preparación Nanopartículas de plata</b>		
Muestra N.	Disolución 0.1 extracto acuoso/10 mL agua destilada (mL)	Muestras N.	Solución coloidal de nanopartículas de plata (mL)	Volumen de aforo (mL)
1	1	1	1	10
2		2		
3		3		

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE LA PLANTA SENSITIVA (*Mimosa albida*)

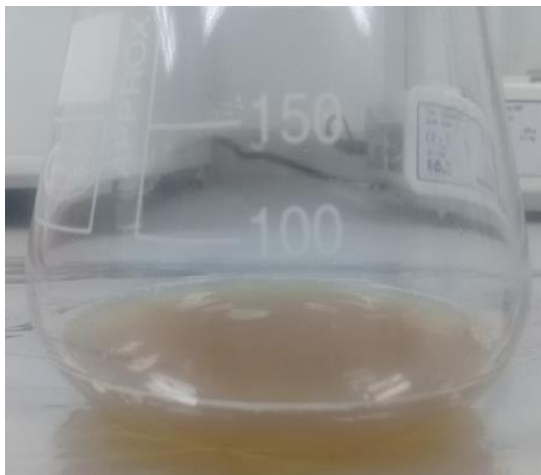
El extracto de las hojas de la planta sensitiva (*Mimosa albida*) se preparó en medio acuoso en una concentración de 0.05 g/mL. Al ser una técnica verde el único disolvente empleado fue agua por tal motivo quedó excluido el uso de otros solventes. Para la elección de las condiciones óptimas del extracto se probó temperatura, tiempo, cantidad de muestra seca y estabilidad con las condiciones mencionadas en la Tabla 3.1.

**TABLA 3.1** Parámetros para establecer las condiciones óptimas de la elaboración de extracto vegetal de sensitiva (*Mimosa albida*)

<b>Parámetros</b>		
<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tiempo (min)</b>	<b>Cantidad de muestra (g)</b>
25	10	0.5
40	20	1
50	30	1.5
60	40	2
70	50	2.5

En función de la temperatura se eligió 60 °C pues a temperaturas inferiores el tiempo de ebullición se prolonga y sobre los 60 °C el disolvente tiende a evaporarse al igual que los compuestos de interés. El tiempo óptimo fue 30 minutos, se observó que a este tiempo el extracto adquiriría un color verde-amarillento característico como se observa en la Figura 3.1, a tiempos inferiores se logró un extracto verde claro y sobre los 30 minutos se tornaba café. En cuanto a la cantidad de material vegetal seco fue óptimo 1 gramo pues con esta cantidad el extracto mantiene su color característico verde-amarillento, cantidades menores dan coloración verde claro y cantidades superiores dan un extracto café lo cual dificulta la visibilidad de formación de nanopartículas ya que presentan un color similar. El extracto seleccionado fue almacenado a 4°C, y mantuvo su coloración (verde-amarillento) por 45

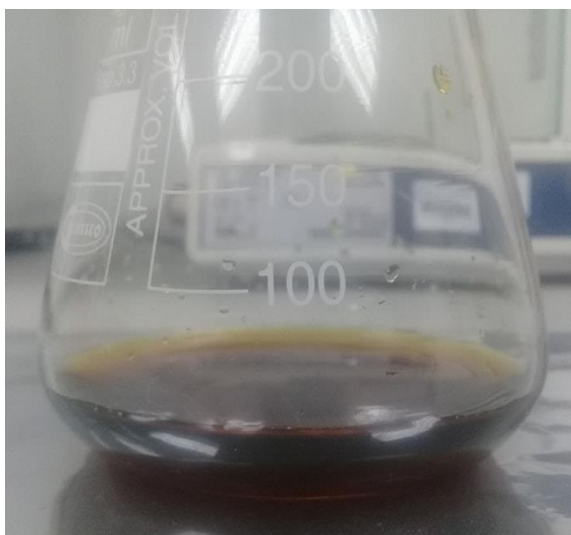
días, pasado este tiempo se tornó café indicando la degradación de compuestos presentes en el extracto.



**FIGURA 3.1** Extracto acuoso de las hojas de la planta sensitiva (*Mimosa albida*)

### 3.2 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

La evidencia de la formación de nanopartículas de plata se da por el cambio de coloración de la solución, es así que el extracto acuoso vegetal que inicialmente era amarillo verdoso, se tornó marrón al añadir la solución de nitrato de plata como se muestra en la Figura 3.2. El color marrón que se visualiza se debe a la resonancia de los plasmones superficiales lo cual es característico de la formación de las nanopartículas. Este color se mantiene aproximadamente 30 días cuando la muestra está en refrigeración.



**FIGURA 3.2** Solución coloidal con nanopartículas de plata

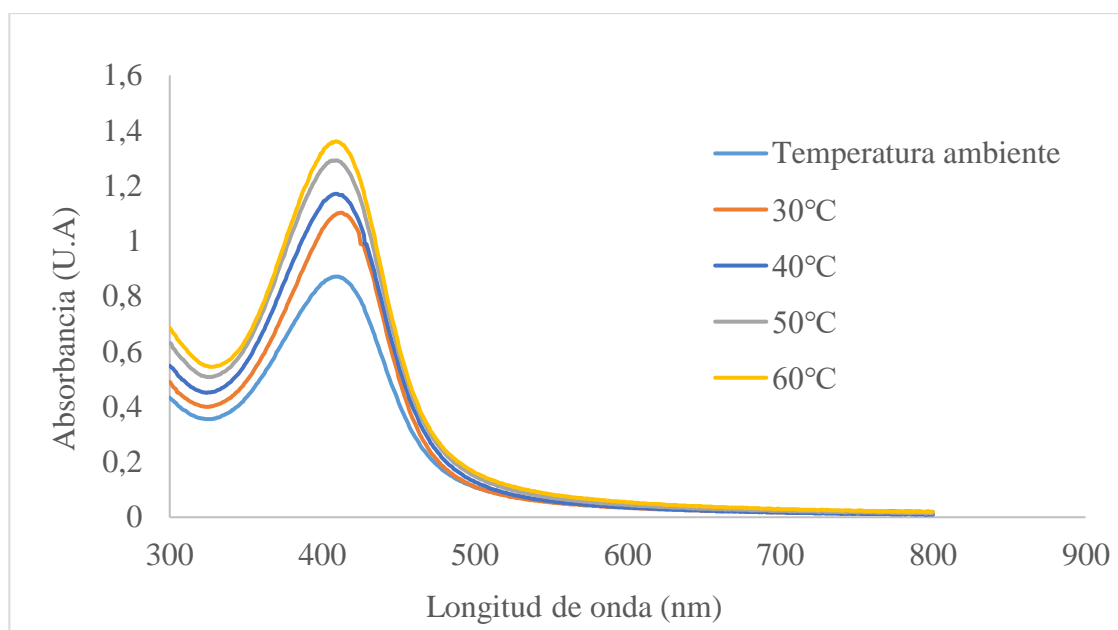
### 3.3 CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA

#### 3.3.1 ESPECTROSCOPIA UV-VIS

Para la optimización de la síntesis de nanopartículas de plata, se variaron los siguientes parámetros: temperatura, tiempo, concentración de nitrato de plata, volumen de extracto y pH. Mediante el estudio de los espectros UV-Vis se pueden modificar condiciones óptimas que permiten controlar la morfología, la estabilidad, la agregación de las nanopartículas y principalmente estimar el tamaño promedio de las nanopartículas de acuerdo al pico característico del plasmón superficial de resonancia que se presenta en el intervalo de 400-480 nm en el cual el tamaño de partícula oscila entre los 2 a 40 nm y su forma es esférica esto según Pradeep, 2012.

##### 3.3.1.1 CONTROL DE TEMPERATURA

Para evaluar el comportamiento de las nanopartículas frente al cambio de temperatura, se analizaron los espectros UV-Vis que se observan en la Figura 3.3, obtenidos en el rango desde temperatura ambiente, 30, 40, 50 y 60°C.



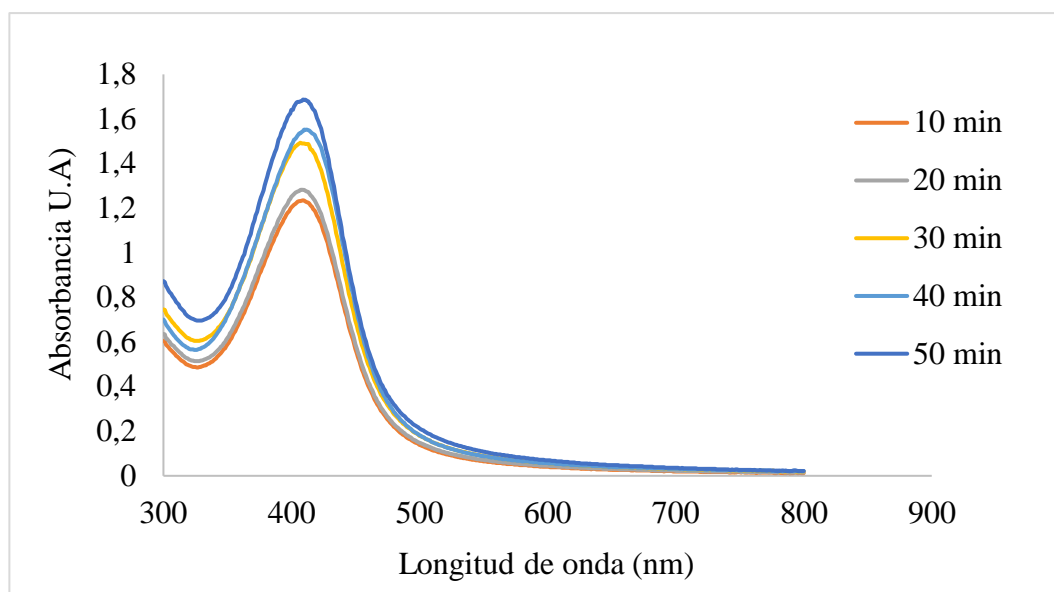
**FIGURA 3.3** Espectro UV-Vis del efecto de la temperatura sobre la síntesis de las nanopartículas de plata

Los espectros obtenidos mostraron que las bandas de máxima absorción se encontraban a 50°C y 60°C; ambos picos presentan longitudes de onda cercanos 418 nm y 413 nm respectivamente, sin embargo el pico a 60 °C presenta mayor absorbancia indicando mayor cantidad de nanopartículas formadas, además su longitud de onda se acerca más a 400 nm lo cual es ideal para lograr nanopartículas de tamaño inferiores a 40 nm esto según Pradeep, T (2012). Se descartaron temperaturas inferiores, pues se pierde la simetría y la estrechez de los picos, que puede ser resultado de la agregación de nanopartículas o menor cantidad de nanopartículas formadas, provocando inestabilidad de la solución coloidal, además de la disminución de la absorbancia y desplazamiento de los picos hacia longitudes de ondas mayores incrementando el tamaño de las nanopartículas.

Los resultados obtenidos son similares al estudio realizado por Ganaiea, S *et al.* 2014, en el que emplea el extracto acuoso de *Mimosa púdica* para la síntesis de nanopartículas de plata encontraron una temperatura óptima a 70°C, visualizaron un espectro UV-Vis con máximo de absorción a 420 nm, logrando obtener tamaños de nanopartículas entre 10 y 60 nm medidos por microscopía electrónica de transmisión (TEM). Además proponen que a temperaturas más altas se pueden obtener tamaños de nanopartículas menores, sin excluir el punto de ebullición del solvente empleado.

### **3.3.1.2 CONTROL DE TIEMPO**

Para evaluar el comportamiento de las nanopartículas en función del tiempo, se analizaron intervalos de 10, 20, 30, 40 y 50 minutos. A partir de los cuales se obtuvieron los espectros UV-Vis que se observan en la Figura 3.4.



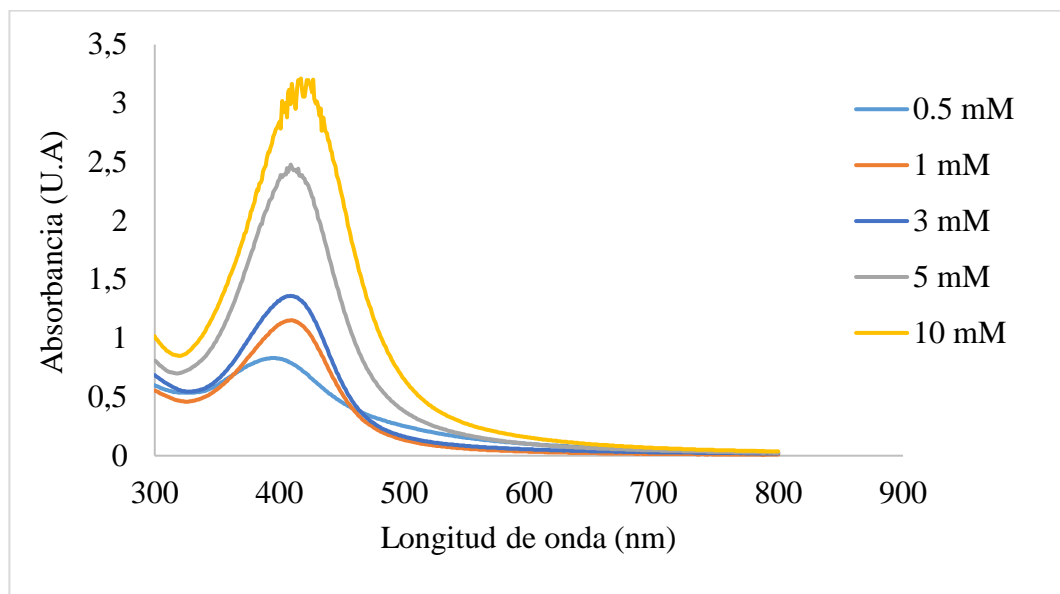
**FIGURA 3.4** Espectro UV-Vis del efecto del tiempo sobre la síntesis de las nanopartículas de plata

El tiempo que muestra un pico más resuelto, simétrico y estrecho corresponde a los 50 minutos. El espectro UV-Vis obtenido nos muestra que a mayor tiempo de reacción, la concentración de nanopartículas aumenta, razón por la cual a los 50 minutos se observa un pico más pronunciado con mayor absorbancia en relación a los demás. Sin embargo pasado este tiempo, disminuye la intensidad del pico y se desplaza hacia longitudes de onda mayores, inclusive con tiempos superiores a los 90 minutos existe precipitación, indicativo de la aglomeración de las nanopartículas mostrando inestabilidad de la solución coloidal. Por otro lado tiempos inferiores, muestran picos anchos y poco simétricos, desplazados hacia longitudes de onda mayores, esto como indicio de que la reducción es incompleta, lo cual también se evidencia con la disminución de la absorbancia.

Resultados similares se obtuvieron en el estudio de Sreenivasulu, V *et al.* 2016 en el que emplea el extracto acuoso de *Mimosa púdica* para la síntesis de nanopartículas de plata en el cual determinó como tiempo óptimo de agitación de 60 minutos mostrando un pico de máxima absorción a 430 nm. De acuerdo al autor a medida que aumenta el tiempo de reacción la intensidad del pico también lo hace, esto a causa del incremento en el número de nanopartículas de plata en el medio de reacción, en el momento en que los iones plata presentes se han reducido en su totalidad a nanopartículas de plata este pico tiende a disminuir bajando su absorbancia, siendo esta la causa de la disminución de la intensidad de los picos que se muestran en el presente estudio.

### 3.3.1.3 CONTROL DE LA CONCENTRACIÓN DE NITRATO DE PLATA

Para el estudio de la concentración de la sal precursora se empleó el rango de 0.5, 1.0, 3.0, 5.0 y 10 mM; obteniendo los espectros UV-Vis que se muestra en la Figura 3.5.

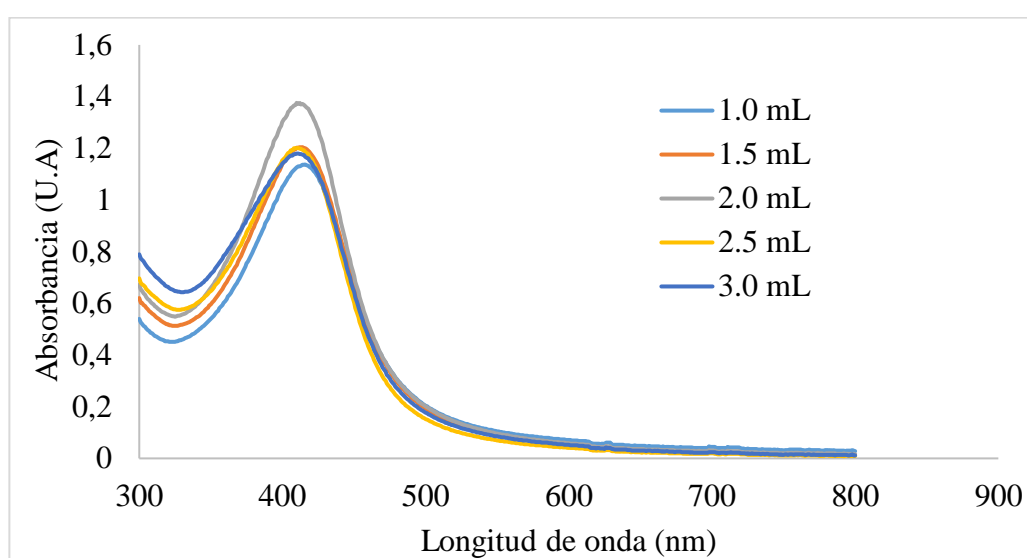


**FIGURA 3.5** Espectro UV-Vis del efecto de la concentración de nitrato de plata sobre la síntesis de las nanopartículas de plata

Se eligió como óptima la concentración de 1.0 mM, cuyo pico de máxima absorbancia se encuentra a 412 nm, siendo el pico con menor longitud de onda. Según Neira, 2015 concentraciones bajas de la sal precursora, aumentan la distancia de difusión que conduce a tamaños de partículas más pequeños, además que la concentración ideal de nitrato de plata para trabajar con extractos vegetales debe ser 1.0 mM, con el fin de obtener nanopartículas de menor tamaño con alto rendimiento (Domenech, 2017). No se eligió la concentración 0.5 mM, pues el pico de máxima absorción poco pronunciado y ancho. Para concentraciones altas (5.0 y 10.0 mM) los picos se desplazan a longitudes de onda mayores y se vuelven irregulares, dificultando determinar el máximo de absorción, inclusive al sintetizar las nanopartículas con la solución 10 mM, se observó precipitación, indicando aglomeración.

### 3.3.1.4 CONTROL DE VOLUMEN DE EXTRACTO

El empleo de un extracto vegetal como reductor es lo que convierte a la síntesis de nanopartículas de plata en una metodología verde. La presencia de varios componentes conocidos como metabolitos secundarios de la planta hacen posible la reducción de los cationes en una disolución de nitrato de plata (Neira, 2015), siendo esto el indicio para estudiar el comportamiento de la formación de nanopartículas en función del volumen de extracto. Es así que se probó el rango de 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL, obteniendo los espectros mostrados en la Figura 3.6.



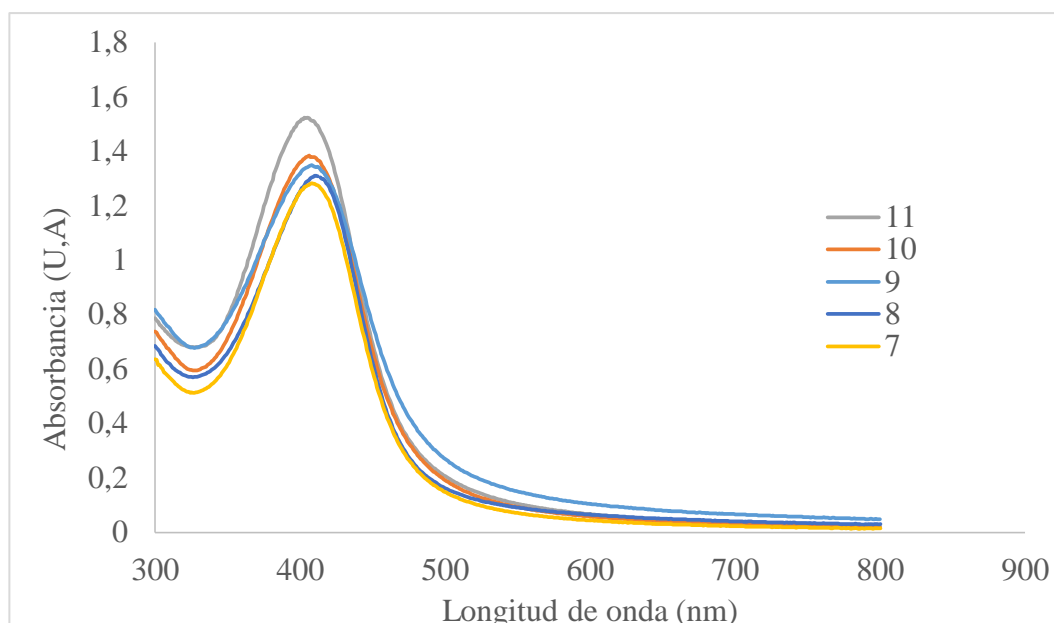
**FIGURA 3.6** Espectro UV-Vis del efecto del volumen de extracto sobre la síntesis de las nanopartículas de plata

Se determinó como condición óptima 2.0 mL de volumen de extracto, con un pico de máxima absorción de 412 nm. En el estudio realizado por Neira (2015), se menciona que al aumentar la cantidad de extracto, aumenta la cantidad de moléculas reductoras que incrementan el número de nanopartículas sintetizadas. Sin embargo al emplear volúmenes superiores (2.5 y 3.0 mL) muestran picos desplazados hacia longitudes de onda mayores indicando que existe un crecimiento del tamaño de la partícula, inclusive la absorbancia disminuye indicando pérdida de concentración de nanopartículas, por tal motivo no es conveniente emplear concentraciones mayores a los 2.5 mL, pues se ven afectados por el tiempo y temperatura ya establecidos, es por ello que requerirían variar estos dos parámetros para lograr una máxima concentración de nanopartículas.

El estudio realizado por Geanaiea, *et al.* 2015, manifiesta que el aumento de la concentración del extracto depende también de la relación con la concentración del nitrato de plata, obteniendo un aumento de la absorbancia que mejora su simetría, logrando menos polidispersión. Además que al usar poca cantidad de extracto en el momento de la formación de las nanopartículas no logran recubrirse por completo del residuo orgánico del extracto, por tal motivo a medida que la concentración del extracto se incrementa en relación a los iones plata y se logrará un recubrimiento eficaz. Sin embargo se requiere aumentar mayor cantidad de reactivo y no contribuye a la síntesis verde, es por ello que se emplean concentraciones bajas de nitrato de plata 1mM.

### **3.3.1.5 CONTROL DE PH**

Se sintetizaron nanopartículas de plata modificando el pH con hidróxido de sodio al 1% en el rango de 7, 8, 9,10 y 11, obteniendo el espectro mostrado en la Figura 3.7, donde se mostró el pico de mayor absorbancia (411nm) a pH 8, siendo este simétrico y estrecho. En el estudio de Martínez (2013), se menciona que el pH influye en la forma de las nanopartículas y que el medio óptimo para aumentar su concentración es a pH básico por el aumento de grupos hidroxilos. Si bien la absorbancia de las nanopartículas de plata aumenta a pH superiores a 8, el pico se vuelve irregular y por lo tanto dificulta identificar el máximo de absorción. Esto se debe a la pérdida de estabilidad, inclusive a un pH muy alcalino superior a 9, puede verse afectado el contenido de compuestos fenólicos pues estos pueden sufrir ionizaciones por el aumento de grupos hidroxilo. Como se menciona en el estudio realizado por Sumi *et al.* 2014. Por otro lado si el pH disminuye considerablemente, es decir pH menores a 7, se puede observar aglomeraciones mostrando picos anchos desplazados a longitudes de onda mayores.



**FIGURA 3.7** Espectro UV-Vis del efecto del pH sobre la síntesis de las nanopartículas de plata

Resultados similares se observan en el estudio realizado por Geanaiea, *et al.* 2015, en el cual se estudió el pH en el rango de 2-11 unidades, logrando la formación de nanopartículas óptimas a un pH aproximadamente de 9. Se menciona que el aumento de pH conlleva a la síntesis de nanopartículas en mayores cantidades logrando obtener picos pronunciados, simétricos y estrechos. Este aumento de pH causa desprotonación de los grupos hidroxilo y carboxilo presentes en las biomoléculas del extracto lo que facilita la reducción de los iones plata y su estabilización.

### 3.3.1.6 ESTIMACIÓN DEL TAMAÑO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Con el estudio de los efectos de temperatura, tiempo, concentración de nitrato de plata, volumen de extracto y pH, se obtuvieron los parámetros óptimos para la síntesis de nanopartículas de plata los cuales se detallan en la Tabla 3.2.

**TABLA 3.2** Parámetros óptimos para la síntesis de nanopartículas de plata

<b>Parámetro</b>	<b>Condición óptima</b>
Temperatura	60 °C
Tiempo	50 min
Concentración de nitrato de plata	1 mM
Volumen de extracto	2.0 mL
pH	8

Con estas condiciones se realizaron tres repeticiones de la síntesis de nanopartículas de plata como se puede observar en el Anexo 1, con el fin de estimar el tamaño aproximado de nanopartículas por Espectrofotometría UV-Vis. Los valores obtenidos de absorbancia y longitud de onda se muestran en la Tabla 3.3.

**TABLA 3.3** Valores de absorbancia y longitud de onda para las repeticiones de la síntesis

<b>Síntesis #</b>	<b>Longitud de onda (nm)</b>	<b>Absorbancia (UA)</b>
1	413	1.198
2	411	1.201
3	410	1.179
Promedio	411	1.193

Según Pradeep, 2012 el tamaño de partícula difiere con la posición del pico (nm), como se puede apreciar en la Tabla 3.4 (Pradeep, 2012).

**TABLA 3.4** Tamaño de partícula según la posición del pico en base al espectro UV-Vis

<b>Tamaño de partícula (nm)</b>	<b>Posición del pico (nm)</b>
10-14	400
35-50	430
60-80	438

Fuente: Pradeep, 2012

El promedio de la longitud de onda de máxima absorción para la síntesis de nanopartículas de plata fue de 411 nm. En base a los resultados propuestos por Pradeep

(2012), podemos estimar que el valor promedio del tamaño de las nanopartículas de plata sintetizadas se encuentra dentro del rango de 10-14 nm. Otra forma de poder definir el tamaño de nanopartícula es a través de la Teoría de Mie que estudia la dispersión de las radiaciones electromagnéticas producidas por las nanopartículas de forma esférica (Martínez J. , 2006). En el presente trabajo el tamaño de nanopartícula se estimó por datos de bibliografía según Pradeep (2012).

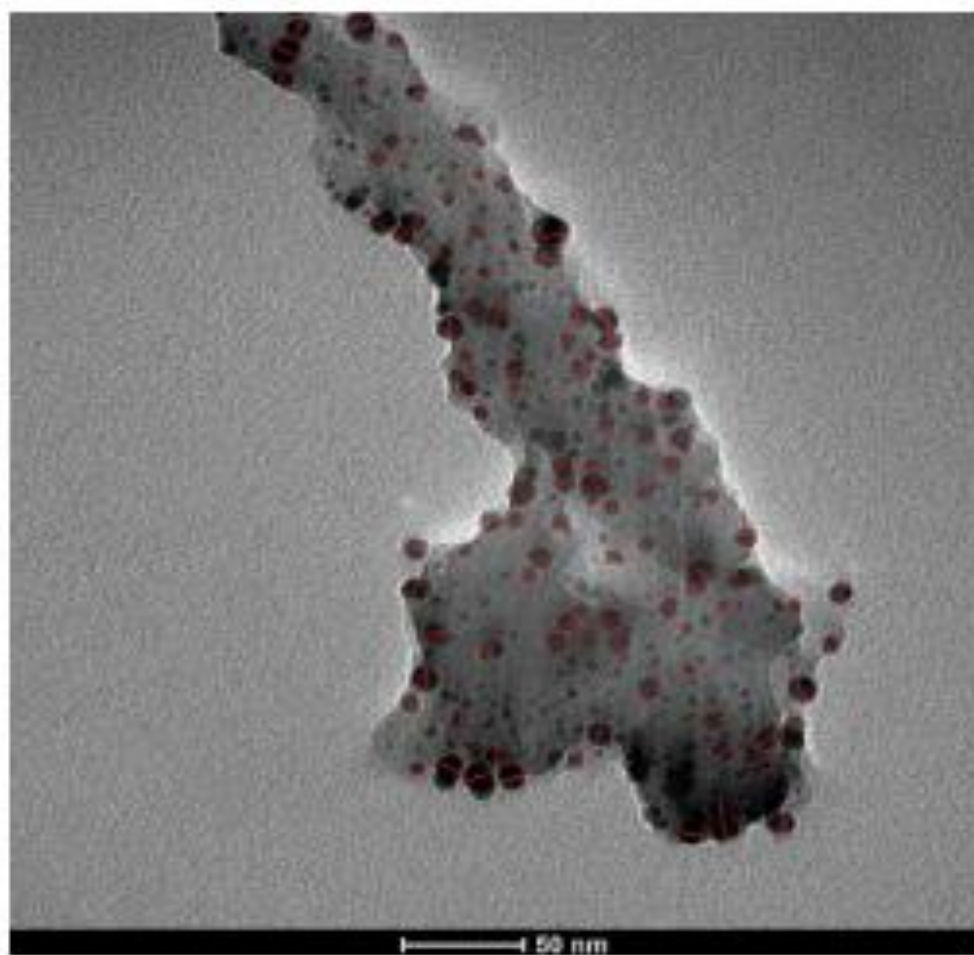
No se han encontrado estudios sobre la síntesis de nanopartículas de plata empleando el extracto acuoso de las hojas de sensitiva (*Mimosa albida*) que permitan corroborar el presente trabajo, sin embargo se ha tomado como referencia de estudio y de investigación al género *Mimosa* para sustentar los resultados obtenidos. Es así que en cuanto a la estimación del tamaño de nanopartícula se mencionan los estudios que emplean extracto acuoso de la planta *Mimosa púdica* dentro de los cuales se menciona el trabajo realizado por Geanaiea, *et al.* 2015, en el que se logró obtener nanopartículas de plata con un pico de máxima absorción a 420 nm indicando un tamaño de nanopartícula entre 10-14 nm. Así mismo en el estudio realizado por Sreenivasulu, V *et al.* 2016, presenta el máximo de absorción a 430 nm con un tamaño estimado de nanopartícula entre 35-50 nm; esto indica que el tamaño de nanopartícula puede variar dependiendo de las condiciones del método. En el presente trabajo de investigación se logró obtener un máximo de absorción de 411 nm, cuyo valor es inferior al de las investigaciones mencionadas, por lo tanto la metodología de síntesis es óptima para asegurar un buen tamaño de nanopartícula que lograría encontrarse en el rango de 10-14 nm.

### **3.3.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMICIÓN (TEM).**

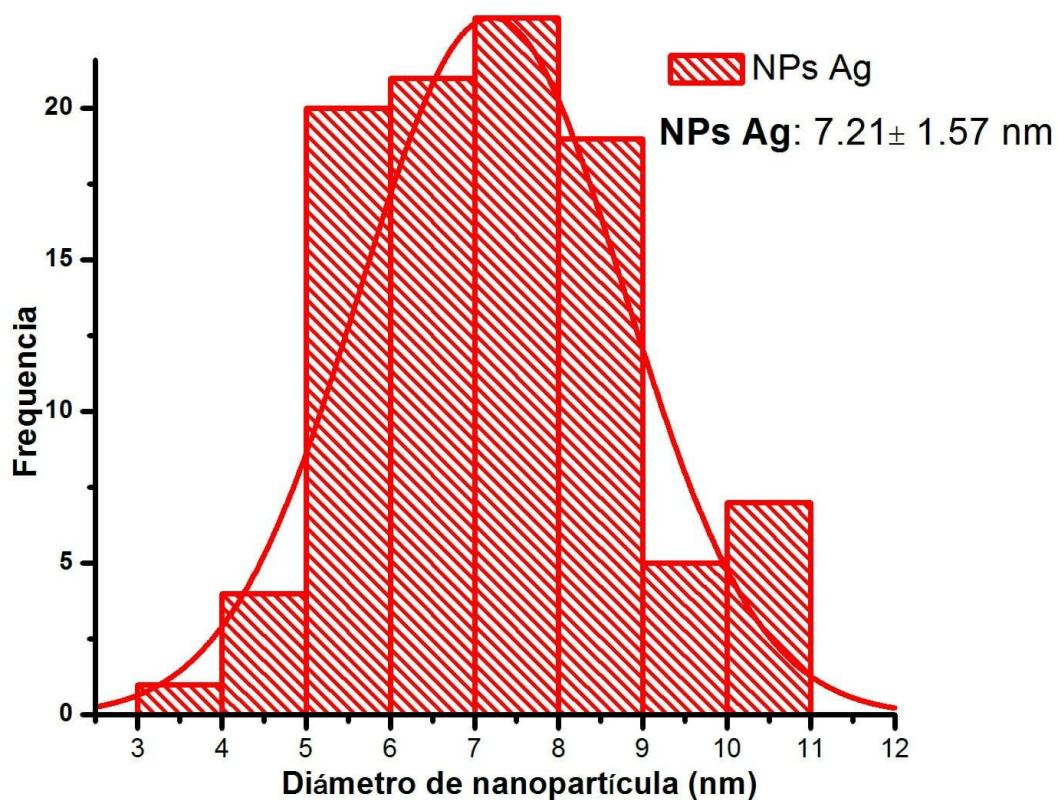
El análisis TEM se empleó para confirmar el tamaño de las nanopartículas de plata sintetizadas que se estimó por Espectroscopía UV-Vis, así también determinar su morfología, distribución de tamaño y agregación.

La imagen TEM obtenida se aprecia en la Figura 3.8, siendo el tamaño de partícula medido por esta técnica aproximadamente de  $7.21 \pm 1.57$  nm, esto se logró realizando 100 mediciones del tamaño de las nanopartículas obteniendo un histograma de frecuencias como se observa en la Figura 3.9, que permitió definir el rango de tamaño. El valor por análisis TEM entra en el rango estimado por Espectroscopía UV-Vis entre 10-14 nm. Por lo tanto se

confirma que el tamaño de nanopartículas es óptimo. Además, gracias a la escala de grises mostrada en la Figura 3.8 se puede apreciar forma cuasi-esférica de las nanopartículas de plata, las cuales presentan variabilidad de tamaño con poca agregación, además la escala de grises mostrada permite identificar a las nanopartículas de plata en específico, a la cual se le atribuye el color negro intenso, ya que se podrían confundir con otro tipo de elementos presentes.



**FIGURA 3.8** Imagen TEM de las nanopartículas de plata sintetizadas



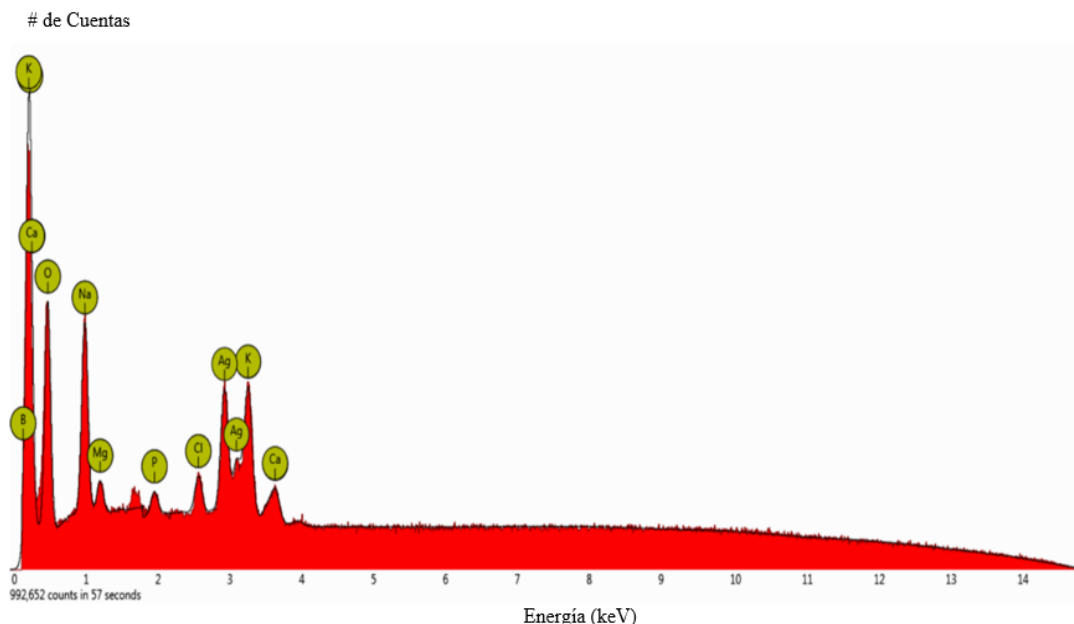
**FIGURA 3.9** Histograma de frecuencias para determinar el tamaño de las nanopartículas de plata sintetizadas

Resultados similares se obtuvieron en el estudio de Ganaie, S *et al.* 2015, con la planta *Mimosa púdica* en cual revela el tamaño de nanopartícula variable en un rango de 10-60 nm con forma predominante esférica y separación entre nanopartículas que resulta del efecto de estabilización del extracto vegetal.

### 3.3.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO CON DETECTOR EDS

Mediante el análisis SEM se obtuvo la composición elemental de las muestras de nanopartículas de plata.

El gráfico que proporciona el análisis EDS confirma la presencia de elementos químicos, siendo la plata la de mayor interés, que se encuentran en la superficie de las nanopartículas de plata, como se puede observar a continuación en la Figura 3.10.



**FIGURA 3.10** Imagen SEM-EDS de la composición elemental de las nanopartículas de plata

Según el estudio realizado por Ganaie, S *et al.* 2015, los monocristales de plata metálica muestran un pico característico a 3 KeV debido a la resonancia de los plasmones superficiales, lo cual se puede apreciar en la Figura 3.10, además muestra picos de carbono y oxígeno que se debe a la presencia de restos orgánicos del extracto de la planta.

Los principales elementos que se identificaron en la superficie de las nanopartículas se detallan en la Tabla 3.5.

**TABLA 3.5** Principales elementos identificados en las nanopartículas de plata

Elemento	Concentración (ppm)	% Error
C	56.6	0.07
O	14.9	0.02
Na	1.7	0.00
K	0.6	0.01
<b>Ag</b>	<b>0.7</b>	<b>0.01</b>
Cl	0.1	0.03
Mg	0.2	0.01

El contenido de carbono en las nanopartículas es elevado (56.6%), en cierta parte se debe atribuir a que la lectura de la muestra se realiza en un pin del elemento y a la composición de la planta, aunque un porcentaje puede ser producto de la presencia de matrices orgánicas en la muestra. Además, hay presencia de otros elementos como O, Na, K, Cl, Mg que pueden provenir del material vegetal empleado.

### 3.4 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico consiste en una serie de pruebas cualitativas que nos permitieron identificar la presencia de metabolitos de la plata sensitiva (*Mimosa albida*), con el fin de determinar el posible agente reductor de las nanopartículas.

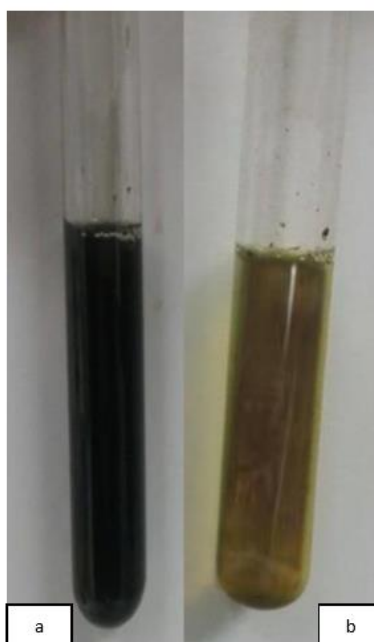
Al tener el extracto inicial y la solución de las nanopartículas de plata en un medio acuoso, las pruebas aplicadas corresponden a la identificación de metabolitos que son solubles en agua.

Las pruebas se aplicaron tanto en el extracto acuoso de la planta como en la solución coloidal de las nanopartículas, esto también para verificar si existe o no variación de color de los complejos luego de la síntesis. La presencia de estos grupos químicos se evidencio con el cambio de coloración característico a cada prueba. Los resultados obtenidos se presentan a continuación en la Tabla 3.6.

**TABLA 3.6** Pruebas correspondientes al Tamizaje fitoquímico

<b>Ensayo</b>	<b>Prueba en extracto de la plata</b>	<b>Prueba en nanopartículas en solución coloidal</b>	<b>Metabolito secundario identificado</b>
Cloruro Férrico	+++	+	Polifenoles/ Taninos
Shinoda	+++	+++	Flavonoides
Fehling	++	+	Azúcares reductores
<b>Índice:</b>			
Ausente (-)	Presente (+)	Abundante (++)	Muy abundante (+++)

El ensayo de cloruro férrico fue positivo, indicando la presencia de polifenoles (taninos hidrosolubles) lo cual se evidenció con una coloración verde muy pronunciada en el extracto de la planta que en la solución coloidal de las nanopartículas de plata como se puede observar en la Figura 3.11. Algo similar ocurrió en la prueba de Fehling en el cual el precipitado rojo ladrillo fue más visible en el extracto de planta que en la solución coloidal de nanopartículas de plata como se aprecia en la Figura 3.12. La disminución en color en la solución de nanopartículas de plata, indica que se produjo una reacción química y por lo tanto que existe menos cantidad tanto de polifenoles como de azúcares reductores, considerándolos de esta manera como los posibles reductores.

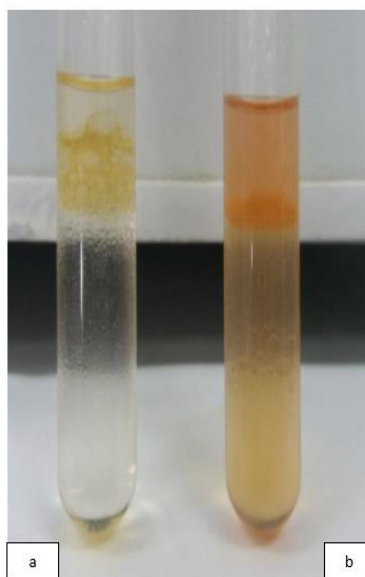


**FIGURA 3.11** Ensayo de Cloruro Férrico. (a) Extracto de planta sensitiva (*Mimosa albida*). (b) Solución coloidal de nanopartículas de plata



**FIGURA 3.12** Ensayo de Azúcares Reductores. (a) Extracto de planta sensitiva (*Mimosa albida*). (b) Solución coloidal de nanopartículas de plata

La prueba de Shinoda para identificación de flavonoides fue positivo, tanto en el extracto de la planta como en la solución coloidal de las nanopartículas de plata, dando una coloración amarillo-naranja como se observa en la Figura 3.13, producto de la formación del complejo que resulta de la reacción del cloruro de magnesio con los flavonoides según Flor *et al.* 2017. Pero de no variar el color no se considera como positiva.



**FIGURA 3.13** Ensayo de Shinoda. (a) Extracto de planta sensitiva (*Mimosa albida*). (b) Solución coloidal de nanopartículas de plata

Según Quezada (2015) en su estudio de tamizaje fitoquímico de la especie *Mimosa albida*, destaca la presencia de metabolitos secundarios como polifenoles (taninos hidrolizables), flavonoides y azúcares reductores en el extracto de la planta en medio acuoso. En el presente estudio se obtuvieron positivas las pruebas para los metabolitos, siendo los polifenoles (taninos hidrolizables) y los azúcares reductores quienes se destacan por sus características colorimétricas, por lo tanto podemos sugerir que son los posibles responsables de la reducción química que permite la formación de nanopartículas de plata. Además según el estudio realizado por Cabrera, 2006 señala la presencia de galato de etilo y ácido gálico como taninos importantes en el extracto, y como azúcar reductor principal señala la presencia de glucosa (Cabreba, 2006). Con este antecedente, podemos dar inicio al estudio de identificación específica del tipo de tanino y azúcar reductor que produce la reducción química.

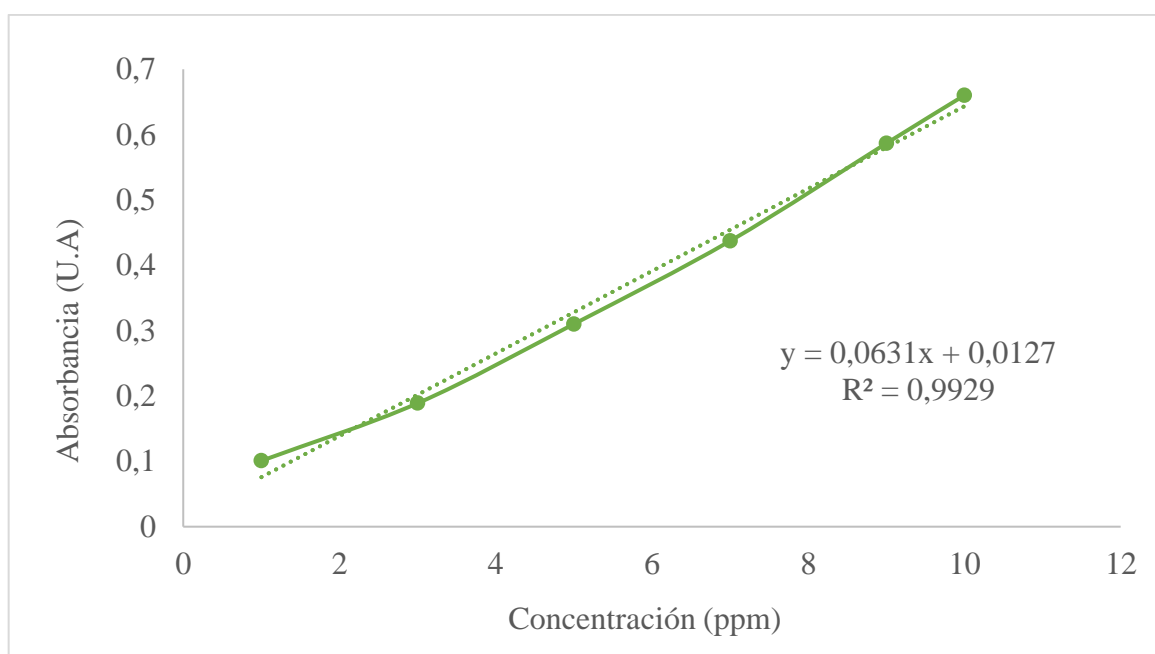
### **3.5 ANÁLISIS CUANTITATIVO DE POLIFENOLES**

#### **3.5.1 CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO GÁLICO**

Para la curva de calibración se empleó ácido gálico como estándar de referencia para la cuantificación de polifenoles tanto en el extracto acuoso de la plata sensitiva (*Mimosa albida*) como en la solución coloidal de nanopartículas de plata. A partir de los valores de Absorbancia (U.A) vs Concentración (ppm) reportados en la Tabla 3.7, se elaboró la curva de calibración que se muestra en la Figura 3.14, la cual tuvo un coeficiente de correlación aceptable de 0.9929.

**TABLA 3.7** Datos de la curva de calibración de ácido gálico para cuantificación de polifenoles

Concentración (ppm)	Absorbancia (U.A)
1	0.10
3	0.19
5	0.31
7	0.44
9	0.59
10	0.66



**FIGURA 3.14** Curva de calibración de ácido gálico para la cuantificación de polifenoles totales en el extracto de la planta sensitiva (*Mimosa albida*) y en la solución coloidal de nanopartículas de plata

La curva de calibración nos proporciona información sobre la ecuación de la recta, ordenada al origen y la pendiente, empleados para la cuantificación de polifenoles en el extracto de la planta sensitiva (*Mimosa albida*) y en la solución coloidal de las nanopartículas de plata. Los valores respectivos se detallan en la Tabla 3.8:

**TABLA 3.8** Componentes de la curva de calibración para la cuantificación de polifenoles en el extracto de la planta sensitiva (*Mimosa albida*) y en la solución coloidal de las nanopartículas de plata

Ecuación de la recta	$y = 0.0631x + 0.0127$
Pendiente (a)	0.0631
Ordenada (b)	0.0127
Coefficiente de correlación ( $R^2$ )	0.9929

### 3.5.2 CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES A PARTIR DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO GÁLICO

Para determinar la concentración de polifenoles se midió la absorbancia a 756 nm por triplicado tanto del extracto acuoso de sensitiva (*Mimosa albida*) y de la solución de nanopartículas de plata, y con la ecuación de la recta se determinó la concentración de fenoles totales, los cálculos respectivos se pueden observar en el Anexo 3. Los resultados obtenidos se detallan a continuación en la Tabla 3.9.

**TABLA 3.9** Concentración de polifenoles en el extracto acuoso de la planta sensitiva (*Mimosa albida*) y de la solución coloidal de nanopartículas de plata

Extracto acuoso de sensitiva ( <i>Mimosa albida</i> )	Absorbancia (U.A)	Solución coloidal de nanopartículas de plata	Absorbancia (U.A)
1	0.37	1	0.29
2	0.37	2	0.28
3	0.37	3	0.31
<b>Promedio</b>	0.37		0.29
<b>Desviación estándar</b>	0.01		0.01
<b>Concentración de polifenoles (mg/mL)</b>	1.13		0.88

El contenido de polifenoles (taninos hidrolizables) en el extracto de sensitiva (*Mimosa albida*) fue de 1.13 mg/mL lo cual indica que por cada mL de extracto vegetal existe 1.13 mg de polifenoles expresados como ácido gálico, por otro lado en la solución de

nanopartículas de plata hubo disminución del contenido de este metabolito dando como resultado una concentración de 0.88 mg/mL, indicando que hubo una reacción química que produjo la reducción de los iones plata para la formación de nanopartículas.

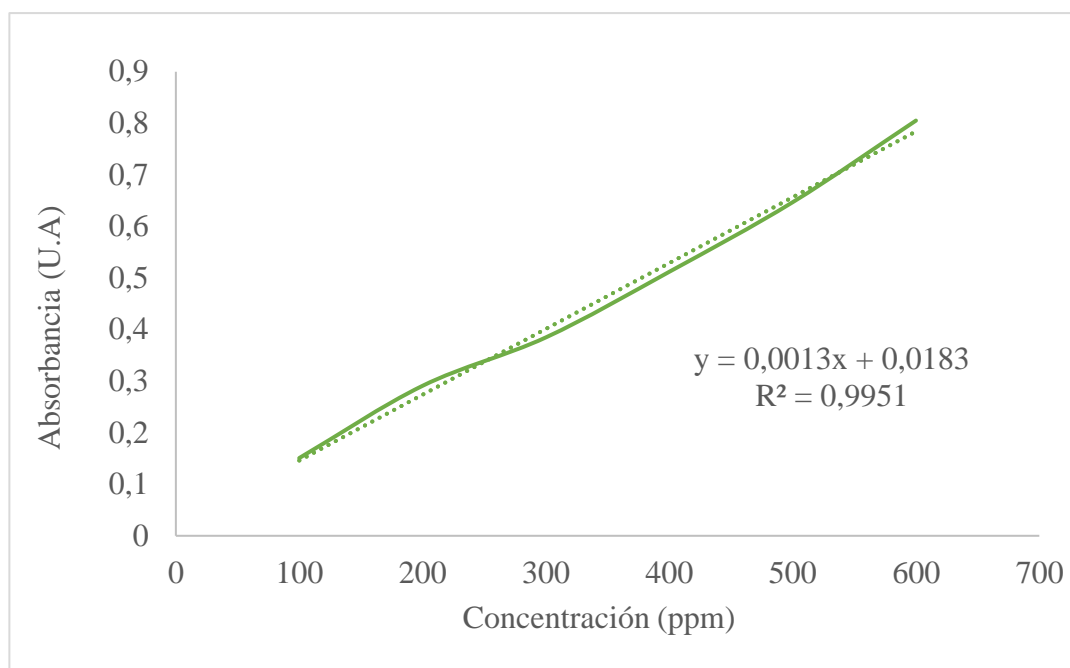
### 3.6 ANÁLISIS CUANTITATIVO DE AZÚCARES REDUCTORES

#### 3.6.1 CURVA DE CALIBRACIÓN DE GLUCOSA

La curva de calibración fue elaborada con glucosa como estándar de referencia para la cuantificación de azúcares reductores en el extracto acuoso de la planta sensitiva (*Mimosa albida*) y en las nanopartículas de plata. Con los valores de Absorbancia (U.A) vs Concentración (ppm) reportados en la Tabla 3.10 se elaboró la respectiva curva de calibración mostrada en la Figura 3.15, la cual tuvo un coeficiente de correlación aceptable de 0.9951.

**TABLA 3.10** Datos de la curva de calibración de glucosa para cuantificación de azúcares reductores

Concentración (ppm)	Absorbancia (U.A)
100	0.15
200	0.29
300	0.38
400	0.51
500	0.65
600	0.81



**FIGURA 3.15** Curva de calibración de glucosa para la cuantificación de azúcares reductores en el extracto de la planta sensitiva (*Mimosa albida*) y en las nanopartículas de plata

La curva de calibración nos proporciona información sobre la ecuación de recta, cuyos valores se detalla en la Tabla 3.11.

**TABLA 3.11** Componentes de la curva de calibración para la cuantificación de azúcares reductores en el extracto de la planta sensitiva (*Mimosa albida*) y en las nanopartículas de plata

Ecuación de la recta	$y = 0.0013x + 0.0183$
Pendiente (a)	0.0013
Ordenada (b)	0.0183
Coefficiente de correlación ( $R^2$ )	0.9951

### 3.6.2 CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES A PARTIR DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE GLUCOSA

Para determinar la concentración de azúcares reductores se midió por triplicado la absorbancia a 492 nm tanto las muestras del extracto vegetal como de las nanopartículas de plata y a partir de la ecuación de recta se determinó la concentración de azúcares reductores, los cálculos respectivos se pueden observar en el Anexo 4. Los resultados obtenidos se presentan a continuación en la Tabla 3.12.

**TABLA 3.12** Concentración de azúcares reductores en el extracto acuoso de la planta sensitiva (*Mimosa albida*) y de la solución coloidal de nanopartículas de plata

<b>Extracto acuoso de sensitiva (<i>Mimosa albida</i>)</b>	<b>Absorbancia (U.A)</b>	<b>Solución coloidal de nanopartículas de plata</b>	<b>Absorbancia (U.A)</b>
1	0.49	1	0.35
2	0.46	2	0.41
3	0.52	3	0.38
<b>Promedio</b>	0.49		0.38
<b>Desviación estándar</b>	0.03		0.03
<b>Concentración de azúcares reductores (mg/mL)</b>	36.35		2.78

El contenido de azúcares reductores en el extracto acuoso de sensitiva (*Mimosa albida*) fue de 36.35 mg/mL expresados como glucosa, lo que indica que por cada mL de extracto vegetal hay 36.35 mg de azúcares reductores, por otro lado en la solución de nanopartículas de plata el contenido de este metabolito disminuyó significativamente dando una concentración de 2.78 mg/mL, lo cual indica que ha producido una reacción química que ocasionó la reducción de una cantidad considerable de iones plata, por lo tanto se considera que los azúcares reductores son los agentes de reducción presentes en el extracto de la plata que permiten la formación de nanopartículas.

## CAPÍTULO IV

### 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 CONCLUSIONES

El extracto acuoso de las hojas de sensitiva (*Mimosa albida*), empleado como agente reductor tuvo resultados favorables en la síntesis de nanopartículas de plata, siendo los parámetros óptimos: 60°C, 2 mL de extracto acuoso, nitrato de plata 1.0 mM, pH 8 durante 50 minutos con agitación constante. Obteniendo un método de síntesis de bajo costo, rapidez, baja complejidad y amigable con el medio ambiente.

Las nanopartículas de plata sintetizadas presentan un pico de máxima absorción simétrico y estrecho alrededor de 411nm, cuyo tamaño promedio estimado por Espectroscopía UV-Vis está en el rango de 10-14 nm, el cual fue confirmado mediante el análisis TEM obteniendo nanopartículas de plata de  $7.2 \pm 1.57$  nm, de forma cuasi-esférica con variabilidad de tamaños y poca agregación, confirmando el recubrimiento adecuado de las nanopartículas de plata con el extracto.

El análisis por SEM-EDX mostró un contenido de plata muy bajo 0.7%, afirmando que el recubrimiento que logran es debido al extracto de la planta.

Las pruebas cualitativas del tamizaje fitoquímico destacaron la presencia de polifenoles y azúcares reductores en el extracto de la planta, los cuales cambiaron sus propiedades colorimétricas en la solución coloidal de nanopartículas de plata, siendo la degradación de color el indicio para determinar los principales responsables de la reducción química.

La concentración de polifenoles (taninos hidrolizables) expresados como ácido gálico, en el extracto de planta de sensitiva (*Mimosa albida*) fue de 1.13 mg/mL, mientras que en la solución de nanopartículas de plata fue de 0.88 mg/mL; por otro lado la concentración de azúcares reductores expresados como glucosa en el extracto de sensitiva (*Mimosa albida*) fue de 36.35 mg/mL y de 2.78 mg/mL en la solución de nanopartículas de

plata. Ambos metabolitos, polifenoles (taninos hidrolizables) y azúcares reductores presentan disminución de su concentración en la solución coloidal de nanopartículas de plata lo cual indica que se ha producido una reacción química en la que los iones plata son reducidos; sin embargo se muestra una disminución significativa de azúcares reductores en la solución de nanopartículas enfocado a la reducción de mayor cantidad de iones plata, por lo que se los considera como los principales agentes de la reducción química confirmando el recubrimiento adecuado de las nanopartículas con el extracto.

## **4.2 RECOMENDACIONES**

El estudio de las nanopartículas de plata de manera más compleja como: tamaño específico, análisis elemental, funcionalización, textura, evaluación de tensión, entre otras, se deben llevar a cabo mediante técnicas más sensibles como por ejemplo: Microscopio de efecto Túnel (STM), Microscopio de Fuerza Atómica (AFM) para la medición más exacta del núcleo metálico de plata, Dispersión dinámica de Luz (DLS) para determinar el espesor del recubrimiento orgánico del extracto sobre las nanopartículas.

El contenido de polifenoles y azúcares reductores da una idea de los principales metabolitos secundarios que contribuyen a la reducción química para la formación de nanopartículas de plata, sin embargo es conveniente aplicar técnicas de cuantificación como: Cromatografía de gases (GC), Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) que permitan identificar el metabolito específico que provoca la reducción.

## BIBLIOGRAFÍA

Aguiar, C., Carrillo, F., Días, S., Parreño, J., & Vallejo, L. (2014). *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*. Obtenido de Escuela de Bioquímica y Farmacia: <https://sites.google.com/site/laboratoriosbioquimica/bioquimica-i/carbohidratos/reaccion-de-fehling>

Ahmad, N., & Sharma, S. (2012). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Extracts of *Ananas Comosus*. *Green and Sustainable Chemistry*, 2(12), 141-147.

Álvarez, C., & Lock, O. (1992). Taninos. *Revista de Química*, 6(1), 47-59.

Ávalos, A., Haza, A., Mateo, D., & Morales, P. (2013). Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos toxicológicos para la salud humana y el medio ambiente. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 7(2), 1-23.

Ayala, N. (2010). Tesis de Post-Grado: *Nanopartículas de plata como microbicidas: actividad y mecanismos de acción contra la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y diferentes bacterias resistentes a antibióticos*. Universidad Autónoma de Nuevo León. España.

Bodaiah, B., Usha, K., Vijayalakshmi, M., Rama, Sambasia, K., & Sudhakar, P. (2016). Green synthesis, characterisation and biological activities of silver nanoparticles by using *Wrightia tomentosa* leaves. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(6), 226-278.

Caballero, G. (2011). *Servicios Centrales de Apoyo a la Investigación (SCAI)*. Obtenido de Unidad de Microscopía Electrónica de Barrido: [http://www.scai.uma.es/servicios/area\\_microscopia/sem/sem.html](http://www.scai.uma.es/servicios/area_microscopia/sem/sem.html)

Cabreba, M. (2006). Tesis de Pregrado: Estudio químico de las hojas y tallos de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncífera* (Benth) Barneby. *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*. México.

Cabrera, A. (2006). *Pontificia Universidad Católica de Chile*. Obtenido de Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido SEM: <http://servicios.fis.puc.cl/sem/microscopio.html>

Camacho, P., & Deschamps, M. (2013). Tesis de Pre-grado: *Síntesis de nanopartículas de plata y modificación con pulpa de papel para aplicación antimicrobial*. Universidad de Cartagena Facultad de Ingeniería, Colombia.

Campos, L. (2015). *Síntesis de Nanopartículas no esféricas*. Obtenido de <https://prezi.com/qdgi8qrvogt/sintesis-de-nanoparticulas-no-esfericas/>

Canabal, B. A. (2015). Nanoética. Una reflexión ética necesaria por una nueva revolución científica, la Nanotecnología. *Relectiones*, 3(2), 95-106.

Cano, T. (2014). Caracterización de una espirolactona sesquiterpénica  $\alpha$ -metilénica obtenida de *Ambrosia arborescens* milerl y evaluación de su actividad biológica en *tripanosoma cruzi*. *Revista Soc-Quim Perú*, 80(2), 124-135.

Capelo, M., & Pérez, M. (2011). Tesis de Pre-grado: *Determinación de carbohidratos totales en bebidas analcohólicas consumidas por adolescentes en la ciudad de Cuenca y Nabón*. Universidad de Cuenca, Ecuador.

Carr, H., Wlodkowski, T., & Rosenkranz, H. (1973). Silver Sulfadiazine: In Vitro Antibacterial Activity. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 4(5), 585–587.

Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5-14.

Cruz, D., Rodríguez, M., López, J., Herrera, V. O., & Creus, A. (2012). Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: una relación profunda. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 3(2), 67-78.

De Lamo Santamaría, B. (2015). Tesis de Pre-grado: Obtención y caracterización de nanopartículas de oro a partir de mostos. *Universidad de Valladolid*. España.

Desurvire, E. (2010). Introduction to Nanoscience and Nanotechnology. *Wiley, John Wiley & Sons, INC., Publications*, 5(2), 1-5.

Devaraj, P., P, K., Aarti, C., & Renganathan, A. (2013). Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using Cannonball Leaves and Their Cytotoxic Activity against MCF-7 Cell Line. *Journal of Nanotechnology*, 3(6), 107-112.

Díaz, N., Bárcena, A., Fernández, E., Galván, A., Jorrín, J., Peinado, J., Túnez, I. (2010). *Espectrofometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. Obtenido de Universidad de Córdoba-Departamento de Bioquímica y Biología Molecular: <https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/practicasgenerales.htm>

Domenech, F. (2017). Tesis de Pre-grado: Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata usando extracto de hojas de *Ambrosia arborescens* (marco) como reductor químico. *Pontificia Universidad Católica del Ecuador*. Quito.

Elechiguerra, J., Burt, J., Morones, J., Camacho, B., Lara, H., & Yacaman, M. (2005). Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *Nanobiotechnology*, 3(6), 195-207.

Encarnación, G. (2013). *Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal San Miguel de Ibarra*. Obtenido de <http://es.calameo.com/read/0033776548d8f28d2418c>

Fernández, S. (2011). *Innovación tecnológica y transformación social en Europa*. Obtenido de Microscopio electrónico de transición. Imágenes 3D de la Nanotecnología: <https://nanotecnologia.fundaciontelefonica.com/2011/03/23/microscopio-electronico-de-transmission-imagenes-3d-de-la-nanotecnologia/>

Fernández, T. (2017). Tesis de Pre-grado: Estudio de las aplicaciones biomédicas de las nanopartículas de plata. *Universidad de Sevilla*. España.

Flor, H., & Parra, M. (2017). Tesis de Pre-grado: Estandarización Fitoquímica de extarctos hidroalcohólicos de Ishpik (Ocotea quixos), LAM KOSTERN. *Universidad Politécnica Salesiana*, Quito.

Flores, C. (2014). Nanopartículas de plata con potenciales aplicaciones en materiales implantables: síntesis, caracterización fisicoquímica y actividad bactericida. *Publicaciones de ciencia*, 4(2), 3-15.

Gamo, A. J., & Sanchez, J. (2015). Enseñar Nanotecnología a través de nuestros antepasados. *Revista de Física-MOMENTO*, 13(50), 56-67.

Ganaiea, S., Tasneem, A., & Abbasi, S. (2015). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using an Otherwise Worthless Weed Mimosa (Mimosa Pudica): Feasibility and Process Development Towards Shape/Size Control. *Particulate Science and Technology: An International Journal*, 33(5), 37-41.

García, M. (2006). Tesis de Pre-grado: Nanomateriales para aplicaciones avanzadas. *Universidad de granada, Universidad de Alicante*. Departamento de Química Inorgánica España, España.

García, M., Fernández, S., & Fuentes, L. A. (2009). Tesis de Pregrado: Determinación de polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteu. *Universidad Politécnica de Valencia*, España.

Gomez, D. (2011). Tesis de Pre-grado: Validación de la metodología por el método estándar 3111<sup>a</sup> – Absorción Atómica para el análisis de metales pesados en muestras de aguas y aguas residuales. *Universidad Tecnológica de Pereira*, Colombia.

González, G., & Rosas, G. (2014). Síntesis de nanopartículas de plata empleando el extracto de la planta *Gnaphalium Conoideum* Kunth. *Revista Soluciones de postgrado EIA*, 58(17), 129-140.

Gueno, Y. (2010). Tesis de Pre-grado: *La etnobotánica y la agrobiodiversidad como herramientas para la conservación y el manejo de recursos naturales: un caso de estudio*

en la Organización de Parteras y Médicos Indígenas Tradicionales 'Nahuatlxihiuitl' de Ixhuatlancillo, Veracruz. México.

Gutiérrez, A., Ortiz, G., & Mendoza, C. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. *Simposio de Metrología-Universidad Autónoma de Querétaro*, 17(6), 1108-1113.

Guzmán, M., Dille, J., & Godet, S. (2009). Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. *International Journal of Chemical and Biomolecular Engineering*, 45(18), 357-364.

Hernández, L., & González, C. (2002). Introducción al análisis instrumental. España: Ariel Ciencia.

Jafar, A., Naeem, A., Syed, U., Hassan, W., Kifayatullah, K., & Gang, P. (2017). Insight into eco-friendly fabrication of silver nanoparticles by *Pseudomonas aeruginosa* and its potential impacts. *Environmental Chemical Engineering*, 5(4), 3266-3272.

Jiménez, M., & Lazo, E. (2005). Tesis de Pre-grado: *Determinación de taninos en epicarpio de Persea americana g. (aguacate), Corteza de psidium guajava l. (guayabo) y semillas de Vitis vinifera dc. (vid)*. Universidad de El Salvador. Facultad de Química y Farmacia. El Salvador.

Labrada, G., & Peña, A. (2001). *Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencia y Nanotecnología (LINAN)*. Obtenido de Microscopios electrónicos de barrido SEM: [http://www.linan-ipicyt.mx/Microscopio\\_de\\_Barrido.html](http://www.linan-ipicyt.mx/Microscopio_de_Barrido.html)

López, T., Morales, L., Olea, M. O., Sánchez, M., Trujillo, J., & Varela, V. (2016). Nanoestructuras metálicas, síntesis y aplicaciones. México: Reverte S.A.

López, X., Taramuel, A., Arboleda, C., Segura, F., & Restrepo, L. (2017). Comparación de métodos que utilizan ácido sulfúrico para la determinación de azúcares totales. *Revista Química Cubana*, 29(2), 180-198.

Martínez, A. (2015). Tesis de Pre-grado: Determinación de Polifenoles Totales, actividad antioxidante y antocianinas de jugo de murtila (*Ugni molinae Turcz*) obtenido por condensación de vapor. *Universidad Austral de Chile*. Chile.

Martínez, F., & Pérez, I. (2009). Tesis de Pre-grado: Calibración de un Espectrofotómetro UV-Visible y Evaluación de la Incertidumbre. *Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua*. Nicaragua.

Martinez, F., Zuñiga, E., & Ana Sanchez, L. K. (2013). Método de síntesis de nanopartículas de plata adaptable a laboratorios de docencia relacionado con la nanotecnología. *Mundo-nano*, 6(10), 101-106.

Martínez, J. (2006). Tesis de Post-grado: Determinación de tamaño de partículas mediante la dispersión angular de la luz . *Universida de la Habana*. La Habana.

Martínez, M. (2001). *Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y productos naturales*. Cuba: Edit.MES.

Mendoza, U., & Rodríguez, L. (2007). La nanociencia y la nanotecnología: una revolución en curso. *Scielo Analytics*, 15(29), 161-185.

Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Investigación Química*, 105(1), 33-41.

Mubayi, A., Chatterji, S., Rai, P., & Watal, G. (2012). Evidence bases green synthesis of nanoparticles. *Advanced Materials Letters*, 3(6), 519-525.

Neira, I. (2015). Tesis de Pregrado: *Green synthesis of nanoparticles to remove dyes in Aqueous Media*. Universidad de Coruña. Facultad de Ciencias. Departamento de Química Física e Ingeniería Química. España.

Nina, C., & Romero, G. (2009). Extracción e identificación de alcaloides y otros compuestos químicos de la planta huperziasaururus (cola de quirquincho) sucre 2009. *Ciencias de la Salud, Handbooks*, 5(2), 34-41.

Pal, S., Kyung, T., & Myong, S. (2012). Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium Escherichia Coli. *Appl Environmental and Microbiology*, 73(6), 1712-1720.

Peris, E. (2005). *Ampliación de Química Inorgánica. Parte II: Técnicas estructurales*. Obtenido de Microscopía electrónica: [http://webdeptos.uma.es/qicm/doc\\_docencia/tema14\\_me.pdf](http://webdeptos.uma.es/qicm/doc_docencia/tema14_me.pdf)

Pineda, N. (2013). *Centro de investigaciones en materiales avanzados*. Obtenido de Microscopís Electrónica de Barrido: <http://mty.cimav.edu.mx/sem/>

Portillo, D. (2015). Tesis de Post-grado: *Potencial de nanopartículas de plata inmovilizadas mediante la técnica de ultrasonido recubiertas en corcho granular como agente microbiano* . Universidad Politécnica de Cataluña. España.

Pradeep, T. (2012). *A Textbook of Nanoscience and Nanotechnology*. Nueva Deli: McGraw Hill.

Quezada, M. (2015). *Determinación de fitoconstituyentes de la raíz y hojas de Mimosa albida procedentes de Conache-La Libertad Perú*.

Raisman, J., & González, A. (2013). *Hipertextos del Área de Biología de la Universidad Nacional de Nordeste de Argentina*. Obtenido de Microscopía electrónica de barrido y transición: <http://www.biologia.edu.ar/microscopia/meb.htm>

Ricco, R., Agudelo, R., & Wagner, M. (2015). Métodos empleados en el análisis de los polifenoles en un laboratorio de baja complejidad. *Lilloa*, 52(2), 161-174.

Ringuelet, J., & Viña, S. (2013). *Productos Naturales Vegetales*. Argentina: Universidad Nacional de la Plata.

Rivero, A. (2013). *Determinación cuantitativa de azúcares reductores y totales (Método de Lane y Eynon) y Fibra Cruda*. Obtenido de Universidad Central de Venezuela: <http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/mmedina/archivos/Practica14.pdf>

Rojas, Y., Castrejón, A., & González, I. (2016). La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármacos: ¿La revolución de la terapia contra el cáncer? *Educación Química*, 27(4), 286-291.

Romero, R., Domínguez, G., & Guzmán, D. (2014). Cuantificación de polifenoles en hojas de un clon de uncaria tomentosa (Willd. ex Schult) D.C., proveniente de tres localidades de la región Ucayali. *Sociedad Química de Perú*, 80(3), 174-182.

Santorum, N. (2017). Tesis de Pre-grado: Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata empleando el extracto de las hojas de Matico (Piper aduncum) como un agente reductor. *Pontificia Universidad Católica del Ecuador*, Quito.

Serena, P. (2010). *¿Que sabemos de la Nanotecnología?* España: Los libros de la Catarata.

Skoog, D., Holler, F., & Neiman, T. (2001). *Principios de Análisis Instrumental*. España: McGraw-Hil.

Sorgob, M. (2004). *Toxicología Ambiental y Salud Pública*. Obtenido de Universidad Miguel Hernández de Elché: [http://repositorio.innovacionumh.es/Proyectos/P\\_22CursoMateriales/Miguel\\_Angel\\_Sogorb/Wimba/Espectroscopia\\_04.htm](http://repositorio.innovacionumh.es/Proyectos/P_22CursoMateriales/Miguel_Angel_Sogorb/Wimba/Espectroscopia_04.htm)

Sreenivasulu, V., Siva, K., Suguna, M., Asif, M., Al-Ghurab, E., Huang, Z., & Zhen, Z. (2016). Biosynthesis of Silver Nanoparticles using Mimosa Pudica Plant extract: Characterization, Antibacterial Activity and Electrochemical Detection of Dopamine. *International Journal of Electrochemical Science*, 11(5), 9959 – 9971.

Sumi, M., Devadiga, A., Shetty, K., & Saidutta, M. (2014). Synthesis of silver nanoparticles using medicinal Zizyphus xylopyrus bark extract. *Applied Nanoscience*, 5(6), 755-762.

Toledo, F. (2013). *Determinación de azúcares totales reductores (ART)*. Lima. Obtenido de Universidad Interamericana para el Desarrollo.: <https://es.slideshare.net/FranKlinToledo1/determinacion-de-azucars-reductores-totales-art>

Valladares, S. (2004). *Espectrofotometría de absorción molecular ultravioleta-visible*. Obtenido de Control de Calidad de Insumos y Dietas Acuícolas. México D.F, FAO: <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/AB482S03.htm#ch3>.

Vijay, P., Pammi, S., Kollu, P., Satyanarayana, K., & Shameem, U. (2014). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Boerhaavia diffusa* plant extract and their antibacterial activity. *Industrial Crops and Products*, 52(5), 562-566.

Willy, S., Ujwala, P., & Abhishek, S. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles from stem bark extract of *Terminalia tomentosa* Roxb. *Der Pharma Chemical*, 6(5), 197-202.

Yandún, C. (2015). *Estudio Etnobotánico en la comunidad San Francisco, parroquia la Carolina - Imbabura para potenciar el conocimiento de los recursos florísticos locales*.

Zanella, R. (2012). Metodologías para síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano*, 5(1), 1-13.

## ANEXOS

### ANEXO 1

Certificado Taxonómico de planta sensitiva (*Mimosa albida*).



Ibarra, 14 de mayo del 2018

## CERTIFICADO TAXONOMÍA VEGETAL

El Herbario PUCE-SI certifica que las muestras vegetales de Sensitiva entregadas a la PUCE-Quito pertenecen:

- Familia: Fabaceae
- Género Mimosa
- Especie: *Mimosa albida*.

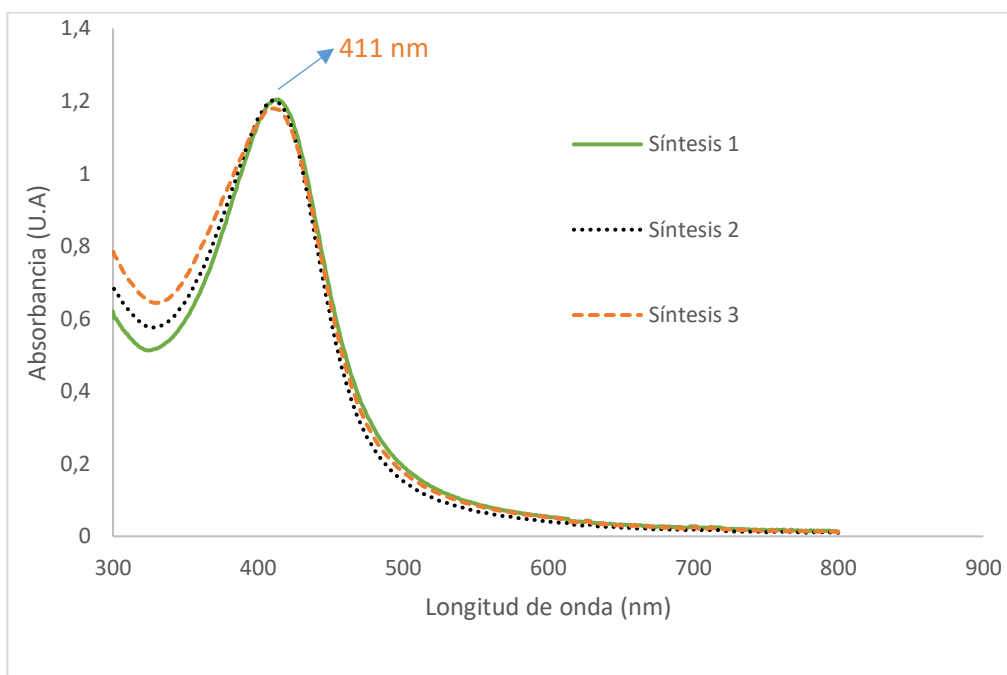
Después de haber realizado la descripción total por medio de las claves dicotómicas.

Mgs. María Fernanda López

**RESPONSABLE DEL HERBARIO PUCE-SI**

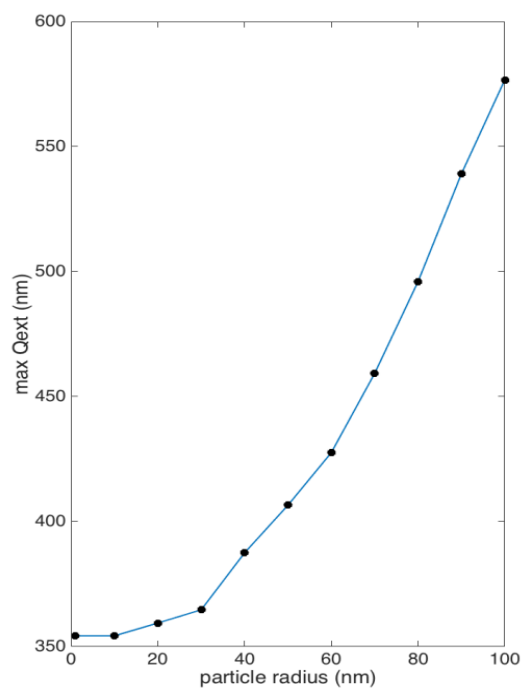
## Anexo 2

### 2A. Espectros UV-Vis de las síntesis optimizadas de las nanopartículas de plata en solución

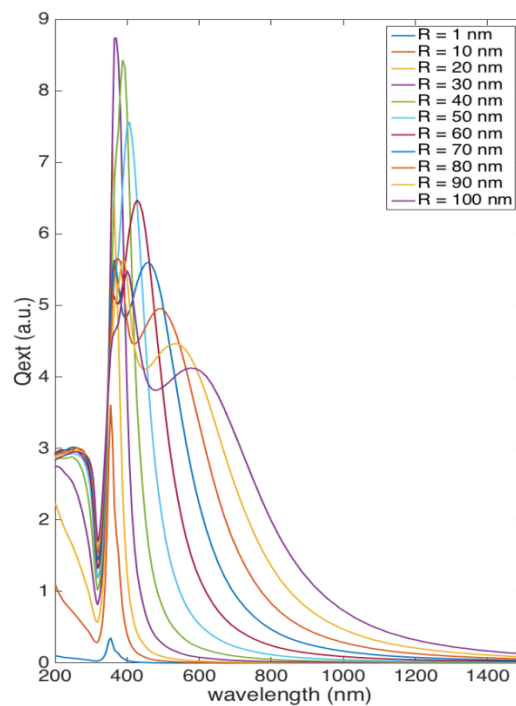


### 2A. Curva longitud de onda (nm) vs. tamaño de nanopartícula (a) y espectro teórico UV-Vis

(b)



a)



b)

**ANEXO 3**

Cálculos para determinar la concentración de polifenoles a partir de la ecuación de la curva.

$$y = 0.0631 x + 0.0127$$

$$x = \frac{y - 0.0127}{0.0631}$$

**Donde:**

y = promedio de absorbancia del extracto vegetal y/o solución de nanopartículas de plata.

$$x = \frac{(\text{absorbancia de extracto vegetal}) - 0.0127}{0.0631}$$

$$x = \frac{0.3697 \frac{\text{mg}}{\text{L}} - 0.0127}{0.0631}$$

$$x = 5.6577 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ de ácido gálico}$$

$$\frac{\text{mg ácido gálico}}{1 \text{ mL de extracto}} = \frac{5.6577 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} * \frac{20 \text{ mL disolvente}}{1 \text{ mL de extracto}} * \text{Factor de dilución (FD)}$$

$$\frac{\text{mg ácido gálico}}{1 \text{ mL de extracto}} = \frac{5.6577 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} * \frac{20 \text{ mL disolvente}}{1 \text{ mL de extracto}} * 10$$

$$\frac{\text{mg ácido gálico}}{1 \text{ mL de extracto}} = 1.13 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ polifenoles}$$

**ANEXO 4**

Cálculos para determinar la concentración de azúcares reductores a partir de la ecuación de la curva.

$$y = 0.0013 x + 0.0183$$

$$x = \frac{y - 0.0183}{0.0013}$$

**Donde:**

y = promedio de absorbancia del extracto vegetal y/o solución de nanopartículas de plata.

Factor de dilución (FD)= 100 (extracto de planta); 10 (solución nanopartículas de plata)

$$x = \frac{(\text{absorbancia de extracto vegetal}) - 0.0183}{0.0013}$$

$$x = \frac{0.4908 \frac{\text{mg}}{\text{L}} - 0.0183}{0.0013}$$

$$x = 363.4615 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ azúcares reductores}$$

$$\text{Concentración real} = 363.4615 \frac{\text{mg}}{\text{L}} * (\text{FD})$$

$$\text{Concentración real} = 363.4615 \frac{\text{mg}}{\text{L}} * 100$$

$$\text{Concentración real} = 36346.15 \frac{\text{mg}}{\text{L}} / 1000$$

$$\text{Concentración real} = 36.35 \text{ mg/mL}$$

**PARA GRADOS ACADÉMICOS DE LICENCIADOS (TERCER NIVEL)**  
**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR DECLARACIÓN Y**  
**AUTORIZACIÓN**

Yo, Dennis Ivonne Amaguaña Pacheco, C.I. 1724140924, autora del trabajo de graduación titulado: “Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata usando como reductor químico el extracto acuoso de hojas de sensitiva (*Mimosa albida*)”, previa a la obtención del grado académico de LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos del autor.
2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad. Quito, 26 de junio de 2018 Srta. Dennis Ivonne Amaguaña Pacheco C.I. 1724140924

Quito, 26 de junio de 2018

Srta. Dennis Ivonne Amaguaña Pacheco  
C.I. 1724140924