



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS CÓRDOBA

POSTGRADO EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE

Síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs) utilizando sábila (*A. barbadensis* Miller) y ajo (*A. sativum* L.) y su aplicación biotecnológica

MARIANA GONZÁLEZ TORRES

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

AMATLÁN DE LOS REYES, VERACRUZ, MÉXICO


2020


La presente tesis, titulada: **Síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs) utilizando sábila (*A. barbadensis* Miller) y ajo (*A. sativum* L.) y su aplicación biotecnológica**, realizada por la alumna: **Mariana González Torres**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

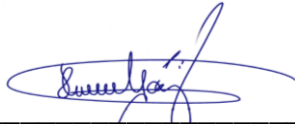
MAESTRA EN CIENCIAS

INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: 
DR. JOSAFHAT SALINAS RUIZ

ASESOR: 
DRA. ADRIANA CONTRERAS OLIVA

ASESOR: 
DR. FERNANDO C. GÓMEZ MERINO

ASESOR: 
DRA. VERÓNICA RIVALCOBA SAUCEDO

Amatlán de los Reyes, Veracruz, México, a 16 de noviembre de 2020

**Síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs)
utilizando sábila (*A. barbadensis* Miller) y ajo (*A. sativum*
L.) y su aplicación biotecnológica**

González-Torres Mariana

Síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs) utilizando sábila (*A. barbadensis* Miller) y ajo (*A. sativum* L.) y su aplicación biotecnológica

Mariana González Torres, MC.

COLEGIO DE POSTGRADUADOS 2020

RESUMEN

Las nanopartículas de plata (AgNPs) muestran propiedades catalíticas y antimicrobianas, con potencial de aplicación en la industria alimentaria. Sin embargo, los métodos convencionales de síntesis generan subproductos tóxicos. Ante esta problemática surge la alternativa de implementar métodos verdes utilizando extractos biológicos como agentes reductores que sean amigables con el ambiente. En esta investigación se sintetizaron AgNPs utilizando dos extractos vegetales comerciales de sábila (*Aloe barbadensis* Miller) y ajo (*Allium sativum* L.) con la finalidad de aplicarlas como antimicrobiano y en el desarrollo de sensores. Para la síntesis de AgNPs se utilizaron AgNO_3 0.001 mM como precursor metálico y los extractos vegetales como agentes reductores. La temperatura de síntesis utilizada fue de 90°C bajo agitación constante a 300 rpm. Las AgNPs se caracterizaron mediante espectrofotometría UV-Vis, microscopía electrónica de transmisión y difracción de rayos X. Las AgNPs obtenidas se aplicaron en sensores a base de óxido de estaño (SnO_2) para la diferenciación de Piscos peruanos a través de una nariz electrónica y se evaluó la actividad antibacteriana de las AgNPs biosintetizadas utilizando sábila. Los resultados obtenidos muestran que las AgNPs sintetizadas en este trabajo presentan efectividad antimicrobiana y poseen características apropiadas para su aplicación en sensores.

DEDICATORIA

A Dios

A mi familia, mis padres y mi hermana

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento otorgado para la realización de mis estudios de maestría.

Al Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, por permitirme realizar mi investigación en sus instalaciones y por el financiamiento de este proyecto. También le agradezco el apoyo de la LGAC-3: Comercialización Y Competitividad Agroalimentaria Con Responsabilidad Social Y Ambiental, del programa de Innovación Agroalimentaria Sustentable del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba.

A mi consejero el Dr. Josafhat Salinas Ruiz, por su invaluable apoyo y toda la motivación brindada. Agradezco infinitamente su confianza, su buen humor y su paciencia para la realización de este proyecto.

A los miembros de mi Consejo Particular Dr. Fernando Gómez, Dra. Verónica y Dra. Adriana por sus observaciones y apoyo durante mi formación académica.

A la Dra. Ma. Antonieta Ríos Corripio por su gran apoyo y atinadas observaciones.

Al Dr. Francisco Hernández Rosas y el Dr. Ricardo Hernández Martínez por sus aportaciones y apoyo incondicional dentro de su gran equipo de trabajo.

Al M.C. David Castilla Marroquín por su extraordinaria amistad, todos sus consejos y su fortaleza y optimismo transmitido.

A la Dra. María del Rosario Sun Kou y al Grupo GICA por su valioso apoyo para la realización de esta investigación. Al Magister Henry Cárcamo Cabrera por su valiosa amistad. A los Magister Jorge Trevejo y Fabiola Hualpa y el químico Joseph Peña por compartirme su conocimiento y su gran apoyo durante mi estancia de investigación. A Oshiro y Alanise por su increíble amistad y todas las divertidas experiencias en Lima.

CONTENIDO

RESUMEN.....	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
CONTENIDO	iv
1.1 Introducción General.....	2
1.2 Planteamiento del problema.....	3
2. Objetivos.....	4
3. Hipótesis	5
4. Innovación	5
5. Sustentabilidad	5
6. Literatura citada	6
CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA	7
1.1 Nanotecnología.....	8
1.2 Síntesis de nanopartículas	9
1.3 Métodos físicos	10
1.4 Método químico	11
1.5 Método de microemulsión	11
1.6 Síntesis asistida por microondas.....	12
1.7 Síntesis fotoquímica.....	12
1.8 Reducción química.....	12
1.9 Síntesis de AgNPs mediante reducción química	13
1.10 Química verde.....	15
1.11 Síntesis verde	17
1.12 Síntesis verde de AgNPs	18
1.13 Aplicaciones de las nanopartículas	19
1.14 Caracterización de nanopartículas	21
1.15 Nanopartículas de plata (AgNPs)	24
1.16 Ajo (<i>Allium sativum</i> L.)	26
1.17 Sábila (<i>Aloe barbadensis</i> Miller).....	27
Literatura citada	28

CAPÍTULO II. SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA UTILIZANDO SÁBILA (<i>A. barbadensis</i> Miller) Y AJO (<i>A. sativum</i> L.) COMO AGENTES REDUCTORES.....	39
RESUMEN.....	41
2.1 Introducción	42
2.2 Materiales y métodos	43
2.3 Caracterización de AgNPs	44
2.4. Resultados y discusión	47
2.5 Conclusiones	55
2.6 Recomendaciones	56
2.7 Agradecimientos	56
Literatura citada	56
CAPÍTULO III. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA OBTENIDAS MEDIANTE SÍNTESIS VERDE DE SÁBILA (<i>A. barbadensis</i> Miller) COMO AGENTE REDUCTOR	63
RESUMEN.....	65
3.1 Introducción	66
3.2 Materiales y métodos	67
3.3 Resultados y discusión	70
3.4 Conclusiones	76
3.5 Recomendaciones	76
3.6 Agradecimientos	76
Literatura citada	77
CAPÍTULO IV. APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA OBTENIDAS MEDIANTE SÍNTESIS VERDE EN SENSORES BASADOS EN ÓXIDO DE ESTAÑO PARA LA DIFERENCIACIÓN DE PISCOS PERUANOS	81
RESUMEN.....	83
4.1 Introducción	84
4.2 Materiales y métodos	86
4.3 Caracterización de los sensores	89
4.4 Resultados y discusión	92
4.5 Conclusiones	100
4.6 Recomendaciones	100
4.7 Agradecimientos	100

Literatura citada	100
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES	105

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AgNPs: Nanopartículas de plata

ANN: Redes neuronales artificiales

AuNPs: Nanopartículas de oro

BSS: Brust-Schiffrin

CA: Análisis de conglomerados

CAD: Convertidor analógico/digital

CMI: Concentración mínima inhibitoria

CN: Caldo nutritivo

CuNPs: Nanopartículas de cobre

DADS: dialil disulfuro

DAS: dialil azufre

DATS: dialil trisulfuro

DI: Pisco Demonio de los Andes Italia

DLS: Dispersión dinámica de la luz

DRX: Difracción de rayos X

EMB: Agar eosina y azul de metileno

Fe₃O₄NPs: Nanopartículas de óxido de hierro

FTIR: Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

GAV: Grado de alcohol volumétrico

GHz: Gigahertz

Hz: Hertz

IR: Infrarrojo

JCPDS: Comité Conjunto sobre Normas de Difracción de Polvo

LDA: Análisis de discriminación lineal

MHA: Agar Mueller-Hinton

MHz: Megahertz

mM: milimolar

NADH: Nicotinamida adenina dinucleótido

NaOH: Hidróxido de sodio

NASA: Administración Nacional de Aeronáutica y el Espacio

NPs: Nanopartículas

PCA: Análisis de componentes principales

PEI: Polietilenimina ramificada

pH: Potencial de hidrógeno

PLRS: Regresión de mínimos cuadrados parciales

PMAA: Ácido polimetacrílico

PMMA: Polimetilmetacrilato

PVP: Poli N-vinil-2-pirrolidona PEG: Polietilenglicol

QI: Pisco Queirolo Italia

QQ: Pisco Querirolo Quebranta

ROS: Especies reactivas de oxígeno

SAC: g-glutamil S-alilcisteína

SAMC: S-alilmercaptocisteína

SEM: Microscopía electrónica de barrido

SnO₂: Óxido de estaño

SPR: Resonancia del plasmón superficial

TEM: Microscopía electrónica de transmisión

UFC: Unidades formadoras de colonias

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Compuestos sulfurados presentes en el ajo (Morales-González <i>et al.</i> , 2019).	27
Figura 2. Metabolitos secundarios presentes en la sábila (Chinchilla <i>et al.</i> , 2013). .	28
Figura 3. AgNPs sintetizadas usando extracto de sábila S1 y S2 (A) y ajo S3 y S4 (B).....	44
Figura 4. Espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific™.....	45
Figura 5. Difractómetro de rayos X BRUKER D8 Discover.....	46
Figura 6. Microscopio electrónico de transmisión JEOL JEM-1010® (A) y portamuestras con la rejilla de cobre con AgNPs (B).	47
Figura 7. Espectro UV-Vis de AgNPs sintetizadas usando extracto de sábila (A) S1, (B) S2.	48
Figura 8. Espectro UV-Vis de AgNPs sintetizadas usando extractos de ajo (A) S3, (B) S4.	49
Figura 9. Patrones DRX de AgNPs sintetizadas usando extracto de sábila (S1 y S2) y ajo (S3 Y S4).....	52
Figura 10. Micrografía TEM de AgNPs utilizando sábila como agente reductor, (A) S1, (B) S2.	53
Figura 11. Distribución de tamaños de AgNPs utilizando sábila como agente reductor (A) S1, (B) S2.	53
Figura 12. Micrografía TEM de AgNPs utilizando ajo como agente reductor, (A) S3, (B) S4.	54
Figura 13. Distribución de tamaños de AgNPs utilizando ajo como agente reductor (A) S3, (B) S4.	54
Figura 14. Cepas bacterianas en agar EMB <i>Escherichia coli</i> (A) y <i>Enterobacter aerogenes</i> (B).	70
Figura 15. Concentración mínima inhibitoria de AgNPs S1 (A) y S2 (B) contra <i>E. coli</i>	71
Figura 16. Concentración mínima inhibitoria de AgNPs S1 (C) y S2 (D) contra <i>E. aerogenes</i>	71
Figura 17. Controles negativos <i>Escherichia coli</i> (A') y <i>Enterobacter aerogenes</i> (B').	72

Figura 18. Actividad antibacteriana de AgNPs S1 (A, B, C, D) y S2 (E, F, G, H) contra <i>Escherichia coli</i> utilizando 25, 50, 75 y 100 µg/mL, respectivamente.	72
Figura 19. Actividad antibacteriana de AgNPs S1 (A, B, C, D) y S2 (E, F, G, H) contra <i>Enterobacter aerogenes</i> utilizando 25, 50, 75 y 100 µg/mL, respectivamente.	73
Figura 20. Actividad antimicrobiana de AgNPs S1 y S2 a diferentes concentraciones (µg/mL) contra <i>E. coli</i> y <i>E. aerogenes</i> mediante prueba de difusión en agar.....	73
Figura 21. Piscos peruanos seleccionados para el análisis.....	87
Figura 22. Electrodo interdigitales de platino sobre sustrato de alumina.	87
Figura 23. Material para preparar sensores a base de SnO ₂ con AgNPs utilizando sábila (A) y ajo (B).	88
Figura 24. Sensores a base de SnO ₂ y AgNPs.	89
Figura 25. Sistema de nariz electrónica. Muestra en el burbujeador (a), sistema hidráulico (b), cámara de sensado (c), controlador de temperatura (d), interfaz del software LabView2018 (e), cámara de sensado con arreglo de sensores (f).	90
Figura 26. Respuesta del sensor durante 3 ciclos de sensado indicando las condiciones de tiempo establecidas para el análisis.	91
Figura 27. DRX de sensores a base de SnO ₂ dopados con AgNPs sintetizadas utilizando sábila (Sensor A) y ajo (Sensor B).	93
Figura 28. DRX de SnO ₂ sin dopar y sensores dopados con AgNPs A y B.....	95
Figura 29. Señales obtenidas para el Pisco DI con los sensores A y B.....	97
Figura 30. Señales obtenidas para el Pisco QI con los sensores A y B.....	97
Figura 31. Señales obtenidas para el Pisco QQ con los sensores A y B.....	98
Figura 32. Análisis PCA utilizando sensores A a base de SnO ₂ dopado con AgNPs-sábila para la diferenciación de Piscos.	99
Figura 33. Análisis PCA utilizando sensores B a base de SnO ₂ dopado con AgNPs-ajo para la diferenciación de Piscos.	99

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Los 12 principios de la química verde (Anastas & Eghbali, 2010; C. M. Hussain & Keçili, 2020).....	15
Cuadro 2. Descripción en el etiquetado de los Piscos.....	92
Cuadro 3. Análisis de grado alcohólico volumétrico (GAV) de los Piscos.....	92
Cuadro 4. Análisis del tamaño del cristal.	94

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 Introducción General

Actualmente la nanotecnología es una herramienta innovadora que propone un amplio campo de aplicación de nuevos materiales a escala nanométrica en el rango de 1-100 nm (I. Hussain *et al.*, 2016). Recientemente, las nanopartículas (NPs) son de gran interés y demanda debido a sus propiedades físicas, químicas y funcionales únicas. Las NPs metálicas presentan características ópticas, magnéticas, eléctricas y catalíticas únicas para ser utilizadas en múltiples aplicaciones en biomedicina, farmacéutica, electrónicas, sensores, antimicrobianos, entre otros (Oliveira *et al.*, 2019; Polte, 2015). Por consiguiente, es necesario desarrollar métodos eficaces y competentes para obtenerlas (Beyene *et al.*, 2017). Existen diferentes enfoques para la síntesis de NPs, como el método físico y químico (Lee & Jun, 2019). Sin embargo, estos métodos producen consecuencias negativas debido al uso y generación de sustancias tóxicas para el ambiente (I. Hussain *et al.*, 2016). No obstante, métodos de síntesis verde se han desarrollado como una alternativa ante el uso de reactivos químicos. El principio de la síntesis verde es similar al químico, pero el agente reductor es reemplazado por un compuesto bioactivo, como polisacáridos, proteínas y enzimas, extraídos de productos naturales como plantas, bacterias, hongos y algas (Ahmed *et al.*, 2016a; Beyene *et al.*, 2017; Javaid *et al.*, 2017). Diversos autores han reportado el uso exitoso de nanopartículas de plata (AgNPs) destacando su uso en la biomedicina, almacenamiento de alimentos, recubrimientos textiles y remediación ambiental (Ahmed *et al.*, 2016a), además de su aplicación como antibacterianos, antifúngicos, catalizadores y en el desarrollo de sensores. Ante esta demanda se requiere de un método sostenible y rentable para su producción en masa (Javaid *et al.*, 2017).

1.2 Planteamiento del problema

La actual demanda de nanomateriales para su aplicación en diferentes áreas como la médica, electrónica, alimentaria, farmacéutica, textil, cosmética y remediación ambiental, requiere de métodos eficientes y con un alto rendimiento en la producción de AgNPs. Sin embargo, los métodos físicos y químicos utilizan y generan sustancias tóxicas, que, al ser desechados, tienen un impacto negativo en el ambiente. Ante esta problemática, desarrollar e implementar métodos de síntesis ambientalmente amigables, eficientes y rentables son necesarios. Las AgNPs tienen potencial para ser aplicadas en diversos campos debido a que poseen atractivas propiedades ópticas, electrónicas y funcionales. El uso de extractos vegetales como agentes reductores son una alternativa para la obtención de AgNPs evitando el uso de reductores químicos tóxicos. Las especies vegetales sábila y ajo presentan compuestos bioactivos, como antraquinonas (aloína, aloesina y aloe-emodin) y compuestos organosulfurados (DAS, DADS, DATS) respectivamente, que son potenciales agentes reductores, además son accesibles económicamente y fácil de conseguir. Es por ello que el uso de sábila y ajo son una alternativa viable para la producción de AgNPs.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Implementar y evaluar dos rutas de síntesis verdes para obtener nanopartículas de plata (AgNPs) utilizando como agentes reductores sábila y ajo.

2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas de plata a diferentes concentraciones de extractos de sábila y ajo como agentes reductores mediante síntesis verde.
- Caracterizar las AgNPs mediante espectroscopía UV-Visible, difracción de rayos X (DRX) y microscopía electrónica de transmisión (TEM).
- Evaluar el efecto antimicrobiano de las AgNPs contra *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*.
- Preparar sensores a base de óxido de estaño (SnO₂) dopados con AgNPs biosintetizadas utilizando sábila y ajo para la diferenciación de Pisco peruano empleando una nariz electrónica.

3. Hipótesis

Las nanopartículas de plata obtenidas mediante síntesis verde utilizando sábila y ajo presentan características apropiadas para ser aplicadas como antimicrobiano y en la síntesis de sensores a base de óxido de estaño.

4. Innovación

La síntesis verde de AgNPs utilizando extractos comerciales para su posterior aplicación como antibacteriano y en tecnologías como sensores en una nariz electrónica representa una alternativa amigable con el ambiente. La implementación del uso de extractos comerciales de sábila y ajo surge como una propuesta para su utilización como agentes reductores estandarizados, de bajo costo y de fácil adquisición.

5. Sustentabilidad

- Ecológica: El uso de síntesis verde impacta en la reducción del uso de reactivos químicos nocivos para el ambiente.
- Económica: La implementación de rutas de síntesis verdes y su posterior aplicación en el desarrollo de sensores para ser utilizados en la detección de compuestos volátiles que comprueben la autenticidad y la calidad en bebidas alcohólicas a través de una nariz electrónica representa una alternativa en el análisis de productos que requieren de técnicas analíticas con costos elevados.
- Social: El uso de síntesis verde de AgNPs para su posterior aplicación en un desarrollo tecnológico dirigido a la industria agroalimentaria que pretende afectar positivamente en la calidad del producto.

6. Literatura citada

- Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *Journal of Advanced Research*, 7(1), 17–28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007>
- Beyene, H. D., Werkneh, A. A., Bezabh, H. K., & Ambaye, T. G. (2017). Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. *Sustainable Materials and Technologies*, 13, 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2017.08.001>
- Hussain, I., Singh, N. B., Singh, A., Singh, H., & Singh, S. C. (2016). Green synthesis of nanoparticles and its potential application. *Biotechnology Letters*, 38(4), 545–560. <https://doi.org/10.1007/s10529-015-2026-7>
- Javaid, A., Oloketuyi, S. F., Khan, M. M., & Khan, F. (2017). *Diversity of Bacterial Synthesis of Silver Nanoparticles*.
- Lee, S. H., & Jun, B. H. (2019). Silver nanoparticles: Synthesis and application for nanomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 1–23. <https://doi.org/10.3390/ijms20040865>
- Oliveira, A. C. de J., Araújo, A. R. de, Quelemes, P. V., Nadvorny, D., Soares-Sobrinho, J. L., Leite, J. R. S. de A., da Silva-Filho, E. C., & Silva, D. A. da. (2019). Solvent-free production of phthalated cashew gum for green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 213(February), 176–183. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.033>
- Polte, J. (2015). Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles - a new perspective. *CrystEngComm*, 17(36), 6809–6830. <https://doi.org/10.1039/c5ce01014d>

CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Nanotecnología

La palabra refiere a cosas de tamaño extremadamente pequeño. Un nanómetro es equivalente a la billonésima parte de un metro (Shanmugavadivu *et al.*, 2014). La nanociencia se encarga de estudiar las propiedades de los objetos de tamaño nanométrico. Es una ciencia interdisciplinaria actual (Sergeev & Shabatina, 2008). Una de las principales áreas de crecimiento de la nanociencia es la nanotecnología donde se desarrollan y se obtiene nuevos materiales con diferentes características funcionales, permitiendo diversas aplicaciones novedosas y rentables (Abou El-Nour *et al.*, 2010; Beyene *et al.*, 2017). El término nanotecnología fue acuñado por el profesor Norio Taniguchi de la Universidad de Ciencias de Tokio en el año 1974 para describir la fabricación de precisión de materiales a nivel nanométrico (Shanmugavadivu *et al.*, 2014). La nanotecnología abarca la producción de materiales funcionales a escalas que van desde átomos o moléculas individuales hasta dimensiones nanométricas, mediante la aplicación de métodos físicos, químicos y biológicos (“Springer Handb. Nanotechnol.,” 2004). Los nanomateriales poseen propiedades químicas, físicas y mecánicas únicas, que pueden usarse para una amplia variedad de aplicaciones, como en el área de la salud y la industria (Gutierrez *et al.*, 2017). Los nanomateriales se pueden clasificar en tres categorías dependiendo de las características que presenta en su tamaño y en su forma (ISO / TS 80004-1, 2015):

1. Nanopartículas (NPs): Nanomaterial con todas las dimensiones dentro de la nanoescala donde las longitudes de los ejes más largos y cortos del nanomaterial no difieren significativamente.
2. Nanofibra: Nanomateriales con dos dimensiones en el rango de la nanoescala y la tercera dimensión significativamente más grande.

3. Nanoplaca: Nanomateriales con una dimensión en la nanoescala y las otras dos dimensiones significativamente más grandes.

En los últimos años las NPs, especialmente las metálicas, han atraído la atención a nivel mundial debido al uso potencial que está directamente relacionado a las características particulares como su composición (elemental y molecular), el área de superficie, el tamaño y distribución de partícula, la morfología, la química de la superficie, el estado de aglomeración y agregación, la estructura cristalina y la carga de superficie (Calderón-Jiménez *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2019). Las NPs se han utilizado en diversos campos como materiales magnéticos, materiales cerámicos, elementos sensores, elementos ópticos, semiconductores, catalizadores, antimicrobianos e incluso en biomedicina (Beyene *et al.*, 2017; M. Wang *et al.*, 2017). Las NPs tienen dimensiones en el rango de tamaño 1–100 nm (Calderón-Jiménez *et al.*, 2017; Saallah & Lenggoro, 2018). Actualmente, la investigación sobre NPs se ha incrementado más en el sector agrícola, en el procesamiento de alimentos y la industria de la medicina (Beyene *et al.*, 2017).

1.2 Síntesis de nanopartículas

La producción de NPs se puede realizar mediante dos técnicas diferentes: De *arriba hacia abajo* (top to bottom) y de *abajo hacia arriba* (bottom to up), los cuales son dos enfoques de síntesis implementando métodos químicos y físicos (Ahmed *et al.*, 2016a; Kumar *et al.*, 2019). Sin embargo, estos métodos presentan algunas limitaciones. La mayoría de estos métodos son costosos, tienen elevados requerimientos de energía e implican la utilización de productos químicos perjudiciales para el medio ambiente (Girón-Vázquez *et al.*, 2019; Soto *et al.*, 2019). Un ejemplo del método de *arriba hacia abajo* es la molienda mecánica de metales a granel estabilizando las partículas de metal obtenidas a escala nanométrica

mediante la adición de agentes coloidales. En el caso de la técnica de *abajo hacia arriba* se incluye la reducción de metales, métodos electroquímicos y de condensación, entre otros (Beyene *et al.*, 2017).

1.3 Métodos físicos

Dentro de los enfoques físicos para la síntesis de NPs destacan la evaporación, la condensación y la ablación con láser (Abou El-Nour *et al.*, 2010; Iravani *et al.*, 2014; Lee & Jun, 2019). La técnica de evaporación-condensación se basa en utilizar una ruta de fase gaseosa que usa un horno de tubo para sintetizar nanoesferas a presión atmosférica. Por este método se han obtenido nanoesferas, utilizando diferentes sales metálicas, como Ag, PbS y Au (Kmis *et al.*, 2000; Lee & Jun, 2019)

Sin embargo, las síntesis de NPs en horno de tubo a presión atmosférica tienen algunas desventajas, como el alto consumo de energía, tiempo de síntesis largo y se requiere una alta concentración de precursor metálico (Iravani *et al.*, 2014; Tarasenko *et al.*, 2006). Por otra parte, mediante el método de ablación por láser utilizando precursores metálicos a granel se pueden sintetizar NPs en solución. La muestra se irradia con un láser pulsado, se eliminan los iones, compuestos o agentes reductores y se obtiene el medio líquido con las NPs sintetizadas. (Chen & Yeh, 2002; Iravani *et al.*, 2014). Este método depende de varios factores que determinan la efectividad de la ablación y las características de las NPs sintetizadas, como la longitud de onda del láser que incide sobre el precursor metálico, el período de los pulsos del láser, la duración del tiempo de ablación, la eficiencia y propiedades del medio líquido, con la presencia o ausencia de tensoactivos, y la potencia del láser (Chen & Yeh, 2002; Tarasenko *et al.*, 2006). Las ventajas de la ablación con láser es un método único y significativo que produce nanopartículas metálicas puras y limpias sin utilizar reactivos químicos en solución (Lee & Jun,

2019; Tarasenko *et al.*, 2006). Varios parámetros como la potencia del láser, la duración de la irradiación, el tipo de fuente de metal base y la propiedad de los medios líquidos, influyen en las características de los NPs metálicos formados (Iravani *et al.*, 2014; Lee & Jun, 2019).

En contraste con los procesos químicos, la síntesis de NPs por métodos físicos se evita la contaminación con otras sustancias y las NPs presentan homogeneidad en la distribución (Abou El-Nour *et al.*, 2010; Iravani *et al.*, 2014; Lee & Jun, 2019).

1.4 Método químico

Al realizar cualquier método de síntesis química se deben considerar los siguientes factores para optimizar la eficacia y la seguridad del método: elección adecuada del medio disolvente, uso de agente reductor amigable con el ambiente y selección de sustancias relativamente no tóxicas (Lee & Jun, 2019).

1.5 Método de microemulsión

La técnica de microemulsión permite manipular y determinar las propiedades de las partículas, teniendo control sobre el tamaño de las partículas, morfología, homogeneidad y área de superficie. Esta técnica consiste en utilizar microemulsiones las cuales son soluciones isotrópicas, macroscópicamente homogéneas y termodinámicamente estables que contienen al menos tres componentes, una fase polar (generalmente agua), una fase no polar (generalmente aceite) y un surfactante (Beyene *et al.*, 2017; Malik *et al.*, 2012). Este método tiene diversas aplicaciones en el campo químico y biológico debido a las particularidades en sus propiedades, como la capacidad de solubilizar líquidos inmiscibles, tensión interfacial ultrabaja, gran área interfacial y constancia termodinámica (Beyene *et al.*, 2017).

1.6 Síntesis asistida por microondas

Las radiaciones con microondas son un espectro electromagnético con frecuencias entre 300 MHz a 300 GHz (Henam *et al.*, 2019). Este método se basa en la síntesis de las NPs reduciendo los iones metálicos en las soluciones mediante la radiación de microondas de velocidad variable como alternativa al de calentamiento convencional (Beyene *et al.*, 2017). Esta técnica presenta ventajas como calentamiento uniforme, reacción de síntesis rápida, período de inducción térmica corto, altos rendimientos de reacción, control sobre las condiciones de reacción, operación simple (Beyene *et al.*, 2017; Henam *et al.*, 2019).

1.7 Síntesis fotoquímica

La técnica de síntesis fotoquímica se basa en la absorción de fotones ópticos, generalmente en el rango espectral UV-visible, por un compuesto fotoquímicamente activo que posteriormente puede reorganizarse o descomponerse en especies reactivas, a menudo radicales (Bárta *et al.*, 2019). La disolución oxidativa espontánea de pequeñas partículas metálicas permite la producción de iones que posteriormente se reducen en la superficie de las partículas mediante el agente reductor bajo irradiación de luz visible (Xue *et al.*, 2008). Las principales ventajas de este método son el control sobre el proceso al cambiar la intensidad de la luz de irradiación y realizar reacciones químicas sin la necesidad de un control preciso de la temperatura (Bárta *et al.*, 2019; Lee & Jun, 2019).

1.8 Reducción química

La reducción química es comúnmente empleada para la obtención de NPs metálicas en solución acuosa como una dispersión coloidal mediante la reducción de la sal o precursor metálico. Se utilizan agentes reductores orgánicos e inorgánicos (Abou El-Nour *et al.*, 2010; Lee & Jun, 2019). Se han utilizado diferentes precursores

metálicos para la producción de nanoesferas, como Ag, Au, Fe, Cu, Pd, Pt, ZnO, entre otros (Beyene *et al.*, 2017; Nasrollahzadeh *et al.*, 2014). Por otra parte, los agentes reductores y de recubrimiento para la estabilización de las NPs pueden modificarse para obtener las características determinadas de forma, distribución de tamaño y tasa de dispersión (Beyene *et al.*, 2017; Lee & Jun, 2019).

Se debe tomar en cuenta las propiedades de los agentes reductores y estabilizadores al sintetizar NPs metálicos debido a que influyen en la determinación de forma, tamaño y propiedades ópticas específicas. El agente reductor determina el tamaño de las NPs debido a que controla la velocidad de reacción en la etapa de nucleación. Por otra parte, la función del agente estabilizador es recubrir la superficie de las NPs evitando la agregación mediante la repulsión electrostática (Calderón-Jiménez *et al.*, 2017; Lee & Jun, 2019; Polte, 2015).

Los parámetros de reacción que rigen la nucleación y el crecimiento de las NPs son la temperatura de reacción, el pH, la concentración y tipo de precursor o sal metálica, así como de los agentes reductores y estabilizantes (Dakal *et al.*, 2016).

Entre los reductores químicos más utilizados para la reducir sales metálicas se encuentran la glucosa ($C_6H_{12}O_6$), hidrazina (N_2H_4), hidrato de hidrazina, ascorbato ($C_6H_7NaO_6$), etilenglicol ($C_2H_6O_2$), N-dimetilformamida (DMF), hidrógeno, dextrosa, ascorbato, citrato (método de Turkevich) y borohidruro de sodio (método de BSS) (Goulet & Lennox, 2010; Lee & Jun, 2019; Polte, 2015).

1.9 Síntesis de AgNPs mediante reducción química

Las AgNPs se sintetizan químicamente principalmente mediante el método de síntesis de Brust-Schiffrin (BSS) o el método de Turkevich (Chugh *et al.*, 2018; Lee & Jun, 2019). Obteniendo una solución de plata coloreada, esto se debe a los

electrones libres en la superficie del metal. El ion de plata Ag^+ se reduce en solución acuosa, recibiendo un electrón de un agente reductor para pasar de una valencia positiva a un estado de valor cero Ag^0 , seguido de la nucleación y el crecimiento (Beyene *et al.*, 2017; Lee & Jun, 2019).

La utilización de un reductor fuerte, como el borohidruro, ha demostrado la síntesis de pequeños coloides monodispersos, y dificultad al controlar la generación de AgNPs de mayor tamaño. Por otra parte, la utilización de un reductor más débil, como el citrato, ha demostrado una cinética de reducción más lenta, lo que permite el control de la distribución de forma y tamaño de las NPs (Chugh *et al.*, 2018; Polte, 2015). Para la estabilización de las NPs es común utilizar agentes estabilizadores que puedan adsorberse en la superficie de las AgNPs para evitar aglomeración. Es por ello que, para estabilizar, evitar la aglomeración y la oxidación de las NPs, se utilizan agentes de recubrimiento y tensoactivos. Los más comunes son quitosano, celulosa, poli N-vinil-2-pirrolidona (PVP), polietilenglicol (PEG), ácido polimetacrílico (PMAA) y polimetilmetacrilato (PMMA) (Lee & Jun, 2019; Nagajyothi & Sreekanth, 2015; Polte, 2015). La estabilización puede lograrse mediante repulsión electrostática o estérica. La estabilización electrostática se obtiene a través de la intervención de especies aniónicas, como citrato, haluros, carboxilatos o polioxoaniones que se adsorben o interactúan con las AgNPs y confieren una carga negativa en la superficie. La carga superficial de AgNPs se puede controlar recubriendo las partículas con iones citrato proporcionando una fuerte carga negativa (Lee & Jun, 2019; Polte, 2015). Por otra parte, el uso de polietilenimina ramificada (PEI) crea una superficie funcionalizada con aminas con una carga altamente positiva. El polietilenglicol (PEG) es otro agente que se utiliza para recubrir AgNPs y proporciona funcionalidad adicional debido a las NPs exhiben una

buena estabilidad en soluciones salinas altamente concentradas. Además, se ha reportado que las AgNPs recubiertas con ácido lipoico con grupos carboxilo pueden ser utilizadas para bioconjugación. Por otro lado, la estabilización estérica se puede lograr mediante la interacción de NPs con grupos grandes, como los polímeros orgánicos que evitan la agregación a través de la repulsión estérica (Beyene *et al.*, 2017; Lee & Jun, 2019).

1.10 Química verde

El concepto filosófico de la química verde se refiere al diseño y la aplicación de procesos y productos que reducen o eliminan el uso y la generación de sustancias que producen efectos negativos para el medio ambiente y la salud. La química verde es un enfoque innovador que permite la implementación nuevas estrategias para el desarrollo de la química sostenible (C. M. Hussain & Keçili, 2020; Kaboorani & Riedl, 2015). La química sostenible es un término más amplio que considera los efectos económicos, sociales y ambientales relacionados con la producción y aplicación de productos y productos químicos (Kaboorani & Riedl, 2015).

Los principios que fundamentan a la química verde fueron propuestos por Anastas y Warner en 1998 (Cuadro 1) y se basan en evitar el uso de solventes tóxicos durante los procesos químicos, así como evitar la producción de residuos contaminantes generados a partir de estos procesos químicos (C. M. Hussain & Keçili, 2020).

Cuadro 1. Los 12 principios de la química verde (Anastas & Eghbali, 2010; C. M. Hussain & Keçili, 2020).

Número	Principio	Descripción
1	Prevención de residuos	Diseño y aplicación de técnicas de síntesis para evitar el desperdicio de componentes.
2	Economía atómica	Diseño y aplicación de técnicas de

		síntesis para incrementar la incorporación de todas las materias primas para obtener un producto de alto rendimiento.
3	El uso de productos químicos menos peligrosos	Diseño y aplicación de técnicas de síntesis para reducir la contaminación ambiental mediante la generación de compuestos de menor toxicidad.
4	El uso de productos químicos más seguros	Diseñar productos químicos que presenten efectos tóxicos mínimos para el medio ambiente.
5	El uso de solventes y condiciones de trabajo más seguros	Evite el uso de solventes y químicos tóxicos.
6	Eficiencia energética	Realizar todos los procesos en condiciones leves como temperatura ambiente y presión baja.
7	El uso de materias primas renovables	Uso de materias primas renovables, también llamadas materias primas, como materiales obtenidos de productos agrícolas o residuos.
8	Reducir derivados	Evitar el uso de protectores o agentes derivados si es posible.
9	Eficiencia catalítica	Uso de catalizadores verdes para reducir desperdicios.
10	Diseño degradable	Diseño de productos químicos degradables y productos que no sean potencialmente peligrosos para el medio ambiente.
11	Análisis en tiempo real	Análisis, control y seguimiento en tiempo real de los compuestos durante el proceso para eliminar y minimizar los productos no deseados.
12	Minimizar los peligros y accidentes potenciales	Elegir los productos químicos adecuados para reducir sus peligros potenciales y minimizar los riesgos potenciales de accidentes, como incendios, explosiones y emisiones de productos químicos al medio ambiente.

Estos principios refieren a los aspectos fundamentales de la sostenibilidad, mediante el desarrollo consciente de productos químicos que después de su vida útil se degraden y transformen en productos biodegradables que no perjudiquen el medio ambiente, minimizando o evitando bioacumulación. Además de reducir los

riesgos laborales y ambientales inherentes a los procesos industriales. Por otra parte, la química verde también proporciona beneficios económicos, como una menor inversión en almacenamiento y tratamiento de efluentes (de la Guardia & Armenta, 2011; C. M. Hussain & Keçili, 2020).

1.11 Síntesis verde

El impacto negativo en el medio ambiente se debe principalmente a la urbanización y la industrialización, por lo que es necesario implementar procesos sostenibles que sigan los principios que fundamentan la química verde, para el desarrollo y ejecución de enfoques simples, rentables y ambientalmente sostenibles para la producción de materiales innovadores (Kumar *et al.*, 2019). Recientemente, métodos biológicos y amigables se han propuesto para la síntesis de NPs. La síntesis verde de NPs presenta ventajas sobre los métodos de síntesis físicos y químicos, debido que es una estrategia que permite el control del tamaño, la forma y la estabilidad, es de bajo costo y requiere menos energía. Además, es un método sencillo y rápido sobre otros métodos. Esta estrategia se caracteriza por la utilización de solventes respetuosos con el ambiente y agentes reductores no tóxicos que se extraen de plantas, bacterias y hongos, de tal manera que se producen menos desechos contaminantes (Girón-Vázquez *et al.*, 2019; Soto *et al.*, 2019).

El método verde consiste en la bioreducción de iones metálicos en NPs, empleando productos biológicos (microorganismos, algas, hongos o extractos de plantas derivados de frutas, hojas y semillas). Estos extractos biológicos contienen compuestos químicos bioactivos como polisacáridos, proteínas, enzimas, flavonoides, terpenoides, polifenoles, péptidos cíclicos, aminoácidos, vitaminas, taninos y ácidos orgánicos como el ácido ascórbico y ácido retinoico, que

intervienen durante la síntesis de NPs actuando como agentes reductores y agentes estabilizadores (Girón-Vázquez *et al.*, 2019; Hamouda *et al.*, 2019).

1.12 Síntesis verde de AgNPs

La implementación del método verde de AgNPs es un enfoque sencillo, rentable y evita daños ambientales (Beyene *et al.*, 2017). La síntesis de AgNPs con extractos biológicos implica la reducción química del ion plata Ag^+ a valencia cero Ag^0 mediante metabolitos secundarios (alcaloides, ácidos fenólicos, proteínas, etc.). Se reconocen tres fases en la síntesis verde de AgNPs (Soto *et al.*, 2019). En la primera fase, denominada nucleación, los átomos de Ag^0 forman pequeños núcleos, la segunda fase es la de crecimiento, donde se agrupan los pequeños núcleos, y finalmente la fase de estabilización, donde los compuestos bioactivos oxidados rodean la superficie de las AgNPs para estabilizar las NPs (Ahmed *et al.*, 2016a; Soto *et al.*, 2019). Los extractos de plantas representan una fuente de compuestos bioactivos adecuado para la síntesis a gran escala de NPs metálicas (Anandan *et al.*, 2019). Se ha reportado el uso de diferentes extractos vegetales para la síntesis de AgNPs, como extracto de semilla de aguacate, extracto de *Holoptelea integrifolia*, cáscara de granada y cáscara de papaya (Balavijayalakshmi & Ramalakshmi, 2017; Girón-Vázquez *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2019; Shanmugavadivu *et al.*, 2014). Por otra parte, el uso de microorganismos como *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* sp. y *Lactococcus lactis* han demostrado potencial en la producción de AgNPs (Rane *et al.*, 2017; Saravana Kumar *et al.*, 2015; Viorica *et al.*, 2017). Debido a las ventajas que presentan los métodos de síntesis verde, los nanomateriales pueden ser sintetizados más rápida y fácilmente de una forma rentable, sin las características negativas asociadas con el uso de productos químicos tóxicos (Girón-Vázquez *et al.*, 2019).

1.13 Aplicaciones de las nanopartículas

Las NPs metálicas presentan propiedades, físicas, químicas, eléctricas, mecánicas, ópticas y funcionales específicas que resultan atractivas para su aplicación en diversos campos como medicina, electrónica, tratamiento de agua, catálisis, sensores químicos y bioquímicos, óptica y fármacos (Abdelghany *et al.*, 2018; Narayanan & Sakthivel, 2011).

1.13.1 Aplicaciones en medicina

Las NPs magnéticas tienen varias aplicaciones biomédicas, debido a la funcionalidad de los campos magnéticos que poseen (Shanmugavadivu *et al.*, 2014). Se ha demostrado que las NPs de óxido de hierro presentan aplicaciones exitosas en imágenes de contraste en resonancias magnéticas, así como en el tratamiento de cáncer a través de hipertermia debido a la propiedad de nanocalentamiento que caracterizan a las NPs de óxido de hierro (Vallabani & Singh, 2018). Por otra parte, las NPs de cerio se ha estudiado ampliamente contra el estrés oxidativo en enfermedades neurodegenerativas, diabetes y cáncer. También han mostrado consecuencias positivas en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (Pagliari *et al.*, 2012; Walkey *et al.*, 2015). Además, las NPs metálicas han demostrado eficazmente sus propiedades para inhibir el crecimiento de diversos microorganismos por lo que representan una opción viable en el campo de la medicina y odontología (Nagajyothi & Sreekanth, 2015).

1.13.2 Aplicaciones en el medio ambiente

El uso de las nanopartículas ha mostrado impactos positivos en la remediación ambiental. Se han aplicado para el tratamiento de los cuerpos de agua superficiales, subterráneas y residuales contaminadas con microorganismos, así como también por iones metálicos tóxicos, tintes, entre otras sustancias orgánicas e inorgánicas

perjudiciales (I. Hussain *et al.*, 2016). Diversos autores mencionan que las NPs metálicas y de óxidos metálicos presentan alta eficacia y afinidad de adsorción hacia los metales pesados (George *et al.*, 2018; Ragavan & Neethirajan, 2018). Se ha estudiado ampliamente que las NPs de óxido de hierro (Fe_3O_4 NPs) muestran eficacia en la adsorción de esos metales en aguas residuales (Guerra *et al.*, 2018).

1.13.3 Aplicaciones en optoelectrónica

Las NPs metálicas tienen un uso potencial como sensores, debido a las propiedades de detección ópticas y electrónicas que las caracterizan. Los metales nobles más estudiados son oro, plata y platino (Au, Ag y Pt). Estas NPs se pueden funcionalizar para el desarrollo de quimiosensores y biosensores potentes que presenten selectividad y sensibilidad por moléculas específicas como ácidos nucleicos, proteínas y colorantes (C. M. Hussain & Keçili, 2020). Las AgNPs y las AuNPs se han implementado en la fabricación de biosensores amperométricos modificando matrices de nanotubos de TiO_2 para la detección eficaz y con alta sensibilidad de glucosa (W. Wang *et al.*, 2014). Por otra parte, las NPs de cobre que tienen propiedades fotoluminiscencia, se emplean para desarrollar biosensores de fluorescencia (Ragavan & Neethirajan, 2018).

1.13.4 Aplicaciones en la industria alimenticia

La aplicación de nanotecnología en la industria alimentaria se centra en el procesamiento, conservación, desarrollo de alimentos funcionales y aumento de la vida útil de los alimentos. Se han realizado diversos estudios sobre la implementación de NPs en las matrices alimentarias (Carrillo-Inungaray, M. *et al.*, 2016; dos Santos *et al.*, 2020). Diversos autores señalan que las NPs metálicas presentan actividad antimicrobiana potencial para incrementar la vida útil de los productos alimenticios. Además, las NPs metálicas pueden adicionarse a

biopolímeros para formar una matriz funcional en el alimento (dos Santos *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2017). En este contexto, se ha reportado que las AuNPs confieren funcionalidad a enzimas para la detección de microorganismos y gases que se presentan cuando factores como el contenido de oxígeno y la temperatura modifican el ambiente del alimento (Carrillo-Inungaray, M. *et al.*, 2016). También el uso de CuNPs se han estudiado en el desarrollo de biosensores de fluorescencia para la detección de ácido kójico producido por especies de *Aspergillus* y que aporta propiedades indeseables al alimento. El ácido kójico se une selectivamente a las CuNPs, lo que genera una reducción en la emisión de fluorescencia, indicando la cantidad de ácido kójico presente en la muestra (Ragavan & Neethirajan, 2018).

1.14 Caracterización de nanopartículas

Se han adoptado diversas técnicas para la caracterización de materiales a escala nanométrica. Existen múltiples métodos implementados para el análisis de NPs como la microscopía, la espectroscopía UV-Vis, espectroscopía FTIR, difracción de rayos X y dispersión dinámica de la luz (Campbell *et al.*, 2020).

1.14.1 Espectroscopía Ultravioleta-Visible (UV-Vis)

Esta técnica se fundamenta en la medición de la absorbancia o transmitancia de la muestra en solución líquida en las regiones ultravioleta y visible del espectro. Se pueden procesar muestras orgánicas e inorgánicas mediante este método. El objetivo de este análisis es obtener información acerca de la concentración, tamaño y el estado de agregación de las NPs. La capacidad de absorción de UV-Vis en función de la longitud de onda se puede describir con la siguiente ecuación general (Alin *et al.*, 2015) :

$$A = c\lambda^{-n}$$

Donde:

A es la capacidad de absorción,

c es una constante dependiente del material,

λ es la longitud de onda, y

n es un exponente que varía entre 0 y 4.

Se ha reportado que las NPs metálicas, particularmente las AgNPs y las AuNPs muestran una fuerte absorción en la región visible, entre los 390 y 550 nm, conocida como la banda de resonancia de plasmón superficial (SPR). Esta banda es definida por factores como tamaño, la forma y el estado agregación (Sapsford *et al.*, 2011).

1.14.2 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Esta técnica mide la absorción de radiación IR por una muestra como consecuencia de cambios energéticos ocasionado por las transiciones entre estados energéticos vibracionales y rotacionales dentro de la molécula (Andersen *et al.*, 2016). En particular, esta técnica se usa con frecuencia para identificar grupos funcionales presentes en la muestra, ya sea orgánico o inorgánico a través de bandas espectrales características (Sapsford *et al.*, 2011). Las bandas características corresponden a las vibraciones de estiramiento de los grupos OH ($3700\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$), a la absorción de C=O (1700 cm^{-1}), las bandas de estiramiento C–C ($1600\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$), la región para el estiramiento C–O ($1070\text{-}1150\text{ cm}^{-1}$), flexión C–H ($1450\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$) y los anillos aromáticos sustituidos ($1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$) (Soto *et al.*, 2019).

1.14.3 Microscopía electrónica

Estas técnicas consisten en la visualización de una muestra utilizando un haz de electrones para generar una imagen. La microscopía es útil para analizar la dimensión, la morfología y la distribución del tamaño de una amplia gama de

materiales a escala nanométrica (Abdullaeva, 2017; Sapsford *et al.*, 2011; Teulon *et al.*, 2019).

1.14.4. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Esta técnica de caracterización permite observar partículas con superficies de 100 nm de muestras orgánicas e inorgánicas. Esta herramienta consiste en un haz de electrones que interactúan con la superficie de la muestra para formar una imagen ampliada de un material, aumentando hasta 1000 veces el poder de resolución (Campbell *et al.*, 2020). La imagen de la superficie de la muestra es generada mediante el escaneo con un haz de electrones en alto vacío, cuando el haz de electrones incide con la superficie de la muestra, interactúa con los átomos para producir señales en forma de electrones secundarios. Como consecuencia se dispersan electrones y se generan rayos X que son capturados y revelan la topografía 3D de la muestra (Gutierrez *et al.*, 2017).

1.14.5. Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Esta herramienta permite obtener información morfológica y de distribución de tamaño de muestras por debajo de 100 nm. El microscopio genera un haz de electrones de alto vacío capaz de atravesar la muestra observada (Abdullaeva, 2017; Sapsford *et al.*, 2011). Además, este equipo alcanza una resolución alta miles de veces mejor que la luz óptica y puede detectar partículas de 1 nm. El contraste de las imágenes se genera por la cristalinidad, la densidad y espesor de la nanopartícula. A menudo se prefiere TEM a SEM para la caracterización de NPs con un tamaño inferior a aproximadamente 20 nm (Teulon *et al.*, 2019; Verleysen *et al.*, 2019).

1.14.6 Difracción de rayos X (DRX)

La difracción de rayos X es una técnica empleada para determinar la fase y estructura cristalina de la muestra. También es utilizada para caracterizar matrices con NPs entre sus componentes (Sapsford *et al.*, 2011). Este método se basa en la dispersión de los rayos X por los átomos de un cristal, produciendo un ángulo específico que resulta en un patrón de difracción que proporciona información sobre la fase cristalina del analito (Abdullaeva, 2017).

1.14.7 Dispersión dinámica de la luz (DLS)

Es un método sencillo que permite dimensionar partículas en solución. También es llamada espectroscopía de correlación de fotones. Durante la medición, la muestra se expone a un haz de luz y la dirección y la intensidad del haz de luz se modifican debido a un fenómeno conocido como dispersión (Lim *et al.*, 2013). Es considerada una herramienta con excelente rango dinámico y eficiente para medir tamaños de partículas menores a 20 nm. No obstante, esta técnica tiene limitaciones con muestras polidispersas. Es decir, que no logra diferenciar poblaciones monodispersas de NPs y sesga la muestra con el coeficiente de dispersión más alto. DLS es utilizada para confirmar el tamaño y la polidispersidad de una muestra (Campbell *et al.*, 2020; Gutierrez *et al.*, 2017).

1.15 Nanopartículas de plata (AgNPs)

Los usos de la plata se han reportado desde el año 1000 a.C. Se empleó en la medicina China y ayurvédica India. La plata fue utilizada comúnmente como antimicrobiano y antifúngico en granjas de pollos y en la sanitización de ostras después de la cosecha. Además, se utilizó por la industria espacial para esterilizar el agua residual a bordo de la estación espacial MIR y en el transbordador de la NASA (Gupta & Silver, 1998). En el siglo XIX se aplicó por vía tópica el tratamiento de

úlceras, heridas infectadas y para la prevención de infecciones oftálmicas en recién nacidos (Politano *et al.*, 2013). Diversos autores han reportado el amplio rango de aplicaciones de las AgNPs. Estas se caracterizan principalmente por ser antibacterianas, antifúngicas y antivirales (Beyene *et al.*, 2017; Girón-Vázquez *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2019; Soto *et al.*, 2019; M. Wang *et al.*, 2017). Asimismo, éstas presentan propiedades catalíticas, ópticas y eléctricas exclusivas, dependiendo de su dimensión y morfología (Arya *et al.*, 2017; Calderón-Jiménez *et al.*, 2017; Hamedi & Shojaosadati, 2019; Hamouda *et al.*, 2019; Lee & Jun, 2019). Múltiples métodos físicos y químicos se han establecido para sintetizar AgNPs. Sin embargo, existen limitaciones y desventajas debido al elevado costo y consumo de energía, además implica el manejo de algunos productos químicos perjudiciales para el ambiente. No obstante, métodos de síntesis verde se han desarrollado cuyo objetivo es limitar el uso y obtención de sustancias y subproductos tóxicos (Arya *et al.*, 2017; Soto *et al.*, 2019). Las AgNPs producidas mediante cualquiera de los métodos mencionados deben ser caracterizadas utilizando técnicas analíticas como espectroscopía UV-Vis y FTIR, DRX, DLS, SEM y TEM (Sapsford *et al.*, 2011). La caracterización de las AgNPs evaluará la morfología, la dimensión, la distribución del tamaño, el área superficial y la agregación de las NPs para definir su posible aplicación (X. Zhang *et al.*, 2016). Las AgNPs han tenido aplicación en numerosos campos como la medicina, la industria alimentaria, remediación ambiental, industria farmacéutica, textiles, electrónica, biosensores, catálisis, agentes antimicrobianos y terapia contra el cáncer (Kumar *et al.*, 2019; Lee & Jun, 2019; Mikhailov & Mikhailova, 2019).

1.16 Ajo (*Allium sativum* L.)

El ajo es una especie vegetal bulbosa que pertenece a la familia Alliaceae. El ajo es considerado un elemento importante en la gastronomía, utilizado como condimento y saborizante. No obstante, se ha reportado su potencial como agente antimicrobiano, antiparasitario y antioxidante. Su origen exacto es desconocido; sin embargo, se cree que es originario de Asia Central y el noreste de Irán (El-Refai *et al.*, 2018; Morales-González *et al.*, 2019). El ajo contiene múltiples compuestos bioactivos, entre los que destacan los compuestos organosulfurados los cuales se dividen en dos grupos (Figura 1). El grupo que es soluble en lípidos incluye el dialil azufre (DAS), dialil disulfuro (DADS) y dialil trisulfuro (DATS). El otro grupo es soluble en agua, donde se encuentra el γ -glutamil S-alilcisteína (SAC) y S-alilmercaptocisteína (SAMC) (Rastogi & Arunachalam, 2013). Cuando los bulbos de ajo fresco son macerados se destruye el parénquima y se libera el compuesto inodoro aliína (S-alilcisteinesulfóxido) que al interactuar con la enzima alinasa produce un compuesto llamado alicina (dialiltiosulfonato). La alicina es la molécula responsable del sabor y aroma particular del ajo y es el componente principal de los homogeneizados de ajo triturados recientemente. Sin embargo, la alicina puede reaccionar para producir otros compuestos más estables, como DAS, DADS y DATS (Morales-González *et al.*, 2019). Es por ello que debido a las diversas aplicaciones y la gama de metabolitos secundarios como taninos, alcaloides, flavonoides y compuestos sulfurados presentes en esta especie, así como su disponibilidad y bajo costo, resulta de gran interés para ser aprovechado como agente reductor en la biosíntesis de NPs (Bouqellah *et al.*, 2019).

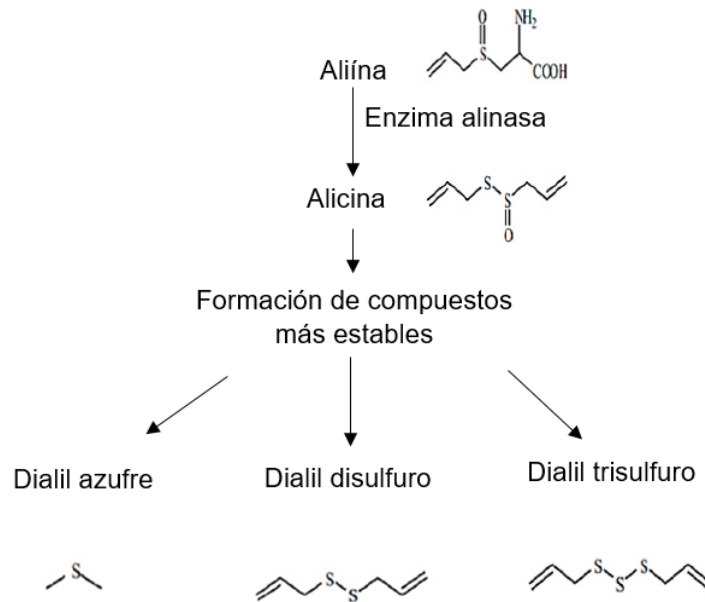


Figura 1. Compuestos sulfurados presentes en el ajo (Morales-González *et al.*, 2019).

1.17 Sábila (*Aloe barbadensis* Miller)

Comúnmente conocido como sábila, es una planta suculenta perenne sin tallo con hojas alargadas y puntiagudas que almacenan grandes cantidades de agua en el tejido, perteneciente a la familia Liliaceae. Originaria de climas tropicales y subtropicales secos en Sudáfrica. Esta planta ha sido de gran importancia en la medicina tradicional de numerosas culturas asiáticas como las Indias Occidentales, China y Japón (Guo & Mei, 2016). En términos de su composición, la sábila es caracterizada por su elevado contenido de agua (99%) el resto lo conforman compuestos bioactivos vitaminas, minerales, enzimas, polisacáridos simples y complejos, compuestos fenólicos y ácidos orgánicos. Se ha demostrado que los componentes estructurales de esta especie están distribuidos en corteza (20-30%), pulpa (70-80%) del peso total de la hoja. Por otra parte, sobre una base de peso seco, se reportan los porcentajes de lípidos (2.7% y 4.2%), proteínas (6.3% y 7.3%), polisacáridos sin almidón y lignina (62.3% y 57.6%) del peso seco de la corteza y pulpa, respectivamente (Radha & Laxmipriya, 2015). Sin embargo, las

antraquinonas son los principales metabolitos secundarios presentes en esta especie. Destacando, la aloína, la aloesina y el aloe-emodin (producto oxidativo de la aloína) como los principales compuestos en el gel de sábila (Radha & Laxmipriya, 2015) (Figura 2). Particularmente el gel de sábila presenta aplicaciones farmacéuticas y cosméticas ya que tiene propiedades antiinflamatorias, antifúngicas, antibacterianas y antioxidantes. También es utilizado en el tratamiento de patologías como la diabetes y problemas dermatológicos (Patel & Patel, 2013). Debido a los componentes bioactivos presentes en la sábila es factible su aplicación como agente reductor para la obtención de NPs mediante un método de síntesis verde (Y. Zhang *et al.*, 2013).

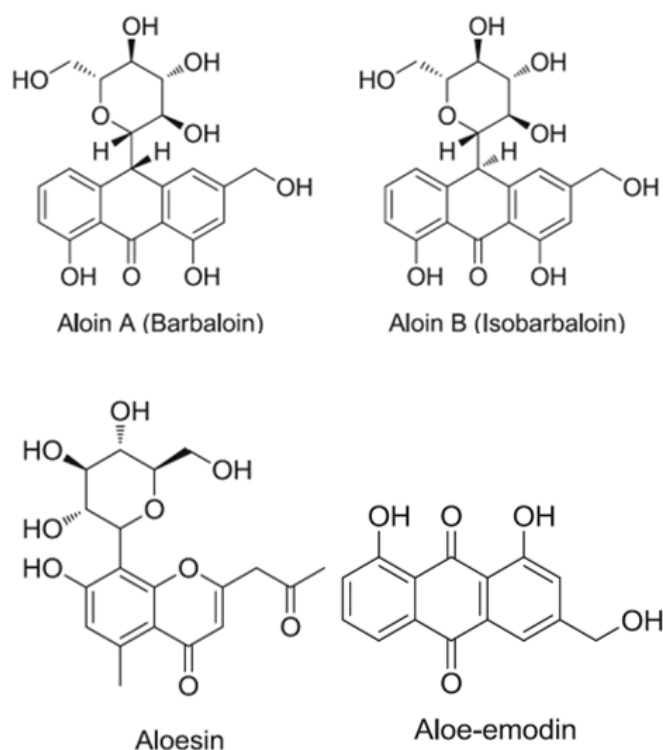


Figura 2. Metabolitos secundarios presentes en la sábila (Chinchilla *et al.*, 2013).

Literatura citada

Abdelghany, T. M., Al-Rajhi, A. M. H., Al Abboud, M. A., Alawlaqi, M. M., Ganash Magdah, A., Helmy, E. A. M., & Mabrouk, A. S. (2018). Recent Advances in Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Applications: About Future

Directions. A Review. *BioNanoScience*, 8(1), 5–16.
<https://doi.org/10.1007/s12668-017-0413-3>

Abdullaeva, Z. (2017). Synthesis of nanoparticles and nanomaterials: Biological approaches. In *Synthesis of Nanoparticles and Nanomaterials: Biological Approaches*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-54075-7>

Abou El-Nour, K. M. M., Eftaiha, A., Al-Warthan, A., & Ammar, R. A. A. (2010). Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(3), 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.04.008>

Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016a). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *Journal of Advanced Research*, 7(1), 17–28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007>

Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016b). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *Journal of Advanced Research*, 7(1), 17–28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007>

Alin, J., Rubino, M., & Auras, R. (2015). Effect of the Solvent on the Size of Clay Nanoparticles in Solution as Determined Using an Ultraviolet–Visible (UV-Vis) Spectroscopy Methodology. *Applied Spectroscopy*, 69(6), 671–678. <https://doi.org/10.1366/14-07704>

Anandan, M., Poorani, G., Boomi, P., Varunkumar, K., Anand, K., Chuturgoon, A. A., Saravanan, M., & Gurumallesh Prabu, H. (2019). Green synthesis of anisotropic silver nanoparticles from the aqueous leaf extract of *Dodonaea viscosa* with their antibacterial and anticancer activities. *Process Biochemistry*, 80(December 2018), 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.02.014>

Anastas, P., & Eghbali, N. (2010). Green chemistry: Principles and practice. *Chemical Society Reviews*, 39(1), 301–312. <https://doi.org/10.1039/b918763b>

Andersen, A. J., Yamada, S., Pramodkumar, E. K., Andresen, T. L., Boisen, A., & Schmid, S. (2016). Nanomechanical IR spectroscopy for fast analysis of liquid-dispersed engineered nanomaterials. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 233,

667–673. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.04.002>

Arya, G., Sharma, N., Ahmed, J., Gupta, N., Kumar, A., Chandra, R., & Nimesh, S. (2017). Degradation of anthropogenic pollutant and organic dyes by biosynthesized silver nano-catalyst from *Cicer arietinum* leaves. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 174(July), 90–96. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.07.019>

Balavijayalakshmi, J., & Ramalakshmi, V. (2017). *Carica papaya* peel mediated synthesis of silver nanoparticles and its antibacterial activity against human pathogens. *Journal of Applied Research and Technology*, 15(5), 413–422. <https://doi.org/10.1016/j.jart.2017.03.010>

Bárta, J., Procházková, L., Vaněček, V., Kuzár, M., Nikl, M., & Čuba, V. (2019). Photochemical synthesis of nano- and micro-crystalline particles in aqueous solutions. *Applied Surface Science*, 479(February), 506–511. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.02.087>

Beyene, H. D., Werkneh, A. A., Bezabh, H. K., & Ambaye, T. G. (2017). Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. *Sustainable Materials and Technologies*, 13, 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2017.08.001>

Bouqellah, N. A., Mohamed, M. M., & Ibrahim, Y. (2019). Synthesis of eco-friendly silver nanoparticles using *Allium sp.* and their antimicrobial potential on selected vaginal bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1789–1794. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.04.001>

Calderón-Jiménez, B., Johnson, M. E., Montoro Bustos, A. R., Murphy, K. E., Winchester, M. R., & Baudrit, J. R. V. (2017). Silver nanoparticles: Technological advances, societal impacts, and metrological challenges. *Frontiers in Chemistry*, 5(Feb), 1–26. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00006>

Campbell, J., Burkitt, S., Dong, N., & Zavaleta, C. (2020). Nanoparticle characterization techniques. In *Nanoparticles for Biomedical Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816662-8.00009-6>

Carrillo-Inungaray, M. et al., 2016. (2016). Advances and Perspectives. *Use of*

- Nanoparticles in the Food Industry: Advances and Perspectives*, 27(6), 419–444. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811441-4/00015-7>
- Chen, Y. H., & Yeh, C. S. (2002). Laser ablation method: Use of surfactants to form the dispersed Ag nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 197(1–3), 133–139. [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(01\)00854-8](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(01)00854-8)
- Chinchilla, N., Carrera, C., Durán, A. G., Macías, M., Torres, A., & Macías, F. A. (2013). *Aloe barbadensis*: How a miraculous plant becomes reality. *Phytochemistry Reviews*, 12(4), 581–602. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9323-3>
- Chugh, H., Sood, D., Chandra, I., Tomar, V., Dhawan, G., & Chandra, R. (2018). Role of gold and silver nanoparticles in cancer nano-medicine. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 46(sup1), 1210–1220. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1449118>
- Dakal, T. C., Kumar, A., Majumdar, R. S., & Yadav, V. (2016). Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *Frontiers in Microbiology*, 7(NOV), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01831>
- de la Guardia, M., & Armenta, S. (2011). Origins of green analytical chemistry. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 57(11), 1–23. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53709-6.00001-X>
- dos Santos, C. A., Ingle, A. P., & Rai, M. (2020). The emerging role of metallic nanoparticles in food. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(6), 2373–2383. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10372-x>
- El-Refai, A. A., Ghoniem, G. A., El-Khateeb, A. Y., & Hassaan, M. M. (2018). Eco-friendly synthesis of metal nanoparticles using ginger and garlic extracts as biocompatible novel antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 8(1), 71–81. <https://doi.org/10.1007/s40097-018-0255-8>
- George, J. M., Antony, A., & Mathew, B. (2018). Metal oxide nanoparticles in electrochemical sensing and biosensing: a review. *Microchimica Acta*, 185(7).

<https://doi.org/10.1007/s00604-018-2894-3>

- Girón-Vázquez, N. G., Gómez-Gutiérrez, C. M., Soto-Robles, C. A., Nava, O., Lugo-Medina, E., Castrejón-Sánchez, V. H., Vilchis-Nestor, A. R., & Luque, P. A. (2019). Study of the effect of *Persea americana* seed in the green synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial properties. *Results in Physics*, 13(February), 102142. <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2019.02.078>
- Goulet, P. J. G., & Lennox, R. B. (2010). New insights into Brust-Schiffrin metal nanoparticle synthesis. *Journal of the American Chemical Society*, 132(28), 9582–9584. <https://doi.org/10.1021/ja104011b>
- Guerra, F. D., Attia, M. F., Whitehead, D. C., & Alexis, F. (2018). Nanotechnology for environmental remediation: Materials and applications. *Molecules*, 23(7), 1–23. <https://doi.org/10.3390/molecules23071760>
- Guo, X., & Mei, N. (2016). *Aloe vera*: A review of toxicity and adverse clinical effects. *Journal of Environmental Science and Health - Part C Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*, 34(2), 77–96. <https://doi.org/10.1080/10590501.2016.1166826>
- Gupta, A., & Silver, S. (1998). Silver as a biocide: Will resistance become a problem? In *Nature Biotechnology* (Vol. 16, Issue 10, p. 888). <https://doi.org/10.1038/nbt1098-888>
- Gutierrez, R. M. P., Mendez, J. V. M., & Vazquez, I. A. (2017). A novel approach to the oral delivery of bionanostructures for systemic disease. In *Nanostructures for Oral Medicine*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47720-8.00002-X>
- Hajra, A., Dey, U., Bose, P., & Mondal, N. K. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles from *Aloe vera* leaf extract and antifungal Biosynthesis of silver nanoparticles from *Aloe vera* leaf extract and antifungal activity against *Rhizopus* sp . and *Aspergillus* sp . December. <https://doi.org/10.1007/s13204-014-0387-1>
- Hamedi, S., & Shojaosadati, S. A. (2019). Rapid and green synthesis of silver nanoparticles using *Diospyros lotus* extract: Evaluation of their biological and

catalytic activities. *Polyhedron*, 171, 172–180.
<https://doi.org/10.1016/j.poly.2019.07.010>

Hamouda, R. A., Hussein, M. H., Abo-elmagd, R. A., & Bawazir, S. S. (2019). Synthesis and biological characterization of silver nanoparticles derived from the cyanobacterium *Oscillatoria limnetica*. *Scientific Reports*, 9(1), 1–17.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-49444-y>

Henam, S. D., Ahmad, F., Shah, M. A., Parveen, S., & Wani, A. H. (2019). Microwave synthesis of nanoparticles and their antifungal activities. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 213(April), 337–341. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.01.071>

Hussain, C. M., & Keçili, R. (2020). Sustainable development and environmental analysis. In *Modern Environmental Analysis Techniques for Pollutants*.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816934-6.00013-8>

Hussain, I., Singh, N. B., Singh, A., Singh, H., & Singh, S. C. (2016). Green synthesis of nanoparticles and its potential application. *Biotechnology Letters*, 38(4), 545–560. <https://doi.org/10.1007/s10529-015-2026-7>

Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V., & Zolfaghari, B. (2014). Synthesis of silver nanoparticles: Chemical, physical and biological methods. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 9(6), 385–406.

Javaid, A., Oloketuyi, S. F., Khan, M. M., & Khan, F. (2017). *Diversity of Bacterial Synthesis of Silver Nanoparticles*.

Kaboorani, A., & Riedl, B. (2015). Mechanical performance of polyvinyl acetate (PVA)-based biocomposites. In *Biocomposites: Design and Mechanical Performance* (Fourteenth). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-373-7.00009-3>

Khan, S. U., Saleh, T. A., Wahab, A., Khan, M. H. U., Khan, D., Khan, W. U., Rahim, A., Kamal, S., Khan, F. U., & Fahad, S. (2018). Nanosilver: New ageless and versatile biomedical therapeutic scaffold. *International Journal of Nanomedicine*, 13(February), 733–762. <https://doi.org/10.2147/IJN.S153167>

Kmis, F. E., Fissan, H., & Rellinghaus, B. (2000). Sintering and evaporation

- characteristics of gas-phase synthesis of size-selected PbS nanoparticles. *Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology*, 69, 329–334. [https://doi.org/10.1016/S0921-5107\(99\)00298-6](https://doi.org/10.1016/S0921-5107(99)00298-6)
- Kumar, V., Singh, S., Srivastava, B., Bhadouria, R., & Singh, R. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Holoptelea integrifolia* and preliminary investigation of its antioxidant, anti-inflammatory, antidiabetic and antibacterial activities. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(3), 103094. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103094>
- Lee, S. H., & Jun, B. H. (2019). Silver nanoparticles: Synthesis and application for nanomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 1–23. <https://doi.org/10.3390/ijms20040865>
- Lim, J., Yeap, S. P., Che, H. X., & Low, S. C. (2013). Characterization of magnetic nanoparticle by dynamic light scattering. *Nanoscale Research Letters*, 8(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-381>
- Logaranjan, K., Raiza, A. J., Gopinath, S. C. B., & Chen, Y. (2016). Shape- and Size-Controlled Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Aloe vera* Plant Extract and Their Antimicrobial Activity. *Nanoscale Research Letters*. <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1725-x>
- Malik, M. A., Wani, M. Y., & Hashim, M. A. (2012). Microemulsion method: A novel route to synthesize organic and inorganic nanomaterials. 1st Nano Update. *Arabian Journal of Chemistry*, 5(4), 397–417. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.09.027>
- Mikhailov, O. V., & Mikhailova, E. O. (2019). Elemental silver nanoparticles: Biosynthesis and bio applications. *Materials*, 12(19). <https://doi.org/10.3390/ma12193177>
- Morales-González, J. A., Madrigal-Bujaidar, E., Sánchez-Gutiérrez, M., Izquierdo-Vega, J. A., Carmen Valadez-Vega, M. Del, Álvarez-González, I., Morales-González, Á., & Madrigal-Santillán, E. (2019). Garlic (*Allium sativum* L.): A brief review of its antigenotoxic effects. *Foods*, 8(8), 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods8080343>

- Nagajyothi, P. C., & Sreekanth, T. V. M. (2015). Green synthesis of metallic and metal oxide nanoparticles and their antibacterial activities. In *Green Processes for Nanotechnology: From Inorganic to Bioinspired Nanomaterials*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-15461-9_4
- Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2011). Green synthesis of biogenic metal nanoparticles by terrestrial and aquatic phototrophic and heterotrophic eukaryotes and biocompatible agents. *Advances in Colloid and Interface Science*, *169*(2), 59–79. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2011.08.004>
- Nasrollahzadeh, M., Sajadi, S. M., & Khalaj, M. (2014). Green synthesis of copper nanoparticles using aqueous extract of the leaves of *Euphorbia esula* L and their catalytic activity for ligand-free Ullmann-coupling reaction and reduction of 4-nitrophenol. *RSC Advances*, *4*(88), 47313–47318. <https://doi.org/10.1039/c4ra08863h>
- Oliveira, A. C. de J., Araújo, A. R. de, Quelemes, P. V., Nadvorny, D., Soares-Sobrinho, J. L., Leite, J. R. S. de A., da Silva-Filho, E. C., & Silva, D. A. da. (2019). Solvent-free production of phthalated cashew gum for green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, *213*(February), 176–183. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.033>
- Pagliari, F., Mandoli, C., Forte, G., Magnani, E., Pagliari, S., Nardone, G., Licoccia, S., Minieri, M., Di Nardo, P., & Traversa, E. (2012). Cerium oxide nanoparticles protect cardiac progenitor cells from oxidative stress. *ACS Nano*, *6*(5), 3767–3775. <https://doi.org/10.1021/nn2048069>
- Patel, K., & Patel, D. K. (2013). Medicinal importance, pharmacological activities, and analytical aspects of aloin: A concise report. *Journal of Acute Disease*, *2*(4), 262–269. [https://doi.org/10.1016/s2221-6189\(13\)60141-9](https://doi.org/10.1016/s2221-6189(13)60141-9)
- Politano, A. D., Campbell, K. T., Rosenberger, L. H., & Sawyer, R. G. (2013). Use of silver in the prevention and treatment of infections: Silver review. *Surgical Infections*, *14*(1), 8–20. <https://doi.org/10.1089/sur.2011.097>
- Polte, J. (2015). Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles - a new perspective. *CrystEngComm*, *17*(36), 6809–6830. <https://doi.org/10.1039/c5ce01014d>

- Radha, M. H., & Laxmipriya, N. P. (2015). Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of *Aloe vera*: A systematic review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(1), 21–26. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2014.10.006>
- Ragavan, K. V., & Neethirajan, S. (2018). Nanoparticles as Biosensors for Food Quality and Safety Assessment. In *Nanomaterials for Food Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814130-4.00007-5>
- Rane, A. N., Baikar, V. V., Ravi Kumar, D. V., & Deopurkar, R. L. (2017). Agro-industrial wastes for production of biosurfactant by *Bacillus subtilis* ANR 88 and its application in synthesis of silver and gold nanoparticles. *Frontiers in Microbiology*, 8(MAR), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00492>
- Rastogi, L., & Arunachalam, J. (2013). Green synthesis route for the size controlled synthesis of biocompatible gold nanoparticles using aqueous extract of garlic (*Allium sativum*). *Advanced Materials Letters*, 4(7), 548–555. <https://doi.org/10.5185/amlett.2012.11456>
- Saallah, S., & Lenggoro, I. W. (2018). Nanoparticles carrying biological molecules: Recent advances and applications. *KONA Powder and Particle Journal*, 2018(35), 89–111. <https://doi.org/10.14356/kona.2018015>
- Sapsford, K. E., Tyner, K. M., Dair, B. J., Deschamps, J. R., & Medintz, I. L. (2011). Analyzing nanomaterial bioconjugates: A review of current and emerging purification and characterization techniques. *Analytical Chemistry*, 83(12), 4453–4488. <https://doi.org/10.1021/ac200853a>
- Saravana Kumar, P., Balachandran, C., Duraipandiyar, V., Ramasamy, D., Ignacimuthu, S., & Al-Dhabi, N. A. (2015). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticle using *Streptomyces* sp. 09 PBT 005 and its antibacterial and cytotoxic properties. *Applied Nanoscience (Switzerland)*, 5(2), 169–180. <https://doi.org/10.1007/s13204-014-0304-7>
- Sergeev, G. B., & Shabatina, T. I. (2008). Cryochemistry of nanometals. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 313–314, 18–22. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.04.064>

- Shanmugavadivu, M., Kuppusamy, S., & Ranjithkumar, R. (2014). *Synthesis of Pomegranate Peel Extract Mediated Silver Nanoparticles and its Antibacterial Activity*. May 2015.
- Shnoudeh, A. J., Hamad, I., Abdo, R. W., Qadumii, L., Jaber, A. Y., Surchi, H. S., & Alkelany, S. Z. (2019). Synthesis, Characterization, and Applications of Metal Nanoparticles. In *Biomaterials and Bionanotechnology*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814427-5.00015-9>
- Singh, T., Shukla, S., Kumar, P., Wahla, V., & Bajpai, V. K. (2017). Application of nanotechnology in food science: Perception and overview. *Frontiers in Microbiology*, 8(AUG), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01501>
- Soto, K. M., Quezada-Cervantes, C. T., Hernández-Iturriaga, M., Luna-Bárcenas, G., Vazquez-Duhalt, R., & Mendoza, S. (2019). Fruit peels waste for the green synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial activity against foodborne pathogens. *LWT*, 103, 293–300. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.023>
- Springer Handbook of Nanotechnology. (2004). In *Springer Handbook of Nanotechnology*. <https://doi.org/10.1007/3-540-29838-x>
- Tarasenko, N. V., Butsen, A. V., Nevar, E. A., & Savastenko, N. A. (2006). Synthesis of nanosized particles during laser ablation of gold in water. *Applied Surface Science*, 252(13 SPEC. ISS.), 4439–4444. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2005.07.150>
- Teulon, J. M., Godon, C., Chantalat, L., Moriscot, C., Cambedouzou, J., Odorico, M., Ravaux, J., Podor, R., Gerdil, A., Habert, A., Herlin-Boime, N., Chen, S. W. W., & Pellequer, J. L. (2019). On the operational aspects of measuring nanoparticle sizes. *Nanomaterials*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/nano9010018>
- Vallabani, N. V. S., & Singh, S. (2018). Recent advances and future prospects of iron oxide nanoparticles in biomedicine and diagnostics. *3 Biotech*, 8(6), 0. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1286-z>
- Verleysen, E., Wagner, T., Lipinski, H. G., Kägi, R., Koeber, R., Boix-Sanfeliu, A., De Temmerman, P. J., & Mast, J. (2019). Evaluation of a TEM based approach for size measurement of particulate (nano)materials. *Materials*, 12(14), 1–20.

<https://doi.org/10.3390/ma12142274>

- Viorica, R. P., Pawel, P., Kinga, M., Michal, Z., Katarzyna, R., & Boguslaw, B. (2017). Lactococcus lactis as a safe and inexpensive source of bioactive silver composites. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(19), 7141–7153. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8443-x>
- Walkey, C., Das, S., Seal, S., Erlichman, J., Heckman, K., Ghibelli, L., Traversa, E., McGinnis, J. F., & Self, W. T. (2015). Catalytic properties and biomedical applications of cerium oxide nanoparticles. *Environmental Science: Nano*, 2(1), 33–53. <https://doi.org/10.1039/c4en00138a>
- Wang, M., Zhang, W., Zheng, X., & Zhu, P. (2017). Antibacterial and catalytic activities of biosynthesized silver nanoparticles prepared by using an aqueous extract of green coffee bean as a reducing agent. *RSC Advances*, 7(20), 12144–12149. <https://doi.org/10.1039/c6ra27706c>
- Wang, W., Xie, Y., Xia, C., Du, H., & Tian, F. (2014). Titanium dioxide nanotube arrays modified with a nanocomposite of silver nanoparticles and reduced graphene oxide for electrochemical sensing. *Microchimica Acta*, 181(11–12), 1325–1331. <https://doi.org/10.1007/s00604-014-1258-x>
- Xue, C., Métraux, G. S., Millstone, J. E., & Mirkin, C. A. (2008). Mechanistic study of photomediated triangular silver nanoprism growth. *Journal of the American Chemical Society*, 130(26), 8337–8344. <https://doi.org/10.1021/ja8005258>
- Zhang, X., Liu, Z., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016). *Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches*. <https://doi.org/10.3390/ijms17091534>
- Zhang, Y., Cheng, X., Zhang, Y., Xue, X., & Fu, Y. (2013). Biosynthesis of silver nanoparticles at room temperature using aqueous aloe leaf extract and antibacterial properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 423, 63–68. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.01.059>

**CAPÍTULO II. SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA
UTILIZANDO SÁBILA (*A. barbadensis* Miller) Y AJO (*A. sativum* L.) COMO
AGENTES REDUCTORES**

CAPÍTULO II. Síntesis verde de nanopartículas de plata utilizando sábila (*A. barbadensis* Miller) y ajo (*A. sativum* L.) como agentes reductores

González-Torres, M.¹; Contreras-Oliva, A.¹; Gómez-Merino, F.C.¹; Saucedo-Rivalcoba, V.²; Salinas-Ruiz, J.¹

¹Colegio de Postgraduados. Campus Córdoba, Km 348 Carretera Federal Córdoba-Veracruz, Congregación Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz. C.P. 94946. México.

*Autor de Correspondencia: Josafhat Salinas-Ruiz. E-mail: salinas@colpos.mx
Teléfono: +522717166000.

Síntesis verde de nanopartículas de plata utilizando sábila (*A. barbadensis* Miller) y ajo (*A. sativum* L.) como agentes reductores

RESUMEN

Nanopartículas de plata (AgNPs) se sintetizaron utilizando dos extractos vegetales comerciales en polvo de las especies sábila y ajo. Los compuestos bioactivos presentes en los extractos generaron la reducción de Ag^+ a Ag^0 . Las AgNPs se caracterizaron mediante técnicas analíticas de espectroscopía y microscopía. La síntesis de nanopartículas (NPs) se observó visualmente mediante un cambio de color y se confirmó su formación por medio de espectroscopía UV-visible. El análisis mediante DRX mostró la fase cristalina de las AgNPs biosintetizadas. La morfología, tamaño y distribución de las AgNPs se determinó mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM).

Palabras clave: sábila, ajo, biosíntesis, AgNPs, caracterización.

2.1 Introducción

La nanotecnología es un campo moderno y atractivo en las ciencias de los materiales (Tippayawat *et al.*, 2016). Se han reportado métodos biosintéticos para la producción de NPs utilizando agentes biológicos como microorganismos, enzimas y extractos de plantas como potenciales alternativas ecológicas, reduciendo la implementación de los métodos químicos y físicos que tienen un impacto nocivo al ambiente (Hussain *et al.*, 2016). Los métodos biológicos de síntesis ofrecen una cinética más lenta, una mejor manipulación y control sobre el desarrollo y estabilización del nanomaterial. Esto ha motivado un aumento en la investigación sobre las rutas de síntesis de NPs que permiten un mejor control de la forma y el tamaño para varias aplicaciones nanotecnológicas (Tippayawat *et al.*, 2016). Estos métodos se caracterizan por ser simples, económicos, ofrecen altos rendimientos y principalmente son amigables con el ambiente (Zhang *et al.*, 2013). Actualmente, el uso de NPs metálicas se ha incrementado debido a que los resultados preliminares han sido alentadores en diversas áreas. No obstante, las nanopartículas de plata (AgNPs) han recibido un particular interés debido a sus propiedades específicas, como estabilidad química, buena conductividad y capacidades catalíticas, además de poseer propiedades antimicrobianas (Ahmed *et al.*, 2016). Los extractos vegetales contienen compuestos bioactivos como proteínas, aminoácidos, enzimas, polisacáridos, alcaloides, taninos, fenoles, saponinas, terpenoides y vitaminas que intervienen en la reducción de los iones de plata para la formación y estabilización de las AgNPs (Arya *et al.*, 2017). La sábila y ajo son dos especies vegetales que se caracterizan por sus propiedades medicinales, antimicrobianas y antioxidantes. Además, ambas especies están ampliamente distribuidas alrededor del mundo, son de bajo costo y se comercializan en fresco, en extracto acuoso y extracto en polvo.

Estas especies presentan diversos compuestos bioactivos. El ajo posee compuestos organosulfurados que pueden actuar como agentes reductores en la producción de NPs. Por otra parte, sábila contiene polisacáridos, como la aloína, la cual es un potencial agente reductor (Bouqellah *et al.*, 2019; El-Refai *et al.*, 2018; Hajra *et al.*, 2014; Logaranjan *et al.*, 2016). Sabiendo esto, el objetivo de este estudio fue biosintetizar y caracterizar AgNPs utilizando extractos vegetales en polvo de sábila y ajo como una alternativa ecológica y rentable de síntesis.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Materiales

El nitrato de plata (AgNO_3 99.99%), hidróxido de sodio (NaOH) se adquirieron de Meyer® y Merck Company. Se utilizó agua Milli-Q® a lo largo del experimento y papel filtro Whatman® No. 1. Los cuatro extractos vegetales en polvo de ajo y sábila utilizados se obtuvieron de las marcas comerciales McCormick® y Sassón®; y Centro Botánico Tradicional (Veracruz, México) y capslife (México), respectivamente.

2.2.2 Preparación del extracto

Se evaluaron tres concentraciones (0.25, 0.5 y 0.75 g). Se pesaron las cantidades de extracto vegetal en polvo de ajo y sábila por separado y a cada uno se le adicionaron 25 mL de agua Milli-Q®. Se filtró cada solución para su posterior uso utilizando un filtro Whatman® No. 1.

2.2.3 Síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs)

La síntesis se realizó de acuerdo con la técnica sugerida por Soto *et al.*, (2019), realizando algunas modificaciones. Por lo tanto, se preparó una solución acuosa de nitrato de plata (AgNO_3) 1 mM. Se colocaron 25 mL de agua Milli-Q® y se añadió 1

mL de solución de extracto vegetal. Luego se adicionaron gota a gota 10 ml de solución de AgNO_3 bajo agitación continua a 300 rpm y a temperatura 90°C . El cambio de color de la solución de incoloro a amarillo indicó la formación de las NPs. Las AgNPs fueron almacenadas a temperatura ambiente evitando el contacto con la luz hasta que se realizó su caracterización.

2.3 Caracterización de AgNPs

2.3.1 Espectroscopía Ultravioleta- Visible (UV-Vis)

La medición de la absorbancia de la banda plasmónica superficial se realizó a la longitud de onda de 300 a 700 nm mediante un espectrofotómetro de doble haz Thermo Scientific™ (modelo Genesys 10S UV-Vis) (Figura 3 y 4) operado a una resolución de 1 nm de acuerdo con lo descrito Arya *et al.* (2017). Las muestras se colocaron en las celdas para espectrofotómetro y se realizaron las mediciones utilizando agua Milli-Q® como blanco.

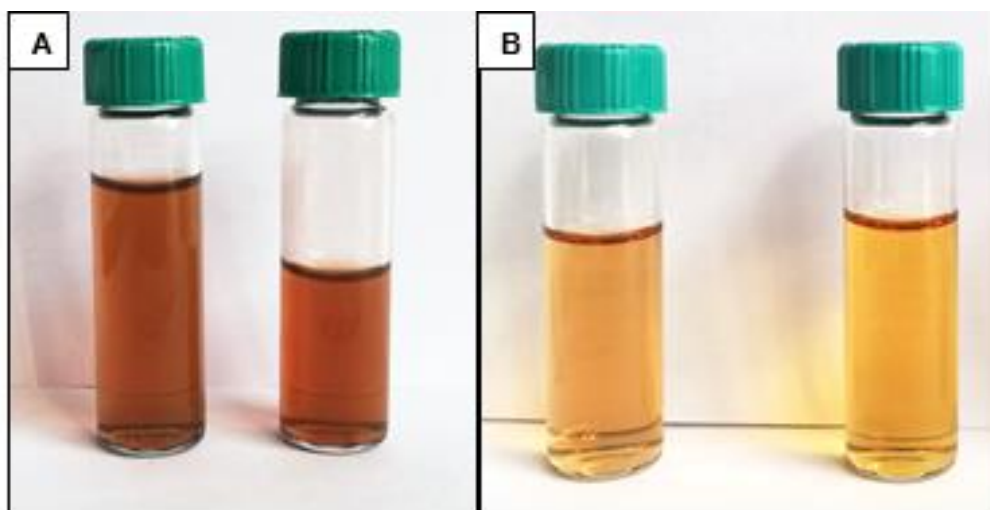


Figura 3. AgNPs sintetizadas usando extracto de sábila S1 y S2 (A) y ajo S3 y S4 (B).



Figura 4. Espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific™.

2.3.2 Difracción de rayos X (DRX)

Se empleó un difractómetro de rayos X (DRX) BRUKER (modelo D8 Discover), ubicado en el Centro de Caracterización de Materiales de la Pontificia Universidad Católica del Perú (Figura 5), con la finalidad de identificar la composición de fase cristalina de las muestras de AgNPs. El difractómetro estaba equipado con Cu K α a una longitud de onda de 1,5406 Å, y se operó con una corriente de 40 mA y una diferencia de potencial eléctrico de 40 kV de acuerdo con Hamedi *et al.* (2019). Para preparar la muestra, se colocaron 5 mL de cada muestra de AgNPs por separado sobre una base de silicio y se dejó secar a temperatura ambiente. Se colocó en el portamuestras de aluminio del equipo para ser analizado.

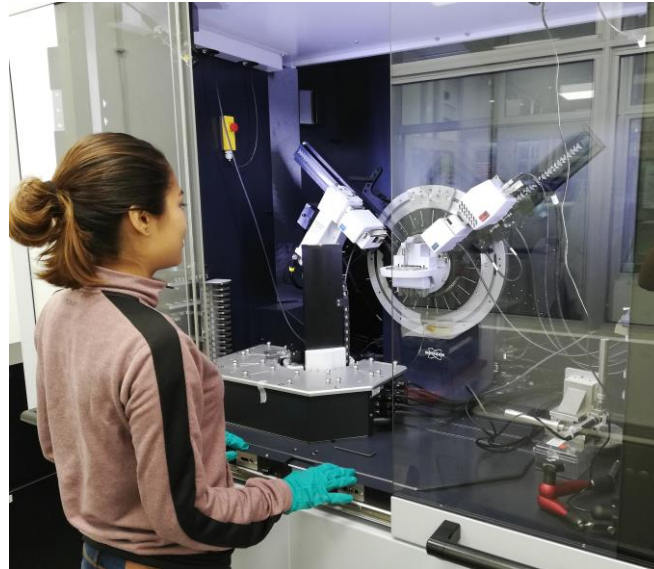


Figura 5. Difractómetro de rayos X BRUKER D8 Discover.

2.3.3 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La morfología y el tamaño de las AgNPs se determinaron utilizando un microscopio electrónico de transmisión (modelo JEOL JEM-1010) ubicado en la Unidad de Microscopia Electrónica del Colegio de Posgraduados Campus Montecillo (Figura 6). De acuerdo con Soto *et al.* (2019) los diámetros de los NPs se obtuvieron midiendo al menos 50 partículas con el software Image J. La muestra se preparó colocando 5 μL de AgNPs en dilución 1:5, en una rejilla de cobre recubierta de carbono y se dejó secar a temperatura ambiente.

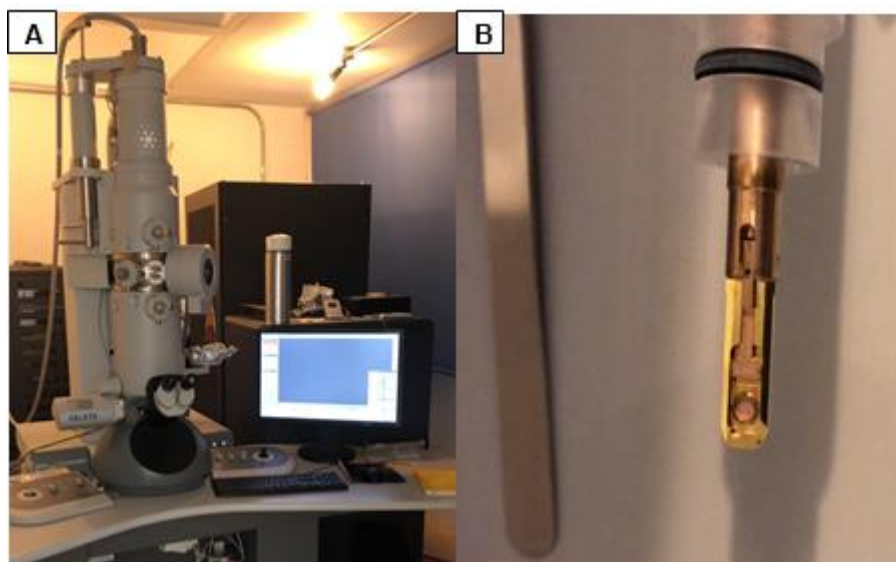


Figura 6. Microscopio electrónico de transmisión JEOL JEM-1010® (A) y portamuestras con la rejilla de cobre con AgNPs (B).

2.4. Resultados y discusión

2.4.1 Espectroscopía Ultravioleta- Visible (UV-Vis)

La bioreducción del AgNO_3 se observó mediante un cambio de color de incoloro a amarillo en todas las soluciones (Figura 3). Se estableció un pH final de 8. Alquidi *et al.* (2014) reportan valores de pH entre 7-11 para la obtención efectiva de AgNPs. Además, mencionan que el valor de pH es proporcionalmente inverso al tamaño de NPs y también influye directamente en la tasa de reducción del precursor. Por otra parte, Quintero-Quiroz *et al.* (2019) mencionan que la polidispersidad del tamaño de las AgNPs disminuye al reducir el valor de pH. El cambio de color es atribuido a la resonancia del plasmón superficial (SPR) (Hamedi & Shojaosadati, 2019). La vibración de los electrones conductores combinados con la onda de luz incidente produce la formación de la banda SPR (Huang & El-Sayed, 2010). La diferencia en la intensidad (tonalidad) del color amarillo obtenido en las diferentes soluciones indica una reducción efectiva de Ag^+ a Ag^0 , lo cual está relacionado directamente

por la capacidad reductora de cada extracto (Anandan *et al.*, 2019). Chhrate *et al.* (2012) mencionan que el color de las AgNPs está correlacionado con el tamaño y la morfología de las NPs. Las Figuras 7 y 8 muestran los valores máximos de absorbancia de las muestras de sábila Capslife y Centro Botánico Tradicional, S1 y S2; respectivamente, y de ajo McCormick® y Sassón®, S3 y S4, respectivamente. La longitud de onda máxima de los espectros resultantes se encuentra a 410 nm para S1 y S2 y para el caso de las muestras S3 y S4 a 400 nm, con una absorbancia de 1.5 y 2.1 respectivamente para S1, S2 y S3, S4.

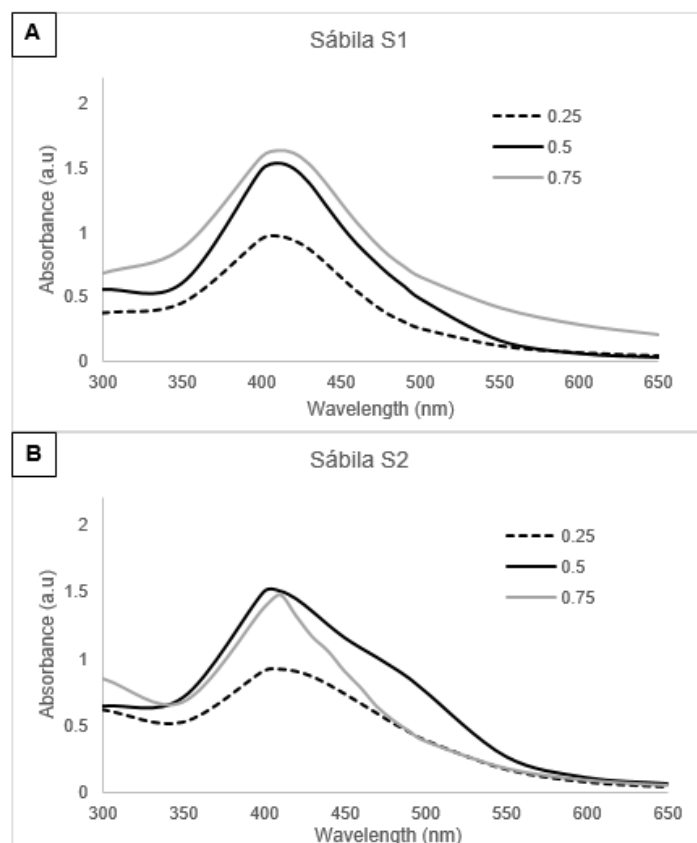


Figura 7. Espectro UV-Vis de AgNPs sintetizadas usando extracto de sábila (A) S1, (B) S2.

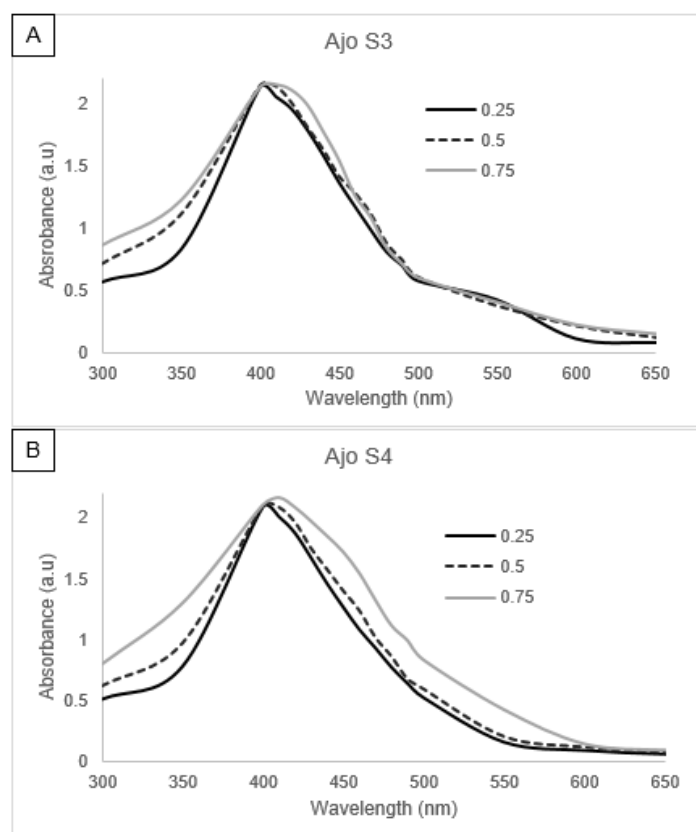


Figura 8. Espectro UV-Vis de AgNPs sintetizadas usando extractos de ajo (A) S3, (B) S4.

Vigneshwaran *et al.* (2006) reporta que la absorción máxima de las NPs de plata coloidales oscila entre 390 y 420 nm. Las características de longitud máxima de absorción y el SPR están relacionadas con la morfología, tamaño y distribución de las NP metálicas (Senthilkumar *et al.*, 2018). Se ha reportado que la presencia de una sola banda es característica de AgNPs con forma esférica (Kumari *et al.*, 2016). Por otra parte, dos o más bandas indican la formación de AgNPs anisotrópicas, es decir, sus propiedades eléctricas y mecánicas dependen de la dirección en que se miden (Kim & Lee, 2015). Hu *et al.* (2019) reportan en su estudio la presencia de tres picos de absorción (348, 427 y 629 nm), lo que significa la formación de nanotriángulos de plata mientras que Zhang *et al.* (2019) menciona que la presencia de 2 bandas de absorción (400 y 676 nm) son características de nanodiscos de

plata, lo cual indica el crecimiento anisotrópico de NPs. Así mismo Sánchez *et al.* (2016) y Kathiravem *et al.* (2015) mencionan que el ancho de banda depende de la constante dieléctrica que caracteriza al metal y el medio disolvente. Además la formación y estabilización de las NPs está relacionada con el poder reductor de los extractos vegetales (Gangula *et al.*, 2011). De acuerdo con el estudio reportado por Sathiskumar *et al.* (2009) un aumento en la concentración de extractos vegetales indica un aumento en la absorbancia debido a una mayor disponibilidad de moléculas bioactivas que generan la reducción de los iones plata Ag. Soto *et al.* (2019) menciona que la producción de AgNPs está directamente relacionado con el aumento en la medición de la absorbancia y que la temperatura de síntesis a 90°C aumenta la cinética de reacción de Ag⁺ a Ag⁰. Arya *et al.* (2019) mencionan que un aumento en la concentración de AgNPs es caracterizado por un aumento en la altura del pico de absorción. Sin embargo, este aumento en el rendimiento puede ocasionar colisión de las NPs y por lo tanto su agregación. En este estudio se ha demostrado que ambos extractos vegetales mostraron una efectiva formación de AgNPs. Además, se identificó la concentración de ambos extractos vegetales para la bio-reducción eficaz de AgNPs, siendo 0.5 g de sábila y 0.25 g de ajo. Sin embargo, los extractos de ajo mostraron una absorbancia mayor que los extractos de sábila en la producción de NPs, lo cual está estrechamente relacionado con sus poderes reductores. Se ha demostrado que las AgNPs con una absorción máxima alrededor de 420 nm presentan una forma esférica (Arya *et al.*, 2017), es decir, se presenta aglomeración de las AgNPs. Lo anterior concuerda con el análisis TEM realizado.

2.4.2 Difracción de rayos X (DRX)

La Figura 9 muestra el patrón de DRX obtenido de las AgNPs biosintetizadas utilizando sábila como agente reductor. Se observan los picos de difracción en ángulos de 2θ en 38.21° , 44.42° , 64.77° , 77.58° y 38.23° , 44.42° , 64.77° y 77.58° para S1 y S2 respectivamente. Estos picos corresponden a los planos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) y (3 1 1) de la red cúbica de plata centrada en la cara (FCC). Por otra parte, para las AgNPs bio-reducidas utilizando ajo S3 y S4, se identificaron 4 picos de difracción prominentes 2θ en 38.37° , 44.45° , 64.44° y 77.75° y 38.35° , 44.42° , 64.44° y 77.75° , respectivamente; valores atribuidos a los planos cristalinos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) y (3 1 1). Estos picos están asociados con la red cúbica centrada en la cara (FCC). Estos datos se ajustan a los del Comité Conjunto sobre Normas de Difracción de Polvo (archivo JCPDS N° 87 0720). Estos hallazgos confirman la naturaleza cristalina de las AgNPs producidas y concuerdan con los resultados obtenidos por Vidhu & Philip (2014), quienes utilizaron extracto de semillas de *T. foenum-graecum* para la producción de AgNPs, donde observaron picos de difracción a 38.36° , 44.74° , 64.85° , 77.75° y 81.85° , los cuales son similares a los obtenidos en este estudio. Además, los resultados muestran un pico de difracción sobresaliente en el plano (1 1 1), indicando que las AgNPs son cristalinas y su crecimiento podría suceder en esa dirección (Anandan *et al.*, 2019). Los demás picos no asignados pueden atribuirse a la cristalización de la fase orgánica presente en las NPs (Hamedi & Shojaosadati, 2019).

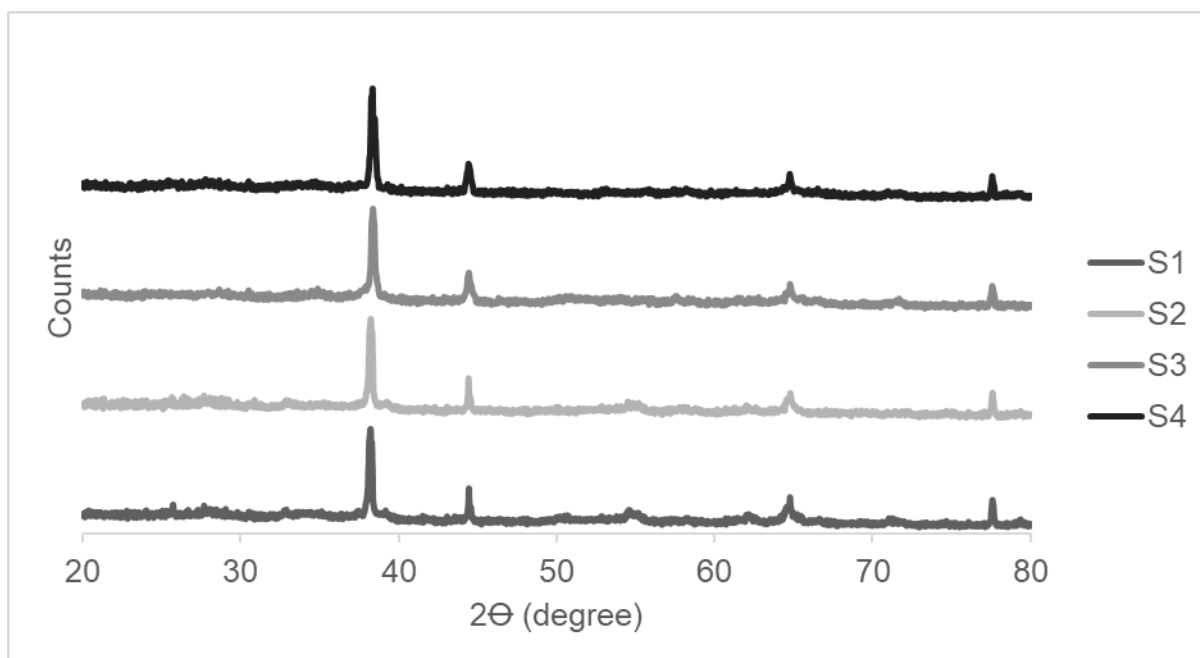


Figura 9. Patrones DRX de AgNPs sintetizadas usando extracto de sábila (S1 y S2) y ajo (S3 Y S4).

2.4.3 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La microscopía electrónica de transmisión (TEM) es empleada para el análisis de la forma y el tamaño de las NPs, por lo cual es un instrumento útil para la caracterización de partículas. Como se puede observar en las micrográficas TEM (Figura 10 y Figura 12), las AgNPs obtenidas a partir de los dos extractos diferentes presentan morfología casi esférica. Estos resultados son similares a los obtenidos por Anandan *et al.* (2019) y Hamouda *et al.* (2019). La Figura 11 revela que el tamaño oscila alrededor de los 18-19 y 17-18 nm para las AgNPs sintetizados utilizando una concentración de 0.5 g del extracto de sábila S1 y S2, respectivamente.

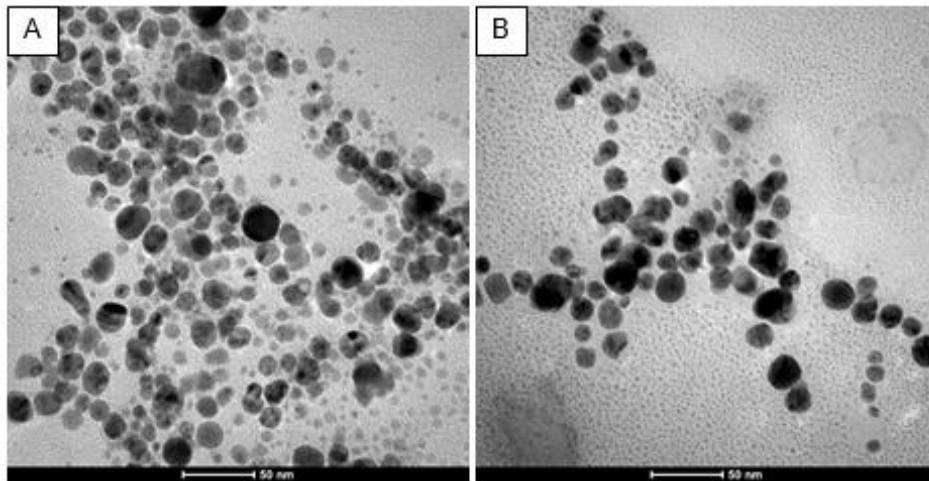


Figura 10. Micrografía TEM de AgNPs utilizando una concentración de 0.5 g de extracto de sábila como agente reductor, (A) S1, (B) S2.

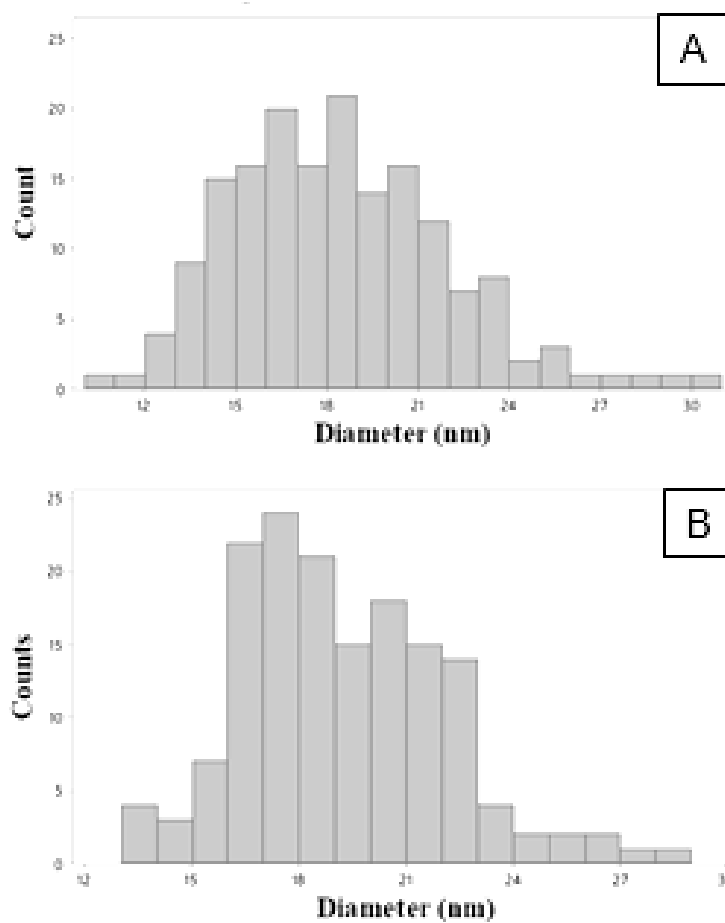


Figura 11. Distribución de tamaños de AgNPs utilizando una concentración de 0.5 g de extracto de sábila como agente reductor (A) S1, (B) S2.

Por otra parte, para las AgNPs obtenidas utilizando una concentración de 0.25 g del extracto de ajo S3 y S4, se encontró que ambas estaban en el rango 12-13 nm (Figura 13).

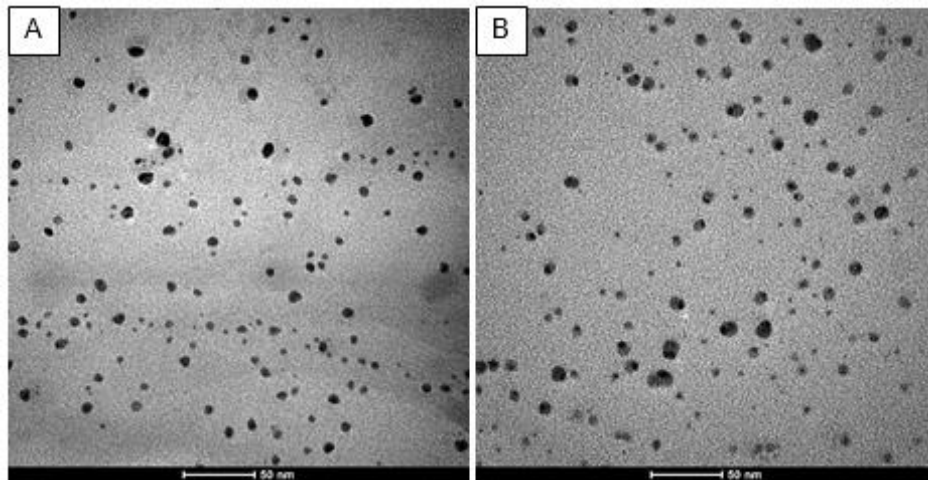


Figura 12. Micrografía TEM de AgNPs utilizando una concentración de 0.25 g de extracto de ajo como agente reductor, (A) S3, (B) S4.

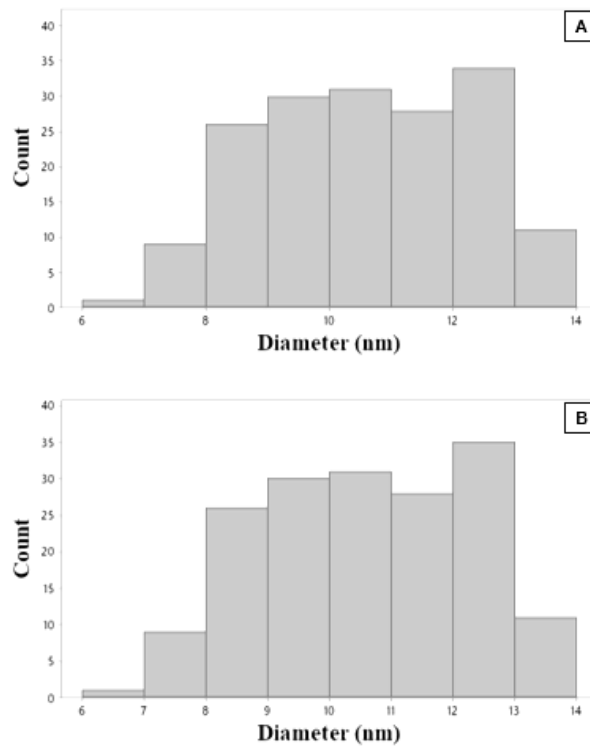


Figura 13. Distribución de tamaños de AgNPs utilizando una concentración de 0.25 g de extracto de ajo como agente reductor (A) S3, (B) S4.

Estos hallazgos son similares a los obtenidos por Rane *et al.* (2017) y Anandan *et al.* (2019). Además, estos resultados confirman el análisis UV-Vis. En un estudio reciente de Hamouda *et al.* (2019) mencionan que las AgNPs obtenidas utilizando extracto del alga *O. limnetica* mostraron una buena dispersión y no presentaron variaciones de forma ni aglomeración significativa, este comportamiento es atribuido a los constituyentes del extracto biológico utilizado, el cual cumple con la doble función de reductor y estabilizador de las NPs obtenidas. Los resultados obtenidos concuerdan con lo presentado por Soto *et al.* (2019) quienes mencionan que los compuestos bioactivos presentes en el extracto de uva, especialmente los grupos hidroxilo, funcionan como estabilizadores de las NPs, lo que sugiere que los compuestos bioactivos, como las antraquinonas (aloína, aloesina, aloe-emodin) y los compuestos organosulfurados (DAS, DADS, DATS) (Bouqellah *et al.*, 2019; El-Refai *et al.*, 2018; Hajra *et al.*, 2014; Logaranjan *et al.*, 2016) presentan un papel importante en la formación de las NPs.

2.5 Conclusiones

En este estudio se sintetizaron AgNPs mediante una síntesis verde utilizando extractos vegetales en polvo de dos especies vegetales, sábila y ajo, como agentes reductores y se caracterizaron a través de técnicas ópticas y microscópicas. Los resultados de espectroscopia UV-Vis confirmaron la formación efectiva de las AgNPs, pasando de Ag^+ a Ag^0 . El extracto de ajo mostró mayor poder reductor que el extracto de sábila. Esto se confirmó en el espectro UV-Vis donde se aprecian absorbancias de 1.5-1.6 y 2.0-2.1 utilizando la concentración más baja de ajo y una concentración intermedia de *A. barbandensis*, respectivamente. Los resultados DRX mostraron la naturaleza cristalina de las AgNPs FCC siendo los planos correspondientes (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) y (3 1 1) en las 4 síntesis realizadas. Las

imágenes TEM demostraron aglomerados la morfología semi esférica de las AgNPs, además se mostró que el tamaño de las nanopartículas obtenidas utilizando sábila (17-19 nm) era mayor que las obtenidas utilizando ajo (12-13 nm). Además, en este trabajo se determinó la concentración mínima de dos extractos vegetales comerciales en polvo para producir AgNPs empleando un método de bajo costo y amigable con el ambiente, siendo los extractos comerciales un producto estandarizado con características positivas que ofrece una alternativa viable y rentable para la síntesis de NPs.

2.6 Recomendaciones

En próximas investigaciones se recomienda analizar profundamente la cinética de formación de las AgNPs tomando en cuenta parámetros como tiempo de reducción, cambios de pH y temperaturas diferentes.

2.7 Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada. También agradecen el apoyo de la LGAC-3: Comercialización y Competitividad Agroalimentaria con Responsabilidad Social y Ambiental, del programa de Innovación Agroalimentaria Sustentable del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, y al grupo GICA perteneciente a la Sección Química de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima.

Literatura citada

Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *Journal of Advanced Research*, 7(1), 17–28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007>

- Alqadi, M. K., Abo Noqtah, O. A., Alzoubi, F. Y., Alzouby, J., & Aljarrah, K. (2014). PH effect on the aggregation of silver nanoparticles synthesized by chemical reduction. *Materials Science- Poland*, 32(1), 107–111. <https://doi.org/10.2478/s13536-013-0166-9>
- Anandan, M., Poorani, G., Boomi, P., Varunkumar, K., Anand, K., Chuturgoon, A. A., Saravanan, M., & Gurumallesh Prabu, H. (2019). Green synthesis of anisotropic silver nanoparticles from the aqueous leaf extract of *Dodonaea viscosa* with their antibacterial and anticancer activities. *Process Biochemistry*, 80(December 2018), 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.02.014>
- Arya, G., Kumari, R. M., Sharma, N., Gupta, N., Kumar, A., Chatterjee, S., & Nimesh, S. (2019). Catalytic, antibacterial and antibiofilm efficacy of biosynthesised silver nanoparticles using *Prosopis juliflora* leaf extract along with their wound healing potential. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 190(November 2018), 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.11.005>
- Arya, G., Sharma, N., Ahmed, J., Gupta, N., Kumar, A., Chandra, R., & Nimesh, S. (2017). Degradation of anthropogenic pollutant and organic dyes by biosynthesized silver nano-catalyst from *Cicer arietinum* leaves. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 174(July), 90–96. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.07.019>
- Bouqellah, N. A., Mohamed, M. M., & Ibrahim, Y. (2019). Synthesis of eco-friendly silver nanoparticles using garlic. and their antimicrobial potential on selected vaginal bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1789–1794. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.04.001>
- Chhatre, A., Solasa, P., Sakle, S., Thaokar, R., & Mehra, A. (2012). Color and

surface plasmon effects in nanoparticle systems: Case of silver nanoparticles prepared by microemulsion route. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 404, 83–92.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.04.016>

El-Refai, A. A., Ghoniem, G. A., El-Khateeb, A. Y., & Hassaan, M. M. (2018). Eco-friendly synthesis of metal nanoparticles using ginger and garlic extracts as biocompatible novel antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 8(1), 71–81. <https://doi.org/10.1007/s40097-018-0255-8>

Gangula, A., Podila, R., M, R., Karanam, L., Janardhana, C., & Rao, A. M. (2011). Catalytic reduction of 4-nitrophenol using biogenic gold and silver nanoparticles derived from *Breynia rhamnoides*. *Langmuir*, 27(24), 15268–15274. <https://doi.org/10.1021/la2034559>

Hajra, A., Dey, U., Bose, P., & Mondal, N. K. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles from *Aloe vera* leaf extract and antifungal Biosynthesis of silver nanoparticles from *Aloe vera* leaf extract and antifungal activity against *Rhizopus* sp . and *Aspergillus* sp . December. <https://doi.org/10.1007/s13204-014-0387-1>

Hamed, S., & Shojaosadati, S. A. (2019). Rapid and green synthesis of silver nanoparticles using *Diospyros lotus* extract: Evaluation of their biological and catalytic activities. *Polyhedron*, 171, 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2019.07.010>

Hamouda, R. A., Hussein, M. H., Abo-elmagd, R. A., & Bawazir, S. S. (2019). Synthesis and biological characterization of silver nanoparticles derived from the cyanobacterium *Oscillatoria limnetica*. *Scientific Reports*, 9(1), 1–17.

<https://doi.org/10.1038/s41598-019-49444-y>

- Hu, G., Zhang, W., Zhong, Y., Liang, G., Chen, Q., & Zhang, W. (2019). The morphology control on the preparation of silver nanotriangles. *Current Applied Physics*, 19(11), 1187–1194. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2019.08.002>
- Huang, X., & El-Sayed, M. A. (2010). Gold nanoparticles: Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. *Journal of Advanced Research*, 1(1), 13–28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2010.02.002>
- Hussain, I., Singh, N. B., Singh, A., Singh, H., & Singh, S. C. (2016). Green synthesis of nanoparticles and its potential application. *Biotechnology Letters*, 38(4), 545–560. <https://doi.org/10.1007/s10529-015-2026-7>
- Kathiraven, T., Sundaramanickam, A., Shanmugam, N., & Balasubramanian, T. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles using marine algae *Caulerpa racemosa* and their antibacterial activity against some human pathogens. *Applied Nanoscience (Switzerland)*, 5(4), 499–504. <https://doi.org/10.1007/s13204-014-0341-2>
- Kim, B. H., & Lee, J. S. (2015). One-pot photochemical synthesis of silver nanodisks using a conventional metal-halide lamp. *Materials Chemistry and Physics*, 149, 678–685. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2014.11.026>
- Kumari, R. M., Thapa, N., Gupta, N., Kumar, A., & Nimesh, S. (2016). Antibacterial and photocatalytic degradation efficacy of silver nanoparticles biosynthesized using *Cordia dichotoma* leaf extract. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 7(4). <https://doi.org/10.1088/2043-6262/7/4/045009>
- Logaranjan, K., Raiza, A. J., Gopinath, S. C. B., & Chen, Y. (2016). Shape- and Size-Controlled Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Aloe vera* Plant Extract

- and Their Antimicrobial Activity. *Nanoscale Research Letters*.
<https://doi.org/10.1186/s11671-016-1725-x>
- Oliveira, A. C. de J., Araújo, A. R. de, Quelemes, P. V., Nadvorny, D., Soares-Sobrinho, J. L., Leite, J. R. S. de A., da Silva-Filho, E. C., & Silva, D. A. da. (2019). Solvent-free production of phthalated cashew gum for green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 213(February), 176–183. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.033>
- Quintero-Quiroz, C., Acevedo, N., Zapata-Giraldo, J., Botero, L. E., Quintero, J., Zárate-Trivinõ, D., Saldarriaga, J., & Pérez, V. Z. (2019). Optimization of silver nanoparticle synthesis by chemical reduction and evaluation of its antimicrobial and toxic activity. *Biomaterials Research*, 23(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s40824-019-0173-y>
- Rane, A. N., Baikar, V. V., Ravi Kumar, D. V., & Deopurkar, R. L. (2017). Agro-industrial wastes for production of biosurfactant by *Bacillus subtilis* ANR 88 and its application in synthesis of silver and gold nanoparticles. *Frontiers in Microbiology*, 8(MAR), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00492>
- Sánchez, G. R., Castilla, C. L., Gómez, N. B., García, A., Marcos, R., & Carmona, E. R. (2016). Leaf extract from the endemic plant *Peumus boldus* as an effective bioproduct for the green synthesis of silver nanoparticles. *Materials Letters*, 183(October 2012), 255–260. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2016.07.115>
- Sathishkumar, M., Sneha, K., Won, S. W., Cho, C. W., Kim, S., & Yun, Y. S. (2009). *Cinnamon zeylanicum* bark extract and powder mediated green synthesis of nano-crystalline silver particles and its bactericidal activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 73(2), 332–338. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.06.005>

- Senthilkumar, N., Arulraj, A., Nandhakumar, E., Ganapathy, M., Vimalan, M., & Vetha Potheher, I. (2018). Green mediated synthesis of plasmonic nanoparticle (Ag) for antireflection coating in bare mono silicon solar cell. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29(15), 12744–12753. <https://doi.org/10.1007/s10854-018-9392-6>
- Soto, K. M., Quezada-Cervantes, C. T., Hernández-Iturriaga, M., Luna-Bárcenas, G., Vazquez-Duhalt, R., & Mendoza, S. (2019). Fruit peels waste for the green synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial activity against foodborne pathogens. *LWT*, 103, 293–300. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.023>
- Tippayawat, P., Phromviyo, N., Boueroy, P., & Chompoosor, A. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles in sábila plant extract prepared by a hydrothermal method and their synergistic antibacterial activity. *PeerJ*, 2016(10), 1–15. <https://doi.org/10.7717/peerj.2589>
- Vidhu, V. K., & Philip, D. (2014). Catalytic degradation of organic dyes using biosynthesized silver nanoparticles. *Micron*, 56, 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2013.10.006>
- Vigneshwaran, N., Nachane, R. P., Balasubramanya, R. H., & Varadarajan, P. V. (2006). A novel one-pot “green” synthesis of stable silver nanoparticles using soluble starch. *Carbohydrate Research*, 341(12), 2012–2018. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2006.04.042>
- Zhang, W., Hu, G., Zhang, W., Zhang, Y., He, J., Yuan, Y., Zhang, L., & Fei, J. (2019). A facile strategy for the synthesis of silver nanostructures with different morphologies. *Materials Chemistry and Physics*, 235(January), 121629. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.05.017>
- Zhang, Y., Cheng, X., Zhang, Y., Xue, X., & Fu, Y. (2013). Biosynthesis of silver

nanoparticles at room temperature using aqueous aloe leaf extract and antibacterial properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 423, 63–68. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.01.059>

**CAPÍTULO III. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS
NANOPARTÍCULAS DE PLATA OBTENIDAS MEDIANTE SÍNTESIS VERDE DE
SÁBILA (*A. barbadensis* Miller) COMO AGENTE REDUCTOR**

CAPÍTULO III. Evaluación de la actividad antibacteriana de las nanopartículas de plata obtenidas mediante síntesis verde de sábila (*A. barbadensis Miller*) como agente reductor

González-Torres, M.¹; Contreras-Oliva, A.¹; Gómez-Merino, F.C.¹; Saucedo-Rivalcoba, V.²; Salinas-Ruiz, J.¹

¹Colegio de Postgraduados. Campus Córdoba, Km 348 Carretera Federal Córdoba-Veracruz, Congregación Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz. C.P. 94946. México.

*Autor de Correspondencia: Josafhat Salinas-Ruiz. E-mail: salinas@colpos.mx
Teléfono: +522717166000.

**Evaluación de la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata
obtenidas mediante síntesis verde de sábila (*A. barbadensis Miller*) como
agente reductor**

RESUMEN

Se evaluó la actividad antimicrobiana de las AgNPs obtenidas mediante síntesis verde utilizando dos extractos diferentes de sábila como agente reductor. Los métodos empleados en este estudio fueron concentración mínima inhibitoria (CMI) para el crecimiento bacteriano y la prueba de difusión en agar contra dos bacterias Gram-negativas, *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*. Las concentraciones AgNPs probadas fueron 25 µg/mL, 50 µg/mL, 75 µg/mL, 100 µg/mL. Se observaron diferencias no significativas entre los efectos bactericidas de las AgNPs obtenidas mediante ambos extractos sábila, Capslife (S1) y Centro Botánico Tradicional (S2). Se observó una zona de inhibición de 21.800 ± 0.300 y 21.867 ± 0.896 para *E. coli* y *E. aerogenes* respectivamente utilizando AgNPs S1. Las mejores zonas de inhibición empleando AgNPs S2 fueron 23.133 ± 0.252 y 23.833 ± 0.351 para *E. coli* y *E. aerogenes* respectivamente. Los resultados para la concentración mínima inhibitoria se obtuvieron utilizando 125 µg/mL y 62.5 µg/mL de AgNPs S1 y S2 contra *E. coli* y contra *E. aerogenes*, respectivamente.

Palabras clave: AgNPs, inhibición bacteriana, CMI.

3.1 Introducción

Recientemente las AgNPs han cobrado gran importancia por el uso potencial de aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica, entre otros. El uso y aplicación de éstas NPs depende de la morfología, tamaño, método de síntesis, pH, estabilidad química, naturaleza del medio disolvente, concentración del precursor metálico y del agente reductor (Arya *et al.*, 2019; Siddiqi *et al.*, 2018). En recientes investigaciones han reportado el incremento progresivo en la resistencia bacteriana frente a una amplia gama de antibióticos ocasionado por el uso excesivo e indiscriminado de estos fármacos (Das *et al.*, 2020). No obstante, la plata es un eficaz agente de inhibición contra bacterias, hongos y virus (Tang & Zheng, 2018). Este elemento se ha utilizado en dispositivos médicos, la industria textil y la industria cosmética (Das *et al.*, 2020). Además, sales de plata se han aplicado en el tratamiento contra infecciones en quemaduras y heridas (Lee & Nagajyothi, 2011). Este metal ha mostrado su potencial en su forma coloidal, iónica y en NPs (Siddiqi *et al.*, 2018; Venkatesan *et al.*, 2016). Por otra parte, Ye *et al.* (2016) menciona que las AgNPs han sido empleadas en la industria de alimentos y en remediación ambiental. También, el uso de AgNPs se ha reportado en la conservación y embalaje de alimentos para reducir las pérdidas ocasionados por microorganismos patógenos (Siddiqi *et al.*, 2018). Además, este nanomaterial fue adicionado a fibras de algodón, mostrando una efectividad antibacteriana contra *E. coli* y la reducción de los malos olores que produce el sudor humano (Abou El-Nour *et al.*, 2010). La actividad y eficacia antibacteriana de las AgNPs está directamente relacionada con la morfología, el tamaño y los componentes bioactivos presentes en la superficie de las NPs, así como de la estabilidad química para la generación de iones de plata (Tang & Zheng, 2018). La plata posee alta reactividad y eficiencia en la unión a

proteínas desencadenando daños en el exterior y en el interior célula bacteriana (Jazmín Silvero *et al.*, 2018). Se ha reportado que las AgNPs pueden actuar acumulándose en la membrana celular y provocar cambios morfológicos, estructurales, de permeabilidad, así como en la cadena respiratoria, el transporte de iones y en la división celular (Ghiuță & Cristea, 2020; Tang & Zheng, 2018). Los iones Ag^+ reaccionan con el grupo tiol de las proteínas ocasionando la desnaturalización del ADN, se producen especies reactivas de oxígeno (ROS) y la interferencia de las diferentes rutas metabólicas. De esta forma, diversas funciones celulares vitales se interrumpen y como consecuencia se conduce a la muerte celular (Das *et al.*, 2020; Hamedi & Shojaosadati, 2019; Siddiqi *et al.*, 2018). La aplicación de las AgNPs se ha utilizado para la inhibición de patógenos (*S. saprophyticus*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *S. pneumonia*, *S. pyogenes*, *L. monocytogenes*, *S. epidermidis*, *K. pneumonia*, *S. typhimurium*, *S. flexneri* and *P. mirabilis*) debido al efecto bactericida de éstas NPs (Das *et al.*, 2020; Hemmati *et al.*, 2019). Con base a lo planteado anteriormente, esta investigación tiene como propósito evaluar la actividad antimicrobiana de las AgNPs, obtenidas mediante síntesis verde utilizando sábila como agentes reductores contra las cepas bacterianas *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Aislamiento e identificación de las cepas bacterianas

Se recolectaron cañas de azúcar de la parcela La Estrella de la comunidad San José de Abajo, Veracruz. El jugo de caña se obtuvo en el trapiche ubicado en el Colegio de Posgraduados Campus Córdoba. Se realizaron diluciones seriadas del jugo de caña tomando 100 μ l de jugo y 900 μ l de Tween 0.03% hasta la obtención de 1.5×10^8 UFC o 0.5 en estándar de McFarland (Hamedi & Shojaosadati, 2019),

verificando la absorbancia a 625 nm con ayuda de un espectrofotómetro UV-Vis. Posteriormente, 100 µl de la dilución se tomaron y se inocularon placas Petri que contenían agar EMB utilizando el método de Drigalski (Hedderich *et al.*, 2011) y se incubó a 37°C durante 24 h. Las bacterias se identificaron mediante las características morfológicas de las colonias.

3.2.2 Materiales

La actividad antibacteriana de las AgNPs, sintetizadas utilizando dos extractos comerciales diferentes de sábila S1 (Capslife) y S2 (Centro Botánico Tradicional), se evaluó mediante el método de difusión de agar y microdilución propuesto por Hamedí & Shojaosadati (2019). El ensayo se realizó utilizando dos cepas bacterianas aisladas de jugo de caña de azúcar *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*. Los medios de cultivo Eosina y azul de metileno (EMB), Mueller-Hinton (MHA) y caldo nutritivo (CN) de la marca Bioxon® fueron utilizados. Discos de papel filtro Whatman No. 1 de 6 mm de diámetro fueron esterilizados. Se determinó la zona de inhibición del crecimiento bacteriano, y la concentración mínima inhibitoria (CMI).

3.2.3 Concentración inhibitoria mínima para el crecimiento bacteriano

La CMI de las AgNPs contra bacterias seleccionadas se evaluó empleando el método de microdilución en caldo. Este análisis se llevó a cabo en tubos Eppendorf™. Cada tubo se llenó con 5 µl de suspensión de inoculante bacteriano con una dilución de 0.5 McFarland y las diferentes concentraciones de AgNPs (31.2 µg/mL, 62.5 µg/mL, 125 µg/mL, 250 µg/mL) y medio de cultivo CN hasta aforar a 200 µl en cada tubo. El último tubo de cada fila se tomó como control negativo y contenía 195 µl del medio de caldo y 5 µl del inóculo sin la adición de NPs. La placa se incubó a 37 °C durante 24 h. El crecimiento bacteriano se detectó al observar

turbidez en el fondo del tubo y la CMI se definió como la concentración más baja de AgNPs que inhibía visiblemente el crecimiento bacteriano.

3.2.4 Prueba de difusión en agar

La actividad antibacteriana de las AgNPs se determinó mediante la prueba de difusión en agar. En placas que contenían medio de cultivo MHA se inocularon mediante estriado con un asa bacteriológica los dos microorganismos seleccionados. Los discos de papel filtro estériles se impregnaron con las diferentes concentraciones de AgNPs (25 µg/mL, 50 µg/mL, 75 µg/mL, 100 µg/mL), y se colocaron en las placas inoculadas con la bacteria. Las placas se incubaron a 37 ° C durante 24 h. La zona de inhibición se observó alrededor del disco y se calculó midiendo el diámetro de la zona alrededor del disco.

3.2.5 Análisis estadístico

Los resultados de la prueba de difusión en agar fueron analizados utilizando el paquete estadístico SAS 9.4 bajo un diseño completamente al azar con una estructura factorial de tratamientos (extracto x concentración) como se muestra a continuación:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde y_{ijk} es la zona de inhibición en la observación j en el extracto i y concentración j , μ es la media general, τ_i es el efecto del extracto i , β_j es el efecto de la concentración j de AgNPs, γ_{ij} es el efecto de la interacción extracto con concentración de NPs y ε_{ij} es el error experimental con media cero y varianza σ^2 ($\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$). El ensayo se realizó por triplicado. Las comparaciones entre medias LSD se realizaron a un nivel de confianza del 5%.

3.3 Resultados y discusión

3.3.1 Identificación de las cepas bacterianas

Se identificaron dos cepas bacterianas del jugo de caña de azúcar, *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*. Como se muestra en la Figura 14 las características morfológicas de las colonias de *E. coli* son colonias grandes, color negro azulado, brillo verde metálico. Por otra parte, las colonias de *E. aerogenes* son colonias grandes, mucoides, color morado intenso azulado.

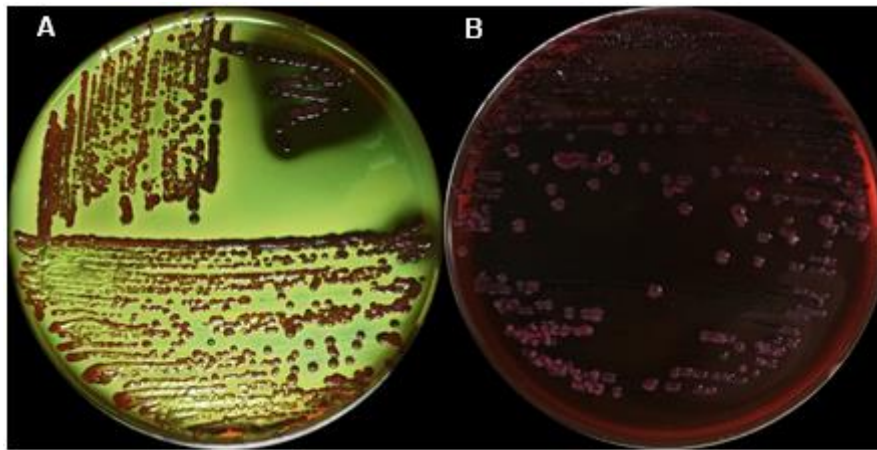


Figura 14. Cepas bacterianas en agar EMB *Escherichia coli* (A) y *Enterobacter aerogenes* (B).

3.3.2 Concentración inhibitoria mínima (CMI) para el crecimiento bacteriano

La CMI se determinó como la concentración más baja de AgNPs que inhibió el crecimiento bacteriano, de acuerdo con la de la turbidez del medio observada. La CMI se obtuvo a 125 $\mu\text{g/mL}$ de AgNPs S1 contra *E. coli* y *E. aerogenes* respectivamente. Mientras que la CMI obtenida utilizando AgNPs S2 fue a 62.5 $\mu\text{g/mL}$ para *E. coli* y *E. aerogenes*, respectivamente. Las Figuras 15 y 16 muestran una disminución de la turbidez al incrementarse la concentración de AgNPs, la disminución de la turbidez está altamente correlacionado con una mayor inhibición

del crecimiento bacteriano. Estos resultados coinciden con los reportados por Hamedi *et al.* (2019) donde obtuvieron la CMI utilizando una concentración de AgNPs biosintetizadas utilizando *Diospyros lotus* de 62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ contra *E. coli*. Por otra parte, Kumar *et al.*, (2019) reportan una CMI empleando 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de AgNPs obtenidas utilizando *Holoptelea integrifolia* contra las bacterias Gram-negativas *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

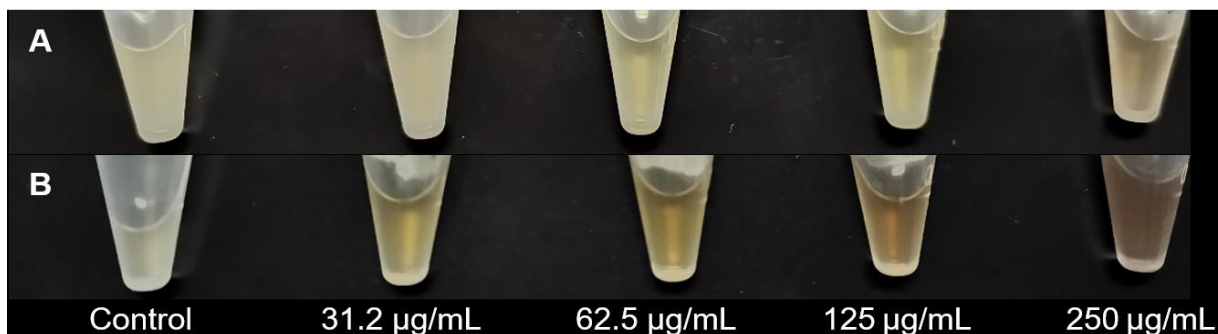


Figura 15. Concentración mínima inhibitoria de AgNPs S1 (A) y S2 (B) contra *E. coli*.

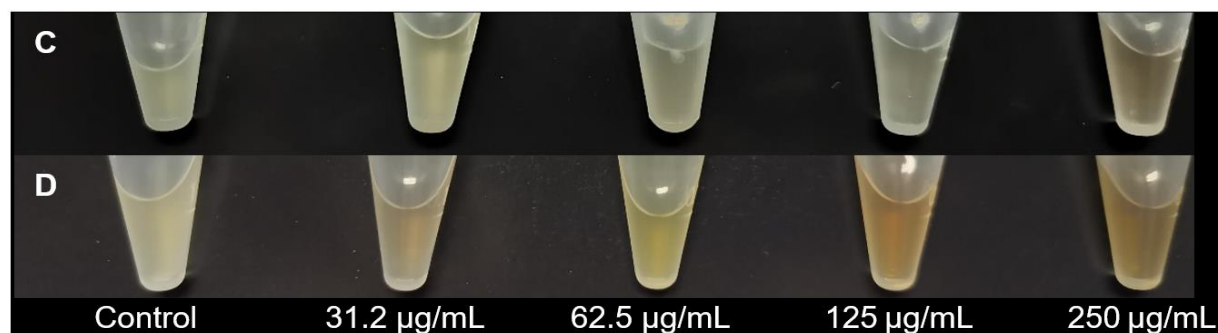


Figura 16. Concentración mínima inhibitoria de AgNPs S1 (C) y S2 (D) contra *E. aerogenes*.

3.3.3 Prueba de difusión en agar

En la Figura 17 se muestran los controles negativos de *Escherichia coli* (A') y *Enterobacter aerogenes*, (B') respectivamente, utilizando agua Milli-Q esterilizada en los discos. La actividad antibacteriana de las AgNPs contra *E. coli* y *E. aerogenes* se muestran en las Figuras 18 y 19. En ambos casos se evaluaron las concentraciones

25, 50, 75 y 100 $\mu\text{g/mL}$ de AgNPs, siendo A, B, C y D para S1 y E, F, G y H para S2, respectivamente.

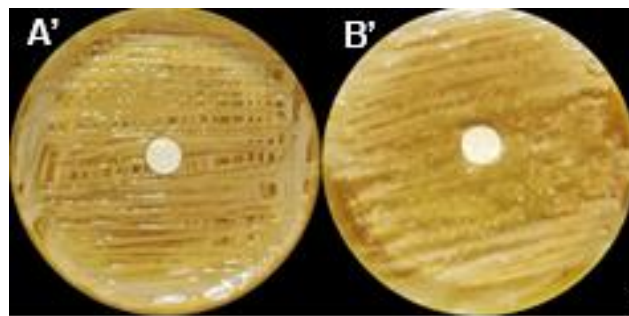


Figura 17. Controles negativos *Escherichia coli* (A') y *Enterobacter aerogenes* (B').

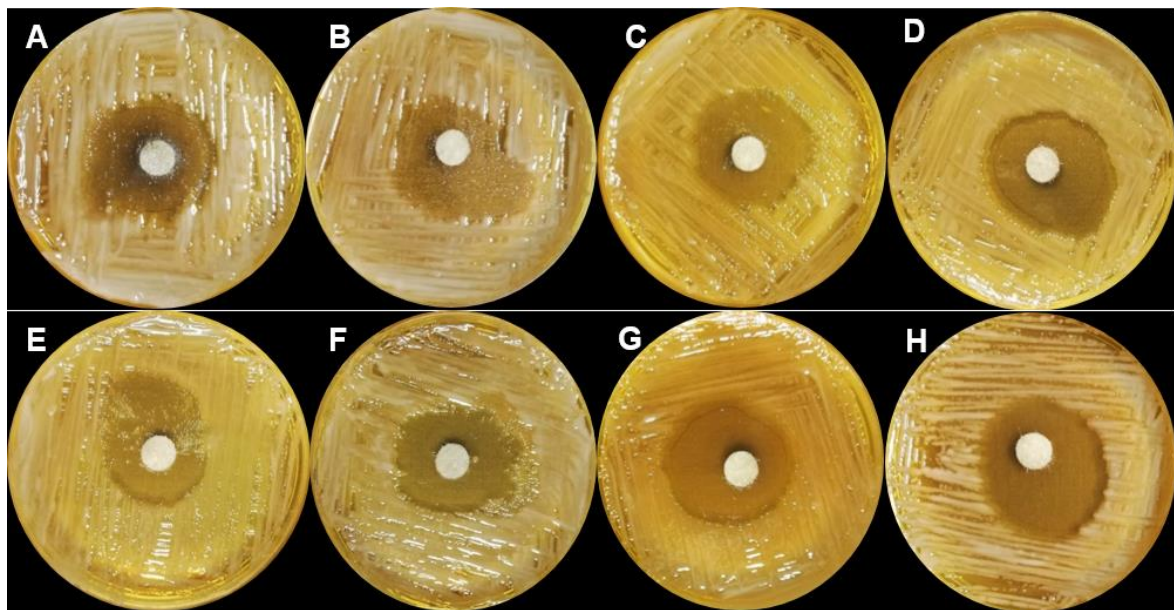


Figura 18. Actividad antibacteriana de AgNPs S1 (A, B, C, D) y S2 (E, F, G, H) contra *Escherichia coli* utilizando 25, 50, 75 y 100 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

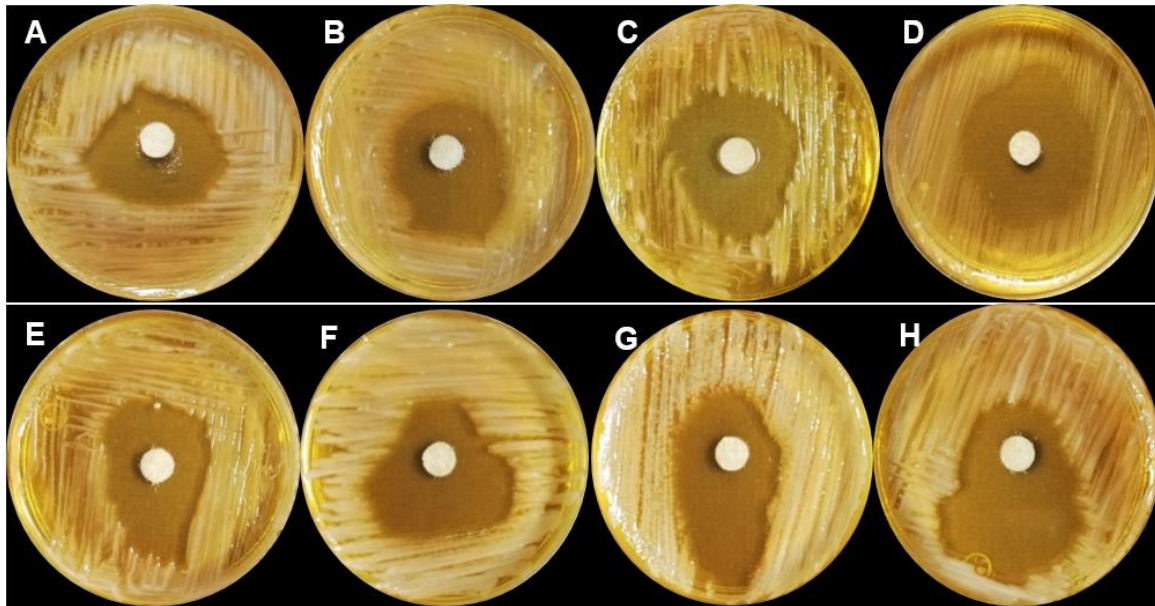


Figura 19. Actividad antibacteriana de AgNPs S1 (A, B, C, D) y S2 (E, F, G, H) contra *Enterobacter aerogenes* utilizando 25, 50, 75 y 100 µg/mL, respectivamente.

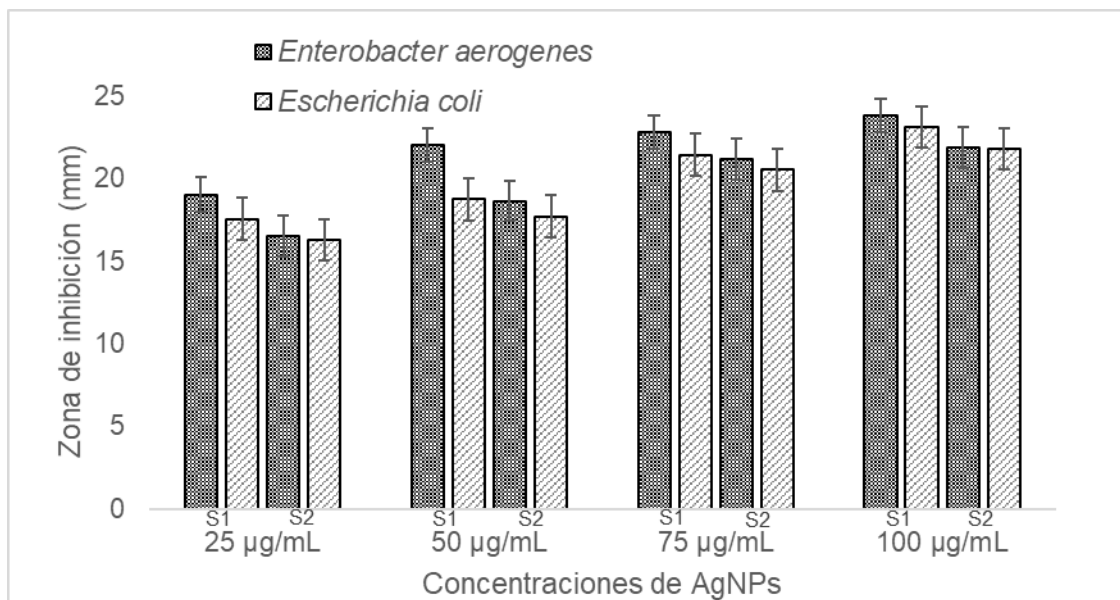


Figura 20. Actividad antimicrobiana de AgNPs S1 y S2 a diferentes concentraciones (µg/mL) contra *E. coli* y *E. aerogenes* mediante prueba de difusión en agar.

En las Figuras 18 y 19 se puede observar el área de inhibición producida por las diferentes concentraciones de AgNPs. La zona de inhibición más alta obtenida

empleando S1 fue a 21.92 ± 0.16 mm y 20.21 ± 0.16 mm para *E. coli* y *E. aerogenes*, respectivamente. Por otra parte, S2 mostró una inhibición de 19.55 ± 0.16 mm y 19.08 ± 0.16 mm para *E. coli* y *E. aerogenes*, respectivamente. Es importante notar que se observó diferencias significativas en las zonas de inhibición entre las AgNPs producidas entre ambos extractos (Figura 20).

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con los reportados Hamouda *et al.* (2019) donde indican la mayor zona de inhibición a 22 mm contra *E. coli*. Por otra parte, los resultados obtenidos son similares con los mencionados por Jalal *et al.* (2019) donde observaron una zona de inhibición de 18 mm contra *E. coli*, utilizando una concentración de 0.5 mg/mL. No obstante, en este trabajo se obtuvieron zonas de inhibición mayores. Esto puede atribuirse al tamaño y forma de las AgNPs obtenidas en el estudio de Jalal *et al.* (2019), ya que ellos observaron NPs de forma hexagonal con diferentes tamaños en un rango de 10 a 100 nm.

Para *Enterobacter aerogenes* Bernardo-Mazariegos *et al.* (2018) reportan una zona de inhibición de 7.1 mm empleando una concentración de 100 mg/mL de AgNPs biosintetizadas utilizando *Justicia spicigera* las cuales eran de forma esférica y tenían un tamaño promedio entre 86 y 100 nm. En contraste, en este trabajo se obtuvieron AgNPs con un tamaño promedio entre 17 y 19 nm y una morfología esférica.

De acuerdo con Anandan *et al.* (2019) y Soto *et al.* (2019) mencionan que la actividad microbiana se encuentra directamente relacionada con el tamaño, la morfología y la concentración de las AgNPs. Las AgNPs de un tamaño pequeño, entre 10 y 15 nm, poseen mayor eficacia en la inhibición microbiana debido a que se adhieren y penetran fácilmente al microorganismo en comparación con las partículas de mayor tamaño (Loo *et al.*, 2018; Soto *et al.*, 2019). Por lo tanto, se

requieren dosis más bajas de AgNPs cuando estas NPs son de un tamaño pequeño. Las partículas pequeñas tienen disponible un área de interacción mayor contra el microorganismo que las partículas más grandes (Guzman *et al.*, 2012). La efectividad de las AgNPs contra *Escherichia coli* puede deberse a la capa delgada de peptidoglicano, con espesor de 4 nm, en la pared celular de esta bacteria, permitiendo un ingreso más eficiente de las NPs a la célula (Oliveira *et al.*, 2019; Soto *et al.*, 2019).

Las bacterias Gram-negativas tienen una membrana externa que rodea la capa de peptidoglicano a diferencia de las Gram-positivas. Esta membrana externa funciona como barrera de permeabilidad selectiva y confiere protección a la célula contra agentes externos como medicamentos, toxinas y detergentes, además evita que las proteínas del espacio periplásmico ingresen al medio. Las proteínas periplásmicas tienen función en el transporte activo. *Escherichia coli* posee una membrana interna que contiene principalmente cadenas de fosfolípidos compactas, mientras que la membrana externa está compuesta por moléculas de lipopolisacárido (Li *et al.*, 2010; Lugtenberg, 1981).

Se han descrito diversos mecanismos de acción antimicrobiana de las AgNPs. En primer lugar la atracción electrostática entre la pared celular bacteriana y las AgNPs produce alteraciones en la permeabilidad (Oliveira *et al.*, 2019). Además, los iones Ag^+ tienen alta afinidad por los compuestos que contienen azufre y fósforo que se encuentran presentes en grandes cantidades en la membrana bacteriana (Guzman *et al.*, 2012). Soliman *et al.* (2018) reportan que las AgNPs poseen afinidad por los grupos tiol de las proteínas ocasionando la degradación de la cadena proteica. Las AgNPs liberan iones plata e ingresan al interior de la célula interfiriendo con la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, la replicación del ADN y la generación de

enzimas y cofactores (hidrogenasa II y NADH) de importancia en la cadena respiratoria (Hamedi & Shojaosadati, 2019). Los iones plata inducen la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y radicales libres (radicales OH⁻ y aniones O₂⁻) interrumpiendo la cadena respiratoria celular y posteriormente ocasionando la muerte celular (Hamedi & Shojaosadati, 2019; Loo *et al.*, 2018).

3.4 Conclusiones

La actividad antibacteriana de las AgNPs producidas utilizando sábila mostró una zona de inhibición promedio de 21.92 y 20.21 mm para *E. coli* y *E. aerogenes* empleando AgNPs S1. Por otra parte, las zonas de inhibición obtenidas utilizando AgNPs S2 fueron 19.55 y 19.08 mm para *E. coli* y *E. aerogenes* respectivamente. Además, las CMI se obtuvieron utilizando 125 µg/mL y 62.5 µg/mL de AgNPs S1 y S2 contra *E. coli* y *E. aerogenes*. En este estudio se concluye que las AgNPs obtenidas mediante síntesis verde utilizando sábila son una alternativa efectiva para aplicarse contra las bacterias Gram-negativas *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*.

3.5 Recomendaciones

Se recomienda probar la actividad antimicrobiana de las AgNPs contra cepas bacterianas Gram-positivas y contra hongos fitopatógenos que ocasionen pérdidas de algún cultivo agroalimentario en particular. Así mismo, realizar estudios de microscopia de transmisión electrónica para analizar el daño producido en las bacterias mediante la aplicación de las diferentes concentraciones de AgNPs y determinar el mecanismo de acción en ambos microorganismos.

3.6 Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada. También agradecen el apoyo de la LGAC-3: Comercialización

y Competitividad Agroalimentaria con Responsabilidad Social y Ambiental, del programa de Innovación Agroalimentaria Sustentable del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, y al Laboratorio de Biotecnología Microbiana Aplicada.

Literatura citada

- Abou El-Nour, K. M. M., Eftaiha, A., Al-Warthan, A., & Ammar, R. A. A. (2010). Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(3), 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.04.008>
- Anandan, M., Poorani, G., Boomi, P., Varunkumar, K., Anand, K., Chuturgoon, A. A., Saravanan, M., & Gurumallesh Prabu, H. (2019). Green synthesis of anisotropic silver nanoparticles from the aqueous leaf extract of *Dodonaea viscosa* with their antibacterial and anticancer activities. *Process Biochemistry*, 80(December 2018), 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.02.014>
- Arya, G., Kumari, R. M., Sharma, N., Gupta, N., Kumar, A., Chatterjee, S., & Nimesh, S. (2019). Catalytic, antibacterial and antibiofilm efficacy of biosynthesised silver nanoparticles using *Prosopis juliflora* leaf extract along with their wound healing potential. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 190(November 2018), 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.11.005>
- Bernardo-Mazariegos, E., Valdez-Salas, B., González-Mendoza, D., Abdelmoteleb, A., Tzintzun Camacho, O., Ceceña Duran, C., & Gutiérrez-Miceli, F. (2019). Silver nanoparticles from *Justicia spicigera* and their antimicrobial potentialities in the biocontrol of foodborne bacteria and phytopathogenic fungi. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(2), 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.05.002>

- Das, C. G. A., Kumar, V. G., Dhas, T. S., Karthick, V., Govindaraju, K., Joselin, J. M., & Baalamurugan, J. (2020). Antibacterial activity of silver nanoparticles (biosynthesis): A short review on recent advances. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27, 101593. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101593>
- Ghiuță, I., & Cristea, D. (2020). Silver nanoparticles for delivery purposes. In *Nanoengineered Biomaterials for Advanced Drug Delivery*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102985-5.00015-2>
- Guzman, M., Dille, J., & Godet, S. (2012). Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 8(1), 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.05.007>
- Hamed, S., & Shojaosadati, S. A. (2019). Rapid and green synthesis of silver nanoparticles using *Diospyros lotus* extract: Evaluation of their biological and catalytic activities. *Polyhedron*, 171, 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2019.07.010>
- Hamouda, R. A., Hussein, M. H., Abo-elmagd, R. A., & Bawazir, S. S. (2019). Synthesis and biological characterization of silver nanoparticles derived from the cyanobacterium *Oscillatoria limnetica*. *Scientific Reports*, 9(1), 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49444-y>
- Hedderich, R., Müller, R., Greulich, Y., Bannert, N., Holland, G., Kaiser, P., & Reissbrodt, R. (2011). Mechanical damage to Gram-negative bacteria by surface plating with the Drigalski-spatula technique. *International Journal of Food Microbiology*, 146(1), 105–107. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.005>
- Hemmati, S., Rashtiani, A., Zangeneh, M. M., Mohammadi, P., Zangeneh, A., &

- Veisi, H. (2019). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Fritillaria* flower extract and their antibacterial activity against some human pathogens. *Polyhedron*, 158, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2018.10.049>
- Jalal, M., Ansari, M. A., Alzohairy, M. A., Ali, S. G., Khan, H. M., Almatroudi, A., & Siddiqui, M. I. (2019). Anticandidal activity of biosynthesized silver nanoparticles: Effect on growth, cell morphology, and key virulence attributes of *Candida* species. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 4667–4679. <https://doi.org/10.2147/IJN.S210449>
- Jazmín Silvero, M. C., Rocca, D. M., Artur de la Villarmois, E., Fournier, K., Lanterna, A. E., Perez, M. F., Cecilia Becerra, M., & Scaiano, J. C. (2018). Selective photoinduced antibacterial activity of amoxicillin-coated gold nanoparticles: From one-step synthesis to in vivo cytocompatibility. *ACS Omega*, 3(1), 1220–1230. <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01779>
- Kumar, V., Singh, S., Srivastava, B., Bhadouria, R., & Singh, R. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Holoptelea integrifolia* and preliminary investigation of its antioxidant, anti-inflammatory, antidiabetic and antibacterial activities. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(3), 103094. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103094>
- Lee, K. D., & Nagajyothi, P. C. (2011). Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using *dioscorea batatas* rhizome extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Journal of Nanomaterials*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/573429>
- Li, W. R., Xie, X. B., Shi, Q. S., Zeng, H. Y., Ou-Yang, Y. S., & Chen, Y. Ben. (2010). Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(4), 1115–1122.

<https://doi.org/10.1007/s00253-009-2159-5>

Loo, Y. Y., Rukayadi, Y., Nor-Khaizura, M. A. R., Kuan, C. H., Chieng, B. W., Nishibuchi, M., & Radu, S. (2018). In Vitro antimicrobial activity of green synthesized silver nanoparticles against selected Gram-negative foodborne pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 9(JUL), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01555>

Lugtenberg, B. (1981). Composition and function of the outer membrane of *Escherichia coli*. *Trends in Biochemical Sciences*, 6(C), 262–266. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(81\)90095-5](https://doi.org/10.1016/0968-0004(81)90095-5)

Oliveira, A. C. de J., Araújo, A. R. de, Quelemes, P. V., Nadvorny, D., Soares-Sobrinho, J. L., Leite, J. R. S. de A., da Silva-Filho, E. C., & Silva, D. A. da. (2019). Solvent-free production of phthalated cashew gum for green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 213(February), 176–183. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.033>

Siddiqi, K. S., Husen, A., & Rao, R. A. K. (2018). A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0334-5>

Soto, K. M., Quezada-Cervantes, C. T., Hernández-Iturriaga, M., Luna-Bárcenas, G., Vazquez-Duhalt, R., & Mendoza, S. (2019). Fruit peels waste for the green synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial activity against foodborne pathogens. *LWT*, 103, 293–300. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.023>

Tang, S., & Zheng, J. (2018). Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles: Structural Effects. *Advanced Healthcare Materials*, 7(13), 1–10. <https://doi.org/10.1002/adhm.201701503>

Venkatesan, J., Kim, S. K., & Shim, M. S. (2016). Antimicrobial, antioxidant, and

anticancer activities of biosynthesized silver nanoparticles using marine algae ecklonia cava. *Nanomaterials*, 6(12). <https://doi.org/10.3390/nano6120235>

CAPÍTULO IV. APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA OBTENIDAS MEDIANTE SÍNTESIS VERDE EN SENSORES BASADOS EN ÓXIDO DE ESTAÑO PARA LA DIFERENCIACIÓN DE PISCOS PERUANOS

CAPÍTULO IV. Aplicación de nanopartículas de plata obtenidas mediante síntesis verde en sensores basados en óxido de estaño para la diferenciación de Piscos peruanos

González-Torres, M.¹; Contreras-Oliva, A.¹; Gómez-Merino, F.C.¹; Saucedo-

Rivalcoba, V.²; Salinas-Ruiz, J.¹

¹Colegio de Postgraduados. Campus Córdoba, Km 348 Carretera Federal Córdoba-Veracruz, Congregación Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz. C.P. 94946. México.

*Autor de Correspondencia: Josafhat Salinas-Ruiz. E-mail: salinas@colpos.mx

Teléfono: +522717166000.

**Aplicación de nanopartículas de plata obtenidas mediante síntesis verde en
sensores basados en óxido de estaño para la diferenciación de Piscos
peruanos**

RESUMEN

Se elaboraron dos tipos de sensores a base de óxido de estaño (SnO_2) dopados con AgNPs biosintetizadas utilizando sábila y ajo, con tamaños de nanopartículas (NPs) promedio de 18 y 13 nm respectivamente, para la diferenciación de Piscos peruanos empleando una nariz electrónica. La caracterización de ambos sensores se realizó mediante DRX. La recolección de datos de la nariz electrónica se realizó a través del software LabView2018. Las respuestas registradas por los sensores se analizaron utilizando el método estadístico multivariado PCA. Las mejores respuestas en la detección de volátiles en los Piscos Peruanos se obtuvieron con los sensores a base de SnO_2 dopados con AgNPs biosintetizadas con ajo, permitiendo una mejor diferenciación de los Piscos analizados. La sensibilidad (>99%) y habilidad de los sensores en la diferenciación de estas bebidas pueden atribuirse al tamaño de nanopartícula pequeña (13 nm).

Palabras clave: AgNPs, extracto, compuestos volátiles, sensor, Pisco.

4.1 Introducción

El Pisco peruano es una bebida alcohólica obtenida por la destilación del vino elaborado a partir de diversas variedades de uvas aromáticas como Albilla, Italia, Moscatel y Torontel y uvas no aromáticas como Mollar, Negra, Quebranta y Uvina. Las marcas más populares de Pisco son Italia y Quebranta (Cacho *et al.*, 2012). Una de las problemáticas que presenta el sector de las bebidas alcohólicas son las adulteraciones, falsificaciones y presencia de sustancias contaminantes (Mishra *et al.*, 2018). Para llevar a cabo el control de calidad en estos productos se requiere la implementación de métodos tradicionales, los cuales presentan limitaciones como el tratamiento previo de la muestra, tiempo de detección prolongado y además los equipos e instrumentos para la detección de adulteraciones tienen con un costo elevado (Lim & Kim, 2016; Lv *et al.*, 2018). Ante este problema surgen tecnologías alternas como el uso de una nariz electrónica. El propósito de esta herramienta es la detección y clasificación de los datos obtenidos a través de un arreglo de sensores (Karakaya *et al.*, 2020; Loutfi *et al.*, 2015). El funcionamiento de la nariz electrónica inicia con la detección de los componentes volátiles de la muestra por medio de la matriz de sensores, generando una señal procesada mediante el cambio de parámetro físico como el voltaje, frecuencia, resistencia o corriente (Ghasemi-Varnamkhasti *et al.*, 2018; Mohamedkhair *et al.*, 2019). La señal obtenida es convertida en un formato digital mediante un convertidor de analógico al digital para posteriormente ser procesada a través de una computadora (Ghasemi-Varnamkhasti *et al.*, 2018). Por último, la información recabada es clasificada y enviada a una PC para ser analizada (Aguilera *et al.*, 2012; Karakaya *et al.*, 2020). El procesamiento de datos se realiza implementando métodos estadísticos como análisis de componentes principales (PCA), análisis de conglomerados (CA),

análisis de discriminación lineal (LDA), redes neuronales artificiales (ANN) y regresión de mínimos cuadrados parciales (PLSR) (Scott *et al.*, 2006). Actualmente el desarrollo de sensores ha tenido un crecimiento progresivo con una amplia gama de aplicaciones (Cruz *et al.*, 2017). Entre los materiales comúnmente utilizados en el desarrollo de sensores se encuentran los óxidos metálicos, los polímeros conductores (Lin *et al.*, 2017), resonadores de cuarzo, sensores acústicos, dispositivos semiconductores (Loutfi *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2015). Entre los óxidos metálicos, el óxido de estaño (SnO_2) es un material comúnmente utilizado en el desarrollo de sensores semiconductores para la detección de gases y compuestos volátiles (Ghasemi-Varnamkhasti *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2020). Además, el uso de sensores basados en óxidos metálicos han sido utilizados en la industria alimentaria en la detección de deterioro de alimentos, detección de adulteraciones y control de calidad (Neethirajan *et al.*, 2018). Sin embargo, los sensores presentan desafíos como baja especificidad, sensibilidad y selectividad. Ante este inconveniente surgen los sensores basados en nanomateriales como NPs, nanotubos de carbono y nanobarras (Lv *et al.*, 2018). Los sensores con nanomateriales incorporados presentan ventajas positivas como un aumento en la selectividad y sensibilidad, mejor detección de la señal y tiempo de análisis corto (Lim & Kim, 2016). Se ha reportado el uso de nanopartículas de metales nobles en sensores, específicamente destacan las AgNPs y AuNPs debido a sus propiedades para aumentar la detección de la señal (efecto SEIRA) (Lv *et al.*, 2018). Existen diversos métodos para la obtención de nanopartículas como la reducción química, síntesis electroquímica, microondas y síntesis fotoquímica (Oliveira *et al.*, 2019). Sin embargo, estos métodos suelen ser costosos y con demandas energéticas elevadas, además generan subproductos nocivos para el ambiente. Es por ello, la

implementación de un método de síntesis verde representa una alternativa rentable y ecológica para enfrentar esta problemática, donde los compuestos bioactivos provenientes de sistemas biológicos como extractos plantas, bacterias y hongos son utilizados como agentes reductores (Anandan *et al.*, 2019; Soto *et al.*, 2019). Es por ello que, ante la necesidad de fortalecer la seguridad alimentaria donde se requiere de la implementación de tecnologías que permitan la detección de contaminantes, adulteraciones y falsificaciones, el presente trabajo se ha centrado en el desarrollo de sensores a base de SnO₂ dopados con AgNPs obtenidas mediante síntesis verde utilizando sábila y ajo como agentes reductores para la diferenciación de Pisos peruanos a través de una nariz electrónica.

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Materiales

Se utilizaron dos muestras de AgNPs biosintetizadas utilizando los extractos vegetales sábila y ajo como agentes reductores y AgNO₃ 1mM como precursor metálico. Las AgNPs presentaron un tamaño promedio de 18 y 13 nm respectivamente. Se seleccionaron 3 muestras de Pisos de 2 variedades y 2 marcas comerciales distintas (Demonio de los Andes, variedad Italia, Queirolo, variedad Italia, Queirolo, variedad Quebranta) (Figura 21). Se emplearon electrodos interdigitales de platino sobre sustrato de alumina con dimensiones 16 x 5 x 0.625 mm mediante serigrafado utilizando una cortadora láser marca Trotec (modelo 300) con 0.1 mm de precisión (Figura 22).



Figura 21. Pisco peruanos seleccionados para el análisis.

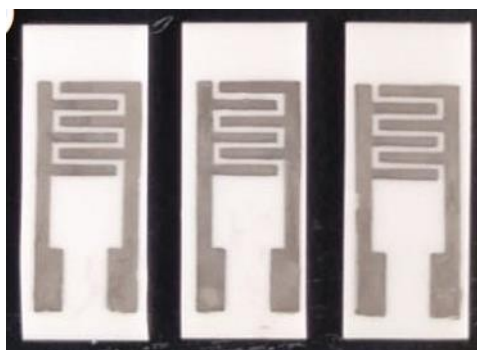


Figura 22. Electrodo interdigitales de platino sobre sustrato de alumina.

4.2.2 Descripción de los Piscos

La densidad y el contenido de alcohol de los Piscos se determinó empleando un picnómetro de 50 mL por comparación con agua ultrapura (0.06 $\mu\text{S}/\text{cm}$) a 20 °C.

Para calcular la densidad de los Piscos se empleó la siguiente fórmula:

$$d_B = \frac{m_B}{m_A} d_A$$

Donde m_A es la masa del picnómetro con solución conocida, m_B es la masa del picnómetro con la solución problema, d_A es la densidad de la solución conocida y d_B es la densidad de la solución problema.

Para calcular el grado de alcohol volumétrico (GAV) se utilizó la siguiente fórmula:

$$GAV = \frac{d_B}{d_A}$$

Donde d_A es la densidad de la solución conocida y d_B es la densidad de la solución problema.

4.2.3 Preparación de los sensores a base de SnO_2 dopados con AgNPs

Se pesaron por separado 1 g de SnO_2 comercial (Merck, > 99.9 %) y se añadieron a cada uno 20 mL de agua Milli-Q®. Se adicionaron 1 mL de AgNPs biosintetizadas, a partir de sábila y ajo respectivamente. Ambas soluciones se mantuvieron a 30 °C bajo agitación constante a 300 rpm durante 20 minutos. Posteriormente se llevaron a la estufa durante 1 hora a 80°C. El material obtenido se pulverizó finamente utilizando un mortero con pistilo (Figura 23). Se prepararon dos dispersiones diferentes.

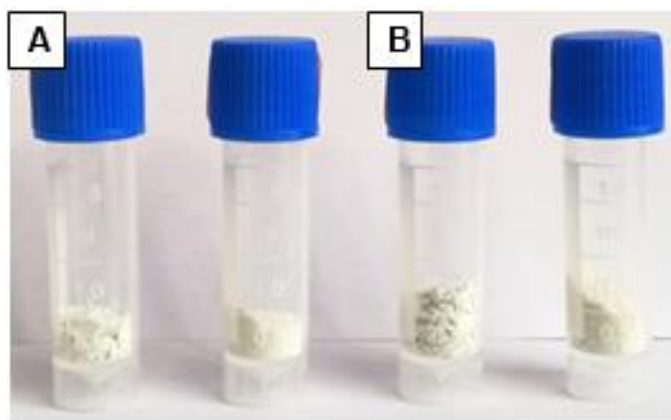


Figura 23. Material para preparar sensores a base de SnO_2 con AgNPs utilizando sábila (A) y ajo (B).

4.2.4 Sensor A (AgNPs-sábila y SnO_2)

Se pesaron 25 mg del material finamente molido y se añadieron 50 μL de 1,2 propanodiol. Esta mezcla se sometió a sonicación durante 15 minutos, utilizando un baño ultrasónico marca Branson® 1510E-MTH. Se depositaron 10 μL de las dispersiones preparadas sobre 3 sustratos de alúmina sobre electrodos interdigitales de platino, A1, A2 y A3, respectivamente. Por último, se calcinaron a 450°C durante 2 horas.

4.2.5 Sensor B (AgNPs-ajo y SnO₂)

Se pesaron 20 mg del material finamente molido y se añadieron 60 µL de 1,2 propanodiol. Esta mezcla se sometió a sonicación durante 15 minutos, utilizando un baño ultrasónico marca Branson® 1510E-MTH. Se depositaron 10 µL de las dispersiones preparadas sustratos de alúmina sobre electrodos interdigitales de platino, B1, B2 y B3, respectivamente. Por último, se calcinaron a 450°C durante 2 horas. En la Figura 24 se muestran los sensores preparados que posteriormente se colocaron en la nariz electrónica para realizar el análisis de los Piscos.



Figura 24. Sensores a base de SnO₂ y AgNPs.

4.3 Caracterización de los sensores

4.3.1 Análisis DRX

El análisis DRX se realizó empleando el difractómetro BRUKER (modelo D8 Discover). El difractómetro estaba equipado con Cu K α a una longitud de onda de 1.5406 Å, y un rango angular de análisis (2 θ) entre 20° y 80°, con una velocidad de 0.30 °/s. El análisis DRX permitió determinar las estructuras cristalinas presentes en los óxidos de estaño después del dopaje y del tratamiento térmico a 450 °C.

Se estimó el tamaño de las partículas formadas empleando la ecuación de Debye-Scherrer (Lu *et al.*, 2018):

$$d = \frac{K \lambda}{\beta \cos \theta}$$

Donde d es el tamaño promedio de los dominios ordenados (cristalitos), K es la

constante de la forma cristalina (0.9 para granos cúbicos), λ es la longitud de onda de los rayos X empleados (1,5406 Å) , θ es el ángulo de Bragg para el pico de máxima intensidad y β es el ancho a la altura media del pico de difracción de mayor intensidad (FWHM).

4.3.2 Análisis de Pisco en nariz electrónica

El sistema de nariz electrónica se conformó por un arreglo de sensores y sus accesorios, como se muestra en la Figura 25. La cámara de sensado se constituyó de una termocupla de contacto y una resistencia controlados de forma externa donde se estableció la temperatura de trabajo a 240°C y un arreglo de 6 sensores (A1, A2, A3 y B1, B2, B3) conectados a través de cables a un convertidor analógico/digital (CAD) National Instruments USB 6213 que registraron el cambio en la conductividad, expresada en voltaje, generado por interacción de cada sensor con los componentes volátiles de la muestra. La señal se registró con una frecuencia de muestreo de 1 Hz. La cámara de sensado se mantuvo cerrada herméticamente.

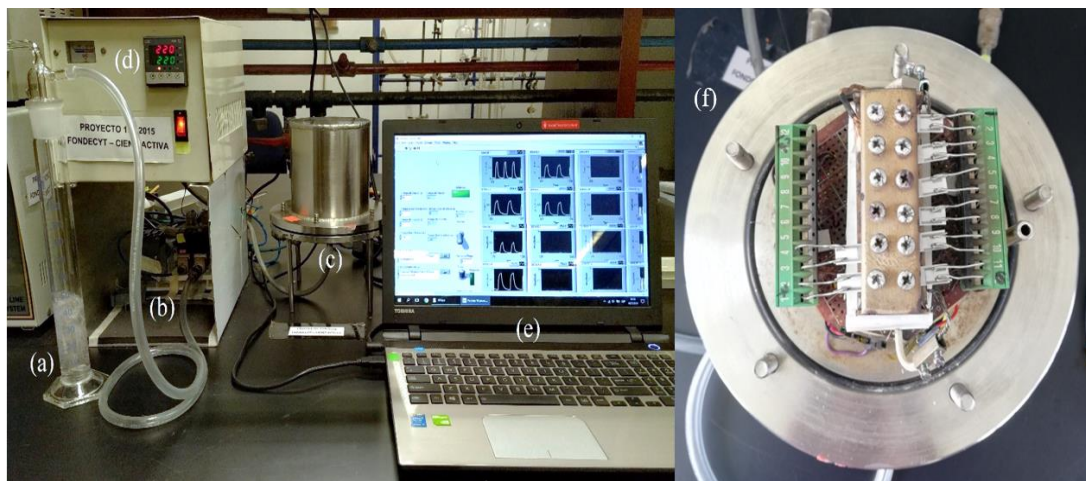


Figura 25. Sistema de nariz electrónica. Muestra en el burbujeador (a), sistema hidráulico (b), cámara de sensado (c), controlador de temperatura (d), interfaz del software LabView2018 (e), cámara de sensado con arreglo de sensores (f).

Se colocaron 40 mL por separado de cada muestra en el burbujeador de capacidad

100 mL. La mezcla gaseosa de aire saturado con los componentes volátiles de cada muestra se transportó a la cámara de sensado a una velocidad de 5 L/min, mediante el sistema hidráulico conformado por una bomba de vacío y dos electroválvulas.

La entrada y salida de los gases en la cámara de sensado se controló mediante el software LabView 2018, que permitió la apertura y cierre de las electroválvulas y el registro de las respuestas de los sensores. En todas las mediciones se emplearon ciclos de 300 segundos: 80 segundos para el ingreso de los componentes volátiles de la muestra arrastrados por aire y 220 segundos de purga con aire antes del inicio del siguiente ciclo (Figura 26). Los sensores se mantuvieron a una temperatura de trabajo constante durante el sensado (respuestas obtenidas durante la detección de los componentes volátiles) y fueron sometidos a una diferencia de potencial de 5.22 V.

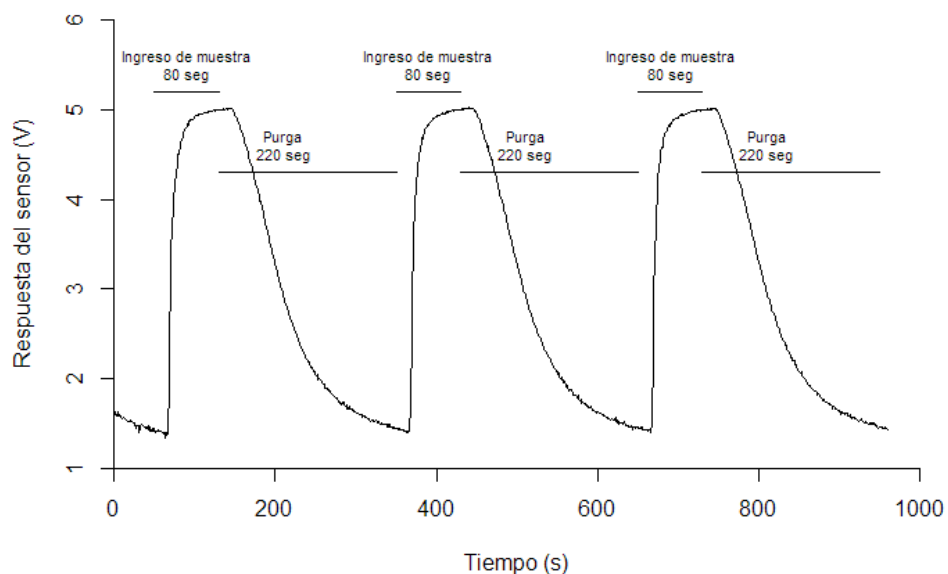


Figura 26. Respuesta del sensor durante 3 ciclos de sensado indicando las condiciones de tiempo establecidas para el análisis.

4.3.3 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) utilizando el software estadístico R 3.6.0. para la reducción del número de dimensiones del conjunto de datos. Además, facilita la interpretación de datos a través de la ilustración.

4.4 Resultados y discusión

4.4.1 Descripción de los piscos

En el Cuadro 3 se muestran las características reportadas en las etiquetas de los Piscos seleccionados. En el Cuadro 4 se reportan los grados de alcohol volumétrico calculados. Los resultados demuestran que el GAV reportado en la etiqueta de los Piscos coincide con los resultados obtenidos y no presentan adulteraciones.

Cuadro 2. Descripción en el etiquetado de los Piscos.

Pisco	Información en la etiqueta
Demonio de los Andes, Italia (DI)	Variedad: Italia Año de producción: 2018 Lote: 1023 078 2018 1453 Grado alcohólico volumétrico (% v/v): 43.5
Queirolo, Italia (QI)	Variedad: Italia Año de producción: 2018 Lote: Q05-D-161018 17:34 B Grado alcohólico volumétrico (% v/v): 42
Queirolo, Quebranta (QQ)	Variedad: Quebranta Año de producción: 2019 Lote: Q03-D-150219 14:27 B Grado alcohólico volumétrico (% v/v): 42

Cuadro 3. Análisis de grado alcohólico volumétrico (GAV) de los Piscos.

Pisco	GAV (% v/v, etiqueta)	Densidad (g/mL)	Densidad agua (g/mL)	GAV (% v/v, calculado)
DI	43.5	0.9429	0.02187	43.1
QI	42	0.9451	0.02261	41.8
QQ	42	0.9443	0.02237	42.2

4.4.2 Caracterización DRX

La Figura 27 muestra el difractograma obtenido de los sensores a base de SnO₂ dopado con las AgNPs. Los tamaños de las partículas de los óxidos preparados se estimaron a partir de la ecuación de Debye-Scherrer. para los picos de mayor intensidad de los espectros DRX. Los resultados se muestran en el Cuadro 5 donde se incluyen los valores de intensidad del plano de difracción (índices de Miller) (1 1 0), (1 0 1) y (2 1 1). Los cálculos indican que el tamaño promedio del cristal fue de 37.7451 nm Y 37.4520 nm para los sensores A y B respectivamente.

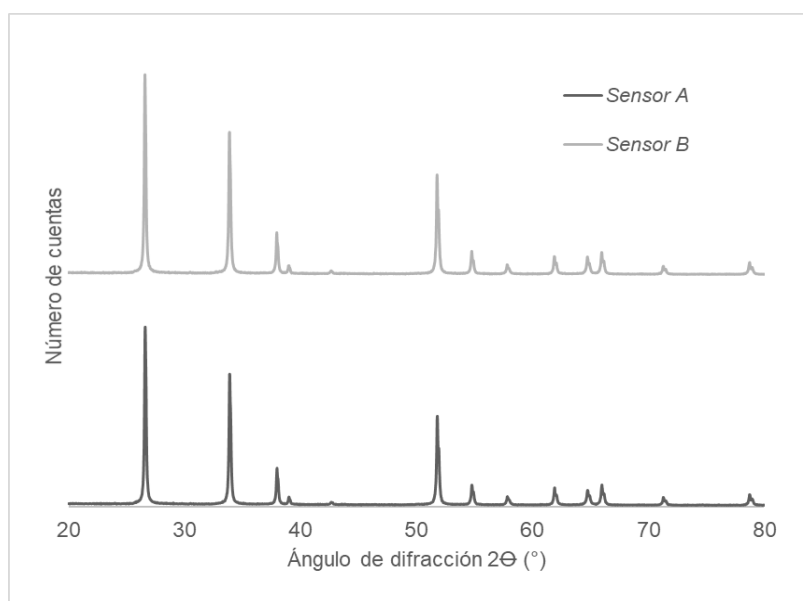


Figura 27. DRX de sensores a base de SnO₂ dopados con AgNPs sintetizadas utilizando sábila (Sensor A) y ajo (Sensor B).

Cuadro 4. Análisis del tamaño del cristal.

Sensor	Índices de Miller (hkl)	Intensidad (a.u.)	2θ	FMHW (β)	Tamaño de cristal (nm)
Sábila-SnO ₂	110	11665	26.63591	0.19367	42.1534
	101	8596	33.92865	0.21357	38.8898
	211	5872	5872	0.27438	32.1922
Tamaño promedio		37.7451			
Ajo-SnO ₂	110	13032	26.61734	0.19187	42.5472
	101	9299	33.90938	0.2165	38.3615
	211	6537	51.82559	0.27546	32.0638
Tamaño promedio		37.4520			

La fase y orientación cristalina es de gran importancia, ya que influye de manera directa en las propiedades de superficie para la detección de compuestos volátiles y catálisis (Yang & Guo, 2015). La Figura 28 muestra los picos característicos del SnO₂ correspondientes a los planos (110), (101), (211) de la red cristalina. Estos datos se ajustan a los del Comité Conjunto sobre Normas de Difracción de Polvo (archivo JCPDS 01-070-4175). Además, se observa que los picos de las muestras dopadas con AgNPs se desplazan hacia un ángulo mayor en comparación con el SnO₂ sin dopar. El SnO₂ sin dopar presentó los ángulos de difracción a (110), (101) y 211). Por otra parte, el efecto del dopaje sobre el ángulo de difracción de los picos prominentes se registró a 26.6267 (110), 33.9014 (101), 51.8097 (211) y 26.6032

(110), 33.9014 (101) y 51.8097 (211) para sábila y ajo respectivamente. Además, se observó que la intensidad de los picos es mayor en los sensores producidos utilizando ajo. Esto puede atribuirse al tamaño de AgNPs. De acuerdo con la ley de Bragg, las posiciones 2θ de los ángulos de difracción están estrechamente relacionadas con el espaciado y la dislocación de la red (Yang & Guo, 2015). Por lo que el desplazamiento de los picos se atribuye a la incorporación de las AgNPs en la red cristalina. A pesar de ello, no se observan picos de difracción relacionados con las AgNPs, esto puede deberse a la concentración baja de este nanomaterial. Los resultados en esta investigación coinciden con lo reportado por Lu *et al.*, (2018), donde menciona que no se aprecian cambios significativos entre el SnO₂ sin dopar y el dopado con AgNPs debido a la escasa concentración.

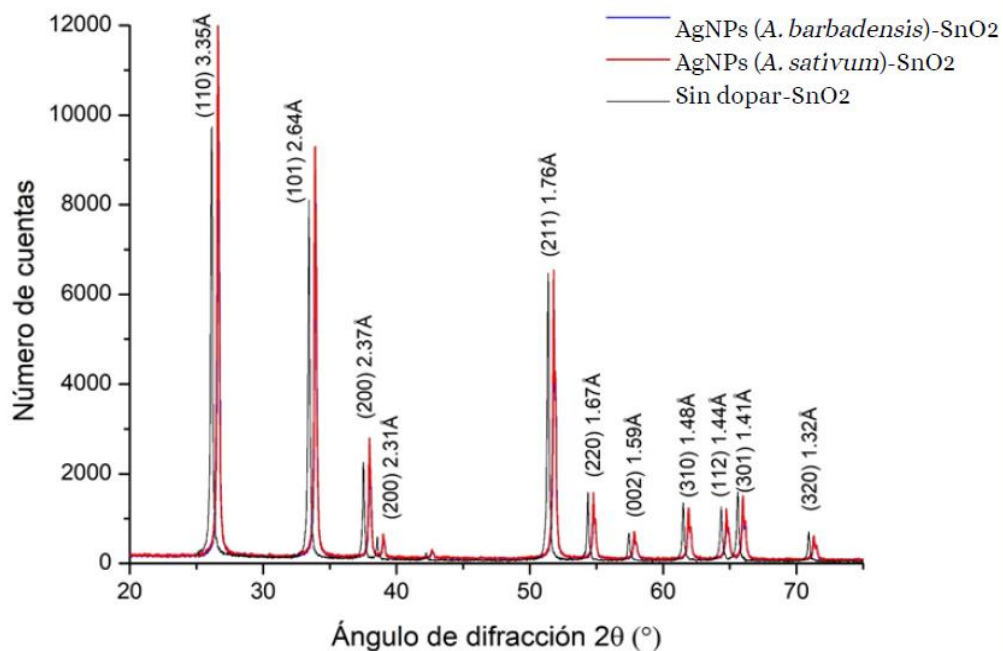


Figura 28. DRX de SnO₂ sin dopar y sensores dopados con AgNPs A y B.

4.4.3 Señales de los sensores

Las señales obtenidas por los sensores durante el análisis de las muestras de Pisco se pueden apreciar en las Figuras 29, 30 y 31. El mecanismo de detección de los compuestos volátiles depende de las características de la superficie del sensor y la

interacción entre el gas y las especies de oxígeno adsorbidos por la superficie del SnO₂ (Tomer & Duhan, 2016). Cuando el sensor de SnO₂ dopado con AgNPs entra en contacto con el aire, las moléculas de oxígeno se adsorben en la superficie y captan electrones de la banda de conducción del SnO₂ produciendo especies de oxígeno quimiosorbidas (O₂⁻, O⁻ y O²⁻). Cuando los componentes volátiles de la muestra interactúan con las especies de oxígeno adsorbidas, los electrones captados se liberan nuevamente en la banda de conducción de SnO₂ ocasionando un incremento en la conductividad (Li *et al.*, 2020; Lu *et al.*, 2018). Se ha reportado que el SnO₂ dopado con Ag poseen detección mejorada de compuestos volátiles. Esto es atribuido a las propiedades catalíticas de la plata, las cuales pueden actuar como sitio activo (Wu *et al.*, 2013). Las AgNPs favorecen la respuesta de la detección de gases por el proceso de sensibilidad química generando un aumento de las especies de oxígeno activo en la superficie del sensor (Lu *et al.*, 2018; Tomer & Duhan, 2016). La plata y el SnO₂ forman uniones de Schottky, que es la unión entre un semiconductor y un metal, lo que produce una transferencia de electrones efectiva de SnO₂ a Ag (Shahabuddin *et al.*, 2017). Como se puede apreciar en las Figuras 29-31, los sensores B a base de SnO₂ dopados con AgNPs obtenidas utilizando ajo muestran una mejor señal que las obtenidas con los sensores A. Lo cual coincide con los resultados obtenidos en el análisis PCA.

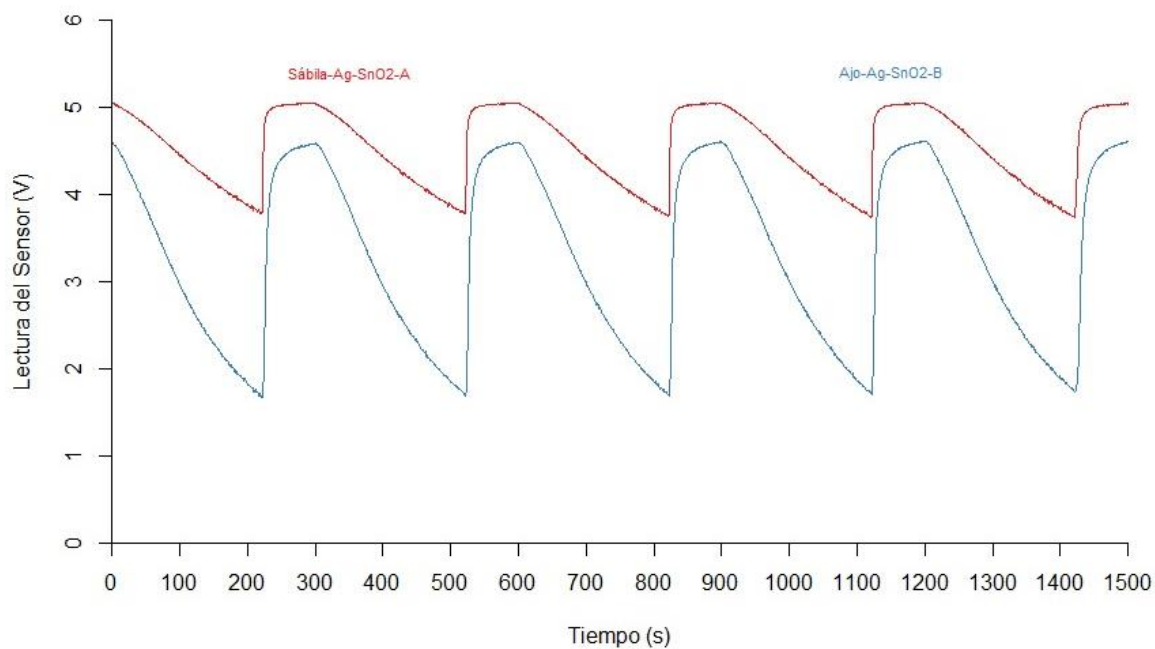


Figura 29. Señales obtenidas para el Pisco DI con los sensores A y B.

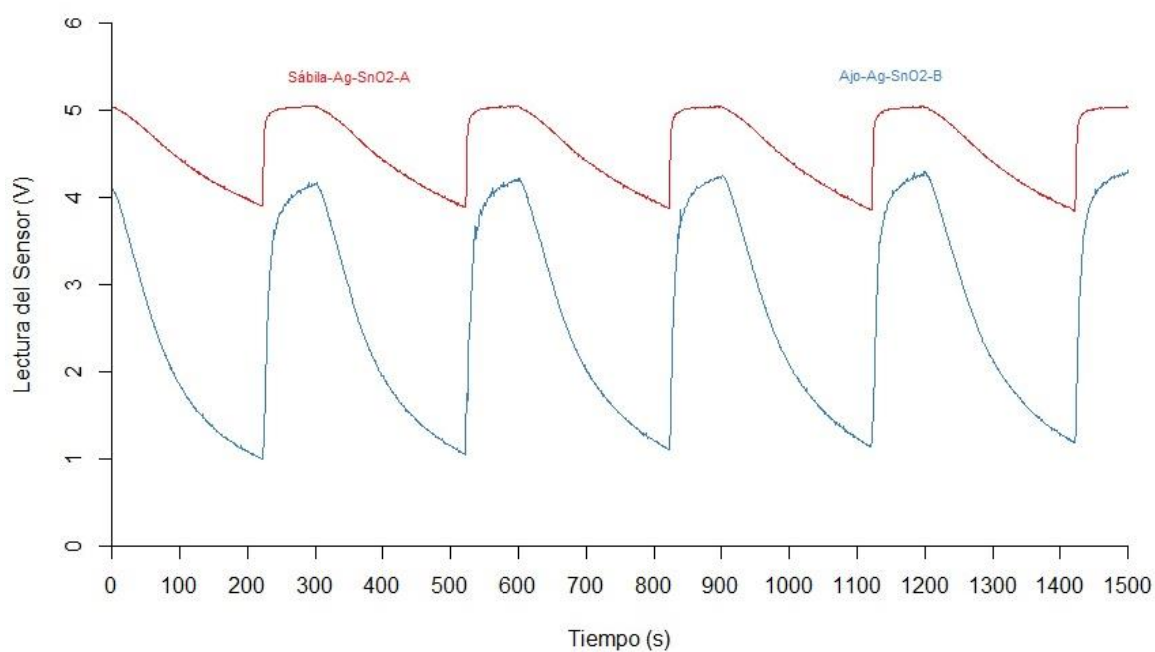


Figura 30. Señales obtenidas para el Pisco QI con los sensores A y B.

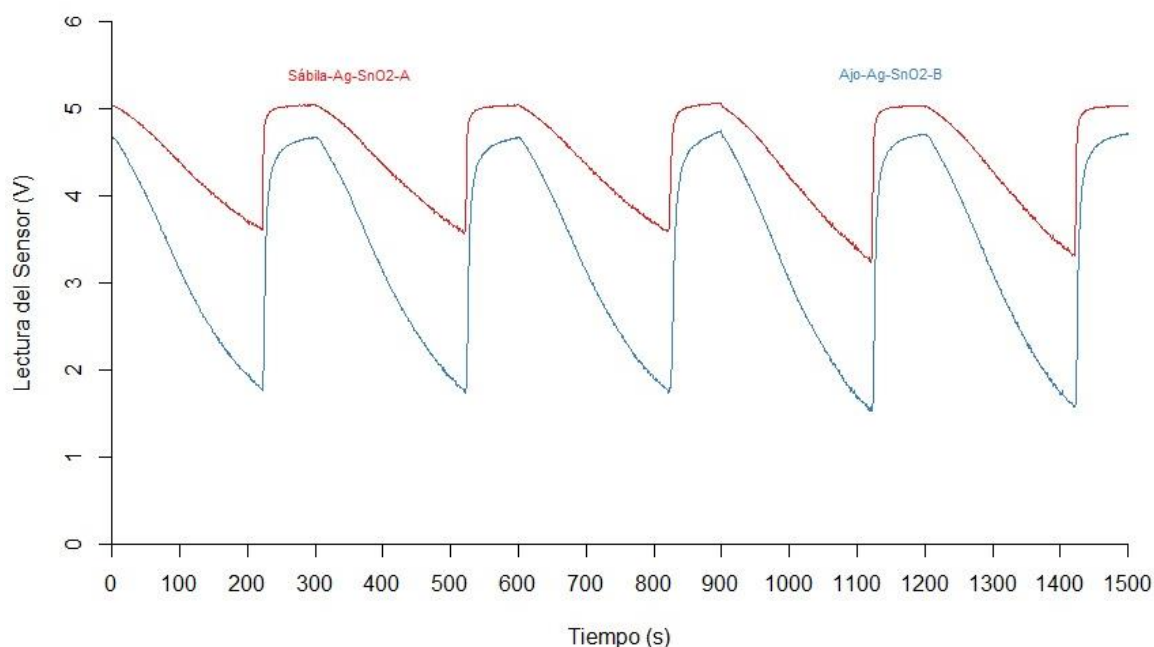


Figura 31. Señales obtenidas para el Pisco QQ con los sensores A y B.

4.4.4 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos del análisis PCA se muestran en la Figura 32 y 33 para los sensores de SnO₂ dopados con AgNPs biosintetizadas con sábila y ajo respectivamente. De acuerdo con el análisis PCA se puede observar que los sensores B presentan mejor diferenciación y mayor sensibilidad que los sensores A. Esto puede atribuirse al tamaño de AgNPs, las NPs de menor tamaño incorporadas durante la preparación del sensor permite una mejor detección de compuestos volátiles durante el sensado de los Piscos. En las gráficas se aprecia la elipse de confianza del 95% de los sensores A y B, respectivamente; y en ellos se puede observar una separación clara de los tres Piscos ya que con dos componentes principales explican el 99% y 99.2% de la varianza presente en el conjunto de datos para el sensor A y B; respectivamente. De esta manera podemos decir que los sensores B tienen una mayor sensibilidad y especificidad en la detección de volátiles en los Piscos.

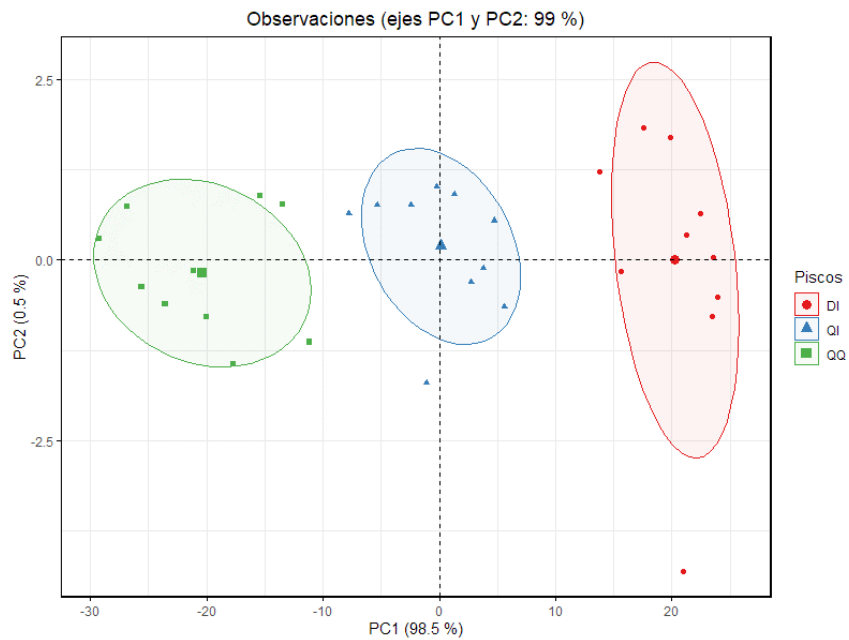


Figura 32. Análisis PCA utilizando sensores A a base de SnO₂ dopado con AgNPs-sábila para la diferenciación de Pisos.

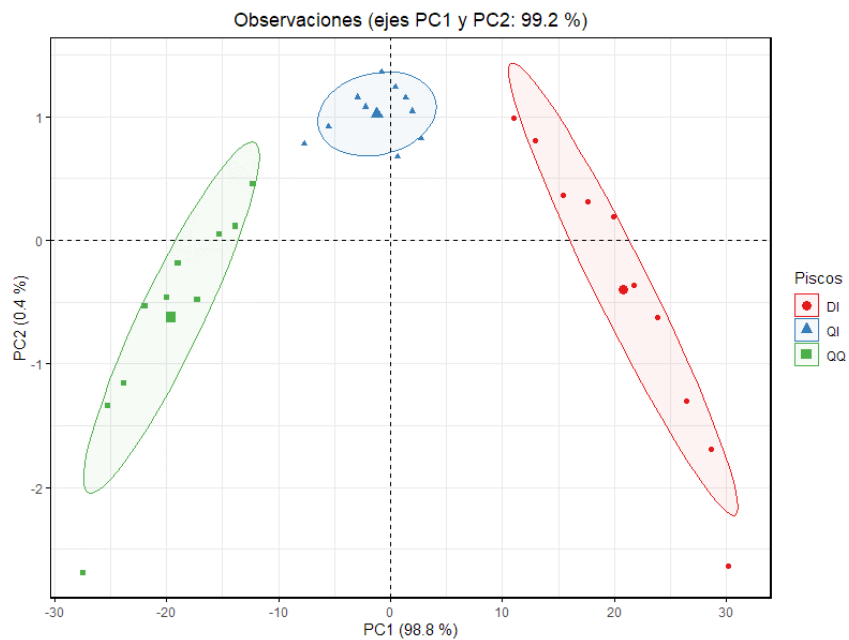


Figura 33. Análisis PCA utilizando sensores B a base de SnO₂ dopado con AgNPs-ajo para la diferenciación de Pisos.

4.5 Conclusiones

Los resultados sugieren que los sensores a base de SnO₂ dopados con AgNPs con tamaños promedios de 13-19 nm obtenidos mediante síntesis verde representan una alternativa viable para el análisis de Pisco peruano a través de una nariz electrónica. Sin embargo, el tamaño de la nanopartícula está directamente relacionado con la habilidad y sensibilidad del sensor, por lo que se pudo observar que un tamaño de partícula pequeño (sensor B) mejora la detección de compuestos volátiles. Esta alternativa resulta innovadora y rentable por su potencial para sustituir los análisis cromatográficos que presentan costos elevados.

4.6 Recomendaciones

Se recomienda realizar más ensayos con diferentes marcas y variedades de Pisco, además realizar pruebas con muestras adulteradas para identificar la confiabilidad de los productos alimentarios.

4.7 Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada. También agradecen el apoyo de la LGAC-3: Comercialización y Competitividad Agroalimentaria con Responsabilidad Social y Ambiental, del programa de Innovación Agroalimentaria Sustentable del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, y al grupo GICA perteneciente a la Sección Química de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima.

Literatura citada

Aguilera, T., Lozano, J., Paredes, J. A., Álvarez, F. J., & Suárez, J. I. (2012). Electronic nose based on Independent Component Analysis Combined with Partial Least Squares and Artificial Neural Networks for wine prediction. *Sensors (Switzerland)*, 12(6), 8055–8072. <https://doi.org/10.3390/s120608055>

- Anandan, M., Poorani, G., Boomi, P., Varunkumar, K., Anand, K., Chuturgoon, A. A., Saravanan, M., & Gurumallesh Prabu, H. (2019). Green synthesis of anisotropic silver nanoparticles from the aqueous leaf extract of *Dodonaea viscosa* with their antibacterial and anticancer activities. *Process Biochemistry*, *80*(December 2018), 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.02.014>
- Cacho, J., Moncayo, L., Palma, J. C., Ferreira, V., & Culleré, L. (2012). Characterization of the aromatic profile of the Italia variety of Peruvian pisco by gas chromatography-olfactometry and gas chromatography coupled with flame ionization and mass spectrometry detection systems. *Food Research International*, *49*(1), 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.065>
- Cruz, H., Califórnia, A., Pinto, A., Fonseca, J., Palmeira-De-Oliveira, J. G. A., Martinez-De-Oliveira, J., & Pereira, L. (2017). Development of e-nose biosensors based on organic semiconductors towards low-cost health care diagnosis in gynecological diseases. *Materials Today: Proceedings*, *4*(11), 11544–11553. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.09.065>
- Ghasemi-Varnamkhasti, M., Apetrei, C., Lozano, J., & Anyogu, A. (2018). Potential use of electronic noses, electronic tongues and biosensors as multisensor systems for spoilage examination in foods. *Trends in Food Science and Technology*, *80*, 71–92. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.018>
- Karakaya, D., Ulucan, O., & Turkan, M. (2020). Electronic Nose and Its Applications: A Survey. *International Journal of Automation and Computing*, *17*(2), 179–209. <https://doi.org/10.1007/s11633-019-1212-9>
- Li, B., Zhou, Q., Peng, S., & Liao, Y. (2020). Recent Advances of SnO₂-Based Sensors for Detecting Volatile Organic Compounds. *Frontiers in Chemistry*, *8*(May), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00321>

- Lim, M. C., & Kim, Y. R. (2016). Analytical applications of nanomaterials in monitoring biological and chemical contaminants in food. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(9), 1505–1516. <https://doi.org/10.4014/jmb.1605.05071>
- Lin, T., Lv, X., Li, S., & Wang, Q. (2017). The morphologies of the semiconductor oxides and their gas-sensing properties. *Sensors (Switzerland)*, 17(12), 1–30. <https://doi.org/10.3390/s17122779>
- Loutfi, A., Coradeschi, S., Mani, G. K., Shankar, P., & Rayappan, J. B. B. (2015). Electronic noses for food quality: A review. *Journal of Food Engineering*, 144, 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.07.019>
- Lu, Z., Zhou, Q., Xu, L., Gui, Y., Zhao, Z., Tang, C., & Chen, W. (2018). Synthesis and characterization of highly sensitive hydrogen (H₂) sensing device based on Ag doped SnO₂ nanospheres. *Materials*, 11(4), 1–12. <https://doi.org/10.3390/ma11040492>
- Lv, M., Liu, Y., Geng, J., Kou, X., Xin, Z., & Yang, D. (2018). Engineering nanomaterials-based biosensors for food safety detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 106(October 2017), 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.01.049>
- Mishra, G. K., Barfidokht, A., Tehrani, F., & Mishra, R. K. (2018). Food safety analysis using electrochemical biosensors. *Foods*, 7(9). <https://doi.org/10.3390/foods7090141>
- Mohamedkhair, A. K., Drmosh, Q. A., & Yamani, Z. H. (2019). Silver Nanoparticle-Decorated Tin Oxide Thin Films: Synthesis, Characterization, and Hydrogen Gas Sensing. *Frontiers in Materials*, 6(August), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmats.2019.00188>

- Neethirajan, S., Ragavan, V., Weng, X., & Chand, R. (2018). Biosensors for sustainable food engineering: Challenges and perspectives. *Biosensors*, 8(1). <https://doi.org/10.3390/bios8010023>
- Oliveira, A. C. de J., Araújo, A. R. de, Quelemes, P. V., Nadvorny, D., Soares-Sobrinho, J. L., Leite, J. R. S. de A., da Silva-Filho, E. C., & Silva, D. A. da. (2019). Solvent-free production of phthalated cashew gum for green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 213(February), 176–183. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.033>
- Scott, S. M., James, D., & Ali, Z. (2006). Data analysis for electronic nose systems. *Microchimica Acta*, 156(3–4), 183–207. <https://doi.org/10.1007/s00604-006-0623-9>
- Shahabuddin, M., Umar, A., Tomar, M., & Gupta, V. (2017). Custom designed metal anchored SnO₂ sensor for H₂ detection. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(7), 4597–4609. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.12.054>
- Sharma, P., Ghosh, A., Tudu, B., Sabhapondit, S., Baruah, B. D., Tamuly, P., Bhattacharyya, N., & Bandyopadhyay, R. (2015). Monitoring the fermentation process of black tea using QCM sensor based electronic nose. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 219, 146–157. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.05.013>
- Soto, K. M., Quezada-Cervantes, C. T., Hernández-Iturriaga, M., Luna-Bárcenas, G., Vazquez-Duhalt, R., & Mendoza, S. (2019). Fruit peels waste for the green synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial activity against foodborne pathogens. *LWT*, 103, 293–300. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.023>
- Tomer, V. K., & Duhan, S. (2016). Ordered mesoporous Ag-doped TiO₂/SnO₂ nanocomposite based highly sensitive and selective VOC sensors. *Journal of Materials Chemistry A*, 4(3), 1033–1043. <https://doi.org/10.1039/c5ta08336b>

- Wu, R. J., Lin, D. J., Yu, M. R., Chen, M. H., & Lai, H. F. (2013). Ag@SnO₂ core-shell material for use in fast-response ethanol sensor at room operating temperature. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 178, 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.12.052>
- Yang, F., & Guo, Z. (2015). Comparison of the enhanced gas sensing properties of tin dioxide samples doped with different catalytic transition elements. *Journal of Colloid and Interface Science*, 448, 265–274. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.02.045>

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

En el presente trabajo se biosintetizaron AgNPs utilizando dos extractos comerciales de sábila y ajo, comprobándose la reducción efectiva de los iones Ag^+ a Ag^0 mediante espectrofotometría UV-Vis alrededor de los 410 nm. La morfología esférica y el tamaño promedio de 18-19 y 12-13 nm de las AgNPs, utilizando sábila y ajo respectivamente, se reveló a través de microscopía electrónica de transmisión y la estructura cristalina FCC de las AgNPs se identificó empleando difracción de rayos X. Por otra parte, se evaluó la efectividad de las AgNPs como agente antibacteriano contra las cepas Gram-negativas *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes* obteniendo zonas de inhibición promedio de 20 y 22 mm respectivamente, empleando una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$. En cuanto a la aplicación en la síntesis de sensores a base de óxido de estaño, los resultados mostraron que las AgNPs biosintetizadas en este trabajo presentan propiedades adecuadas para la diferenciación de bebidas alcohólicas, como el Pisco peruano, a través de una nariz electrónica. Además, se observó que el tamaño de nanopartícula está estrechamente relacionado con la sensibilidad del sensor para la identificación de compuestos volátiles presentes en las muestras. En conclusión, las AgNPs obtenidas mediante síntesis verde presentan potencial para aplicaciones biotecnológicas como antibacterianos y sensores en la industria alimentaria.

Recomendaciones

Se recomienda profundizar en la cinética de síntesis de las AgNPs para optimizar el proceso. Además, se recomienda identificar el mecanismo de acción de las AgNPs como agente antimicrobiano en las diferentes concentraciones aplicadas. Por otra parte, se recomienda evaluar diferentes concentraciones de AgNPs en la síntesis de sensores a base de SnO_2 en bebidas alcohólicas adulteradas y no adulteradas.