

QUÍMICA VERDE – UNA ALTERNATIVA ECO-AMIGABLE EN LA OBTENCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE AG⁰

Hugo Alarcón^a, Macarena Tolmos^a, Nelson Villacrés^a, Emily Huarote^a

RESUMEN

El interés por las nanopartículas de plata (AgNPs) se debe a sus propiedades ópticas, catalíticas y antibacterianas; las cuales dependen de su tamaño, forma y estabilidad coloidal. Las AgNPs pueden ser obtenidas mediante técnicas químicas, físicas y biológicas; sin embargo, el enfoque de “Química Verde” promueve el desarrollo de investigaciones que no incluyan sustancias tóxicas o condiciones de costo elevado en la síntesis de nanopartículas, una alternativa es el uso de extractos de plantas, algas, hongos, bacterias y virus como agentes reductores y estabilizantes en el proceso de síntesis. Por tal motivo esta investigación emplea extractos etanólicos pétalos y hojas de *t* para la obtención de AgNPs con un tamaño de partícula menor a 50 nm. Mediante UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS-MS se identificaron los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en los extractos etanólicos, las AgNPs fueron caracterizadas mediante UV-Vis, FTIR, DLS y FE-SEM.

Palabras clave: Nanopartículas, *Solanum grandiflorum*, Química Verde.

GREEN CHEMISTRY - AN ECO-FRIENDLY ALTERNATIVE IN OBTAINING AG⁰ NANOPARTICLES

ABSTRACT

Attentiveness in silver nanoparticles (AgNPs) is due to their optical, catalytic and antibacterial properties; which depend on its size, shape and colloidal stability. AgNPs can be obtained by chemical, physical and biological techniques; However, “Green Chemistry” approach promotes the development of research that does not include toxic substances or high-cost conditions in the synthesis of nanoparticles, an alternative is the use of extracts of plants, algae, fungi, bacteria and viruses as agents. reducers and stabilizers in the synthesis process. For this reason, this research employs ethanolic extracts of petals and leaves of *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav to obtain AgNPs with a particle size less than 50 nm. Using UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS-MS, the mayor secondary metabolites present in ethanolic extracts were identified, AgNPs were characterized by UV-Vis, FTIR, DLS and FE-SEM.

Key words: Nanoparticles, *Solanum grandiflorum*, Green Chemistry.

^a Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Rímac, Lima, Perú.
halarcon@uni.pe

INTRODUCCIÓN

Hoy en día la nanotecnología ocupa un lugar importante en el desarrollo científico debido a sus diferentes morfologías, tamaños y propiedades fisicoquímicas; en los últimos años las nanopartículas de plata (AgNPs) se han convertido en uno de los productos de mayor crecimiento en la industria de la nanotecnología, esto se debe a sus diversas propiedades antimicrobianas¹, cicatrizantes, antivirales y funguicidas².

Existen diversos métodos para realizar síntesis de nanopartículas, entre ellos se mencionan: sol-gel, reducción química, tecnología aerosol, litografía, etc. Sin embargo, estos requieren el uso de reactivos químicos peligrosos y altamente contaminantes al medio ambiente³. Un nuevo método es mediante Química Verde, la cual utiliza los extractos de las plantas para obtener metales cerovalentes a escala nanométrica, reduciendo el impacto generado por la síntesis convencional sobre el medio ambiente⁴, además el uso de extractos vegetales en la síntesis influye en la calidad, tamaño y morfología de las nanopartículas obtenidas⁵.

El uso de plantas en la síntesis de nanomateriales puede ser mediante biorremediación (técnica en la cual la planta extrae los metales del suelo y/o agua y fabrica nanopartículas metálicas, o mediante el uso de extractos de diversas partes de la planta, los cuales poseen metabolitos secundarios (terpenos, flavonoides, enzimas, proteínas y cofactores) que actúan como agentes reductores⁶ (Figura 1). Los estudios del género *Solanum sp.* reportan diversos metabolitos secundarios entre ellos: glicoalcaloides esteroideos biológicamente activos, alcaloides esteroideos, saponinas, esteroides, flavonoides y alcaloides⁷. Dentro del género *Solanum sp.* se hace mención que la *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav. (Solanum lycocarpum A. St.-Hill)*, contiene taninos, flavonoides, saponinas, cumarinas, terpenos/esteroles, alcaloides y esteroides⁸.

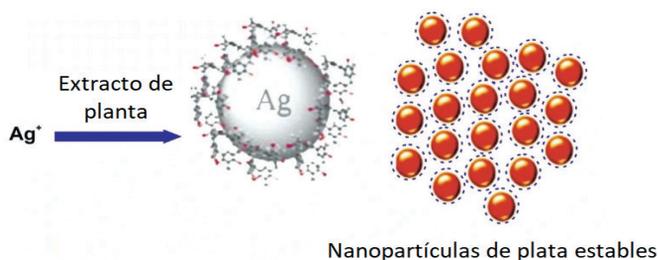


Figura 1. Representación esquemática de la síntesis de nanopartículas de plata¹⁶.

PARTE EXPERIMENTAL

El proceso de obtención de AgNPs empleando extractos etanólicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.* se evidencia en la figura 2.

2.1. Obtención de extractos etanólicos

Las hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. se lavaron y secaron a 30 °C; luego se pulverizaron y almacenaron en frascos ámbar. La extracción se realizó por maceración durante 5 días, empleando 0.5 g de hojas y pétalos pulverizadas con 50 mL de etanol 96° cada uno, (relación 1:100); los extractos obtenidos se almacenaron a 4 °C en frascos ámbar.

2.2. Análisis fitoquímico

1 gr de hojas y pétalos pulverizados, fueron analizadas con la prueba sal-gelatina (determinación de taninos), tricloruro férrico al 1% (determinación de flavonoides) y reactivo de Shinoda (determinación de polifenoles).

2.3. Análisis por UHPLC-ESI-Q-ORBITRAP-MS/MS

Los extractos etanólicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav., fueron disueltos en metanol (grado HPLC) asistidos por ultrasonido y filtrados para ser analizados en el Ultra High Performance Liquid Chromatography- Electrospray ionization – Quadrupole -Orbitrap - Mass Spectrometry (UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS-MS) de Fase reversa C-18, acoplado a un Espectrofotómetro Masas (THERMO Q-Exactive) con precursor de cuadrupolo, operado en modo de Electro-Spray con ionización positiva (ES+).

La separación cromatográfica de 10 µL fue en gradiente con las siguientes condiciones: caudal de la fase móvil – 1 mL min⁻¹ y tiempo de carrera 47 min.

2.4. Síntesis de AgNPs

1 ml de AgNO₃ (0.01 mol L⁻¹) con 4 mL de extracto etanólico (relación 1:4), a pH 9 (KOH - 1 M), se agitó durante 60 min. El cambio de color indica la formación de AgNPs. Finalmente, las AgNPs sintetizadas fueron lavadas a 10 000 rpm por triplicado.

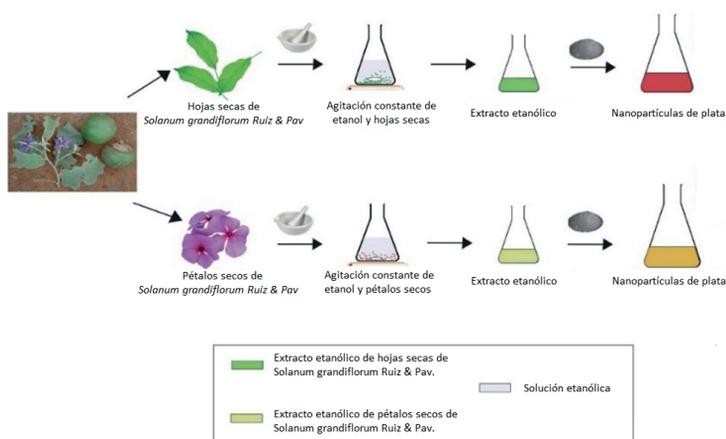


Figura 2. Obtención de AgNPs de extractos etanólicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

2.5. Caracterización de AgNPs

Las AgNPs obtenidas se caracterizaron mediante Microscopía Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FE-SEM) (SU8230, Hitachi), Espectroscopía Ultravioleta – Visible (UV-Vis) (Lambda 25, Perkin elmer), Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) (IR Prestige – 21, Shimadzu) y Dispersión Dinámica de Luz (DLS) (Brookhaven Big sizer 90 Plus).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Del análisis fitoquímico

En la tabla 1, se evidencia la presencia de polifenoles (flavonoides) y taninos presentes en hojas y pétalos *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.*

Tabla 1. Ensayos fitoquímicos.

Extractos	Sal-gelatina (Taninos)	FeCl ₃ (Flavonoides)	Shinoda (Polifenoles)
Pétalos	-	+ (magenta)	+ (transparente → negro)
Hojas	+	- (verde)	+ (verde claro → verde marrón)

+: reacción positiva

-: no reaccionó

3.2. Del análisis por UHPLC-ESI-Q-ORBITRAP-MS/MS

Está técnica permitió identificar los compuestos orgánicos presentes en los extractos etánolicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.*, tal como se evidencia en la tabla 2. Los compuestos identificados presentan grupos -OH en su estructura, pertenecientes a compuestos fenólicos, los cuales presentan actividad antioxidante la cual reside en su capacidad para donar electrones o átomos de hidrógeno.

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en extractos de hojas y pétalos.

Identificación	Partes de la planta	Composición elemental [M-H]	t _r (min.)	Masa teórica (m/z)	Masa medida (m/z)	Iones MS ⁿ (ppm)
Nicotiflorin (Kaempferol-3-rutinoside) ⁹	Pétalos	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	15.48	593.5102	593.15143	255.02982 285.03848
1,3-Dicaffeoylquinic acid ¹⁰	Pétalos y hojas	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	16.12	515.4429	515.11902	173.0449 135.04443
Chlorogenic acid ¹⁰	Pétalos y hojas	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	13.71	353.3008	353.08780	
Quinic acid ¹⁰	Pétalos y hojas	C ₇ H ₁₂ O ₆	3.66	191.1586	191.05573	191.05560
N(2)-Malonyl-D-tryptophan ¹¹	Pétalos	C ₁₄ H ₁₄ N ₂ O ₅	4.08	290.275	290.08810	
3,4 Dicaffeoylquinic acid ¹²	Pétalos y hojas	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	16.10	515.447	515.11914	173.04480 179.03450
4-caffeoylquinic acid ¹²	Pétalos	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	14.39	353.303	353.08783	173.04482 191.05557
Esculetin ¹²	Hojas	C ₉ H ₆ O ₄	14.75	177.135	177.01897	135.04449
Caffeic acid ¹³	Hojas	C ₉ H ₈ O ₄	14.80	179.151	179.03448	135.04457

3.3. De la síntesis de AgNPs

La síntesis de AgNPs a partir de extractos etanólicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. con AgNO_3 , genera un cambio de color de amarillo a rojo o naranja durante la reacción, tal como se evidencia en la figura 3.

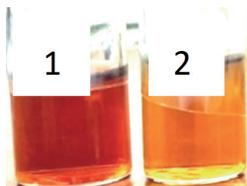


Figura 3. AgNPs de extractos etanólicos de 1) pétalos, 2) hojas de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

La reducción de iones plata a AgNPs se realiza empleando agentes reductores (compuestos fenólicos y flavonoides) enriquecidos con grupos funcionales hidroxilos presentes en los extractos etanólicos¹⁴, estas moléculas actúan como agentes reductores y estabilizadores de las nanopartículas, tal como se observa en la figura 4, realizando una combinación de reducción de iones Ag^+ y oxidación de grupos OH^{18} .

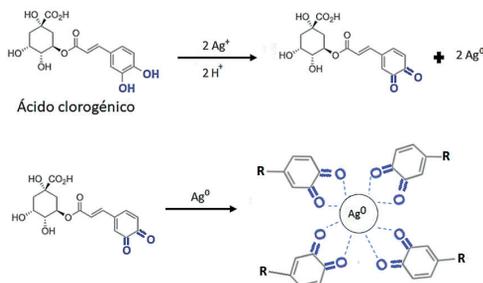


Figura 3. Mecanismo de reducción de iones plata a AgNPs mediante el agente reductor fenólico (ácido clorogénico) presente en los extractos etanólicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

3.4. De la caracterización de AgNPs

Los resultados obtenidos de las diferentes técnicas de caracterización en las AgNPs se detallan a continuación:

3.4.1. Espectroscopía Ultravioleta – Visible (UV-Vis)

En el espectro UV-Vis las AgNPs exhiben una absorción máxima en el rango de 400 a 500 nm^{17} , tal como se observa en los espectros UV-Vis (ver figura 5) de las AgNPs sintetizadas a partir de los extractos etanólicos de pétalos y hojas de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. con AgNO_3 , los cuales presentan una absorción máxima a 412 nm y 418 nm , respectivamente.

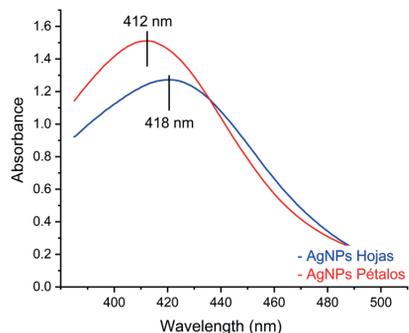


Figura 5. Espectros UV-Vis de las AgNPs obtenidas a partir de extractos etanólicos de hojas y pétalos.

3.4.2. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La figura 6 muestra el espectro FTIR de las AgNPs sintetizadas con extractos etanólicos de *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.* en el rango de 500 – 4000 cm^{-1} . Los espectros FTIR de las AgNPs evidencian incremento en los picos cercanos a 3245 cm^{-1} y 3288 cm^{-1} pertenecientes al grupo OH, 1042 cm^{-1} y 1028 cm^{-1} enlace C-O, y a 2931 cm^{-1} y 2097 cm^{-1} correspondientes al enlace C-H de los alquenos aromáticos. Lo que indica una interacción ($\text{-C-O} \cdots \text{Ag}^0$) de los grupos carbonilos cercanos a dobles enlaces conjugados de los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en los extractos de hojas y pétalos *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.* y la plata reducida; estos metabolitos desempeñan un papel importante en la protección y estabilidad de las AgNPs¹⁵.

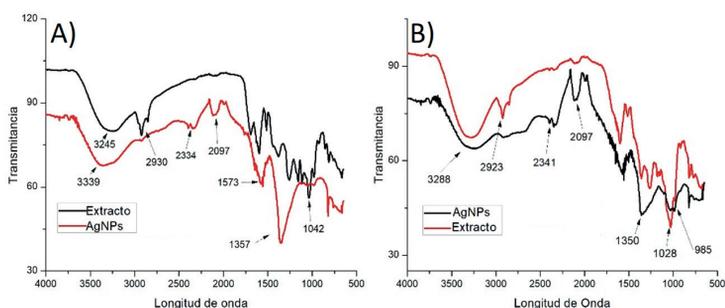


Figura 6. Espectros FTIR de las AgNPs obtenidas a partir de extractos etanólicos de A) hojas y B) pétalos.

3.4.3. Dispersión Dinámica de Luz (DLS)

Empleando DLS se determinó el tamaño hidrodinámico de las AgNPs, los resultados obtenidos en la tabla 3, evidencian un incremento del diámetro hidrodinámico entre la primera y tercera semana después del proceso de síntesis, por lo que se presume un proceso de aglomeración entre nanopartículas según el tiempo.

Tabla 3. Estabilidad de AgNPs en las primeras tres semanas.

MUESTRA	Diámetro hidrodinámico promedio (nm)		
	1° Semana	2° Semana	3° Semana
AgNPs - Hojas	49.10	50.00	83.80
AgNPs - Pétalos	33.35	33.40	101.45

3.4.4. Microscopía Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FE-SEM)

La imagen FE-SEM, tal como se observa en la figura 7, proporciona características morfológicas de las AgNPs sintetizadas a partir de los extractos etanólicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. En la figura 7A se observa la forma esférica de las AgNPs las cuales están recubiertas por los metabolitos que participan en el proceso reducción – oxidación, y en la figura 7B la estabilización de las AgNPs recubiertas por los metabolitos a otra escala.

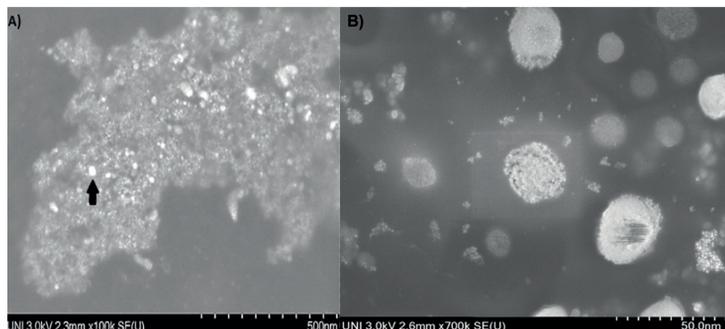


Figura 7. Imagen FE-SEM de las AgNPs obtenidas a partir de extracto etanólico de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

CONCLUSIONES

Los polifenoles presentes en los extractos etanólicos de las hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.* permiten la síntesis de AgNPs con un tamaño de partícula menor a 50 nm. durante la primera semana, evidenciándose un crecimiento del tamaño de partícula en la tercera semana posterior a la síntesis, por lo cual esta metodología no permite la síntesis de AgNPs estables en solución coloidal.

AGRADECIMIENTO

Agradecimiento al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional de Ingeniería por el financiamiento al proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ávalos A, Haza A, Mateo D, Morales P. Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. *Rev Complut Cienc Vet.* 2013; 7(2): 1-23.
2. Monge M. Nanopartículas de plata métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de Química.* 2009; 105(1): 33-41.
3. Santos A, Troncoso C, Lamilla C, Llanquino V, Pavez M, Barrientos L. Nanopartículas sintetizadas por bacterias antárticas y sus posibles mecanismos de síntesis. *J Morphol.* 2017; 35(1): 26-33.
4. Sifontes Á. Biosíntesis de nanomateriales: hacia el avance de la nanotecnología verde. *Mundo Nano.* 2014; 7(13). doi: 10.22201/ceiich.24485691e.2014.13.48709.
5. Shah M, Fawcett D, Sharma S, Tripathy SK, Poinern GEJ. Green Synthesis of Metallic Nanoparticles via Biological Entities. *Materials (Basel).* 2015;8(11):7278-7308.
6. Irvani S. Green Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants. *Green Chem.* 2011; 13(10): 2638-2650.
7. Barros RP, da Cunha EV, Catão RM, Scotti L, Souza MS, Brás AA, et al. Virtual screening of secondary metabolites of the genus *Solanum* with potential antimicrobial activity. *Rev Bras Farmacogn.* 2018; 28(6): 686–691.
8. Pereira TM, Silva VD, Ribeiro Neto JA, Alves SN, Lima LA. Larvicidal activity of the methanol extract and fractions of the green fruits of *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) against the vector *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Rev Soc Bras Med Trop.* 2014; 47(5): 646-648.
9. Slimestad R, Fossen T, Verheul MJ. The flavonoids of tomatoes. *J Agric Food Chem.* 2008;56(7):2436-41.

10. Daji G, Steenkamp P, Madala N, Dlamini B. Phytochemical Composition of *Solanum retroflexum* Analysed with the Aid of Ultra-Performance Liquid Chromatography Hyphenated to Quadrupole-Time-of-Flight Mass Spectrometry (UPLC-qTOF-MS). *J Food Qual.* 2018; 2018:3678795. doi:10.1155/2018/3678795.
11. Sade D, Shriki O, Cuadros-Inostroza A, Tohge T, Semel Y, Haviv Y, et al. Brotman, Metabolomics Comparative metabolomics and transcriptomics of plant response to Tomato yellow leaf curl virus infection in resistant and susceptible tomato cultivars. *Metabolomics.* 2015; 11(1): 81-97.
12. López-Cobo A. Caracterización de compuestos bioactivos en productos y subproductos vegetales mediante técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas. [Tesis doctoral]. Granada: Universidad de Granada; 2017.
13. Chideh S, Pilard S, Attoumbre J, Saguez R, Hassan-Abdallah A, Cailleu D, et al. 5-O -Caffeoylshikimic acid from *Solanum somalense* leaves: Advantage of centrifugal partition chromatography over conventional column chromatography. *J Sep Sci.* 2014; 37(17): 2331-2339.
14. Terenteva EA, Apyari VV, Dmitrienko SG, Zolotov YA. Formation of plasmonic silver nanoparticles by flavonoid reduction: A comparative study and application for determination of these substances. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2015;151:89-95.
15. Gentle AA, Omogbolahan SQ, Godwin JO. Characterization of Biosynthesized Silver Nanoparticles using UV-Visible and FTIR Spectroscopy. *Afr J Environ Nat Sci Res.* 2020; 3(5): 21-26.
16. Selvaraj V, Sagadevan S, Muthukrishnan L, Johan MR, Podder J. Eco-friendly approach in synthesis of silver nanoparticles and evaluation of optical, surface morphological and antimicrobial properties. *J Nanostructure Chem.* 2019; 9: 153-162.
17. Tripathi RM, Kumar N, Shrivastav A, Singh P, Shrivastav BR. Catalytic activity of biogenic silver nanoparticles synthesized by *Ficus panda* leaf extract. *J Mol Catal B Enzym.* 2013; 96: 75-80.
18. B Aziz S, Hussein G, Brza MA, J Mohammed S, T Abdulwahid R, Raza Saeed S, Hassanzadeh A. Fabrication of Interconnected Plasmonic Spherical Silver Nanoparticles with Enhanced Localized Surface Plasmon Resonance (LSPR) Peaks Using Quince Leaf Extract Solution. *Nanomaterials (Basel).* 2019 Nov 2;9(11):1557. doi: 10.3390/nano9111557.