

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



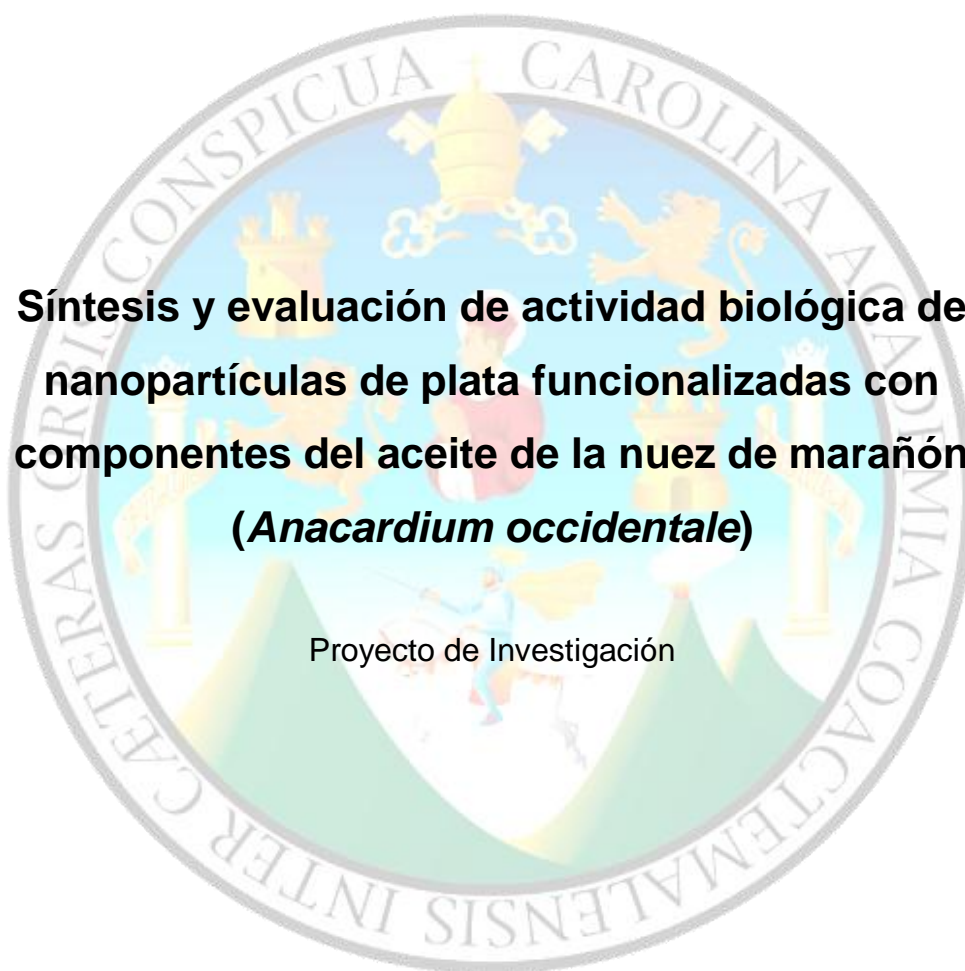
**Síntesis y evaluación de actividad biológica de
nanopartículas de plata funcionalizadas con
componentes del aceite de la nuez de marañón
(*Anacardium occidentale*)**

MARÍA CELESTE PELAYES GUILLEN

Química

Guatemala, Julio de 2019

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**Síntesis y evaluación de actividad biológica de
nanopartículas de plata funcionalizadas con
componentes del aceite de la nuez de marañón
(*Anacardium occidentale*)**

Proyecto de Investigación

Presentado por

MARÍA CELESTE PELAYES GUILLEN

Para optar el título de

Química

Guatemala, Julio de 2019

MIEMBROS DE JUNTA DIRECTIVO

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto	Decano
Licda. Miriam Roxana Marroquín Leiva	Secretaria
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal I
Dr. Roberto Enrique Flores Arzú	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Byron Enrique Pérez Díaz	Vocal IV
Br. Pamela Carolina Ortega Jimenéz	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, por ser el centro de enseñanza.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y a la Escuela de Química, por brindarme todo el conocimiento.

Al departamento de Química Orgánica, por permitirme realizar esta investigación.

A: M.A. Diana Pinagel, MSc. Byron Fuentes, Lic. Byron López, Lic. Mario Rodas, Br. Rony Letona, por su apoyo incondicional en la elaboración de este proyecto de investigación.

A: Todas aquellas personas que contribuyeron a mi formación.

INDICE

1.	ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN	1
2.	RESUMEN	3
3.	ANTECEDENTES	4
3.1.	Nanopartículas de plata	4
3.2.	Funcionalización de AgNP's	5
4.	JUSTIFICACIÓN.....	7
5.	OBJETIVOS.....	8
5.1.	Objetivo General:.....	8
5.2.	Objetivos Específicos:.....	8
6.	HIPÓTESIS	9
7.	MATERIALES Y METODOS.....	10
7.1.	Universo.....	10
7.2.	Población y muestra.....	10
7.3.	Materiales	10
7.3.1.	Equipo	10
7.3.2.	Reactivos	10
7.3.3.	Instrumentos.....	11
7.3.4.	Cristalería.....	11
7.4.	Métodos	11
7.4.1.	Diseño de la investigación	11
7.4.2.	Metodología.....	11
8.	AVAL DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN.....	14
9.	RESULTADOS.....	15
10.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	27

11.	CONCLUSIONES.....	31
12.	RECOMENDACIONES.....	32
13.	REFERENCIAS	33

INDICE DE TABLAS

TABLA 1	15
TABLA 2.....	16
TABLA 3.....	17
TABLA 4.....	18
TABLA 5.....	20
TABLA 6.....	23
TABLA 7.....	24
TABLA 8.....	25
TABLA 9.....	25

INDICE DE GÁFICAS

GRÁFICA 1	15
GRÁFICA 2.....	16
GRÁFICA 3.....	18
GRÁFICA 4.....	19
GRÁFICA 5.....	20
GRÁFICA 6.....	20
GRÁFICA 7.....	21
GRÁFICA 8.....	21
GRÁFICA 9.....	22
GRÁFICA 10.....	23
GRÁFICA 11.....	24

INDICE DE ILUSTRACIONES

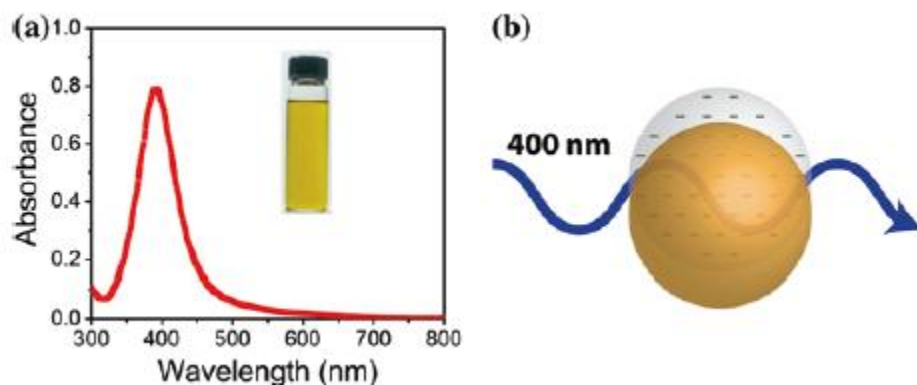
ILUSTRACIÓN 1	1
ILUSTRACIÓN 2	2
ILUSTRACIÓN 3	6

1. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

Las nanopartículas (NP) son agregados de átomos que presentan una distribución de tamaño menor a 100 nm. Además, a diferencia de moléculas de mayor tamaño, las NP metálicas (oro, plata, cobre, hierro, etc.) exhiben propiedades ópticas únicas debido a la excitación de plasmones, presentando absorción en la región visible del espectro electromagnético, dando lugar a soluciones coloreadas, como se puede observar en la Ilustración 1 (Alarcon & Griffith, 2015).

Ilustración 1

Propiedades ópticas de las AgNP



a) Espectro de absorción de una solución acuosa de AgNP

b) Ilustración de la excitación de plasmones

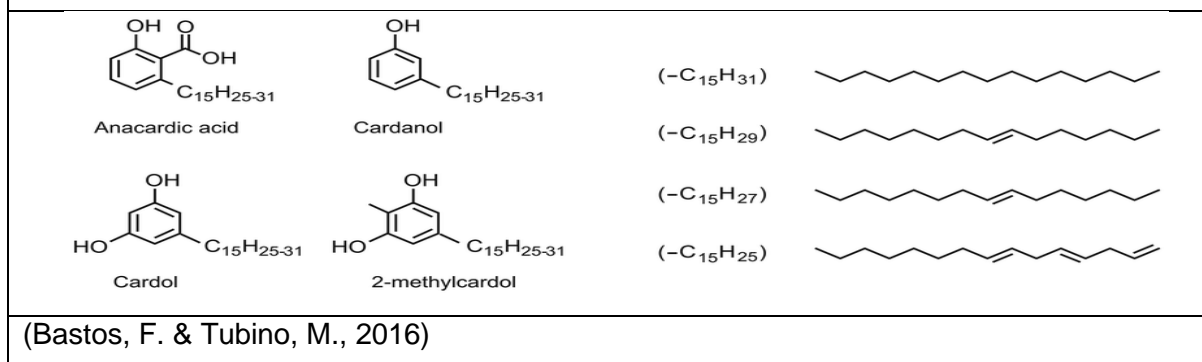
(Alarcon & Griffith, 2015)

Una de las aplicaciones de las nanopartículas de plata (AgNP) se fundamenta en sus propiedades como agente biocida. Además, desde algún tiempo atrás se han realizado investigaciones que se basan en la modificación de la superficie de las NP (funcionalización), logrando así un incremento en la actividad antibacteriana (Buszewskia, Rafinska, Pomastowski, Walczak & Rogowska, 2016).

En la mayoría de los casos, la funcionalización se puede llevar a cabo con diversos compuestos orgánicos, a través de grupos funcionales tales como carboxilato, amina, fosfina, tiol, etc. (Valkenier et al., 2017). Por otra parte, el aceite de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*) posee como componentes principales ácido anacárdico (aprox. sesenta y cinco por ciento), cardol (aprox. veinte por ciento), cardanol (aprox. diez por ciento) y trazas de 2-metilcardol (aprox. cinco por ciento), a los cuales se les ha observado propiedades antibacterianas (Kumar, Paramashivappa, Vithayathil & Subba Rao, 2002). En la ilustración 2 se puede observar la estructura química de dichos componentes, en donde se esquematizan las diferencias que existen en la cadena carbonada (Bastos & Tubino, 2016). Tomando en cuenta lo anterior, y que este es un recurso poco aprovechado en nuestro país, se desarrolló una metodología eficaz para funcionalizar AgNP con extractos del aceite de la nuez de marañón, que puedan ser utilizadas como agentes biocidas.

Ilustración 2

Estructura química de los componentes del aceite de la nuez de marañón



En este proyecto de investigación, se determinó las condiciones óptimas para la síntesis de AgNP; además, se llevo a cabo la funcionalización con ácido anacárdico, proveniente del aceite de la nuez de marañón, por medio de la formación de sales de diazonio. Adicionalmente, se evaluó la reproducibilidad del método, estabilidad en el tiempo a condiciones ambientales, solubilidad en agua y actividad biocida con diferentes cepas (George, Kuriakose, Prakashkumar & Mathew, 2010).

2. RESUMEN

Se determinó las condiciones óptimas para la síntesis de AgNP utilizando citrato de sodio como agente reductor, variando la proporción AgNO_3 / citrato de sodio y la temperatura, logrando un mejor resultado con la proporción 10:1 a 90 °C por 30 minutos de reacción, obteniendo un máximo de absorbancia en 430 nm, aproximadamente. Además, se evaluó la síntesis utilizando NaBH_4 como agente reductor, modificando la relación molar entre AgNO_3 / NaBH_4 , siendo la óptima la relación 10:1 a 0 °C por 3 minutos de reacción, obteniendo un máximo de absorbancia en 393 nm, aproximadamente. La formación y estabilidad de AgNP con ambos agentes reductores se evaluó mediante espectrofotometría UV-Visible, observándose una deformación en los espectros a los 30 días de vida, lo que indicó la descomposición o aglomerado de las mismas.

Adicionalmente, se llevó a cabo la funcionalización con ácido anacárdico proveniente del aceite de la nuez de marañón, mostrando diferencias significativas en los espectros UV-Visible obtenidos, en comparación con el espectro de AgNP desnudas (sin funcionalizar), dando indicios de una funcionalización efectiva. Asimismo, se evaluó la distribución de tamaño de AgNP desnudas y funcionalizadas, mediante dispersión dinámica de luz (DLS), encontrando partículas con un diámetro promedio de 25.1, con una desviación estándar de 1.29 y un índice de polidispersidad promedio (PDI) de 0.7 para las AgNP desnudas; mientras que para las AgNP funcionalizadas se obtuvo un diámetro promedio de 72.15, con una desviación estándar de 0.37 y un índice de polidispersidad promedio de 0.53.

Por otra parte, se determinó el diámetro exacto mediante un microscopio electrónico de barrido, obteniendo para AgNP desnudas un diámetro promedio de 9 nm, sin embargo para AgNP funcionalizadas el diámetro promedio fue de 36 nm. Finalmente se evaluó el poder bactericida de AgNP funcionalizadas en cepas de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 25923, *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC

25922, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC 9027, *Candida albicans* (*C. albicans*) ATCC 20231, *Salmonella enterica* (*S. enterica*) ATCC 13076, observándose en todos los casos crecimiento bacteriano.

3. ANTECEDENTES

3.1. Nanopartículas de plata

Las NP son partículas microscópicas que exhiben propiedades físicas y biológicas únicas, muy distintas a materiales más grandes, debido al rango de tamaño que presentan (<100 nm). Las AgNP poseen una amplia variedad de aplicaciones; sin embargo, debido a la incidencia y propagación de enfermedades, actualmente son un área de extensa investigación como agentes biocidas (Sharma, 2013).

En 2008 se evaluó la relación que existe entre el tamaño de las AgNP y su actividad antibacteriana frente a cepas de *E. coli* y *S. aureus*. Se demostró que la actividad antibacteriana de las AgNP decrece con el incremento del tamaño de la NP (Martínez-Castañón, Niño-Martínez, Martínez-Gutierrez, Martínez-Mendoza & Ruiz, 2008).

En 2015 se evaluó la actividad antibacteriana utilizando distintas concentraciones de AgNP, frente a bacterias aisladas de muestras de agua que excedían el límite permisible de bacterias totales, coliformes totales y estreptococos. Se encontró que la inhibición más alta de bacterias fue utilizando una concentración de 0,1 ppm de AgNP por 2 horas de tratamiento, logrando una reducción mayor al noventa y dos por ciento (Dosoky, Kotb & Farghali, 2015).

3.2. Funcionalización de AgNP's

Actualmente se realizan investigaciones que se basan en la modificación de la superficie de las NP (funcionalización), utilizando diferentes tipos de ligandos, tales como moléculas pequeñas, surfactantes, dendrímeros, polímeros y biomoléculas (*Ilustración 3*); esto con el fin de modificar alguna de sus propiedades, logrando un incremento en la actividad biocida frente a diferentes tipos de bacterias (Caruso, Hyeon & Rotello, 2012).

En 2013 se realizó un estudio en el que se desarrolló una ruta sintética verde de AgNP, mediante la reducción y estabilización con la resina que exuda el tronco de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale L.*) y se evaluó *in vitro* la actividad antibacteriana y citotóxica. Se utilizó como bacterias gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Enterococcus faecalis*. Además, como bacterias gram-negativas *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*. Finalmente, para la actividad citotóxica se utilizó células VERO (células epiteliales del riñón). Se observó actividad antibacteriana con mayor efecto ante las bacterias gram-negativas y no se observó actividad citotóxica significativa (Quelemes et al., 2013).

En 2016 se obtuvo AgNP funcionalizadas con tetraciclina (*Ilustración 3*), a las cuales se evaluó la actividad antibacteriana frente a cepas gram-negativas tales como *E. coli*, *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae*; así como gram-positivas, las cuales fueron *S. aureus* y *S. epidermidis*. Las pruebas microbiológicas confirmaron que las AgNP funcionalizadas exhiben una mayor actividad antibacteriana que las no modificadas. Además, se concluyó que pueden ser utilizadas para el tratamiento de infecciones causadas por las bacterias tales como *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae* (Buszewskia, Rafinska, Pomastowski, Walczak & Rogowska, 2016).

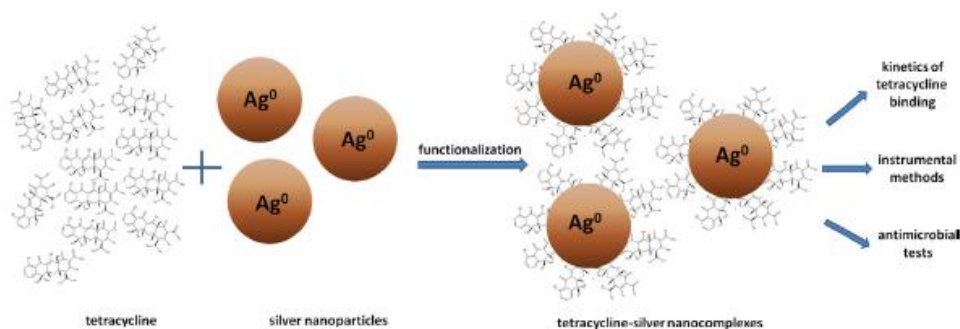
En 2017 se realizó un estudio en el que sintetizaron criogeles de quitosano, los cuales fueron cargados con AgNP de diferentes tamaños, con el objetivo de ser utilizado en la desinfección de agua. La prueba bactericida fue realizada con cepas de *E. coli* y *B. subtilis*, observándose una capacidad de desinfección rápida (Fan, Gong, Huang, Wang & Gong, 2018).

En la revisión de literatura no se encontraron estudios sobre la síntesis de AgNP funcionalizadas con ácido anacárdico, cardol y/o cardanol, componentes del aceite de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*), que puedan ser utilizadas como posibles agentes biocidas. Sin embargo, existen investigaciones en las que se ha reportado actividad antibacteriana en estos extractos.

En 2017 se purificó y evaluó sistemáticamente la actividad antibacteriana, entre otras, del extracto de la cáscara de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*), observándose una clara inhibición frente a la bacteria *Bacillus subtilis*. La actividad antibacteriana se comprobó mediante el recuento de colonias, en donde no se detectaron colonias visibles en las muestras tratadas con cero punto seis por ciento (0.6 %) del extracto, obteniendo una concentración mínima inhibitoria (MIC) de cero punto seis por ciento (0.6 %) e IC_{50} de cero punto treinta y cuatro por ciento (0.34 %) (Ashraf & Rathinasamy, 2017).

Ilustración 3

Funcionalización de AgNP con tetraciclina



(Buszewskia et al., 2016)

4. JUSTIFICACIÓN

El incremento de la resistencia bacteriana a los diferentes agentes biocidas, fomenta la necesidad de descubrir nuevas alternativas. Así mismo, las enfermedades transmitidas por el agua se consideran la causa principal de muerte en muchos países en vía de desarrollo. En el mundo, más de mil millones de personas carecen de acceso a agua potable, lo que provoca la muerte de dos millones de personas por año (Dosoky, Kotb & Farghali, 2015).

En Guatemala, en muchos casos el agua se capta directamente de ríos o lagos y se distribuye sin realizar tratamiento alguno. Los niveles de bacterias del tipo coliforme y otras patógenas son elevados, lo que pone en riesgo la salud de la población. Las enfermedades diarreicas agudas se encuentran entre las primeras cinco causas de morbilidad y mortalidad en el país (OPS/OMS, 2017).

La nanotecnología brinda una amplia gama de opciones con las cuales es posible afrontar el problema. Si bien, la actividad biocida de las AgNP ha sido ampliamente estudiada, el potencial de inhibición de éstas puede ser incrementado mediante la modificación de su superficie, con el uso de una variedad de ligandos que permiten modificar algunas de sus propiedades (Caruso, Hyeon & Rotello, 2012).

Considerando la riqueza de productos naturales que existen en el país, se pretende utilizar los componentes del aceite de la nuez de marañón para la funcionalización de las AgNP; ya que además, recientes estudios han demostrado que el aceite también presenta actividad antibacteriana (George et al., 2010).

Con base a lo anterior, se pretende generar nuevas moléculas que puedan ser utilizadas como agentes biocidas para el tratamiento de aguas contaminadas con diferentes tipos de bacterias. Además se desea utilizar recursos naturales para incrementar la actividad antibacteriana de dichas moléculas.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General:

Generar una metodología reproducible para la síntesis de AgNP funcionalizadas con productos orgánicos provenientes del aceite de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*).

5.2. Objetivos Específicos:

- Determinar condiciones óptimas para la síntesis de diferentes tamaños de AgNP.
- Desarrollar un método eficaz para funcionalizar las AgNP con extractos del aceite de la semilla de marañón (*Anacardium occidentale*).
- Evaluar el poder bactericida de las AgNP funcionalizadas, en diferentes cepas bacterianas.

6. HIPÓTESIS

Las AgNP funcionalizadas con compuestos orgánicos provenientes del aceite de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*), tendrán potenciales propiedades biocidas sobre los microorganismos a evaluar.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1. Universo

El universo de esta investigación fue comprendido por las AgNP obtenidas con citrato de sodio y borohidruro de sodio como agentes reductores.

7.2. Población y muestra

La población corresponde a las AgNP funcionalizadas con el extracto del aceite de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*), las cuales fueron utilizadas para la evaluación de la actividad biocida frente a diferentes cepas bacterianas.

7.3. Materiales

7.3.1. Equipo

- Balanza analítica
- Balanza semi-analítica
- Espectrofotómetro de UV-visible VWR / UV-3100PC
- Nano-S ZetaSizer Malvern

7.3.2. Reactivos

- Borohidruro de sodio para análisis
- Nitrato de sodio para análisis
- Nitrato de plata grado reactivo
- Hexano grado reactivo
- Nitrito de sodio grado reactivo
- Citrato de sodio grado reactivo
- Sulfato de sodio anhidro para análisis

- Hidróxido de sodio para análisis
- Etanol absoluto 99,9%

7.3.3. Instrumentos

- Pipetas automáticas
- Puntas para pipetas
- Planchas de agitación
- Termómetro

7.3.4. Cristalería

- Beakers de 100 mL y 250 mL
- Buretas graduadas
- Pipetas volumétricas de 5, 10 y 25 mL
- Varilla de agitación
- Probetas de 25 mL
- Balones aforados de 100, 250 mL y 1000 mL
- Frascos ambar con tapa

7.4. Métodos

7.4.1. Diseño de la investigación

La investigación a realizar es del tipo exploratoria con un enfoque cuantitativo.

7.4.2. Metodología

- **Síntesis de AgNP con uso de nitrato de plata (AgNO_3) y citrato de sodio:**
Llevar a ebullición 20 mL de AgNO_3 1 mM, añadir gota a gota 2 mL de citrato de sodio al 1 % agitando constantemente. Continuar la agitación y calentamiento

durante 30 minutos. Dejar enfriar con agitación continua, monitorear la formación y estabilidad de las AgNP por medio de espectroscopia UV-Vis (Fan et al., 2018).

- **Metodología alternativa para la síntesis de AgNP con uso de nitrato de plata (AgNO_3) y citrato de sodio:**

Agregar 20 mL de AgNO_3 1 mM, a temperatura ambiente y con agitación constante adicionar 2 mL de citrato de sodio al 1 %. Aumentar la temperatura sin sobrepasar los 90 °C y continuar la agitación, hasta observar un cambio en la coloración. Dejar enfriar con agitación continua, monitorear la formación y estabilidad de las AgNP por medio de espectroscopia UV-Vis (Fan et al., 2018).

- **Síntesis de AgNP con uso de nitrato de plata (AgNO_3) y borohidruro de sodio (NaBH_4):**

Agregar a 20 mL de una solución de AgNO_3 (1 mM), 0.05 mL de NaBH_4 (2 mM). Realizar la adición gota a gota manteniendo agitación constante y en baño de hielo. Después de completar la adición de NaBH_4 , mantener la agitación por 3 minutos. Monitorear la formación y estabilidad de las AgNP por medio de espectroscopia UV-Vis (Sondi & Salopek-Sondi, 2004).

- **Caracterización por la dispersión dinámica de luz (DLS) de AgNP's**

Las mediciones se realizaron en el Laboratorio de Biomacromoléculas 5. Instituto de Química. UNAM. Se usó un instrumento Nano-S ZetaSizer Malvern equipado con un láser de 633 nm. El ángulo de dispersión para todas las medidas fue de 173 °. Se tomaron tres medidas con 12 carreras de 10 segundos cada una. La preparación de las muestras se realizó agregando 100 μL de solución de AgNP en 3 mL de agua desionizada para obtener los espectros.

- **Extracción del aceite de la semilla de marañón:**

Utilizando material (semilla de nuez de marañón), la extracción se realiza utilizando éter de petróleo entre 40-60°C, por 3 horas, luego se evapora para la obtención de la mezcla cruda (Yuliana et al., 2014).

- **Metodología alternativa para la extracción del aceite de la semilla de marañón:**

Se trituran las semillas de nuez de marañón, se agrega éter de petróleo en un matraz con refrigerante, y se exponen a baño de ultrasonido por 17 horas. Se evapora el solvente para la obtención de la mezcla cruda (Kumar, Paramashivappa, Vithayathil & Subba Rao, 2002).

- **Funcionalización de las NP por medio de sales de diazonio:**

Agregar a 1 mL de una solución de AgNO_3 (1 mM), 2 mL agua desionizada y 3 mL de NaBH_4 (2 mM). Inmediatamente añadir 1 mL de solución de 4-aminoanilina (10 mM) disuelta en una solución de NaNO_2 (1 mM) en medio ácido (10 mM HCl) y 1 mL de ácido anacárdico (1 mM) disuelto en solución 0.5 N de NaOH. Realizar la mezcla de manera rápida con agitación constante y temperatura ambiente. Verificar el cambio de color a un rojo grana. Monitorear la formación y estabilidad de NP por medio de espectroscopia UV-vis

- **Caracterización de las AgNP desnudas y funcionalizadas:**

Espectroscopia UV-visible, Dispersión de luz dinámica (DLS) y microscopio electrónico de transmisión (TEM).

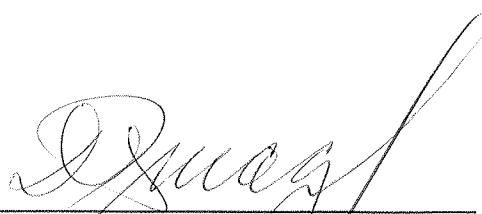
- **Poder bactericida de las AgNP funcionalizadas:**

El examen microbiológico se realizó en el Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos (LAFYM), de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, según metodología de la USP, capítulo <62> "Examen microbiológico de productos no estériles: Pruebas de microorganismos específicos". Los microorganismos analizados fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Cándida albicans* ATCC 20231, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076.

8. AVAL DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

En cumplimiento al INSTRUCTIVO PARA EVALUACIÓN TERMINAL DE LOS ESTUDIANTES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA EN SU MODALIDAD DE "PROYECTO DE INVESTIGACIÓN".

Se extiende el siguiente aval a MARÍA CELESTE PELAYES GUILLEN, para la publicación de los resultados obtenidos en la investigación denominada "Síntesis y evaluación de actividad biológica de nanopartículas de plata funcionalizadas con componentes del aceite de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*)", los cuales constituyen resultados parciales del proyecto de Investigación Macro.



M.A. Diana Pinágel
Investigador Principal

9. RESULTADOS

Tabla 1

Evaluación de la síntesis de AgNP utilizando AgNO_3 y citrato de sodio como agente reductor con cambio en la temperatura.

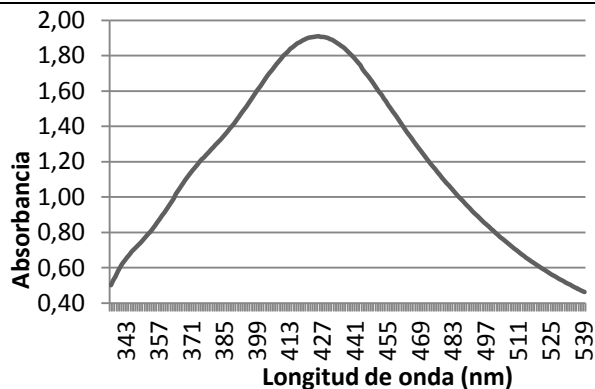
No.	AgNO_3 , 1 mM (mL)	Citrato de sodio, 1 % (mL)	Temperatura (°C)	Observación	Máxima absorbancia	Longitud de onda (nm)
1	20.0	2.0	23	Sin Cambio	N/A	N/A
2	20.0	2.0	30	Sin Cambio	N/A	N/A
3	20.0	2.0	40	Sin Cambio	N/A	N/A
4	20.0	2.0	50	Sin Cambio	N/A	N/A
5	20.0	2.0	60	Sin Cambio	N/A	N/A
6	20.0	2.0	70	Sin Cambio	N/A	N/A
7	20.0	2.0	80	Sin Cambio	N/A	N/A
8	20.0	2.0	90	Anaranjado	1,9097	432

Proporción 10:1 (AgNO_3 / Citrato de sodio), tiempo de reacción 30 minutos, Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC.

Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Gráfica 1

Espectro UV-Visible de la solución No. 8 de AgNP, obtenida a partir de AgNO_3 y Citrato de sodio como agente reductor a 90 °C



Proporción 10:1 (AgNO_3 / Citrato de sodio), tiempo de reacción 30 minutos, Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC. **Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.**

Tabla 2

Evaluación de la síntesis de AgNP utilizando AgNO_3 y Citrato de sodio como agente reductor con cambio en la proporción de AgNO_3 / Citrato de sodio.

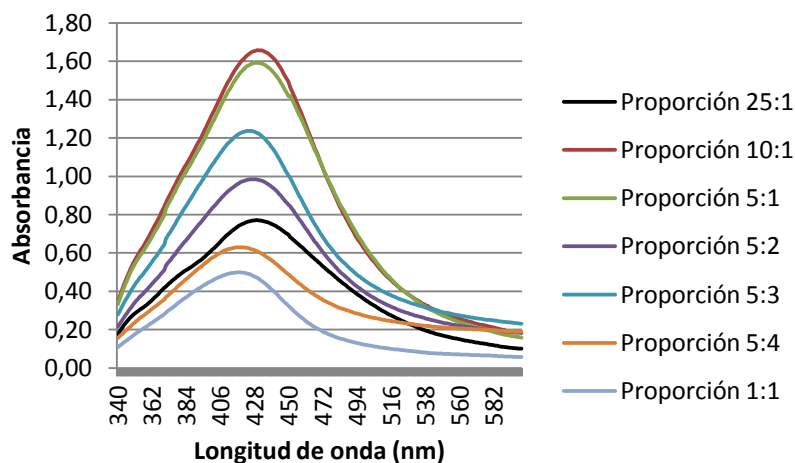
No.	AgNO_3 , 1 mM (mL)	Citrato de sodio, 1 % (mL)	Proporción	Observación	Máxima absorbancia	Longitud de onda (nm)
1	200.0	8.0	25:1	Anaranjado	0.7694	432
2	20.0	2.0	10:1	Anaranjado	1.6585	430
3	50.0	10.0	5:1	Anaranjado	1.5922	430
4	39.3	15.7	5:2	Anaranjado	0.9851	427
5	34.4	20.6	5:3	Amarillo	1.2374	424
6	30.6	24.4	5:4	Amarillo	0.6300	419
7	27.5	27.5	1:1	Amarillo	0.4989	418

Temperatura 90 °C, tiempo de reacción 30 minutos, Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC.

Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Gráfica 2

Espectros UV-Visible de las soluciones de AgNP, obtenidas a partir de AgNO_3 y Citrato de sodio con cambio en la proporción AgNO_3 / Citrato de sodio



Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC.

Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

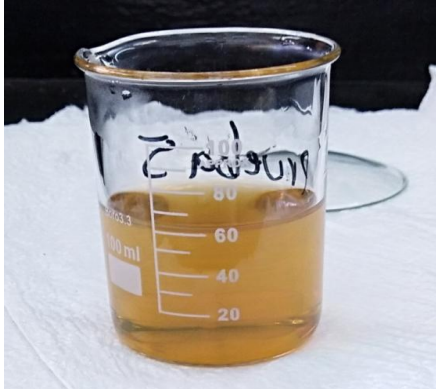
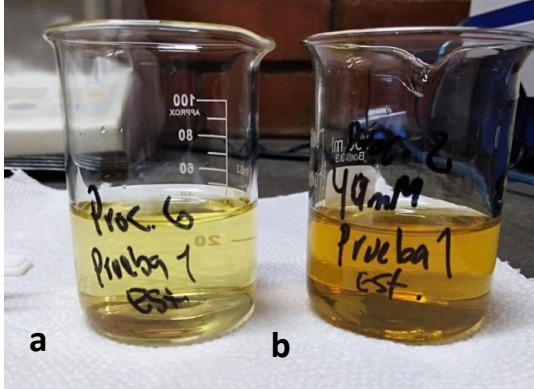
Foto 1 Solución de AgNP obtenida con AgNO_3 y citrato de sodio a 90 °C.	Foto 2 Comparación en coloración, modificando la proporción AgNO_3 / Citrato de sodio.
	
Proporción 10:1 (AgNO_3 / Citrato de sodio) Tiempo de reacción 30 minutos	a- Proporción 5:3 (AgNO_3 /Citrato de sodio) b- Proporción 10:1 (AgNO_3 /Citrato de sodio)

Tabla 3

Estudio de la estabilidad a lo largo del tiempo, de AgNP obtenidas con la proporción 10:1 (AgNO_3 / Citrato de sodio).

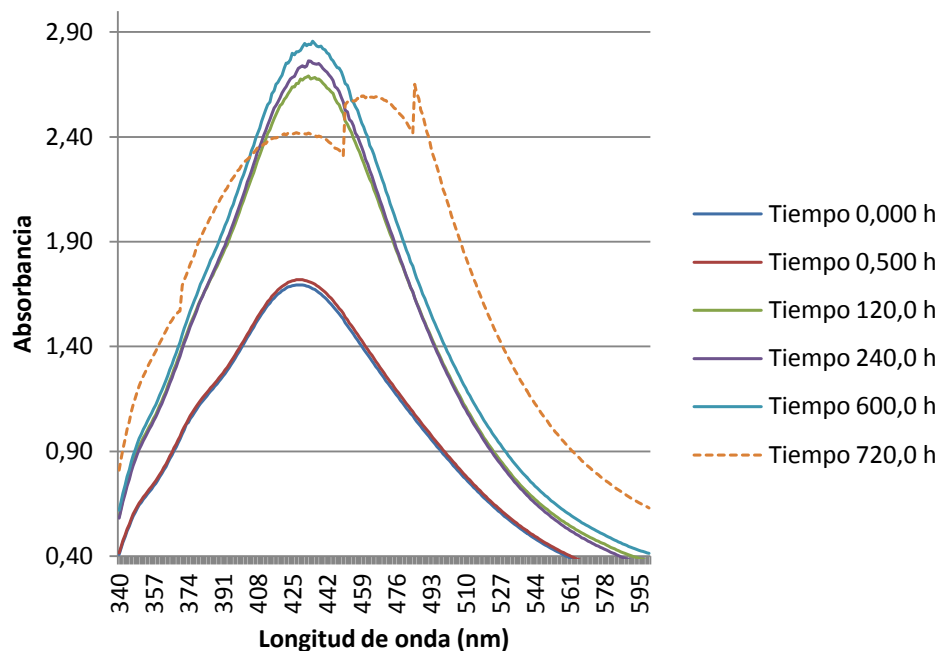
No.	Proporción (AgNO_3 / Citrato de sodio)	Apariencia	Observación	Tiempo de vida (hora)	Máxima absorbancia	Longitud de onda (nm)
1	10:1	Solución de color naranja	Distribución normal en el espectro UV-Vis	0.000	1.6941	428
2	10:1	Solución de color naranja	Distribución normal en el espectro UV-Vis	0.500	1.7193	428
3	10:1	Solución de color naranja	Distribución normal en el espectro UV-Vis	120.0	2.6901	433
4	10:1	Solución de color naranja	Distribución normal en el espectro UV-Vis	240.0	2.7632	433
5	10:1	Solución de color naranja	Distribución normal en el espectro UV-Vis	600.0	2.8460	432
6	10:1	Solución de color naranja-verdosa	Deformación en el espectro UV-Vis	720.0	N/A	N/A

Temperatura 90 °C, tiempo de reacción 30 minutos, Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC.

Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Gráfica 3

Espectros UV-Visible del estudio de estabilidad a lo largo del tiempo, de AgNP obtenidas con la proporción 10:1 (AgNO_3 / Citrato de sodio)



Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC.

Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Tabla 4

Estudio de la estabilidad a lo largo del tiempo, de AgNP obtenidas con la proporción 5:1 (AgNO_3 / Citrato de sodio).

No.	Proporción (AgNO_3 / Citrato de sodio)	Apariencia	Observación	Tiempo de vida (hora)	Máxima absorbancia	Longitud de onda (nm)
1	5:1	Solución de color naranja	Distribución normal en el espectro UV-Vis	0.000	0.8640	424
2	5:1	Solución de color naranja	Distribución normal en el espectro UV-Vis	24.00	0.9807	426
3	5:1	Solución de color naranja	Distribución normal en el espectro UV-Vis	120.0	1.4250	427

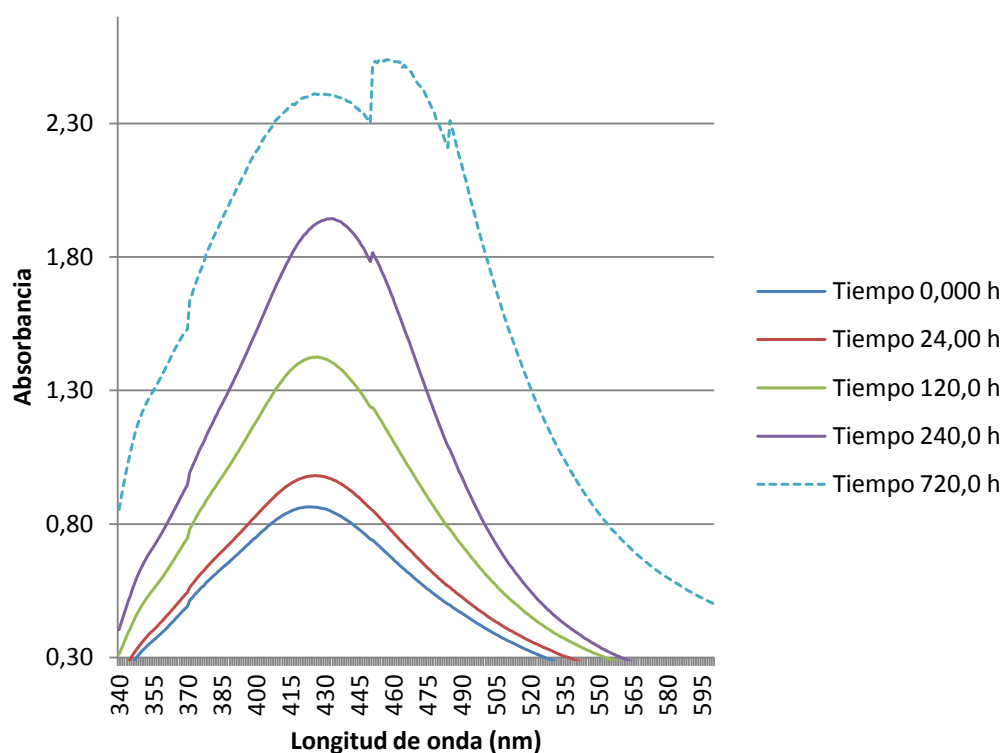
No.	Proporción (AgNO ₃ / Citrato de sodio)	Apariencia	Observación	Tiempo de vida (hora)	Máxima absorbancia	Longitud de onda (nm)
4	5:1	Solución de color naranja	Distribución normal en el espectro UV-Vis	240.0	1.9437	433
5	5:1	Solución de color naranja-verdosa	Deformación en el espectro UV-Vis	720.0	N/A	N/A

Temperatura 90 °C, tiempo de reacción 30 minutos, Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC.

Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Gráfica 4

Espectros UV-Visible del estudio de estabilidad a lo largo del tiempo, de AgNP obtenidas con la proporción 5:1 (AgNO₃ / Citrato de sodio)



Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC.

Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

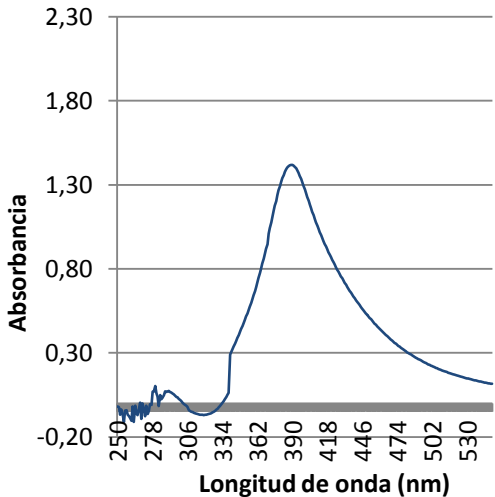
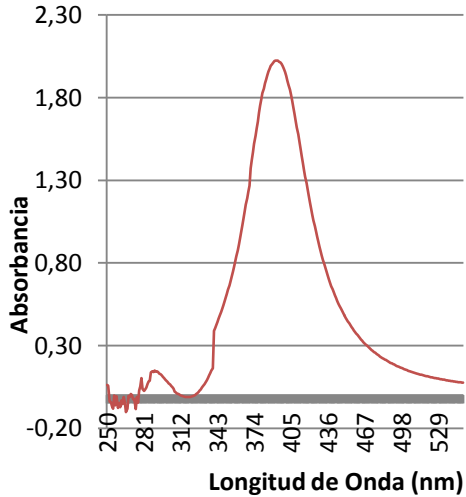
Tabla 5

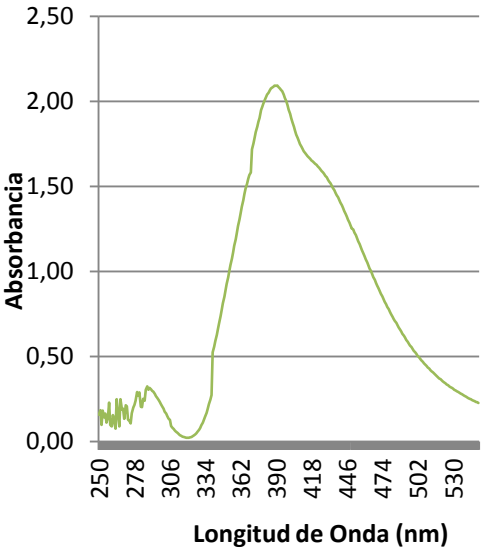
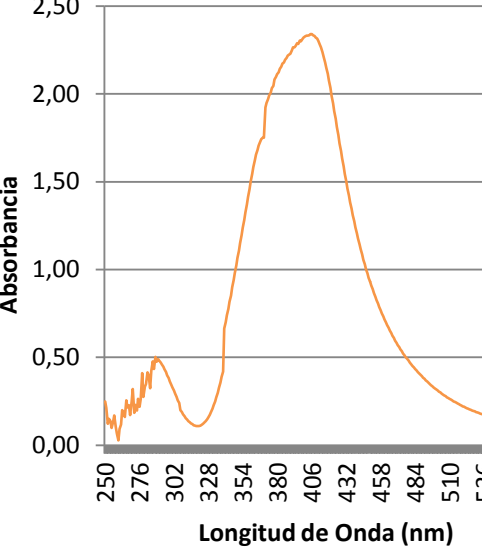
Evaluación de la síntesis de AgNP utilizando AgNO_3 y NaBH_4 como agente reductor con cambio en la relación molar de $\text{NaBH}_4 / \text{AgNO}_3$.

No.	NaBH_4 , 2 mM (mL)	AgNO_3 , 1 mM (mL)	Proporción	Observación	Máxima absorbancia	Longitud de onda (nm)
1	17.6	2.4	15:1	Amarillo traslúcido	1.4189	390
2	16.7	3.3	10:1	Amarillo traslúcido	2.0236	393
3	15.0	5.0	6:1	Amarillo traslúcido	2.0940	391
4	13.3	6.7	4:1	Amarillo traslúcido	2.3032	397

Temperatura 0 °C, tiempo de reacción 3 minutos, Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC.

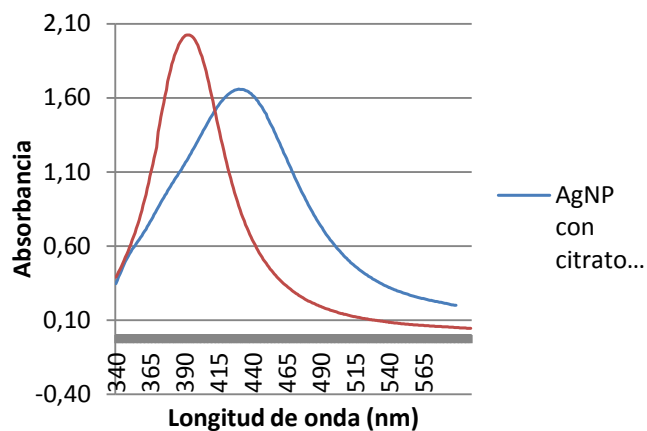
Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Gráfica 5 Espectro UV-Visible de la solución de AgNP, obtenida a partir de AgNO_3 y NaBH_4 en relación molar 15:1	Gráfica 6 Espectro UV-Visible de la solución de AgNP, obtenida a partir de AgNO_3 y NaBH_4 en relación molar 10:1
	
<p>Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC. Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.</p>	<p>Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC. Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.</p>

<p>Gráfica 7</p> <p>Espectro UV-Visible de la solución de AgNP, obtenida a partir de AgNO₃ y NaBH₄ en relación molar 6:1</p>	<p>Gráfica 8</p> <p>Espectro UV-Visible de la solución de AgNP, obtenida a partir de AgNO₃ y NaBH₄ en relación molar 4:1</p>
 <p>The graph shows absorbance on the y-axis (0.00 to 2.50) and wavelength in nm on the x-axis (250 to 530). A broad surface plasmon resonance (SPR) peak is observed at approximately 390 nm with an absorbance of about 2.1. There is a small secondary peak at approximately 278 nm.</p>	 <p>The graph shows absorbance on the y-axis (0.00 to 2.50) and wavelength in nm on the x-axis (250 to 536). A broad SPR peak is observed at approximately 406 nm with an absorbance of about 2.3. There is a small secondary peak at approximately 276 nm.</p>
<p>Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC.</p> <p>Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.</p>	<p>Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC.</p> <p>Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.</p>

Gráfica 9

Comparación entre los espectros UV-Visibles de soluciones de AgNP obtenidas con citrato de sodio y NaBH_4 como agentes reductores.

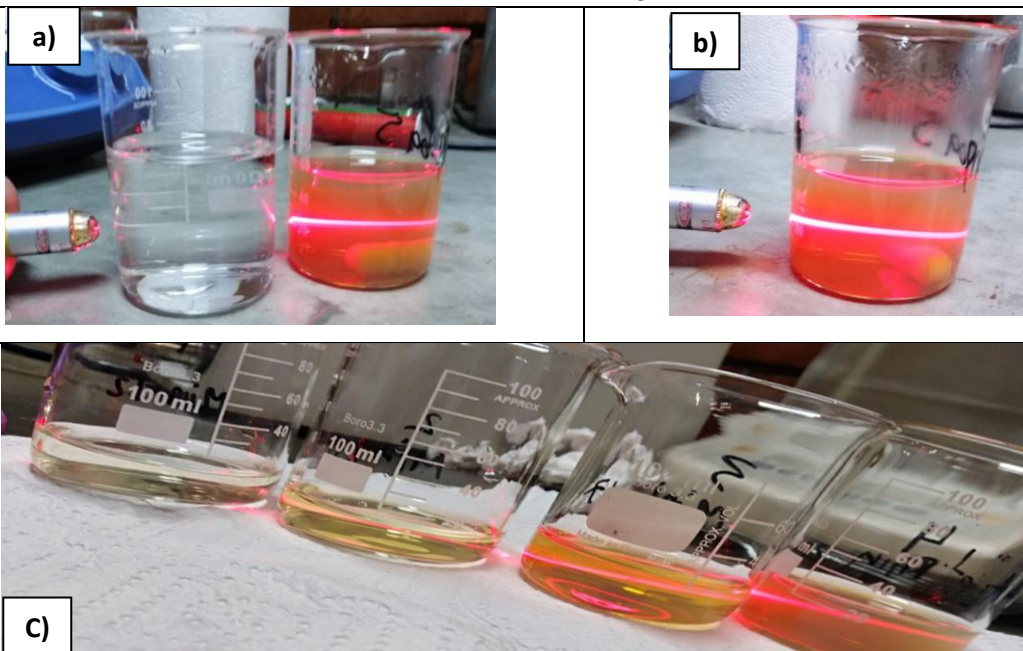


1) Citrato de sodio: $\lambda = 430 \text{ nm}$; 2) NaBH_4 : $\lambda = 390 \text{ nm}$. Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC.

Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Foto 3

Haz de luz laser enfocado a través de la solución de AgNP.



- Haz del laser atravesando agua desmineralizada y la solución de AgNP
- Haz del laser atravesando la solución de AgNP
- Haz del laser atravesando soluciones de AgNP de diferentes concentración

Tabla 6

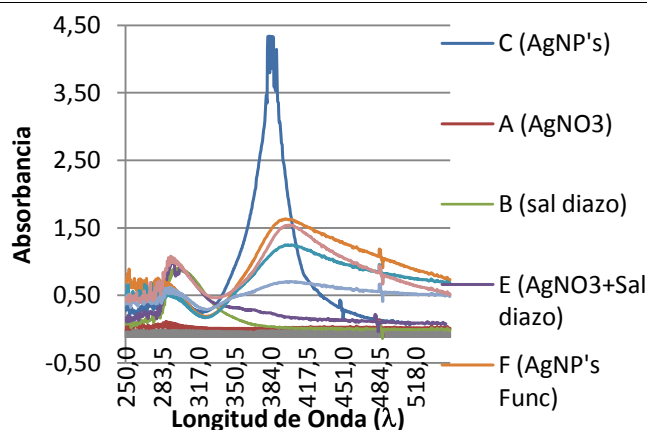
Evaluación de la funcionalización de AgNP con sal de diazonio, cambiando la relación molar de AgNO_3 / NaBH_4 / Sal de diazonio.

*Mx	AgNO_3 (mL)	NaBH_4 (mL)	Sal Diazonio	Agua	Proporción	Máxima absorbancia	Longitud de onda (nm)
	$2,6 \times 10^{-4}$ M	0,4 M	0,08 M				
A	9.00	0.00	0.00	1.00	AgNO_3	-	-
B	0.00	0.00	0.08	9.92	Sal Diazo	-	-
C	9.00	0.03	0.00	0.97	AgNP desnudas	3.879	388
D	0.00	0.06	0.08	9.86	NaBH_4 /Sal Diazo	-	-
E	9.00	0.00	0.06	0.92	AgNO_3 /Sal Diazo	-	-
F	9.00	0.06	0.04	0.90	AgNP Func. 1:10:1	1.637	397
G	9.00	0.06	0.06	0.88	AgNP Func. 1:10:2	1.230	408
H	9.00	0.06	0.10	0.84	AgNP Func. 1:10:3	0.699	408
I	9.00	0.03	0.06	0.91	AgNP Func. 1:5:2	1.542	402

Temperatura 0 °C, tiempo de reacción 3 minutos, Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC. *Mx: Muestra. **Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.**

Gráfica 10

Espectros UV-Visible en la evaluación de la funcionalización de AgNP con sal de diazonio, cambiando la proporción de AgNO_3 / NaBH_4 / Sal de diazonio.



Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC. **Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.**

Tabla 7

Evaluación de la funcionalización de AgNP con ácido anacárdico en medio básico, cambiando la relación molar de AgNO_3 / NaBH_4 / ácido anacárdico.

*Mx.	AgNO ₃ (mL)	NaBH ₄ (mL)	Ácido Anacárdico	Agua	Proporción	Máxima absorbancia	Longitud de onda (nm)
	2,6X10 ⁻⁴ M	0,4 M	0,04 M				
A1	0.00	0.00	0.08	9.92	Ácido anacárdico	-	-
B1	9.00	0.02	0.00	0.98	AgNP desnudas	3.730	389
C1	9.00	0.00	0.08	0.92	AgNO ₃ /Ácido	-	-
D1	0.00	0.02	0.08	9.90	NaBH ₄ /Ácido	-	-
E1	9.00	0.02	0.02	0.96	AgNP Fuc. 2:5:1	2.140	411
F1	9.00	0.02	0.04	0.94	AgNP Fuc. 1:3:1	1.649	411
G1	9.00	0.02	0.06	0.92	AgNP Fuc. 1:3:2	1.629	412
H1	9.00	0.02	0.08	0.90	AgNP Fuc. 1:3:3	1.234	413

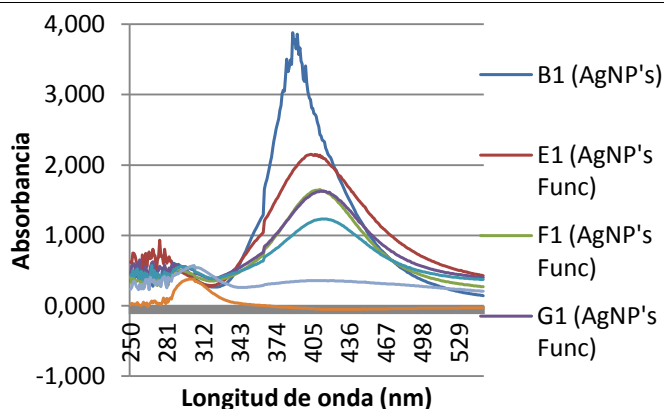
Temperatura 0 °C, tiempo de reacción 3 minutos, Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC.

*Mx: Muestra

Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Gráfica 11

Espectros UV-Vis de la evaluación de la funcionalización de AgNP con ácido anacárdico en medio básico, cambiando la relación molar de AgNO_3 / NaBH_4 / ácido anacárdico.



Espectrofotómetro UV-Visible VWR / UV-3100PC. **Fuente:** Datos obtenidos en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Tabla 8

Determinación de la distribución de tamaño de AgNP desnudas (sin funcionalizar) por dispersión dinámica de luz (DLS)

No.	T.	Z-Ave	PDI	Pico 1, Int. media	Pico 2, Int. media	Pico 3, Int. media	Pico 1, Int. de área	Pico 2, Int. de área	Pico 3, Int. De área
	°C	d.nm		d.nm	d.nm	d.nm	%	%	%
1	25	24.18	0.76	76.89	7.33	3519	71.80	24.10	4.10
2	25	24.20	0.76	80.06	8.41	3826	69.80	25.20	3.20
3	25	26.75	0.59	93.03	11.57	4	71.10	19.00	9.90
4	25	24.30	0.76	76.59	6.94	3265	75.10	20.80	4.10
5	25	26.78	0.59	76.85	8.25	4042	69.60	27.00	3.40
6	25	24.39	0.76	75.36	5.77	3576	79.00	17.60	3.40
Media	25	25.10	0.70	79.80	8.04	3039	72.73	22.28	4.68
SD	0.0	1.29	0.09	6.67	1.98	1510	3.66	3.71	2.58

Mx: Muestra

T: Temperatura

Z-Ave: Promedio de distribución de tamaño

PDI: Índice de polidispersidad

Int: Intensidad

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Tabla 9

Determinación de la distribución de tamaño de AgNP funcionalizadas por dispersión dinámica de luz (DLS)

No.	T.	Z-Ave	PDI	Pico 1, Int. Media	Pico 2, Int. media	Pico 3, Int. media	Pico 1, Int. de área	Pico 2, Int. de área	Pico 3, Int. De área
	°C	d.nm		d.nm	d.nm	d.nm	%	%	%
1	25	72.59	0.53	148.6	7.286	0	95.1	4.9	0
2	25	72.23	0.53	253.4	62.24	5.916	51.1	43.3	5.6
3	25	72.22	0.52	139.1	22.7	4241	86.4	10.6	3
4	25	72.34	0.53	169.1	31.22	4.599	79	16.2	4.9
5	25	71.98	0.53	169.8	7.863	0	93.4	6.6	0
6	25	71.52	0.52	144.0	5.947	3983	93.5	5.1	1.3
Media	25	72.15	0.53	170.7	22.88	1372.42	83.08	14.45	2.47
SD	0	0.37	0.00	42.53	21.79	2123.64	16.79	14.77	2.43

Mx: Muestra

T: Temperatura

Z-Ave: Promedio de distribución de tamaño

PDI: Índice de polidispersidad

Int: Intensidad

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Foto 4

Tamaño de AgNP desnudas (sin funcionalizar).

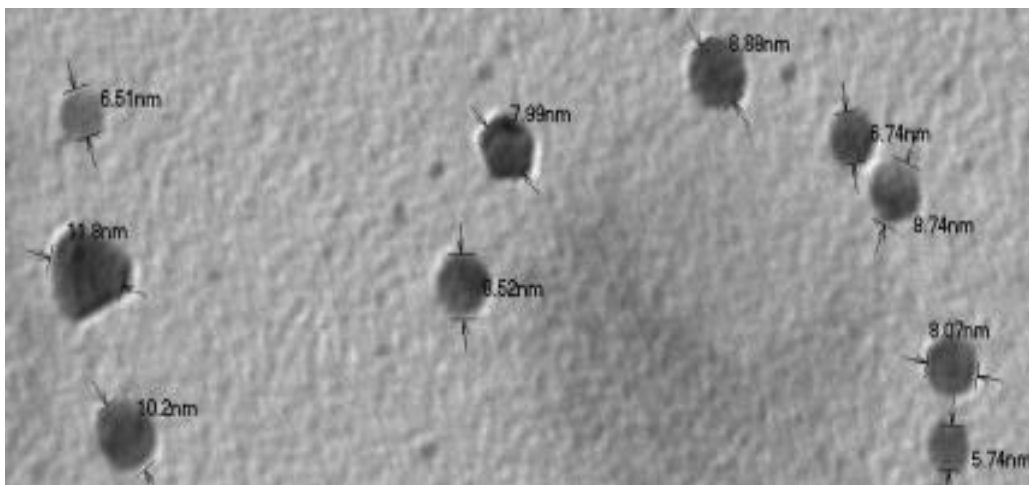


Imagen obtenida por microscopio electrónico de transmisión.

Fuente: Datos experimentales obtenidos en *L'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)*, Francia.

Foto 5

Tamaño de AgNP funcionalizadas.

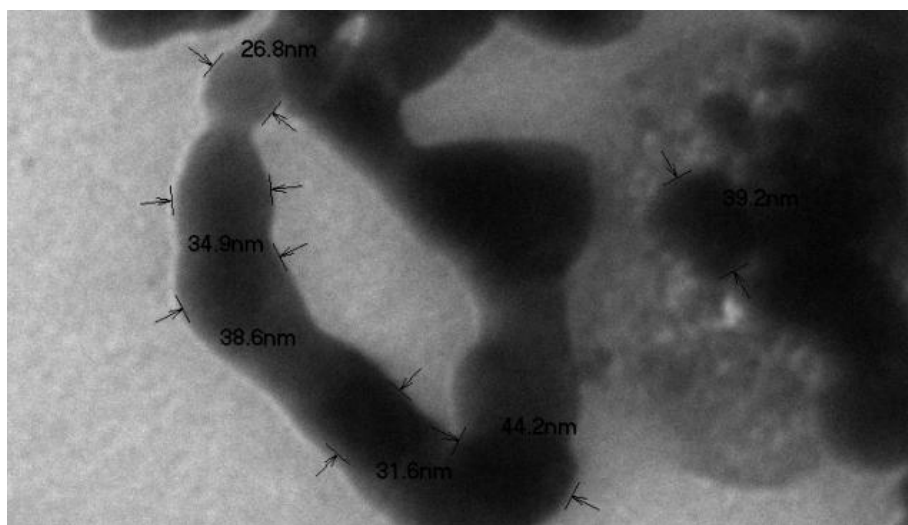


Imagen obtenida por microscopio electrónico de transmisión.

Fuente: Datos experimentales obtenidos en *L'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)*, Francia.

Tabla No. 10

Determinación del poder bactericida de AgNP funcionalizadas en diferentes tipos de microorganismos.

Microorganismo	Directo
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Hubo crecimiento
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Hubo crecimiento
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Hubo crecimiento
<i>Cándida albicans</i> ATCC 10231	Hubo crecimiento
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Hubo crecimiento

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos (LAFYM), USAC.

** Metodología USP

10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La temperatura y el tiempo de reacción fueron factores importantes en la síntesis de AgNP, utilizando citrato de sodio como agente reductor. Se puede notar en la Tabla 1, que la reacción no presentó cambio hasta que la temperatura se aumentó a 90 °C durante 30 minutos, observándose la aparición de una coloración anaranjada (Ver Foto 1). Esto se debe a que, a pesar que la plata en solución acuosa, tiene un potencial de reducción (E^0) positivo, es decir se reduce con relativa facilidad, el citrato de sodio, con un potencial de reducción de $E^0 = - 0.180$ V, no es un agente reductor capaz de llevar a cabo la reacción a temperaturas más bajas (Alarcon & Griffith, 2015).

Según la teoría de Mie, en base a la longitud de onda de máxima absorbancia se puede predecir la forma, tamaño y moléculas unidas a la superficie de las AgNP (Alarcon y Griffith, 2015). Por tanto, el espectro UV-visible de la solución obtenida de AgNP (Gráfica 1), presentó un máximo de absorbancia en una longitud de onda de 432 nm, es decir que la mayor concentración de AgNP podría haber presentado un tamaño aproximado de 60 a 80 nm. A pesar de lo anterior, se

observó un ensanchamiento en el pico de absorción, probablemente causado por un mayor tamaño de las AgNP formadas (Solomon, Bahadory, Jeyarajasingam & Rutkowsky, 2007).

La variación en la proporción utilizada de AgNO_3 y citrato de sodio, afectó la concentración y la distribución de tamaños de AgNP. En la Tabla 2 se presentan los resultados de las proporciones evaluadas, las cuales fueron 25:1, 10:1, 5:1, 5:2, 5:3, 5:4 y 1:1 (AgNO_3 / citrato de sodio). La reacción con mayor efectividad se obtuvo con las proporciones de 10:1 y 5:1, con máximos de absorbancia de 1.6585 y 1.5922, respectivamente, en 430 nm.

Según los espectros UV-Visible obtenidos de las proporciones 5:4 y 1:1, los cuales presentaron un máxima absorbancia en 419 y 418 nm, respectivamente, dieron indicios de AgNP de menor tamaño, entre 35 a 50 nm aproximadamente, sin embargo la concentración fue relativamente baja. La disminución de tamaño en las AgNP se refleja además, en el cambio de coloración en la solución como se puede observar en la Foto 2, en donde la proporción 5:3 ($\lambda = 424$ nm) presentó una coloración amarilla translúcida, mientras que la proporción 10:1 ($\lambda = 430$ nm) fue anaranjada.

Se evaluó la estabilidad de las AgNP obtenidas de las proporciones 10:1 y 5:1, observándose un aumento en la absorbancia, es decir en la concentración, a lo largo del tiempo, manteniendo la distribución de tamaños (Ver Tablas 3 y 4). Sin embargo, como se observa en las gráficas No. 3 y 4, los picos de absorción presentaron una deformación a los 30 días de vida de las AgNP, indicando la descomposición y/o aglomerado de las mismas.

Adicionalmente, se llevó a cabo la reacción utilizando borohidruro de sodio (NaBH_4) como agente reductor, el cual posee un potencial de reducción más negativo que el citrato de sodio, siendo éste un mejor agente reductor, por lo que generó mejores resultados en menor tiempo y a baja temperatura. Como se

observa en la Tabla 5, se obtuvo AgNP de menor tamaño con un máximo de absorbancia en 390 nm aproximadamente. Además, los espectros UV-Visibles presentaron un menor ensanchamiento en comparación con los obtenidos con citrato de sodio. Esto se debe a que con el aumento del tamaño de las AgNP debe haber un corrimiento hacia el rojo en el espectro, es decir, un incremento en la longitud de onda, tal como puede observarse con las AgNP formadas con citrato de sodio (Gráfica 9).

Se evaluó la síntesis variando la relación molar entre AgNO_3 y NaBH_4 , que según los espectros UV-visible obtenidos, la proporción 10:1 fue la que presentó una mejor formación del pico de absorción, lo que supone la formación de AgNP de menor tamaño (Gráfica 6). Se puede observar en el espectro de la proporción 6:1, una deformación entre los 406 a 500 nm (Gráfica 7), posiblemente causada por aglomerado de las AgNP; mientras que la proporción 4:1 presentó un ensanchamiento y absorbancia máxima en una longitud de onda mayor a las demás (Gráfica 8).

Asimismo, se realizó una prueba rápida para comprobar la formación de las NP, utilizando un láser infrarrojo. Las partículas grandes dispersan la luz visible en ángulos más pequeños en relación con la luz del láser, mientras que las partículas pequeñas dispersan la luz en ángulos más grandes. Por tanto, se pudo observar que en el agua no se logró visualizar dispersión de la luz visible, como en el caso de la solución de AgNP (Foto 3).

En la Tabla 6 y Tabla 7, se encuentran los datos obtenidos en la evaluación de la funcionalización de AgNP con sal de diazonio y ácido anacárdico, respectivamente. La síntesis se evaluó modificando la relación molar entre AgNO_3 , NaBH_4 y Sal de diazonio / Ácido anacárdico. Se obtuvo un cambio significativo entre los espectros UV-Visibles obtenidos de las AgNP desnudas (sin funcionalizar) y las AgNP funcionalizadas (Ver Gráfica 10 y 11). Adicionalmente se

llevó a cabo una funcionalización con ácido anacárdico por medio de sal de diazonio, obteniendo una solución de color rojo grana.

Se analizaron seis soluciones de AgNP desnudas por dispersión dinámica de luz (DLS), las cuales presentaron un diámetro promedio (Z-AVE) de 25.1 nm, con una desviación estándar (SD) de 1.29 nm. No obstante, se obtuvo un índice de polidispersidad promedio (PDI) de 0.70 (Tabla 8). Además, se analizaron seis soluciones de AgNP funcionalizadas con ácido anacárdico las cuales presentaron un Z-AVE de 72.15 nm, con una SD de 0.37 nm, y un PDI de 0,53 (Tabla 9). El incremento en el diámetro promedio confirma la funcionalización de las AgNP. Los valores de PDI relativamente altos se deben a que el control de tamaño de las AgNP es difícil en medios acuosos, por lo que es conveniente utilizar compuestos con coeficientes de viscosidad alta, como el glicerol, para reducir la dispersión de tamaños (Alarcon y Griffith, 2015).

Cabe destacar que el estudio de DLS dio un valor aproximado del diámetro de las AgNP analizadas, debido a que la medición se basa en la dispersión de un haz de luz a través de la solución. Sin embargo, para obtener el diámetro con mayor exactitud de las AgNP desnudas y funcionalizadas se utilizó un microscopio electrónico de transmisión (TEM). En la Foto 4, se puede visualizar que el tamaño de las AgNP desnudas varió entre 5 a 12 nm, aproximadamente, mientras que para las AgNP funcionalizadas (Foto 5), se observan tamaños entre 27 a 45 nm, lo cual confirma la funcionalización de las mismas.

El examen microbiológico se realizó en el Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos (LAFYM), según metodología de la USP, capítulo <61> “Examen microbiológico de productos no estériles: Pruebas de recuento microbiano” y capítulo <62> “Examen microbiológico de productos no estériles: Pruebas de microorganismos específicos”. Los microorganismos analizados fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Cándida albicans* ATCC 20231,

Salmonella enteritidis ATCC 13076. Se puede observar en la Tabla 10, que para todas las cepas hubo crecimiento, por lo que las AgNP, a pesar de su posible actividad biocida, no fueron capaces de inhibir el crecimiento de los microorganismos evaluados. Esto pudo deberse a que en la funcionalización de las AgNP con ácido anacárdico mediante la formación de sales de diazonio, el ácido haya sufrido alguna modificación en su estructura de tal manera que éste perdiera su propiedad biocida.

11. CONCLUSIONES

1. Se comprobó que se pueden generar AgNP con citrato de sodio y NaBH_4 como agentes reductores, requiriendo el citrato de sodio condiciones de reacción más fuertes para que se lleve a cabo la reacción redox.
2. Se obtuvo AgNP de menor tamaño utilizando NaBH_4 como agente reductor, presentando un máximo de absorbancia en 390 nm, mientras que las AgNP formadas con citrato de sodio mostraron un corrimiento hacia rojo en el espectro.
3. Se determinó que el tiempo de vida de las AgNP formadas fue de 30 días, presentando deformación en los espectros UV-visibles causado posiblemente por descomposición o aglomerado de las AgNP.
4. Se observó cambios significativos en los espectros UV-Visibles obtenidos de AgNP funcionalizadas con sal de diazonio y ácido anacárdico, en comparación con AgNP desnudas, lo que dio indicios a que la funcionalización fue efectiva.
5. Se obtuvo el índice de polidispersidad (PDI) de AgNP desnudas y funcionalizadas, mediante DLS, obteniendo para las desnudas un PDI de 0.70, con un diámetro promedio de 25.1 nm, mientras que para las

funcionalizadas el PDI fue de 0.53, con un diámetro promedio de 72.15 nm., confirmando así la funcionalización de las mismas

6. Se obtuvo un diámetro promedio de $8 \text{ nm} \pm 4 \text{ nm}$ para las AgNP desnudas y un diámetro promedio de $36 \text{ nm} \pm 9 \text{ nm}$ para las AgNP funcionalizadas, mediante un microscopio electrónico de transmisión.
7. Se evaluó el poder bactericida de las AgNP funcionalizadas con ácido anacárdico ante *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *C. albicans* ATCC 20231, *S. enteritidis* ATCC 13076, observándose crecimiento bacteriano en todos los casos, por lo que las AgNP funcionalizadas no presentaron potenciales propiedades biocida ante los microorganismos evaluados.

12. RECOMENDACIONES

1. Evaluar la eficiencia de diferentes agentes reductores en la síntesis de AgNP, modificando pH, temperatura y tiempo de reacción para la obtención de AgNP de diferentes tamaños.
2. Utilizar compuestos con coeficientes de viscosidad alta en el medio de reacción, como el glicerol, para reducir la dispersión de tamaños en la síntesis de AgNP.
3. Llevar a cabo la funcionalización de AgNP utilizando otros compuestos que tenga la capacidad de mejorar la actividad bactericida.

13. REFERENCIAS

- Alarcon, E. I., & Griffith, M. (2015). Silver Nanoparticle Applications In the Fabrication and Design of Medical and Biosensing Devices. Ottawa. DOI: 10.1007/978-3-319-11262-6.
- Ashraf, S. M., & Rathinasamy, K. (2017). Antibacterial and anticancer activity of the purified cashew nut shell liquid: implications in cancer chemotherapy and wound healing. *Natural Product Research*, 1478-6419. DOI: 10.1080/14786419.2017.1380022.
- Bastos, F. & Tubino, M. (2017). The use of the liquid from Cashew Nut Shells as an Antioxidant in Biodiesel. *Chemical Society*, 28(5), 747-755. DOI: 10.21577/0103-5053.20160223
- Buszewskia, B., Rafinska, K., Pomastowski, P., Walczak, J., & Rogowska, A. (2016). Novel aspects of silver nanoparticles functionalization. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 170–178. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2016.05.058.
- Caruso, F., Hyeon, T., & Rotello, V. (2012). Surface functionalization of nanoparticles. *Chemical Society Reviews*, (41), 2539–2544. DOI: 10.1039/c2cs15294k.
- Dosoky, R., Kotb, S., & Farghali, M. (2015). Efficiency of silver nanoparticles against bacterial contaminants isolated from surface and ground water in Egypt. *Journal Advanced Veterinary and Animal Research*, 2(2), 1-10. DOI: 10.5455/javar.2015.b79.
- Ducry, L., & Roberge, D. M. (2005). Controlled Autocatalytic Nitration of Phenol in a Microreactor. *Angewandte Chemie*, 117, 8186–8189. DOI: 10.1002/ange.200502387.
- Fan, M., Gong, L., Huang, Y., Wang, D., & Gong, Z. (2017). Facile preparation of silver nanoparticle decorated chitosan cryogels for point-of-use- water disinfection. *Science of the Total Environment*, 1317-1323. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.256.
- United States Pharmacopeial Convention. (2014). Farmacopea de los Estados

- Unidos de América (2014), Edición 37.
- Gehan, H., Fillaud, L., Felidj, N., Aubard, J., Lang, P., & Chehimi, M. &. (2010). A General Approach Combining Diazonium Salts and Click Chemistries for Gold Surface Functionalization by Nanoparticle Assemblies. *Langmuir*, 26(6), 3975–3980. DOI: 10.1021/la9033436.
- George, C., Kuriakose, S., Prakashkumar, B., & Mathew, T. (2010). Synthesis, characterisation and antibacterial applications of water-soluble, silver nanoparticle-encapsulated β -cyclodextrin. *Supramolecular Chemistry*, 22(9), 511-516. DOI: 10.1080/10610278.2010.487565.
- Hu, T., & Baxendale, I. R. (2016). Exploring Flow Procedures for Diazonium Formation. *Molecules*, 1-23. DOI: 10.3390/molecules21070918.
- Kumar, P. P., Paramashivappa, R., Vithayathil, P. J., & Subba Rao, P. V. (2002). Process for Isolation of Cardanol from Technical Cashew (*Anacardium occidentale L.*) Nut Shell Liquid. *Journal of agricultural and food chemistry*, (50), 4705-4708. DOI: 10.1021/jf020224w.
- Lagoviyer, O. S., Krishtopa, L., Schoenitz, M., Trivedi, N. J., & Dreizin, E. L. (2017). Mechanochemical Nitration of Aromatic Compounds. *Journal of Energetic Materials*, 1–11. DOI: 10.1080/07370652.2017.1343407.
- Loftsson, T., Másson, M., & Brewster, M. E. (2004). Self-association of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Loftsson, T., Másson, M., & Brewster, M. E. 93(5), 1091–1099. DOI: 10.1002/jps.20047.
- Martínez-Castañón, G. A., Niño-Martínez, N., Martínez-Gutierrez, F., Martínez-Mendoza, J. R., & Ruiz, F. (2008). Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, (10), 1343-1348.
- Mavani, K. &. (2013). Synthesis of Silver Nanoparticles by using Sodium Borohydride as a Reducing Agent . *International Journal of Engineering Research & Technology (IJERT)*, (2), 1-6.
- Mo, F., Dong, G., Zhang, Y., & Wang, J. (2013). Recent applications of arene diazonium salts in organic synthesis. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 11(10), 1582–1593. DOI: 10.1039/C3OB27366K.

- Mout, R., Moyano, D. F., & Rana, S. &. (2012). Surface functionalization of nanoparticles for nanomedicine. *Chemical Society Reviews*, (41) 2539–2544. DOI: 10.1039/c2cs15294k.
- Nzekwe, I. T., Agubata, C. O., Umeyor, C. E., & Okoye, I. E. (2016). Synthesis of Silver Nanoparticles by Sodium Borohydride Reduction Method: Optimization of Conditions for High Anti-staphylococcal Activity. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 14 (5), 1-9. DOI: 10.9734/BJPR/2016/30324.
- OPS/OMS. (2017). PAHO. Obtenido de http://www.paho.org/gut/index.php?option=com_content&view=article&id=789:agua-y-saneamiento&Itemid=405
- Pereva, S., Sarafska, T., & Bogdanova, S. &. (2016). Efficiency of “Cyclodextrin-ibuprofen” inclusion complex formation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 1-27. DOI: 10.1016/j.jddst.2016.04.006.
- Pinson, J., & Fetah, P. (2005). Attachment of organic layers to conductive or semiconductive surfaces by reduction of diazonium salts. *Chemical Society Reviews*, (30), 429–439. DOI: 10.1039/b406228k.
- Quelemes, P. V., Araruna, F. B., de Faria, B. E., Kuckelhaus, S. A., da Silva, D. A., Mendonça, R. Z., . . . Leite, J. R. (2013). Development and Antibacterial Activity of Cashew Gum-Based. *International Journal of Molecular Sciences*, (14), 4969-4981. DOI: 10.3390/ijms14034969.
- Rekharsky, M. V., & Inoue, Y. (1998). Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins. *Chemical Reviews*, 98(5), 1875–1918. DOI: 10.1021/cr970015o.
- Sharma, V. K. (2013). Stability and Toxicity of Silver Nanoparticles in Aquatic Environment: A Review. *In Sustainable Nanotechnology and the Environment: Advances and Achievements*, 165-169. DOI: 10.1021/bk-2013-1124.ch010.
- Solomon, S. D., Bahadory, M., Jeyarajasingam, A. V., & Rutkowsky, S. A. (2007). Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. *Journal of Chemical Education*, 84(2), 322-325. .

- Sondi, I., & Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*, 177–182. DOI: 10.1016/j.jcis.2004.02.012.
- Valkenier, H., Malyskyi, V., Blond, P., Retout, M., Mattiuzzi, A., Goole, J., . . . Jabin, I. &. (2017). Controlled Functionalisation of Gold Nanoparticles with Mixtures of Calix[4]arenes revealed by Infra-red Spectroscopy. *Langmuir*, 1-17. DOI: 10.1021/acs.langmuir.7b02140.
- Yuliana, M., Nguyen-Thi, B. T., Faika, S., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., & Ju, Y. (2014). Separation and purification of cardol, cardanol and anacardic acid from cashew (*Anacardium occidentale L.*) nut-shell liquid using a simple two-step column chromatography. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2187–2193. DOI: 10.1016/j.jtice.2014.07.012.



María Celeste Pelayes Guillen
Autor



M.A. Diana Elizabeth Pinagel Cifuentes
Asesor



M.A. Diana Elizabeth Pinagel Cifuentes
Coordinador



Lic. Bessie Evelyn Oliva Hernández
Directora de Escuela



Dr. Juan Francisco Pérez Sabino
Decano en Funciones