

## Síntesis de nanopartículas de plata preparadas con extracto de *Pimpinella anisum*

Meléndez Balbuena Lidia\*, Hernández Girón José Martín, Ruiz Tagle Alejandro Cesar,  
Arroyo Carranza Maribel, Soto López Ismael

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Facultad de Ciencias Químicas. Avenida San Claudio y 18 sur, Colonia San Manuel, Ciudad Universitaria. Puebla, Pue. C.P. 75570. México.

\*Autor para correspondencia: lmbalbuena@hotmail.com

ORCID : 0000-0002-4664-5221

**Recibido:**  
18/mayo/2022

**Aceptado:**  
10/diciembre/2022

**Palabras clave:**  
Nanopartículas,  
vegetales,  
plata

**Keywords:**  
Nanoparticles,  
vegetables,  
silver

### RESUMEN

En este trabajo se presentan los resultados de la síntesis de nanopartículas de plata utilizando como agente reductor el extracto de *Pimpinella anisum*. Las nanopartículas de plata preparadas por este método fueron caracterizadas utilizando la espectroscópica de UV-visible, técnica basada en la identificación de la presencia de la banda de absorbancia en la región visible entre los 400 nm (banda del plasmón de resonancia), característica de las nanopartículas de plata. Y del escaneo de las muestras por medio de Microscopía de Fuerza Atómica AFM (*atomic force microscopy*), técnica que proporcionó información acerca de la distribución, tamaño y forma de las nanopartículas de plata. Las nanopartículas preparadas mostraron una forma esférica con característica de polidispersas. Ya preparadas las nanopartículas de plata AgNPs se realizaron pruebas como antimicrobiano con empaques de frutas.

### ABSTRACT

In this work, the results of the synthesis of silver nanoparticles using *Pimpinella anisum* extract as reducing agent are presented. The silver nanoparticles prepared by this method were characterized using UV-visible spectroscopy, a technique based on the identification of the presence of the absorbance band in the visible region between 400 nm (plasmon resonance band), characteristic of the silver nanoparticles. And through the scanning of the samples by means of Atomic Force Microscopy AFM (*atomic force microscopy*), a technique that provided information about the distribution, size and shape of the silver nanoparticles. The prepared nanoparticles showed a spherical shape with a polydisperse characteristic. Once the AgNPs silver nanoparticles were prepared, tests were carried out as antimicrobial with fruit packaging.

## Introducción

El trabajo de investigación se encuentra enmarcado dentro de la nanotecnología, ciencia que se ha desarrollado vertiginosamente en los últimos años. Ello debido a que describe la creación de materiales en el rango manométrico entre 1 a 100 nm. Dentro de esta área se encuentran nanoestructuras metálicas como es el caso de la plata, que en forma de nanopartículas presentan propiedades muy interesantes como elevada conductividad eléctrica, propiedades magnéticas, ópticas y microbiológicas, que las hacen candidatas a innumerables aplicaciones en diversos campos de la tecnología y la medicina (Aguilar y Zanella, 2017). Así como en el desarrollo de empaques antimicrobianos debido al potencial para proveer calidad y seguridad alimentaria, evitando el crecimiento de microorganismos en la superficie de los alimentos y por lo tanto mantener la calidad de los productos alimenticios por mucho más tiempo (Duncan, 2011). Las nanopartículas de plata AgNPs han sido sintetizadas utilizando diversos métodos químicos y físicos, involucrando el uso de agentes reductores de origen sintético que muchas veces generan residuos tóxicos para el ambiente además de su alto costo (Burda et al., 2005). Debido a esto y al amplio campo de aplicación de las nanopartículas de plata AgNPs existe creciente interés en desarrollar procesos de síntesis amigables con el ambiente que eviten el uso de productos químicos tóxicos, por lo que en los últimos años ha tomado importancia la síntesis biológica que utiliza como agentes reductores hongos bacterias y extractos vegetales, siendo estos últimos los extractos vegetales acuosos una opción promisoriosa dado que contienen entre sus componentes agentes reductores como los polifenoles con potenciales de reducción bajo y estabilizadores aptos para la síntesis de las nanopartículas (Han et al., (2012; Mittal et al., 2013). Con la finalidad de contribuir en una química más limpia en la preparación de nanopartículas de plata, en este trabajo se describe la síntesis eco-amigable de nanopartículas de plata AgNPs a partir de una solución de nitrato de plata  $\text{AgNO}_3$  preparada en una concentración de  $10^{-3}\text{M}$  y utilizando como agente reductor de la plata un extracto acuoso obtenido a partir de las semillas de la planta *Pimpinella anisum* a pH 5, 7 y 8. La elección de esta planta fue motivada por su disponibilidad en el mercado y debido a que estudios realizados sobre su composición química documentan que se encuentran sustancias que están constituidas por anillos fenólicos como componentes principales, por referencias bibliográficas se conoce que tiene muchas propiedades beneficiosas en las que se encuentra su propiedad antioxidante. Dentro de la composición química que posee la semilla de la *Pimpinella anisum*, se encuentra compuestos aromáticos

como el linalol, el terpinoleno, la feniculina y eugenol este último que ejerce una acción como agente insecticida, con el cual la planta se defiende de posibles depredadores (Oriela et al., 2012).

## Metodología

Los reactivos químicos usados y sus concentraciones para preparación de las nanopartículas de AgNPs fueron: nitrato de plata  $\text{AgNO}_3$   $1 \times 10^{-3}\text{M}$  (Sigma-Aldrich), agua desionizada ( $18\text{M}\Omega\text{cm}^{-1}$ ), semilla trituradas *Pimpinella anisum*. Para el ajuste de pH a 5, 7 y 8 una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.5 M (J. T. Baker).

### Preparación del extracto acuoso de *Pimpinella anisum*

Se utilizaron semilla secas y trituradas de *Pimpinella anisum*, se procedió con la preparación del extracto acuoso mediante una metodología tradicional denominada infusión que consiste en una simple extracción sólido-líquido. A 1.0 g del material molido se puso en contacto con 100 mL de agua desionizada a  $80^\circ\text{C}$  hasta obtener un volumen de 70 mL, y posteriormente se procedió a realizar el filtrado.

### Síntesis de las nanopartículas de plata AgNPs

La síntesis de AgNPs se llevó a cabo a temperatura ambiente, a través de la reducción de iones plata  $\text{Ag}^{1+}$  a plata  $\text{Ag}^0$  por parte del extracto acuoso de semilla trituradas de *Pimpinella anisum*.

Se prepararon diluciones de 30 mL del extracto acuoso de la semilla trituradas *Pimpinella anisum*, utilizando 0.5 mL del extracto obtenido de la infusión con 29.5 mL de agua. Para el ajuste de pH = 5, 7 y 8 se adicionó a la disolución del extracto gotas de una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) (J. T. Baker) 0.5 M hasta ajustar el valor deseado de pH.

A las soluciones preparada de 30 mL conteniendo el extracto acuoso de *Pimpinella anisum* a pH = 5, 7 y 8, se les adicionó lentamente y en agitación constante 10 mL de solución de nitrato de plata  $\text{AgNO}_3$   $1 \times 10^{-3}\text{M}$ , mostrando casi de manera inmediata un cambio de color a amarillo ámbar.

### Caracterización de las nanopartículas de AgNPs

Ya preparadas las nanopartículas de plata AgNPs su caracterización se llevó a cabo por espectroscopia UV-Visible (Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 35), técnica utilizada para la caracterización de las propiedades ópticas de las nanopartículas ya que permite observar las bandas de plasmones de superficie característica de las AgNPs y evaluar su estabilidad, forma y tamaño.

Para confirmar el tamaño y distribución de las nanopartículas AgNPs obtenidas se realizaron estudios de las muestras por Microscopía de Fuerza atómica AFM (Equipo JSPM-5200). El estudio topográfico realizado a las muestras permitió a partir de imágenes determinar la presencia de las nanopartículas en forma de agregados, así como su morfología y sus intervalos de distribución de tamaño.

## Resultados y discusión

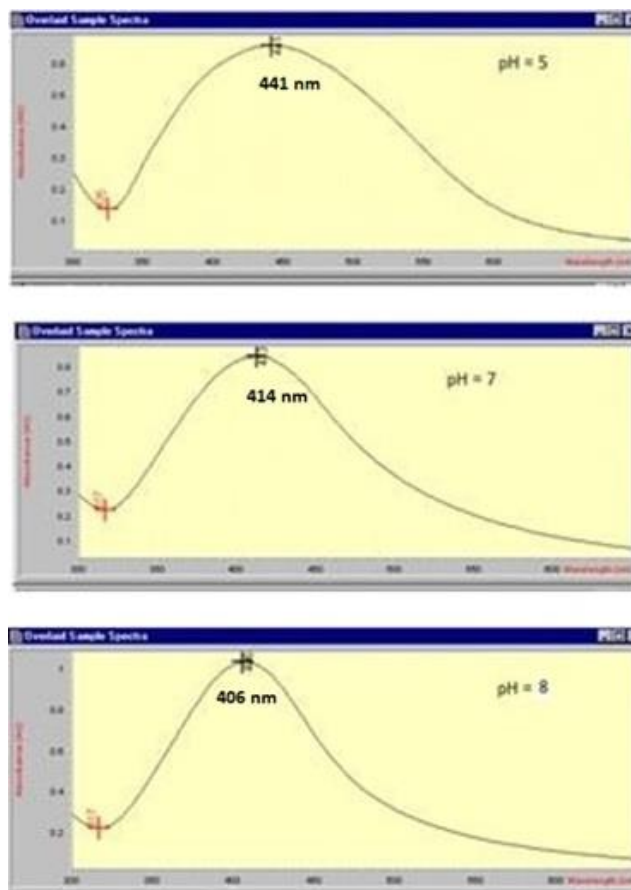
La formación de las nanopartículas de plata AgNPs se detectó inicialmente por el cambio de color de la disolución. La disolución acuosa de la plata  $\text{AgNO}_3$   $1 \times 10^{-3}$  M después de entrar en contacto con el extracto vegetal de *Pimpinella anisum* a diferentes pHs mostró de manera inmediata coloración amarilla ámbar, característica de las nanopartículas de plata, la cual refiere a la formación de nanopartículas de plata (Cruz et al., 2012). Esta coloración se presenta pocos minutos después de haber agregado la sal de nitrato de plata al extracto acuoso. En la figura 1, se aprecia la imagen del color de la solución de las nanopartículas de plata obtenidas a diferentes pHs.



**Figura 1.** Disoluciones coloidales de las nanopartículas de plata a pH=5, pH= 7 y pH = 8

La formación de nanopartículas de plata AgNPs a diferentes pH, 5, 7 y 8, se confirmó mediante espectroscopia UV-Visible, con la que fue posible observar el plasmón de resonancia, banda que es considerada como evidencia de la formación de las nanopartículas y que para el caso de las nanopartículas de plata aparece alrededor de los 350 y 450 nm (Murray y Barnes, 2007).

En la figura 2, se muestran las gráficas de los barridos espectrales por espectroscopia UV-Visible, se observan las bandas del plasmón, aparecen alrededor de los 350 y 400 nm en todos los casos debido a las oscilaciones de la densidad de la atmósfera de electrones libres existente en la superficie de las AgNPs obtenidas (plasmones), tal y como ha sido reportado en otros procesos de síntesis de nanopartículas de plata (Murray y Barnes, 2007).



**Figura 2.** Espectros de UV-Visible de las disoluciones de nanopartículas de plata obtenidas a pH = 5, pH = 7 y pH = 8 con el extracto de *Pimpinella anisum*.

En los tres casos la banda de plasmón es de un solo hombro por lo que se puede predecir que las nanopartículas formadas en todos los casos son de forma esféricas (Sosa et al., 2003). Por otra parte, la posición de la banda en el espectro del UV-Visible proporciona información indirecta con respecto al tamaño de las nanopartículas, para las nanopartículas de AgNPs preparadas a un pH = 5 se aprecia una banda de plasmón ancha a los 441 nm de longitud de onda, dando indicios que la solución de nanopartículas es polidispersa con tamaños determinados en forma indirecta según espectros reportados en la literatura alrededor de 50 nm. Las AgNPs preparadas a pH = 7 la banda de plasmón es más angosta, se infiere que disminuye la polidispersidad, y el pico de absorbancia aparece a longitudes de onda a 414 nm como consecuencia de un tamaño de nanopartículas menor, inferido de forma indirecta alrededor de 40 nm, y para las nanopartículas preparadas a pH = 8 la banda de absorbancia plasmón, aparece a una longitud de onda de 406 nm a una longitud de onda menor que en los caso pH = 5 y pH = 7, y es aún más angosta, dando evidencia de la presencia de

nanopartículas de menor tamaño y menos polidispersidad de las nanopartículas de plata AgNPs, con tamaños de alrededor de 30 nm (Ibarra, 2014; Gutierrez, 2008).

Por otro lado, se puede apreciar que los espectros revelan información sobre el efecto de pH en la formación y tamaño de las nanopartículas de plata, se aprecia que a mayor pH se obtienen nanopartículas esféricas de plata de menor tamaño y la polidispersidad disminuye (Majles et al., 2009). En la tabla 1, se presentan resultados relacionados al análisis de los espectros de UV-Visible.

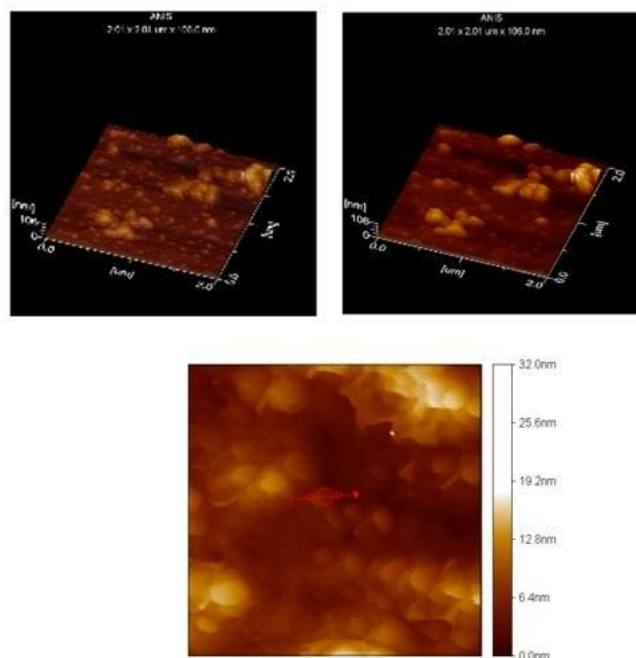
**Tabla 1.** Sumario de resultados del análisis de los espectros de UV-Vis.

| Soluciones de AgNPs preparadas con <i>Pimpinella anisum</i> a diferentes pH. | Longitud de onda correspondiente al pico del plasmón en nm. | Forma    |
|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------|
| pH = 5                                                                       | 441                                                         | Esférica |
| pH = 7                                                                       | 414                                                         | Esférica |
| pH = 8                                                                       | 406                                                         | Esférica |

### Caracterización de las nanopartículas de AgNPs por Microscopía de Fuerza Atómica

Las nanopartículas de plata preparadas utilizando el extracto acuoso de *Pimpinella anisum* fueron estudiadas por Microscopía de Fuerza Atómica (Oncins y Díaz, 2014), en el equipo (Equipo Jeol-JSPM-5200). El análisis de las fotografías obtenidas de este estudio permitió determinar y confirmar su forma y tamaño. Se observa su presencia en forma de agregados, así como los intervalos de distribución y fue posible medir el tamaño de algunas de ellas.

La figura 3 muestra las micrografías del escaneo realizado a la muestra de nanopartículas de plata obtenidas con el extracto acuoso de *Pimpinella anisum* a pH = 8, se observa la imagen AFM topográfica a diferentes escaneos (2.01 x 2.01 nm x 100 nm), (2.01 nm x 2.01 nm x 105.0 nm) y (1.01 nm x 1.01 nm x 100.5 nm) en modo “shaded” de las nanopartículas de plata obtenidas, se aprecia conglomerados irregulares de nanopartículas de plata del orden de 250 nm, 300 nm y 350 nm aproximadamente, en la imagen se observa que los conglomerados están formados por nanopartículas de diferentes tamaños y de morfología semiesféricas. En el resto de la superficie se aprecian distribuidas de manera dispersa partículas nanométricas con forma esférica con tamaño alrededor de 60 y 58 nm.

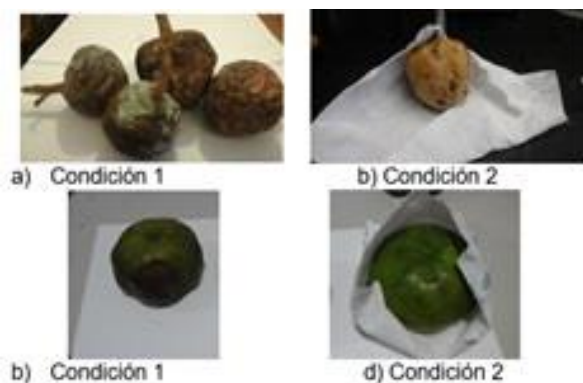


**Figura 3.** Imagen AFM topográfica a diferentes escaneos de las nanopartículas de plata preparadas con extracto de *Pimpinella anisum* pH = 8.

Se aprecian zonas donde con menor cantidad de agregados de nanopartículas AgNPs de menor tamaño. Del estudio de las imágenes se observa que las nanopartículas de plata preparadas por este método son de morfología esférica confirmando lo predicho a partir de la forma de la banda de plasmón. El análisis del escaneo reveló que la disolución de nanopartículas de plata preparada a pH = 8 mostraron dispersión es decir son de diferente tamaño.

### Prueba de las AgNPs como bactericidas

Con la finalidad de estudiar y determinar si las nanopartículas de plata preparadas por este método presentan propiedades como bactericida, se realizó un ensayo con los frutos de anona y zapote negro, frutos que se cosecharon en la comunidad de Chietla, Puebla. Se generaron 2 condiciones de ensayo a temperatura ambiente: Condición 1: frutos expuestos al ambiente sin ninguna protección sin ningún tipo de tratamiento (blanco de ensayo). Condición 2: frutos envueltos en un lienzo de papel tratado con nanopartículas de plata AgNPs aplicadas en forma de spray. Los frutos de anona y zapote negro se mantuvieron en observación por 15 días. La figura 4 muestra los resultados de las dos condiciones de trabajo.



**Figura 4.** Frutos tratados con las nanopartículas de plata.

Después de este tiempo, 15 días, se observó que el fruto de anona y zapote negro expuesto al ambiente condición 1, presentaba en su superficie evidencias de la presencia de microbios y los frutos protegidos con la envoltura impregnada por las nanopartículas de plata AgNPs, condición 2 permanecieron sin evidencias de la formación de microbios, lo que se considera como evidencia de su efectividad como bactericidas de las nanopartículas de plata preparadas con el extracto de *Pimpinella anisum*. Es importante mencionar que se requiere realizar más estudios para corroborar su efectividad como bactericidas y puedan ser utilizadas en los empaques utilizadas para preservar en buen estado los frutos.

## Conclusiones

Según los resultados obtenidos se puede concluir que se logró sintetizar nanopartículas de plata AgNPs a través de un método amigable para el ambiente utilizando como agente reductor de la plata iónica a plata metálica el extracto acuoso de *Pimpinella anisum*.

El análisis por el UV-Visible, permitió corroborar la formación de nanopartículas de plata AgNPs mediante la respuesta de absorción de las soluciones de AgNPs a través de la aparición del plasmón de resonancia en la región del espectro entre 350 y 450 nm, los espectros revelan información sobre el efecto de pH en la formación y tamaño de las nanopartículas de plata, se aprecia que a mayor pH se obtienen nanopartículas de plata de menor tamaño y la polidispersidad disminuye. El estudio topográfico realizado a las soluciones de nanopartículas de plata AgNPs por Microscopia de Fuerza atómica (AFM) permitió a partir de imágenes obtenidas determinar la presencia de las nanopartículas en forma de agregados de diferente tamaño dependiente del pH con el que se trabajó, así como su morfología y sus intervalos de distribución de tamaño, comprobando que tiene como característica que son polidispersas.

Se comprobó la actividad bactericida de las nanopartículas de plata usando como soporte papel impregnado de nanopartículas de plata para la protección del fruto anona y zapote negro. Se considera realizar más estudios sobre sus propiedades como bactericidas y fungicidas para comprobar su efectividad.

## Referencias

- Aguilar, T. A y Zanella, R. (2017). Las nanopartículas bimetalicas y algunas de sus aplicaciones. *Mundo nano*, vol.10 no.19.
- Burda, C., Chen, X., Narayanan, R., Mostafa, A. (2005). Chemistry and Properties of Nanocrystals of Different Shapes. *Chem. Rev.*, 105, 1025–1102.
- Cruz D. A., Rodríguez, M., López, J & Herrera, V. (2012) Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: una relación profunda. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 3(2), 67-78.
- Duncan Timothy V. (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science*, 363 1–24.
- Gutiérrez, A. R. (2008) Relación entre los espectros UV-Vis y el tamaño y morfología de nanopartículas de oro y plata caso de estudio. (Trabajo de especialidad, Centro de Investigación en Química Aplicada, Saltillo Coahuila).
- Han R. M., Zhang, J.P. y Skibsted, L. H. (2012) "Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids as Antioxidants". *Molecules*, 17: 2140-2160.
- Ibarra Hurtado J. M. (2014). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por el método de reducción química: optimización del método. (Tesis de Maestría, Centro de Investigación en Materiales Avanzados, Departamento de Estudios de Posgrado. Chihuahua).
- Majles, M., Dehghani, Z., Sahraei, R and Nabiyouni, G. (2009). Non-linear optical properties of silver nanoparticles prepared by hydrogen reduction method". *Elsevier optics communications*, 283: 1650-1653.
- Mittal A.K., y Chisti, Y., Banerjee, U.C. (2013). "Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts". *Biotechnology Advances*, 31, 346–356.
- Murray W. A & W. L. Barnes, W. L. (2007). "Plasmonic materials". *Adv. Mater.*, 19, 3771-3782.
- Oriela P., Yaíma, S., Abreul, R.M., Teresa, M. & Correal, T. M. (2012) Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Pimpinella anisum*". *L. Rev. Protección Veg.*, 27(3), 181-187.
- Sosa, I. O., Noguez†, C and Barrera R. G. (2003). Optical properties of metal nanoparticles with arbitrary Shapes. *J. Phys. Chem. B*, 107, 26, 6269–6275.
- Oncins, G & Díaz, J. (2014). La microscopia de Fuerzas Atómicas. Obtenido de Research Gate: <https://www.researchgate.net/publication/271133769>.