

## Síntesis de nanopartículas de plata usando como agente reductor extracto de epazote: Efecto antimicrobial en el fruto del annono

Meléndez Balbuena Lidia\*, Torres Mentado Dulce María, Soto López Ismael, López Olivares Guadalupe, Castro Lino Alejandra

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Química Inorgánica. Edificio 105 Av. San Claudio y 18 Sur Col. Sn Manuel, Puebla, Pue. C.P. 7200. México.

\*Autor para correspondencia: lmbalbuena@hotmail.com

### Recibido:

31/mayo/2016

### Aceptado:

05/agosto/2016

### Palabras clave

Nanopartículas, plata, fruto

### Keywords

Nanoparticles, silver, fruits

### RESUMEN

La preservación de frutas y hortalizas desde su cosecha hasta su comercialización es importante tanto sanitariamente, como comercialmente. Se reportan los resultados de un ensayo de exposición del fruto annona durante 25 días a temperatura ambiente mediante dos alternativas: a) la annona con envoltura impregnada con nanopartículas de plata obtenidas a partir de nitrato de plata y extracto de epazote y b) la annona sin ninguna protección. Se evaluó mediante seguimiento diario. Al finalizar la experiencia, las muestras fueron abiertas para evaluar visualmente el avance del deterioro desde la cáscara hacia el corazón de la fruta. Los mejores resultados se obtuvieron con el tratamiento de la envoltura con las nanopartículas. La annona sin envoltura con nanopartículas, como era de esperar, mostró el mayor grado de deterioro. Se probó su actividad antimicrobiana de las nanopartículas con el fruto de nombre annona, que se cultivan, específicamente en el municipio de Chietla, Puebla.

### ABSTRACT

The preservation of fruits and vegetables from harvest to commercialization is important both sanitary, and commercially. the results of a test exposure result Annona reported for 25 days at room temperature by two alternatives: a) the Annona enveloped with silver nanoparticles obtained from silver nitrate and extract wormseed b) the Annona unprotected. It was assessed by daily monitoring. After the experience, the samples were opened to visually evaluate the progress of deterioration from the skin to the heart of the fruit. The best results were obtained with the treatment of the wrapper with the nanoparticles. The annona nonenveloped with nanoparticles, as expected, showed the highest degree of impairment. antimicrobial activity of the nanoparticles was tested with the fruit of Annona name, grown, specifically in the municipality of Chietla, Puebla.

## Introducción

Uno de los mayores logros de la nanotecnología ha sido la producción de nanomateriales metálicos como es el caso de nanopartículas de plata, que han sido sintetizadas utilizando diversos métodos químicos, que han sido ampliamente utilizados, involucrando el uso de agentes reductores de origen sintético (Rodolfo, 2012). Una propiedad importante de las nanopartículas de plata es su capacidad antimicrobiana. Esta propiedad está relacionada con la cantidad de plata disponible en un sustrato o soporte y con su velocidad de liberación al medio circundante. La plata en su estado metálico ( $\text{Ag}^0$ ) es inerte, pero reacciona con la humedad, ionizándose. La plata ionizada ( $\text{Ag}^+$ ) es altamente reactiva, ya que puede unirse a proteínas de los tejidos biológicos, puede también provocar cambios estructurales en la membrana celular y en la pared celular de las bacterias, generando la distorsión celular y la muerte. La plata también se une al ADN y ARN bacteriano desnaturalizándolo e inhibiendo la replicación bacteriana (Irwin et al., 2010; Shirley y Sreedhar, 2010). Una de las aplicaciones que cada vez cobra importancia es en 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).

Debido al amplio campo de aplicación de las nanopartículas de plata existe un creciente interés en desarrollar procesos de síntesis amigables con el ambiente que eviten el uso de productos químicos tóxicos, siendo los extractos vegetales acuosos una opción promisoriosa dado que contienen entre sus componentes agentes reductores y estabilizadores aptos para la síntesis de las nanopartículas. Por todo lo anterior en éste trabajo se describe la síntesis eco-amigable de nanopartículas de plata a partir de una solución de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) preparado en concentraciones de  $10^{-3}$  M, utilizando como agente reductor de la plata un extracto natural obtenido a partir de las hojas del epazote (*Chenopodium ambrosioides*). Al mismo tiempo se presentan los resultados obtenidos a la fecha de las pruebas como bactericida utilizando el fruto del anón, que se cultiva en el sureste del país, específicamente en el municipio de Chietla, Puebla, y presenta como problemática la enfermedad de la antracnosis originada por el hongo *Colletotrichum* sp (Indira et al., 2009). La antracnosis causa una pudrición negra en los frutos y ataca en todas las etapas de su desarrollo, principalmente en los tejidos tiernos. Los frutos se momifican y caen.

## Metodología

### Extracto vegetal

Se usaron las hojas de la planta epazote, rico en ascaridol. La extracción del solvente natural se hizo de la siguiente manera: Selección y lavado de las hojas, reducción de tamaño utilizando un mortero, se procedió con la extracción de los mismos mediante una metodología tradicional denominada infusión que consiste en una simple extracción sólido líquido. Se tomaron 20 g del material vegetal molido y se pusieron en contacto con 200 mL de agua destilada a 80 °C durante 3 minutos, luego se procedió con el filtrado con papel de poro fino. Por último, se preservó cada uno de los extractos en frascos de color caramelo en heladera hasta su uso.

### Síntesis de las nanopartículas

Los extractos obtenidos se utilizaron para sintetizar las nanopartículas partiendo de una solución acuosa  $10^{-3}$  M de  $\text{AgNO}_3$ . La síntesis se realizó mezclando 20 mL del extracto y 180 mL de la solución de  $\text{AgNO}_3$  en un recipiente con agitación constante. Se trabajó a temperatura ambiente (26 °C) y a temperatura regulada en 60 °C. Se reguló el pH a un valor de 8 empleando solución de  $\text{NH}_4\text{OH}$  y los productos obtenidos fueron conservados en heladera hasta su utilización.

### Caracterización de las nanopartículas

Las Nps fueron caracterizadas mediante espectrofotometría UV-Vis, técnica que ha probado ser muy útil para el análisis rápido de las soluciones coloidales de las Nps. Se basa en que la reducción de los iones metálicos produce soluciones que en el caso de la plata tienen un color amarillento con una banda intensa entre 400-450 nm atribuida a la excitación colectiva de los electrones en la superficie de las partículas (absorción plasmónica superficial) (Cruz et al., 2012). Por tal motivo, se realizaron los espectros entre 350-600 nm de cada uno de los productos obtenidos, para determinar la estabilidad de los mismos se repitieron a lo largo del tiempo.

### Prueba como bactericida

Los ensayos se realizaron con anóns adquiridas de una huerta de Chietla Puebla. De esta manera se generaron 2 condiciones de ensayo: Condición 1: frutos expuestos al medio 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 aplicadas mediante espray.

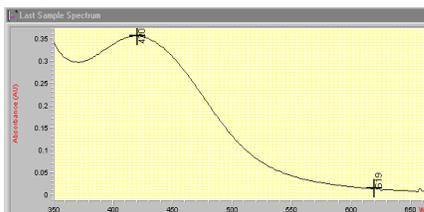
## Resultados y discusión

El color amarillo de la solución obtenida de la reacción de la solución de nitrato de plata con el extracto de epazote es característico de la presencia de nanopartículas de plata (Figura 1).



**Figura 1.** Solución de nanopartículas de plata obtenidas utilizando extracto de epazote.

Los espectros UV-Vis realizados con las soluciones obtenidas del extracto de epazote, se observa una banda entre 400-450 nm, confirmándose la obtención de la misma. En la Figura 2 se muestra el espectro de las Nps obtenidas como puede observarse en el espectro la banda es ancha, con un máximo de absorción a 437 nm. El ancho de las bandas indica una amplia distribución de tamaño de partículas.



**Figura 2.** Espectro Uv-Vis de las nanopartículas de plata.

La eficacia de la técnica de preservación del fruto annona se evalúa visualmente (aspecto exterior) y se registra fotográficamente a lo largo del período de ensayo. Cuando se da por terminada la experiencia, todas las muestras son abiertas por la mitad y se evalúa visualmente el avance del deterioro desde la cáscara hacia el corazón de la fruta. El ensayo se lleva a cabo durante 25 días, lapso muy superior a cualquier período lógico de exposición de este tipo de frutas en un comercio, ya que se busca extremar el stress ambiental para evaluar el comportamiento en condiciones lo más desfavorables posibles.

En la figura 3, se muestra la fotografía del fruto annona el primer día del tratamiento.



a) Fruto sin tratamiento.

b) Fruto envuelto en papel impregnado con las nanopartículas.



**Figura 3.** Fruto annona el primer día de observación.

Después de los 25 días, se observó que el fruto sin tratamiento un deterioro del fruto, se observan las manchas negras debida a la presencia del hongo *Colletotrichum*, responsable de la enfermedad antracnosis, así como un deterioro de la pulpa. Ver figura 4.



**Figura 4.** Fotografía del fruto annona sin tratamiento después de 25 días.

La figura 5 muestra el fruto envuelto con papel impregnado con las nanopartículas obtenidas utilizando el extracto de epazote como agente reductor, así como la pulpa del fruto.

Es evidente que la adición de nanopartículas de plata a la envoltura de papel provocó una disminución importante en el deterioro de la fruta, evitando el crecimiento del hongo.



**Figura 5.** Apariencia de la annona protegida con papel impregnado con nanopartículas de plata después de 25 días.



## Conclusiones

Utilizando extractos acuosos de cladodios epazote como agente reductor de los iones plata fue posible fabricar nanopartículas de plata. Mediante espectroscopia UV visible fue posible detectar la presencia del plasmon con absorción alrededor de 420 nm, característico de las nanopartículas de plata. Mostraron propiedades antimicrobianas, capaces de inhibir el hongo *Colletotrichum sp*, responsable de la enfermedad de la antracnosis que causa una pudrición negra en los frutos y ataca en todas las etapas de su desarrollo, principalmente en los tejidos tiernos. Los frutos se momifican y caen. Los mejores resultados, tanto en aspecto visual exterior como en preservación interior (porcentaje de pulpa si deterioro, de color claro) se obtienen con el tratamiento de la fruta envuelta en el papel impregnado de nanopartículas. El blanco de ensayo, como era de esperar muestra el mayor grado de deterioro observándose la presencia de manchas oscuras en la piel del fruto. Es importante mencionar que hay mucho aun que hacer en este trabajo, siendo estos avances un primer intento y especial mente usando nanoparticulas de plata sintetizadas a partir de extractos vegetales.

Sugerencia. Realizar estudios de citotoxicidad en células vegetales para comprender mejor las alteraciones y daños que provocan las nanopartículas de plata. Realizar estudios de Microscopía Electrónica de transmisión con la finalidad de caracterizar completamente las nanoparticulas obtenidas por esta técnica

## Referencias

- 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 T. (2011). "Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors" *Journal of colloid and Interface Science* 363:1-24.
- Irwin N., He G. (2010). "Antimicrobial activity of spherical silver nanoparticles prepared using a biocompatible macromolecular capping agent: evidence for induction of a greatly prolonged bacterial lag phase". *Journal of Nanobiotechnology*, 8: 34.
- Indira A., Franco Y., Johanna L., Dilcia C.P. y Yuleiska M. (2009). Evaluación de la antracnosis (*Colletotrichum sp.*) en guanábana (*Annona muricata* L.) tipo Gigante en el sector Moralito del estado Zulia, Venezuela. *Revista UDO A 148 grícola* 9 (1): 148-157.
- Rodolfo Z. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano*, 5: 1.
- Shirley D., Sreedhar D. (2010). "Antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized from novel *Streptomyces* species". *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 5. 2: 447 - 451.