



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

Fitosíntesis de nanopartículas de plata empleando
como agente reductor extracto de *Solanum
rostratum* D. (duraznillo)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO

PRESENTA:

OSCAR GONZÁLEZ ROMERO

ASESOR: Q.F.B. BRÍGIDA DEL CARMEN CAMACHO ENRÍQUEZ

COASESOR: DRA. FLORA ADRIANA GANEM RONDERO

COASESOR: DR. ENRIQUE SALAS TÉLLEZ

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

Fitosíntesis de nanopartículas de plata empleando como agente reductor extracto de *Solanum rostratum* D. (duraznillo).

Que presenta el pasante: **Oscar González Romero**
Con número de cuenta: **412018877** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en Química**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 09 de abril de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano	
VOCAL	Dra. Yolanda Marina Vargas Rodríguez	
SECRETARIO	Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enríquez	
1er. SUPLENTE	Dr. Benjamín Velasco Bejarano	
2do. SUPLENTE	Q. Karla Paola Hernández Pérez	

NOTA: los sindocales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/javg



Agradecimientos

Agradezco a Dios, San Judas Tadeo y hermanitos por sus inmensas bendiciones a lo largo de mi vida personal y académica, por permitirme culminar con mis estudios y mi trabajo de tesis.

De igual forma doy muchas Gracias a mis padres Teresa R. L. y J. Ezequiel G. E. por estar siempre presentes en cada etapa de mi vida, por brindarme todo su apoyo en los buenos y malos momentos, por ser esos guías en mi vida y por todas sus enseñanzas, sobre todo por nunca dejar de creer en mí; también doy Gracias a mi abuelita Lucía (Abica), mis tíos y tías (Paty, Male) por todo su apoyo, a mis primos Joel, Daniel, Omar por ser parte de mi vida y ser mis hermanos.

Le doy Gracias a la Mtra. Brígida y al Mtro. Mario por dejarme integrar a su gran equipo de investigación en el Laboratorio de Farmacognosia, gracias por su gran apoyo, por sus grandes enseñanzas y sobre todo por confiar en mí. Gracias a mis compañeros y amigos que conocí en el laboratorio Miguel, Alejandra, Lidia, Eli, Miriam, Mary Carmen e Issac, que me permitieron conocerlos, convivir y vivir grandes experiencias en el laboratorio, además de aprender de cada uno de ellos y que ahora forman parte de mi vida, gracias a todos ustedes por formar parte de esta gran familia.

Agradezco mucho a la señora Juliana E. Barrera O. y a Alejandra Sánchez B. por realizar la recolección y proporcionar la planta para poder realizar el proyecto, y por el tratamiento en la obtención de las micrografías por MEB de las partículas de plata, a Mary Carmen Juárez por brindarme de su tiempo para la enseñanza en la técnica microbiológica, a Dra. Anita y Eli por su apoyo en la obtención de los espectros IR, a la Dra. Ganem, el Dr. Téllez, Dr. Ángeles y Dr. Díaz por abrirme las puertas a sus laboratorios para poder culminar mi trabajo de tesis, muchas gracias a todos ellos por brindarme su apoyo para la culminación de este trabajo.

Emanuel (Many), Ángel (Rafiki), Alberto (Betoso), Jesús (Chuy), Andrea, Gaby, Eduardo (Lalito), Gustavo (Tavo), Uziel, Pedro, Ricardo, Ale (Mimi), Diana y Marco (Mark) le doy gracias a cada uno de ustedes por su amistad, por sus enseñanzas, por compartir grandes y malos momentos a lo largo de la carrera, por permitirme conocerlos, que desde el primer día que iniciamos la carrera formamos un lazo fuerte de amistad (formando nuestro clan de la caracola mágica) y los que se fueron uniendo en el paso del tiempo, y que ahora nuestra amistad se ha convertido en hermandad, ahora forman parte de mi vida y sé que puedo contar con ustedes y ustedes conmigo. Doy gracias a mi amigo Luis Brindis que me ayudo a dar ese paso más para seguir adelante y aprender más, por su gran amistad y esos momentos que vivimos durante su proyecto de investigación.

Doy gracias a Dios por permitirme conocer a una persona muy especial en mi vida Alondra C. Martínez P., te doy gracias por estar siempre presente en cada momento de mi vida, compartir grandes y malos momentos a tu lado, por tener siempre tu apoyo incondicional, de seguir siempre adelante pese a los obstáculos que se nos han presentado, gracias por formar parte de tu vida y tú de la mía, muchas gracias por todo mi vida, Te amo Alondra.

Gracias a los señores laboratoristas por brindarme su amistad, Don Erick y Doña Maru, señor Baldo, señora Reina y Don Ángel (D.E.P). También a los profesores de la universidad que confiaron en mí durante mi trayectoria académica Prof. J.J. Mendoza, Dra. Marina, Prof. Gabriel, Profa. Elizabeth y la Profa. Irma Jessica, entre otros, por brindarme su apoyo y sobre todo por sus enseñanzas a lo largo de la licenciatura.

Muchas Gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México y la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por abrirme las puertas para poder estudiar la licenciatura en Química y convertirse en mi segunda casa, donde pude vivir grandes momentos y me permitió conocer a personas muy valiosas que ahora forman parte de mi vida, por permitirme seguir adelante, me siento orgulloso de haber formado parte de esta gran universidad, muchas gracias por todo UNAM.

Finalmente, gracias al apoyo del programa PAPIIME PE204118 "Actualización y fortalecimiento de la enseñanza experimental de las asignaturas: Fitoquímica y Farmacognosia y Fitofármacos de la licenciatura en Química Industrial" por el financiamiento de este proyecto de tesis.



Contenido

I.	Índice de figuras.....	6
II.	Índice de tablas.....	8
1	Introducción.....	10
2	Marco Teórico.....	12
2.1	Medicina Tradicional.....	12
2.1.1	Solanáceas (Solanaceae).....	13
2.2	Métodos de extracción.....	17
2.2.1	Factores en la extracción de principios activos.....	17
2.2.2	Tipos de extracción con disolventes.....	18
2.3	Ensayo Fitoquímico.....	19
2.4	Nanopartículas.....	19
2.4.1	Método Químico.....	20
2.4.2	Método Físico.....	21
2.4.3	Método Biológico.....	21
2.4.4	Factores.....	22
2.4.5	Mecanismo.....	22
2.4.6	Características de las nanopartículas metálicas.....	22
2.4.7	Color.....	23
2.4.8	Toxicidad.....	24
2.5	Microorganismos.....	24
2.5.1	<i>Escherichia coli</i>	24
2.5.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	25
2.5.3	<i>Candida albicans</i>	26
2.6	Antimicrobianos.....	26
2.6.1	Gentamicina.....	26
2.6.2	Anfotericina B.....	27
2.7	Diseño de experimentos.....	28
2.7.1	Etapas en el diseño de experimentos.....	29
2.8	Espectroscopia.....	30
2.8.1	Espectroscopia UV-Vis.....	30



2.8.2	Espectroscopia Infrarroja	32
2.9	Microscopia Electrónica de Barrido	35
2.10	Z-sizer	36
2.11	Método de Simpson por integral definida.....	36
3	Objetivo general	38
3.1	Objetivos particulares	38
3.2	Hipótesis	38
4	Metodología	39
4.1	Selección de la especie idónea con capacidad reductora	39
4.2	Búsqueda bibliográfica	39
4.3	Recolección del material vegetal <i>Solanum rostratum</i> D. (duraznillo).....	39
4.4	Identificación botánica del material vegetal <i>Solanum rostratum</i> D. (duraznillo).....	39
4.5	Conservación y preparación de la materia prima vegetal	39
4.6	Obtención de extractos por gradiente de polaridad de duraznillo	40
4.7	Ensayo Fitoquímico.....	40
5	Síntesis de nanopartículas de plata (NP's Ag)	41
5.1	Determinación del tamaño de partícula.....	43
5.2	Separación de las nanopartículas de plata de duraznillo (Ag NP's duraznillo)	43
5.3	Rendimiento y concentración en la síntesis de nanopartículas de plata del extracto acuoso de duraznillo.....	43
6	Caracterización de las nanopartículas de plata	44
6.1	Espectroscopia por Infrarrojo	44
6.2	Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)	44
6.3	Extracto acuoso de duraznillo liofilizado	44
7	Actividad antimicrobiana	45
7.1	Actividad antibacterial	45
7.1.1	Preparación del inóculo de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	46
7.2	Actividad antifúngica.....	47
7.2.1	Preparación del inóculo para <i>Candida albicans</i>	48
7.3	Inoculación en placa de microtitulación para actividad antimicrobiana y antifúngica .	49
7.4	Incubación de las placas de titulación	51
8	Resultados y análisis de resultados	52



8.1	Selección de la especie idónea con capacidad reductora	52
8.2	Identificación de la materia vegetal	52
8.3	Ensayo fitoquímico de los extractos de <i>Solanum rostratum</i> (duraznillo)	52
8.4	Fitosíntesis de nanopartículas de plata (AgNP's)	54
8.5	Espectroscopia UV-Visible e Infrarroja	61
8.6	Microscopia Electrónica de Barrido	68
8.7	Ensayo antimicrobiano establecido por el CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute)	
	69	
8.7.1	Concentración de nanopartículas para realizar el estudio de la actividad antimicrobiana.....	69
8.7.2	Actividad antibacterial del extracto acuoso vs <i>E. coli</i>	69
8.7.3	Actividad antibacterial de AgNP's de duraznillo vs <i>E. coli</i>	70
8.7.4	Actividad antibacteriales para el extracto acuoso de duraznillo y AgNP's vs <i>Staphylococcus aureus</i>	71
8.7.5	Actividad Antifúngica del extracto acuoso de duraznillo vs <i>C. albicans</i>	72
8.7.6	Actividad antifúngica de AgNP's vs <i>Candida albicans</i>	73
	Conclusiones	74
	Prospectivas.....	75
	Anexos.....	76
	Bibliografía.....	80



I. Índice de figuras

Figura 1 Rivera, D. (1951). <i>El Pueblo en Demanda de Salud (Mural)</i> , México, Hospital de la Raza..	13
Figura 2 <i>Plantas toxicas para el ser humano</i>	13
Figura 3 <i>Solanum rostratum D. (duraznillo) (Fotografía de Oscar González Romero) (Zimapan, Teoloyucan, Edo. de México, 2017) archivo del autor</i>	15
Figura 4 <i>Tallo, hojas y flor de Solanum rostratum D. (duraznillo) (Fotografía de Oscar González Romero) (Laboratorio de Farmacognosia, UNAM Campo1, Cuautitlán Izcalli, Edo. México, 2017) Archivo del autor</i>	15
Figura 5 <i>Metabolitos secundarios asilados de Solanum rostratum D. (duraznillo); A) Quercetina, B) isoramnetina-3-O-β-galactopiranosido y C) α-solanina, (Hao, Wang, Zhu, Wang, & Wei, 2014), Moléculas elucidadas por National Center for Biotechnology Information (CNBI, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)</i>	16
Figura 6 <i>Métodos de extracción (Kuklinski, 2000)</i>	17
Figura 7 <i>Extractor Soxhlet, A-Matraz de fondo plano, B-Cuerpo extractor, C-Refrigerante, D-Tubo lateral y E-Sifón lateral interno. (Kuklinski, 2000)</i>	19
Figura 8 <i>Técnicas para la síntesis de nanopartículas metálicas: Top-down y Bottom-up</i>	20
Figura 9 <i>Mecanismo general de la formación de nanopartículas metálicas</i>	22
Figura 10 <i>Imagen de la bacteria Escherichia coli (Fotografía de Eric Erbe)</i>	25
Figura 11 <i>Imagen de la bacteria Staphylococcus aureus</i>	25
Figura 12 <i>Micrografía electrónica de transmisión, morfología de Candida albicans</i>	26
Figura 13 <i>Estructura de la Gentamicina</i>	27
Figura 14 <i>Estructura de Anfotericina B</i>	27
Figura 15 <i>Aspectos generales del diseño experimental (Blanco & Cerdá, 2007)</i>	29
Figura 16 <i>Etapas de un diseño experimental (Blanco & Cerdá, 2007)</i>	29
Figura 17 <i>Tipos de tensión en el enlace: A) simétrica y B) asimétrica, tipos de vibraciones en el enlace: C) Flexión de balanceo, D) Flexión de tijera, E) Flexión en cabeceo y F) Flexión en torsión..</i>	33
Figura 18 <i>Ejemplo del espectro infrarrojo de n-octano</i>	35
Figura 19 <i>Equipo Zetasizer Nano ZS90 Malvern®</i>	36
Figura 20 <i>Método de Simpson, Representación de una curva por medio de parábolas (Stewart, 2008)</i>	37
Figura 21 <i>Método de Simpson, regla de integración aproximada para parábolas</i>	37
Figura 22 <i>Equipo utilizando para la molienda. (Fotografía de Oscar González Romero). (Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, 2017). Archivo del autor</i>	40
Figura 23 <i>A) Equipo Soxhlet, obtención de extractos de duraznillo por gradiente de polaridad y B) Rotavapor para concentrar los extractos de duraznillo. (Fotografía de Oscar González Romero). (Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, 2017). Archivo del autor</i>	40
Figura 24 <i>Tamizaje fitoquímico</i>	41
Figura 25 <i>Síntesis de nanopartículas de plata de duraznillo</i>	42
Figura 26 <i>Equipo Zetasizer (Malvern®, Nano-ZS90)</i>	43



Figura 27 Liofilizadora (Fotografía de Oscar González Romero). (Laboratorio de Investigación y Posgrado en Tecnología Farmacéutica UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, 2017). Archivo del autor.....	44
Figura 28 Esquema de diluciones para la solución stock de Gentamicina, extracto de duraznillo liofilizado y nanopartículas de plata de duraznillo (Juárez, 2016).....	46
Figura 29 Preparación del inóculo de <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> en tubos de ensaye con rosca en medio BHI (Fotografía de Oscar González Romero). (Laboratorio 17 de Inmunología de Enfermedades Infecciosas UNAM UIM, Cuautitlán, Edo. de México). Archivo del autor.....	47
Figura 30 Esquema de diluciones para la solución stock de Anfotericina, extracto de duraznillo liofilizado y nanopartículas de plata de duraznillo (Juárez, 2016).....	48
Figura 31 Disposición de estándares y ensayos en placa de microtitulación para el ensayo de actividad antimicrobiana	50
Figura 32 Disposición de estándares y ensayos en placa de microtitulación para el ensayo de actividad antifúngica.....	50
Figura 33 Incubación de las placas de titulación donde se realizó la actividad antimicrobiana (Fotografía de Oscar González Romero). (Laboratorio 17 de Inmunología de Enfermedades Infecciosas UNAM UIM, Cuautitlán, Edo. de México, 2017). Archivo del autor.....	51
Figura 34 A) Prueba de alcaloides, B) Control prueba de alcaloides (Fotografía de Oscar González Romero). (Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, 2016). Archivo del autor	53
Figura 35 Ecuación polinómica de primer grado para el tamaño de partícula, donde A= Temperatura, B=[NaOH]M y C= Volumen de $AgNO_3$	56
Figura 36 Ecuación polinómica de primer grado para la polidispersión de las nanopartículas, donde A= Temperatura, B=[NaOH]M y C= Volumen de $AgNO_3$	56
Figura 37 Pendientes de los factores que influyen de manera significativa el tamaño de partícula, gráfica A: Tamaño de partículas vs Temperatura, gráfica B: Tamaño de partícula vs [NaOH]M y gráfica C: Tamaño de partícula vs interacción entre la Temperatura y la [NaOH], y factor que influye en PD de AgNP's B: [NaOH]M.....	57
Figura 38 Ecuación polinómica de primer grado involucrando solo los factores que afectan de manera significativa al tamaño de partícula, A=Temperatura, B=[NaOH]M	57
Figura 39 Espectros de absorción que corresponden a cada uno de sistemas generados en el diseño experimental utilizando el software Design Expert para síntesis de nanopartículas de plata (AgNP's) de duraznillo.....	58
Figura 40 Serie fotográfica del Diseño Experimental de la síntesis de nanopartículas de plata de duraznillo Fotografía de Oscar González Romero). (Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica UNAM Campo 1, Cuautitlán, Edo. de México, 2017). Archivo del autor.....	59
Figura 41 Espectros de absorción de los sistemas 3 y 8 con las mejores condiciones de respuesta en la síntesis de nanopartículas de plata (AgNP's)	59
Figura 42 Espectro Infrarrojo del extracto acuoso de duraznillo	61
Figura 43 Espectro UV-Visible del extracto acuoso de duraznillo	62
Figura 44 Espectro Infrarrojo del extracto de duraznillo agregando NaOH 5 M	63



<i>Figura 45 Espectro UV-Visible del extracto acuoso de duraznillo agregando NaOH, modificando su pH</i>	64
<i>Figura 46 Espectro Infrarrojo de las nanopartículas de plata de Solanum rostratum D. (AgNP's duraznillo)</i>	64
<i>Figura 47 Espectro de nanopartículas de plata de duraznillo, se realizó la resta del espectro IR del extracto de duraznillo y el espectro IR de las nanopartículas de plata de duraznillo</i>	65
<i>Figura 48 Espectro UV-Visible de las nanopartículas de plata de Solanum rostratum D. (duraznillo)</i>	66
<i>Figura 49: Espectro Infrarrojo del sobrenadante después del aislamiento de las nanopartículas de plata de Solanum rostratum (AgNP's duraznillo)</i>	67
<i>Figura 50 Espectro UV-Visible del sobrenadante después del aislamiento de las nanopartículas de plata de Solanum rostratum D. (duraznillo)</i>	68
<i>Figura 51: Micrografía MEB de las AgNP's duraznillo a 1000X. (Fotografía de Alejandra Sánchez Barrera) (México 2017). Laboratorio de Microscopía Electrónica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM C-1</i>	68
<i>Figura 52: Ecuación utilizada para Método de Simpson para la determinación de la concentración de las nanopartículas de plata de duraznillo (AgNP's duraznillo)</i>	69
<i>Figura 53 Ensayo microbiológico de actividad antimicrobiana con E. coli vs extracto acuoso de Solanum rostratum D. (duraznillo)</i>	70
<i>Figura 54 Ensayo microbiológico de actividad antimicrobiana con nanopartículas de plata de Solanum rostratum D.(duraznillo) vs E. coli</i>	71
<i>Figura 55 Ensayo microbiológico de actividad antimicrobiana del extracto acuoso de Solanum rostratum D. vs S. aureus</i>	71
<i>Figura 56 Ensayo microbiológico de actividad antimicrobiana de AgNP's de Solanum rostratum D. vs S. aureus</i>	72
<i>Figura 57 Ensayo microbiológico de actividad antifúngica con el extracto acuoso de Solanum rostratum D. vs C. albicans</i>	72
<i>Figura 58 Ensayo microbiológico de actividad antifúngica con Candida albicans vs nanopartículas de plata de Solanum rostratum D. (duraznillo)</i>	73

II. Índice de tablas

<i>Tabla 1 Ventajas y desventajas en la síntesis de nanopartículas por medio de procesos verdes (Zazo, Millán, Colino, & Lanao, 2017)</i>	21
<i>Tabla 2 Divisiones del espectro de la radiación electromagnética en la zona UV-Vis, adaptado de Pretsch, 2009</i>	31
<i>Tabla 3 Regiones del espectro infrarrojo (Ríos, Cruz, & Simonet, 2007)</i>	32
<i>Tabla 4 Características de absorción en el infrarrojo de algunos grupos funcionales, (Wade, 2004)</i>	34
<i>Tabla 5 Puntos comunes y diferentes entre Microscopio electrónico de transmisión (TEM) y microscopio electrónico de barrido (SEM), (Renau & Faura)</i>	35



<i>Tabla 6 Preparación de los sistemas con diversas concentraciones de Gentamicina (Cantón, Martín, & Espinel, 2007)</i>	45
<i>Tabla 7 Preparación de los sistemas con diferentes concentraciones de extracto de duraznillo</i>	46
<i>Tabla 8 Preparación de los sistemas con diversas concentraciones de Anfotericina B (Cantón, Martín, & Espinel, 2007)</i>	47
<i>Tabla 9 Preparación de los sistemas con diferentes concentraciones de extracto de duraznillo</i>	48
<i>Tabla 10 Identificación taxonómica de la materia vegetal por el Herbario Etnobotánico IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM</i>	52
<i>Tabla 11 Resultados del ensayo fitoquímico de la fracción acuosa de la especie S. rostratum (duraznillo)</i>	53
<i>Tabla 12 Resultados del ensayo fitoquímico de la fracción etanólica de la especie S. rostratum (duraznillo)</i>	53
<i>Tabla 13 Resultados del ensayo fitoquímico de la fracción de acetato de etilo de la especie S. rostratum (duraznillo)</i>	54
<i>Tabla 14 Factores y niveles determinados para realizar la síntesis de nanopartículas de plata</i>	54
<i>Tabla 15 Diseño experimental de la síntesis de nanopartículas de plata a partir del extracto acuoso de duraznillo</i>	55
<i>Tabla 16 Análisis de varianza (ANOVA) para el tamaño de partícula de las AgNP's de duraznillo</i> ..	55
<i>Tabla 17 Análisis de varianza (ANOVA) para la polidispersión de las AgNP's de duraznillo</i>	56
<i>Tabla 18 Relación de longitud de onda máxima con tamaño de partícula y PD obtenidos en el diseño experimental</i>	58
<i>Tabla 19 Repeticiones del sistema 3, condiciones experimentales de T=60°C, Vol. AgNO₃=11 mL y [NaOH]=5M</i>	60
<i>Tabla 20 Repeticiones del sistema 8, condiciones experimentales de T=80°C, Vol. AgNO₃=11 mL y [NaOH]= 5 M</i>	60
<i>Tabla 21 Grupos funcionales determinados para el extracto acuoso de duraznillo</i>	62
<i>Tabla 22 Grupos funcionales determinados en el extracto acuoso de duraznillo modificando el pH63</i>	
<i>Tabla 23 Grupos funcionales determinado en las nanopartículas de plata de duraznillo</i>	65
<i>Tabla 24 Grupos funcionales determinados para la resta del extracto de duraznillo y las AgNP's de duraznillo</i>	66
<i>Tabla 25 Grupos funcionales determinados en el espectro del sobrenadante en el aislamiento de las nanopartículas</i>	67
<i>Tabla 26 Diluciones que se realizaron de la solución stock de nanopartículas de plata de Solanum rostratum D. (AgNP's duraznillo)</i>	69



1 Introducción

Actualmente se están desarrollando procesos amigables con el ambiente para la síntesis de nanopartículas metálicas, éste se ha convertido en un punto muy importante para el desarrollo de áreas como la biotecnología y la nanociencia. Los procesos existentes en la síntesis de nanopartículas metálicas son caros y poco amigables con el ambiente; por lo que surge la necesidad de desarrollarlos sin la necesidad de utilizar agentes químicos que perjudiquen a la naturaleza y con un control en la forma y tamaño de la partícula, siendo estos los que definen sus propiedades (Siddiqui, Al-Whaibi, & Firoz, 2015). Las nanopartículas son de gran interés debido a su potencial en procesos específicos y selectivos, principalmente en biología y aplicaciones farmacéuticas (Resham & Priyabrata, 2008).

Los nanomateriales y estructuras en la escala nanométrica, cuyos tamaños oscilan entre 1-100 nm tienen gran aplicación en áreas como la conversión de energía solar, catálisis, medicamentos y tratamiento de agua. Actualmente la demanda de estructuras en la escala nanométrica ha aumentado y ésta debe estar acompañada de métodos apegados con la reducción de residuos peligrosos. El desarrollo moderno de la ciencia y tecnología deberá incluir la implementación de métodos que se unan al esfuerzo global en la reducción de desechos que amenazan al medio ambiente y a los seres que lo habitan. El hombre actual preocupado por este problema ha desarrollado una filosofía denominada Química Verde introducida por Paul Anastas y John Warner. Ellos escribieron el libro “Green Chemistry: Theory and Practice” en 1998 en el que se presentan los 12 principios de la Química Verde, como preceptos que buscan valorar qué tan “amigable” es una reacción, un proceso o un producto químico con el medio ambiente. Los nanomateriales están presentando características únicas, comparados con materiales a micro y macroescala. Sin embargo, los métodos no están siendo tan respetuosos con el medio ambiente. Las nanopartículas de metales nobles como oro, plata y cobre han sido utilizadas en áreas como fotografía, catálisis, electrónica, óptica, entre otros. Las nanopartículas metálicas presentan una serie de propiedades que las caracterizan como: la banda de plasmón de superficie debida a la absorción en la región visible por la existencia de electrones libres en la banda de conducción en conjugación con el tamaño que éstas presentan. Esta banda depende del tamaño, de las especies químicas adsorbidas en la superficie, la constante dieléctrica y la forma que presentan. Las nanopartículas metálicas se pueden preparar y estabilizar por métodos físicos o químicos. El control del tamaño, forma, estabilidad y propiedades dependen de las condiciones experimentales, cinética e interacción del ion metálico con los reductores (Sharma, Yngard, & Lin, 2009). La utilización de extractos de plantas, frutos, bacterias y hongos se consideran como una alternativa amigable con el medio ambiente para la síntesis de nanopartículas metálicas (Velgosová, Mrazíková, & Marcincáková, 2016).

Como los extractos vegetales son una alternativa ecológica de síntesis de nanopartículas de plata, en el laboratorio de Farmacognosia surge la inquietud de utilizar extractos de plantas que forman parte de la flora de la medicina tradicional mexicana como agentes reductores. Duraznillo es el nombre popular con el que se conoce a la especie *Solanum rostratum* D., utilizada popularmente para tratar afecciones de los riñones, diabetes, cólicos, entre otros. La planta se recolectó en el



municipio de Melchor Ocampo del Estado de México. Para el desarrollo metodológico se utilizó el software Design Expert®, considerando como factores: volumen de AgNO_3 , concentración de NaOH en la extracción y temperatura en la que se obtiene el extracto de la planta, para determinar si estos influían en el tamaño de partícula y conseguir las mejores condiciones de síntesis, para obtener un tamaño menor a 100 nm. Se dio seguimiento a la síntesis por espectroscopia UV-Vis, posteriormente, se determinó el tamaño con un equipo Z-sizer (marca Malvern®, Nano-ZS90). Aisladas las nanopartículas se caracterizaron por microscopia electrónica de barrido y espectroscopia infrarroja, de igual manera se sometieron a una prueba de actividad farmacológica.



2 Marco Teórico

2.1 Medicina Tradicional

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la medicina tradicional como el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usadas para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales (Zhang X. , 1986).

La medicina tradicional, complementaria y alternativa suscita un amplio abanico de reacciones, desde el entusiasmo no crítico hasta el escepticismo no informado. El uso de la medicina tradicional (MT) sigue estando muy extendido en los países en vías de desarrollo, mientras que el uso de la medicina complementaria y alternativa (MCA) está aumentando rápidamente en los países desarrollados. La medicina tradicional es un sistema sanitario utilizado por un amplio sector de la población mundial y de gran importancia económica. En África hasta un 80% de la población utiliza medicina tradicional para ayudar a satisfacer las necesidades sanitarias. En Asia y Latinoamérica, las poblaciones siguen utilizando la medicina tradicional como resultado de las circunstancias históricas y creencias culturales. En China, la medicina tradicional contabiliza alrededor de un 40% de la atención sanitaria.

En México coexisten medicinas diferentes, que substancialmente son: la medicina moderna de tipo occidental y la medicina tradicional mexicana, resultado del sincretismo entre los conocimientos prehispánicos y los que introdujeron los españoles. Todas las medicinas tienen sus raíces en el pasado y su configuración actual es el resultado de la investigación y de los conocimientos acumulados que se van transmitiendo de diversas maneras (Anzures, 1983). La disponibilidad de los servicios de la salud basados en la medicina convencional es limitada, la utilización de la medicina tradicional por grandes sectores de la población va en aumento. Por lo general, la población con bajos recursos económicos es la que principalmente atiende sus problemas de salud acudiendo a los curanderos, hueseros, yerberos, etc. La medicina tradicional en México aún no es tomada en serio por algunos sectores de la población, por lo que hace falta priorizar y apoyar la investigación con el fin de generar conocimientos; además, está incorporando a su práctica médica disciplinas como la aromaterapia, acupuntura, quiropráctica, entre otros. La medicina tradicional utiliza los recursos naturales de cada región, conteniendo no solo los ingredientes para combatir determinada enfermedad, sino también para contrarrestar los efectos secundarios que pudieran presentar las sustancias puras presentes en los mismos (Anzures, 1983). Por lo que la medicina tradicional mexicana se define como toda práctica médica procedente de la unión del saber curativo prehispánico y el español medieval; conocimiento que ha perdurado por más de 500 años y que en la actualidad incorpora recursos y sistemas curativos de otros tipos de medicinas para lograr la salud de la población. La medicina tradicional mexicana es una institución social que se va transformando con el pasar del tiempo al interactuar con otros modelos terapéuticos, integrando lo que se denomina el “sistema real de salud” de la población mexicana del siglo XXI, tanto del campo como de la ciudad. El principal recurso terapéutico que ésta utiliza son las plantas (UNAM, 2009).



Figura 1 Rivera, D. (1951). *El Pueblo en Demanda de Salud* (Mural), México, Hospital de la Raza

Nota: Imagen obtenida de Google

2.1.1 Solanáceas (Solanaceae)

Más de 2,000 especies de hierbas, matas y raramente arbustos forman esta familia cosmopolita que proporciona al hombre una droga letal, algunas de las plantas involucradas son el tabaco (*Nicotiana*), papas y berenjenas (*Solanum*), jitomates (*Lycopersicum*), pimientos (*Capsicum*), entre otras. Las solanáceas tienen fama de ser una de las familias más ricas en especies peligrosas. Su metabolismo conduce a gran variedad de moléculas tóxicas, y las distintas especies de un género pueden elaborar metabolitos secundarios muy diferentes. La belladona (*Atropa belladonna* L.), el estramonio (*Datura stramonium* L.), el beleño negro (*Hyoscyamus niger* L.) y la mandrágora (*Mandragora officinarum* L.) se conocen desde antaño por su actividad sobre el sistema nervioso autónomo y el sistema nervioso central. A veces, se utilizaron con fines criminales y son conocidas por contribuir a la divinización. Estas plantas dan su toxicidad a alcaloides tropánicos (alcaloides bicíclicos), frecuentes en la familia, se han aislado de los géneros *Acnistus*, *Duboisia*, *Przewalskia*, *Scopolia* y otras *Solanandra*. En ocasiones se sintetizan poli-hidroxinortropanos y pirrolidinas.



Figura 2 Plantas tóxicas para el ser humano

Nota: Imágenes obtenidas de UNAM (2009)



En el género *Solanum*, la presencia de alcaloides esteroídicos pueden provocar intoxicaciones; estos son los responsables de la toxicidad de algunas especies indígenas y de sus frutos, de igual manera están presentes en las papas provocando incidentes de diferentes niveles de gravedad. Otras especies del género *Solanum* provocan calcinosis en los animales, padecimiento caracterizado por la aparición de depósitos calcáreos anormales. El agente tóxico responsable es el 1,25-dihidroxicolecalciferol que aumenta el transporte activo del calcio del intestino hacia la sangre provocando bultos patológicos. *Solanum bonariense* es el nombre de la especie que produce intoxicaciones en los rumiantes, provocando una degeneración de las neuronas GABAérgicas de la corteza cerebelosa. Las sustancias responsables de este efecto son las calisteginas (polihidroxitropanos) que son inhibidoras de las glicosidasas. Por todos son conocidos los daños a la salud que provoca la especie *Nicotiana tabacum* (tabaco), también perteneciente a la familia solanácea. La nicotina es una sustancia tóxica presente en el tabaco creando adicción y causando enfermedades pulmonares, cardíacas y ciertos tipos de cáncer (Bruneton, 2001).

2.1.1.1 Solanaceae *Solanum rostratum* Dunal (duraznillo)

Solanum rostratum Dunal (Solanaceae) es el nombre científico de la planta conocida popularmente como duraznillo. Esta planta es considerada como maleza, se distribuye en los continentes excepto en la Antártida. Arbusto nativo de las grandes llanuras de Estados Unidos, norte y centro de México; se localiza en montes, mesetas y llanuras en climas templado-cálidos y secos. Planta invasora adaptada a diversos tipos de suelo y clima, localizada en áreas perturbadas como orillas de caminos, patios, cultivos abandonados o sitios de sobrepastoreo. Planta nitrófila que crece en la vecindad de corrales, suelos cultivados, húmedos, también secos, arenosos o compactos. El duraznillo es considerado como una planta invasora en África, Asia central y oriental, Palestina y parte de Oceanía. Florece casi al final de la primavera y en gran parte del verano. Los frutos maduran de verano a otoño, la planta muere cuando cae la primera helada. La planta se propaga por semillas que se dispersan por el viento, lluvia, roce de animales, etc. El duraznillo es una mala hierba que invade los cultivos de cereales, hortalizas, árboles frutales, plantas industriales e incluso jardines; provoca la reducción en la producción de cultivos de tomate, chiles, haba, alfalfa, maíz, sorgo, cebada, girasol, sésamo, algodón, mango, limón, naranja, mandarina y plantas ornamentales, etc. Sus características biológicas de *Solanum rostratum* D. favorecen el comportamiento como maleza invasora, especialmente el hecho de tratarse de una planta anual que precisa de la luz directa para su desarrollo, con alto índice de producción de semillas (8,000 o más por planta), que muestran una viabilidad prolongada (aprox. 10 años) y germinación aún enterradas hasta 15 cm de profundidad (Del Vitto & Pettenatti, 2015).

Sinonimia científica: *Solanum cornutum* Lam, *Androcera lobata* Nutt, *Androcera rostrata* (Dunal) Rydb, *Ceranthera heteandra* (Pursh) Raf, *Nycterium flavum* Lindl, *Nycterium lobatum* (Nutt) Sweet, *Nycterium rostratum* (Dunal) Link, *Solanum bejareense* Moric, *Solanum heterandrum* Pursh, *Solanum propinquum* Martens y Galeotti, *Solanum subintegrum* Fernald.

Sinonimia vulgar: Buffalo bur, colorado bur, abrojo, hierba del sapo, manca mula, hierba del gato, mala mujer, rabo de iguana, colmillo de puerco, espinaca de cerro, mata yegua (Del Vitto & Pettenatti, 2015).



Figura 3 *Solanum rostratum* D. (duraznillo) (Fotografía de Oscar González Romero) (Zimapan, Teoloyucan, Edo. de México, 2017) archivo del autor

2.1.1.1.1 Características botánicas

Hierba anual, crece entre 30 a 70 cm de alto, erecta, ramificada y con la raíz principal un poco gruesa, se encuentra cubierta por tricomas glandulosos estrellados, pie multiseriado corto o largo, armada de abundantes agujones amarillo-pajizo, pueden ser aplanados o curvos distribuidos en toda la planta. Las flores crecen en grupos y son amarillas, miden aproximadamente 2 cm de largo. Los frutos son globosos entre 9-15 mm de diámetro, espinosos y matizados. Las semillas son ovoides entre 1-1.3 mm de espesor de color café-negruzcas (UNAM, 2009).

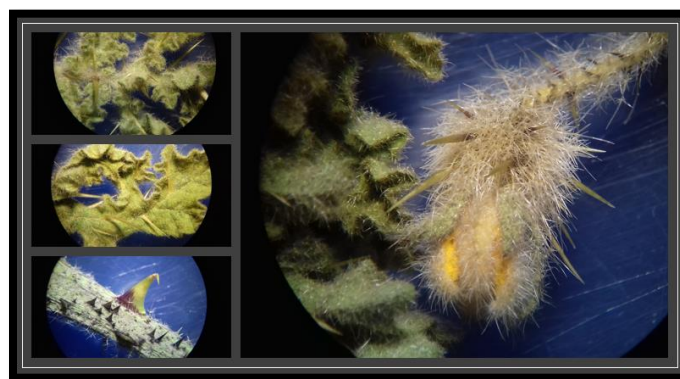


Figura 4 Tallo, hojas y flor de *Solanum rostratum* D. (duraznillo) (Fotografía de Oscar González Romero) (Laboratorio de Farmacognosia, UNAM Campo1, Cuautitlán Izcalli, Edo. México, 2017) Archivo del autor

2.1.1.1.2 Toxicidad y usos

La planta, particularmente sus hojas y frutos inmaduros, contienen glicoalcaloides como la solanina. Estos compuestos son inhibidores de la colinesterasa responsables del envenenamiento del ganado. Las concentraciones de alcaloides varían con el clima. Los síntomas de intoxicación son: anorexia, náuseas, vómitos, dolores abdominales, diarrea, apatía, boca seca, dificultad respiratoria, temblores, adormecimiento, debilidad o parálisis, postración e inconsciencia acompañada de dilatación pupilar, finalmente la muerte sobreviene de la parálisis respiratoria.

En México y Estados Unidos, es considerada una planta apícola (utilizada para la apicultura), forrajera e incluso ornamental. En medicina popular se emplean las ramas para tratar afecciones oculares y genitourinarias, se ha usado como analéptico y antirreumático; la infusión de la planta es utilizado para aliviar cólicos y trastornos digestivos, contra la diabetes y como coadyuvante en tratamientos antineoplásicos, la infusión de las hojas se emplea como purgante y endulzada con miel para el tratamiento de la tosferina. Hojas y flores se aplican en afecciones renales.

Se ha comprobado que diversos extractos ejercen acciones antimicótica, antioxidante, antiinflamatoria e incluso antineoplásica. En extractos de esta planta han sido aislados diversos alcaloides, especialmente solanina y chaconina, y otros principios como metil-protodioscina y glicósidos del sitosterol (Del Vitto & Pettenatti, 2015). Otros metabolitos aislados de *Solanum rostratum* D. por el Institute of Chinese Materia Medica China Academy of Chinese Medical Science son: dioscina, hipoglaucina H, quercetina, isoquercitrina, isoramnetina-3-O- β -galactopiranosido, kaempferol-3-O- β -D-glucósido, smilaxquinosido A, β -sitosterol y daucosterol (Hao, Wang, Zhu, Wang, & Wei, 2014).

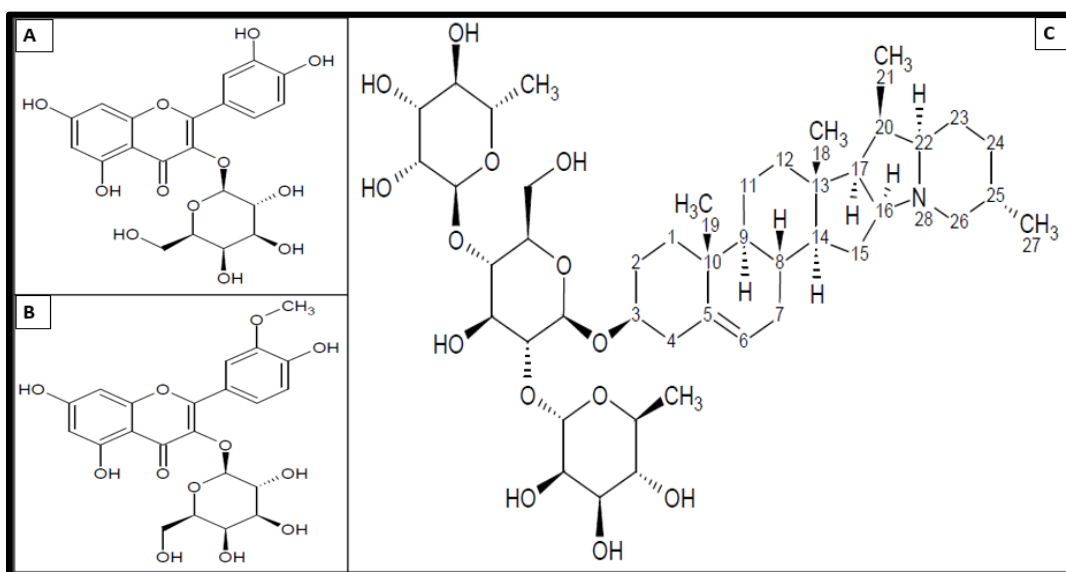


Figura 5 Metabolitos secundarios aislados de *Solanum rostratum* D. (duraznillo); A) Quercetina, B) isoramnetina-3-O- β -galactopiranosido y C) α -solanina, (Hao, Wang, Zhu, Wang, & Wei, 2014), Moléculas elucidadas por National Center for Biotechnology Information (CNBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

2.2 Métodos de extracción

La extracción es una operación unitaria de transferencia de materia basada en la disolución de uno o varios de los componentes de una mezcla (líquida o sólida) en un disolvente selectivo (Costa & Cervera, 1991). Los principales métodos de extracción se muestran en la figura 6.

Los principios por extraer se encuentran disueltos en el citoplasma de la célula vegetal o formando sales que se encuentran incrustadas en la célula; la droga vegetal debe ser sometida a un proceso de troceado que destruye las estructuras que los contienen, mejorando de esta manera la extracción (Villar del Fresno, 1999).

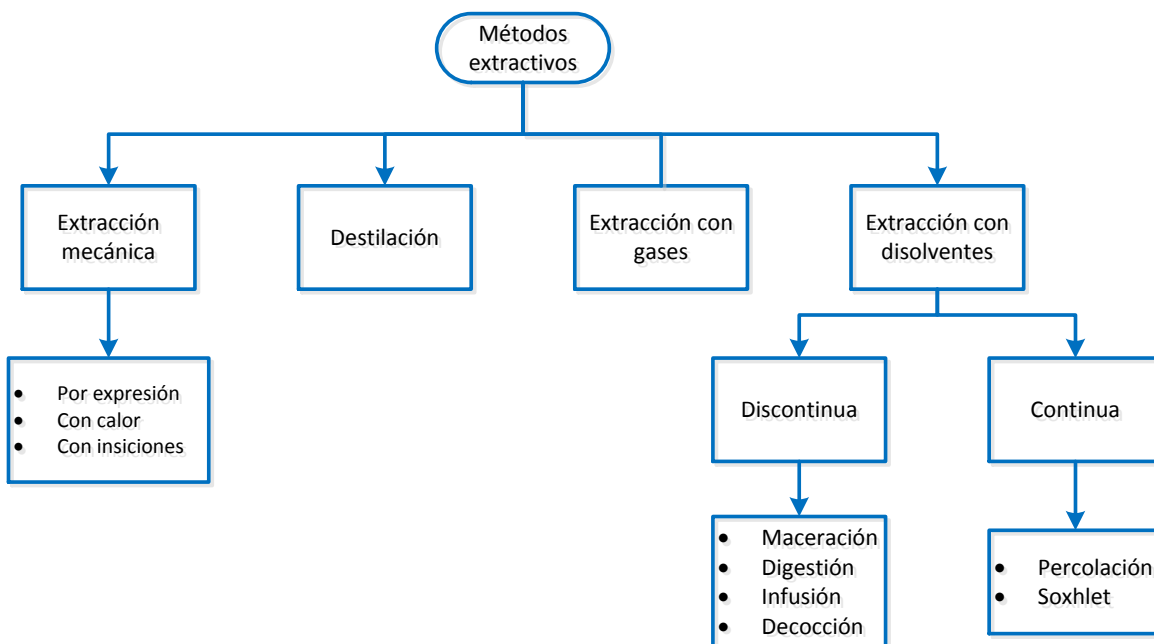


Figura 6 Métodos de extracción (Kuklinski, 2000)

2.2.1 Factores en la extracción de principios activos

- Droga vegetal: Las características de la droga como dureza, tamaño de partícula, etc., son factores por considerar en el diseño de un método de extracción. Trabajar con drogas secas con un alto grado de división facilita el contacto del disolvente con las sustancias químicas a extraer.
- Disolvente: Las características como polaridad, costo, toxicidad, impacto al ambiente son factores que se deben considerar en el diseño de un método de extracción. Entre los más utilizados se encuentra el agua, sin embargo, estos tienen poca estabilidad por lo que prefieren aquellos en los que se incluye el etanol.



- Temperatura: El aumento de la temperatura favorece la extracción de principios activos de las drogas porque aumenta su disolución, pero también puede favorecer su degradación; por lo que es necesario controlar la temperatura para conseguir una máxima extracción (No es aconsejable utilizar temperaturas elevadas).
- Tiempo de contacto entre la droga y el disolvente: Depende de las características de la droga y naturaleza de los principios activos.
- Control de difusión celular: Una apropiada difusión se consigue cuando la droga tiene un adecuado grado de división y cuando se renueva correctamente el disolvente utilizado en las extracciones (Kuklinski, 2000).

2.2.2 Tipos de extracción con disolventes

Extracción discontinua o al equilibrio

Se sumerge la droga en el disolvente utilizado para la extracción, la difusión de los principios activos se producirá en todas direcciones hasta alcanzar el equilibrio. En este tipo de extracción se encuentran:

- Maceración: La droga vegetal seca o fresca es triturada y pone en contacto con el disolvente que es utilizado para la extracción a temperatura ambiente, manteniendo todo en agitación durante un tiempo determinado, éste depende de las características de la droga y de la naturaleza de los principios activos. Este tipo de técnica es conveniente para la extracción de principios activos termolábiles, ya que se trabaja a temperatura ambiente.
- Digestión: Este método extractivo es similar a la maceración, pero en él se trabaja a temperaturas más altas sin llegar al punto de ebullición.
- Infusión: El agua se calienta hasta ebullición, se adiciona la droga vegetal, se tapa (para no perder sustancias volátiles) y se deja enfriar hasta temperatura ambiente.
- Decocción o cocimiento: La droga se pone en contacto con el disolvente y el conjunto se lleva hasta temperatura de ebullición, manteniendo dicha ebullición durante 15-30 min. Una vez enfriado, se filtra y se exprime el residuo. El tiempo de decocción también depende de las características de los compuestos químicos que se desea extraer (Kuklinski, 2000).

Extracción continua o progresiva

El disolvente utilizado para la extracción se va renovando y actúa en una sola dirección. Son métodos que consisten en poner en contacto la droga con el disolvente adecuado y mantener en todo momento un gradiente de concentración entre la droga y el líquido extractivo (disolvente). Mediante estos procedimientos se puede llegar a la extracción prácticamente completa de los principios activos de las drogas.

- Percolación: Se realiza a temperatura ambiente. La droga se coloca en un percolador y el disolvente se agrega por la parte superior, atraviesa toda la zona donde se encuentra la

droga con los principios activos, los va disolviendo y, por la parte inferior, se recogen los líquidos extractivos que contienen los principios activos.

- Soxhlet: Es un sistema de extracción sólido-líquido en el que la extracción se realiza en un aparato que consta de un matraz de fondo plano, un cuerpo extractor (Soxhlet) y un refrigerante. En el cuerpo extractor se coloca la droga y ésta se pone en contacto con el disolvente, se lleva a ebullición y el disolvente se va recirculando durante el proceso mientras los compuestos químicos disueltos se depositan en el matraz inferior (Kuklinski, 2000).

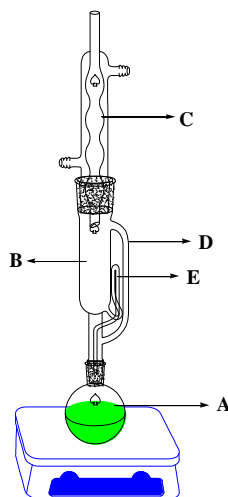


Figura 7 Extractor Soxhlet, A-Matraz de fondo plano, B-Cuerpo extractor, C-Refrigerante, D-Tubo lateral y E-Sifón lateral interno. (Kuklinski, 2000)

2.3 Ensayo Fitoquímico

El análisis fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en el extracto a examinar. Los resultados obtenidos permiten orientar la extracción de la planta con los disolventes apropiados. Las pruebas a la gota permiten la evaluación rápida con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo (Sharapin, 2000).

2.4 Nanopartículas

La palabra Nanociencia está compuesta por dos vocablos en latín, *nanus* que significa enano (y anterior a ésta del griego nan(n)os) y *scientia* que significa conocimiento. La nanociencia es el estudio de los fenómenos observados en estructuras y sistemas extremadamente pequeños, la millonésima parte de algo (1×10^{-9}) (Hornyak, Dutta, Tibbals, & Rao, 2008). La nanociencia estudia las propiedades físicas y químicas de los sistemas a nivel nanométrico, de materiales y fenómenos

en diversas áreas, tales como química, física o biología. La nanotecnología (tecnología nanométrica) tiene como objetivo la creación y manipulación de materiales con características estructurales dentro de la escala nanométrica, utilizando las propiedades fisicoquímicas para controlar el tamaño, superficie y forma, y de esta manera construir pequeñas estructuras para el diseño de materiales avanzados, nano-dispositivos de alto rendimiento y miniaturización de dispositivos electrónicos (Zanella, 2012). Los materiales a nivel nanométrico poseen propiedades ópticas, electrónicas, magnéticas, etc. que difieren significativamente de aquellas presentes a mayor escala. Dichas propiedades están relacionadas con el tamaño, forma, composición y estructura de la partícula (Nair, y otros, 2010). Las nanopartículas de metales o de compuestos basados en metales muestran interesantes propiedades biológicas, ópticas, magnéticas, electrónicas, catalíticas, etc. que se relacionan con su tamaño. Metales como el oro, plata, paladio y cobre han sido empleados para fabricar nanopartículas de diversas formas y tamaños.

Los métodos para la obtención de nanopartículas metálicas se pueden dividir en: químicos, físicos y biológicos; estos métodos pueden partir de dos técnicas: Top-down (arriba hacia abajo) son aquellos que reducen el tamaño de agregación del material hasta llegar a un tamaño nanométrico, en el cual se involucra la molienda; Bottom-up (de abajo hacia arriba) que consiste en la fabricación de nanopartículas a través de la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en solución (Aguilar, 2009).

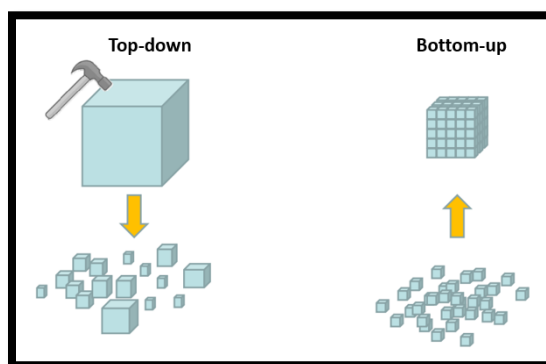


Figura 8 Técnicas para la síntesis de nanopartículas metálicas: Top-down y Bottom-up

Nota: Imagen obtenida de (Aguilar, 2009)

2.4.1 Método Químico

El método químico se destaca por ser el más utilizado, consiste en la reducción química de sales metálicas en solución, permitiendo el control del tamaño, distribución (polidispersión) y forma de las nanopartículas obtenidas. En sistemas acuosos el agente reductor se adiciona, mientras que en los no acuosos el disolvente utilizado actúa como reductor. Entre los agentes reductores más utilizados se encuentran el borohidruro de sodio, hidrazina y dimetilformamida, sin embargo, por ser tóxicos para la salud humana, en los últimos años se han empleado sustancias más amigables con el medio ambiente, tales como el citrato de sodio, glucosa, polietilenglicol, glicerol, etilenglicol,



entre otros. Dentro de los métodos químicos se encuentra la reducción radioquímica que consiste en la exposición de las muestras acuosas a rayos gamma de alta energía y la reducción fotoquímica o fotólisis empleando radiación UV (Aguilar, 2009).

2.4.2 Método Físico

Entre los métodos físicos se encuentran:

- Electroquímicos en los que una hoja metálica se disuelve anódicamente en un disolvente aprótico.
- Ablación láser, en la que un láser de alta potencia es dirigido a un blanco sólido que se encuentra sumergido en un líquido junto con los precursores.
- Termólisis que involucra la descomposición de sólidos a altas temperaturas.
- Irradiación con microondas, procedimiento donde el calentamiento homogéneo favorece la nucleación de las partículas metálicas y por lo tanto reduce en gran medida el tiempo de reacción.
- Sonoquímica, la radicación ultrasónica crea puntos calientes en el microambiente, elevando la temperatura y presión de una manera importante (Aguilar, 2009).

2.4.3 Método Biológico

Los métodos biológicos surgen como una nueva opción para la obtención de nanomateriales, principalmente por la necesidad de utilizar métodos de síntesis amigables con el medio ambiente. En estas técnicas se puede emplear microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) o extractos de plantas para lograr la reducción de varios tipos de iones metálicos (Aguilar, 2009). Se ha demostrado que las plantas y los microorganismos son nano-fábricas convenientes en la síntesis de nanopartículas metálicas, que poseen un gran potencial al ser herramientas rentables, amables con el medio ambiente y con ellas se evita el uso de químicos tóxicos y agresivos (Nair, y otros, 2010), aunque también presentan algunas desventajas (tabla 1) (Zazo, Millán, Colino, & Lanao, 2017).

Tabla 1 Ventajas y desventajas en la síntesis de nanopartículas por medio de procesos verdes (Zazo, Millán, Colino, & Lanao, 2017)

Síntesis de nanopartículas por procesos verdes	
Ventajas	Desventajas
Variedad en tamaño, formas, solubilidad, estabilidad de NP's	No son homogéneas
Estructura única	Fácil agregación y oxidación
Síntesis verde	Dificultad de extracción y purificación de NP's en sistemas verdes
Más pequeñas que las partículas orgánicas	Síntesis lenta
Bajo costo	Acumulación en tejidos

2.4.4 Factores

La síntesis de nanopartículas es un proceso susceptible a diversos factores como: calidad y pureza de los reactivos, temperatura, pH, fuerza iónica, entre otros. El control de dichos factores permite tener un mayor dominio del tamaño, forma, naturaleza química, cristalinidad y dispersión de las nanopartículas producidas (Cruz, y otros, 2012).

2.4.5 Mecanismo

El mecanismo general de la formación de nanopartículas comprende tres etapas: la formación de átomos metálicos libres, nucleación y crecimiento.

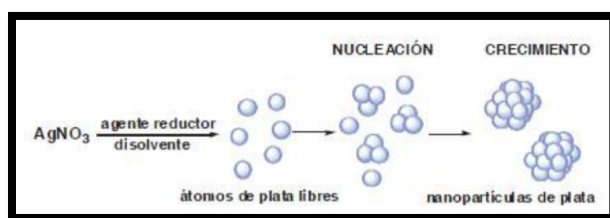


Figura 9 Mecanismo general de la formación de nanopartículas metálicas

Nota: Imagen obtenida de Google

2.4.6 Características de las nanopartículas metálicas

Plasmón de superficie. El plasmón de superficie es una propiedad que presentan las nanopartículas metálicas, debido a que los electrones de conducción producen ondas cuantizadas cuando son perturbados de sus posiciones de equilibrio. Los plasmones superficiales localizados son oscilaciones colectivas de electrones restringidos en pequeños volúmenes metálicos. El fenómeno ocurre cuando el tamaño de la partícula es menor que la longitud de onda incidente. El plasmón de una nanopartícula dependerá de la naturaleza del metal, tamaño y forma de la partícula. La banda de plasmón se presenta en la región del espectro UV-Vis en el intervalo de 420 nm a 450 nm (Siddiqui, Al-Whabi, & Firoz, 2015).

Las nanopartículas en solución tienden a aglomerarse debido a las fuerzas de Van der Waals y a la ausencia de fuerzas repulsivas. Una de las estrategias es proteger las partículas coloidales con un agente estabilizador, que pueda asociarse con la superficie de las partículas para mantenerlas suspendidas y por lo tanto prevenir su agregación, además de influir en la solubilidad, reactividad, tamaño y forma de las nanopartículas (Zazo, Millán, Colino, & Lanao, 2017).

Algunos tipos de nanopartículas metálicas son: Nanopartículas de oro, nanopartículas cerámicas, nanopartículas de cobre, nanopartículas de plata, entre otros.



- **Nanopartículas de plata (AgNP's)**

- Dentro de los metales nobles, la plata ha sobresalido por sus propiedades únicas. Además de presentar propiedades ópticas, magnéticas, eléctricas y catalíticas interesantes, las nanopartículas de plata poseen también propiedades biocidas o antimicrobianas y de baja toxicidad (Zazo, Millán, Colino, & Lanao, 2017). Estas últimas han encontrado aplicaciones en diversas áreas como la farmacología, medicina, industria alimentaria, purificación de agua, etc. Por lo que las nanopartículas de plata han suscitado mayor interés, debido a que las sales de este metal se han utilizado desde hace mucho tiempo en preparaciones (por ejemplo, en cremas tópicas) y vendajes, entre otros (Aguilar Mendez, 2009).
- La capacidad biocida de la plata (Ag) es conocida desde hace siglos para combatir infecciones y controlar la contaminación microbiana. En el siglo XIX se utilizaba AgNO_3 para promover la cicatrización de las heridas; en los años 40 se introdujo el uso de la plata (Ag) como tratamiento para infecciones bacterianas. En los años 60, el investigador Moyer introdujo el uso de AgNO_3 para el tratamiento de las quemaduras, además, de mencionar que poseía propiedades antibacterianas contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*; reportando que los iones plata provocan cambios estructurales irreversibles en la membrana celular de las bacterias, afectando las funciones de permeabilidad y respiración. El efecto bactericida de las nanopartículas de plata puede ser favorecido por la liberación de los iones una vez que éstas han ingresado al interior de las células, siendo una de las características más atractivas y por tal motivo se ha propuesto la implementación de las NP's Ag en dispositivos médicos (Flores, 2014).
- El tamaño y la forma de las nanopartículas de plata influyen de manera importante en la eficiencia como bactericida (entre más pequeña es la partícula mayor será la superficie de contacto y por lo tanto mayor será la actividad bactericida) (Aguilar, 2009).
- Las nanopartículas de plata tienen mayor área superficial específica comparadas con la plata a granel, lo que les proporciona más sitios activos y energía superficial superior; esto significa que son más sensibles al oxígeno y pueden recibir electrones fácilmente, lo que representa un aumento en la capacidad antimicrobiana.

2.4.7 Color

Las nanopartículas metálicas de oro, plata y cobre presentan propiedades ópticas y electrónicas únicas e interesantes; es familiar el color del oro, plata y cobre, pero los colores de estos metales son muy distintos cuando el diámetro de las partículas se hace pequeño (<100nm). Las nanopartículas en disolución coloidal o soportadas en sólidos absorben longitudes de onda visibles, dando lugar a los colores que abarcan el espectro visible. Los colores y propiedades de absorción se deben a la interacción de electrones de la superficie de las NP's Ag y el campo electromagnético, de lo que resulta la resonancia de plasmón superficial (SPR) en el intervalo de longitud de onda UV-Vis.



El ancho y la posición de las bandas se ven afectados por el tamaño, la forma y el estado de dispersión de las nanopartículas (Escobar Falconí, 2015).

La plata en estado metálico es inerte, pero en su forma iónica es altamente reactiva. El nitrato de plata (AgNO_3) al 0.5% en solución es utilizado para tratar heridas por quemaduras, sin embargo, en concentraciones $\geq 1\%$, ésta se vuelve tóxica para los tejidos. Pruebas *in vitro* con AgNO_3 han demostrado la presencia de daños en fibroblastos, hepatocitos y linfocitos (Aguilar, 2009).

2.4.8 Toxicidad

Existe poca información de las nanopartículas en general con respecto a su toxicidad, su tamaño y propiedades específicas hacen que puedan representar un riesgo para organismos mayores; se señala que los nanomateriales de 50 y 70 nm pueden penetrar en la células y pulmones respectivamente, mientras que aquellas de 30 nm pueden incluso llegar la sangre y cerebro. Las NP's Ag pueden generar daños en el medio ambiente debido a su acumulación, se consideran tóxicas porque provocan daños en la respiración celular y ciclos de división celular (Flores, 2014). A pesar de las controversias por los posibles daños que se puedan presentar por el uso de la plata en cualquiera de sus formas, este material se sigue utilizando ampliamente en la vida cotidiana del ser humano. Por tal motivo es necesario continuar con la investigación con la finalidad de discernir sobre los posibles efectos al ser humano y al medio ambiente (Aguilar, 2009).

2.5 Microorganismos

2.5.1 *Escherichia coli*

La familia Enterobacteriaceae está formada por más de 20 géneros bacterianos, aproximadamente 120 especies y miles de serotipos (combinación del antígeno somático y el flagelar). Las bacterias de esta familia son anaerobias facultativas. La mayor parte son de vida libre, algunas son comensales de animales vertebrados e invertebrados, sin embargo, también pueden ser patógenos causantes de enfermedades. *Escherichia coli* es la especie bacteriana más común del microbiota intestinal; se presenta como un comensal del intestino humano pocas horas después del nacimiento. *E. coli* y otras bacterias son necesarias para el funcionamiento correcto del proceso digestivo, además de ser responsables de producir vitaminas B y K. El tamaño promedio de los bacilos es de 0.5μ de ancho por 0.3μ de largo, cuando se utiliza la tinción de Gram se tiñen de rojo (gramnegativas). El género *Escherichia* incluye 7 especies (*E. adecarboxylata*, *E. alberti*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. vulneris* y *E. coli*). La diarrea aguda es una enfermedad intestinal generalmente infecciosa y autolimitada, se caracteriza por presentar evacuaciones líquidas o de consistencia disminuida. La enfermedad diarrea grave, es uno de los problemas de salud pública de mayor importancia en el mundo; *E. coli* es responsable de aproximadamente 630 millones de casos de diarrea en el mundo y entre 5 a 6 millones de muertes al año, afectando principalmente a la población infantil de países en desarrollo (Molina & Eslava, 2015).

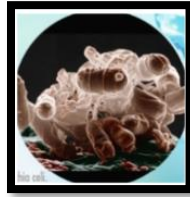


Figura 10 Imagen de la bacteria *Escherichia coli* (Fotografía de Eric Erbe)

Nota: Imagen obtenida de UNAM (Santillan, 2016)

2.5.2 *Staphylococcus aureus*

Las infecciones nosocomiales son uno de los problemas más importantes en salud pública con gran trascendencia económica y social, por lo que es necesario conocer la epidemiología y el impacto que estas infecciones tienen en el paciente crítico. Uno de los principales problemas asociados con estas enfermedades es la aparición de resistencia a los antibióticos de uso común, debido principalmente a su abuso e inadecuada utilización, generando microorganismos multirresistentes, así como aparición de brotes epidémicos, elevación en la morbimortalidad y en los costos. A nivel nosocomial *Staphylococcus aureus* es causa de una serie de infecciones de herida quirúrgica, de prótesis y otras, también es causa de una serie de infecciones producidas por toxinas como el síndrome de shock tóxico. Desde el punto de vista estructural *S. aureus* comparte las características de los gérmenes grampositivos (Cervantes, García, & Salzar, 2014).

Las infecciones causadas por *S. aureus*, no solo dependen de los factores de agresión que este microorganismo posee, sino también de alteraciones en los mecanismos de defensa del huésped; estas infecciones pueden ser de dos maneras:

- De forma directa, por invasión y posterior destrucción tisular local o luego de haberse diseminado por vía sanguínea (adherencia y colonización de las células del huésped).
- Por efecto de toxinas, generación de un foco infeccioso por la liberación al medio de las toxinas.

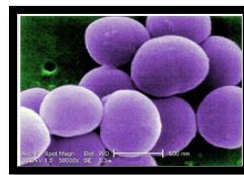


Figura 11 Imagen de la bacteria *Staphylococcus aureus*

Nota: Imagen obtenida de UNAM, 2017

2.5.3 *Candida albicans*

La atención primaria de salud es el núcleo de sistema de bienestar del país y forma parte integral del desarrollo socioeconómico general de la comunidad; dentro de esta asistencia sanitaria se encuentra de manera prioritaria la atención a los trastornos ginecológicos. El agente etiológico involucrado con mayor frecuencia es el hongo *Candida albicans*, este microorganismo es un componente del microbiota vaginal normal; sin embargo, al ser hongo oportunista, puede proliferar, razón por la cual ha emergido como una levadura altamente patógena en pacientes inmunosuprimidos. Este hongo destaca como el agente causal de 75% a 90% de las infecciones por levaduras. En México entre el 15% y 19% de las vaginitis son causadas por *C. albicans*; los factores predisponentes para esta infección son: clima cálido o templado, obesidad, deficiencias del sistema inmune, alérgenos locales como el DIU, ropa muy ajustada, estados de hiperglucemia, cambio de pH vaginal, etc. *C. albicans* tiene la facultad de adaptarse y crecer en situaciones de pH extremo, gracias al gen PHR1 cuya función es sintetizar la pared celular. (Sánchez & González, 2004)

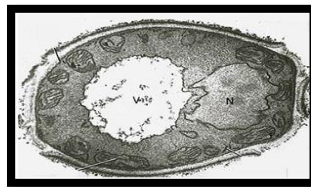


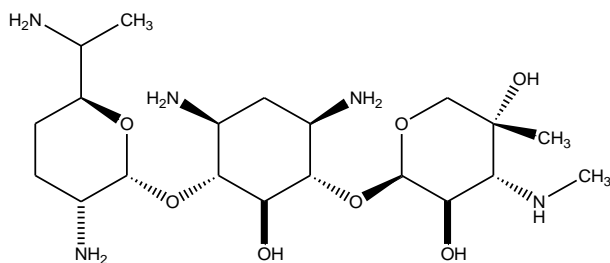
Figura 12 Micrografía electrónica de transmisión, morfología de *Candida albicans*

Nota: Imagen obtenida de (Castañón, 2016)

2.6 Antimicrobianos

2.6.1 Gentamicina

Antibiótico aminoglucósido de uso parental, producido por el actinomiceto, *Micromonospora purpurea*, tiene acción sobre las bacterias grampositivos y gramnegativos. Los microorganismos susceptibles a Gentamicina son *Pseudomona aeruginosa*, *Proteus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella-Enterobacter-Serratia*, *Citrobacter* y *Staphylococcus*. Se utiliza en el tratamiento de sepsis neonatal (infección de la sangre que ocurre en un bebe de menos de 90 días de edad), septicemia (infección grave y generalizada de todo el organismo debida a la existencia de un foco infeccioso en el interior del cuerpo del cual pasan gérmenes patógenos a la sangre), infecciones del sistema nervioso central (SNC), urinarias, respiratorias, gastrointestinales, huesos, piel y tejidos blandos. Gentamicina es un antibiótico bactericida que actúa a nivel ribosomal alcanzando el citoplasma bacteriano para poder ejercer su acción; atraviesa la membrana externa mediante porinas por un proceso pasivo y se difunde a través de la membrana celular en contra de un gradiente de concentración, logrando grandes concentraciones del antibiótico en el citoplasma (Rendón, 2010, citado por (Juárez, 2016)).



Gentamicina

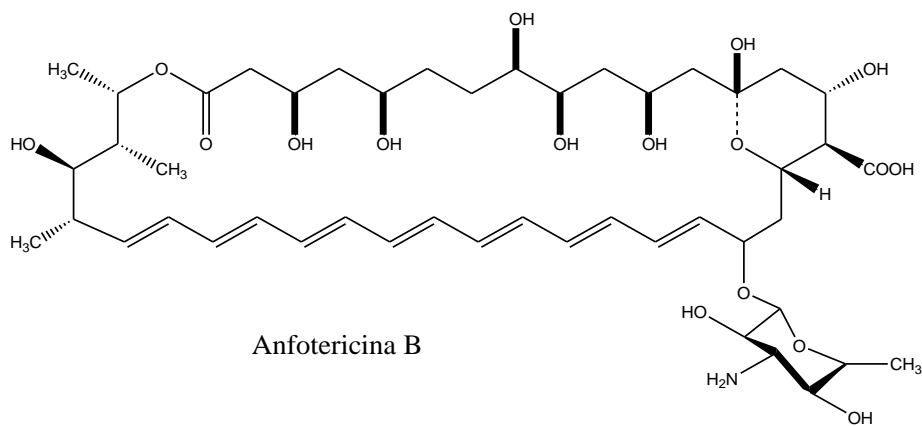
Figura 13 Estructura de la Gentamicina

Nota: Imagen adaptada de (molekuul, 2018)

2.6.2 Anfotericina B

Es un antifúngico polieno, descubierto en la década de los 50's como producto de la bacteria *Streptomyces nodosus*, es el fármaco de elección en la mayoría de las infecciones micóticas que amenazan la vida en pacientes inmunocomprometidos. La estructura química de la Anfotericina B es un macrólido hepteno; está formada por una porción hidrófila de varios carbonos hidroxilados, una porción hidrófoba que consta de 7 átomos de carbono unidos por dobles enlaces y una cadena lateral de micosamina que es un aminodesoxihexosa. Se comporta como fungicida o fungistático dependiendo de la sensibilidad del hongo y de la concentración alcanzada.

Mecanismo de acción: Se fija a los esteroides de la membrana de las células eucariotas, pero no de las procariontas. Es mayor su afinidad por el ergosterol de los hongos que por el colesterol de las células de mamíferos. Resultando una alteración en la estructura de la membrana, por la formación de poros compuestos de pequeños agregados de anfotericina B y esteroides. Estos poros generan una despolarización de la membrana y un aumento de la permeabilidad para protones y cationes monovalentes (Thompson, 2002, citado por Juárez, 2016).



Anfotericina B

Figura 14 Estructura de Anfotericina B

Nota: Imagen obtenida de (Sheppard & Lampiris, 2019)



2.7 Diseño de experimentos

La técnica de ensayo y error es una práctica muy común en las ciencias experimentales, este modo apela a la experiencia y la intuición. Esta forma de obtener el conocimiento consiste en probar una alternativa y verificar si funciona. Si es así, se tiene una solución; en caso contrario si el resultado es erróneo se intenta una alternativa diferente. Sin embargo, en situaciones de cierta complejidad no es suficiente aplicar este tipo de experimentación, por lo que es mejor proceder siempre en una forma eficaz que garantice la obtención de las respuestas a las interrogantes planteadas en un lapso corto de tiempo y utilizando pocos recursos.

El diseño estadístico de experimentos es la forma eficaz de hacer pruebas; consiste en determinar cuáles pruebas se deben realizar y de qué manera; su objetivo es proceder desde una etapa en el que se conoce muy poco sobre la influencia de las variables sobre un proceso, hasta otro en el que la relativa importancia de las variables puede ser conocida. Para alcanzar el objetivo, debe diseñarse un experimento que permita estimar la magnitud y la dirección de los efectos de todas las variables. El procedimiento consiste en estimar un modelo de superficie de respuesta, este modelo contiene términos lineales de las variables de interés y términos cruzados que describen los efectos de interacción. Las variables (factores) significativas pueden ser detectadas mediante distintas pruebas estadísticas (Blanco & Cerdá, 2007).

Algunos ejemplos típicos que pueden resolverse con el diseño y el análisis de experimentos son los siguientes:

- Comparar varios instrumentos de medición para verificar si trabajan con la misma precisión y exactitud.
- Determinar los factores de un proceso que tiene impacto sobre una o más características del producto final.
- Encontrar las condiciones de operación (temperatura, velocidad, humedad) donde se reduzcan los efectos o se logre un mejor desempeño del proceso.
- Hacer el proceso insensible o robusto a oscilaciones de variables ambientales.
- Apoyar el diseño o rediseño de nuevos productos o procesos.
- Ayudar a conocer y caracterizar nuevos materiales.

El diseño de experimentos es un conjunto de técnicas activas, en el sentido que no esperan que el proceso mande las señales útiles, sino que éste se manipula para que proporcione la información que se requiere para su mejoría. El saber diseño de experimentos y otras técnicas estadísticas sitúan al responsable de éste, como un observador perceptivo y proactivo que es capaz de proponer mejoras y de observar algo interesante (oportunidades de mejora) en el proceso y en los datos, donde otra persona no ve nada. El objetivo de los métodos estadísticos es lograr que el proceso de generar conocimiento y aprendizaje sea lo más eficiente posible. En este proceso interactúan dos polos, por un lado, están la teoría, los modelos, la hipótesis, las conjeturas y los supuestos y por el otro están la realidad, los hechos, los fenómenos, la evidencia y los datos.

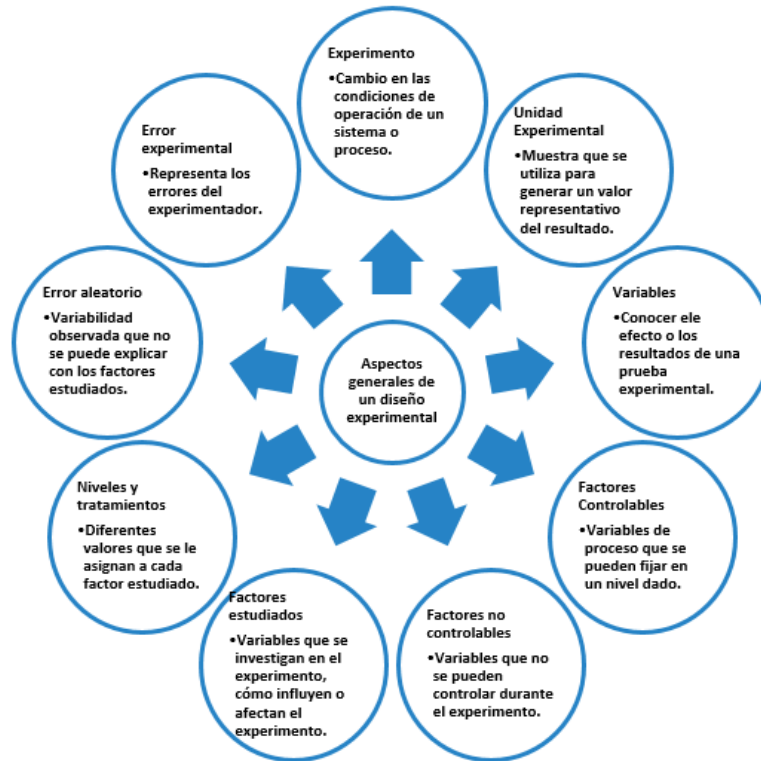


Figura 15 Aspectos generales del diseño experimental (Blanco & Cerdá, 2007)

2.7.1 Etapas en el diseño de experimentos

Un aspecto fundamental del diseño de experimentos es decidir qué pruebas o tratamientos se van a realizar y cuántas repeticiones de cada uno se requieren para obtener la máxima información al mínimo costo posible. Para que el estudio experimental sea exitoso es necesario realizar, por etapas diferentes actividades (Blanco & Cerdá, 2007).

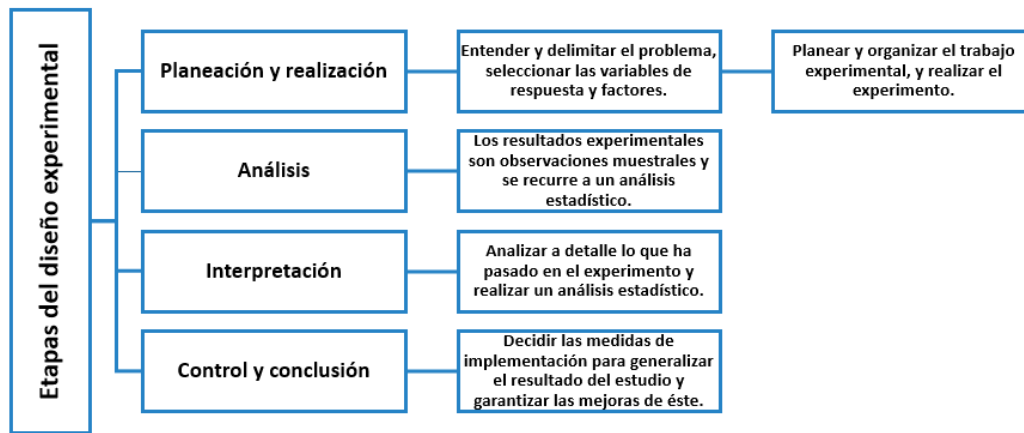


Figura 16 Etapas de un diseño experimental (Blanco & Cerdá, 2007)



2.8 Espectroscopia

Espectroscopia es el estudio de la interacción de la radiación electromagnética y la materia, con la absorción o emisión de energía radiante. Espectrofotometría es una técnica analítica que utiliza la absorción de la radiación electromagnética por una muestra (o solución) como una propiedad relacionada con la composición y la cantidad de materia en la muestra analizada. Espectro se define como la distribución de la intensidad de una magnitud característica, como longitud de onda, la energía, la frecuencia o la masa (Gooch, 2006). Las técnicas espectroscópicas son técnicas analíticas que funcionan con pequeñas cantidades de muestra y no son destructivas (Simonet, Cruz, & Ríos, 2014).

2.8.1 Espectroscopia UV-Vis

La espectroscopia de absorción molecular UV-Vis comienza a desarrollarse por el año 1704 por Isaac Newton y alcanza su desarrollo hasta finales de los años 30's del siglo XX. Este hecho permitió la sustitución de sistemas de detección fotográfica por sistemas de detección fotoeléctrica, convirtiéndose en una herramienta necesaria en los laboratorios de análisis. La zona UV-Vis ocupa un intervalo de frecuencias o longitudes de onda relativamente pequeño dentro del espectro de la radiación electromagnética, las diferencias de energía corresponden a transiciones entre estados electrónicos de los átomos y de las moléculas, recibiendo el nombre de espectroscopia electrónica. Los espectros electrónicos de las moléculas se encuentran en el intervalo de longitudes de onda entre 100 y 800 nm en el espectro electromagnético, la región visible (sensible el ojo humano) está entre 400 y 780 nm.

La espectroscopia, en las regiones UV-Vis e Infrarrojo (IR) están consideradas en la espectroscopía óptica, debido a la similitud de los componentes instrumentales que se utilizan para su medida. La interacción de la radiación electromagnética con la materia da lugar a diferentes tipos de procesos que incluyen dispersión, reflexión, absorbanza, fluorescencia/fosforescencia, y la interacción materia y energía se manifiesta en forma de color. Cuando una fuente de luz blanca incide sobre una sustancia coloreada, parte de la radiación será absorbida y el resto pasará a través, o se reflejará si se trata de un material sólido. Nuestros ojos perciben y detectan el color de la luz que no se absorbe, es decir, la radiación transmitida o reflejada por el objeto.



Tabla 2 Divisiones del espectro de la radiación electromagnética en la zona UV-Vis, adaptado de Pretsch, 2009

Región λ (nm)	Nombre
100-200	Ultravioleta de vacío
200-400	Ultravioleta cercano
Región λ (nm)	Color absorbido- complementario
400-420	Violeta- amarillo verdoso
420-440	Índigo- amarillo
440-480	Azul- amarillo
480-500	Verde, azulado- naranja, rojizo
500-560	Verde- púrpura
560-580	Amarillo, verdoso- violeta
580-595	Amarillo- azul
595-650	Naranja- verde, azulado
650-780	Rojo- azul, verdoso

La región ultravioleta de vacío tiene poca utilidad analítica por las restricciones instrumentales y experimentales que se encuentran al trabajar a tan bajas longitudes de onda. Para explicar el efecto de la anchura en las bandas espectrales se debe considerar que la energía asociada a las bandas de absorción molecular está formada por 4 energías:

$$E = E_{\text{electrónica}} + E_{\text{vibracional}} + E_{\text{rotacional}} + E_{\text{traslacional}}$$

- *E electrónica*: Energía electrónica de la molécula, que resulta de los estados energéticos de los electrones enlazantes.
- *E vibracional*: Energía total asociada a las múltiples vibraciones interatómicas que se pueden producir en la molécula.
- *E rotacional*: Energía debida a los movimientos rotacionales permitidos en una molécula.
- *E traslacional*: Representa en el caso de que las partes de un objeto sigan una misma dirección.

Las transiciones electrónicas se producen a frecuencias relativamente altas, mientras que las vibracionales requieren una menor energía y las rotacionales aún menor. Cuando la molécula absorbe energía en la zona UV-visible, se producen cambios en la energía electrónica, vibracional, rotacional y traslacional de la molécula. La absorción en el UV-Vis está asociada a la presencia en la molécula de grupos funcionales (cromóforos) que contienen electrones de valencia con energías de excitación relativamente bajas. Un cromóforo es la parte de la molécula (átomo o grupo de átomos) en la que se localiza la transición electrónica responsable de la aparición de una banda de absorción molecular. La presencia de varios cromóforos en una misma molécula da lugar a sistemas conjugados que presentan un comportamiento característico en el UV-Vis (Simonet, Cruz, & Ríos, 2014).



2.8.2 Espectroscopia Infrarroja

La región infrarroja (luz que tiene una frecuencia más baja que el color rojo) inicia después del rojo (espectro visible) y llega hasta la región del microondas. La mayoría de las moléculas absorben radiación debido a sus transiciones entre sus estados vibracionales y rotacionales, por lo que un requisito indispensable es que las moléculas sean polares o que produzcan una variación en su momento dipolar como consecuencia de los cambios vibracionales o rotacionales que experimentan al interactuar con la radiación. La región infrarroja del espectro electromagnético se suele dividir en tres partes debido a las diferencias de energía y a las transiciones involucradas, así como a la configuración de la instrumentación requerida por la obtención de los correspondientes espectros.

Tabla 3 Regiones del espectro infrarrojo (Ríos, Cruz, & Simonet, 2007)

Región	Frecuencia (cm ⁻¹)	Longitud de onda nm	Tipo de transición
Infrarrojo cercano (NIR)	4000-12800	2500-780	Vibración (sobretonos y combinación)
Infrarrojo medio (MIR)	400-4000	25-0.25	Vibración + rotación (fundamentales)
Infrarrojo lejano (FIR)	10-400	1-0.025	Rotación pura, vibración esqueleto

La región del MIR corresponde a las transiciones fundamentales entre los estados vibracionales de más baja energía hasta el primer estado excitado; en la región NIR se producen las transiciones correspondientes a la excitación de un modo normal de vibración al segundo estado excitado o superiores (sobretonos) o combinación de bandas y en la región FIR aparecen bandas de absorción correspondientes a torsiones de baja frecuencia y rotación interna en líquidos y vibraciones de red en sólidos. Las bandas que aparecen en la región del infrarrojo corresponden a los movimientos de vibración y rotación de las moléculas. Todas las moléculas tienen cierta cantidad de energía distribuida en su estructura, que hace que los enlaces se estiren y contraigan, que los átomos oscilen y que se presenten otras vibraciones moleculares. Un enlace químico se puede visualizar como un sistema de dos masas A y B, conectadas por un resorte, cada tipo de enlace absorbe radiación infrarroja a una frecuencia distinta, esto permite determinar qué grupos funcionales posee la molécula de estudio (Ríos, Cruz, & Simonet, 2007). La cantidad de energía que posee una molécula no es una variable continua, si no cuantizada; una molécula sólo se puede estirar o flexionar en determinadas frecuencias (McMurry, 2004). La frecuencia de la vibración depende de las masas de los átomos y de la rigidez del enlace; los átomos más pesados vibran más lentamente que los átomos ligeros, en un grupo de enlaces con energías de enlace similares, la frecuencia disminuye al aumentar la masa atómica. Los enlaces más fuertes generalmente son más rígidos, por lo que se requiere más fuerza para alargarlos o comprimirlos. Como consecuencia, los enlaces más fuertes generalmente vibran más deprisa que los enlaces más débiles; en un grupo de átomos que tengan masas similares, la frecuencia aumenta al aumentar la energía de enlace (Wade, 2004).

Para que una molécula absorba radiación infrarroja debe cumplir con:

- La frecuencia de radiación (fotón) debe ser la adecuada para permitir la transición entre estados vibracionales. Cuando el momento dipolar de la molécula interacciona con el campo eléctrico de la onda. Las moléculas apolares no absorben en la zona del infrarrojo y moléculas poco polares dan lugar a absorciones muy débiles. Solo aquellos enlaces cuya vibración provoque un cambio en el momento dipolar de la molécula absorberán en el infrarrojo.
- No todos los modos de vibración absorben en la zona del infrarrojo, para que absorban, el enlace debe poseer un momento dipolar diferente en magnitud respecto del estado vibracional excitado (Wade, 2004).

Los modos vibracionales, tienen nombres descriptivos, como ser de tensión (stretching), de flexión (bending), de tijera (scissoring), balanceo (rocking), cabeceo (wagging) y torsión (twisting). Vibración de tensión (stretching). Los átomos unidos por enlaces simples, dobles o triples se acercan y alejan siguiendo la dirección del enlace, se presentan dos modos de vibración de tensión. Vibración de flexión (bending). Los átomos vibran de modo que varían los ángulos, pero no las longitudes de enlace. Hay 4 modos de vibración de flexión: tijera (scissoring), balanceo (rocking), cabeceo (wagging) y torsión (twisting). Estos dos tipos de vibración tienen lugar en el plano que contiene los tres átomos que participan en la vibración. Los modos de vibración de cabeceo y torsión tienen lugar fuera del plano (out of plane) y suelen representarse por oop.

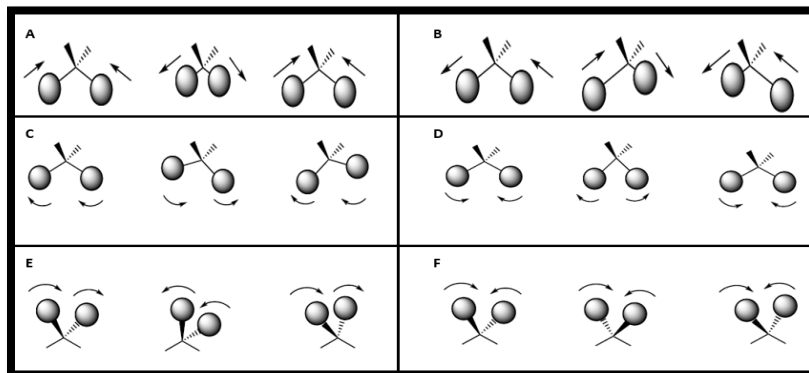


Figura 17 Tipos de tensión en el enlace: A) simétrica y B) asimétrica, tipos de vibraciones en el enlace: C) Flexión de balanceo, D) Flexión de tijera, E) Flexión en cabeceo y F) Flexión en torsión

Nota: Imagen obtenida de Wikipedia

En general, si un enlace tiene un momento dipolar, su frecuencia de tensión produce una absorción en el espectro IR. Si un enlace está simétricamente sustituido y su momento dipolar es cero, no hay vibración de tensión en el espectro o ésta es débil. Los enlaces con momentos dipolares iguales a cero a veces producen absorciones (generalmente débiles) porque las colisiones moleculares, rotaciones y vibraciones hacen que estos enlaces sean asimétricos parte del tiempo. Después de absorber la energía, el enlace vibra con la misma frecuencia, pero con mayor amplitud, dando como resultado las señales en el espectro infrarrojo (Wade, 2004). La interpretación de un espectro es



difícil porque en su mayor parte las moléculas orgánicas son tan grandes que tienen decenas de movimientos de estiramiento y flexión de enlaces. El espectro infrarrojo contiene decenas de bandas de absorción; esta complejidad es valiosa porque un espectro infrarrojo es una huella digital única de un compuesto específico. La región compleja del espectro infrarrojo, que va de 1500 cm^{-1} a unos 400 cm^{-1} se llama región dactilar o dactiloscópica. La mayor parte de los grupos funcionales tienen bandas características de absorción infrarroja que no cambian de un compuesto a otro. Si se sabe dónde se encuentran las absorciones de los grupos funcionales característicos, es posible obtener información estructural de los espectros infrarrojos.

Tabla 4 Características de absorción en el infrarrojo de algunos grupos funcionales, (Wade, 2004)

Frecuencia (cm^{-1})	Grupo funcional	Comentario	
3300	Alcohol	O-H	Siempre es ancha
	Amina, amida	N-H	Puede ser ancha, puntiaguda o ancha con picos
3000	Alquino	$\equiv\text{C-H}$	Siempre es puntiaguda, generalmente intensa
	Alcano	-C-H	Justo por debajo de 3000 cm^{-1}
	Alqueno	=C-H	Justo por encima de 3000 cm^{-1}
2200	Ácido	O-H	Muy ancha
	Alquino	-C \equiv C-	Justo por debajo de 2200 cm^{-1}
1720	Nitrilo	-C \equiv N	Justo por encima de 2200 cm^{-1}
	Carbonilo	C=O	Cetonas, aldehídos, ácidos, superior en el caso de los ésteres, aproximadamente 1735 cm^{-1} la conjugación disminuye la frecuencia más bajo en el caso de las amidas aproximadamente 1650 cm^{-1}
1660	Alqueno	C=C	La conjugación disminuye la frecuencia en el caso de C=C aromático aproximadamente 1600 cm^{-1}
	Imina	C=N	Más intensa que en el C=C
	Amida	C=O	Más intensa que en el C=C

Los éteres, ésteres y alcoholes presentan tensiones C-O entre 1000 y 1200 cm^{-1}

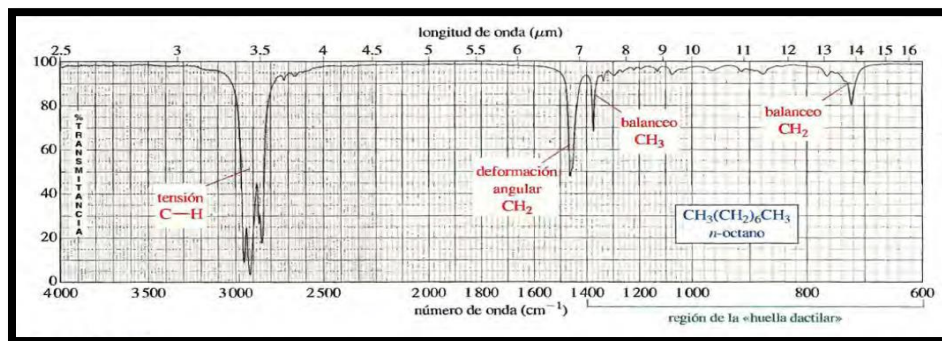


Figura 18 Ejemplo del espectro infrarrojo de *n*-octano

Nota: Imagen obtenida de (Wade, 2004)

2.9 Microscopía Electrónica de Barrido

La posibilidad de observar muestras íntegras y en sus tres dimensiones, mediante la microscopía electrónica, fue hecha realidad con la aparición del microscopio electrónico de barrido o Scanning Electron Microscopy (SEM). Los conceptos básicos para esta microscopía fueron propuestos por Knoll en 1965 (Renau & Faura). El microscopio electrónico de barrido (SEM), utiliza electrones en lugar de luz para formar una imagen, para lograrlo, el equipo cuenta con un dispositivo (filamento) que genera un haz de electrones para iluminar la muestra y con diferentes detectores se recogen después los electrones generados de la interacción. Con la superficie de interacción se puede crear la imagen que refleja las características superficiales de la misma, pudiendo proporcionar información de las formas y texturas.

Tabla 5 Puntos comunes y diferentes entre Microscopio electrónico de transmisión (TEM) y microscopio electrónico de barrido (SEM), (Renau & Faura)

TEM	SEM
Necesidad de alto vacío	Necesidad de alto vacío
Haz electrónico estático	Haz electrónico móvil
Haz electrónico no puntual	Haz electrónico puntual
Necesidad de secciones ultrafinas	Muestras íntegras
Electrones transmitidos	Electrones secundarios
Lente proyectora	Ausencia de lente proyectora
Pantalla en el interior de la columna	Pantalla en tubo Brown
Imagen en dos dimensiones	Imagen tridimensional
Resolución de 0.5 nm	Resolución de 10 nm
Aumentos hasta 500,000	Aumentos hasta 140,000
Contraste químico de la muestra	Contraste químico

El fundamento del SEM radica en que los electrones emitidos por un cátodo de tungsteno pasan a través de una columna en la que se ha hecho un vacío de alrededor de 10^{-7} Torr. En ella, el haz inicial es concentrado por una serie de lentes electromagnéticas desde unos 250,000 – 500,000 nm hasta



unos 10 nm; es decir, su diámetro va disminuyendo hasta hacerse casi puntual. Al mismo tiempo, la intensidad de corriente se disminuye desde unos 10^{-4} Å hasta 10^{-12} Å (menor intensidad implica menor cantidad de electrones primarios). En la interacción del haz electrónico con la superficie se producen electrones secundarios, donde cada uno de ellos dará origen a un fotón; cada fotón dará origen a un fotoelectrón que producirá una gran cantidad de electrones secundarios. Los electrones secundarios son dirigidos hacia un tubo semejante a un osciloscopio de rayos catódicos sobre cuya pantalla se producirá la imagen (Renau & Faura).

2.10 Z-sizer

El equipo Zeta-sizer Nano Z está diseñado para la medición del tamaño y la microreología mediante la dispersión de luz dinámica. La dispersión de la luz dinámica (DLS) es una técnica no invasiva y bien establecida para medir el tamaño y distribución del tamaño de las moléculas y partículas típicamente en la región submicrométrica, y con la última tecnología, inferiores a 1 nm.

La dispersión de luz dinámica se utiliza para la caracterización de partículas, emulsiones o moléculas que se han dispersado o disuelto en un líquido. El movimiento Browniano de las partículas o moléculas en suspensión hace que la luz láser se disperse en diferentes intensidades. Del análisis de estas fluctuaciones de intensidad se obtiene la velocidad de movimiento Browniano y por lo tanto el tamaño de partículas utilizando la relación de Stokes-Einstein (Malvern, 2011).



Figura 19 Equipo Zetasizer Nano ZS90 Malvern®

Nota: Imagen obtenida de Malvern®

2.11 Método de Simpson por integral definida

El método de Simpson es una regla de integración aproximada para una curva, donde se utilizan parábolas en lugar de segmentos de recta. Consta en dividir en n intervalos (a, b) de igual longitud $h = \Delta x = (b-a) / n$, suponiendo que n es un número par. Por lo tanto, en cada par consecutivo de intervalos la curva $y = f(x) \geq 0$ es aproximada mediante una parábola (color rojo) como se muestra en la figura 20. Si $y_i = f(x_i)$, entonces $P_i(x_i, y_i)$ es el punto sobre la curva que yace arriba del punto x_i . Una parábola representativa pasa por tres puntos consecutivos P_i, P_{i+1} y P_{i+2} .

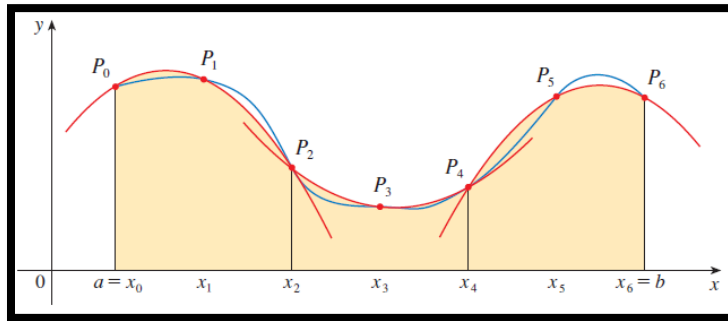


Figura 20 Método de Simpson, Representación de una curva por medio de parábolas (Stewart, 2008)

Si se calculan de este modo las áreas debajo de todas las parábolas y se suman los resultados, se obtiene:

$$\int_a^b f(x)dx \approx \frac{h}{3}(y_0 + 4y_1 + y_2) + \frac{h}{3}(y_2 + 4y_3 + y_4) + \dots + \frac{h}{3}(y_{n-2} + 4y_{n-1} + y_n)$$

$$= \frac{h}{3}(y_0 + 4y_1 + 2y_2 + 4y_3 + 2y_4 + \dots + 2y_{n-2} + 4y_{n-1} + y_n)$$

Aunque se ha derivado esta aproximación para el caso en el que $f(x) \geq 0$, es una aproximación razonable para cualquier función continua f y se llama regla de Simpson en honor al matemático inglés Thomas Simpson (Notar el patrón de coeficientes: 1, 4, 2, 4, 2, 2, 2, ..., 4, 2, 4, 1 (Stewart, 2008).

$$\int_a^b f(x)dx \approx S_n = \frac{\Delta x}{3}[f(x_0) + 4f(x_1) + 2f(x_2) + 4f(x_3) + \dots + 2f(x_{n-2}) + 4f(x_{n-1}) + f(x_n)]$$

Figura 21 Método de Simpson, regla de integración aproximada para parábolas

Donde n es par y $\Delta x = \frac{(b-a)}{n}$



3 Objetivo general

- Desarrollar una metodología de síntesis de nanopartículas de plata empleando como agente reductor extracto acuoso de *Solanum rostratum* D. (duraznillo) para su caracterización y probable actividad biológica.

3.1 Objetivos particulares

- Elaborar una lista de plantas utilizadas en la flora mexicana que contengan compuestos químicos con capacidad reductora.
- Seleccionar a la especie idónea que permita sintetizar las nanopartículas a través de una reacción de reducción de plata.
- Investigar la información existente de la especie seleccionada a través de una búsqueda bibliográfica en medios impresos y digitales para conocer el estado del arte.
- Recolectar en el municipio de Melchor Ocampo, Estado de México el material vegetal necesario para la realización de la experimentación.
- Determinar la identidad del material recolectado por expertos botánicos del Herbario IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala para su correcta caracterización taxonómica.
- Desarrollar una metodología de extracción, ensayando entre métodos continuos y discontinuos para su uso en la síntesis de nanopartículas de plata.
- Examinar el extracto acuoso de *Solanum rostratum* D. mediante pruebas químicas a la gota para conocer de manera presuntiva los grupos fitoquímicos presentes en el extracto acuoso.
- Diseñar una metodología experimental empleando un análisis estadístico que permita obtener las mejores condiciones de síntesis de las nanopartículas de plata.
- Examinar las nanopartículas de plata sintetizadas mediante espectroscopia UV-Vis, Infrarrojo y Microscopia Electrónica de Barrido para su caracterización.
- Determinar la actividad biológica de las nanopartículas de plata sintetizadas por un ensayo de actividad antimicrobiana y antifúngica para considerar su potencial uso farmacológico.

3.2 Hipótesis

Si el extracto acuoso de la especie *Solanum rostratum* D. posee componentes químicos con capacidad reductora, esto permitirá diseñar una metodología para la obtención de partículas de plata con un tamaño menor a 100 nm y evaluar si tienen potencial farmacológico con un ensayo de actividad antimicrobiana y antifúngica.



4 Metodología

4.1 Selección de la especie idónea con capacidad reductora

Se elaboró una lista de plantas cuyas entidades químicas sean capaces de reducir al ion plata, entre éstas se consideró a: chíá, pericón, toronjil, duraznillo y chilchahua. Se prepararon los extractos acuosos de cada planta y se probaron con una solución de nitrato de plata 1mM con el fin de seleccionar aquellas que dieran un cambio de color del medio de reacción y por la aparición de una banda de alrededor de los 450 nm en el espectro de absorción UV-Vis, indicativo de la formación de nanopartículas de plata. De estas plantas se seleccionó al duraznillo. Los espectros de absorción se obtuvieron con un espectrofotómetro UV-Vis (Marca Dynamica, HALO XB-10/VIS 20).

4.2 Búsqueda bibliográfica

Se realizó una investigación bibliográfica de la planta seleccionada (duraznillo) tanto en medios digitales como impresos.

4.3 Recolección del material vegetal *Solanum rostratum* D. (duraznillo)

La recolección de la planta *Solanum rostratum* D. (duraznillo) se realizó en el mes de julio en los ejidos de Visitación correspondientes al Municipio de Melchor Ocampo, Estado de México, con una altitud entre 2,200 y 2,400 msnm, latitud entre los paralelos 19° 41' y 19° 45' de latitud norte.

Los ejidos son tierras aptas para agricultura, pastizales, donde se observan arboles de pirul, fresno, pino, zapote, eucalipto, jacaranda y huizache; entre las hierbas más comunes y medicinales se encuentran gordolobo, marrubio, ruda, malva, berro, epazote, rosa blanca, gigantón, entre otros (Wikipedia, 2019).

4.4 Identificación botánica del material vegetal *Solanum rostratum* D. (duraznillo)

El material vegetal se llevó al herbario IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM para realizar su identificación taxonómica.

4.5 Conservación y preparación de la materia prima vegetal

La planta recolectada se conservó utilizando un método de desecación natural a la sombra, se extendió el material vegetal encima de papel secante, cubriéndolo de la luz y el polvo, ya secó se trituró utilizando un procesador de alimentos (Picadora clásica 1, 2, 3 Moulinex, Figura 21), activándolo por intervalos de 1 a 2 min. El material vegetal triturado se colocó en una serie de tamices con el fin de clasificar el polvo obtenido. Se seleccionó el material vegetal que pasó el tamiz

80 (luz del tamiz: 0.180 mm) clasificándolo de acuerdo con los criterios de la FHEUM (2013) como un polvo fino, el cual se guardó en un recipiente hermético protegido de la luz.



Figura 22 Equipo utilizado para la molienda. (Fotografía de Oscar González Romero). (Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, 2017). Archivo del autor

4.6 Obtención de extractos por gradiente de polaridad de duraznillo

Se colocaron en el equipo Soxhlet 10 g de planta y se sometió a una extracción por gradiente de polaridad, utilizando 150 mL de cada disolvente y en este orden, hexano, acetato de etilo, etanol y agua. Posteriormente, se concentró cada fracción a sequedad por destilación a presión reducida, utilizando un rotavapor marca BUCHI® R-205 (Figura 23).

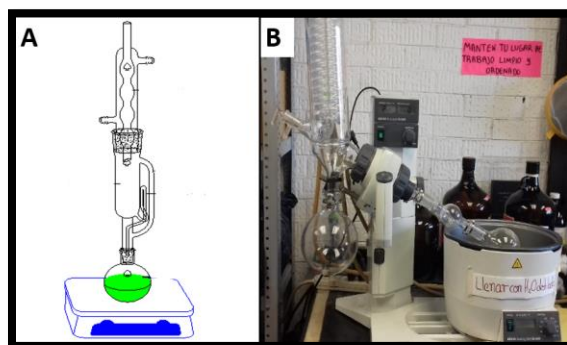


Figura 23 A) Equipo Soxhlet, obtención de extractos de duraznillo por gradiente de polaridad y B) Rotavapor para concentrar los extractos de duraznillo. (Fotografía de Oscar González Romero). (Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, 2017). Archivo del autor

4.7 Ensayo Fitoquímico

Se realizó un tamizaje fitoquímico a las fracciones secas, que consistió en una serie de pruebas a la gota. En la figura 23, se muestra la secuencia de pruebas realizadas. Los resultados se registraron como: Abundante (+++), moderado (++) , escaso (+), dudoso (+/-) y negativo (-), de acuerdo con los criterios de Domínguez (1973).

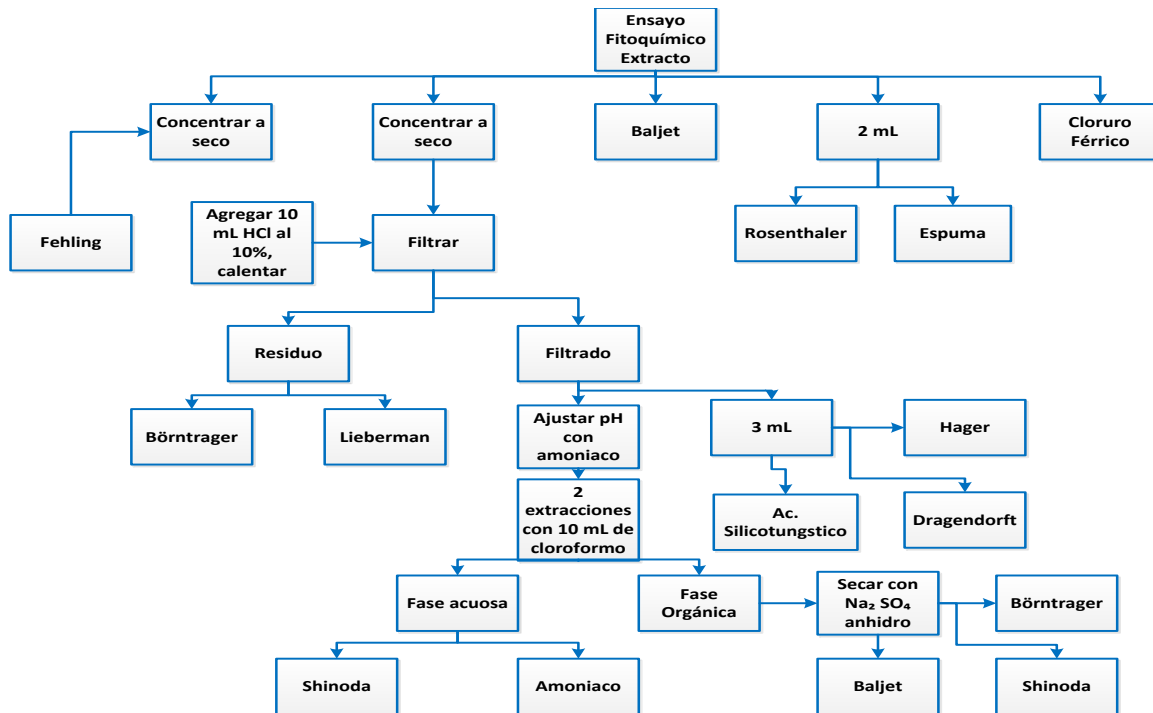


Figura 24 Tamizaje fitoquímico

5 Síntesis de nanopartículas de plata (NP's Ag)

Para establecer los factores en la síntesis de nanopartículas se hicieron ensayos previos considerando las siguientes variaciones:

- Método de extracción: Se ensayó la síntesis de nanopartículas con extractos procedentes de métodos continuos (Soxhlet) y discontinuos (maceración y digestión), para establecer el tipo de extracción a utilizar.
- Variación de la base: Se ajustó el pH durante la extracción utilizando diferentes bases (NaOH, NH₄OH, Ca(OH)₂ y NaHCO₃).
- Concentración de la base: Con la base seleccionada se analizó con diferentes concentraciones.
- Temperatura: Variación en la temperatura durante la obtención del extracto.
- Volumen de AgNO₃: Se ensayaron diferentes cantidades de AgNO₃ 1nM.

Una vez que finalizaron los ensayos previos se seleccionaron los factores y se establecieron los niveles. Con los datos obtenidos se elaboró un diseño experimental factorial, dos niveles y tres puntos centrales, utilizando como respuesta, tamaño de partícula e índice de polidispersión, empleando el software Design-Expert 7.0.0®.

Para la obtención del extracto acuoso se utilizó un método de extracción discontinua, pesando 0.5 g de polvo de duraznillo en un vaso de precipitados y se adicionaron 0.5 mL de una solución acuosa de hidróxido de sodio (concentraciones de NaOH: 2.5M, 3.75M y 5M) y 5 mL de agua destilada caliente (Temperatura del agua: 60°, 70° y 80°). Se dejó en reposo hasta alcanzar la temperatura ambiente. Se centrifugó a 2500 rpm (centrifuga UNICO®, Modelo: C858) durante 5min, separando el extracto crudo del marco agotado, desechándose este último sin tratamiento previo. El extracto se reservó para su uso en la síntesis de nanopartículas de plata (NP'sAg).

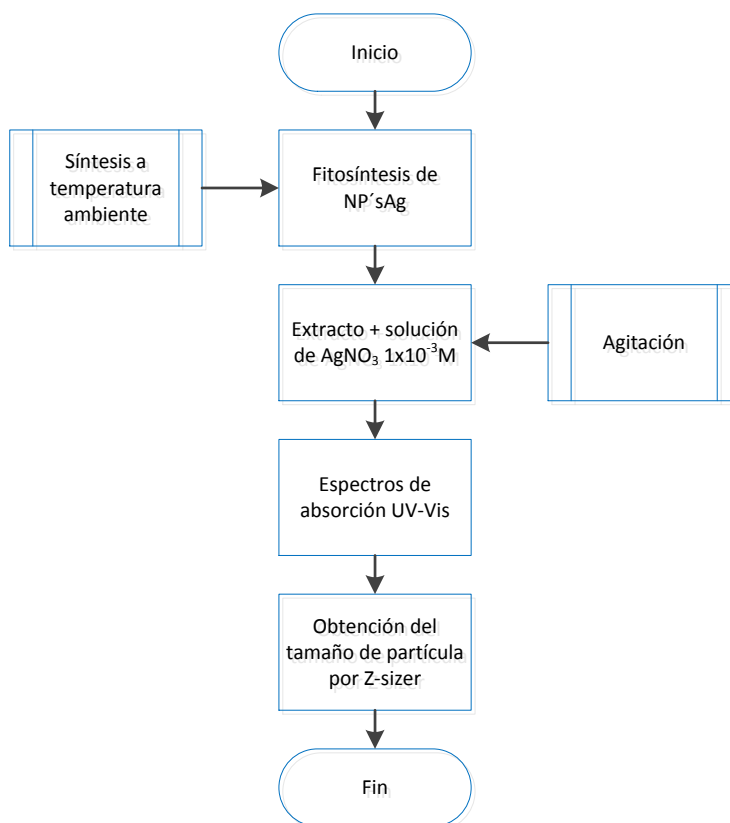


Figura 25 Síntesis de nanopartículas de plata de duraznillo

5.1 Determinación del tamaño de partícula

Para la determinación del tamaño de partícula, se utilizó un equipo Z-sizer, modelo Nano-ZS90 de la marca Malvern® (figura 26).



Figura 26 Equipo Zetasizer (Malvern®, Nano-ZS90)

Nota: Imagen obtenida de Malvern®

5.2 Separación de las nanopartículas de plata de duraznillo (Ag NP's duraznillo)

Para la separación de las NP'sAg se utilizó una ultracentrifugadora modelo Óptima XL-100K, de la marca Beckman Coulter®, rotor SW28. Se colocaron 43 mL de la solución coloidal de la síntesis de nanopartículas, se centrifugó a una velocidad de 12500 rpm durante 20 min hasta su separación. El sobrenadante se retiró del tubo de centrifuga y de las NP'sAg se suspendieron con una pequeña cantidad de agua destilada y se conservaron en un frasco ámbar para su posterior uso.

5.3 Rendimiento y concentración en la síntesis de nanopartículas de plata del extracto acuoso de duraznillo

La suspensión coloidal que se obtuvo después de la ultracentrifugación se colocó en un matraz volumétrico de 50 mL y se llevó al aforo con agua destilada, se determinó el espectro de absorción UV-Vis. El rendimiento y concentración de la síntesis de nanopartículas se determinó por el método de Simpson.



6 Caracterización de las nanopartículas de plata

6.1 Espectroscopia por Infrarrojo

Los espectros de absorción infrarroja se obtuvieron en un espectrofotómetro infrarrojo marca Thermo Scientific®, modelo Nicolet iS10FT. Se adquirieron los espectros de extractos acuoso y acuoso con base, nanopartículas de plata y sobrenadante; los que se liofilizaron previamente.

6.2 Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)

Las NP'sAg de duraznillo separadas por ultracentrifugación se prepararon para su caracterización por Microscopia Electrónica de Barrido de la siguiente forma: se colocó una gota de la suspensión de NP'sAg de duraznillo en un cubreobjetos limpio y seco, se llevaron al Laboratorio de Microscopia Electrónica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán C-1 para obtener las micrografías de las NP'sAg de duraznillo y observar su morfología.

6.3 Extracto acuoso de duraznillo liofilizado

El extracto acuoso se preparó con 8 g de planta y 50 mL de agua. Posteriormente el extracto acuoso se congeló (Congelador General Electric, Modelo FCM 7DMB WH) y después se colocó en un liofilizador marca LABCONCO®. El tiempo de liofilización fue de 1 día.



Figura 27 Liofilizadora (Fotografía de Oscar González Romero). (Laboratorio de Investigación y Posgrado en Tecnología Farmacéutica UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, 2017). Archivo del autor



7 Actividad antimicrobiana

Para la actividad antimicrobiana y antifúngica se utilizó el extracto acuoso de duraznillo liofilizado y las nanopartículas de plata de duraznillo. Todos los materiales para actividad antimicrobiana y antifúngica se esterilizaron para su posterior uso.

7.1 Actividad antibacterial

Para el ensayo de actividad antimicrobiana se preparó medio de cultivo Infusión Cerebro Corazón (BHI: Brain Heart Infusion). En un frasco de vidrio de tapa rosca para autoclave, se pesaron 4.8081g de medio BHI y se disolvieron en 130 mL de agua destilada, se colocaron en la autoclave para esterilizar (All-American, modelo All-1925X). Se preparó una solución de 5 mL de Gentamicina en una concentración de 1300 ppm, pesando 0.0065 g de Gentamicina, esta solución se llamó: Solución stock de Gentamicina, además de considerarla como el control positivo. Del extracto de duraznillo liofilizado se preparó una solución en una concentración de 1300 ppm y se llevó al aforo con agua esterilizada en un matraz volumétrico de 10 mL; la solución se rotuló como: Solución stock de extracto de duraznillo. De la síntesis de nanopartículas de plata se preparó una solución stock para realizar la actividad antibacterial y antifúngica.

El procedimiento para la preparación del control positivo de gentamicina, el extracto de duraznillo liofilizado y nanopartículas de plata se siguió de acuerdo con las tablas 6 y 7, y el esquema presentado en la figura 28.

- El tubo 1 contiene la solución stock, se toma la cantidad indicada en la tabla 6 y se preparan las concentraciones colocadas en los tubos 2, 3 y 4. Del tubo 4 se parte para las tres concentraciones siguientes (tubos 5, 6 y 7). Del tubo 7 se preparan las últimas concentraciones (tubo 8, 9 y 10). Para la preparación de las concentraciones del extracto se siguió un procedimiento similar.

Tabla 6 Preparación de los sistemas con diversas concentraciones de Gentamicina (Cantón, Martín, & Espinel, 2007)

Tubo	mL de BHI	mL de solución de Gentamicina	[] ppm	Tubo	mL de medio BHI	mL de solución de Gentamicina	[] ppm
1	Sol. Stock de Gentamicina			6	0.75	0.25	40.63
2	0.5	0.5	650	7	1.75	0.25	20.31
3	0.75	0.25	325	8	0.5	0.5	10.16
4	1.75	0.25	162.5	9	0.75	0.25	5.08
5	0.5	0.5	81.25	10	1.75	0.25	2.54

Tabla 7 Preparación de los sistemas con diferentes concentraciones de extracto de duraznillo

Tubo	mL de medio BHI	mL de solución del ext. de duraznillo	[] ppm	Tubo	mL de medio BHI	mL de solución de Gentamicina	[] ppm
1	Sol. stock del Ext. De duraznillo		1300	6	0.75	0.25	40.63
2	0.5	0.5	650	7	1.75	0.25	20.31
3	0.75	0.25	325	8	0.5	0.5	10.16
4	1.75	0.25	162.5	9	0.75	0.25	5.08
5	0.5	0.5	81.25	10	1.75	0.25	2.54

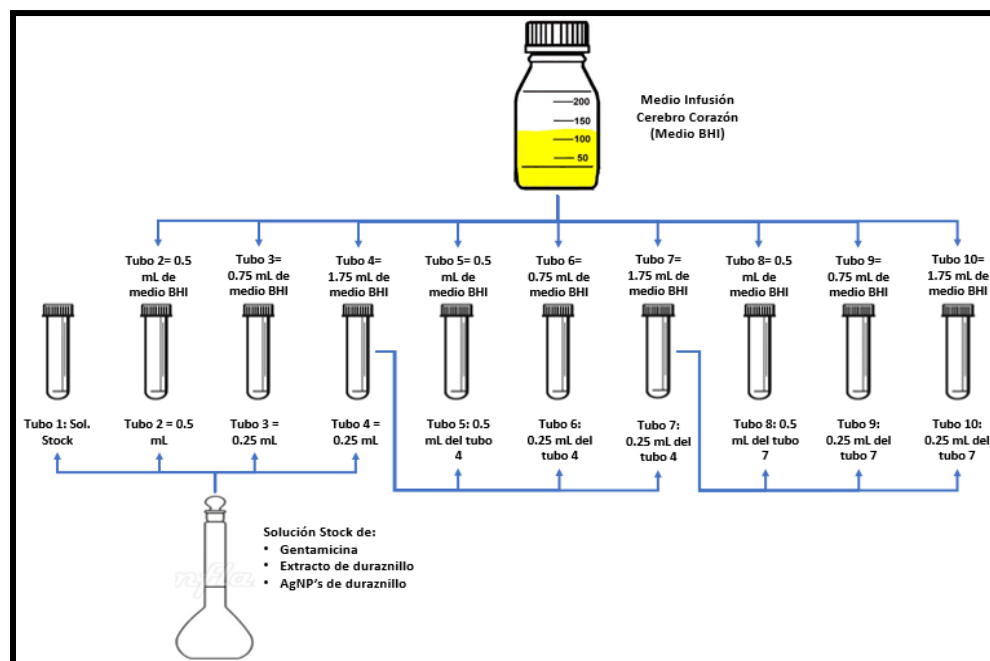


Figura 28 Esquema de diluciones para la solución stock de Gentamicina, extracto de duraznillo liofilizado y nanopartículas de plata de duraznillo (Juárez, 2016)

7.1.1 Preparación del inóculo de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*

Para este análisis se utilizaron dos bacterias: *E. coli* (gramnegativo) y *S. aureus* (grampositivo). Cada inóculo se preparó por separado siguiendo el mismo procedimiento. Con ayuda de un asa bacteriológica se tomó una pequeña muestra de una colonia de bacteria y se suspendió en un tubo de ensayo estéril con agua destilada estéril, se agitó y se ajustó al estándar 0.5 UFC de la escala de McFarland, agregando la cantidad necesaria de agua o de colonias de bacterias; en seguida se realizó una dilución de 10 μ L en 10 mL de medio Infusión Cerebro Corazón (BHI).

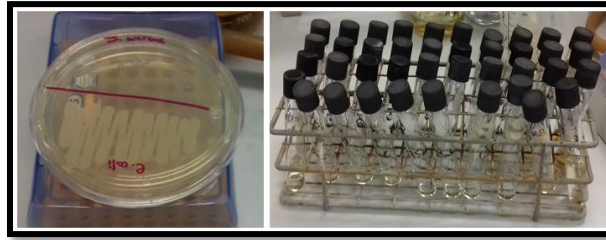


Figura 29 Preparación del inóculo de *E. coli* y *S. aureus* en tubos de ensaye con rosca en medio BHI (Fotografía de Oscar González Romero). (Laboratorio 17 de Inmunología de Enfermedades Infecciosas UNAM UIM, Cuautitlán, Edo. de México). Archivo del autor

7.2 Actividad antifúngica

Para el ensayo de actividad antifúngica se preparó el medio de cultivo Dextrosa Sabouraud (DS). En un frasco de vidrio de tapa de rosca para autoclave, se pesaron 4 g de medio DS y se disolvieron en 80 mL. Posteriormente se esterilizaron en la autoclave (All-American, modelo All-1925X).

Se preparó una solución de Anfotericina B en una concentración de 1600 ppm. En un matraz volumétrico de 5 mL, se pesaron 0.008 g de Anfotericina B y se llevó a la marca de aforo. Esta solución se rotuló como Solución Stock de Anfotericina B. Del extracto de duraznillo liofilizado se preparó una solución de concentración de 1600 ppm, pesando 0.016 g de planta, aforando a 10 mL en un matraz volumétrico. La solución se rotuló como: Solución stock del extracto de duraznillo (Cantón, Martín, & Espinel, 2007).

El procedimiento efectuado es similar al de la preparación de las concentraciones de gentamicina, solo se varió el medio de cultivo, que en este caso es DS y Anfotericina B, presentado en la figura 30.

Tabla 8 Preparación de los sistemas con diversas concentraciones de Anfotericina B (Cantón, Martín, & Espinel, 2007)

Tubo	mL de medio DS	mL de solución de Anfotericina	[] ppm	Tubo	mL de medio BHI	mL de solución de Gentamicina	[] ppm
1	Sol. stock de Anfotericina		1600	6	0.75	0.25	50
2	0.5	0.5	800	7	1.75	0.25	25
3	0.75	0.25	400	8	0.5	0.5	12.5
4	1.75	0.25	200	9	0.75	0.25	6.25
5	0.5	0.5	100	10	1.75	0.25	3.125

Tabla 9 Preparación de los sistemas con diferentes concentraciones de extracto de duraznillo

Tubo	mL de medio BHI	mL de solución del ext. de duraznillo	[] ppm	Tubo	mL de medio BHI	mL de solución de Gentamicina	[] ppm
1	Sol. stock del Ext. De duraznillo		1600	6	0.75	0.25	50
2	0.5	0.5	800	7	1.75	0.25	25
3	0.75	0.25	400	8	0.5	0.5	12.5
4	1.75	0.25	200	9	0.75	0.25	6.25
5	0.5	0.5	100	10	1.75	0.25	3.125

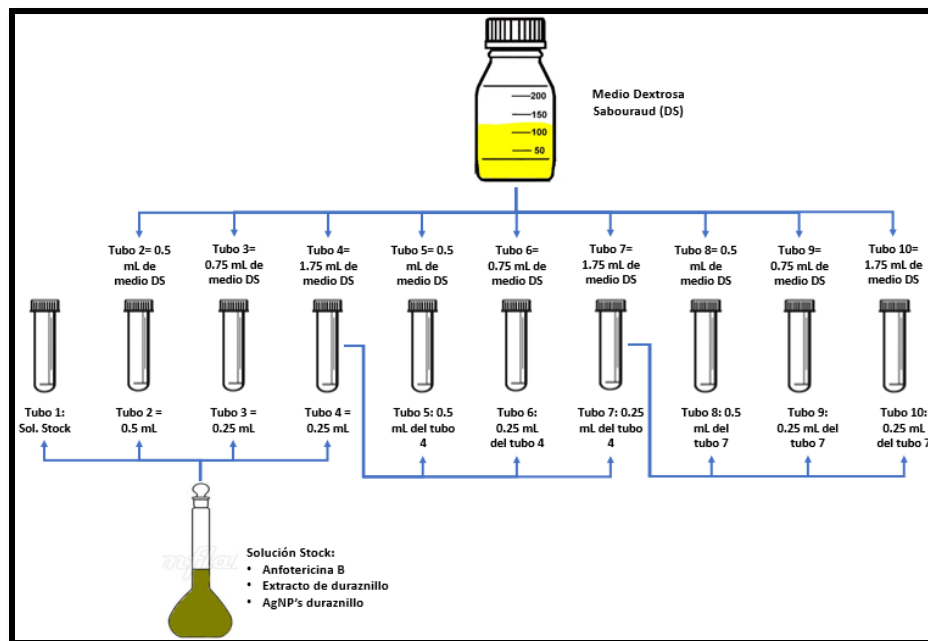


Figura 30 Esquema de diluciones para la solución stock de Anfotericina, extracto de duraznillo liofilizado y nanopartículas de plata de duraznillo (Juárez, 2016)

7.2.1 Preparación del inóculo para *Candida albicans*

Para este bioensayo se utilizó el hongo *C. albicans*, con ayuda de un asa bacteriológica se tomó una pequeña muestra del hongo y se suspendió en un tubo de ensayo estéril con agua destilada estéril, se agitó y se ajustó al estándar 0.5 UFC de la escala de McFarland, agregando la cantidad de agua o cantidad de cepa necesaria; en seguida se realizó una dilución de 10 μ L en 10 mL de medio Dextrosa Sabouraud (DS).



7.3 Inoculación en placa de microtitulación para actividad antimicrobiana y antifúngica

En las placas de microtitulación se agregaron 100 μ L de solución antimicrobiana y/o antifúngica (solución de Gentamicina y solución de Anfotericina), y 100 μ L de la solución del extracto de duraznillo, como se indica a continuación.

- 1) En la columna número 1 de la placa de microtitulación se tomó como control de crecimiento para bacterias y hongos, por lo que se colocaron 200 μ L del medio BHI (para bacterias) o medio DS (para hongos).
- 2) En la fila A y E, a partir de la columna número 2 hasta la 11 de la placa de microtitulación, se colocaron las diferentes concentraciones de la solución de Gentamicina para el ensayo de actividad antimicrobiana y solución de Anfotericina B para la actividad antifúngica.
- 3) En la columna número 12 de la placa de titulación se tomó como control de esterilidad agregando 200 μ L de medio BHI para el ensayo con bacterias y/o medio DS para el ensayo con hongos.
- 4) Las filas B, C, D, F, G y H, a partir de la columna número 2 hasta la 11, se utilizaron para realizar el ensayo por triplicado, en las que se agregaron 100 μ L de cada una de las diluciones que se prepararon para el extracto de duraznillo de concentración 1300 ppm para el ensayo con bacterias y las diluciones del extracto de duraznillo de 1600 ppm para el ensayo con hongos.
- 5) En las filas A, B, C y D, de la columna 2 hasta la 11, se colocaron 100 μ L del inóculo de la bacteria *E. coli* y en las filas E, F, G y H, utilizando las columnas 2 hasta la 11, se agregaron 100 μ L del inóculo de la bacteria *S. aureus*, de la misma manera se realizó para colocar el inóculo del hongo *C. albicans*. (Cantón, Martín, & Espinel, 2007)

Para el ensayo de actividad antimicrobiana y antifúngica utilizando las nanopartículas de plata se siguió el procedimiento anterior.

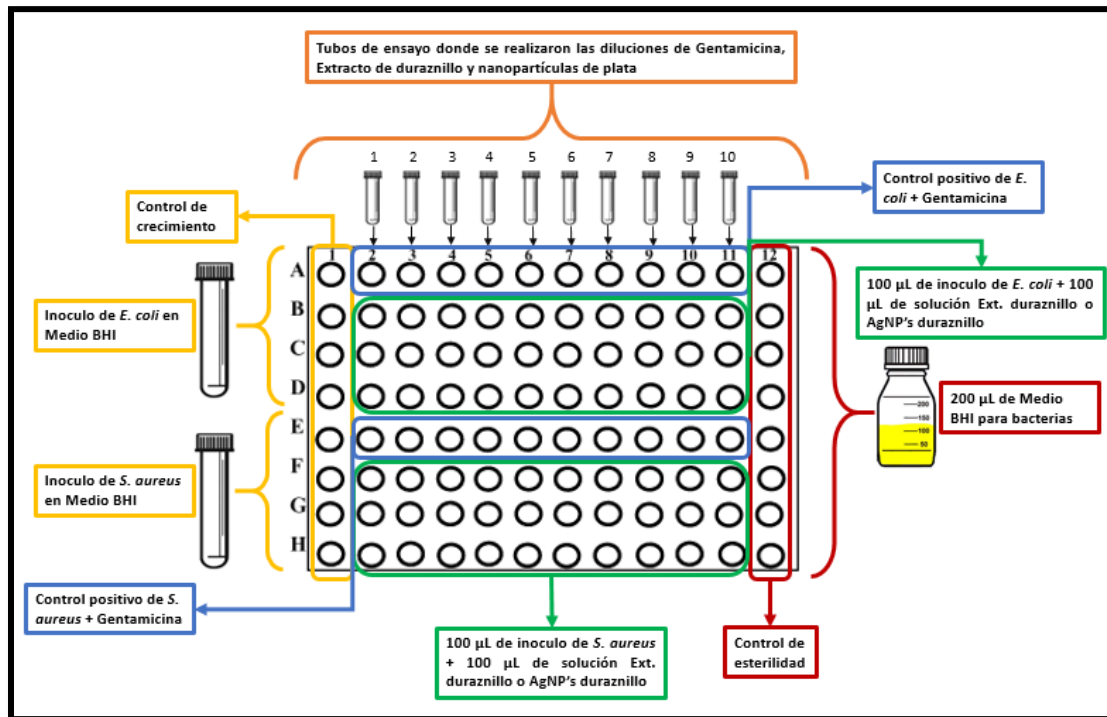


Figura 31 Disposición de estándares y ensayos en placa de microtitulación para el ensayo de actividad antimicrobiana

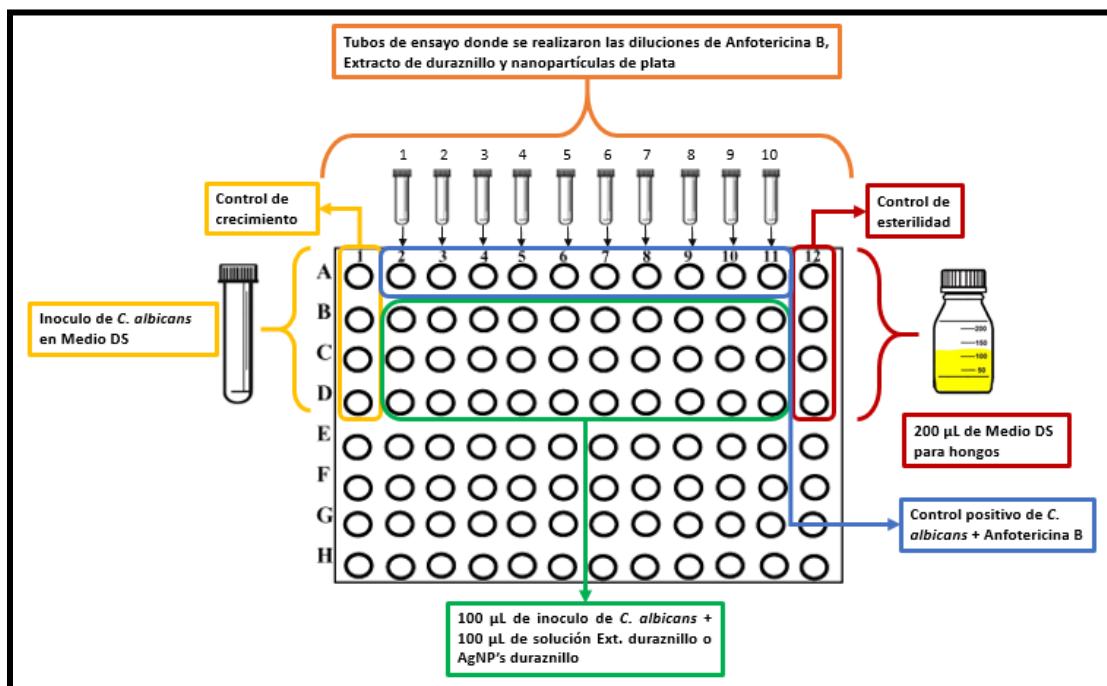


Figura 32 Disposición de estándares y ensayos en placa de microtitulación para el ensayo de actividad antifúngica

7.4 Incubación de las placas de titulación

Las placas de titulación inoculadas se incubaron a 35°C durante 24 h (Estufa de cultivo Riossa). Completado el tiempo de incubación se observan las placas para establecer los resultados.



Figura 33 Incubación de las placas de titulación donde se realizó la actividad antimicrobiana (Fotografía de Oscar González Romero). (Laboratorio 17 de Inmunología de Enfermedades Infecciosas UNAM UIM, Cuautitlán, Edo. de México, 2017). Archivo del autor



8 Resultados y análisis de resultados

8.1 Selección de la especie idónea con capacidad reductora

Se elaboró una lista de plantas cuya composición química permitieran la formación de partículas con la reducción de la plata, entre ellas estuvieron: chíá, pericón, toronjil, chilchahua y duraznillo. Al realizar la reacción de nitrato de plata (AgNO_3) con el extracto de chíá, el mucilago de chíá ocasionó interferencia en la reacción. En el caso de pericón, toronjil y chilchahua se observó un precipitado de color negro, descartando estas plantas para la síntesis debido a que no hay control de la reacción, no obstante, se considerarán para trabajos posteriores. En el caso del extracto de duraznillo al hacer reacción con AgNO_3 , se presentó un cambio de color, aunque la reacción fue lenta, indicando la presencia de agentes reductores dentro de la planta, siendo ésta la elegida para la síntesis de nanopartículas de plata.

8.2 Identificación de la materia vegetal

La identificación taxonómica se realizó en el Herbario Etnobotánico IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Los datos proporcionados se muestran en la tabla 10.

Tabla 10 Identificación taxonómica de la materia vegetal por el Herbario Etnobotánico IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM

Nombre científico	Familia Botánica	Nombre Popular	No. De Registro
<i>Solanum rostratum</i> Dun.	Solanaceae	"Duraznillo"	2518

8.3 Ensayo fitoquímico de los extractos de *Solanum rostratum* (duraznillo)

El ensayo fitoquímico se realizó utilizando los extractos obtenidos por gradiente de polaridad por el método continuo Soxhlet. En la tabla 11 se muestran los resultados obtenidos para la fracción acuosa de planta duraznillo. Se puede observar que están presentes metabolitos como: Alcaloides, Fenoles y azúcares reductores, además de que se confirma la presencia de nitrógeno proteico con la prueba de ninhidrina. Los metabolitos identificados tienen capacidad reductora.

Tabla 11 Resultados del ensayo fitoquímico de la fracción acuosa de la especie *S. rostratum* (duraznillo)

Prueba	Resultado	
Dragendorff	+++	Alcaloides
Mayer	+++	Alcaloides
Wagner	+++	Alcaloides
Hager	+++	Alcaloides
Cloruro férrico	+++	Fenoles
Liebermann-Buchard	-	Triterpenos y esteroides
Börntrager	-	Quinonas
Baljet	-	Lactonas
Ninhidrina	+++	Nitrógeno
Fehling	+++	Azúcares reductores
Shinoda	-	Flavonoides
2,4-dinitrofenilhidrazina	+	Carbonilo

En la figura 34 se muestra la prueba de alcaloides realizada a la fracción acuosa. Se nota el precipitado naranja marrón característica de la prueba de Dragendorff, el precipitado de color crema para Mayer, precipitado de color café con Wagner y por último cristales color amarillo para Hager.

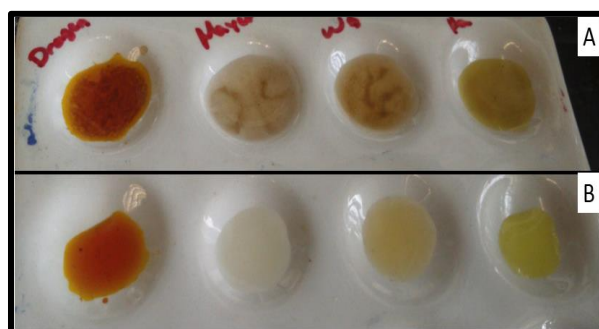


Figura 34 A) Prueba de alcaloides, B) Control prueba de alcaloides (Fotografía de Oscar González Romero).
(Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, 2016).
Archivo del autor

Tabla 12 Resultados del ensayo fitoquímico de la fracción etanólica de la especie *S. rostratum* (duraznillo)

Prueba	Resultado	
Dragendorff	-	Alcaloides
Mayer	-	Alcaloides
Wagner	-	Alcaloides
Hager	-	Alcaloides
Cloruro férrico	+++	Fenoles
Liebermann-Buchard	+++	Triterpenos y esteroides
Börntrager	-	Quinonas
Baljet	-	Lactonas
Ninhidrina	-	Nitrógeno
Fehling	+++	Azúcares reductores
Shinoda	+++	Flavonoides



Los resultados mostrados en la tabla 12 para la fracción etanólica denotan que los metabolitos presentes son: triterpenos, fenoles, azúcares reductores y flavonoides.

Tabla 13 Resultados del ensayo fitoquímico de la fracción de acetato de etilo de la especie *S. rostratum* (duraznillo)

Prueba	Resultado	
Dragendorff	-	Alcaloides
Mayer	-	Alcaloides
Wagner	-	Alcaloides
Hager	-	Alcaloides
Cloruro férrico	+	Fenoles
Liebermann-Buchard	+++	Triterpenos y esteroides
Börntrager	-	Quinonas
Baljet	+	Lactonas
Ninhidrina	-	Nitrógeno
Fehling	-	Azúcares reductores
Shinoda	-	Flavonoides

Para el extracto de acetato de etilo denotan metabolitos como triterpenos y esteroides; finalmente para el extracto hexanoico solo resultó positiva la prueba de Sudan III observándose gotas oleosas color rojo que indica la presencia de aceites. Por los resultados obtenidos en el ensayo fitoquímico y por la naturaleza de la reacción de obtención de las nanopartículas de plata se seleccionó el extracto acuoso en la que están presentes alcaloides, fenoles, azúcares reductores y nitrógeno proteico; sustratos con características adecuadas para la reducción del ion plata y estabilización de la nanopartícula.

8.4 Fitosíntesis de nanopartículas de plata (AgNP's)

Los ensayos preliminares dieron como resultado que los factores a considerar fueron: Temperatura, concentración de hidróxido de sodio y volumen de nitrato de plata 1mM. En la tabla 14, se muestran las condiciones.

Tabla 14 Factores y niveles determinados para realizar la síntesis de nanopartículas de plata

Factores	Niveles	
Temperatura °C	60	80
Hidróxido de sodio [M]	2.5	5
Volumen AgNO ₃ mL	10	12

Una vez que se efectuaron los experimentos indicados en el diseño experimental se obtuvieron los resultados para las dos respuestas (tamaño de partículas y polidispersión), cuyos resultados se muestran en la tabla 15. Hay que recordar que se mantuvo constante el volumen de extracto (0.5mL).



Tabla 15 Diseño experimental de la síntesis de nanopartículas de plata a partir del extracto acuoso de duraznillo

Estándar	Corrida	A= Temperatura °C	B= NaOH [M]	C= Vol. mL AgNO ₃	Tamaño	PD
9	1	70	3.75	11	15.05	1
8	2	80	5	12	66.98	0.684
11	3	70	3.75	11	11.85	0.943
2	4	80	2.5	10	11.64	0.959
3	5	60	5	10	54.56	0.529
5	6	60	2.5	12	13.74	1
10	7	70	3.75	11	10.03	0.842
7	8	60	5	12	39.92	0.571
6	9	80	2.5	12	12.48	0.994
4	10	80	5	10	59.7	0.543
1	11	60	2.5	10	10.53	0.906

Utilizando el software Design Expert se obtuvo el análisis de varianza (ANOVA) que permitió determinar los factores que influyen de manera significativa en las dos respuestas (tamaño y polidispersión). Estableciendo una de prueba de hipótesis: H_0 (hipótesis nula): Todas las medias son iguales y H_1 (hipótesis alterna): Al menos una media es diferente.

Si se rechaza H_0 el factor sí influye en la variable, es decir, en el tamaño de partícula o en la polidispersión. Los criterios en el diseño experimental obtenidos van encaminados a aceptar la hipótesis alterna cuando: $F_{exp} > F_{tablas}$ y el valor de $p < 0.05$.

Tabla 16 Análisis de varianza (ANOVA) para el tamaño de partícula de las AgNP's de duraznillo

Factor	F_{tablas} o $F_{crítica}$	F_{exp}	Valor p	Rechaza H_0 si: $F_{exp} > F_{tablas}$ y Valor $p < 0.05$
Temperatura	18.51	18.88	0.0491	Rechaza H_0
[NaOH] M	18.51	565.58	0.0018	Rechaza H_0
Vol. AgNO ₃	18.51	0.51	0.5495	Acepta H_0
Temperatura-[NaOH] M	18.51	22.60	0.0415	Rechaza H_0
Temperatura- Vol. AgNO ₃	18.51	8.84	0.0970	Acepta H_0
[NaOH] M- Vol. AgNO ₃	18.51	2.17	0.2786	Acepta H_0
Temperatura -[NaOH] M - Vol. AgNO ₃	18.51	10.66	0.0824	Acepta H_0

De acuerdo con el análisis mostrado en la tabla 16, se rechaza la hipótesis nula con un riesgo de error del 5% para los factores Temperatura, concentración molar de NaOH y la interacción entre ellos deduciendo que tienen influencia en el tamaño de partícula. Mientras que se acepta la hipótesis nula para los factores volumen de Nitrato de plata, interacción entre temperatura-vol. AgNO₃, [NaOH]-Vol. AgNO₃ y la triple interacción temperatura-[NaOH]-Vol. AgNO₃ y por tanto no influyen en el tamaño de partícula.



Tabla 17 Análisis de varianza (ANOVA) para la polidispersión de las AgNP's de duraznillo

Factor	F _{tablas} o F _{crítica}	F _{exp}	Valor p	Rechaza Ho si: F _{exp} > F _{tablas} y Valor p < 0.05
Temperatura	18.51	0.37	0.6065	Acepta H ₀
[NaOH] M	18.51	48.06	0.0202	Rechaza H ₀
Vol. AgNO ₃	18.51	1.48	0.3483	Acepta H ₀
Temperatura-[NaOH] M	18.51	0.27	0.6567	Acepta H ₀
Temperatura- Vol. AgNO ₃	18.51	0.12	0.7661	Acepta H ₀
[NaOH] M- Vol. AgNO ₃	18.51	0.16	0.7265	Acepta H ₀
Temperatura -[NaOH] M - Vol. AgNO ₃	18.51	0.29	0.6464	Acepta H ₀

Con el análisis realizado en la tabla 17, se rechaza la hipótesis nula con un riesgo de error del 5% para el factor concentración molar de hidróxido de sodio en el extracto, deduciendo que tiene influencia en la polidispersión de las nanopartículas de plata. Mientras que se acepta la hipótesis nula para los factores Temperatura, volumen de nitrato de plata, interacción Temp. -[NaOH]M, Temp. -Vol.AgNO₃, [NaOH]M-Vol.AgNO₃ y la triple interacción Temp. -[NaOH]M-Vol.AgNO₃, no influyendo en la polidispersión de las nanopartículas de plata.

El diseño experimental permitió obtener una ecuación matemática (polinomio de primer orden, figura 35), describe de manera matemática el comportamiento del sistema experimental, permite realizar un análisis de los coeficientes involucrados en la ecuación, correspondientes a la pendiente de cada uno de los factores e interacciones entre ellos; los factores que presentan un coeficiente alto en su pendiente son aquellas que manifiestan un efecto significativo en el tamaño de partícula y en la polidispersión de las nanopartículas.

Tamaño de partícula

$$= 33.80 + 3.90A + 21.37B - 0.64C + 4.27A * B + 2.67A * C - 1.32B * C + 2.93A * B * C$$

Figura 35 Ecuación polinómica de primer grado para el tamaño de partícula, donde A= Temperatura, B=[NaOH]M y C= Volumen de AgNO₃

Polidispersión (PD)

$$= 0.78 + 0.017A - 0.20B + 0.034C + 0.015A * B + 9.625 \times 10^{-3} + 0.011B * C + 0.015A * B * C$$

Figura 36 Ecuación polinómica de primer grado para la polidispersión de las nanopartículas, donde A= Temperatura, B=[NaOH]M y C= Volumen de AgNO₃

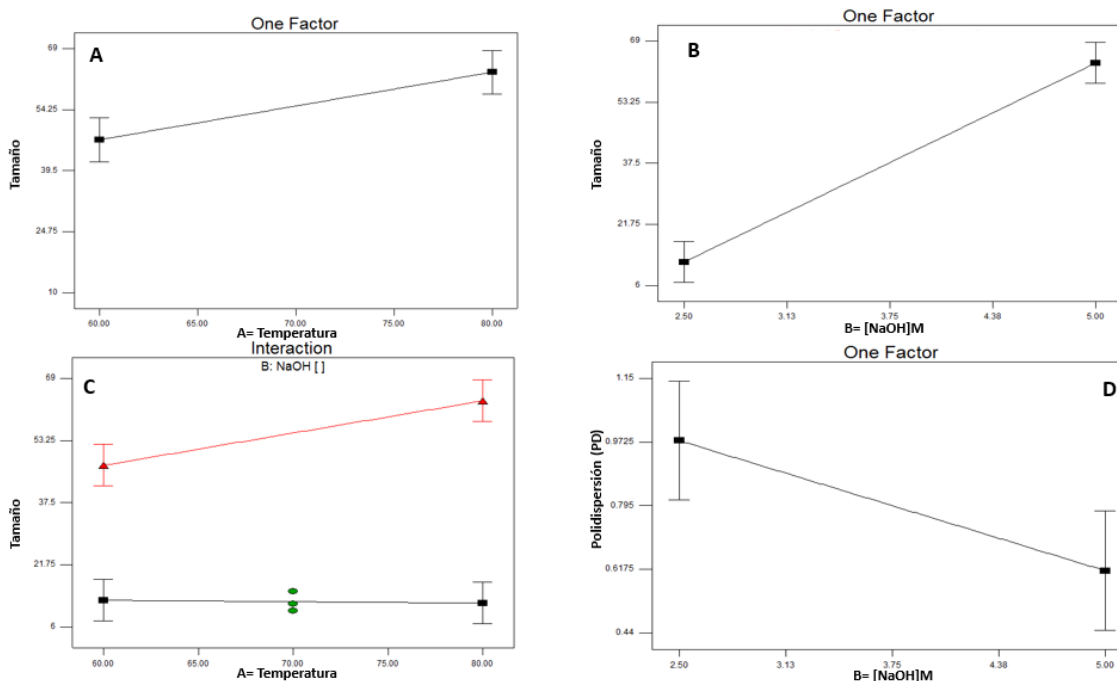


Figura 37 Pendientes de los factores que influyen de manera significativa el tamaño de partícula, gráfica A: Tamaño de partículas vs Temperatura, gráfica B: Tamaño de partícula vs [NaOH]M y gráfica C: Tamaño de partícula vs interacción entre la Temperatura y la [NaOH], y factor que influye en PD de AgNP's B: [NaOH]M

La figura 37 se muestran las pendientes de los factores que afectan de manera significativa el tamaño de partícula, en la gráfica A se observa cómo la temperatura es directamente proporcional con el tamaño de partícula (el tamaño de partícula aumenta conforme va aumentando la temperatura); la gráfica B, la concentración de hidróxido de sodio ([NaOH]M) es directamente proporcional con el tamaño de partícula, si hay un incremento en la [NaOH]M el tamaño de partícula también lo hará, la gráfica C presenta la interacción entre el factor temperatura con la concentración molar de NaOH, debido a que el tamaño de partícula es controlado por ambos factores y la gráfica D involucra la polidispersión de la partícula influyendo la [NaOH]M. Al seleccionar y tomar los factores de mayor influencia significativa con el tamaño de partícula permitió obtener una nueva ecuación matemática; ecuación (figura 38) que permite describir el comportamiento del experimento de manera directa con los factores de influencia en relación con el tamaño de partícula.

$$\text{Tamaño de partícula} = 33.80 + 3.90A + 21.37B + 4.27A * B$$

Figura 38 Ecuación polinómica de primer grado involucrando solo los factores que afectan de manera significativa al tamaño de partícula, A=Temperatura, B=[NaOH]M

En la figura 39 se presenta el espectro UV-Vis de los sistemas de reacción con las condiciones establecidas en el diseño experimental. Se observa que el plasmón de superficie se presenta en un intervalo de 430 nm a 445 nm, condición que cumplen las nanopartículas de plata (AgNP's) de 420 nm a 450 nm. (Siddiqui, Al-Whaibi, & Firoz, 2015)

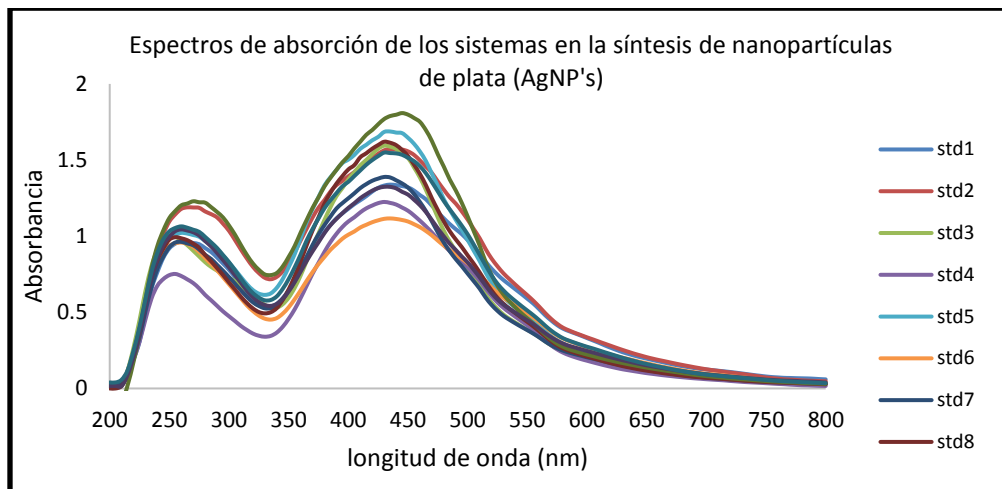


Figura 39 Espectros de absorción que corresponden a cada uno de sistemas generados en el diseño experimental utilizando el software Design Expert para síntesis de nanopartículas de plata (AgNP's) de duraznillo

Tabla 18 Relación de longitud de onda máxima con tamaño de partícula y PD obtenidos en el diseño experimental

Estándar	Tamaño	PD	Longitud	Temperatura °C	[NaOH] M	Vol. AgNO ₃
1	10.53	0.906	435	60	2.5	10
2	11.64	0.959	435	80	2.5	10
3	54.56	0.529	430	60	5	10
4	59.7	0.543	430	80	5	10
5	13.74	1	435	60	2.5	12
6	12.48	0.994	435	80	2.5	12
7	39.92	0.571	430	60	5	12
8	66.98	0.684	430	80	5	12
9	15.05	1	445	70	3.75	11
10	10.03	0.842	430	70	3.75	11
11	11.85	0.943	430	70	3.75	11

Al analizar la tabla 18 la relación entre la polidispersión y longitud de onda, los sistemas de una λ de 435nm y mayores dan poli dispersiones altas, por lo que estos 5 sistemas se descartaron. Los 6 sistemas restantes se analizaron de acuerdo con la mayor absorbancia, menor polidispersión y menor tamaño de partícula, requisitos que cumplieron los sistemas 3 y 8 con las siguientes condiciones:

- Temperatura de 60 °C y concentración de NaOH 5M.
- Temperatura de 80 °C y concentración de NaOH 5M.



Figura 40 Serie fotográfica del Diseño Experimental de la síntesis de nanopartículas de plata de duraznillo Fotografía de Oscar González Romero). (Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica UNAM Campo 1, Cuautitlán, Edo. de México, 2017). Archivo del autor

En la figura 40 se muestran los colores de cada uno de los sistemas, al realizar la síntesis de nanopartículas, obteniéndose colores desde naranja a café, característico de las NP'sAg.

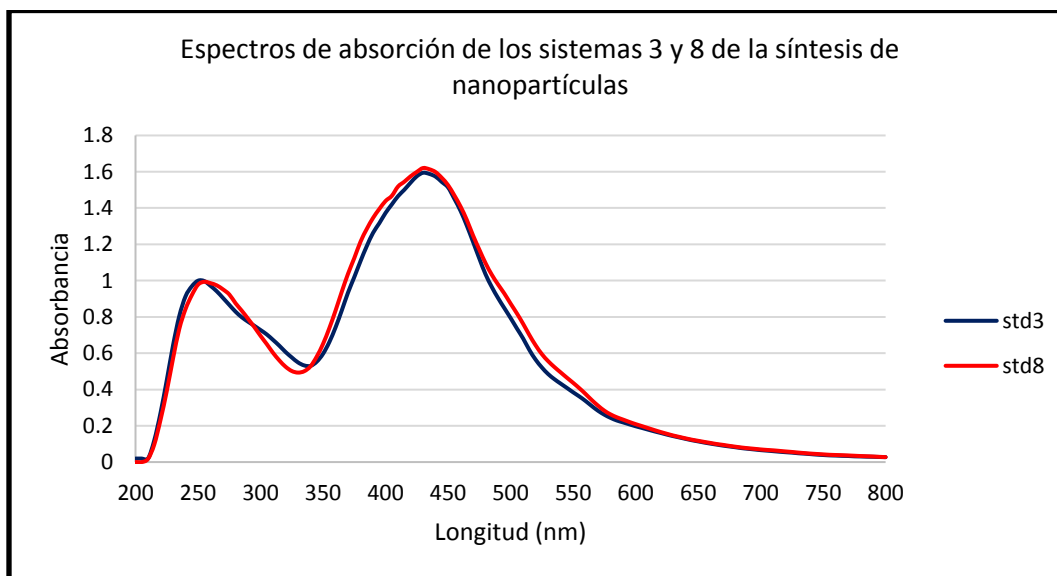


Figura 41 Espectros de absorción de los sistemas 3 y 8 con las mejores condiciones de respuesta en la síntesis de nanopartículas de plata (AgNP's)

Con las condiciones establecidas con los resultados obtenidos del diseño experimental en la síntesis de nanopartículas de plata, se realizaron repeticiones experimentales de la síntesis y se determinó que los tamaños de partícula tenían un comportamiento similar. Una vez encontradas las condiciones para llevar a cabo la síntesis de nanopartículas con un tamaño y polidispersión adecuada, se realizaron repeticiones experimentales de la síntesis de nanopartículas con estas mismas condiciones para determinar que los tamaños de partícula tenían un comportamiento similar.



Tabla 19 Repeticiones del sistema 3, condiciones experimentales de $T=60^{\circ}\text{C}$, Vol. $\text{AgNO}_3=11\text{ mL}$ y $[\text{NaOH}]=5\text{M}$

Repetición	Tamaño	PD
1	29.87	0.849
2	49.37	0.647
3	81.5	0.648
4	46.37	0.468
Promedio	51.7775	0.653
Dev. Std	21.5901418	0.15567273
%RSD	41.6979225	23.8396223

En la tabla 19, se muestran los resultados de las repeticiones para el sistema 3, con las condiciones establecidas del diseño experimental, se obtuvieron tamaños de partícula variados, sin embargo, al realizar la comparación del promedio en los tamaños este es cercano al establecido por point prediction de Design-Expert del diseño experimental es de 46.99, pero al realizar el cálculo del porcentaje de la desviación estándar relativa para el tamaño y la polidispersión se obtuvo un $\%RSD=41.6979$ en tamaño y $\%RSD=23.8396$ en PD (polidispersión), siendo valores altos para experimentos biológicos, aceptando un $\%RSD= 5$ teórico.

Tabla 20 Repeticiones del sistema 8, condiciones experimentales de $T=80^{\circ}\text{C}$, Vol. $\text{AgNO}_3=11\text{ mL}$ y $[\text{NaOH}]= 5\text{ M}$

Repetición	Tamaño	PD
1	52.31	0.4
2	55.03	0.357
3	56.38	0.483
4	45.92	0.574
5	53.92	0.515
Promedio	52.712	0.4658
Dev. Std.	4.0798125	0.087451129
%RSD	7.7398173	18.77439442

Los resultados de la tabla 20, en condiciones del sistema 8 obtenidos del diseño experimental, los tamaños de partícula que se obtuvieron no difieren mucho entre sí y el promedios de estos es cercano al establecido en point prediction de Design-Expert de 63.34, los mismo pasa con la polidispersión (PD), dando como resultado a un porcentaje de desviación estándar relativa ($\%RSD$) igual a 7.74 en tamaño y $\%RSD= 18.77$ en PD, siendo más aceptable los resultados con respecto al valor teórico reportado para experimentos biológicos de $\%RSD= 5$.

Con los resultados anteriores las mejores condiciones en la síntesis de nanopartículas de plata son las del sistema 8 siendo estas: 0.5g de duraznillo + 0.5mL de NaOH 5M (modificación del pH en el extracto) + 5mL de agua destilada a 80°C para la obtención del extracto acuoso, dejando reposar hasta temperatura ambiente, posteriormente para la síntesis de nanopartículas, se realiza a

temperatura ambiente tomando 0.5 mL de extracto acuoso + 12 mL de AgNO_3 $1 \times 10^{-3} \text{M}$ que hacen más favorable a la síntesis de nanopartículas con un mejor comportamiento en tamaño y polidispersión.

8.5 Espectroscopia UV-Visible e Infrarroja

Se realizó un análisis por medio de espectroscopia UV-Visible e infrarroja, para saber el proceso de cambio en la síntesis de nanopartículas de plata de *Solanum rostratum* D. (AgNP 's duraznillo). Se obtuvieron los espectros UV-Visible e infrarrojos del extracto acuoso de duraznillo, el extracto acuoso de duraznillo modificando el pH, las nanopartículas aisladas por centrifugación y el sobrenadante; cada una de las muestras anteriores se liofilizaron para retirar la mayor cantidad de agua contenida en ellas y no mostrar interferencia en los espectros infrarrojos.

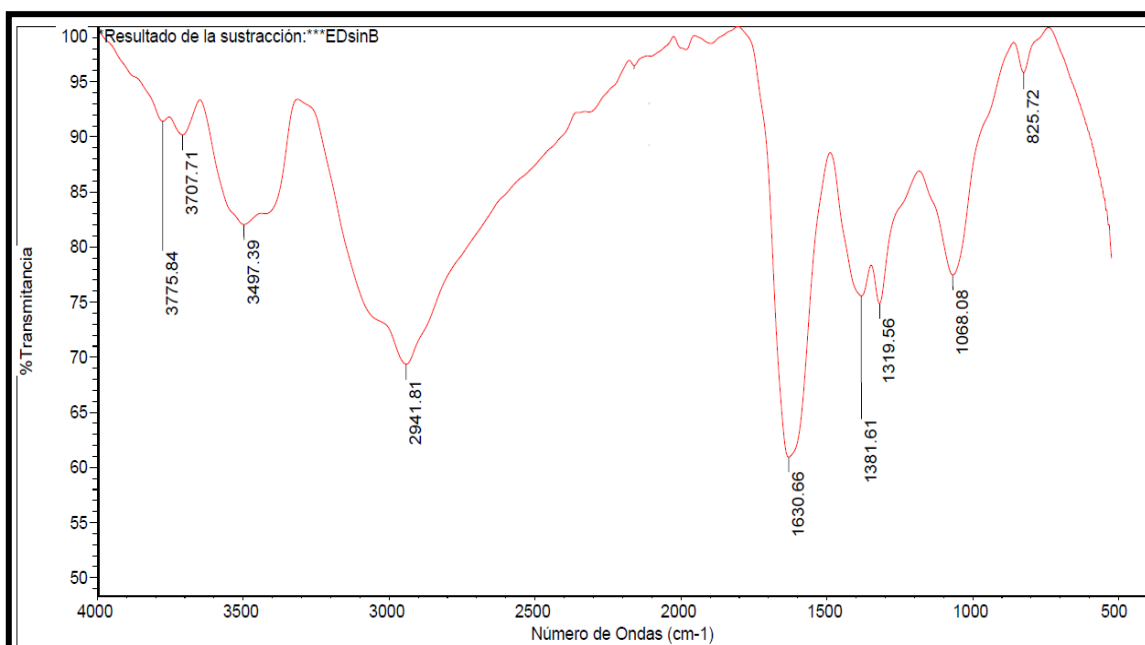


Figura 42 Espectro Infrarrojo del extracto acuoso de duraznillo



Tabla 21 Grupos funcionales determinados para el extracto acuoso de duraznillo

Grupo Funcional		Intervalos de frecuencia del extracto de duraznillo (cm ⁻¹)	Intervalos de frecuencia teóricos (cm ⁻¹)
Alcanos	C-H st	2941.81	3000-2840
	CH ₃ δ	1381.61	1395-1365
	CH ₃ γ	1068.08, 825.72	1250-800
Alquenos	C=C st	1630.66	1690-1635
	=CH δ	1381.61, 1319.56	1420-1290
	C=CH ₂	825.72	900-880
Aromáticos	ar C-H	2941.81	3080-3030
	arC-C	1630.66	1625-1575
	arC-H	1068.08	1250-950
	arC-H	825.72	900-650
Alcoholes y fenoles	O-H	3497.39, 2941.81	3650-3200
	O-H δ	1381.61, 1319.56	1450-1200
	C-O st	1068.08	1260-970
Compuestos con Nitrógeno	NH ₂ st	3775.84, 3707.71, 3497.39	3500-3300
	NH st	3497.39	3450-3300
	NH ₃ ⁺ st	2941.81, 2160.16	3000-2000
	NH ₂ ⁺ st		
	NH ⁺ st		
	NH δ	1630.66	1650-1550
	C-N st	1381.61, 1319.56, 1068.08	1400-1000
	NH ₂ δ	825.72	850-700

Con las bandas de los grupos funcionales identificadas en espectro IR del extracto acuso de duraznillo de la tabla 21, pueden corresponder a alcoholes u OH de fenólicos debido a la presencia de esteroides en el extracto como lo son el daucosterol, smilaxquinósido A y β-sitosterol, también a fenoles de los flavonoides como quercetina, isoquercitrina, isoramnetina que poseen grupos OH, dobles enlaces y anillos aromáticos en su estructura, por último bandas correspondientes a compuestos con nitrógeno relacionadas con alcaloides como solanina y chaconina, además de indicar la presencia de alfa aminoácidos como lo indicó la prueba de ninhidrina que presentó un color purpura correspondiente a éstos.

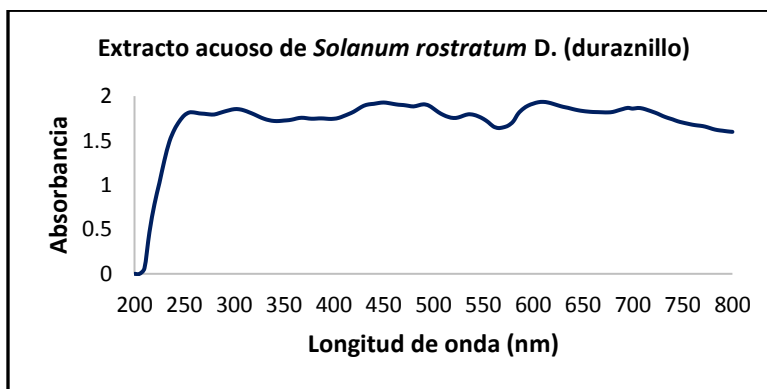


Figura 43 Espectro UV-Visible del extracto acuoso de duraznillo

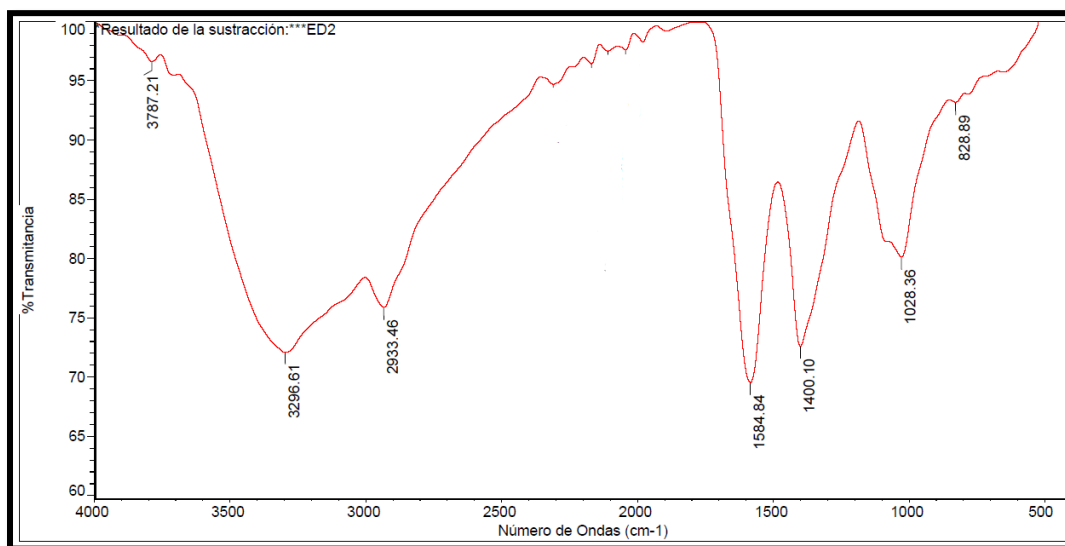


Figura 44 Espectro Infrarrojo del extracto de duraznillo agregando NaOH 5 M

Tabla 22 Grupos funcionales determinados en el extracto acuoso de duraznillo modificando el pH

Grupo Funcional		Intervalos de frecuencia del extracto de duraznillo con NaOH (cm ⁻¹)	Intervalos de frecuencia teóricos (cm ⁻¹)
Alcanos	C-H st	2933.46	3000-2840
	CH ₃ δ	1400.10	1470-1430
	CH ₃ γ	1028.36, 828.89	1250-800
Alquenos	=CH ₂ st	2933.46	3095-3075
	=CH	1400.10	1420-1290
	C=C st	1584.84	1600
	C=C	1028.36, 828.89	1005-985
Compuestos aromáticos	arC-H st	2933.46	3080-3030
	arC-C	1584.84	1625-1575
	arC-H δ	1028.36	1250-950
	arC-H δ	828.89	900-650
Alcoholes y fenoles	O-H st	3296.61	3650-3200
	O-H δ	1584.84, 1400.10	1450-1200
	C-O st	1028.36	1260-970
Compuestos con nitrógeno	NH ₂ st	3781.21, 3296.61	3500-3300
	NH ₃ ⁺ st	3296.61, 2933.46	3000-2000
	NH ₂ ⁺ st		
	NH ⁺ st		
	NH ₂ δ	1584.84	1650-1590
	NH ₃ ⁺ δ	1584.84	1600-1460
	NH ₂ ⁺ δ		
	NH ⁺ δ		
	C-N st	1400.10, 1028.36	1400-1000
	NH ₂ δ	828.89	850-700

Con la modificación del pH en el extracto de duraznillo, se observó en el espectro IR (figura 44) que la banda de los OH se intensificó por la presencia de NaOH, obteniendo una tabla similar en los grupos funcionales identificados por IR, sin embargo, al comparar el espectro UV-Visible del extracto acuoso (figura 45) y el espectro UV-Visible del extracto acuoso agregando NaOH, se observa una modificación en el espectro, esto puede corresponder que agregando una base (NaOH) en la extracción, permitiendo una mayor obtención de alcaloides (solanina y chaconina), aminoácidos y flavonoides (quercetina, isoquercitrina, isoramnetina), y de esta manera favoreciendo la formación y estabilidad de las nanopartículas.

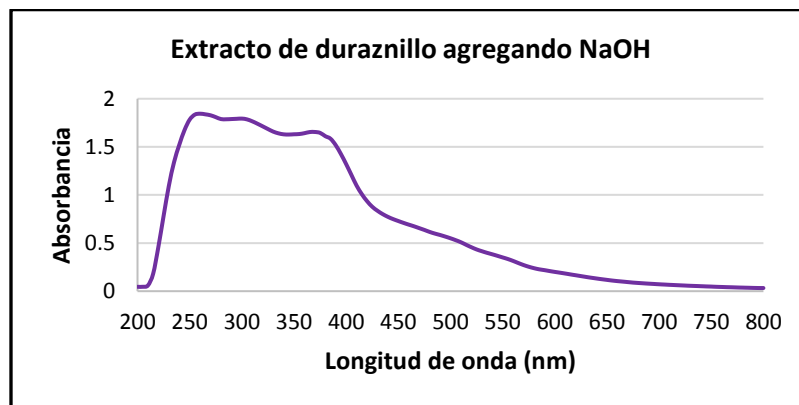


Figura 45 Espectro UV-Visible del extracto acuoso de duraznillo agregando NaOH, modificando su pH

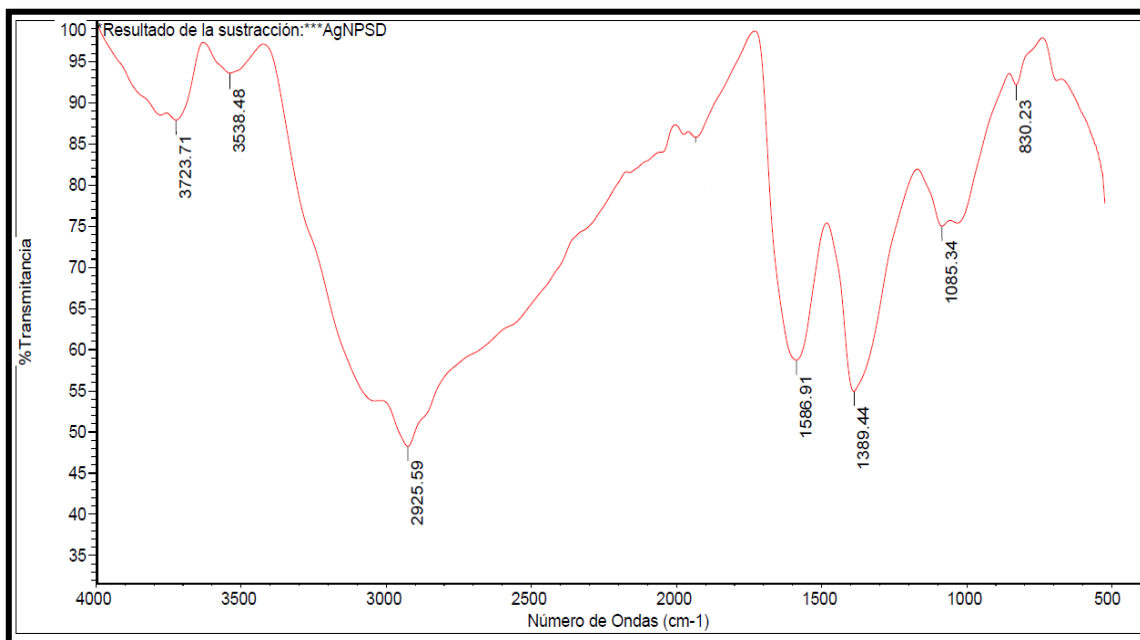


Figura 46 Espectro Infrarrojo de las nanopartículas de plata de *Solanum rostratum* D. (AgNP's duraznillo)

Tabla 23 Grupos funcionales determinado en las nanopartículas de plata de duraznillo

Grupo Funcional		Intervalos de frecuencia de las Ag NP's (cm ⁻¹)	Intervalos de frecuencia teóricos (cm ⁻¹)
Alcanos	C-H st	2925.59	3000-2840
	CH ₃ δ	1389.44	1470-1430
	CH ₃ γ	1085.34, 830.23	1250-800
Alquenos	=CH δ	1389.44	1420-1290
	=C-H	1085.34, 830.23	1005-675
	C=C	830.23	900-880
Compuestos aromáticos	arC-C st	2925.59	3080-3030
	arC-C	1586.91	1625-1575
	arC-H δ	1085.34 y 830.23	1250-950
Alcoholes y fenoles	O-H st	2925.59	3650-3200
	O-H δ	1586.91, 1389.44	1450-1200
	C-O st	1085.34	1260- 970
Compuestos con nitrógeno	NH ₂ st	3723.71	3500-3300
	NH st	3538.48	3450-3300
	NH ₃ ⁺ st	2925.59	3000-2000
	NH ₂ ⁺ st		
	NH ⁺ st		
	NH ₃ ⁺ δ	1586.91	1600-1460
	NH ₂ ⁺ δ		
	NH ⁺ δ		
	C-N st	1389.44, 1085.34, 830.23	1400-1000

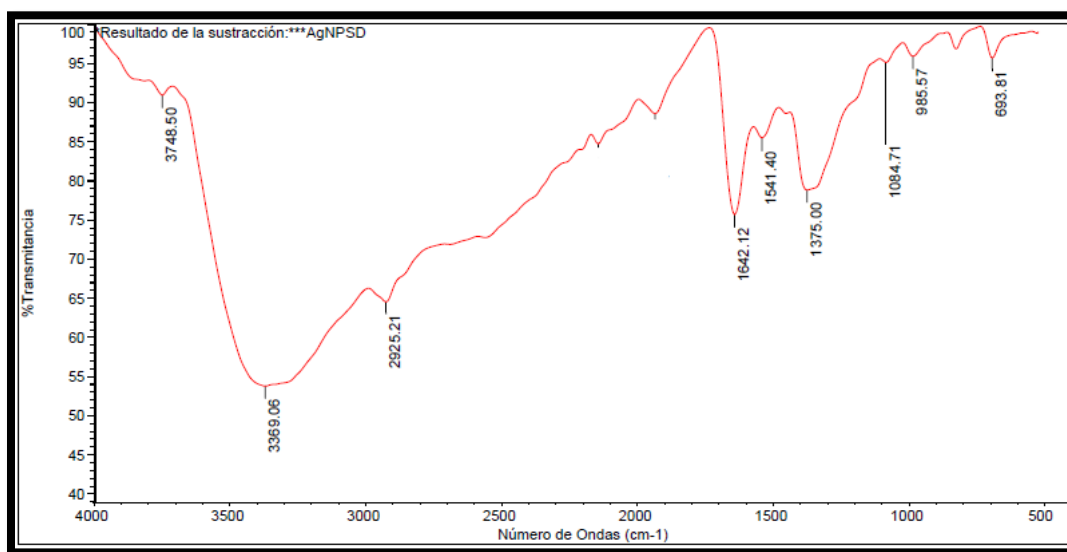


Figura 47 Espectro de nanopartículas de plata de duraznillo, se realizó la resta del espectro IR del extracto de duraznillo y el espectro IR de las nanopartículas de plata de duraznillo



Tabla 24 Grupos funcionales determinados para la resta del extracto de duraznillo y las AgNP's de duraznillo

Grupo Funcional		Intervalos de frecuencia de las Ag NP's-Ext. duraznillo (cm ⁻¹)	Intervalos de frecuencia teóricos (cm ⁻¹)
Alcanos	C-H st	2925.21	3000-2840
	CH ₃ δ	1375	1470-1430
	CH ₃ γ	1084.71, 985.57	1250-800
Alquenos	=CH δ	1375	1420-1290
	=C-H	1084.71, 985.57, 693.81	1005-675
	C=C	985.57	900-880
Compuestos aromáticos	arC-C st	2925.21	3080-3030
	arC-C	1642.12, 1541.40	1625-1575
	arC-H δ	1375, 1084.71, 985.57	1250-950
Alcoholes y fenoles	O-H st	3369.06	3650-3200
	O-H δ	1541.40, 1375	1450-1200
	C-O st	1084.71, 985.57	1260-970
Compuestos con nitrógeno	NH ₂ st	3748.50	3500-3300
	NH st	3748.50	3450-3300
	NH ₃ ⁺ st	2925.21	3000-2000
	NH ₂ ⁺ st		
	NH ⁺ st		
	NH ₃ ⁺ δ	1642.12, 1541.40	1600-1460
	NH ₂ ⁺ δ		
	NH ⁺ δ		
C-N st	1375, 1084.71, 985.57	1400-1000	

Con ayuda del espectro IR de las nanopartículas de plata (Figura 46) y el espectro IR entre la resta del extracto y las AgNP's (figura 47) se pueden observar bandas correspondientes a flavonoides y alcaloides, aportando una idea de los metabolitos que se encuentran en la planta de duraznillo y que permiten la formación de las nanopartículas de plata (AgNP's), nombrando a la solanina, solanidina, chaconina, kaempferol, quercetina, entre otros, estos metabolitos podrían ser los agentes reductores de la plata. Lo que permite observar un cambio en el espectro UV-Visible en la formación de las nanopartículas (figura 48).

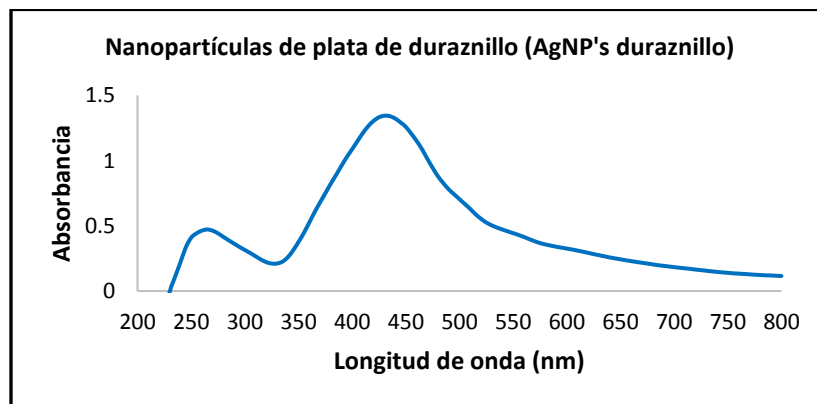


Figura 48 Espectro UV-Visible de las nanopartículas de plata de *Solanum rostratum* D. (duraznillo)

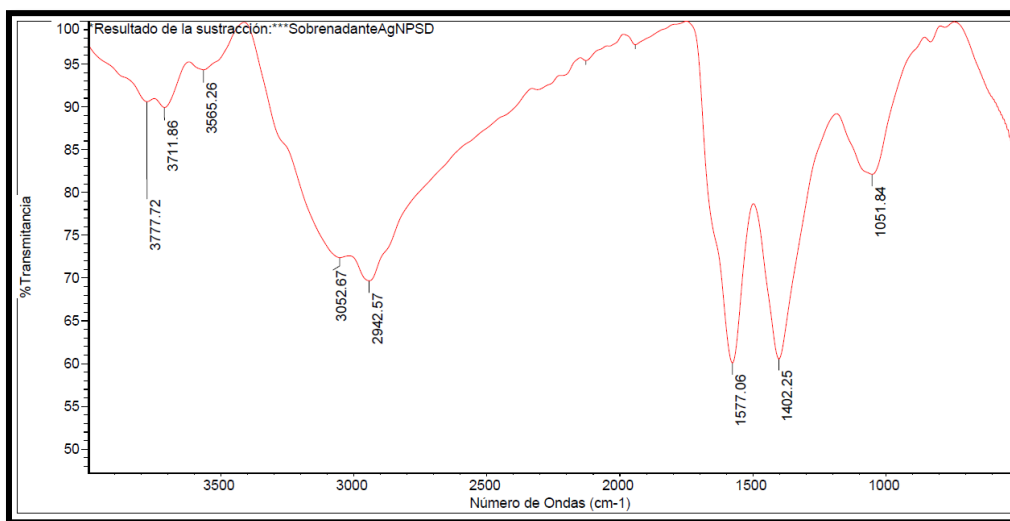


Figura 49: Espectro Infrarrojo del sobrenadante después del aislamiento de las nanopartículas de plata de *Solanum rostratum* (AgNP's duraznillo)

Tabla 25 Grupos funcionales determinados en el espectro del sobrenadante en el aislamiento de las nanopartículas

Grupo Funcional		Intervalos de frecuencia del sobrenadante (cm ⁻¹)	Intervalos de frecuencia teóricos (cm ⁻¹)
Alcanos	C-H	2942.57	3000-2840
	CH ₃ δ	1402.25	1440-1400
	CH ₃ γ	1051.84	1250-800
Compuestos aromáticos	arC-H st	2942.57	3080-3030
	ArC-C	1577.06	1625-1575
	arC-H δ	1051.84	1250-950
Alcoholes y fenoles	O-H st	3565.26	3650-3200
	O-H	1402.35	1450-1200
	C-O st	1051.84	1260-970
Compuestos con nitrógeno	NH ₂ st	3565.26, 3777.72, 3711.86	3500-3300
	NH st	3565.26	3450-3300
	NH ₃ ⁺ st	3052.67, 3942.57	3000-2000
	NH ₂ ⁺ st		
	NH ⁺ st		
	NH δ	1577.06	1650-1550
	NH ₃ ⁺ δ	1577.06, 1402.25	1600-1460
	NH ₂ ⁺ δ		
	NH ⁺ δ		
	C-N	1402.25, 1051.84	1400-1000

Con el espectro IR del sobrenadante (figura 49) de las nanopartículas de plata se identificaron bandas correspondientes a alcoholes y fenoles, además de los compuestos con nitrógeno que pueden corresponder a esteroides y aminoácidos que se encuentran en el extracto y que no reaccionan con la plata en la formación de las nanopartículas, pero que pueden contribuir a la estabilidad de éstas. En el espectro UV-Vis del sobrenadante del aislamiento de las AgNP's (figura

50) se puede observar la disminución en la banda característica de las nanopartículas, quedando solo una banda de absorción que podría pertenecer a los metabolitos que no reaccionan con la plata.

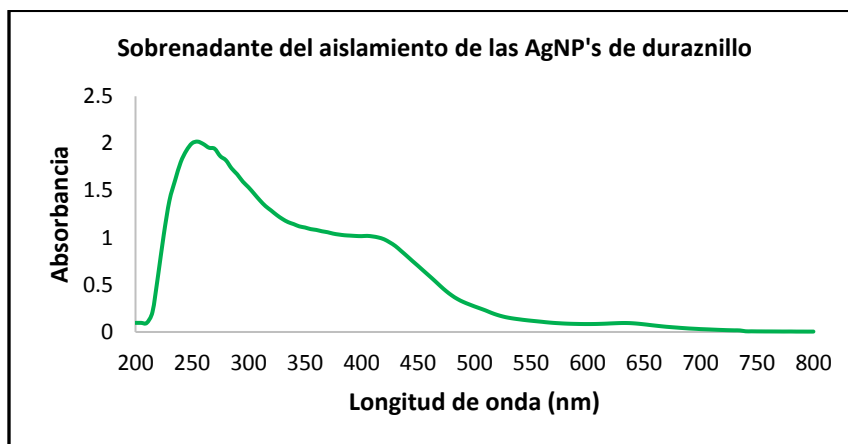


Figura 50 Espectro UV-Visible del sobrenadante después del aislamiento de las nanopartículas de plata de *Solanum rostratum* D. (duraznillo)

8.6 Microscopia Electrónica de Barrido

La figura 51 muestra la micrografía de las AgNP's de *Solanum rostratum* D. obtenidas después de ultracentrifugar, presentan una morfología esférica y un tamaño aproximado de 90 nm.

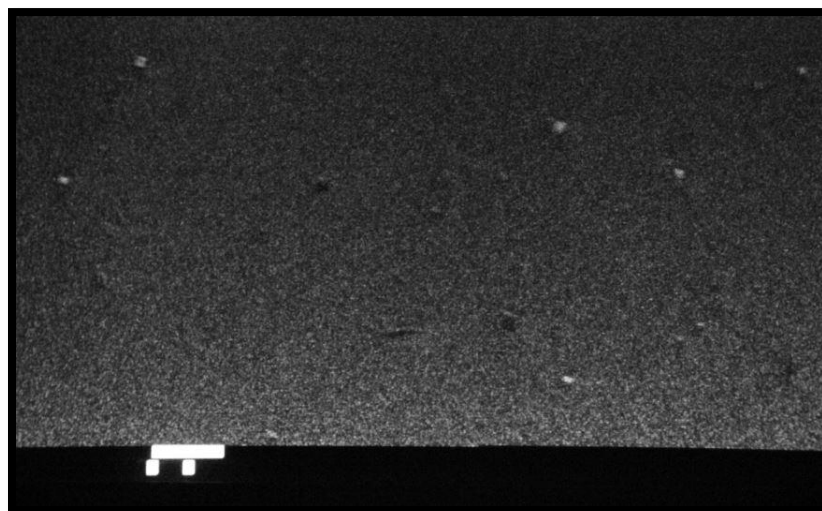


Figura 51: Micrografía MEB de las AgNP's duraznillo a 1000X. (Fotografía de Alejandra Sánchez Barrera) (México 2017). Laboratorio de Microscopia Electrónica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM C-1



8.7 Ensayo antimicrobiano establecido por el CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute)

8.7.1 Concentración de nanopartículas para realizar el estudio de la actividad antimicrobiana

Se determinaron las longitudes de onda máxima de 430 nm y mínima de 325 nm del espectro de absorción de las nanopartículas de plata, estos datos se colocaron en la ecuación integral definida del Método de Simpson.

$$\int_{325}^{430} \text{sen}x dx = \frac{h}{3} (\text{sen}x_0 + 4\text{sen}x_1 + \text{sen}x_2)$$

Figura 52: Ecuación utilizada para Método de Simpson para la determinación de la concentración de las nanopartículas de plata de duraznillo (AgNP's duraznillo)

La ecuación permitió calcular el área bajo la curva y así obtener la concentración de 21.331 ppm de AgNP's (Anexo 11.4), de las cuales se generó una solución stock para realizar el estudio de la actividad antimicrobiana (tabla 26), y de la liofilización del extracto de duraznillo se obtuvieron 0.8496 g.

Tabla 26 Diluciones que se realizaron de la solución stock de nanopartículas de plata de *Solanum rostratum* D. (AgNP's duraznillo)

Tubo	mL de medio BHI y medio DS	mL de solución de AgNP's duraznillo	[] ppm	Tubo	mL de medio BHI	mL de solución de Gentamicina	[] ppm
1	Sol. stock de AgNP's duraznillo		21.331	6	0.75	0.25	0.667
2	0.5	0.5	10.666	7	1.75	0.25	0.333
3	0.75	0.25	5.333	8	0.5	0.5	0.167
4	1.75	0.25	2.666	9	0.75	0.25	0.083
5	0.5	0.5	1.333	10	1.75	0.25	0.042

8.7.2 Actividad antibacterial del extracto acuoso vs *E. coli*

Para probar la potencial actividad antimicrobiana de los productos obtenidos de la planta se realizaron pruebas *in vitro* de microdilución, cuidando aspectos importantes como controles de crecimiento, esterilidad, antimicrobianos de referencia (Gentamicina y Anfotericina B) y las muestras clínicas de los tres microorganismos, además de utilizar el método estandarizado por CLSI y la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Cantón, Martín, & Espinel, 2007).

Al realizar el ensayo con el extracto acuoso de *Solanum rostratum* D. (duraznillo), éste no presentó inhibición al confrontarlo ante la bacteria *E. coli*, observando una turbidez en los pocillos de la micro

placa indicando el crecimiento de *E. coli* (cuadro verde) y que ninguna de las concentraciones del extracto fueron efectivas, teniendo como referencia el control positivo de Gentamicina (cuadro azul) y el control de esterilidad de la placa (cuadro rojo) donde no existe crecimiento bacteriano, y el control de crecimiento de la bacteria *E. coli* (cuadro amarillo) como se muestra en la figura 53; por lo tanto los metabolitos presentes en el extracto acuoso de duraznillo no muestran actividad antibacterial.

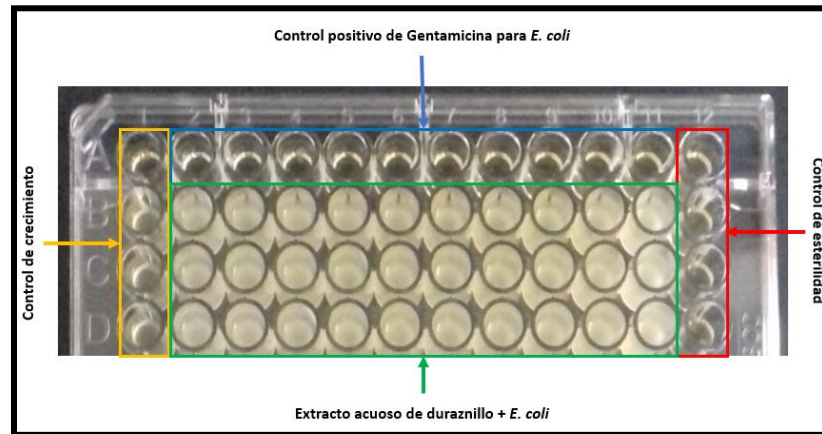


Figura 53 Ensayo microbiológico de actividad antimicrobiana con *E. coli* vs extracto acuoso de *Solanum rostratum D.* (duraznillo)

8.7.3 Actividad antibacterial de AgNP's de duraznillo vs *E. coli*

Utilizando las nanopartículas de plata de *Solanum rostratum D.* (AgNP's duraznillo) confrontada con *E. coli*, las nanopartículas mostraron inhibición ante esta bacteria, observado que en las tres primeras concentraciones de AgNP's (cuadro morado), tomando como referencia el control positivo de Gentamicina y el control de esterilidad (cuadro rojo), tuvieron inhibición en el crecimiento de la bacteria (cuadro azul), posteriormente los pocillos más diluidos en concentración no presentaron inhibición ante ésta (resto del cuadro verde), mostrado en la figura 54. Comparando el extracto acuoso de duraznillo y las AgNP's se puede mencionar que el tamaño de partícula, el área superficial, la forma y la superficie química se conjuntaron para presentar actividad antimicrobiana, por lo tanto, las concentraciones inhibitorias de las nanopartículas de plata de duraznillo frente a *E. coli* son: 21.331 ppm, 10.666 ppm y 5.333 ppm.

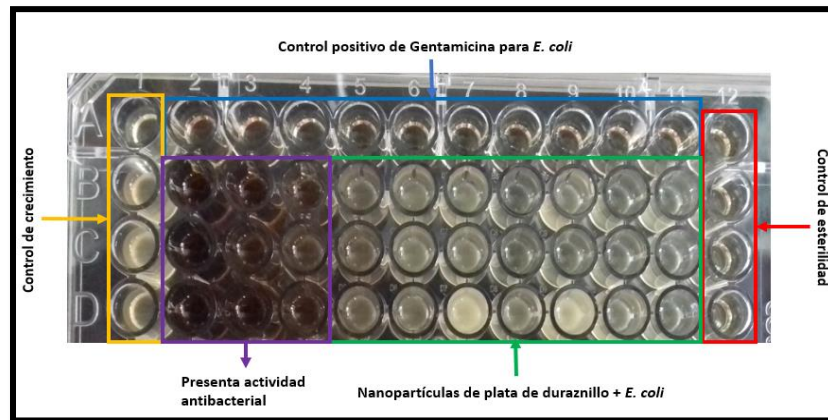


Figura 54 Ensayo microbiológico de actividad antimicrobiana con nanopartículas de plata de *Solanum rostratum* D.(duraznillo) vs *E. coli*

8.7.4 Actividad antibacteriales para el extracto acuoso de duraznillo y AgNP's vs *Staphylococcus aureus*

En el ensayo de actividad antimicrobiana con *Staphylococcus aureus* confrontada con el extracto acuoso de *Solanum rostratum* D. (Figura 55) y con las nanopartículas de plata de *Solanum rostratum* D. (Figura 56), en ambos casos ninguna concentración utilizada presentó actividad inhibitoria sobre el crecimiento de *S. aureus* (cuadro verde), tomando como referencia el control de crecimiento de *S. aureus* (cuadro amarillo) y el control positivo para Gentamicina (cuadro azul), además del control de esterilidad en la placa de microtitulación.

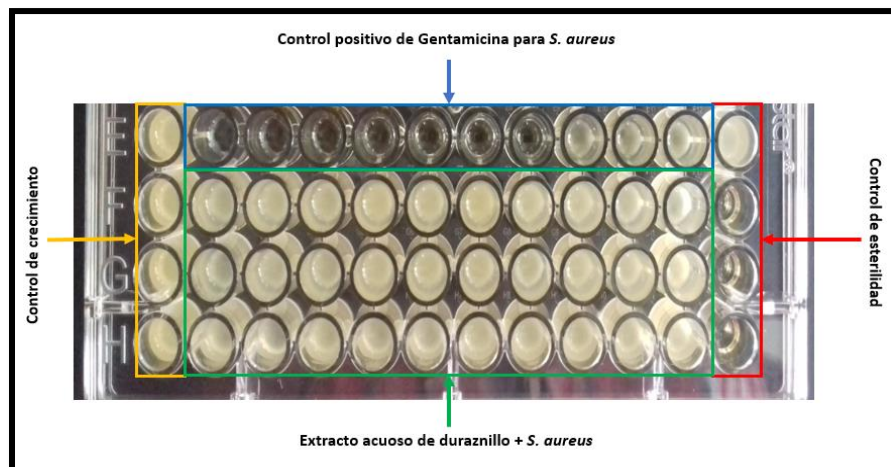


Figura 55 Ensayo microbiológico de actividad antimicrobiana del extracto acuoso de *Solanum rostratum* D. vs *S. aureus*

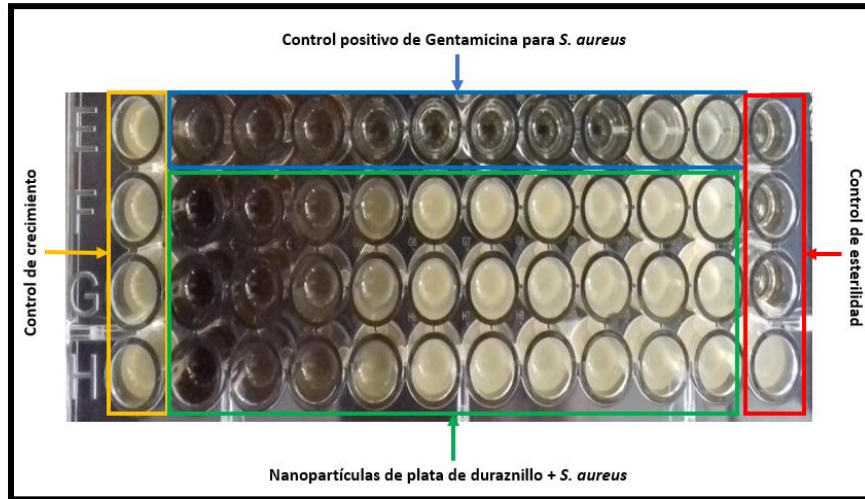


Figura 56 Ensayo microbiológico de actividad antimicrobiana de AgNP's de *Solanum rostratum* D. vs *S. aureus*

8.7.5 Actividad Antifúngica del extracto acuoso de duraznillo vs *C. albicans*

En el ensayo microbiológico para la actividad antifúngica utilizando la cepa *Candida albicans* confrontada con el extracto acuoso de *Solanum rostratum* D., el extracto no mostró actividad inhibitoria en el crecimiento de la cepa (cuadro verde), tomando como referencia el control de crecimiento de la cepa (cuadro amarillo) y el control positivo de inhibición para la misma (cuadro azul), además del control de esterilidad de la placa de microtitulación (cuadro rojo) como se observa en la figura 57. Dando a conocer que los metabolitos presentes en el extracto acuoso de duraznillo por si solos no muestran algún efecto ante *C. albicans*.

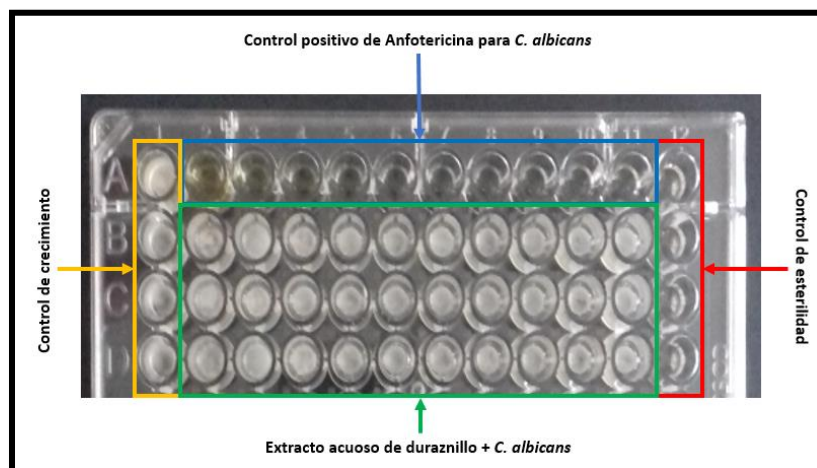


Figura 57 Ensayo microbiológico de actividad antifúngica con el extracto acuoso de *Solanum rostratum* D. vs *C. albicans*

8.7.6 Actividad antifúngica de AgNP's vs *Candida albicans*

Las nanopartículas de plata de *Solanum rostratum* D. al confrontarlas con la cepa *Candida albicans*, presentaron actividad antifúngica al inhibir el crecimiento de *C. albicans*, la actividad se dio en las 3 primeras concentraciones de AgNP's al igual que en *E. coli* (cuadro morado), permitiendo que el resto de las concentraciones fueran inactivas (cuadro verde), tomando como punto de referencia el control de crecimiento (cuadro amarillo) y el control positivo para Anfotericina B en la inhibición de crecimiento de la cepa (cuadro azul) mostrado en la figura 58. Al igual que en la actividad ante *E. coli*, los metabolitos que componen las nanopartículas de plata y el tamaño permiten presentar una actividad contra hongos, presentando una concentración inhibitoria de: 21.331 ppm, 10.666 ppm y 5.333 ppm.

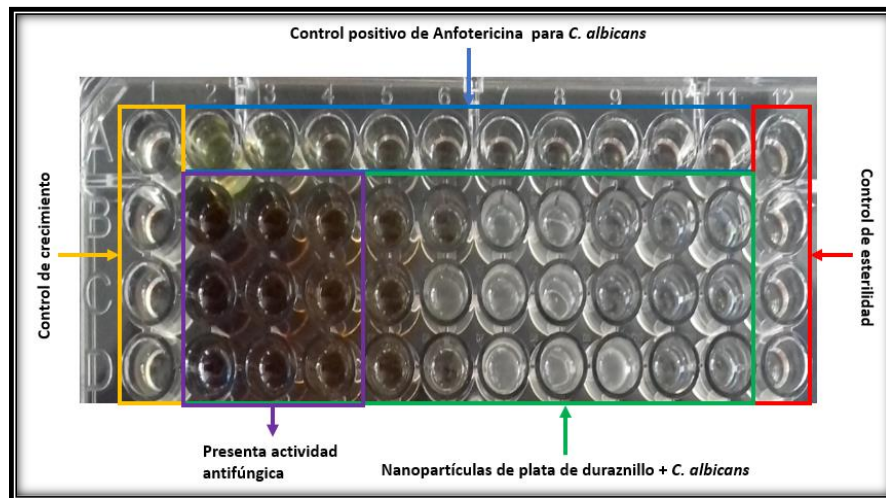


Figura 58 Ensayo microbiológico de actividad antifúngica con *Candida albicans* vs nanopartículas de plata de *Solanum rostratum* D. (duraznillo)



Conclusiones

Se elaboró una lista de plantas que entre su composición química permitieran la formación de partículas con la reducción de la plata, entre ellas estuvieron: chíá, pericón, toronjil, chilchahua y duraznillo; al realizar la reacción de nitrato de plata (AgNO_3) con las tres primeras, en los sistemas se observó precipitación de color negro por lo que se decidió descartarlas, sin embargo con el duraznillo al ser lenta la reacción no se observó precipitado y por lo tanto fue la elegida para realizar la síntesis de nanopartículas de plata.

El duraznillo es una planta ruderal catalogada como tóxica, sin embargo, forma parte de las plantas utilizadas en la medicina tradicional para diversos padecimientos. Estas características antimicóticas, antioxidante, antiinflamatoria, antineoplásica y tratamiento contra la diabetes hacen de la planta ser interesante. El Herbario Etnobotánico Izta de la FES-Iztacala identificó al material vegetal recolectado en los Ejidos de Melchor Ocampo, Estado de México, con el nombre popular de duraznillo, nombre científico *Solanum rostratum* D. perteneciente a la familia Solanaceae. En el herbario se dejó bajo resguardo un ejemplar con número de registro 2518 IZTA.

Los grupos químicos alcaloides, fenoles, flavonoides, azúcares reductores, triterpenos y esteroides fueron identificados en el análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso de duraznillo.

Con el diseño experimental se establecieron las condiciones de síntesis de AgNP's, siendo la Temperatura del extracto, concentración de NaOH y la interacción entre ambos, estos factores influyeron en el tamaño de partícula y para la polidispersión el factor que influyó es la concentración de NaOH. Las condiciones en las que se obtuvo el extracto acuoso utilizado en la síntesis de AgNP's fueron: 0.5 g de duraznillo+ 0.5 mL de NaOH 5M + 5 mL de agua destilada a 80°C, la síntesis se llevó a temperatura ambiente agregando 0.5 mL de extracto más 11 mL de AgNO_3 .

Utilizando la espectroscopia UV-Vis, se lograron obtener los espectros de las nanopartículas de plata presentando un plasmón de superficie en el intervalo de 430-435 nm, de igual manera comparar los espectros de los extractos y las nanopartículas de plata; con espectroscopia infrarroja se determinaron que grupos funcionales como alcoholes, OH y compuestos nitrogenados, que pueden pertenecer a fenoles, flavonoides y alcaloides, son los posibles metabolitos del extracto de la planta que permiten la formación de las nanopartículas de plata.

Por Microscopia Electrónica de Barrido se observó la morfología esférica correspondientes a las AgNP's con un tamaño aproximado de 90 nm respectivamente.

El extracto no presentó actividad antimicrobiana ante *E. coli*, *S. aureus* y *C. albicans*, sin embargo, las nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto acuoso de *S. rostratum* D. presentaron actividad contra *E. coli* y *C. albicans* en una concentración inhibitoria de 21.331 ppm, 10.666 ppm y 5.333 ppm.



Prospectivas

- Realizar la optimización en el método de la fitosíntesis de nanopartículas de plata de *Solanum rostratum* D. (duraznillo).
- Realizar pruebas *in vivo* de las nanopartículas de plata de duraznillo para conocer los efectos de éstas en el organismo.
- Realizar pruebas insecticidas utilizando las nanopartículas de plata de duraznillo para demostrar dicha actividad.



Anexos

Documento de identificación taxonómica de la planta *Solanum rostratum* D. (duraznillo)

	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA HERBARIO IZTACALA		
FESI/HI/029/2016			
OSCAR GONZÁLEZ ROMERO Alumno de la Carrera de Química Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Presente			
Por este conducto me permito proporcionar a usted la identificación taxonómica del material botánico de respaldo del Proyecto de Tesis de Licenciatura “Síntesis de nanopartículas de plata usando como agente reductor al extracto acuoso de <i>Solanum rostratum</i> Dun. (SOLANACEAE)(Duraznillo)” que se realiza en el Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, bajo la dirección de la Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enríquez.			
Así mismo, le informo que la planta ha sido integrada en la Colección Etnobotánica del Herbario Iztacala con el siguiente número de registro:			
Nombre Científico	Familia Botánica	Nombre Popular	No. de Registro
<i>Solanum rostratum</i> Dun.	SOLANACEAE	“Duraznillo”	2518 IZTA
Sin otro particular, le envío un cordial saludo.			
Atentamente “POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU” Los Reyes Iztacala, Estado de México, 4 de agosto 2016			
 M. EN C. MA. EDITH LÓPEZ VILLAFRANCO Responsable del Herbario IZTA			
C.c.p.- Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enríquez Directora de Tesis, FES Cuautitlán, UNAM			
<small>Av. De los Barrios No. 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepanla, Estado de México, C.P. 54090. A. P. 314. Tel/Fax: 5623-1378. herbario_izta@campus.iztacala.unam.mx</small>			



Cálculos para la actividad antimicrobiana por el método CLSI

- Preparación de Anfotericina para 5 mL a 1600 ppm, considerando 100% puro.

$$1600 \frac{\mu g}{mL} (5mL) = 8000\mu g \left(\frac{1 mg}{1000\mu g} \right) \left(\frac{1g}{1000mg} \right) = 0.008g \text{ de Anfotericina}$$

- Preparación de Gentamicina para 5 mL a 1300 ppm, considerando 100% puro.

$$1300 \frac{\mu g}{mL} (5mL) = 6500\mu g \left(\frac{1 mg}{1000\mu g} \right) \left(\frac{1g}{1000mg} \right) = 0.0065g \text{ de Gentamicina}$$

- Los mismos gramos fueron pesados para el extracto liofilizado de duraznillo para la concentración 1600 ppm y 1300 ppm
- Preparación de 130 mL de medio de cultivo BHI-Infusión Cerebro Corazón.
- El marbete del medio de cultivo menciona que son 37 g por 1 L de agua destilada, por lo tanto.

$$130mL \left(\frac{37g}{1000mL} \right) = 4.81g \text{ de medio BHI}$$

- Preparación de 80 mL de medio de cultivo DS, compuesto por: Dextrosa, Peptona de caseína y Digerido de caseína.
- Se pesaron de peptona de caseína.

$$80 mL \left(\frac{5g}{1000mL} \right) = 0.4 g \text{ de peptona de caseína}$$

- Se pesaron de dextrosa.

$$80mL \left(\frac{40g}{1000mL} \right) = 3.2 g \text{ de Dextrosa}$$

- Se pesaron digerido de caseína.

$$80mL \left(\frac{5g}{1000mL} \right) = 0.4 g \text{ de Digerido de caseína}$$

- Los gramos pesados de peptona de caseína, dextrosa y digerido de caseína se agregaron en un solo frasco para preparar el medio de cultivo DS.

Cálculo de las concentraciones para los esquemas de dilución para las placas de microtitulación

- El cálculo de las concentraciones para los sistemas en la actividad antimicrobiana es el mismo que se siguió para Gentamicina, Anfotericina B, extracto acuoso de duraznillo y AgNP's.
- Concentraciones de Anfotericina B, sistema 1 corresponde a la solución stock.
- Sistema 2.

$$\frac{(1600ppm)(0.5mL)}{1mL} = 800 ppm \text{ de Anfotericina B}$$



- Sistemas 3.

$$\frac{(1600\text{ppm})(0.25\text{mL})}{1\text{mL}} = 400 \text{ ppm de Anfotericina B}$$

- Sistema 4.

$$\frac{(1600\text{ppm})(0.25\text{mL})}{2\text{mL}} = 200 \text{ ppm de Anfotericina B}$$

- Sistema 5.

$$\frac{(200\text{ppm})(0.5\text{mL})}{1\text{mL}} = 100 \text{ ppm de Anfotericina B}$$

- Sistema 6.

$$\frac{(200\text{ppm})(0.25\text{mL})}{1\text{mL}} = 50 \text{ ppm de Anfotericina B}$$

- Sistema 7.

$$\frac{(200\text{ppm})(0.25\text{mL})}{2\text{mL}} = 25 \text{ ppm de Anfotericina B}$$

- Sistema 8.

$$\frac{(25\text{ppm})(0.5\text{mL})}{1\text{mL}} = 12.5 \text{ ppm de Anfotericina B}$$

- Sistema 9.

$$\frac{(25\text{ppm})(0.25\text{mL})}{1\text{mL}} = 6.25 \text{ ppm de Anfotericina B}$$

- Sistema 10.

$$\frac{(25\text{ppm})(0.25\text{mL})}{2\text{mL}} = 3.125 \text{ ppm de Anfotericina B}$$

Cálculo para la concentración de nanopartículas de plata para la realización de la actividad antimicrobiana utilizando el Método de Simpson

- Se preparó 250 mL de una solución de Nitrato de plata 1mM, pesando 43.4 mg de AgNO_3
- Para la síntesis de nanopartículas solo se utilizaron 50 mL de la solución anterior de AgNO_3 que se hicieron reaccionar con 2.5 mL del extracto acuoso de duraznillo (en las condiciones establecidas por el diseño experimental), ocupando 8.68 mg de AgNO_3 para la preparación de nanopartículas.

$$43.4\text{mg de AgNO}_3 \left(\frac{50\text{mL de AgNP's}}{250\text{mL de solución de AgNO}_3} \right) = 8.68\text{mg de AgNO}_3 \text{ en solución de AgNP's}$$

- De la síntesis realizada solo se ocuparon 37 mL para realizar el aislamiento de las nanopartículas de plata, siendo 6.1173 mg de AgNO_3 en solución de AgNP's.



$$8.68 \text{ mg de } AgNO_3 \text{ en solución de } AgNP's \left(\frac{37 \text{ mL de solución centrifugada}}{52.5 \text{ mL solución de } AgNP's} \right) \\ = 6.1173 \text{ mg de } AgNO_3 \text{ en solución de } AgNP's$$

- Con los miligramos de $AgNO_3$ en solución de $AgNP's$ se calculó la cantidad de miligramos de plata obtenidos en la síntesis, siendo 3.8845 mg de Ag^0 .

$$6.1173 \text{ mg de } AgNO_3 \text{ en solución de } AgNP's \left(\frac{1 \text{ mmol } AgNO_3}{169.87 \text{ mg } AgNO_3} \right) \left(\frac{1 \text{ mmol } Ag^0}{1 \text{ mmol } AgNO_3} \right) \left(\frac{107.8682 \text{ mg } Ag^0}{1 \text{ mmol } Ag^0} \right) \\ = 3.8845 \text{ mg de } Ag^0$$

- Por medio del método de Simpson se calculó el porcentaje de $AgNP's$ en la síntesis, utilizando las longitudes de onda máxima y mínima del espectro UV-Visible de las $AgNP's$, 325 nm y 430 nm como intervalos de integración, así como se muestra a continuación.

$$\int_{325}^{430} \text{sen} x dx = \frac{h}{3} (\text{sen} x_0 + 4 \text{sen} x_1 + \text{sen} x_2) \\ \int_{325}^{430} \text{sen} x dx = \frac{52.5}{3} (\text{sen}(325) + 4 \text{sen}(377.5) + \text{sen}(430)) = 27.456\% \text{ de } AgNP's \\ \Delta dx = \frac{430 - 325}{1} = 105 \rightarrow h = \frac{105}{2} = 52.5$$

- El porcentaje en la síntesis de nanopartículas de plata fue del 27.456%, el cual se utilizó para determinar la concentración de plata en las $AgNP's$ y así poder manejar una concentración aproximada de nanopartículas, siendo una concentración de 21.331 ppm de Ag^0 en $AgNP's$.

$$27.456\% \text{ de } AgNP's \left(\frac{3.8845 \text{ mg de } Ag^0}{100\%} \right) = 1.066 \text{ mg de } Ag^0 \text{ en } AgNP's \\ 1.066 \text{ mg de } Ag^0 \text{ en } AgNP's \left(\frac{1000 \mu g}{1 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{50 \text{ mL}} \right) = 21.331 \text{ ppm de } Ag^0 \text{ en } AgNP's$$



Bibliografía

1. Abdi, Y., Otrooshi, N., & Miri, M. (2014). Surface Plasmon resonance of Ag nanoparticles in the vicinity of a high impedance surface. *Current Applied Physics*.
2. Aguilar, M. A. (2009). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata: Efecto sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. *Tesis Doctoral*. Instituto Politécnico Nacional, México.
3. Anzures, M. d. (1983). *La Medicina Tradicional en México: Proceso histórico, sincretismos y conflictos*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
4. Arganis, M., Cortés, J., & González, M. (2017). Métodos de integración numérica de Newton aplicados en un problema de manejo de embalses. *Íngeniería, Investigación y Desarrollo*, 183-193.
5. Astafyeva, L., Pustovalov, V., & Fritzsche, W. (2017). Characterization of plasmonic and thermo-optical parameters of spherical metallic nanoparticles. *Nano-Structures&Nano-Objects*, 57-67.
6. Blanco, M., & Cerdá, V. (2007). *Temas avanzados de Quimiometría*. Palma: Universitat de les Illes Balears.
7. Bruneton, J. (2001). *Plantas tóxicas. Vegetales peligrosos para el hombre y los animales*. Zaragoza: Acribia, S.A.
8. Calle, L. C., & M. L. (2014). Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso de ajo (*Allium sativum*). *Soluciones de posgrado EIA*, 129-140.
9. Cantón, E., Martín, E., & Espinel, A. (2007). Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). *Revista Iberoamericana de Micología*, 15a-15b-6.
10. Castañón, L. (04 de Enero de 2016). *Departamento de microbiología y parasitología-Recursos en Micología*. Obtenido de Candidiasis o Candidosis: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/candidosis.html>
11. Cervantes, E., García, R., & Salzar, P. (2014). Características Generales del *Staphylococcus aureus*. *Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 28-40.
12. Costa, J., & Cervera, S. (1991). *Curso de Ingeniería Química, Introducción a los procesos, las operaciones unitarias y los fenómenos de transporte*. España: REVERTÉ.
13. Cruz, D., Rodríguez, M., López, J., Herrera, V., Orive, A., & Creus, A. (2012). Nanopartículas Metálicas Y Plasmones de Superficie: Una relación profunda. *Avances en Ciencia e Ingeniería*, 67-78.



14. Csaba, N., González, L., Sánchez, A., & Alonso, M. (2004). Design and Characterization of new nanoparticulate polymer blends for drugs delivery. *Journal of Biomaterials Science*, 1137-1151.
15. Del Vitto, L., & Pettenatti, E. (2015). Sobre la presencia de *Solanum rostratum* (Solanaceae) en Sudamérica: una neófita tóxica de gran potencial como maleza. *Facultad de Ciencias Agrarias*, 109-121.
16. Domínguez, X. (1973). *Métodos de investigación fitoquímica*. México: Limusa.
17. Escobar Falconí, V. (2015). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por espectroscopia de infrarrojos (FT-IR), UV-Vis, absorción atómica de llama (FAAS) y microscopia de barrido electrónico (SEM). *Ciencias Químicas*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.
18. Esparza, R., Ascencio, J. A., & Pérez, R. (2009). Effects of compositional proportions metal-ion concentration and pH into the structure characteristics of Au, Pt and AuPt nanoparticles. *Revista Mexicana de Física*, 339-346.
19. Feldheim, D., & Foss, C. (2002). *Metal Nanoparticles: Synthesis, Characterization and Applications*. New York: Marcel Dekker.
20. Flores, C. (2014). Nanopartículas de plata con potenciales aplicaciones en materiales implantables: síntesis, caracterización fisicoquímica y actividad bactericida. *Doctor en Química*. Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires.
21. Glossman, D. (2007). CHH-DFT determination of the molecular structure and infrared and ultraviolet spectra of gamma-solanine. *Spectrochimica Acta*, 208-211.
22. Gooch, J. (2006). Encyclopedic Dictionary of Polymers. *Absorption spectrophotometry*. New York: Springer. doi:10.1007/978-0-387-30160-0
23. Hao, L.-j., Wang, S., Zhu, J.-j., Wang, Z.-m., & Wei, S.-h. (2014). Chemical constituents from *Solanum rostratum*. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2034-2038.
24. Hornyak, G., Dutta, J., Tibbals, H., & Rao, A. (2008). *Introduction to Nanoscience*. Nueva York: CRC Press, Taylor & Francis Group.
25. Juárez, M. (2016). *Determinación de actividad antimicrobiana de los extractos vegetales de *Tagetes nelsonii* Greenm.* Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Estado de México.
26. Kuklinski, C. (2000). *Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. España: Ediciones Omega.
27. M. A., Noqta, O. A., F. A., J. A., & K. A. (2014). pH effect on the aggregation of silver nanoparticles synthesized by chemical reduction. *Materials Science-Poland*, 107-111.



28. Malvern. (2011). *Zetasizer Nano Series: Performance, Simplicity, Versatility*. Obtenido de Malvern (R): <https://www.malvernpanalytical.com>
29. McMurry, J. (2004). *Química Orgánica*. D.F.: Thomson.
30. Miller, N., & Miller, J. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Madrid: Pearson Educación, S.A.
31. molekuul. (14 de Enero de 2018). *Molécula De Fármaco Antibiótico De Gentamicina (clase Aminoglucósido). Fórmula Esquelética*. Recuperado el 26 de Febrero de 2019, de 123RF: https://es.123rf.com/photo_91297686_mol%C3%A9cula-de-f%C3%A1rmaco-antibi%C3%B3tico-de-gentamicina-clase-aminogluc%C3%B3sido-f%C3%B3rmula-esquel%C3%A9tica-.html
32. Molina, J., & Eslava, C. (3 de Agosto de 2015). *Escherichia coli Diarrogénica*. Obtenido de Departamento de Microbiología y Parasitología-Recursos en Bacteriología: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html>
33. Nair, R., Varghise, S., Narr, B., Maekawa, T., Yoshida, Y., & Kumar, D. (2010). Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Science*, 154-163.
34. Plieth, W., Dietz, H., Anders, A., Sondmann, G., Meixner, A., Weber, M., & Knepe, H. (2005). Electrochemical preparation of silver and gold nanoparticles. Characterization by confocal and surfaceenfrared Raman. *Surface Science*, 119-126.
35. Pretsch, E., Bühlmann, P., & Badertscher, M. (2009). *Estructure Determination of Organic Compounds, Tables of Data*. Zürich: Springer.
36. R. B., & P. M. (10 de April de 2008). Biological properties of "naked" metal nanoparticles. *ELSEVIER*, 1289-1306.
37. Renau, J., & Faura, M. (s.f.). Principios básicos del Microscopio Electrónico de Barrido. *Centro de Investigación.Hospital "La Fe"*, 73-92.
38. Reyhani, A., Mortazavi, S., & Novinroz, A. (2011). The effects of pH and temperature of solution on the formation of gamma-Fe₂O₃ Nanoparticles. *Synthesis and reactivity in inorganic, metal organic and nano-Metal chemistry*, 30-35.
39. Ríos, Á., & Cruz, M. (2014). *Técnicas espectroscópicas en química analítica, Volumen I*. Madrid: Síntesis.
40. Ríos, Á., Cruz, M., & Simonet, B. (2007). *Técnicas espectroscópicas en química analítica: Aspectos básicos y espectrometría molecular*. Madrid: SINTESIS.
41. Santillan, M. (18 de Enero de 2016). *Ciencia UNAM*. Obtenido de La Temida E. coli: http://ciencia.unam.mx/leer/525/La_temida_E_coli



42. Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos*. Bogotá: Convenio Andrés Bello.
43. Sharma, V. K., Yngard, R. A., & Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*, 145, 83-96.
44. Sheppard, D., & Lampiris, H. W. (29 de Enero de 2019). *CAPÍTULO 48: Fármacos antimicóticos*. Recuperado el 26 de Febrero de 2019, de anfotericina b estructura química: <https://accessmedicina.mhmedical.com/Content.aspx?bookid=1499§ionid=98758137#1120083251>
45. Siddiqui, H., Al-Whaibi, H., & Firoz, M. (2015). *Nanotechnology and Plant Sciences: Nanoparticles and Their Impact on Plants*. New York: Springer.
46. Simonet, B., Cruz, M., & Ríos, Á. (2014). *Técnicas espectroscópicas en química analítica, Volumen I*. Madrid: Síntesis.
47. SSA. (2013). *Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos*. Ciudad de México: Secretaria de Salud.
48. Stewart, J. (2008). *Cálculo de una variable, Transcendentes tempranas*. E.U.A.: CENGAGE Learning.
49. UNAM. (2009). *Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana*. Obtenido de <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx>
50. Velgosová, O., Mrazíková, A., & Marcincáková, R. (2016). Influence of pH on green synthesis of Ag nanoparticles. *Materials Letters*, 336-339.
51. Villar del Fresno, Á. (1999). *Farmacognosia General*. España: Síntesis.
52. Wade, L. (2004). *Química Orgánica*. Madrid: Pearson Educación.
53. Zanella, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano*, 69-81.
54. Zazo, H., Millán, C., Colino, C., & Lanao, J. (2017). Applications of Metallic Nanoparticles in Antimicrobial Therapy. *Antimicrobial Nanoarchitectonics*, 411-444.
55. Zhang, K., & Ding, Z. (2018). Effect of asymmetric morphology on coupling surface plasmon modes and generalized plasmon ruler. *Ultramicroscopy*, 55-64.
56. Zhang, X. (1986). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud, Medicina Tradicional: http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/