

Synthesis of silver nanoparticles using aqueous extracts of *Rosmarinus officinalis* and *Citrus sinensis*

K.C. Córdova- Cisneros¹, A. Sáenz-Galindo¹, J. A. Ascacio-Valdés¹, F. Avalos¹, I. Moggio²,
A. Castañeda-Facio^{1*}

¹Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Blvd. Venustiano Carranza esq. José Cárdenas Valdés col. República, CP. 25280 1, Saltillo, Coahuila, México. ²Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna, San José de los Cerritos, CP. 25294, Saltillo, Coahuila, México.

Síntesis de nanopartículas de plata mediante extractos acuosos de Rosmarinus officinalis y Citrus sinensis

Síntesi de nanopartícules de plata mitjançant extractes aquosos de Rosmarinus officinalis i Citrus sinensis

RECEIVED: 8 JULY 2020; REVISED: 26 NOVEMBER 2020; ACCEPTED: 19 JANUARY 2021

ABSTRACT

In this study, the synthesis of silver nanoparticles (NPsAg) is presented using AgNO₃ as precursor salt and the aqueous extracts of *Rosmarinus officinalis* or *Citrus sinensis* as reducing-stabilizing agent. To obtain the nanoparticles, 25 ml of a 0.1M AgNO₃ solution were added to 10 ml of the previously prepared aqueous extract at room temperature for 24 hours. The extracts were characterized by the HPLC-Ms technique, for the determination of the compounds responsible for the reduction of Ag⁺ to Ag⁰, and thus to propose a reaction mechanism for the synthesis of NPsAg. The obtained NPsAg were characterized by various techniques such as XRD, confirming their obtaining by means of the ICDD 04-0783 diffraction chart, by SEM micrographs the size of the NPs was determined in a range of 20-60 nm using the *Rosmarinus officinalis* extract as reducing agent and 10-30 nm when the *Citrus sinensis* extract was used, indicating that when using different types of aqueous plant extracts there is a variation in the size of the NPs. Using UV-Vis spectroscopy, the characteristic surface plasmon resonance of silver nanoparticles was found at 430-450 nm and by FT-IR spectroscopy it was confirmed that NPsAg are functionalized.

Keywords: Synthesis, silver nanoparticles, aqueous extracts of *Rosmarinus officinalis* and *Larrea tridentata*.

RESUMEN

En este estudio, se presenta la síntesis de nanopartículas de plata (NPsAg) utilizando como sal precursora AgNO₃ y como agente reductor-estabilizador los extractos acuosos de *Rosmarinus officinalis* y *Citrus sinensis*. Para obtener las nanopartículas, se agregaron 25 ml de una solución de AgNO₃ 0.1 M a 10 ml del extracto acuoso previamente preparado a temperatura ambiente por 24 horas. Los extractos obtenidos fueron caracterizados por la técnica HPLC-Ms para la determinación de los compuestos responsables de la reducción de Ag⁺ a Ag⁰, y así proponer un mecanismo de reacción para la síntesis de las NPsAg. Las NPsAg obtenidas se caracterizaron por diversas técnicas como el DRX confirmando su obtención mediante la carta de difracción ICDD 04-0783. Mediante micrografías SEM se determinó el tamaño de las NPs en un rango de 20-60 nm utilizando como agente reductor el extracto de *Rosmarinus officinalis* y en un rango de 10-30 nm cuando se utilizó el extracto de *Citrus sinensis*, indicando que al utilizar diferentes tipos de extractos acuosos de plantas existe una variación de tamaño. Mediante espectroscopía UV-Vis se observó la resonancia del plasmón superficial alrededor de 430-450 nm, característica de las NPsAg, y mediante espectroscopía FT-IR se confirmó que las NPsAg se encuentran funcionalizadas.

Palabras clave: Síntesis, nanopartículas de plata, extractos acuosos de *Rosmarinus officinalis*, *Larrea tridentata*.

*Corresponding author: adali.castaneda@uadec.edu.mx

RESUM

En aquest estudi, es presenta la síntesi de nanopartícules de plata (NPsAg) utilitzant com a sal precursora AgNO_3 i com a agent reductor-estabilitzador els extractes aquosos de *Rosmarinus officinalis* i *Citrus sinensis*. Per obtenir les nanopartícules, es van agregar 25 ml d'una solució de AgNO_3 0,1 M a 10 ml de l'extracte aquós prèviament preparat a temperatura ambient per 24 hores. Els extractes obtinguts van ser caracteritzats per la tècnica HPLC-Ms per a la determinació dels compostos responsables de la reducció de Ag + a Ag^0 , i així proposar un mecanisme de reacció per a la síntesi de les NPsAg. Les NPsAg obtingudes es van caracteritzar mitjançant diverses tècniques com el DRX, confirmant la seva obtenció mitjançant la carta de difracció ICDD 04-0783. Fent servir, crografies SEM es va determinar la mida de les NPs en un rang de 20-60 nm utilitzant com a agent reductor l'extracte de *Rosmarinus officinalis* i de 10-30 nm quan es va utilitzar l'extracte de *Citrus sinensis*, indicant que a l'utilitzar diferents tipus d'extractes aquosos de plantes hi ha una variació de volum. Mitjançant espectroscòpia UV-Vis es va observar la ressonància del plasmó superficial al voltant de 430-450 nm característica de les NPsAg i mitjançant espectroscòpia FT-IR es va confirmar que les NPsAg es troben funcionalitzades.

Paraules clau: Síntesi, nanopartícules de plata, extractes aquosos de *Rosmarinus officinalis*, *Larrea tridentata*

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la nanotecnología ha sido una rama de gran estudio, al diseñar, manipular y sintetizar materiales con tamaño nanométrico¹, entre las cuales las nanopartículas de plata (NPsAg) han tomado gran interés al presentar propiedades que han sido aplicadas en diversas áreas tales como la electrónica, ingeniería, medio ambiente, medicina², siendo esta última, de gran impacto para la comunidad científica, debido a sus propiedades antiinflamatorias, anticancerosas, antifúngicas y antibacterianas, entre las cuales, ha destacado la actividad antimicrobiana debido a que las NPsAg son de gran toxicidad para las células procariontas (bacterias, virus y hongos)³, sin embargo, no son tóxicas para las células eucariontas³. Para la obtención de este tipo de NPs, existen diversos métodos de síntesis, como son los métodos químicos, entre los cuales se puede mencionar la reducción química, la microemulsión/coloidal, los métodos sonoquímicos, el método electroquímico y la descomposición solvotermal⁴; por otro lado, entre los métodos físicos más utilizados han sido la ablación láser, la molienda mecánica, la molienda mecanoquímica y el método de descarga pulsada en alambre⁴, sin embargo, estos métodos han presentado grandes desventajas al ser muy costosos, al necesitar la adición de agentes reductores y agentes estabilizadores químicos⁵ y otros, al generar residuos tóxicos perjudicando el medio ambiente⁶, por lo cual recientemente se ha estudiado la síntesis de NPsAg mediante métodos biológicos a partir

de diversos tipos de organismos como son los microorganismos y los extractos de plantas, siendo esta última un campo de gran interés⁷, al considerarse un método simple, rápido, rentable y no tóxico⁵. Se han utilizado diversos extractos de plantas para la síntesis de NPsAg, entre los cuales se pueden mencionar: el *Crocus sativus* (azafrán)⁸, *Azadirachta indica* (neem)⁹, *Geranium leaf* (hojas de geranio)¹⁰, entre otros; los cuales tienen en común diversos compuestos químicos como los ácidos metoxicinámicos, flavonoides y terpenoides⁸ los cuales actúan como agentes reductores y estabilizadores de las NPsAg, evitando la adición de sustancias químicas tóxicas durante la síntesis, así como el uso de altas temperaturas y alta presión¹¹, haciendo que este método sea muy atractivo y eficaz para la obtención de NPsAg siendo este método amigable con el medio ambiente. El *Rosmarinus officinalis* y el *Citrus sinensis* al ser plantas que crecen en diferentes partes del mundo, han sido de gran estudio debido a su abundancia y al presentar en su composición algunos compuestos químicos como flavonoides, fenoles, terpenos, glucósidos¹², ácidos fenólicos, flavonoles, ácidos y alcoholes terpenícos¹³, los cuales han tomado gran interés al actuar como agentes reductores de los iones plata en las síntesis de NPs¹⁴. Por lo cual, en este trabajo de investigación se describe una metodología amigable con el medio ambiente para la síntesis de NPsAg a partir del extracto de plantas de *Rosmarinus officinalis* y *Citrus sinensis*, evitando el uso de químicos tóxicos para contribuir con el cuidado del planeta.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

El nitrato de plata (AgNO_3) fue adquirido en Jalmek. Se utilizó agua bidestilada en todo el estudio para la preparación del extracto de plantas (*Rosmarinus officinalis* y *Citrus sinensis* de la región), así como para la síntesis y purificación de las NPsAg.

2.2 Preparación de los extractos acuosos de plantas

Las hojas frescas de las plantas se secaron en una estufa, las cuales posteriormente se trituraron y se colocaron con agua bidestilada a una temperatura de 60°C durante 1 hora. El extracto se filtró para separar los sólidos contenidos¹⁵.

2.3 Síntesis de NPsAg

A 25 ml de una solución de AgNO_3 0.1 M se le adicionó 10 ml del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis*. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente por 24 horas, con ayuda de agitación magnética. Las nanopartículas obtenidas se purificaron mediante lavados con agua bidestilada en una centrifuga a 3000 rpm. Para la síntesis de NPsAg con el extracto de *Citrus sinensis* se realizó el mismo procedimiento.

2.4 Caracterización de los extractos de plantas

Los extractos de plantas de *Rosmarinus officinalis* y *Citrus sinensis* fueron caracterizados mediante la técnica HPLC-Ms y espectroscopía FT-IR.

2.4.1 Análisis de la composición de los extractos mediante HPLC-Ms

Se empleó un cromatógrafo de líquidos Varian Prostar 330 con detector de arreglo de diodos acoplado a un espectrómetro de masas Varian 500 ms con trampa de iones. La separación cromatográfica se desarrolló en una columna de C18 ACE Excel 3 Super, con dimensiones de 150 x 2.1 mm, de un tamaño de partícula de 3 μm . La fase móvil empleada fue de (a) acetonitrilo/ (b) ácido fórmico al 0.2% en agua. El volumen de muestra inyectado fue de 5 μl .

2.4.2 Análisis de los extractos mediante espectroscopía infrarroja (FT-IR)

Se utilizó un espectrómetro de infrarrojo (FT-IR) marca Perkin-Elmer Nicolet Nexus 47, equipado con un accesorio de reflectancia total atenuada ángulo de incidencia de 45° y un cristal de diamante ATR a una resolución de 4 cm^{-1} . Las muestras se prepararon por evaporación de una gota de solución del extracto.

2.5 Caracterización de las NPsAg

Las NPsAg obtenidas se caracterizaron mediante las técnicas de difracción de rayos X (DRX), espectroscopía infrarroja (FT-IR), espectroscopía UV-vis y Microscopía electrónica de barrido (SEM).

2.5.1 Difracción de rayos X (DRX)

La fase cristalina de las NPsAg se comprobó mediante un DRX marca PANalytical, modelo Emyrean, utilizando un ánodo de Cu, con un paso 2θ de 0.02°, operando con una corriente de 30 kV y 20 mA. Los parámetros de medición fueron programados de 20-80° en el ángulo 2θ .

2.5.2 Espectroscopía infrarroja (FT-IR)

Los espectros IR de las NPsAg se llevaron a cabo como fue descrito en el punto 2.4.2.

2.5.3 Espectroscopía UV-visible

Los espectros UV-vis se obtuvieron en un espectrómetro de doble haz marca Shimadzu UV-2401 PC utilizando lámparas halógenadas y D2 de 50 W, con una resolución de 0.1 nm.

2.5.4 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

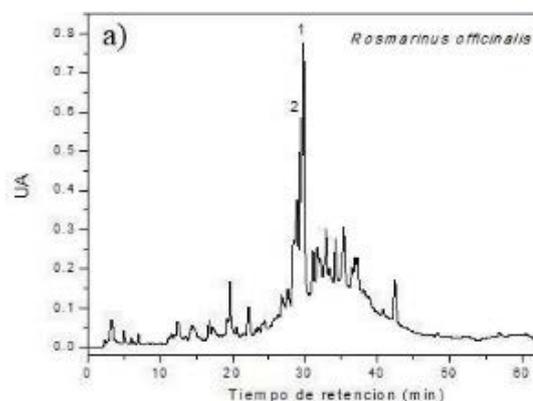
El tamaño y la forma de las NPsAg se determinaron utilizando un microscopio electrónico de barrido (HITACHI modelo SU8010) a una aceleración de electrones de 5000 V, a una distancia de trabajo de 2.1 mm con un detector LA100 (U) (referente a los electrones retrodispersos de ángulo bajo con la supresión al 100% de los electrones secundarios). La determinación del tamaño se llevó a cabo con el software Image J.

3. RESULTADOS

3.1 Extractos acuosos de plantas

3.1.1 Determinación de los compuestos orgánicos presentes en los extractos acuosos de plantas mediante la técnica de HPLC-Ms.

En la Figura 1 se muestran los cromatogramas HPLC de los dos extractos y en la tabla 1 los compuestos identificados a partir de los cromatogramas, de acuerdo a su tiempo de retención y junto con su peso molecular. Para el extracto *Rosmarinus officinalis*, se observa que las principales familias presentes en el extracto son: hidroxycumarinas, ácidos metoxicinámicos, alquilfenoles, ácidos hidroxicinámicos, flavones, catequinas, metoxiflavones, dímeros de ácidos metoxicinámicos, antocianinas y terpenos fenólicos. En lo que concierne el extracto *Citrus sinensis*, se encuentran familias como las hidroxycumarinas, metoxisoflavones, metoxiflavones, curcuminoides, ácidos hidroxicinámicos, ácidos metoxicinámicos, dímeros de ácidos metoxicinámicos, flavones, dímeros de proantocianidinas y flavonoles. Ambos extractos presentan en común dentro de sus estructuras químicas grupos oxigenados como alcoholes, siendo importantes al ser compuestos susceptibles a oxidarse¹⁶. En la figura 1a se muestran los cromatogramas de HPLC de a) *Rosmarinus officinalis*, en donde se encuentran marcados como 1 (TR= 28.23) y 2 (TR= 27.46) los compuestos mayoritarios correspondientes a 5-5'-Ácido dihidroferúlico perteneciente a la familia de los dímeros de ácidos metoxicinámicos y Gardenin B perteneciente a la familia de los metoxiflavones. Debido a que son extractos acuosos, estos compuestos están en mayor proporción; se ha reportado por el contrario que cuando la extracción es etanólica, se han obtenido en mayor proporción diferentes compuestos como el ácido rosmarínico¹⁷. La figura 1b muestra el cromatograma correspondiente al extracto acuoso de *Citrus sinensis*, el cual muestra como componentes principales al compuesto 1,2- diferuloilgentiobiosa (1), perteneciente a la familia de los ácidos metoxicinámicos con un TR de 29.85 y al compuesto (-)-Epicatequina-(2a-7) (4a-8)-epicatequina 3-O-galactósido (2) correspondiente a la familia de los dímeros de proantocianidinas con un TR=33.73.



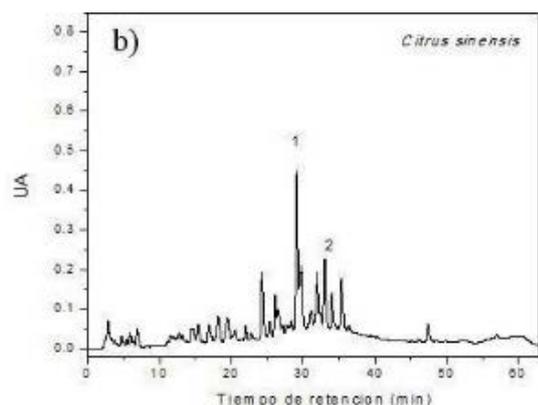


Figura 1. Cromatogramas HPLC de a) extracto de *Rosmarinus officinalis* y b) *Citrus sinensis*.

Tabla 1. Compuestos químicos identificados por HPLC-Ms correspondientes a los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Citrus sinensis*.

<i>Rosmarinus officinalis</i>			
Tiempo de retención	Masa (g/mol)	Compuesto químico	Familia
3.34	191	Escopoletina	Hidroxicumarinas
5.16	355	Ácido ferúlico 4-O-glucósido	Ácidos metoxicinámicos
5.64	355	Ácido ferúlico 4-O-glucósido	Ácidos metoxicinámicos
11.84	374.9	5-Nonadecil resorcinol	Alquilfenoles
13.21	359	Ácido rosmarínico	Ácidos hidroxicinámicos
15.08	447	6-Hydroxiluteolin 7-O-ramnosido	Flavones
19.04	431.1	Apigenina 6-C-glucósido	Flavones
20.1	354.9	Ácido ferúlico 4-O-glucósido	Ácidos metoxicinámicos
21.38	352.9	1- Ácido cafeoilquinico	Ácidos hidroxicinámicos
24.12	305	(+)-Galocatequina	Catequina
27.46	356.9	Gardenin B	Metoxiflavones
28.23	384.9	5-5'-Ácido dihidroferúlico	Dímeros de ácidos metoxicinámicos
34.79	558.8	Vitisin A	Antocianinas poliméricas
43.06	327.1	p-Coumaroil tirosina	Ácidos hidroxicinámicos
48.89	344.9	Rosmanol	Terpenos fenólicos
<i>Citrus sinensis</i>			
3.21	191	Escopoletina	Hidroxicumarinas
4.76	190.9	Escopoletina	Hidroxicumarinas
7.51	265	Formononetina	Metoxiflavones
13.17	315	Nepetin	Metoxiflavones
14.55	307	Bisdemetoxicurcumina	Curcuminoides
15.24	352.9	1- Ácido cafeoilquinico	Ácidos hidroxicinámicos
16.17	354.9	Feruloil glucosa	Ácidos metoxicinámicos
17.69	354.9	Feruloil glucosa	Ácidos metoxicinámicos
18.89	337	3-p- Ácido cumaroilquinico	Ácidos hidroxicinámicos
20.14	354.9	Feruloil glucosa	Ácidos metoxicinámicos
21.25	366.9	3- Ácido feruloilquinico	Ácidos metoxicinámicos
21.85	312.9	Cirsimaritin	Metoxiflavones
22.7	384.9	5-5'-ácido dihidroferúlico	Dímeros de ácido metoxicinámico
23.52	336.9	3-p- Ácido cumaroilquinico	Ácidos hidroxicinámicos
24.94	593	Apigenina 6,8-di-C-glucósido	Flavones
26.14	623	Isoramnetina 3-O-glucósido 7-O-ramnosido	Metoxiflavonoles
27.23	357	Gardenin B	Metoxiflavones
28.99	336.8	4-p- Ácido cumaroilquinico	Ácidos hidroxicinámicos
29.85	692.8	1,2- diferuloilgentiobiosa	Ácidos metoxicinámicos
31.69	397	3- Ácido Sinapoilquinico	Ácidos metoxicinámicos
33.73	704.9	(-)-Epicatequina-(2a-7)(4a-8)-epicatequina 3-O-galactósido	Dímeros de proantocianidinas
34.56	650.9	Quercetina 3-O-(6'- acetilgalactósido) 7-O-ramnosido	Flavonoles
43.11	327.1	p-Coumaroil tyrosina	Ácidos hidroxicinámicos

3.1.2. Espectroscopía FT-IR de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Citrus sinensis*

La espectroscopía FT-IR de los extractos se utilizó como una técnica complementaria al HPLC-Ms para confirmar los grupos funcionales presentes en los extractos. Los espectros FT-IR se muestran en la figura 2a correspondiente al extracto de *Rosmarinus officinalis* y 2b correspondiente al extracto *Citrus sinensis*, en los cuales se pueden observar bandas muy similares entre sí, de acuerdo a lo observado la técnica HPLC-Ms, es decir que ambos extractos están compuestos

por flavones, ácidos metoxicinámicos, metoxiflavones, dímeros de ácidos metoxicinámicos, entre otros, los cuales se encuentran formados por grupos funcionales como fenoles, ácidos carboxílicos, cetonas y ésteres. La banda ancha de 3250-3500 cm^{-1} corresponde a los grupos hidroxilo (-OH), en 2930 cm^{-1} se muestra una banda pequeña la cual indica los estiramientos -CH₂-, la banda en 1637 cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento de la función C=O atribuidas a las cetonas, ácidos carboxílicos presentes en las moléculas del extracto¹⁸, en 1365-1370 cm^{-1} se observa una banda que representa las flexiones de los grupos metilos (-CH₃) presentes, en 1100 cm^{-1} se observa la banda característica del estiramiento de C-OH correspondiente a los alcoholes secundarios presentes en los compuestos químicos de los extractos como los flavones, los ácidos metoxicinámicos, falvonoles, siendo los responsables de reducir la Ag⁺ a Ag⁰¹⁹.

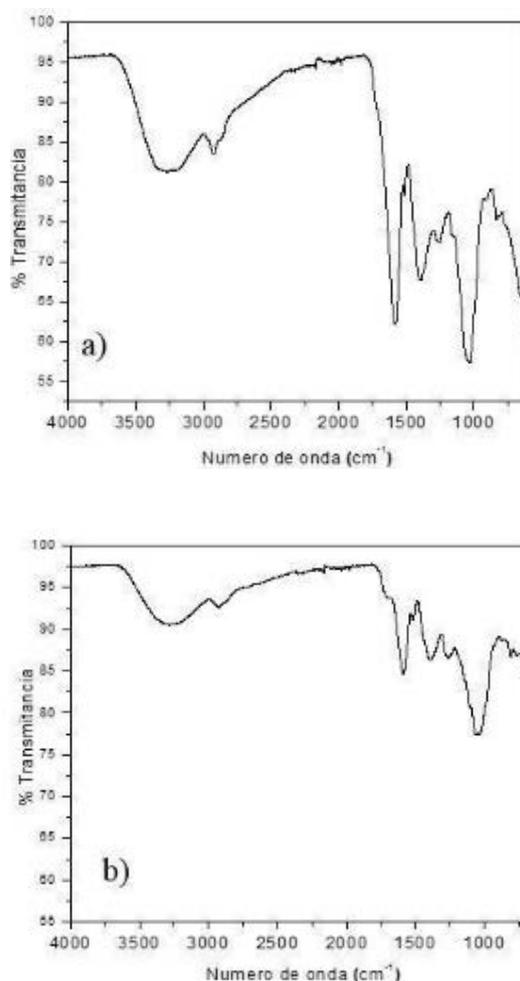


Figura 2. Espectros FT-IR del a) extracto de *Rosmarinus officinalis* y b) *Citrus sinensis*.

3.2. Síntesis de NP_sAg

3.2.1. Mecanismo para la reducción de la plata mediante los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Citrus sinensis*.

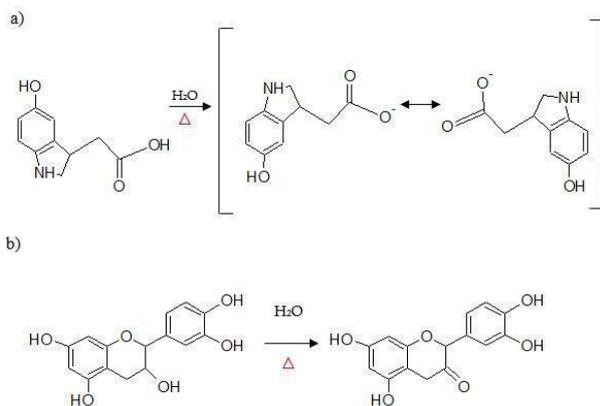
Se propone que el mecanismo se puede llevar a cabo en tres etapas.

1. En la primera etapa se lleva a cabo la disociación de la sal precursora en agua.



Esquema 1. Reacción química de la disociación del AgNO_3 , precursor de las NPsAg.

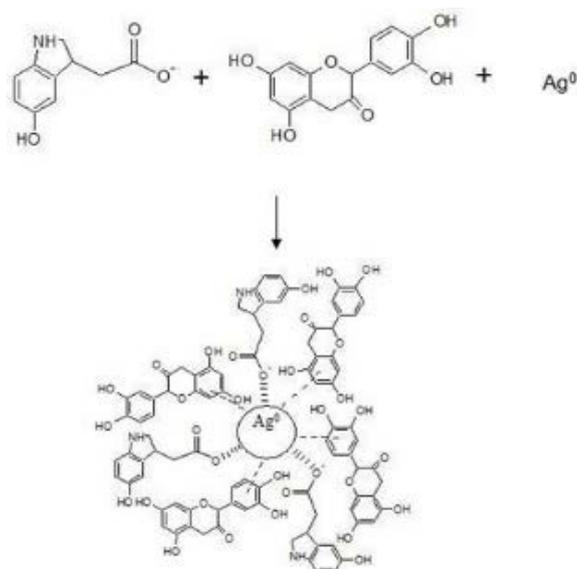
2. La segunda etapa comprende la oxidación de los grupos oxigenados de los extractos, en el esquema 2a) se muestra la oxidación del compuesto 5-5'-Ácido dihidroferúlico correspondiente al extracto *Rosmarinus officinalis*, el cual en presencia de agua, calor y agitación mecánica el ácido carboxílico (presente en el compuesto) forma iones carboxilato; esto debido a que los ácidos carboxílicos al ser muy reactivos son capaces de donar protones (H^+). En el esquema 2b) se muestra la oxidación de un alcohol secundario presente en la (-)(-)Epicatequina correspondiente a la familia de los flavonoles presente en el extracto acuoso de *Citrus sinensis*, los cuales en presencia de agua, calor y agitación mecánica forman cetonas, donando H^+ , propiciando la reducción de la Ag^+ a Ag^0 , tal como lo reporta Tao y col. en el año 2010, quienes estudiaron la reducción de la Ag^+ utilizando agentes químicos como el etilenglicol (alcohol primario), el cual genera aldehídos y al ser muy reactivos pueden donar (H^+), propiciando la reducción de la Ag^+ a Ag^0 .



Esquema 2. a) Reacción de la oxidación del compuesto 5-5'-ácido dihidroferúlico correspondiente al extracto de *Rosmarinus officinalis*, formando iones carboxilato. b) de la oxidación de la (-)(-)epicatequina correspondiente al extracto de *Citrus sinensis* formando cetonas.

3. Por último, en la tercera etapa, la mezcla de compuestos formados como iones carboxilatos y cetonas que propiciaron la reducción de la Ag^+ obteniendo Ag^0 , intervienen en la funcionalización de la Ag^0 con los compuestos restantes de los extractos (esquema 3). En esta reacción se observan interacciones con los átomos de oxígeno deficientes de enlaces, así como con la plata (Ag^0), la cual al ser un metal, tiene la capacidad de formar interacciones no covalentes tipo π con los sistemas conjugados formando complejos tipo sándwich²¹, tal como lo reporta Raghunandan y col., en el año 2011, los cuales, sintetizaron NPSAg a partir

de la hoja de guayaba, encontrando que agentes ligantes como los citratos fueron absorbidos en la superficie de las NPs debido a interacciones π -electrones²². En el esquema 3 además de las interacciones tipo π , también se muestran interacciones ion-dipolo de la plata (Ag^0) con los iones carboxilatos del compuesto 5-5'-ácido dihidroferúlico. Este comportamiento es debido a la densidad electrónica que presenta la Ag^0 y el compuesto conjugado (5-5'-ácido dihidroferúlico) como una molécula polar, interactuando por medio de atracción de cargas²³.



Esquema 3. Reacción de la plata funcionalizada con la mezcla de los compuestos pertenecientes a los extractos.

3.2.2. Espectroscopía UV-visible

En la Figura 3 se muestra el espectro UV-Vis de las suspensiones de NPsAg en agua. En ambos casos es evidente la banda plasmónica debida a la oscilación de los electrones libres en la banda de conducción de las NPsAg que interactúan en esa longitud de onda²⁴ y que depende del tamaño, forma, cristalinidad y medio circundante de las NPs²⁵. Sin embargo, mientras que para las NPsAg obtenidas a partir del extracto de *Citrus sinensis* (cuadros) la banda es muy definida y el máximo se puede claramente identificar a 444 nm, para la reacción del extracto de *Rosmarinus officinalis* (círculos) la banda se solapa con una línea de base más inclinada debida a la dispersión de luz que podría indicar aglomeración. El máximo no es bien definido, pero puede visualizarse alrededor de 544 nm. El desplazamiento a mayor longitud de onda sugiere un menor tamaño promedio de partícula para estas últimas²⁶. También se observa una diferencia en intensidad posiblemente debido a que ocurrió mayor reducción del AgNO_3 en presencia del extracto de *Citrus sinensis* promoviendo mayor formación de nanopartículas. Así mismo se observa un hombro alrededor de 350 nm correspondiente a las transiciones electrónicas del extracto (terpenos y flavones), tal como lo menciona Imran y col. en el año 2017, quienes estudiaron la síntesis de NPs, utilizando el extracto de *Matricaria recutita*²⁷.

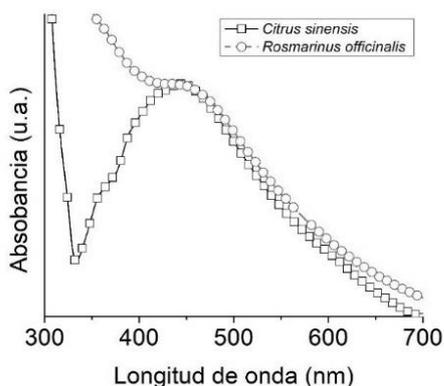


Figura 3. Espectros de UV-vis de las nanopartículas obtenidas con el extracto acuoso de *Citrus sinensis* (cuadros) y *Rosmarinus officinalis* (círculos).

3.2.3. Difracción de rayos X

En la Figura 4 se muestran los difractogramas de rayos X de las NPsAg sintetizadas a partir del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* (a) y *Citrus sinensis* (b). En ambos difractogramas se observa la posición de los picos de difracción en el ángulo $2\theta = 38.11^\circ, 44.27^\circ, 64.42^\circ, 77.47^\circ$ y 81.53° indexadas como (111), (200), (220), (311) y (222)²⁸ respectivamente, confirmando la obtención de plata metálica correspondiente a la fase cristalina cubica centrada en las caras (FCC), comparándolos con la carta de difracción ICDD 04-0783. El difractograma de las NPs obtenidas a partir del extracto de *Citrus sinensis* (b) presenta picos más anchos en comparación con los obtenidos en las NPsAg con el extracto de *Rosmarinus officinalis*, lo cual es atribuido al menor tamaño obtenido de las NPs sintetizadas con el extracto de *Citrus sinensis*^{29, 30}. Estos resultados concuerdan con el desplazamiento hacia el azul observado para la banda plasmónica y coinciden con lo obtenido en las micrografías SEM (Figuras 4c y 4d), siendo c) las correspondientes al extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* donde se observa una morfología cuasiesférica con tamaño de partícula en el rango de 20-60 nm y d) corresponde a las NPs obtenidas a partir del extracto acuoso de *Citrus sinensis* presentando tamaño en el rango de 10-30 nm. Más precisamente, a partir de los histogramas, las NPs obtenidas a partir del extracto acuoso de a) *Rosmarinus officinalis* (Figura 5 a) presentan un tamaño en el rango 20-63 nm con un tamaño promedio de 39.72 nm (\pm nm), mientras que las NPs obtenidas a partir del extracto acuoso de *Citrus sinensis* (5b) se encuentran en el rango de 10-31 nm con un tamaño promedio de 18.80 nm (\pm nm). Este resultado demuestra que los extractos acuosos de distintas plantas influyen de forma importante en el tamaño de las NPs. Este comportamiento también fue observado por Saquib y colaboradores en el año 2019, los cuales sintetizaron NPsAg a partir del extracto de corazón de purpura obteniendo morfologías esféricas, con un tamaño aproximado de 98 nm³¹.

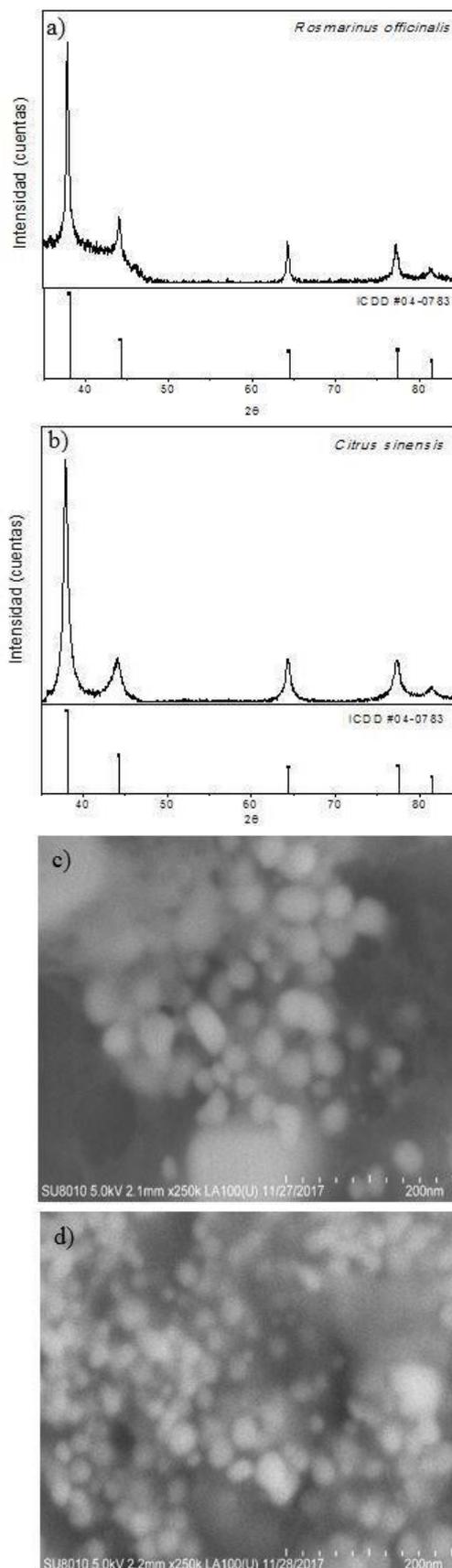


Figura 4. Difractogramas de NPsAg obtenidas a partir del extracto acuoso a) de *Rosmarinus officinalis*, b) de *Citrus sinensis* y Micrográficas SEM de las NPsAg obtenidas del extracto acuoso c) de *Rosmarinus officinalis*, d) de *Citrus sinensis*.

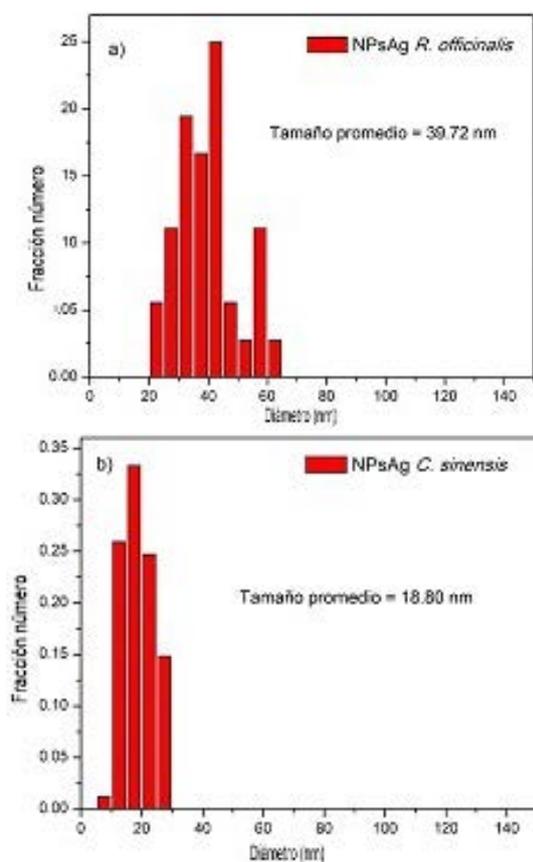


Figura 5. Histograma de tamaño promedio de partícula de las NPsAg a partir del extracto acuoso de a) *Rosmarinus officinalis* y b) *Citrus sinensis*.

3.2.4. Espectroscopía FT-IR de las NPsAg

Después de un tratamiento de purificación, las NPsAg se analizaron por medio de la técnica espectroscopía FT-IR para confirmar la presencia de los grupos funcionales provenientes de los extractos acuosos de plantas. En los espectros de las nanopartículas con los diferentes extractos (Figura 6) se observa una banda ancha presente en la región de $3200\text{-}3250\text{ cm}^{-1}$ que se atribuye a las vibraciones de estiramiento del grupo hidroxilo ($-\text{OH}$), las bandas presentes en 1700 cm^{-1} corresponden a las vibraciones del estiramiento de $\text{C}=\text{O}$ pertenecientes a las cetonas, ácidos carboxílicos presentes en los extractos, la señal de 1200 cm^{-1} corresponde al enlace $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$ del grupo fenol y la banda de 1076 cm^{-1} corresponde a la presencia del estiramiento de $\text{C}-\text{O}$ del grupo éter, las cuales son atribuidas a los grupos funcionales presentes en los extractos utilizados. Las bandas de vibración anchas e intensas observadas en la región de $3200\text{-}3250$ son atribuidas a las interacciones ion-dipolo con la plata (Ag^0) y los iones carboxilatos de los compuestos químicos presentes en el extracto y las NPsAg³² como se propuso en el esquema 3. Analizando los espectros de las nanopartículas y los extractos, ambos presentan las mismas bandas provenientes de los grupos funcionales aún después de un proceso de purificación, indicando que las NPsAg presentan grupos funcionales en la superficie, provenientes de los flavonoides, ácidos metoxicinámicos, ácidos hidroxicinámicos, presentes en los extractos acuosos.

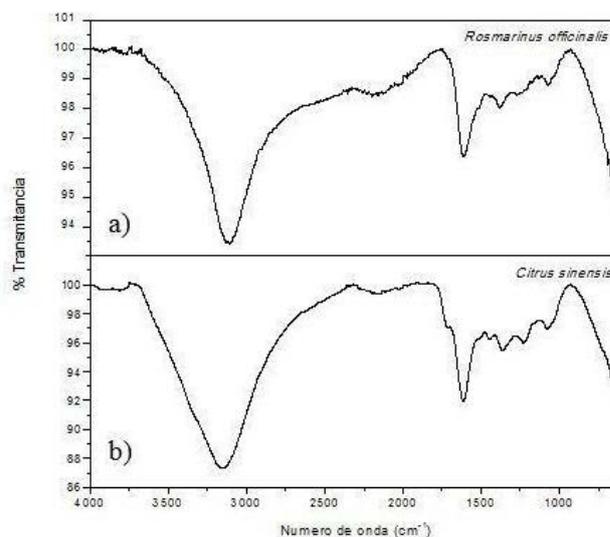


Figura 6. Espectroscopía FT-IR de NPsAg obtenidas a partir del extracto acuoso a) de *Rosmarinus officinalis*, b) de *Citrus sinensis*.

4. CONCLUSIÓN

Los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Citrus sinensis* demostraron ser excelentes agentes reductores para la síntesis de NPsAg, como se confirmó por DRX, espectroscopía UV-Vis y SEM. Además se observó que a pesar de tener compuestos químicos similares de acuerdo al HPLC el extracto influye de manera importante en el tamaño de las NPs obtenidas, debido a que en la síntesis de NPsAg con el extracto de *Citrus sinensis* se obtuvieron tamaños más pequeños en comparación a las NPsAg obtenidas a partir del extracto de *Rosmarinus officinalis* ($18.80 \pm .\text{nm}$ contra $39.72 \pm .\text{nm}$). Además, mediante IR se demostró que las NPsAg quedan funcionalizadas con los compuestos químicos de los extractos acuosos de plantas, sin la necesidad de adicionar químicos tóxicos como agentes de reducción o estabilización. Lo cual, convierte a esta metodología en una ruta eficaz, sencilla y amigable con el medio ambiente de gran interés para el estudio de NPs.

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por la beca otorgada No. 784728 al programa de doctorado en Ciencia y Tecnología de Materiales, así como al cuerpo académico de Ciencia y Tecnología en Polímeros de la Universidad Autónoma de Coahuila.

REFERENCIAS

- Shani, R.; Suresh, M.; Rohini, T. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Enicostemma axillare* (Lam.) leaf extract. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **2018**, 503, 2814-2819. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.05.111>

- org/10.1016/j.bbrc.2018.08.045 2. Yin, N.; Gao, R.; Knowles, B.; Wang, J.; Wang, P.; Sun, G.; Cui, Y. Formation of silver nanoparticles by human gut microbiota. *Science of The Total Environment*. **2019**, 651, 1489- 1494. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.312>
2. Keshari, A.; Srivastava, R.; Singh, P.; Yadav, V.; Nath, G. Antioxidant and antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cestrum nocturnum*. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. **2018**, 11, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2017.11.003>
 3. Satyanarayana, T. and Sudhakar, S. A review on chemical and physical synthesis methods of nanomaterials. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology*. **2018**, 6, 2885-2889.
 4. Saber, M.; Mirtajani, S.; Karimzadeh, K. Green synthesis of silver nanoparticles using *Trapa natans* extract and their anticancer activity against A431 human skin cancer cells. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. **2018**, 47, 375-379. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.08.004>
 5. Ruíz-Baltazar, A.; Reyes-López, S.; Larrañaga, D.; Estévez, M.; Pérez, R. Green synthesis of silver nanoparticles using a *Melissa officinalis* leaf extract with antibacterial properties. *Results in Physics*. **2017**, 7, 2639-2643. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rinp.2017.07.044>
 6. Kannan, R.; Stirk, W.; Van, J. Synthesis of silver nanoparticles using the seaweed *Codium capitatum* P.C. Silva (Chlorophyceae). *South African Journal of Botany*. **2013**, 86, 1-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2013.01.003>
 7. Bagherzade, G.; Manzari, M.; Hasan, M. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of saffron (*Crocus sativus* L.) wastages and its antibacterial activity against six bacteria. *Asian Pac J Trop Biomed*. **2017**, 7 (3), 227-233.
 8. Shakeel, A.; Saifullah, M.; Babu, L.; Saiqa, I. Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of Radiation Research and Applied Science*. **2016**, 9, 1-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jrras.2015.06.006>
 9. Shankar, S.; Ahmad, A.; Sastry, M. Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. *Biotechnol Prog*. **2003**, 19 (6), 1621-1631. <http://dx.doi.org/10.1021/bp034070w>
 10. Benakashani, F.; Allafchian, A.; Jalali, S. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Capparis spinosa* L. Leaf extract and their antibacterial activity. *Karbala International Journal of Modern Science*. **2016**, 2, 251-258.
 11. Aristizabal, J. and Vera, R. Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de las cáscaras y semillas de tres especies de cítricos contra el hongo fitopatógeno *Fusarium Roseum* (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. **2011**.
 12. Avila, R.; Navarro, A.; Vera, O.; Dávila, R.; Melgoza, N.; Meza, R. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): una revisión de sus usos no culinarios. *Ciencia y Mar*. **2011**, 43, 23-36.
 13. Kambale, E., Nkanga, C., Mutonkole, B., Bapolist, A., Tassa, D., Liesse, J., Krause, R., Memvanga, P. Green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles using aqueous leaf extracts from three Congolese plant species (*Brillantaisia patula*, *Crossopteryx febrifuga* and *Senna siamea*). *Heliyon*. **2020**, 6, e04493.
 14. Ya, M., Yan, T., Sheng, W., Jun, L., Han, Z., Dong, L. Green synthesis of silver nanoparticles using Eucalyptus leaf extract. *Materials Letters*. **2015**, 144, 165-167.
 15. Wade, L. Química orgánica. Quinta edición. Pearson Prentice Hall. Madrid. **2004**.
 16. Bendif, H.; Boudjeniba, M.; Djamel, M.; Biqiku, L.; Bramuco, M.; Caprioli, G.; Lupidi, G.; Caprioli, G.; Lupidi, G.; Quassinti, L.; Sagratini, G.; Vitali, L.; Vittori, S.; Maggi, F. Rosmarinus eriocalyx: An alternative to *Rosmarinus officinalis* as a source of antioxidant compounds. *Food Chemistry*. **2017**, 218, 78-88. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.063>
 17. Nilavukkarasi, M.; Vijayakumar, S.; Kumar, S. Biological synthesis and characterization of silver nanoparticles with *Capparis zeilanica* L. leaf extract potent antimicrobial and antiproliferation efficiency. *Materials Science for Energy Technologies*. **2020**, 3, 371-376. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2020.02.008>
 18. Zia-ur-Rehman, M.; Mubarak, A.; Tariq, K.; Akhtar, N. Applications of plant terpenoids in the synthesis of colloidal silver nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*. **2016**, 234, 132- 141. <https://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2016.04.008>
 19. Tao, Z.; Rong, S.; Shuhui, Y.; Zhijun, Z.; Limin, Z.; Haitao, H.; Ruxu, D. Size-controlled preparation of silver nanoparticles by a modified polyol method. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **2010**, 366, 197-202. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.06.005>
 20. Klepetarova, B.; Kviclová, M.; Sykora, J.; Kviclová, D.; Makrlík, E.; Vanura, P. Experimental and Theoretical study on cation- π interaction of the univalent silver cation with pyrene in the gas phase and in the solid state. *Inorganica Chimica Acta*. **2018**, 477, 165-171.
 21. Raghunandan, D.; Mahesh, B.; Basavaraja, S.; Balaji, S.; Manjunath, S.; Venkataraman,
 22. A. Microwave-assisted rapid extracellular synthesis of stable bio-functionalized silver nanoparticles from guava (*Psidium guajava*) leaf extract. *J Nanopart Res*. **2011**, 13, 2021- 2028. <https://doi.org/10.1007/s11051-010-9956-8>
 23. Gillespie, R. Química. Primera edición. Reverté. Barcelona. **1990**.
 24. Bindhu, M. and Umadevi, M. Surface plasmon resonance optical sensor and antibacterial activities of biosynthesized silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. **2014**, 121, 596-604. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2013.11.019>

25. Cruz, D.; Rodríguez, M.; López, J.; Herrera, V.; Orive, A.; Creus, A. Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: una relación profunda. *Avances en Ciencia e Ingeniería*. **2012**, 3, 67-78.
26. Cornejo, L. Resonancia del plasmón de la superficie (RPS); propiedades optoelectrónicas. *Nuevas Tecnologías y Materiales*. **2015**.
27. Imran, U.; Khateeb, A.; Ashraf, A.; Mohd, A. Synthesis of silver nanoparticles using *Matricaria recutita* (Babunah) plant extract and its study as mercury ions sensor. *Sensing and Bio-Sensing Research*. **2017**, 16, 62-67. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2017.11.005>
28. Dangui, S.; Gupta, A.; Kumar, D.; Singh, S.; Parajuli, N. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous root extract of *Berberis asiatica* and evaluation of their antibacterial activity. *Chemical Data Collections*. **2020**, 28, 100411
29. Rajesh, B. and Hymavathi, B. X-ray peak profile analysis of solid-state sintered alumina doped zinc oxide ceramics by Williamson-Hall and size-strain plot methods. *Journal of Asian Ceramic Societies*. **2017**, 5, 94-103. <https://doi.org/10.1016/j.jascer.2017.02.001>
30. Martínez, L. and Aguado, F. Determinación del tamaño de partícula mediante difracción de rayos X. Tesis de licenciatura en física. Cantabria, España. Universidad de Cantabria. Facultad de Ciencias, **2018**.
31. Saquib, M.; Noushad, Md.; Sabir, Md., Rishishwar, P.; Rishishwar, S.; Ali, S.; Kumar, A.; Beg, S. Purple heart plant leaves extract-mediated silver nanoparticles synthesis: Optimization by Box-Behnken design. *Materials Science & Engineering*. **2019**, 99, 1105– 1114. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.02.061>
32. Chunfa, D.; Xianglin, Z.; Hao, C.; Chuanliang, C. Green synthesis of biocompatible silver nanoparticles mediated by *Osmathus fragrans* extract in aqueous solution. *Optik*. **2016**, 127, 10378-10388. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijleo.2016.08.055>