

Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo (*Allium sativum*)

Revista Soluciones de Postgrado EIA, Número 12. p. 129-140. Envigado, enero-junio de 2014

Lukas Cardeño Calle*

Martha E. Londoño**

* Joven investigador Programa de Ingeniería Biomédica. Escuela de Ingeniería de Antioquia-Universidad CES. Grupo de Investigación en Ingeniería Biomédica EIA-CES.
Correo electrónico: lcardeno@eia.edu.co

** Grupo de Investigación en Ingeniería Biomédica EIA-CES. Correo electrónico: pfmalon@eia.edu.co

SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA MEDIANTE EL USO DEL AJO (*ALLIUM SATIVUM*)

Lukas Cardeño Calle, Martha E. Londoño

Resumen

En este trabajo se presenta la evaluación de nanopartículas de plata obtenidas a partir de extracto de ajo (*Allium sativum*). Se prepararon 13 soluciones, se observó el cambio de color de las soluciones y se realizaron mediciones por Espectrofotometría UV-visible y Microscopía de Fuerza Atómica para confirmar las características de las nanopartículas. Se presentaron picos entre 400 y 470 nm indicando presencia de nanopartículas de plata. Se evidenció una monodispersidad relativamente alta con partículas alrededor de 100 nm. Se corrobora la obtención de nanopartículas mediante este método verde. A futuro es necesario optimizar los parámetros de síntesis para obtener Nanopartículas monodispersas y de menor tamaño.

Palabras claves: Nanopartículas de plata; Agente reductor; Agente estabilizante; Síntesis Verde; *Allium sativum*.

GREEN SILVER NANOPARTICLE SYNTHESIS BY USING GARLIC (*ALLIUM SATIVUM*)

Abstract

In this paper we present the evaluation of silver nanoparticles obtained by using a garlic extract (*Allium sativum*). 13 solutions were prepared and change in their color was observed. Measurements by Uv-visible spectrophotometry and atomic force microscopy were carried out to confirm the particles' characteristics. Peaks in the range of 400 and 470 nm were present, indicating the presence of silver nanoparticles. A high monodispersity of the nanoparticles, around a 100 nm was noted. The results allow corroborating the presence of nanoparticles using this method. It is necessary to optimize synthesis parameters to obtain smaller and monodisperse nanoparticles.

Keywords: Silver nanoparticles; Reducing agent; Stabilizing agent; Green synthesis; *Allium sativum*.

SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA USANDO ALHO (*ALLIUM SATIVUM*)

Resumo

Neste trabalho é apresentado a avaliação de nanopartículas de prata obtidas de extrato de alho (*Allium sativum*). 13 soluções foram preparadas, observou a mudança de cor das soluções e medidas foram realizadas por espectrofotometria de UV-visível e Microscopia de Força Atômica para confirmar as características de nanopartículas. Se apresentaram Pico entre 400 e 470 nm, indicando a presença de nanopartículas de prata ocorreu. A relativamente alta monodispersity com partículas de cerca de 100 nm, era evidente. Obtenção de nanopartículas é corroborado por este método verde. é necessário otimizar os parâmetros de síntese para as nanopartículas monodispersos e menores. é necessário otimizar os parâmetros de síntese para as nanopartículas monodispersos e menores.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata; Agente redutor; Agente de estabilização; Síntese verdes; *Allium sativum*.

Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo

Lukas Cardeño Calle, Martha E. Londoño

Recibido: 22 de noviembre de 2013. Aprobado: 13 de junio de 2014
Revista Soluciones de Postgrado EIA, Número 12. pp. 129-140. Envigado, enero-junio de 2014

1. Introducción

El National Institute of Health (NIH) de los Estados Unidos de América define la nanotecnología como «la creación de materiales funcionales, dispositivos y sistemas a través del control de la materia a escala de 1 a 100 nanómetros y la explotación de propiedades novedosas y fenómenos a esa misma escala» (Han, 2006).

Una de las ramas de la nanotecnología es la nanomedicina, esta es la aplicación médica de la nanotecnología para la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades. Con este fin en mente, se han usado estructuras nanométricas como son dendrímeros, fulerenos, nanotubos de carbón, y nanocristales conductores (como son los puntos cuánticos) que han sido usados para la liberación de medicamentos, diagnóstico y tratamiento de enfermedades a nivel molecular (Han, 2006).

Estas nanoestructuras presentan las siguientes ventajas sobre su contraparte de escala macro:

- Las estructuras de cristal único u ordenadas son mucho más fuertes, ligeras y menos corrosivas, además, causan menos daño a las células o tejidos.
- La superficie de alta especificidad permite cargar moléculas de reconocimiento y medicamentos para que estas estructuras entren a las células y localicen ácidos nucleicos, proteínas u otras marcas moleculares específicas.
- Se pueden destruir las células enfermas usando campos magnéticos, eléctricos o el calor generado por la luz externa sin dañar las células saludables (Han, 2006).

Entre estas partículas, las de plata se consideran de gran interés debido a sus propiedades antibacteriales, lo que hace que esta sea un material muy atractivo para crear nanopartículas enfocadas al tratamiento de varias enfermedades causadas por virus o bacterias. Además de su efecto cicatrizante, también son usadas constantemente por sus notables propiedades ópticas y eléctricas, las cuales permiten que sean

usadas en sistemas como biosensores, medios de contraste para imágenes médicas y sistemas de detección molecular (Ravindran, Chandran, & Khan, 2013). Debido a esto, se han investigado varios métodos para la síntesis de nanopartículas de plata que pueden ser físicos, químicos u orgánicos.

Los métodos donde se reducen sales metálicas mediante el uso de un reductor químico presentan un gran número de variaciones del agente reductor: ácido ascórbico (Velikov, Zegers, & Blaaderen, 2003), polioles (Jacob, Kapoor, Biswas, & Mukherjee, 2007) o monosacáridos (Raveendran, Fu, & Wallen, 2003).

Aunque la síntesis y el estudio de propiedades de nanopartículas de plata presentan un gran interés, una de las vías de trabajo más importantes en este campo es la preparación de nuevos nanomateriales basados en este metal. Para ello se han empleado multitud de matrices que estabilizan las nanopartículas de plata y que permiten que estas mantengan o modifiquen sus propiedades como, por ejemplo, polímeros orgánicos o recubrimientos de sílice (Velikov *et al.*, 2003). Materiales como PVP (polivinil-pirrolidona) (Liu, Li, Yang, & Jiang, 2011; Zielinska, Skwarek, Zaleska, Gazda, & Hupka, 2009), PVA (Poli-vinil alcohol) (Zielinska *et al.*, 2009), PMA (Spadaro, Barletta, Barreca, Curro, & Neri, 2009), metilcelulosa (Bhui & Misra, 2012) y hidroxipropil celulosa (Sulaiman

et al., 2013) son usados como agentes estabilizantes que evitan la agregación de las nanopartículas en soluciones coloidales y ayudan a modificar la forma y el tamaño de las partículas obtenidas.

Debido al impacto que tiene la síntesis de estos materiales en el medio ambiente, en la actualidad se están buscando nuevas alternativas para la producción de las nanopartículas que sean más amigables con la naturaleza, también conocidas como síntesis verde, y que produzcan una menor cantidad de desechos tóxicos. Elementos como pétalos de flores y extractos de plantas (Philip, 2010; Sulaiman *et al.*, 2013; Vijayakumar, Priya, Nancy, Noorlidah, & Ahmed, 2013; Vivekanandhan, Tang, Misra, & Mohanty, 2010) han sido exitosamente utilizados.

Una de estas técnicas de síntesis incluye el uso de ajo (*Allium sativum*) como agente reductor. El grupo de investigación de Maqusood Ahamed y colaboradores, pertenecientes al instituto de nanotecnología Abdullah, desarrolló un método mediante el cual se preparaba un extracto de ajo hervido para adicionarlo posteriormente a una solución acuosa de AgNO_3 que se encontraba a una temperatura de 50-60 ° C. Mediante este método se observa la reducción de los iones de plata en solo 30 minutos mediante el cambio de color de la solución a un dorado/amarillo. La suspensión de nanopartículas de plata (Ag NPs) obtenida fue estable por más de

un mes al no mostrar precipitación ni cambio de color (Ahamed, MajeedKhan, Siddiqui, AlSalhi, & Alrokayan, 2011).

Otro método en el que se reporta el uso de ajo para la síntesis de nanopartículas fue estudiado por Rastogi y Arunachalam del centro de investigación atómico Bhabha. En este método, al igual que en el anterior, se preparó un extracto de ajo con la diferencia de que este no fue hervido. Posteriormente se adicionó el extracto a una solución de AgNO_3 que se encontraba a temperatura ambiente y fue expuesta a luz solar (Rastogi & Arunachalam, 2011).

En este artículo se propone, basándose en los métodos descritos anteriormente, sintetizar nanopartículas de plata a partir de extracto de ajo, debido a su bajo costo y a la alta estabilidad que presentan las partículas obtenidas por este método.

2. Materiales y métodos

A. Materiales

Para la síntesis de NPs se usó nitrato de plata (AgNO_3) y cloruro de sodio (NaCl) de la compañía comercial Sigma-Aldrich, USA y extracto de ajo hervido, para hacer una solución en agua milliQ (Helix de millipore). Para todos los ensayos se usó vidriería lavada con jabón neutro y enjuagada con abundante agua destilada, para luego secarla usando un horno a 180°C .

B. Métodos

1. Preparación del extracto de ajo

Se prepararon dos extractos de ajo. Para el primero se emplearon dientes de ajo (*Allium sativum*) de la variedad de ajo blanco. Se usaron 30g de dientes de ajo lavados con agua destilada para eliminar la presencia de partículas de polvo o elementos contaminantes de la solución final. Posteriormente se licuaron estos 30g de ajo en 100mL de agua destilada. La solución fue hervida por 5 min para posteriormente filtrarse en un sistema al vacío usando filtros tipo 5B de Advantec. Para el segundo extracto se adquirió una solución de extracto de ajo en alcohol preparada comercialmente.

2. Síntesis de nanopartículas

Para la síntesis de las nanopartículas de plata se realizaron varias soluciones en agua milliQ que contenían variaciones en la cantidad de nitrato de plata (AgNO_3), extracto de ajo y presencia o ausencia de Cloruro de sodio (NaCl). En la **Tabla 1** se presentan las 13 soluciones preparadas y sus respectivas concentraciones.

Para la síntesis de nanopartículas con las diferentes soluciones, el nitrato de plata se llevó a una temperatura entre 50 y 60°C y luego se le agregó gota a gota la cantidad de extracto de ajo estipulada para cada solución. El cloruro de sodio se agregó en los casos en que fuera necesario. La solución se mantuvo a esa temperatura y bajo agitación

constante por 1h. Estas soluciones se dejaron reposar a temperatura ambiente, fueron recubiertas con papel de aluminio y se almacenaron a 4°C para posteriores análisis.

La síntesis de nanopartículas con cada una de las soluciones se verificó mediante el análisis de cambio de color de la solución (lo cual se debe al fenómeno de resonancia de plasmones superficiales) (Bijanzadeh, Vakili, & Khordad, 2012), mediante mediciones de Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) (Misra, Kumar, Borde, & Varshney, 2013) y espectrofotometría UV-visible (Slistan-Grijalva, Herrera-Urbina, Rivas-Silva, Ávalos-Borja, & Castellón-Barraza, 2005).

Tabla 1. Soluciones en agua milliQ (50 ml H2OMQ) de nitrato de plata (AgNO₃) y extracto de ajo hervido (EAH) y extracto de ajo comercial (EAC) probadas para la síntesis de nanopartículas.

Solución	Reactivos
1	AgNO ₃ (8,45mg) + 5ml de EAH
2	AgNO ₃ (8,45mg) + 111.11 ml de NaCl + 5ml de EAH
3	AgNO ₃ (8,45mg) + 5 ml de EAC
4	AgNO ₃ (8,45mg) + 111.11 ml de NaCl + 5ml de EAC
5	AgNO ₃ (10mg) + 5ml EAH
6	AgNO ₃ (12mg) + 5ml EAH
7	+ AgNO ₃ (17mg) + 5ml EAH
8	AgNO ₃ (8,5mg) + 6ml EAH
9	AgNO ₃ (8,5mg) + 8ml EAH
10	AgNO ₃ (8,5mg) + 10ml EAH
11	AgNO ₃ (20mg) + 5ml EAH
12	AgNO ₃ (24mg) + 5ml EAH
13	AgNO ₃ (85mg) + 5ml EAH

3. Resultados y discusión

Se obtuvo cambio de color en todas las soluciones en el momento en el cual se adicionó el extracto de ajo como agente reductor de la plata. Se evidenció el cambio del color de la solución a un dorado intenso lo cual indicó la posible formación de nanopartículas tal y como se ha evidenciado por otros autores (Amin, Anwar, Janjua, & Iqbal, 2012; Khan *et al.*, 2013). Este cambio de color se puede observar en la **Figura 1**, el cambio de color es más intenso para la síntesis con las soluciones 10 y 9.

Para continuar con el análisis de las soluciones en las cuales se había obtenido evidencia de la síntesis de nanopartículas por el cambio de color, se usó el método de resonancia de plasmón de superficie (o SPR por sus siglas en inglés). Este consiste en estudiar las propiedades ópticas de los metales nobles por la oscilación de los electrones de conducción causada por su interacción con la radiación electromagnética (Bijanzadeh *et al.*, 2012). Para esto se realizaron mediciones UV-visible y de todas las soluciones la que mejor resultados presentó, fue la solución número 13, ya que se observaron picos entre las bandas 400 y 470 nm, tal y como ha sido reportado en otros procesos de síntesis de nanopartículas de plata (Edison, & Sethuraman, 2013; Thakur *et al.*, 2013), indicando la presencia de nanopartículas de plata como se indica en la **Figura 2**.

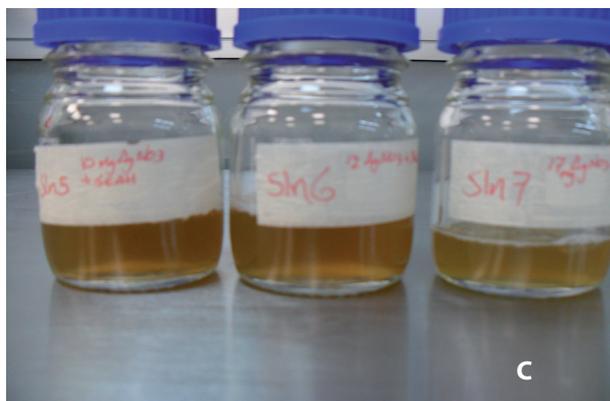
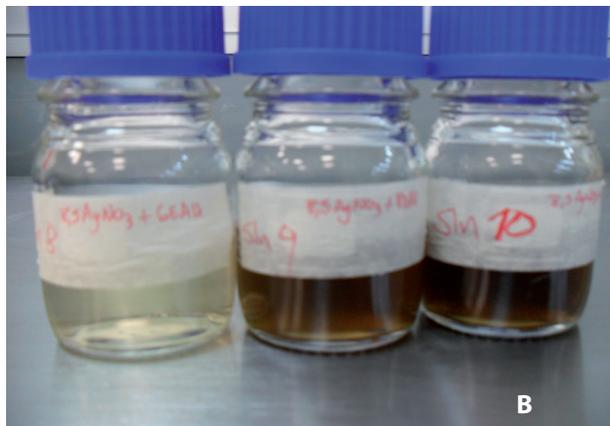


Figura 1. Cambio de color de las soluciones. A) Solución antes del proceso de reducción. B) y C) Diferentes soluciones luego de completarse el proceso de reducción (5-10).

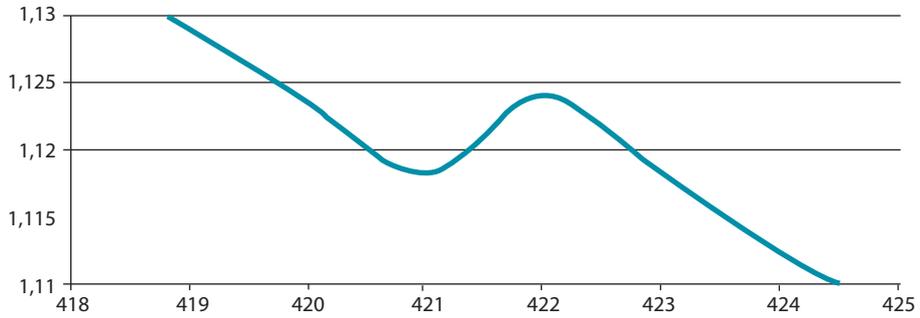


Figura 2. Espectro UV-Visible a 400 y 470 nm de la solución 13 con la cual se obtuvieron los mejores resultados de síntesis de nanopartículas.

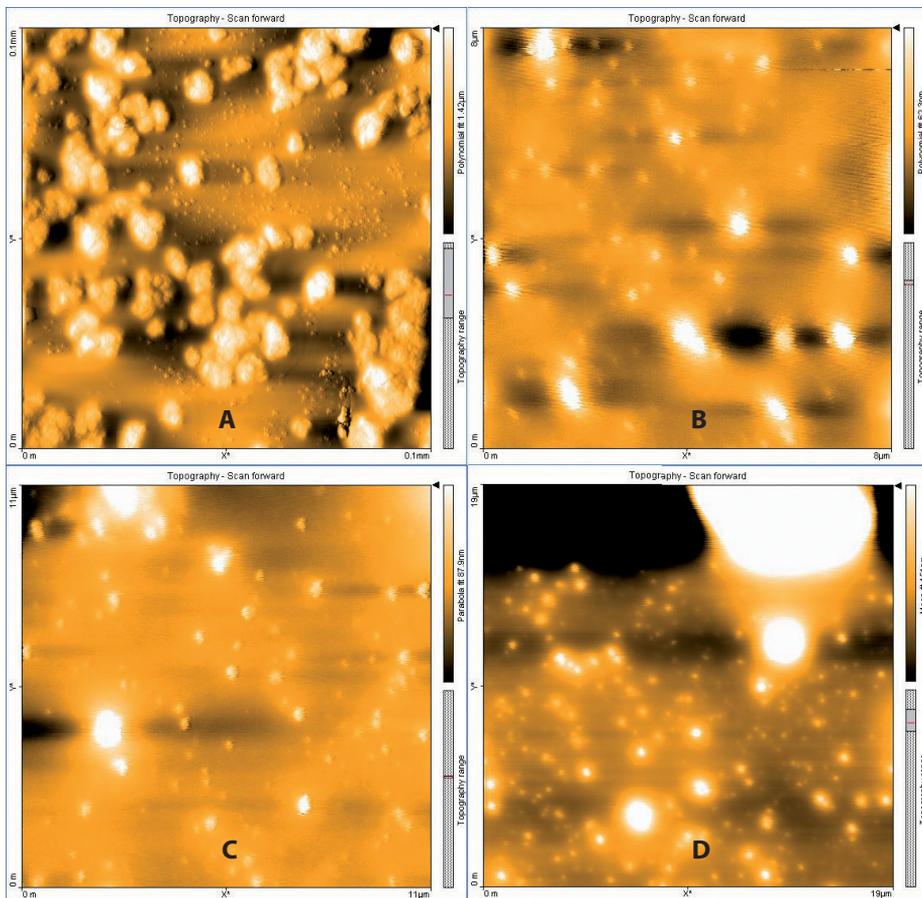


Figura 3. Imágenes AFM de las soluciones probadas: **A)** Solución 13, medición de partículas a 100 μm, **B)** Solución 13 a 8 μm, **C)** Solución 11 a 11 μm y **D)** Solución 12 a 19 μm.

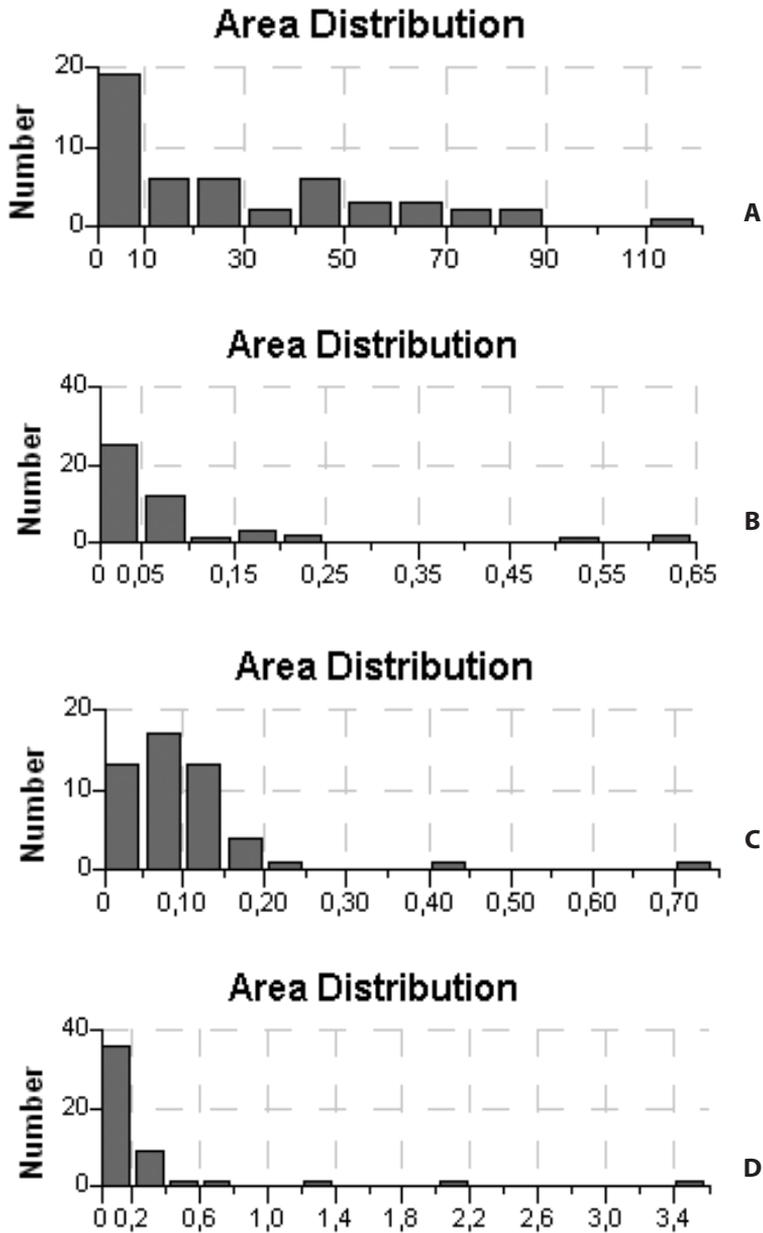


Figura 4. Histogramas de distribución de áreas de las nanopartículas **A)** solución 13 en nm, **B)** solución 13 en μm , **C)** solución 11 en μm y **D)** solución 12 en μm .

La morfología de las NPs realizada con AFM se ilustra en la **Figura 3**. Para el caso de la solución 13 se observan zonas con agregados de nanopartículas de tamaño considerable aunque también presenta zonas donde hay menor cantidad de agregados. El análisis de polidispersidad mostró por su parte que las partículas obtenidas con dicha solución mostraron alta dispersión (**Figura 4**). Estos resultados son validados en la literatura (Ananth, Daniel, Sironmani, & Umaphathi, 2011; Misra *et al.*, 2013).

De la misma manera, se puede observar en las **Figuras 3 y 4** que la solución 11 son monodispersas y que las partículas obtenidas se encuentran en su mayoría alrededor de 100 nm o menos, por último la solución 12 presenta partículas mucho más monodispersas pero de un tamaño aproximado a los 200 nm.

Los resultados permiten corroborar que en efecto es posible obtener nanopartículas mediante el uso de este método natural y que es necesario controlar o modificar en futuras investigaciones otras variables experimentales (pH, tiempo de reacción y temperatura) para asegurar una mayor monodispersidad y controlar el tamaño de las nanopartículas sintetizadas de esta manera.

4. Conclusión

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que es viable sintetizar nanopartículas a partir de este método,

reduciendo los costos de manufactura y el impacto negativo al medio ambiente debido a que el agente reductor usado es de carácter natural.

Cabe resaltar la necesidad de un estudio posterior donde se evalúen de manera más exhaustiva la capacidad antimicrobiana de las nanopartículas obtenidas y los efectos de cada uno de los parámetros de reacción, para así poder conocer el efecto de estos en el tamaño, la morfología de las partículas obtenidas y su efecto antimicrobiano.

Agradecimiento

Se agradece el apoyo brindado por el personal del laboratorio de biomateriales EIA-CES y por el Tecnoparque para la realización de este proyecto.

5. Referencias

- Ahamed, M., Majeed Khan, M. A., Siddiqui, M. K. J., AlSalhi, M. S., & Alrokayan, S. A. (2011). Green synthesis, characterization and evaluation of biocompatibility of silver nanoparticles. *Physica E*, 43, 1266-1271.
- Amin, M., Anwar, F., Janjua, M. R. S. A., & Iqbal, M. A. (2012). Green Synthesis of Silver Nanoparticles through Reduction with *Solanum xanthocarpum* L. Berry Extract: Characterization, Antimicrobial and Urease Inhibitory Activities against *Helicobacter pylori*. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 9923-9941.
- Ananth, A. N., Daniel, S. C. G. K., Sironmani, T. A., & Umaphathi, S. (2011). PVA and BSA stabilized silver nanoparticles

- based surface-enhanced plasmon resonance probes for protein detection. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 85, 138-144.
- Bhui, D. K., & Misra, A. (2012). Synthesis of worm like silver nanoparticles in methyl cellulose polymeric matrix and its catalytic activity. *Carbohydrate Polymers*, 89, 830-835.
- Bijanzadeh, A. R., Vakili, M. R., & Khordad, R. (2012). A study of the surface plasmon absorption band for nanoparticles. *International Journal of Physical Sciences*, 7, 1943 - 1948.
- Edison,, T. J. I., & Sethuraman, M. G. (2013). Biogenic robust synthesis of silver nanoparticles using Punica granatum peel and its application as a green catalyst for the reduction of an anthropogenic pollutant 4-nitrophenol. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 104, 262-264.
- Han, J. (2006). Biomedical Nanoengineering For Nanomedicine. *Tissue Engineering and artificial organs*, 289-290.
- Jacob, J. A., Kapoor, S., Biswas, N., & Mukherjee, T. (2007). Size tunable synthesis of silver nanoparticles in water-ethylene glycol mixtures. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 301(1-3), 329-334.
- Khan, M., Khan, M., Adil, S. F., Tahir, M. N., Tremel, W., Alkhathlan, H. Z., ... Rafiq, M. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles mediated by *Pulicaria glutinosa* extract. *International Journal of Nanomedicine*, 8, 1507-1516.
- Liu, T., Li, D., Yang, D., & Jiang, M. (2011). Size controllable synthesis of ultrafine silver particles through a one-step reaction. *Materials Letters*, 65, 628-631.
- Misra, N., Kumar, V., Borde, L., & Varshney, L. (2013). Localized surface plasmon resonance-optical sensors based on radiolytically synthesized silver nanoparticles for estimation of uric acid. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 178, 371-378.
- Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de Química*, 105, 33-41.
- Philip, D. (2010). Green synthesis of gold and silver nanoparticles using *Hibiscus rosa sinensis*. *Physica E*, 42, 1417-1424.
- Rastogi, L., & Arunachalam, J. (2011). Sunlight based irradiation strategy for rapid green synthesis of highly stable silver nanoparticles using aqueous garlic (*Allium sativum*) extract and their antibacterial potential. *Materials Chemistry and Physics*, 129, 558-563.
- Raveendran, P., Fu, J., & Wallen, S. L. (2003). Completely «Green» Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, 125, 13940-13941.
- Ravindran, A., Chandran, P., & Khan, S. S. (2013). Biofunctionalized silver nanoparticles Advances and prospects. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 105, 342- 352.
- Slistan-Grijalva, A., Herrera-Urbina, R., Rivas-Silva, J. F., Ávalos-Borja, M., & Castellón-Barraza, F. F. (2005). Classical theoretical characterization of the surface plasmon absorption band for silver spherical nanoparticles suspended in water and ethylene glycol. *Physica E*, 27, 104-112.
- Spadaro, D., Barletta, E., Barreca, F., Curro, G., & Neri, F. (2009). PMA capped silver nanoparticles produced by UV-enhanced chemical process. *Applied Surface Science*, 255, 8403-8408.

- Sulaiman, G. M., Mohammed, W. H., Marzoog, T. R., Al-Amiery, A. A. A., Kadhum, A. A. H., & Mohamad, A. B. (2013). Green synthesis, antimicrobial and cytotoxic effects of silver nanoparticles using *Eucalyptus chapmaniana* leaves extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3, 58-63.
- Thakur, M., Pandey, S., Mewada, A., Shah, R., Oza, G., & Sharon, M. (2013). Understanding the stability of silver nanoparticles bio-fabricated using *Acacia arabica* (Babool gum) and its hostile effect on microorganisms. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 109, 344-347.
- Velikov, K. P., Zegers, G. E., & Blaaderen, A. van. (2003). Synthesis and Characterization of Large Colloidal Silver Particles. *Langmuir*, 19, 1384 - 1389.
- Vijayakumar, M., Priya, K., Nancy, F. T., Noorlidah, A., & Ahmed, A. B. A. (2013). Biosynthesis, characterisation and anti-bacterial effect of plant-mediated silver nanoparticles using *Artemisia nilagirica*. *Industrial Crops and Products*, 41, 235-240.
- Vivekanandhan, S., Tang, D., Misra, M., & Mohanty, A. K. (2010). Novel Glycine Max (Soybean) Leaf Extract Based Biological Process for the Functionalization of Carbon Nanotubes with Silver Nanoparticles. *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, 2, 240-243.
- Zielinska, A., Skwarek, E., Zaleska, A., Gazda, M., & Hupka, J. (2009). Preparation of silver nanoparticles with controlled particle size. *Procedia Chemistry*, 1, 1560-1566.