BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO CON EXTRACTO VEGETAL DE CAFÉ *(Coffea arabica* L.)

Tesis que para obtener el título de

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. JESSICA ANDREA HERNÁNDEZ CELIS

DIRECTORA: DRA. ROCÍO PÉREZ Y TERRÓN

CODIRECTORA: DRA. REBECA DÉBORA MARTÍNEZ CONTRERAS

COMITÉ TUTORIAL:

DRA. AGUSTINA ROSA ANDRÉS HERNÁNDEZ

DR. MARLON ROJAS LÓPEZ

DICIEMBRE, 2021

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

H. Puebla de Z. a 06 de diciembre de 2021

Asunto: Voto Aprobatorio

Comité Académico del Posgrado
PRESENTE

Por medio de la presente se hace constar que se revisó y aprobó la tesis titulada:

"Síntesis de nanopartículas de oro con extracto vegetal de café (Coffea arabica L."

Que presenta el (la) estudiante **Jessica Andrea Hernández Celis** con número de matrícula **219470569**, aspirante al grado de **Maestra en Ciencias Biológicas,** de la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento: "**(LGYAC)**", notificamos que la tesis reúne los requisitos y se aprueba para su réplica oral en el examen de grado.

Por lo tanto, emitimos los **VOTOS APROBATORIOS** como miembros del **Comité de Jurado de Examen de Grado** como a continuación se indica:

Tutor Interno: Dra. Agustina Rosa Andrés Hernández

Tutor Externo: Dr. Marlon Rojas López

Revisor: M. en C. Allan Carrasco Carballo

RECIBIDO
H. Puebla de Zaragoza
06 de Diciembre de 2021
Jessica Andrea Hernández Celis

Agradecemos de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

NOTA:
1.El voto debe emitirse personalizado (del estudiante o de la estudiante). Así mismo, el nombre del Grado también debe escribirse personalizado (si es mujer debe escribirse: Maestra en Ciencias Biológicas).
2. Comité revisor/jurado poner Grado (M. en C. ó Dr.), nombre(s), apellidos y firma. El nombre completo que aparece en el Voto Aprobatorio será utilizado para el acta de examen de grado. No puede abreviarse, ni omitir nombres.

Asunto: Voto Aprobatorio

Por favor imprimir el voto en papel membretado de la institución del miembro del comité revisor si es de una entidad externa a la BUAP.

Comité Académico del Posgrado
Maestría en Ciencias Biológicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

Como miembro del Comité revisor, después de haber dado lectura al manuscrito de la tesis titulada ***"Síntesis* de nanopartículas de oro con extracto vegetal de café *(Coffea arabica* L."** del (la) estudiante Hernández Celis Jessica Andrea, con número de matrícula 219470569, aspirante al grado de **Maestra en Ciencias Biológicas,** considero que reúne los requisitos para su defensa. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO** y autorizo la réplica oral en el examen de grado.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

NOTA: El voto debe emitirse personalizado (del estudiante o de la estudiante). Así mismo, el nombre del Grado también se debe escribir personalizado (si es mujer se debe escribir: **Maestra en Ciencias Biológicas).**

Atentamente
Revisor de Tesis para Examen de Grado

Dra. Agustina Rosa Andrés Hernández

Asunto: Voto Aprobatorio

Comité Académico del Posgrado
Maestría en Ciencias Biológicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

Como miembro del Comité revisor, después de haber dado lectura al manuscrito de la tesis titulada **"*Síntesis* de nanopartículas de oro con extracto vegetal de café *(Coffea arabica* L."** del la estudiante Hernández Celis Jessica Andrea, con número de matrícula 219470569, aspirante al grado de **Maestra en Ciencias Biológicas,** considero que reúne los requisitos para su defensa. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO** y autorizo la réplica oral en el examen de grado.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente

RECIBIDO
H. Puebla de Zaragoza
06 de Diciembre de 2021
Jessica Andrea Hernández Celis

Dr. Marlon Rojas López
Revisor de Tesis para Examen de Grado

Asunto: Voto Aprobatorio

Por favor imprimir el voto en papel membretado de la institución del miembro del comité revisor si es de una entidad externa a la BUAP.

Comité Académico del Posgrado
Maestría en Ciencias Biológicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

Como miembro del Comité revisor, después de haber dado lectura al manuscrito de la tesis titulada **"*Síntesis* de nanopartículas de oro con extracto vegetal de café *(Coffea arabica* L."** del (la) estudiante Hernández Celis Jessica Andrea, con número de matrícula 219470569, aspirante al grado de **Maestra en Ciencias Biológicas,** considero que reúne los requisitos para su defensa. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO** y autorizo la réplica oral en el examen de grado.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

NOTA: El voto debe emitirse personalizado (del estudiante o de la estudiante). Así mismo, el nombre del Grado también se debe escribir personalizado (si es mujer se debe escribir: **Maestra en Ciencias Biológicas).**

Atentamente
Revisor de Tesis para Examen de Grado

M. en C. Alan Carrasco Carballo

DECLARACION DE AUTENTICIDAD Y DE NO PLAGIO

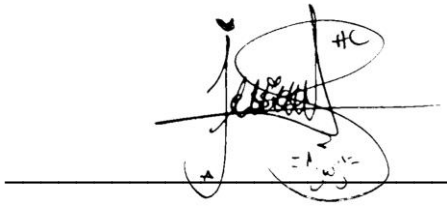
YO, **Jessica Andrea Hernández Celis**, con número de matrícula **219470569**, aspirante al grado de **Maestra en Ciencias Biológicas** por la **Benemérita Universidad Autónoma de Puebla** y autora de la tesis titulada "**Síntesis de nanopartículas de oro con extracto vegetal de café (Coffea arabica L.)"**

DECLARO LO SIGUIENTE:

Que el presente trabajo de investigación, tema de tesis presentada para la obtención del grado de Maestra en Ciencias Biológicas es **original**, siendo **resultado de mi trabajo personal**, que **no ha sido copiado**, que no se han utilizado ideas, formulaciones, citas completas "*sensu stricto*" e ilustraciones diversas sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc., (en versión digital o impresa) sin mencionar de forma clara su origen o autor, tanto en el cuerpo del texto como en las figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor.

Que el trabajo de investigación que pongo a consideración para evaluación no se ha presentado anteriormente para obtener algún grado académico o título, ni se ha publicado en sitio alguno. En este sentido tengo plena consciencia de que el hecho de no respetar los derechos de autor y de plagiar un trabajo, son objetos de sanciones universitarias y/o legales. Por lo anterior **asumo completamente cualquier responsabilidad** (ante la universidad y ante terceros) que pudiera derivarse de alguna irregularidad en este trabajo de tesis, así como en los derechos de este.

H. Puebla de z. a 14 de diciembre de 2021



Biól. Jessica Andrea Hernández Celis

Agradecimientos académicos

Quiero agradecer al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por brindarme apoyo y patrocinio, siendo yo la becaria número 999740, dicha ayuda me ayudo a culminar de forma satisfactoria mis estudios de maestría y por todos los apoyos que brinda para la formación de estudiantes en la investigación.

A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP), por el apoyo brindado durante la realización de la maestría y por los apoyos que brinda a los estudiantes de la BUAP.

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) y a la Facultad de Ciencias Biológicas por haberme acogido, formado e impulsado desde la licenciatura hasta la maestría.

A la Maestría en Ciencias Biológicas por apoyarme abriéndome sus puertas, brindándome respuesta a las dudas y por guiarme hasta el final.

Agradecimientos personales

A la Dra. Rocío Pérez y Terrón por su excelente dirección, albergarme en su laboratorio dos años más, por ser mi guía y ejemplo para seguir, enseñándome todo lo que sabe y apoyándome, quiero decirle que es una de las personas más increíbles que conozco.

Al Dr. Marlon Rojas López por enseñarme todo lo que sabe sobre nanopartículas, por su apoyo incondicional, por su amabilidad, disposición y tiempo.

A la Dra. Rebeca D. Martínez Contreras por su codirección, amabilidad y apoyo durante la tesis.

A la Dra. Agustina Rosa Andrés Hernández por su disposición, apoyo, guía y amabilidad durante la realización de la tesis.

A mis compañeros de laboratorio en especial: Jessito, Yuli, Azahel, Etssuri, Moni, Trini y Amaury por su ayuda, apoyo, compañerismo y amistad.

A Alba por su increíble compañía en esta aventura llamada maestría.

A mis padres Arturo y María del Carmen y a mis hermanos Arturo y Andrés, por su apoyo inigualable y su infinito amor.

A mi tío Sergio, por apoyarme, levantarme el ánimo y siempre estar presente, sacándome una sonrisa

A mis suegros Graciela y Carlos, al igual que Charly y Rodrigo, por su apoyo y ayuda en todo momento, así como su comprensión y disposición.

A mi esposo Jorge Armando Gómez Aca por apoyarme y estar ahí siempre, por su amor y animo, por llegar temprano cuando lo necesitaba.

There is plenty of room at the bottom

Richard P. Feyman

Dedicatoria

Quiero dedicar esta tesis a mi esposo Jorge Armando Gomez Aca por todo tu amor y apoyo, por estar ahí aquel día, por seguir aquí 11 años después y por los años que faltan.

También quiero dedicarla a la Dra. Rocío por una persona increíble en todos los aspectos, por enseñarme tanto y apoyarme en todo, gracias por abrirme las puertas de su laboratorio.

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO CON EXTRACTO VEGETAL DE CAFÉ *(Coffea arabica* L.)

Tesis que para obtener el título de

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. JESSICA ANDREA HERNÁNDEZ CELIS

DIRECTORA: DRA. ROCÍO PÉREZ Y TERRÓN

CODIRECTORA: DRA. REBECA DÉBORA MARTÍNEZ CONTRERAS

COMITÉ TUTORIAL:

DRA. AGUSTINA ROSA ANDRÉS HERNÁNDEZ

DR. MARLON ROJAS LÓPEZ

RECIBIDO
H. Puebla de Zaragoza
06 de Diciembre de 2021
Jessica Andrea Hernández Celis

NOVIEMBRE, 2021

RECIBIDO
H. Puebla de Zaragoza
06 de Diciembre de 2021
Jessica Andrea Hernández Celis

Resumen

Las nanopartículas están presentes en nuestras vidas desde hace varios siglos, siendo en las pasadas décadas cuando adquirieron gran interés debido a la variedad de posibles aplicaciones en diferentes áreas del conocimiento por sus características morfológicas, estructurales y fisicoquímicas. A lo largo de estos años, se ha observado que los residuos, provenientes de los agentes reductores utilizados generan contaminación, por tal motivo se busca a través de extractos naturales realizar biosíntesis de nanopartículas, para generar nanopartículas biocompatibles y amigables con el medio y que puedan competir en eficacia con las convencionales sintetizadas químicamente. En el presente trabajo se probó el uso de extracto vegetal de café (*Coffea arabica L.*), debido a la gran cantidad de antioxidantes que posee, como agente reductor durante la biosíntesis de nanopartículas metálicas de oro (AuNP), mediante el método de reducción química, obteniendo nanopartículas estables, esféricas, monodispersas y polidispersas, con un tamaño de 8 a 17nm, y con una densidad de hasta 4.5E+013 partículas/mL.

Palabras clave: *Nanopartículas de oro, café, extracto, agente reductor, biosíntesis.*

1. Introducción

Desde hace varios siglos las nanopartículas han formado parte de nuestras vidas con usos más simples pero no menos especializados, pues las antiguas civilizaciones quizás sin tener conciencia o percepción del uso de las nanopartículas o de su dimensión las utilizaban para la elaboración de cerámica (Heiligtag & Niederberger, 2013), pigmentos como el azul egipcio, tintes de cabello (Chen *et al,* 2016) y en la fabricación de vidrios de colores con ciertos efectos de luz y color (Schaming & Remita, 2015; Louis, 2017).

Las nanopartículas cuentan con múltiples cualidades y ventajas: como mayor preservación, estabilidad, la posibilidad de ser sintetizadas específicamente con un propósito, se pueden sintetizar a partir de diferentes materiales y por diferentes

Índice

Resumen 1
1. Introducción 1
2. Antecedentes 3
2.1 Nanopartículas 3
2.1.1 Definición y características 3
2.1.2 Métodos de síntesis 4
2.1.3 Caracterización 6
2.1.3.1 Espectroscopía UV/Vis 6
2.1.3.2 Microscopía electrónica de barrido (SEM) 6
2.1.3.3 Microscopía electrónica de transmisión TEM 6
2.1.3.4 Microscopía de fuerza atómica AFM 7
2.1.3.5 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier FTIR 7
2.1.4 Áreas de aplicación 7
2.1.4.1 Nanomateriales 8
2.1.4.2 Alimentos 11
2.1.4.3 Biorremediación 11
2.1.4.4 Cosmética 12
2.1.4.5 Nanomedicina 13
2.1.5 Biosíntesis de nanopartículas 15
2.1.6 Biosíntesis de nanopartículas de oro 16
2.2 Extractos vegetales 18
2.2.1 Definición y aplicaciones 18
2.2.2 Metabolismo secundario 19
2.2.2.1 Alcaloides 19
2.2.2.2 Fenoles 20
2.2.2.3 Terpenoides 20
2.2.3 Extracto de café (*Coffea arabica L.*) 21
3. Justificación 24
4. Hipótesis 25
5. Objetivos 25
5.1 Objetivo general 25
5.2 objetivos particulares 25
6. Material y métodos 26
6.1 Extractos 26
6.2 Pruebas Fitoquímicas 26
6.2.1 Pruebas de Saponinas 26
6.2.2 Prueba de Esteroides 27
6.2.3 Prueba de Fenoles 27
6.2.4 Prueba para Flavonoides 27
6.2.5 Prueba para Antraquinonas 27
6.2.6 Prueba para Cumarinas 27

6.2.7 Prueba para Terpenos 28
6.2.8 Prueba para Antronas 28
6.2.9 Prueba para Alcaloides 28
6.3 Liofilización de los extractos 28
6.4 Síntesis de nanopartículas 29
6.5 Caracterización de las nanopartículas 30
6.5.1 Caracterización por espectroscopía UV-Vis 30
6.5.1.1 Modelo matemático de Haiss 31
6.5.2 Caracterización por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) 32
6.5.3 Caracterización por Microscopía electrónica de barrido (SEM) 33
7. Resultados 34
7.1 Extractos 34
7.2 Pruebas Fitoquímicas 34
7.3 pH 35
7.4 Extractos liofilizados 35
7.5 Síntesis de nanopartículas 36
7.6 Caracterización de las AuNPJV y AuNPA 37
7.6.1 Caracterización por espectroscopia UV-Vis 37
7.6.2 Caracterización por espectroscopia FTIR 42
7.6.3 Caracterización por Microscopía electrónica de barrido (SEM) 48
8. Discusión 50
9. Conclusiones 55
10. Referencias 56
11. Anexos 71

Índice de tablas

Tabla 1: Tipos de nanomateriales 8
Tabla 2: Extractos utilizados como agentes reductores en la síntesis de nanopartículas de oro 17
Tabla 3: Pruebas fitoquímicas realizadas en 2 variedades de café (Juan Valdez y Artesanal) 35
Tabla 4: pH de extractos de café 35
Tabla 5: Tamaño y densidad de partícula con el modelo de Haiss 40
Tabla 6: Número de banda y grupos funcionales del extracto y AuNP de café (A y JV) en FTIR 47

Índice de imágenes

Imagen 1: Métodos de síntesis de nanopartículas 5
Imagen 2: Áreas y características de las nanopartículas 8
Imagen 3: Diagrama de síntesis de nanopartículas de oro (AuNP´s) 17
Imagen 4: Ilustración botánica de la planta de Coffea arabica L. (café) 21
Imagen 5: Diagrama de síntesis de nanopartículas de oro con extracto de café 30
Imagen 6: Espectrofotómetro UV-Vis, modelo GENESYS 50 31
Imagen 7: Espectrómetro modelo Vertex 70 con un sistema de reflexión total atenuada (ATR) 32
Imagen 8: Extracto de café JV en rotavapor 34
Imagen 9: Liofilización de extractos de café A y JV 36
Imagen 10: Síntesis de AuNP sintetizadas con extracto de café JV y A al 1%. 36
Imagen 11: AuNPJV despues de centrifugarse y retirar el sobrenadante 37
Imagen 12: Micrografías SEM, 1:AuNPJV y 2: AuNPA, aumento x50000 49
Imagen 13: Micrografías SEM, 1:AuNPJV y 2: AuNPA, aumento x100000 49
Imagen 14: Micrografías SEM, 1:AuNPJV y 2: AuNPA, aumento x150000 49

Índice de figuras

Figura 1: Espectros UV-Vis de AuNPA´s 38
Figura 2: Espectros UV-Vis de AuNPJV´s 39
Figura 3: Dependencia funcional de la densidad de AuNPA´s, con el tamaño de partícula 41
Figura 4: Dependencia funcional de la densidad de AuNPJV´s con el tamaño de partícula 41
Figura 5: Espectro FTIR de AuNPJV y extracto JV 42
Figura 6: Espectro FTIR de AuNPA y extracto A 43
Figura 7: Espectro FTIR de extracto JV y A 44
Figura 8: Espectro FTIR de AuNPA y AuNPJV 45

Abreviaturas

A: Artesanal

AgNP: Nanopartículas de plata

AuNP: Nanopartículas de oro

AuNPA: Nanopartículas de oro con café Artesanal

AuNPJV: Nanopartículas de oro con café Juan Valdéz

FTIR: Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier

$HAuCl_4$: Oro tetracloroáurico

JV: Juan Valdéz

Nm: nanómetro

NP: Nanopartículas

ROS: Especies reactivas de Oxigeno

SEM: Scanning Electron Microscope

TEM: Transmission Electron Microscope

UV-Vis: Espectrofotómetro de luz UV-visible.

Resumen

Las nanopartículas están presentes en nuestras vidas desde hace varios siglos, siendo en las pasadas décadas cuando adquirieron gran interés debido a la variedad de posibles aplicaciones en diferentes áreas del conocimiento por sus características morfológicas, estructurales y fisicoquímicas. A lo largo de estos años, se ha observado que los residuos, provenientes de los agentes reductores utilizados generan contaminación, por tal motivo se busca a través de extractos naturales realizar biosíntesis de nanopartículas, para generar nanopartículas biocompatibles y amigables con el medio y que puedan competir en eficacia con las convencionales sintetizadas químicamente. En el presente trabajo se probó el uso de extracto vegetal de café (*Coffea arabica L.*), debido a la gran cantidad de antioxidantes que posee, como agente reductor durante la biosíntesis de nanopartículas metálicas de oro (AuNP), mediante el método de reducción química, obteniendo nanopartículas estables, esféricas, monodispersas y polidispersas, con un tamaño de 8 a 17 nm, y con una densidad de hasta 4.5E013 partículas/mL.

Palabras clave: *Nanopartículas de oro, café, extracto, agente reductor, biosíntesis.*

1. Introducción

Desde hace varios siglos las nanopartículas han formado parte de nuestras vidas con usos más simples pero no menos especializados, pues las antiguas civilizaciones quizás sin tener conciencia o percepción del uso de las nanopartículas o de su dimensión las utilizaban para la elaboración de cerámica (Heiligtag & Niederberger, 2013), pigmentos como el azul egipcio, tintes de cabello (Chen *et al,* 2016) y en la fabricación de vidrios de colores con ciertos efectos de luz y color (Schaming & Remita, 2015; Louis, 2017).

Las nanopartículas cuentan con múltiples cualidades y ventajas: como mayor preservación, estabilidad, la posibilidad de ser sintetizadas específicamente con un propósito, se pueden sintetizar a partir de diferentes materiales y por diferentes

metodologías, lo que ha provocado que tengan aplicaciones en múltiples áreas como la medicina, electrónica, biorremediación, alimentos y materiales principalmente. Actualmente las nanopartículas se han incorporado como parte de nuestra vida diaria, pues cada vez son más las empresas que las incorporan a sus productos como la empresa Samsung que desde más de una década incorporó nanopartículas de plata como parte de su tecnología antibacteriana en sus electrodomésticos. (Jeevanandam *et al*, 2018).

Sin embargo, se ha vuelto evidente la contaminación generada por los desechos y residuos de la síntesis de nanopartículas, principalmente provenientes del agente reductor, dando paso a la búsqueda de agentes reductores biocompatibles con el ambiente. Se busca la implementación de estos extractos naturales como agentes reductores, los cuales han tomado una mayor relevancia y se están utilizando en todas las áreas de la ciencia debido a que pueden obtener o adquirir diversas propiedades de las plantas, hongos y microorganismos, para usarse con diversos fines (Kohane, 2008).

Las nanopartículas convencionalmente se sintetizan a partir de productos químicos que fungen como agentes reductores que acarrean riesgos biológicos debido a su toxicidad para el medio ambiente y los organismos que lo habitan incluido el ser humano, por lo cual se ha propuesto el uso de fuentes orgánicas y vegetales principalmente, para llevar a cabo una síntesis verde o biosíntesis de nanopartículas que sea amigable con el ambiente, de bajo costo de producción, energéticamente eficiente, rentable y que pueden ser igual de eficaces que las sintetizadas de forma normal o con agentes reductores químicos ya estandarizados (Ahmed *et al*, 2016; Singh *et al*, 2016).

Los extractos vegetales utilizados para realizar biosíntesis de nanopartículas, principalmente metálicas buscan encontrar fuentes vegetales (plantas, tallos, hojas, frutos, semillas) con un alto contenido de antioxidantes como flavonoides y ácidos fenólicos, que servirán como agentes reductores (Sulaiman *et al*, 2013), lo cual

proporcionará que la síntesis se lleve a cabo de forma ventajosa y ecológica, además de cumplir con los requerimientos mínimos necesitados según cada caso como: forma, tamaño, propiedades físicas, químicas, electrónicas y ópticas (Patel *et al*, 2011).

En el actual trabajo se utilizó el extracto vegetal de café, que es una planta que contiene una gran cantidad de antioxidantes (ácidos clorogénicos), como agente reductor para llevar a cabo una biosíntesis de nanopartículas de oro (AuNP´s), con el fin no solo de observar y analizar su desempeño, sino también para proveer de nuevas posibilidades a la industria en sustitución a agentes reductores químicos convencionales como el citrato de sodio, además de aprovechar todas las características que puede otorgarle el extracto a las nanopartículas como propiedades antimicrobianas.

2. Antecedentes

2.1 Nanopartículas

2.1.1 Definición y características

La naturaleza tiene formas elegantes e ingeniosas de crear los materiales funcionales miniaturizados más eficientes como lo son las nanopartículas (NP´s), las cuales son partículas ultrafinas y como su nombre lo dice, su tamaño se encuentra dentro de la escala de los nanómetros (1-100 nm). También es definida como un nano objeto con sus tres dimensiones externas dentro de esta nanoescala. Debido a sus propiedades tan particulares y únicas se han descrito como átomos artificiales, es estudiada por la nanociencia y aplicada por la nanotecnología (Fowler *et al*, 2020; Geszke-Moritz & Moritz, 2016).

La nanociencia es la ciencia encargada del estudio de la materia dentro de la nanoescala, que ocupa comprender su tamaño y propiedades dependientes de la

estructura y compara la aparición de átomos o moléculas individuales o en conjunto (Jeevanandam et al, 2018).

La nanotecnología se ha definido como la manipulación y control de la materia en nanoescala ([a]Chen *et al,* 2016), es una ciencia interdisciplinaria porque funciona con otras disciplinas como física, química, biología e ingeniería. Se encarga de investigar el comportamiento de la materia nanométrica para construir estructuras diminutas para su implementación o adaptación en diferentes áreas con el propósito de facilitar los procesos y miniaturizarlos (Cinar *et al*, 2020; & Duncan & Gaspar, 2011).

La definición de las nanopartículas varía según los materiales, campos y aplicaciones para las que se utilicen. Pueden sintetizarse de diferentes materiales: orgánicos, inorgánicos, metales, polímeros, liposomas, entre otros (Jeevanandam *et al*, 2018). Las nanopartículas ofrecen ciertas ventajas, debido a que se pueden aplicar y adaptar a varios tipos de sistemas, también pueden ser empleadas en diferentes áreas de trabajo y estudio, pues su uso comprende desde la creación de materiales hasta fungir de vehículo en el transporte de sustancias activas farmacológicas (Kawasaki & Player, 2005; Kohane, 2008).

2.1.2 Métodos de síntesis de Nanopartículas

En la actualidad se conocen diferentes metodologías para sintetizar nanopartículas a partir de diferentes materiales y condiciones. Elegir el método correcto de síntesis y componentes de las nanopartículas entre otras características fisicoquímicas, hace posible controlar el tamaño (nm) y forma (esferas, tubos, discos, laminas, estrellas, entre otras) (Mourdikoudis *&* Liz-Marzán*,* 2013). Pueden sintetizarse a través de una gran variedad de materiales orgánicos e inorgánicos (Grzelczak *et al*, 2018).

Los métodos de síntesis de las NP´s se basan en dos grupos principales: Top- Down (de arriba hacia abajo) y Bottom- Up (de abajo hacia arriba) (imagen 1):

1. Top- Down (de arriba hacia abajo): consiste en realizar una molienda o desgaste de un material de dimensiones más grandes que los nanómetros, es decir deconstruirlo, atreves de diferentes métodos químicos y volátiles hasta obtener la nanopartícula o micropartícula deseada (Yu *et al*, 2013). Dentro de este grupo se encuentran los métodos de: litografía óptica, deposición química en fase de vapor (CVD), ablación laser, implantación de iones y molienda mecánica por mencionar algunos de los más importantes y utilizados (Arevalo *et al,* 2019; Fu *et al*, 2018).

2. Bottom- Up (de abajo hacia arriba): estos métodos suelen utilizar un precursor para construir o fabricar estructuras de entidades moleculares y atómicas. Entre los métodos más utilizados se encuentran la síntesis por reducción química, método de reducción fotoquímica y radioquímica, irradiación por microondas, síntesis solvotermal y método sol-gel (Kimling *et al,* 2006; Li *et al,* 2010 & Biswas *et al,* 2012).

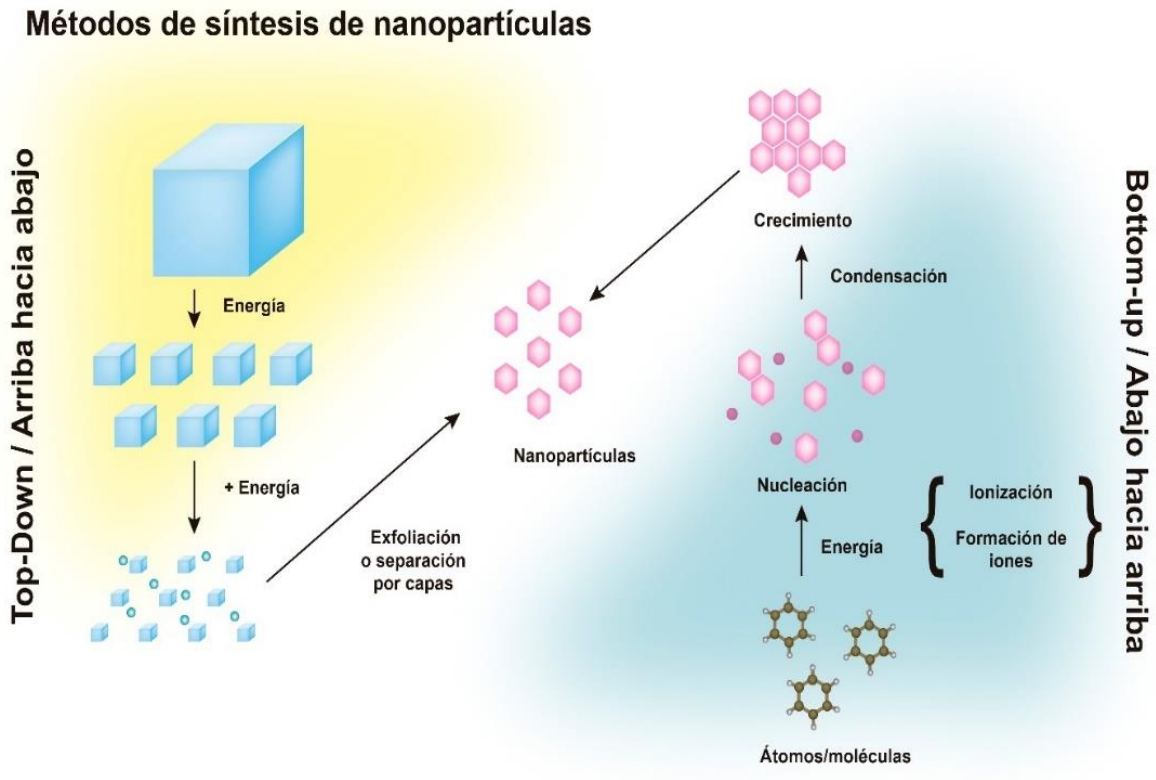


Imagen 1: Métodos de síntesis de nanopartículas.

2.1.3 Caracterización

Debido a la minúscula dimensión de las NP´s es necesario establecer parámetros de control y calidad, además de una forma de caracterizarlas o clasificarlas según las propiedades morfológicas, físicas y químicas que presenten.

2.1.3.1 Espectroscopía UV/ Vis

Utiliza la luz UV en un intervalo de 200 a 40 nm, donde la diferencia de energía entre el estado fundamental y el estado de mayor energía se convierte en igual a la cantidad de energía que absorbe. Esta técnica se basa en la ley de Beer- Lambert que establece que un haz de luz monocromática pasa a través de una solución, en la cual la tasa de reducción en la intensidad de la radiación además al espesor de la solución absorbente es directamente proporcional al incidente de radiación y a la concentración de la solución (Chirayil *et al,* 2017).

2.1.3.2 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Dirige un haz de electrones hacia la muestra, permitiendo analizarla a través de un barrido de haces de electrones de alta energía. Posteriormente se liberan tres tipos de electrones: retrodispersados, secundarios y de Auger, que permiten analizar las imágenes generadas para identificar la composición elemental de la muestra analizada (Echlin, 2009).

2.1.3.3 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Utiliza un haz de electrones y lentes electromagnéticos que atraviesan la muestra analizada observándose las imágenes en una pantalla, con lo cual proporciona detalles sobre la morfología de las NP´s, desde la estructura, el tamaño, hasta la cristalinidad y la composición. (Mayer *et al*, 2007; Sun *et al,* 2006).

2.1.3.4 Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)

Es una técnica no destructiva para la muestra, pues escanea con una punta afilada que se desvía cuando se acerca a ésta, debido a que un pequeño láser detecta las fuerzas de atracción entre la punta y la superficie (Hoo *et al,* 2008). Se pueden observar muestras con una alta resolución atómica que permite escanear la rugosidad de la superficie y nos brinda una imagen morfológica (López- Lorente, 2016).

2.1.3.5 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Es una técnica espectroscópica que utiliza como fundamento la absorción de la energía en el rango infrarrojo para generar vibraciones en los enlaces atómicos de la materia. Esta técnica tiene más de 50 años y proporciona información sobre las interacciones moleculares, como la estructura de un material específico mediante la absorción de luz infrarroja (Katumba *et al,* 2008).

2.1.4 Áreas de aplicación

La nanociencia ha madurado significativamente durante la última década a medida que ha pasado de la ciencia de referencia a la tecnología aplicada. En la actualidad las áreas de la nanociencia son variadas y tienen muchas subdivisiones debido a la versatilidad de las NP´s, estas pueden aplicarse en diferentes áreas (imagen 2).

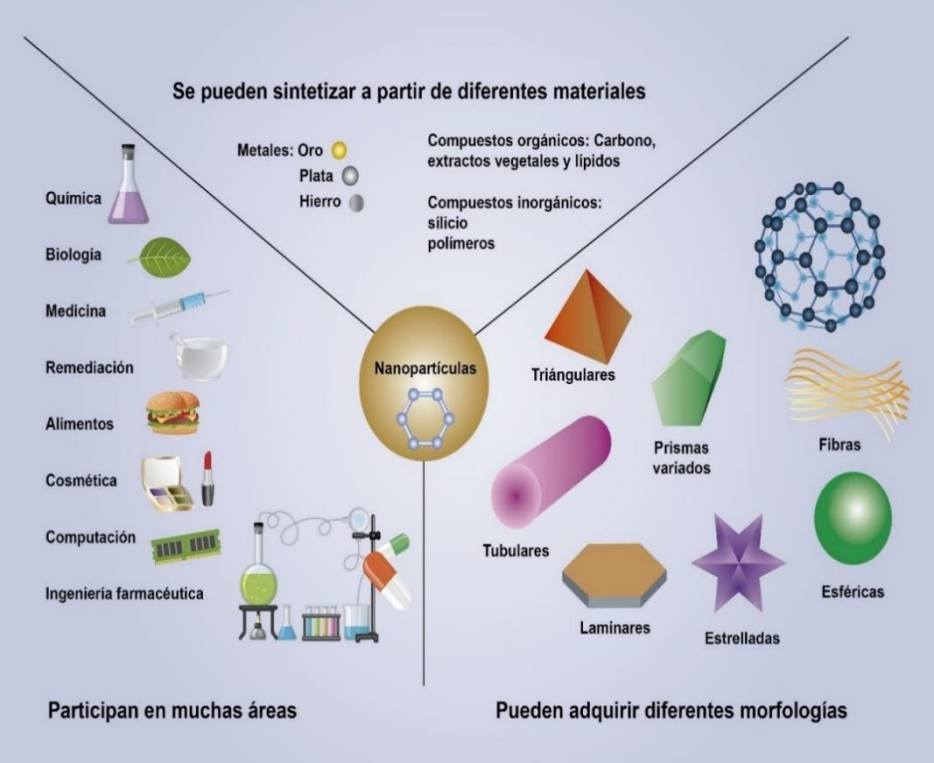


Imagen 2. Áreas y características de las nanopartículas

2.1.4.1 Nanomateriales

Un nanomaterial es definido como un material con una o más dimensiones de su estructura interna en el rango de la nanoescala, que puede exhibir características novedosas en comparación con el mismo material sin nanoescala. La versatilidad que se da en los nanomateriales permite su aplicación en diferentes áreas. Hay distintos tipos de nanomateriales, actualmente se siguen desarrollando más, mejorando a los ya existentes. En la tabla 1, podemos observar los diferentes tipos de nanomateriales más comunes.

Tabla 1: Tipos de nanomateriales

Nombre	Descripción	Función
Nanotubos	Son cilindros de escala nanométrica que pueden ser sintetizados de diferentes materiales, entre los más comunes están los de grafito o carbono (NTC), tienen paredes múltiples con un túbulo central de diámetro	Son utilizados para formar estructuras más complejas como puntas para microscopios de

	nanométrico rodeado por capas separadas, su morfología esta dictada por el ángulo de enrollamiento de los hexágonos formados por los enlaces de carbono y tienen 3 morfologías: sillón, quiral y zig-zag, lo cual influye en las propiedades de los NTC (Hamada *et al,* 1992; Romero, 2002). Hay de dos tipos, con paredes múltiples (MWNT) y de pared simple (SWNT) (Rao, 2001). Debido a que son derivados de los fullerenos también son llamados fullerenos tubulares o buckytubos (Kroto *et al,* 1991). Estos nanotubos pueden funcionalizarse con diferentes compuestos y también pueden ser recubiertos por diferentes metales como el oro y la plata.	sonda, para almacenar hidrógeno, para fabricar sensores y crear nuevos materiales (Baughman, 2002).
Nanofibras	Son fibras con diámetros nanométricos, pueden ser sintetizadas a partir de diferentes polímeros que les otorgaran diversas propiedades físicas (Tong et al, 2012). Estas nanofibras se han hecho más comunes en la industria moderna, debido a los avances en el electrohilado que es un proceso viable para creación y control de la formación de fibras y tecnologías relacionadas con su síntesis. Tienen características únicas con muchas aplicaciones biomédicas e industriales, pues se puede controlar la composición del material, la flexibilidad, el diámetro, la porosidad, la textura y la formación de patrones específicos para formar estructuras más complejas (Gopal *et al*, 2006)	Se utilizan activamente en diversos productos industriales de catálisis, filtrado y barrera como las nanomembranas para tratamiento de aguas, también pueden liberar de forma controlada fármacos y son utilizadas en la ingeniería de tejidos, en la industria textil, óptica, y nanoelectrónica. (Burger *et al*, 2006).
Nanocables	Son cables de tamaño nanométrico, tienen propiedades eléctricas y ópticas principalmente, pueden fabricarse con carburos, silicio, MgO, CaO, GaN, y péptidos (Zhang *et al,* 2000). Además, se han desarrollado sistemas complejos elaborados con nanocables, con el fin de transformar energía solar de forma más eficiente y ayudar con los problemas crecientes de energía y ambiente (Law *et al,* 2005).	Son unos de los componentes más importantes para la creación de chips moleculares y circuitos lógicos a nanoescala (Yan & Yang*,* 2009).

Nanocristales	Son cristales con un tamaño dentro del rango de los nanómetros, también pueden ser definidos como NP´s con características de cristales (Torchilin, 2006). Los nanocristales se sintetizan a partir de precursores moleculares de diferentes elementos constitutivos. Suele utilizarse comúnmente la química coloidal debido a la optimización para eliminar las impurezas y controlar la forma y tamaño de los nanocristales (Alivisatos, 2000). Anteriormente se creía que la formación de nanocristales era de forma desordenada, pero se ha demostrado que la formación de estas nanoestructuras cristalinas, debido a su tamaño es más perfecta y estable que los materiales grandes que tienden a tener expuestas las impurezas (Peng e*t al,* 2000). Uno de los métodos más utilizados para el crecimiento de cristales es la epitaxia de haz molecular, a base de precursores moleculares sobre un sustrato caliente, lo cual posibilita controlar el tamaño y la forma para crear estructuras más complejas (Wang *et al,* 2019).	Tienen diferentes aplicaciones eléctricas y ópticas como la capacidad de cambiar una partícula magnetizada en baterías y discos duros, modificar el color de emisión de luces semiconductoras como el marcaje fluorescente de células y en láseres (Lin *et al*, 2012).
Puntos cuánticos	Son nanocristales individuales fluorescentes o puntos semiconductores coloidales cuánticos también conocidos llamados qdots (Michalet *et al,* 2005), se les puede controlar la forma y tamaño debido a los avances en sus síntesis y son llamados puntos cuánticos debido a su tamaño, ya que los niveles de energía se cuantifican con valores directamente relacionados con el tamaño del punto q, que es un efecto de confinamiento cuántico, además de que los defectos de su estructura sirven como trampa a los electrones, lo cual impide que se conviertan en puntos radioactivos (Dahan *et al*, 2001).	En las últimas décadas se han utilizado en diferentes áreas, desde materiales electrónicos como los diodos laser emisores de luz, hasta aplicaciones biológicas como realizar tinciones de estructuras más complejas y específicas (Efros & Rosen, 2000).

2.1.4.2 Alimentos

Las NP´s han tenido una amplia participación en el área de los alimentos, principalmente en la industria agroalimentaria que está implicada desde el mejoramiento de los alimentos a través de suplementos hasta la prevención del deterioro de los productos ya envasados o enlatados (Ditta, 2012), así como la creación de pesticidas más eficaces y menos nocivos para el ambiente (Mukhopadhyay, 2014). Esta colaboración surgió con el estancamiento de la agricultura convencional, para buscar una solución que eliminara gradualmente el uso excesivo de semillas milagrosas, fertilizantes, antibióticos e insecticidas. (Goswami *et al,* 2010). La nanotecnología busca impulsar y aprovechar el rendimiento del uso de nutrientes a través de nanoformulaciones de fertilizantes, fortalecimiento de fibras naturales, aumentar la vida útil de los alimentos, tratamiento de suelos, detener procesos de erosión, entre otros (Shrivastava & Dash, 2009).

También se ha desarrollado la entrega de nutrientes y fármacos a través de NP´s bioconjugadas (Rai *et al*, 2012) para el mejoramiento genético de plantas, además del uso de nanofertilizantes que cumplen de mejor manera su objetivo sin contaminar o acumularse en los mantos acuíferos (Chau *et al,* 2007). Las NP´s de sílice (PHSN) cargadas con validamicina (pesticida) se han utilizado desde hace más de una década, como un sistema eficiente contra diferentes plagas, son solubles en agua y tienen liberación controlada, al igual que las opciones aún más amigables con el ambiente que se encuentran cargadas con aceites esenciales (Liu *et al*, 2006). Actualmente hay diferentes áreas de aplicación dentro de la nanoagricultura, entre ellas se encuentra la conservación de los alimentos, nanoproductos como nanofertilizantes o nanofungicidas, la transferencia de genes y aditamentos alimenticios (Usman *et al*, 2020).

2.1.4.3 Biorremediación

Las NP´s tienen diferentes propiedades físicas y químicas que las hacen perfectas para llevar a cabo trabajos de biorremediación y purificación principalmente en

mantos acuíferos y suelos, pues poseen atributos únicos que hacen posible su aplicación en la limpieza de hidrocarburos, pesticidas, metales, desechos radioactivos y propiedades antimicrobianas (Rathianaraj, 2019).

Actualmente la descarga de metales pesados de aguas residuales industriales, agrícolas y domésticas es una seria amenaza contra el ambiente, pues contiene diferentes sustancias tóxicas y microorganismos dañinos para la salud, por lo que el uso de las NP´s ha demostrado su eficacia para la absorción y filtración de contaminantes (Mallikarjunaiah *et al*, 2020). Se ha nombrado como nanorremediación, al proceso de utilizar NP´s o nanomateriales para prever, detectar, monitorear y remediar la contaminación. Entre los métodos más utilizados se encuentran la aplicación de nanomateriales reactivos como zeolitas, óxidos metálicos, nanotubos y fibras de carbono, además de nanopartículas bimetálicas para llevar a cabo el proceso de desintoxicación (Rajan, 2011).

2.1.4.4 Cosmética

Desde hace más de una década se han desarrollado una gran cantidad de productos cosméticos con NP´s para el cuidado de la piel o skincare, como maquillaje, cremas, desodorantes, jabones y perfumes, es decir las NP´s se han vuelto un ingrediente esencial en casi todos los productos de cuidado personal, creando así las primeras generaciones de nanocosméticos que tienen potencial en términos de viabilidad industrial, además de ofrecer mejores resultados (Patel *et al,* 2011). La Cooperación Internacional en Regulación Cosmética define un nanomaterial en cosmética como un ingrediente insoluble, fabricado intencionalmente con dimensiones de 1 a 100 nm (ICCR, 2010). Además, debe tener una caracterización fisicoquímica para identificar los compuestos de las nanopartículas antes de la evaluación toxicológica de acuerdo con la normativa ISO/TR13014 (ISO/TR, 2012), y seguir la directriz emitida por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos que dice que solo se podrán utilizar NP´s en cosméticos cuando sus características o cualidades son esenciales para el producto (FDA, 2014). Hay diferentes formas de utilizar las NP´s, como las

nanoemulsiones que suelen estar presentes en productos como acondicionadores y lociones donde combinan ingredientes tradicionales y un sistema acuoso para dispersar gotas de 50 a 100 nm (Soneville *et al*, 2004). Otro tipo de NP´s que ha adquirido importancia en la rama de la cosmética son las vesículas, que proveen de estabilidad y tolerancia cutánea de los ingredientes principalmente en protectores solares que utilizan partículas minerales de zinc y titanio para dispersar la luz UV que es dañina para la piel (Popov *et al,* 2005). Las nanopartículas de plata y oro también han tomado relevancia en el ámbito cosmético, pues se han incluido principalmente como ingredientes dentro de pastas dentales, jabones, cremas y desinfectantes, por su actividad antimicrobiana, incluso se han encapsulado diferentes compuestos con el fin de amplificar y hacer durar más los efectos estéticos de los mismos (Sondi & Salopek-Sondi, 2004). En contraparte también hay estudios que evalúan la toxicidad de estos compuestos y sus efectos a largo plazo (Lu *et al*, 2015).

2.1.4.5 Nanomedicina

La nanomedicina se ha centrado en el uso de NP´s para encontrar solución a diferentes enfermedades y padecimientos, se define como la aplicación de la nanotecnología en la medicina, empleada para mejorar la calidad de vida de los seres humanos mediante la prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades (Duncan & Gaspar, 2011). Tiene muchas aplicaciones entre ellas se encuentran: etiquetados biológicos fluorescentes, entrega de fármacos y genes, detección de patógenos y proteínas, sondeos de ADN, ingeniería de tejidos, hipertermia, separación y purificación de moléculas y células, realce de contraste de resonancia magnética y estudios fagocinéticos (Salata, 2004). Actualmente hay tres áreas principales que se están desarrollando rápidamente:

- Nanodiagnóstico

Es el área encargada de la aplicación de nanopartículas para diagnóstico (Nanodiagnóstico), en esta área se busca desarrollar y aplicar nanobiosensores, los cuales son dispositivos que buscan a través de métodos menos invasivos, detectar

a tiempo real o en muy poco tiempo problemas graves en etapas muy tempranas, con la finalidad de generar un diagnóstico rápido con alta sensibilidad y selectividad (Anselmo & Mitragotri, 2019). Los biosensores están hechos con dispositivos y receptores biológicos como proteínas, hay de dos tipos: los biosensores nanofotónicos que hacen uso de la luz que se transmite en los circuitos ópticos con los cuales se puede evaluar y analizar diferentes tipos de muestra, y los biosensores nanomecánicos que emplean una especie de micropalanca que interacciona con la sustancia a analizar, los cuales son especializados y pueden detectar diversos parámetros en una simple muestra en una escala de tiempo muy corta (Xie *et al,* 2020; Shi *et al,* 2020).

- Nanomedicina regenerativa

La segunda área es la nanomedicina regenerativa, cuyo objetivo es reparar y reemplazar tejidos y órganos dañados mediante la aplicación de métodos procedentes de la terapia génica, la terapia tisular y la ingeniería de tejidos, donde se busca diseñar estructuras adecuadas para favorecer el crecimiento de tejidos en las zonas dañadas, la estimulación y proliferación del crecimiento celular y tisular (Fowler *et al*, 2020).

- Nanoterapia

La tercera área de la nanomedicina abarca la liberación de fármacos para el tratamiento de diferentes padecimientos (nanoterapia) (Chen *et al*, 2016). Esta área se enfoca en el desarrollo de biomateriales nanoestructurados para construir sistemas que transporten y administren fármacos de manera controlada (Barreto & Brandelli, 2016), además de permitir la implementación de terapias nuevas y la mejora de productos ya existentes (Kawasaki & Player, 2005). Entre sus principales objetivos esta aprovechar las propiedades de la materia a nanoescala, para desarrollar fármacos innovadores con mayor eficacia y menos efectos secundarios que las terapias estándar, además se han creado sistemas de transporte para la entrega de sustancias que pueden o no ser de origen medicamentoso en el órgano blanco (Utreja *et al*, 2019).

2.1.5 Biosíntesis de nanopartículas

La contraparte de los usos de las NP´s que mejoran significativamente la vida de las personas, son los productos tóxicos que contaminan durante su síntesis, y el desecho de estas que se realiza sin control o regulación; por este tipo de razones se ha popularizado la síntesis verde o la biosíntesis de NP´s, que busca a través de extractos vegetales u orgánicos naturales (Patel *et al*, 2020), la obtención de NP´s sin desechos tóxicos en el ambiente, principalmente se enfoca en sustituir los agentes reductores y demás compuestos tóxicos, por materiales naturales biodisponibles y biodegradables (Bhandari, 2018).

La Síntesis verde de NP´s, consiste en la reducción o eliminación de productos nocivos resultantes de su síntesis sin reducir la calidad (Philip, 2010), es decir, que las NP´s tengan la forma, tamaño, propiedades físicas, químicas, ópticas y electrónicas deseables, al igual que la síntesis realizada con diferentes agentes reductores de naturaleza química (Sulaiman *et al*, 2013).

Hay algunos tipos de NP´s que utilizan distintas rutas verdes en diferentes sustratos como microorganismos, enzimas, bacterias y extractos de plantas, que ayudan a ser más amables con el receptor, debido a la reducción de toxicidad que pueda generarse por utilizar diferentes sustancias químicas. (Mirzaei & Darroudi, 2017).

Los recursos biológicos para la biosíntesis de NP´s metálicas también pueden actuar como andamio, desempeñando no sólo el papel de agente reductor y protector, sino que pueden otorgar propiedades farmacológicas a las NP´s, pues existen una diversidad de metabolitos secundarios como: alcoholes, fenoles, terpenos, alcaloides, saponinas y proteínas (Ovais *et al*., 2018).

Se han utilizado distintos tipos de extractos vegetales, principalmente de plantas con alto contenido de antioxidantes, en especial para la síntesis de nanopartículas metálicas de oro, plata, cobre, platino, selenio, hierro, zinc y paladio, entre ellas se encuentran: *Acalypha indica* (Krishnaraj *et al*, 2010) , *Allium sativum* (Ahamed *et al*, 2011), *Aloe vera* (Chandran *et al*, 2006), *Anacardium occidentale* (Sheny *et al,* 2012), *Camelia Sinesis* (Vilchis-Nestor *et al*, 2008), *Chenopodium album* (Dwivedi

& Gopal, 2010), *Citrus sinensis* (Kaviya *et al,* 2011)*, Curcuma longa* (Sathishkumar *et al,* 2010), *Memecylon edule (*Elavazhagan & Arunachalam, 2011), *Mentha piperita* (Mubarak Ali *et al*, 2011). Por mencionar algunas especies de plantas que tienen un buen desempeño como agentes reductores durante la biosíntesis de nanopartículas.

2.1.6 Biosíntesis de nanopartículas de oro

El oro es un elemento que pertenece al grupo IB del sistema periódico; su número atómico es 79 y su masa atómica es de 196.97 uma. Los compuestos de oro son poco solubles en agua. Sus propiedades bacteriostáticas fueron descubiertas por Robert Koch que utilizó cianuro de oro frente al bacilo de la tuberculosis en 1920. Sin embargo, las nanopartículas de oro se han utilizado desde la antigüedad por civilizaciones antiguas para teñir vidrios y darles efectos decorativos, posteriormente fue Faraday quien observó por primera vez soluciones de oro coloidal en 1857 (Faraday, 1857), casi 100 años después Turkevich en 1950 propuso una metodología de síntesis por reducción química para nanopartículas de oro (Turkevich 1951). Actualmente se ha reportado en los compuestos de oro, actividad antimicrobiana mediante el aumento de la respuesta en el sistema inmune, además de poderse eliminar o excretar mediante heces y orina (Mohr, 2009).

En general, las nanopartículas de oro se sintetizan a partir del método de reducción química o método de Turkevich (imagen 3), que consta de producir nanopartículas de oro, esféricas monodispersas, suspendidas en agua, de diámetros que van de 10 a 30 nm. El método involucra la reacción de pequeñas cantidades de ácido tetracloroáurico $HAuCl_4$, caliente con pequeñas cantidades de solución de citrato de sodio el cual funge como agente reductor. En esta reacción los cationes de oro (Au^{3+}) sean reducidos a átomos de oro neutral (Au^0). A medida que más y más de estos átomos se forman, la solución se vuelve sobresaturada, y el oro poco a poco comienza a nuclear en forma de partículas nanométricas. El resto de los átomos de oro que se forman, se adhieren a las partículas existentes, obteniendo una

suspensión coloidal (suspensión de AuNP´s de tamaño nanométrico) de nanopartículas (Dong *et al*., 2020).

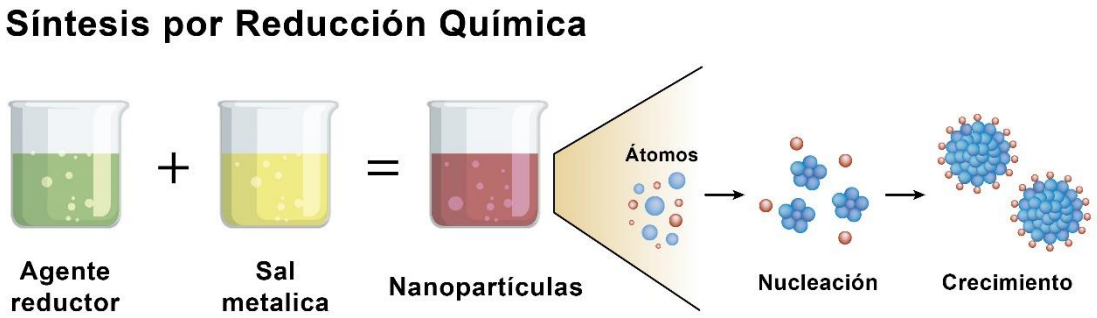


Imagen 3: Diagrama de síntesis de nanopartículas de oro (AuNP´s) por método de reducción química.

Las nanopartículas de oro (AuNP´s) tienen múltiples aplicaciones, pueden elaborarse para transportar selectivamente sustancias medicinales, que controlen la liberación, el espacio y el tiempo del compuesto terapéutico mediante estímulos biológicos, también pueden ser usadas como biosensores, como terapia contra el cáncer y para inhibir el crecimiento de diferentes microorganismos (Kumar *et al*, 2013). Se han realizado investigaciones utilizando nanopartículas de oro con el fin de demostrar su actividad antimicrobiana en bacterias Gram negativas y Gram positivas (Shamaila *et al*, 2016), estas nanopartículas suelen ser más eficaces debido a las propiedades extras brindadas por la biosíntesis con los extractos vegetales como se observa en la siguiente tabla.

Tabla 2: Extractos utilizados como agentes reductores en la síntesis de nanopartículas de oro

Planta	Características como agente reductor	Referencia
Anacardium occidentale	Reducción y estabilización	Sheny *et al,* 2012
Citrus maxima	Reducción y estabilización	Yu *et al,* 2016

Magnolia kobus	Alto poder reductor y diferentes formas de nanopartículas: triangular, pentagonal y hexagonal	Song *et al,* 2009
Diopyros kaki	Alto poder reductor y diferentes formas de nanopartículas: triangular, pentagonal y hexagonal	Song *et al,* 2009
Juglans regia	Alto poder reductor, estabilizador y baja citotoxicidad	Izadiyan *et al,* 2018
Salvia officianalis	Estabilidad y biocompatibilidad	Zeiri *et al*, 2014
Lippia critriodora	Estabilidad y biocompatibilidad	Zeiri *et al*, 2014
Pergornium graveolens	Estabilidad y biocompatibilidad	Zeiri *et al*, 2014
Punica granatum	Estabilidad y biocompatibilidad	Zeiri *et al*, 2014
Ziziphus zizyphus	Estabilidad y biocompatibilidad, propiedades antimicrobianas y antifúngicas	Aljabali *et al,* 2018

2.2 Extractos vegetales

2.2.1 Definición y aplicaciones

Los extractos vegetales son una mezcla compleja de compuestos fitoquímicos, obtenibles por procesos físicos, químicos o microbiológicos a partir de una fuente natural (planta) y generalmente con algún tipo de solvente. Los extractos vegetales pueden tener varios usos: energético, alimenticio, farmacéutico y cosmético. Los extractos vegetales buscan aislar o recuperar el principio activo de la planta, que puede proceder o no del metabolismo primario o secundario, los más comunes son los metabolitos secundarios los cuales pueden ser terpenos, derivados fenólicos y alcaloides (Friedman *et al.,* 2002; Singh y Mishra, 2014).

La farmacognosia es la ciencia que se ocupa del estudio de los componentes y las sustancias medicamentosas de origen natural, bien sea vegetal, microbiano o animal. Se encarga también de estudiar las formas y técnicas más eficientes para obtener estos extractos naturales (Heinrich *et al,* 2017)

La fitoquímica es una disciplina científica que tiene como objeto el aislamiento, análisis, purificación, elucidación de la estructura y caracterización de la actividad

biológica de diversas sustancias producidas por los vegetales (metabolitos secundarios), hay una gran variedad de compuestos fitoquímicos dentro de los tres grupos de metabolitos secundarios como los fenoles, los terpenos, y los alcaloides. Estos compuestos no forman parte de los macronutrientes de la planta. Sin embargo, albergan muchas funciones que les otorgan diferentes características como actividad antimicrobiana, pigmentos y atracción de polinizadores a través de aceites esenciales (Drago *et al*, 2006).

2.2.2 Metabolismo secundario

Las plantas producen una gran cantidad y variedad de metabolitos secundarios con diferentes actividades biológicas. Los metabolitos secundarios son compuestos orgánicos, los cuales no están directamente involucrados con la supervivencia del organismo. Suelen jugar un papel importante en la defensa contra patógenos y depredadores. Los metabolitos secundarios se pueden dividir en tres clases principales como los terpenoides, compuestos fenólicos y alcaloides o compuestos nitrogenados (Nobuzaku, 2016; Saklani & Kutty, 2008).

2.2.2.1 Alcaloides

Son un grupo grande y diverso de metabolitos secundarios, responsables por una gran variedad de efectos beneficiosos con actividad farmacológica utilizados en la medicina y efectos nocivos como venenos. Se sintetizan a través de la vía de formación de los aminoácidos alifáticos a través del ciclo del ácido tricarboxílico (ciclo TCA) y compuestos aromáticos y de la vía del ácido 4-hidroxibenzoixo (ácido shikímiko) (Huang *et al*, 2016; Boberek *et al*, 2010) Los alcaloides se caracterizan por la presencia de un átomo de nitrógeno básico. Estos compuestos son complejos estructuralmente, por lo cual comúnmente son aislados a partir de plantas en vez de ser producidos de forma sintética (Facchini & De Luca, 2008). Se encuentran en el 20% de las especies de plantas que existen y se conocen más de 12 000 alcaloides vegetales que exhiben una potente actividad biológica, son un grupo

diverso con origen biosintético independiente. Los alcaloides poseen diversas propiedades entre las más conocidas se encuentran la actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y antitumoral. (Cushnie *et al.,* 2014).

2.2.2.2 Fenoles

Los fenoles o compuestos fenólicos son compuestos orgánicos con un anillo fenólico sustituido, es decir, un anillo aromático funcionalizado por un hidroxilo. Entre los fenoles se encuentran una gran diversidad de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos simples, quinonas, flavonoides, cumarinas, flavonas, ácidos clorogénicos, isoflavonoides, lignanos y taninos. Se sintetizan a partir de la vía del ácido shikímiko y la vía del ácido malónico. Los flavonoides de los compuestos fenólicos se encuentran en una variedad de alimentos principalmente frutas, verduras y algunas hierbas, tienen actividad especial antioxidante y efectos farmacológicos específicos. Los compuestos fenólicos tienen la capacidad de quelar iones metálicos y de volatilizarse cuando tienen bajo peso molecular (Parr & Bolwell, 2000; Rempe *et al.,* 2017).

2.2.2.3 Terpenoides

Son una basta y diversa clase de compuestos orgánicos derivados del isopreno que es un hidrocarburo de cinco átomos de carbono. Constituyen a los aceites esenciales de diversas plantas y flores. Dentro de este grupo se encuentran los terpenos, isoprenoides, triterpenos, carotenoides, esteroides y esteroles. Se sintetizan a partir de la vía acetil coenzima A, vía del ácido mevalónico y vía MEP. También tienen diversas funciones biológicas y fisiológicas, muchos de estos metabolitos tienen actividad farmacológica. Los terpenoides forman la familia más grande de plantas, se conocen más de 30,000 compuestos, la mayoría estos compuestos tienen una alta importancia biológica y económica, debido a que sus aceites esenciales son ampliamente utilizados en la medicina, en la cosmética, en

la farmacología y el comercio en general (Oz *et al.*, 2015; Guimaraes *et al.*, 2019; Shanker *et al,* 2003; Dong *et al.*, 2020).

2.2.3 Extracto de café (*Coffea arabica L).*

La planta del café (imagen 4) pertenece a la familia de las Rubiaceae, compuesta por árboles, arbustos y hierbas. Son plantas dicotiledóneas de hábitos terrestres, hermafroditas, perennes, con hojas opuestas o verticiladas, con inflorescencias terminales, son plantas cosmopolitas y crecen principalmente en áreas tropicales. La planta del café tiene alta importancia económica, pues la bebida producida por sus granos se consume en todo el mundo no solo por su sabor y olor, también por su efecto estimulante o relajante. Anualmente en el mundo se estima una producción de $8E^6$ toneladas (Priftis *et al*, 2018).

PLATE XI.—*Coffea arabica* (Coffee). (From Jackson: *Experimental Pharmacology and Materia Medica.*)

Imagen 4: Ilustración botánica de la planta de *Coffea arabica* L. (café) tomado de Jackson: Experimental Pharmacology and Materia Medical

El café tiene diferentes tipos de metabolitos secundarios, comenzando por el más conocido: la cafeína que es un compuesto alcaloide el cual también contiene compuestos fenólicos como los ácidos clorogénicos y las melanoidinas, que se encuentran presentes en mayor cantidad en el fruto de esta planta (granos), los cuales son compuestos antioxidantes potentes contra especies reactivas de oxígeno (ROS) y son capaces de inhibir el desarrollo microbiano. El extracto de café además tiene otras propiedades como hipoglucemiante, antiviral, hepatoprotector, nutraceútico, de índole cosmético, alimentario y químico entre otras (Chaves-Ulate *et al.,* 2019).

Se estima que hay 14% de compuestos fenólicos en un grano de café. Sin embargo, se conoce muy poco de los efectos de esos compuestos. En extractos con café tostado se ha encontrado actividad antimicrobiana efectiva para bacterias Gram negativas y Gram positivas. Estos compuestos tienen diversos mecanismos de acción entre los cuales destacan la acción de las melanoidinas (Runti *et al.,* 2015).

Las melanoidinas son compuestos químicos distribuidos en alimentos como el café, su actividad antimicrobiana puede estar relacionada con la bioactividad, es decir su capacidad de quelar cationes metálicos como magnesio, hierro, zinc y cobre que resultan esenciales para el crecimiento y supervivencia de las bacterias. Existen tres mecanismos por los que se atribuye el efecto inhibidor de la melanoidina: 1) En bajas concentraciones son bacteriostáticas, quelan el hierro. 2) Para bacterias capaces de sintetizar sideróforos, la formación de complejos sideróforos-melanoidina disminuye la virulencia de esos microoganismos. 3) Altas concentraciones de melanoidinas logran quelar magnesio de membranas externas, desestabilizando su estructura y provocando daño celular con pérdida de componentes intracitoplasmáticos (Rufián-Henares y de la Cueva, 2009).

Se han realizado ensayos para observar la actividad antimicrobiana de diferentes extractos de café y utilizando granos, pulpa, hojas y tallos, obteniendo un amplio espectro de inhibición de bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; para bacterias Gram negativas *Pseudomonas.*

aeruginosa y *Escherichia coli,* además reportan que se encontraron presentes en estos extractos: melanoidinas y ácidos clorogénicos (Duangjai *et al*., 2016).

En el trabajo de Monete *et al.* en 2015, se realizaron extractos de café normal y de café usado para hacer bebidas, se presentó actividad antimicrobiana en varias cepas de bacterias Gram positivas y Gram negativas que son comunes en alimentos, se les realizó un análisis de los compuestos que contenían encontrando que solo los extractos de café usado tenían una mayor cantidad de ácidos clorogénicos y que ambos extractos inhibieron el mismo porcentaje de UFC´s.

3. Justificación

Las nanopartículas han tomado mucha relevancia en diferentes campos donde se aplican, son una herramienta que nos permite alcanzar nuevos límites gracias a sus cualidades morfológicas, físicas, químicas, ópticas y estructurales. Las nanopartículas se incluyen en muchas áreas donde pueden desempeñar un papel importante, como en el área de la salud donde tienen la oportunidad de brindar a las personas tratamientos novedosos.

Las nanopartículas pueden sintetizarse a partir de diferentes materiales, siendo las metálicas y en especial las de metales nobles como el oro, un tipo de nanopartícula ampliamente utilizada en diferentes áreas. Sin embargo, la forma en la que se producen o sintetizan, produce desechos tóxicos que pueden perturbar esta calidad de vida que nos brindan. Por lo cual se ha popularizado el uso de los extractos vegetales a través de la biosíntesis para generar nanopartículas metálicas de oro (AuNP´s), que se caracterizan por tener un bajo costo, ser eficientes, no tóxicas y que cumplan con las cualidades fisicoquímicas como la forma y el tamaño.

Por lo anterior, el actual trabajo de tesis propone la utilización de extracto vegetal de café (*Coffea arabica* L.*)*, que posee una amplia variedad de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos y nitrogenados, los cuales son capaces de actuar como agente reductor y estabilizador durante la biosíntesis de nanopartículas metálicas de oro que pueden competir en tamaño, forma, costo y producción con las sintetizadas de forma estándar con agentes reductores químicos.

4. Hipótesis

El extracto vegetal de café (*Coffea arabica* L.*)*, favorece la síntesis de nanopartículas de oro (AuNP).

5. Objetivos

5.1 Objetivo General:

- Analizar las nanopartículas de oro resultantes, sintetizadas con el extracto de café (*Coffea arabica* L.*)*

5.2 Objetivos Particulares:

- Sintetizar nanopartículas de oro (AuNP) con extracto vegetal de café (*Coffea arabica* L.) como compuesto reductor.
- Caracterizar las nanopartículas de oro (AuNP) resultantes de la biosíntesis con el extracto de café (*Coffea arabica* L.*).*
- Evaluar las características fisicoquímicas de las nanopartículas de oro (AuNP) sintetizadas con extracto café (*Coffea arabica* L.).
- Identificar metabolitos secundarios presentes en las nanopartículas sintetizadas y del extracto de café (*Coffea arabica* L.).

6. Material y métodos

6.1 Extractos

La extracción de café se realizó mediante macerados hidroalcohólicos con etanol para obtener una mayor concentración de sus metabolitos y compuestos. Se elaboraron 400 ml de cada extracto, posteriormente a cada extracto se le medió el pH y se realizaron pruebas fitoquímicas cualitativas (determinación de la presencia de saponinas, fenoles, antraquinonas, alcaloides, cumarinas, esteroides, triterpenos, flavonoides y esteroles), de los compuestos extraídos. Finalmente, los extractos se liofilizaron y se realizó la síntesis de nanopartículas.

Para la obtención de extractos se utilizaron dos marcas diferentes de café artesanal, orgánico, tostado y molido de Colombia, una marca comercial certificada “Juan Valdez” y una marca no certificada la cual llamamos Artesanal.

Cada extracto se elaboró con 10 gramos de café macerados en una solución hidroalcohólica 1:1 que se dejó reposar durante 24 horas a -4°C. Posteriormente se filtró utilizando gasas estériles para retirar la materia orgánica y se colocó a destilar a presión reducida en el rotavapor Hahnvapor de la marca Witeg a 60°C en baño maría y con 50 rpm por 40 minutos para separar la fase alcohólica. Finalmente se esterilizó por filtración con una membrana estéril de 0.45 µM y se almacenó a -4°C en un frasco Schott ámbar estéril.

6.2 Pruebas Fitoquímicas

Para determinar los metabolitos secundarios presentes en cada uno de los extractos de café, se realizaron diferentes pruebas colorimétricas por duplicado. Para evaluar la coloración de cada prueba se utilizaron extractos de referencia.

6.2.1 Prueba para Saponinas

Se pesaron 0.2 g de materia, se agregaron 5 ml de agua destilada a una temperatura de 90 °C, se agitó vigorosamente durante 1 min. La presencia de saponinas se considera positiva si esta produce espuma/ burbujas estables.

6.2.2 Pruebas para Esteroides

Se pesaron 0.2 g de materia, se agregó 1 ml de cloroformo, se agitó levemente por unos minutos, después se agregó 1 ml de anhídrido o ácido acético y por último se agregaron 3 gotas de ácido sulfúrico. La presencia de esteroides se considera positiva si su color cambia a negro y presenta una reacción exotérmica.

6.2.3 Prueba para Fenoles

Se colocaron 0.2 g de materia vegetal en un tubo de ensayo, se agregaron 2 ml de metanol y 3 gotas de cloruro férrico ($FeCl_3$). La presencia de fenoles es positiva si su color cambia a azul oscuro, verde o negro.

6.2.4 Prueba para Flavonoides

Se colocaron en un tubo de ensayo 0.2 g de materia vegetal, 2 ml Mg, 2 ml de ácido clorhídrico, 1 ml de etanol, 1 ml de anhídrido acético y por último se le agregó una viruta de magnesio para oxidar. La presencia de flavonoides es positiva si la muestra vira a color rojo o negro.

6.2.5 Pruebas para Antraquinonas

Se pesaron 0.2 g de materia, se agregó 5 ml hidróxido de potasio 0.5 N, se dejó reposar a baño maría hasta punto de ebullición, posteriormente se dejó enfriar y se agregó 1 ml de peróxido de hidrógeno al 6%, se agitó y se filtró. Se adiciono 1 ml de benceno y se agitó; se recuperó la fase del benceno y se agregaron 3 ml de hidróxido de amonio. La presencia de quinonas se considera positiva si la fase del benceno cambia a color rojo.

6.2.6 Pruebas para Cumarinas

Se mezclaron 0.2 g de materia con 3 ml de hidróxido de sodio, la mezcla se agitó levemente por unos minutos y, por último, se agregaron 2 ml de ácido clorhídrico.

La presencia de cumarinas se considera positiva si la muestra empieza a tener una decoloración de amarillo a blanco.

6.2.7 Pruebas para Terpenos

A 0.2 g de materia vegetal se le adicionaron 3 ml de solución reveladora de terpenos. La presencia de terpenos se considera positiva cuando tienen un color fosforescente.

6.2.8 Prueba para Antronas

Se pesaron 0.2 g de materia vegetal y se agregaron 3 ml de hidróxido de sodio. La presencia de antronas se considera positiva cuando tienen un color amarillo o café.

6.2.9 Prueba para Alcaloides

Se pesaron 0.2 g de materia vegetal y se mezclaron con 3 ml de reactivo de Dragendoff, colocando una contratapa de papel filtro y se espera que vire de color. La presencia de alcaloides se considera positiva cuando el papel filtro vira a color negro.

6.3 Liofilización de los extractos

Una vez que se realizaron las pruebas fitoquímicas se sometieron a un proceso de liofilización para conservar las cualidades de los extractos, tener un mayor tiempo de conservación y para realizar la síntesis de nanopartículas.

El proceso de liofilización se llevó a cabo con una liofilizadora LABCONCO, FREEZONE DRY SYSTEMS, donde se colocaron tubos falcon estériles con 30 mL de extracto previamente congelado a -4°C en un periodo de 8 horas y a -80°C en un periodo de 3 días, posteriormente se cubren los tubos con papel Parafilm y se realizan pequeñas aberturas, al comenzar el proceso de liofilización se espera que la maquina llegue a -52°C para prender el vacío (se espera que el vacío llegue a un

rango de -0.016 a -0.022 libras), se dejaron las muestras durante 7 días y por último se retiraron y almacenaron los extractos liofilizados a -4°C.

6.4 Síntesis de nanopartículas

Se realizó la síntesis verde de nanopartículas de oro utilizando el método de reducción química o método de Turkevich, el cual consiste en la reducción de iones de la sal metálica de ácido tetracloroáurico ($HAuCl_4$) (imagen 5), en átomos con valencia cero, mediante el uso de un agente reductor, que en este caso fue el extracto de café, a través de una reacción en agua en presencia de calor. El procedimiento consiste en mezclar 1 ml de ácido tetracloroáurico ($HAuCl_4$) al 4 % en agua desionizada (poner 40 µL de $HAuCl_4$ en 960 µL de H_2O), posteriormente se le agregaron 0.5 ml de esta solución a 200 ml de agua desionizada, se llevó a ebullición (aproximadamente entre 97-98 ^oC) y la solución se sometió a agitación constante. Se vigiló que la temperatura de la solución no se alterará y una vez que la muestra empezó a ebullir (94° C) se le agregaron 3 ml de extracto de café al 1%. La solución se dejó ebullir por 30 minutos. Durante este tiempo se observaron los cambios de color en la solución pasando por incolora hasta llegar a una coloración roja o violeta, esto nos indicó que la solución coloidal de nanopartículas de oro ha concluido, se obtuvo un volumen final cercano a 100 ml. Después de que la solución se enfrió, se realizó un lavado, es decir las nanopartículas de oro se centrifugaron a 3500 rpm durante 40 minutos; posteriormente se retiró el sobrenadante y las nanopartículas se resuspendieron con 1 ml de agua desionizada y se almacenaron a una temperatura de -4 ^0C. Es de gran importancia destacar que las partículas sintetizadas por reducción con los extractos de café deberán ser esferas monodispersas de tamaños menores a 30 nm.

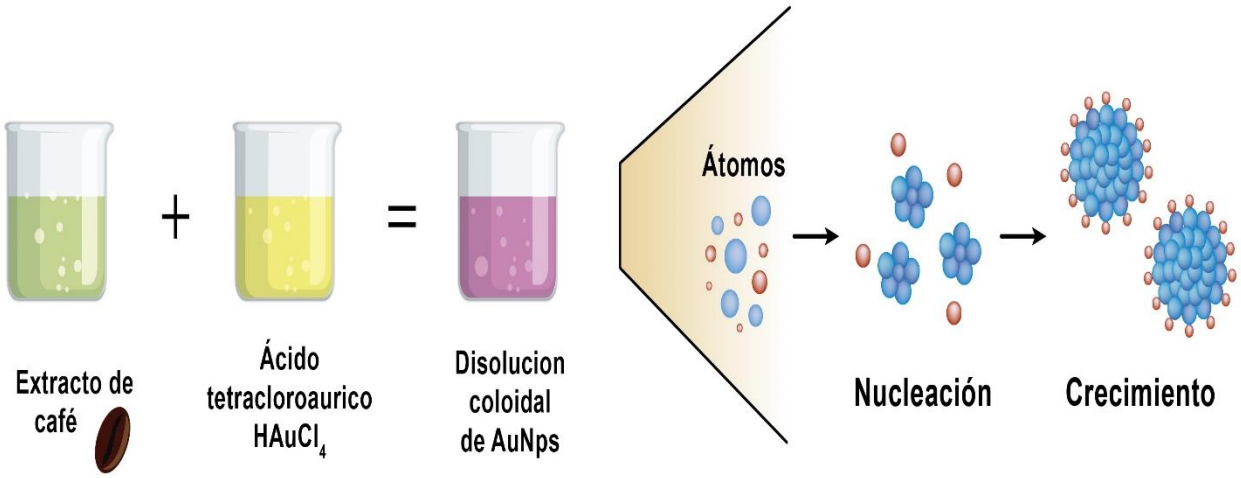


Imagen 5: Diagrama de síntesis de nanopartículas de oro con extracto de café por método de reducción química o método de Turkevich.

6.5 Caracterización de las nanopartículas

La caracterización de las nanopartículas se realizó posteriormente a su síntesis y nos ayudó a obtener información de las características fisicoquímicas de las nanopartículas; como tamaño, densidad, concentración y que grupos funcionales provenientes del extracto, quedaron conjugados o recubriendo las nanopartículas. Se aplicaron dos técnicas espectroscópicas para la caracterización: UV-Vis y FTIR y una técnica de microscopía electrónica de barrido SEM.

6.5.1 Caracterización por espectroscopía UV-Vis

Este tipo de caracterización nos permite obtener el tamaño, la concentración y la densidad de nuestra síntesis de nanopartículas es decir las cualidades físicas. Se utilizo un espectrofotómetro UV-Vis, modelo GENESYS 50, de la marca Thermo Scientific™ (imagen 6) para medir las muestras, para posteriormente procesar los datos obtenidos con ayuda de los modelos matemáticos de Haiss (Haiss *et al*, 2007), que nos proporcionan un método sencillo para saber el tamaño de partícula, la concentración y la densidad.

Imagen 6**:** Espectrofotómetro UV-Vis, modelo GENESYS 50, de la marca Thermo Scientific™.

6.5.1.1 Modelo matemático de Haiss

La primera ecuación de este modelo utiliza los cocientes de las absorciones máxima (plasmón) y mínima del espectro UV-Vis de las AuNPs. Utiliza un mínimo local como punto de referencia para todos los espectros en 450nm (A450) así como las propiedades del oro que son constantes B_1= XXX y B_2=XXX que nos permiten calcular el tamaño de partícula (d) en una solución de oro coloidal:

$$d = \exp\left(B_1 \frac{Aspr}{A450} - B_2\right)$$

Ecuación 1: Modelo matemático de Haiss para obtener el tamaño de partícula, donde d=tamaño de partícula, B1 y B2= propiedades del oro, Aspr=Absorbancia del plasmón, A450=Absorbancia a 450nm

La segunda ecuación nos permite obtener la densidad (N) de las nanopartículas a partir de la primera ecuación y conocer la concentración de nanopartículas presente en las síntesis:

$$N = \frac{A450\ x\ 10^{14}}{d^2\left[-0.295 + 1.36\ \exp\left(-\left(\frac{d - 96.8}{78.2}\right)^2\right]\right.}$$

Ecuación 2: modelo matemático de Haiss para obtener la densidad de las nanopartículas, donde N= densidad de nanopartículas, d= tamaño de nanopartícula, A450= Absorbancia a 450nm y los números equivalen a derivados de los parámetros del oro.

Una vez realizados los cálculos, se analizaron y graficaron los resultados obtenidos con el programa Origin (Pro) versión 6. Estos resultados permitieron visualizar de una mejor manera si existe alguna variación o diferencia entre los agentes reductores (extractos de café), así como caracterizar y evaluar la uniformidad de las nanopartículas obtenidas.

6.5.2 Caracterización por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Imagen 7: Espectrómetro modelo Vertex 70 de la marca Bruker Optics con un sistema de reflexión total atenuada (ATR)

El análisis por FTIR nos permitió obtener la composición química de las nanopartículas, principalmente para identificar algunos de los grupos funcionales conjugados a la nanopartícula a partir de una pequeña cantidad (monocapa) de

muestra, gracias al efecto amplificador de la nanopartícula, que nos permite detectar en este caso a los extractos que la recubren de forma equiparable al extracto sin sintetizar para poder atribuir ciertas cualidades propias del extracto y afirmar su presencia.

Para la caracterización de las muestras por FTIR se utilizó un espectrómetro de la marca Bruker Optics, modelo Vertex 70 con un sistema de reflexión total atenuada (ATR) en el cual se leyeron las muestras por separado de cada extracto de café (Juan Valdez y Artesanal) al igual de las nanopartículas sintetizadas con estos extractos (AuNPJV y AuNPA), se colocó una microgota sobre el cristal ATR y se esperó a que se secara, se prosiguió a leer el espectro para posteriormente extraer todos los datos y analizarlos con el programa Origin (Pro) versión 6.

6.5.3 Caracterización por microscopia electrónica de barrido (SEM)

Se seleccionaron las muestras de nanopartículas con espectro de absorción UV-Vis más simétrico, los cual nos garantiza la homogeneidad de las nanopartículas, y posteriormente se inmovilizo una gota de este coloide en sustrato de silicio monocristalino, dejándose secar para ser analizadas en el microscopio electrónico de barrido (SEM) del Cinvestav-Querétaro.

.

7. Resultados

7.1 Extractos

Se elaboraron los extractos acuosos de café colombiano orgánico Juan Valdez y café colombiano orgánico artesanal y se corroboró que no tuvieran presencia de bacterias y se almacenaron en frascos ámbar a temperatura de 4°C.

Imagen 8: Extracto de café JV en rotavapor

7.2 Pruebas Fitoquímicas

Se realizaron las pruebas fitoquímicas y todos los resultados se recopilaron en la siguiente tabla (2) donde se puede apreciar de forma cualitativa siendo a mayor número de (+) la intensidad en la coloración o la reacción indicándonos la presencia en cada prueba fitoquímica. También se puede observar que ambos cafés no presentaron actividad en antraquinonas y terpenos lo cual no significa la ausencia parcial de los metabolitos, también puede interpretarse como una baja cantidad de estos mismos. Mientras que, para los demás metabolitos como alcaloides, antronas, cumarinas, esteroides, fenoles, saponinas y flavonoides se observa la presencia o actividad de estos en las muestras vegetales de café y se puede apreciar la presencia de los tres grupos de metabolitos: fenoles (fenoles, antronas, flavonoides y cumarinas), terpenoides (esteroides y saponinas) y alcaloides.

Tabla 3: Pruebas fitoquímicas realizadas en 2 variedades de café (JV y A)

Pruebas Fitoquímicas	Extractos	
	Café JV	Café A
Alcaloides	+++	+++
Antraquinonas	-	-
Antronas	+++	+++
Cumarinas	++	+
Esteroides	+++	+++
Fenoles	++	++
Flavonoides	+++	+++
Saponinas	-	+
Terpenos	-	-

Alta presencia: +++, presencia mediana: ++, baja presencia: + y sin presencia: -

7.3 pH

Se midió el pH a los extractos previamente elaborados con las dos variedades de café, la medición se realizó con tiras reactivas de pH y con un potenciómetro. Se puede observar en la tabla 3 que los extractos de café tuvieron un pH ácido de 5 y para potenciómetro ligeramente más ácido para el extracto de café JV (Juan Valdez) con un pH de 4.9, el extracto de café artesanal no tuvo variaciones en ambas mediciones.

Tabla 4: pH de extractos de café

Extracto	pH	
Café JV	5	4.9
Café A	5	5
	Tiras	Potenciómetro

7.4 Extractos liofilizados

Los extractos obtenidos llevaron un proceso de liofilización, no solo para conservar por mayor tiempo las cualidades del extracto y su forma de almacenamiento, también porque para la técnica de síntesis de nanopartículas se requiere una concentración específica. Al momento de liofilizar (imagen 9), su rendimiento fue

para 90 mL de extracto se obtuvo 2.4 gr de peso seco de extracto liofilizado de café (cualquier variedad usada).

Imagen 9: Liofilización de extractos de café A y JV.

7.5 Síntesis de nanopartículas

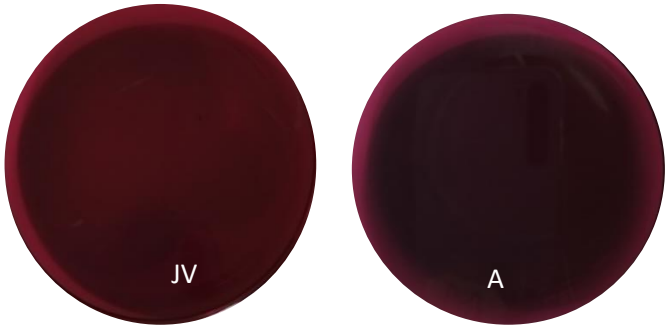


Imagen 10: Síntesis de AuNP de oro sintetizadas con extracto de café Juan Valdez (izquierda) y Artesanal (derecha) al 1%.

Se realizó la síntesis de nanopartículas de oro mediante el método de reducción química, utilizando como agentes reductores a los extractos de café liofilizados por separado (Juan Valdéz y Artesanal respectivamente), vigilando que las diferentes variables de temperatura, agitación y tiempo fueran uniformes para cada síntesis que se llevó a cabo.

Se realizaron un total de veinte síntesis, diez para cada variedad de café JV y A, durante cada síntesis se observó que al agregar el agente reductor (extracto JV) y (extracto A) respectivamente, fue casi instantáneo en un lapso no mayor a un minuto el cambio de coloración de la solución coloidal, la cual presentó una coloración vino (JV) y guinda (A), (imagen 10). Este tipo de síntesis con extracto de café posee cierta similitud con la sintesis estándar utilizando citrato de sodio como agente reductor. Lo que indica que el extracto de café también es una buena opción como agente reductor para sintetizar nanopartículas. Posteriormente se realizó el lavado de las nanopartículas y su preparación para realizar la caracterización (imagen 11).

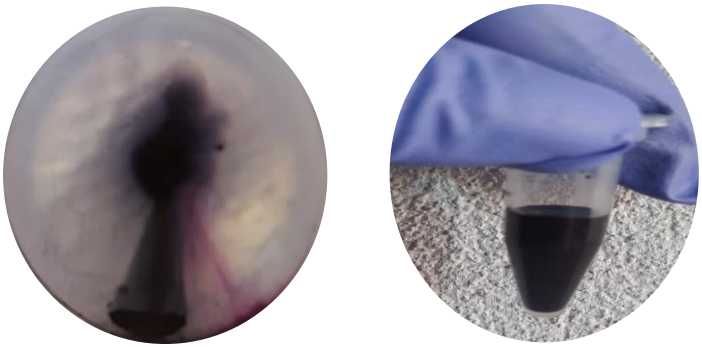


Imagen 11: AuNPJV despues de centrifugarse y retirar el sobrenadante (izquierda), a la derecha se observan ya almacenadas en tubos eppendorf.

7.6 Caracterización de las AuNPJV y AuNPA

La caracterización se realizó con dos técnicas de espectroscopía y una de microscopía para determinar el tamaño, concentración, densidad y composición del extracto y el conjugado de las AuNP, lo que permitió hacer una evaluación de las nanopartículas obtenidas y la eficiencia del extracto como agente reductor, además de corroborar si se encuentra presente el extracto recubriendo las nanopartículas y los grupos funcionales que lo conforman.

7.6.1 Caracterización por espectroscopia UV-Vis

Los datos obtenidos mediante espectroscopia de UV-Vis fueron analizados con el programa Origin (Pro)6, el cual nos permitió obtener y analizar los siguientes

espectros UV-Vis. En la figura 1 se observa el espectro resultante de la síntesis de AuNP´s con café artesanal donde diversas síntesis producen espectros similares, lo cual indica la reproducibilidad de la técnica. En esta figura se pueden observar tres características, la intensidad: la cual se asocia a la densidad de nanopartículas, longitud de onda: asociada al tamaño de la partícula, tomando como indicativo al pico que se encuentra en 540 nm y por último el ancho medio: asociado a la uniformidad del tamaño de las partículas o monodispersidad.

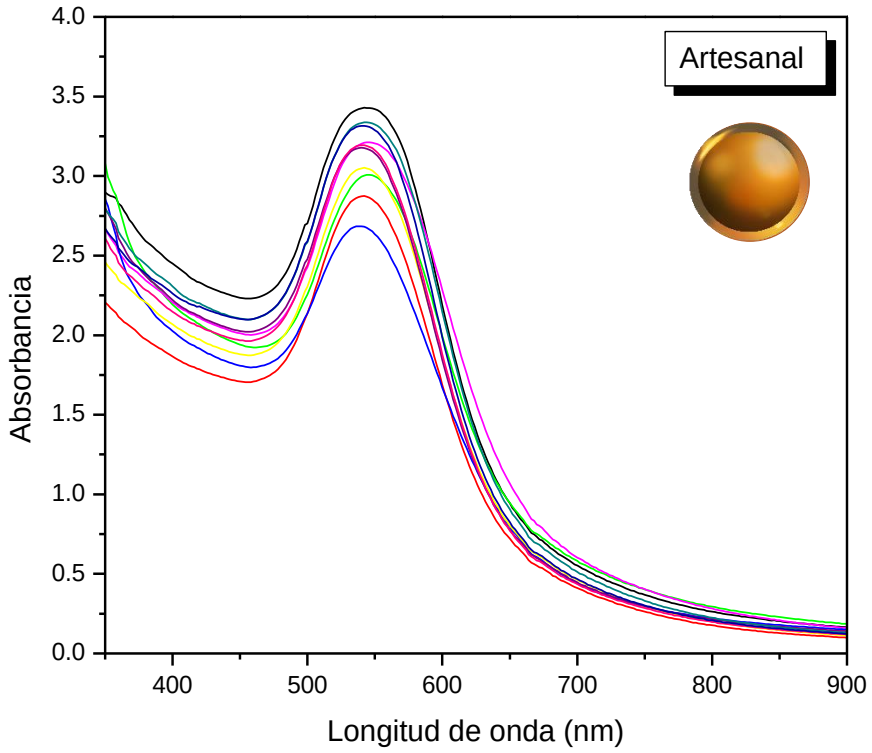


Figura 1: Espectros UV-Vis de AuNPA´s.

En la figura 2, se muestra el espectro UV-Vis de nanopartículas de oro sintetizadas con café JV como reductor, donde son observadas algunas diferencias entre las síntesis realizadas, principalmente en la intensidad, longitud de onda del máximo de absorción (plasmón) y ancho medio espectral. En algunos casos la densidad de partículas es mayor que en otros, las diferencias entre la posición de los máximos indica diferente tamaño promedio de partícula, y finalmente el ancho medio: nos indica que hay polidispersidad (varios tamaños de nanopartículas) debido al ancho del pico de los espectros y su posición.

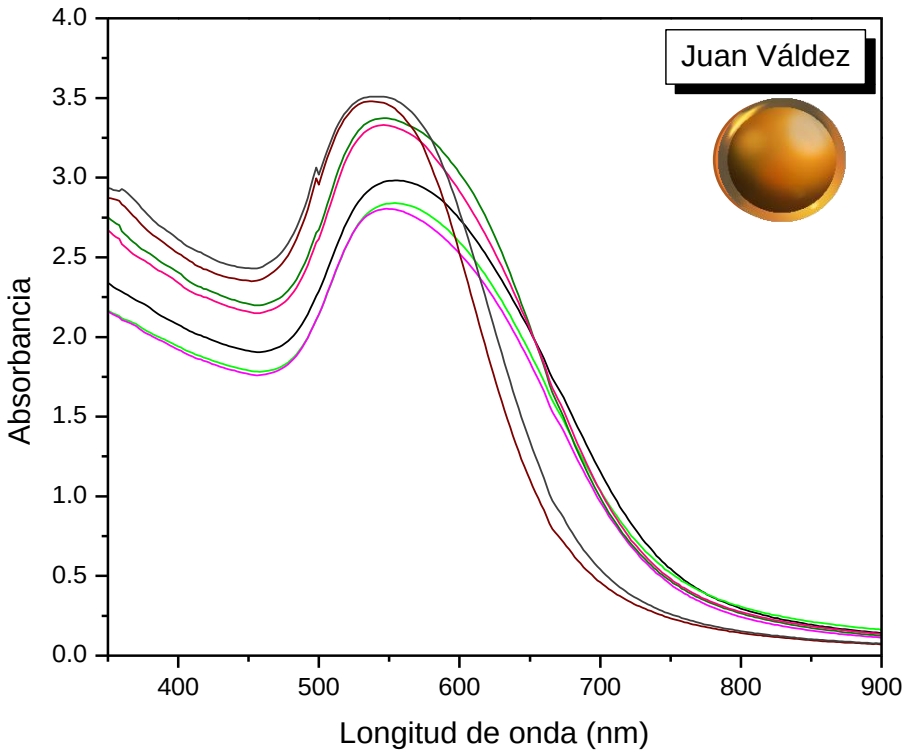


Figura 2: Espectros UV-Vis de AuNPJV´s.

Los datos obtenidos de las síntesis de nanopartículas con ayuda del espectrofotómetro UV-Vis se procesaron y analizaron con ayuda del programa Origin (Pro) versión 6, posteriormente con este programa se recopilaron en la tabla 4, para calcular el tamaño y densidad de partícula con ayuda del modelo matemático de Haiss. Todos estos datos se graficaron para una mejor interpretación.

Para las variables del modelo matemático de Haiss las absorbancias: Aspr y A450 de la tabla 3, se tomaron directamente de cada espectro obtenido con el programa Origin (Pro) 6 y, con los datos de la tabla se realizaron dos graficas (figura 3 y 4) que nos permiten saber el tamaño promedio de partícula (d) y la densidad de nanopartículas (N).

Tabla 5: Tamaño y densidad de partícula con el modelo de Haiss

Código de la muestra	Absorbancia máxima (Aspr)	A450	B1	B2	$d1 = \exp[(B1 * \frac{Aspr}{A450}) - B2]$ Tamaño de partícula	$d12 = \frac{(d1 - 96.8)}{78.2}$	d12^2	$N1 = A450 * 10^2 * \frac{1}{d1^2(-0.295 + (1.36\exp(-d12^2))}$ Densidad de partícula
aunpjv2	1.9025503	1.170215	3	2.2	14.54775575	-1.05181898	1.10632317	3.57075E+12
aunpjv3	2.83890969	1.793987	3	2.2	12.77353286	-1.074507252	1.15456584	8.22587E+12
aunpjv4	2.3569256	1.47672	3	2.2	13.30532685	-1.067706818	1.13999785	5.96018E+12
aunpjv5	2.98363	1.91283	3	2.2	11.93405999	-1.0852422	1.17775063	1.08452E+13
aunpjv6	2.98303697	1.916823	3	2.2	11.80734023	-1.086862657	1.18127043	1.12359E+13
aunpjv7	2.80451568	1.772695	3	2.2	12.75838717	-1.074700931	1.15498209	8.15844E+12
aunpjv8	3.36628451	2.211394	3	2.2	10.66252688	-1.101502214	1.21330713	1.78109E+13
aunpjv10	3.32697707	2.1646	3	2.2	11.1449	-1.09533376	1.19975604	1.51905E+13
aunpjv11	3.4749649	2.357277	3	2.2	9.229748028	-1.119824194	1.25400623	2.97258E+13
aunpjv12	3.50877398	2.440805	3	2.2	8.270076669	-1.132096206	1.28164182	4.32519E+13
aunpa1	3.42805335	2.23504	3	2.2	11.03786398	-1.096702507	1.20275639	1.61634E+13
aunpa2	3.00397754	1.942677	3	2.2	11.46072176	-1.091295118	1.19092503	1.24962E+13
aunpa3	3.21396818	2.013687	3	2.2	13.30557813	-1.067703604	1.13999099	8.12695E+12
aunpa4	2.68464	1.80835	3	2.2	9.523282567	-1.116070555	1.24561348	2.06926E+13
aunpa5	3.05252691	1.880323	3	2.2	14.44310511	-1.053157224	1.10914014	5.86895E+12
aunpa6	3.17711745	2.027726	3	2.2	12.18875096	-1.081985282	1.17069215	1.07634E+13
aunpa7	3.33670561	2.112282	3	2.2	12.66706543	-1.075868729	1.15749352	9.94204E+12
aunpa8	2.87327841	1.704319	3	2.2	17.42040453	-1.015084341	1.03039622	2.9506E+12
aunpa9	3.19214613	1.960671	3	2.2	14.64745409	-1.050544065	1.10364283	5.85589E+12
aunpa10	3.30755853	2.102657	3	2.2	12.41758147	-1.07905906	1.16436846	1.05313E+13

*B1 y B2 son propiedades el oro

En las siguientes figuras (3 y 4), se puede observar que a mayor tamaño de nanopartícula menor es la densidad de partículas (partículas por mL), es decir partículas grandes implican una dispersión coloidal con baja densidad y a partículas más pequeñas hay mayor densidad o cantidad de nanopartículas por mL, por lo tanto, para las nanopartículas sintetizas con extracto de café artesanal, su tamaño de nanopartículas está en un intervalo de 9.5 nm a 17.5 nm, su producción de nanopartículas más alta que corresponde para el tamaño de nanopartícula de 9.5 nm es de 2.10E+013 partículas/mL. Mientras que en la figura 4 se observa que utilizando café JV como reductor, se genera un tamaño de partícula en un rango de 8.4nm a 14.5nm y una producción para su tamaño de partícula menor en 8.4nm de 4.5E+013 partículas/mL, por lo cual a pesar de presentar polidispersidad, podemos decir que hay un tamaño de partícula dominante que son las de interés. Comparando ambas figuras podemos observar que las síntesis de café JV tienen un menor tamaño de partícula siendo su rango más reducido que las síntesis de

café A y que las síntesis con café JV tienen el doble de producción de nanopartículas que las sintetizadas con café A; esta doble producción puede deberse a grupos funcionales presentes o en mayor cantidad en el café JV.

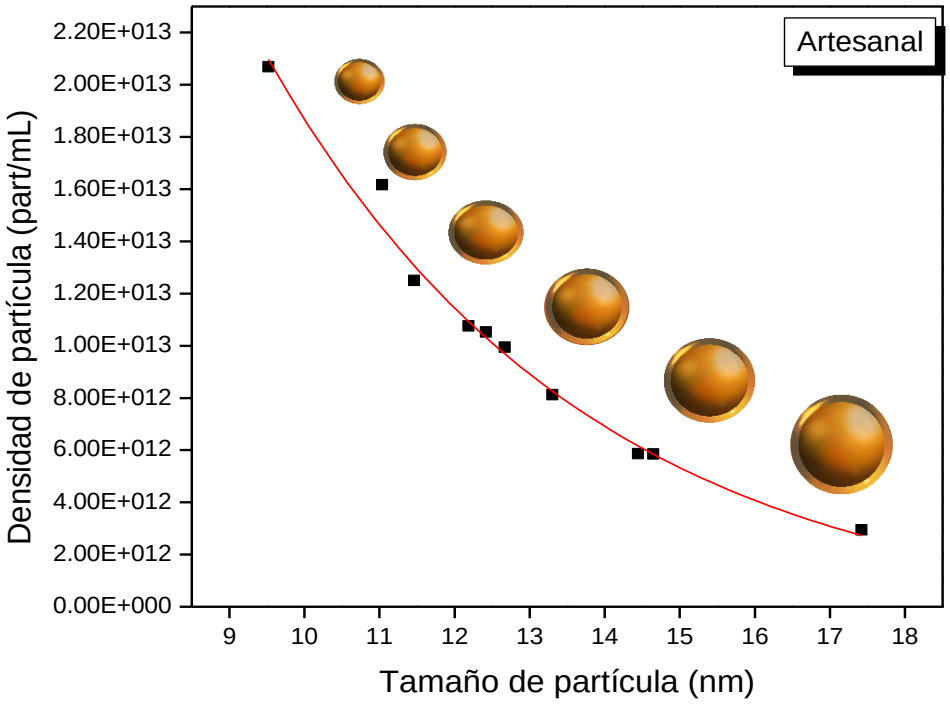


Figura 3: Dependencia funcional de la densidad de AuNPAs, con el tamaño de partícula.

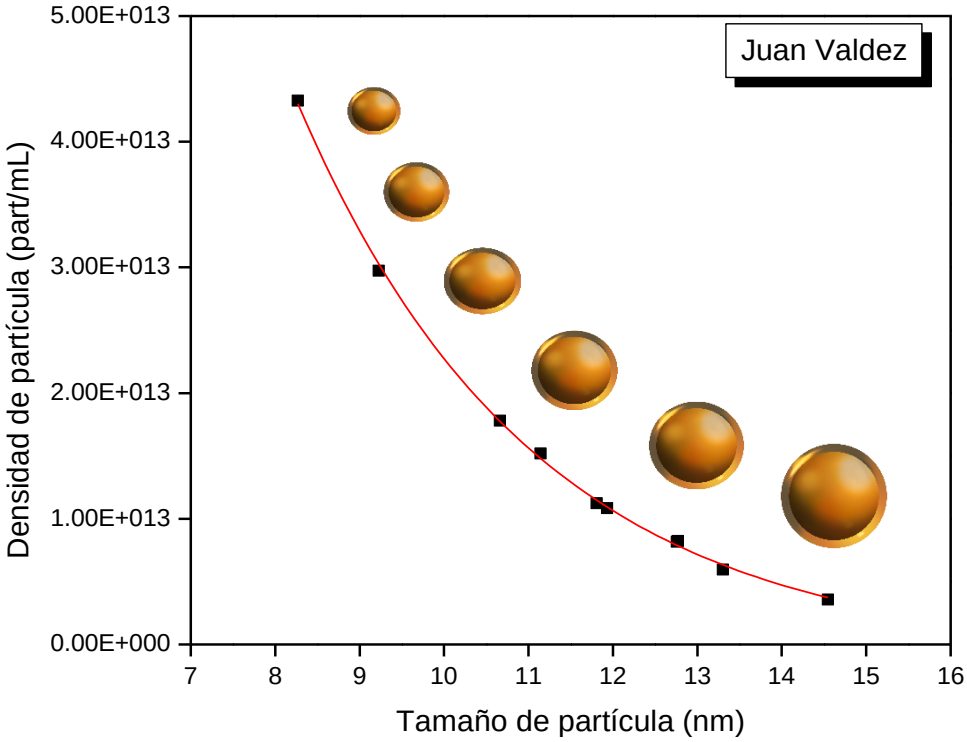


Figura 4: Dependencia funcional de la densidad de AuNPJVs, con el tamaño de partícula.

7.6.2 Caracterización por espectroscopía FTIR

Los datos que se obtuvieron en el espectrómetro de FTIR, fueron procesados con el programa Origin (Pro) 6, donde se graficaron los espectros obtenidos de cada síntesis y de cada extracto, para comparar no solo la presencia de grupos funcionales en cada uno, si no para observar que grupos o que partes de nuestro extracto se encuentran recubriendo o conjugados a las nanopartículas los cuales se señalaron dentro de cada espectro FTIR. Cabe resaltar que para algunos picos hay uno o más grupos funcionales que coinciden por lo cual se consideró el que tuviera mayor reporte bibliográfico. También se graficaron los espectros de las síntesis de nanopartículas con un su respectivo extracto de café, para poder comparar entre ellos y posteriormente se realizaron comparaciones entre las mismas síntesis y los mismos extractos con el fin de poder observar las diferencias y similitudes entre ellos.

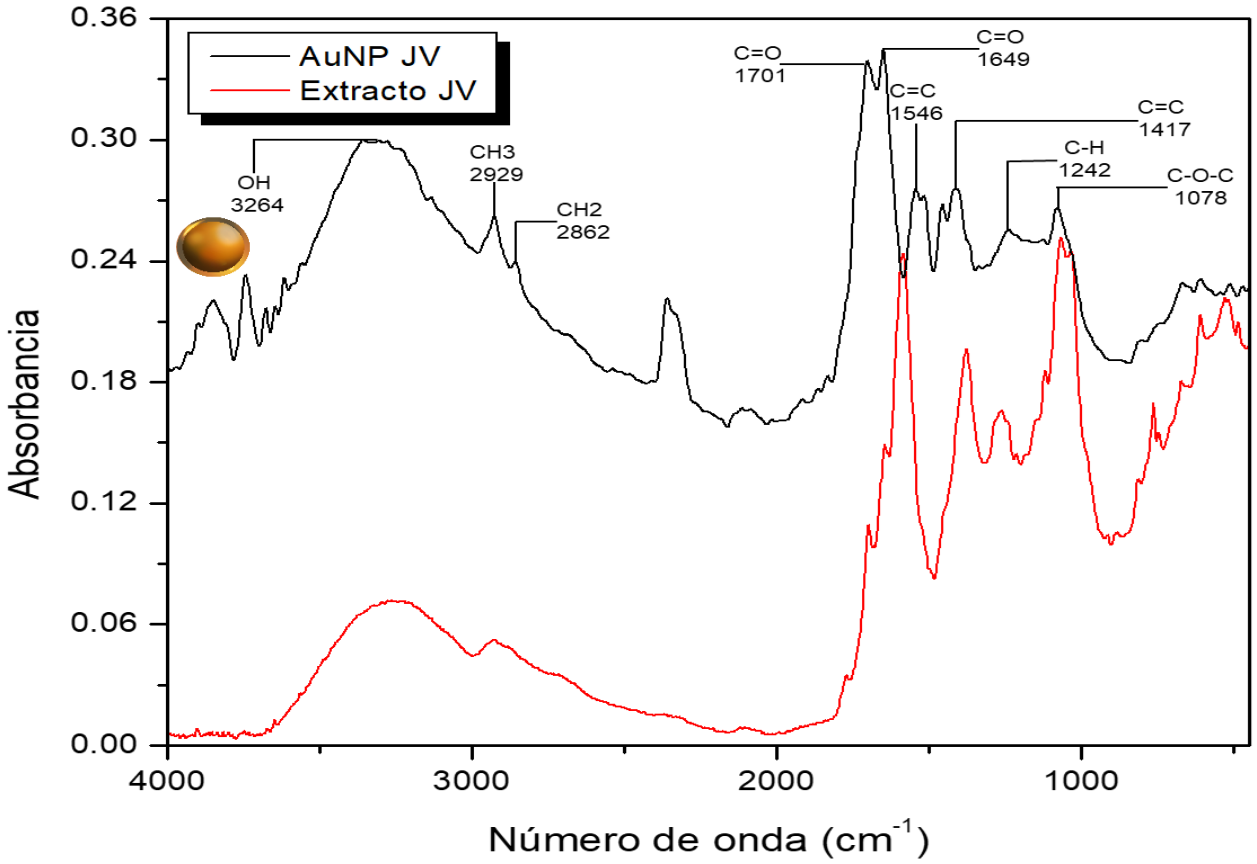


Figura 5: Espectro FTIR de AuNPJV y del extracto de café JV, resaltando los grupos funcionales más importantes.

En la figura 5 se observa el espectro FTIR resultante de la síntesis de AuNP's con el extracto de café JV, donde se resaltan los picos más importantes que indican la presencia de grupos funcionales conjugados a la superficie de la nanopartícula (línea negra), algunos de estos picos a su vez coinciden con el espectro del extracto de café JV que se encuentra en color rojo. Los picos que se encuentran en los números de banda: 1242 y 1417cm^{-1}, coinciden con la huella digital (fingerprint) para ácidos clorogénicos (Keijok *et al,* 2019), mientras que los picos con numero de banda en: 1649 y 1701cm^{-1}, coinciden con el fingerprint para cafeína (Keijok *et al,* 2019). Por lo tanto, se corrobora que el extracto no solo sirvió de agente reductor, sino que también estabiliza y se encuentra adherido a la nanopartícula, además de la presencia de dos compuestos importantes: la cafeína y los ácidos clorogénicos.

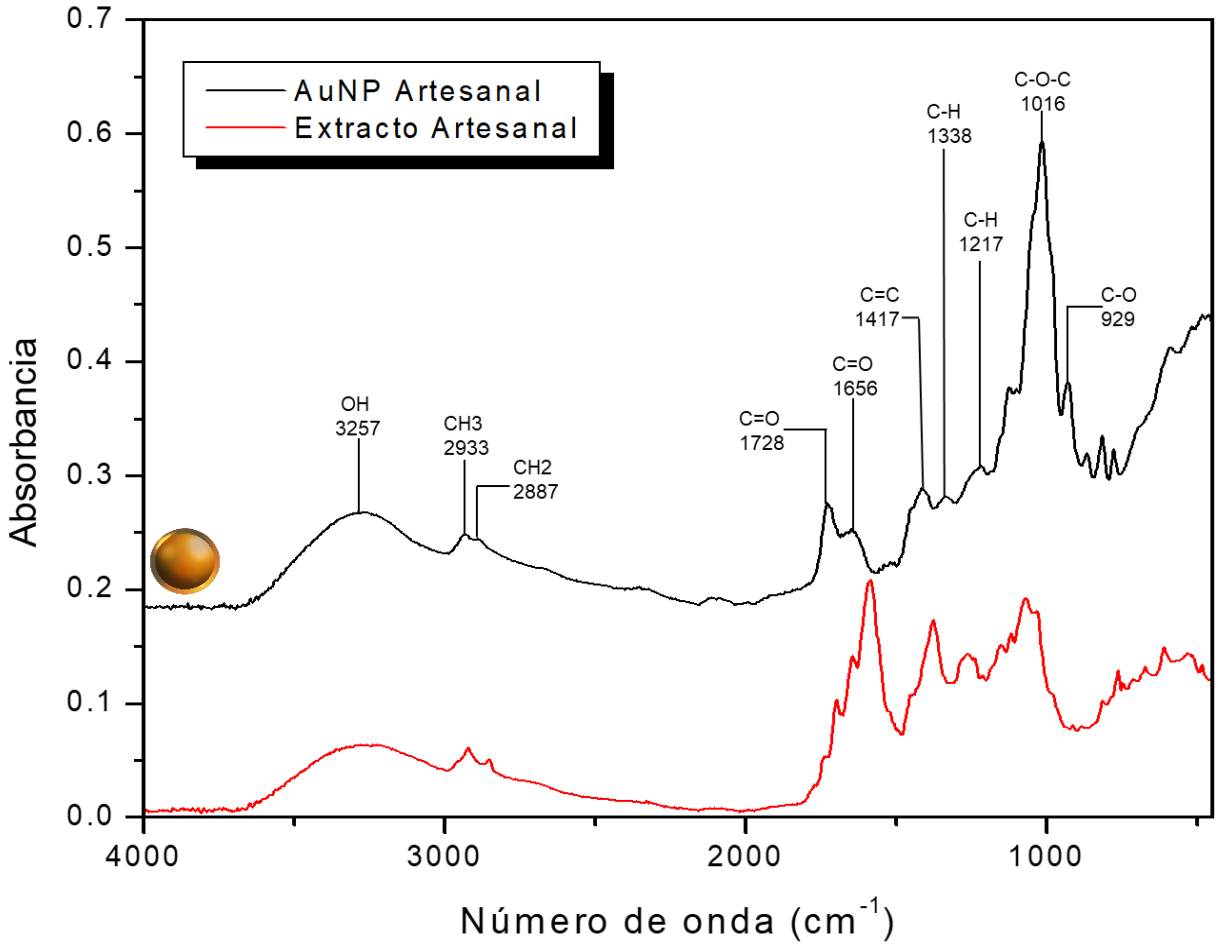


Figura 6: Espectro FTIR de AuNPA y del extracto de café A, resaltando los grupos funcionales más importantes.

En la figura 6, se muestra el espectro FTIR correspondiente al extracto de café artesanal (línea roja) y la síntesis de AuNPA (línea negra). Se puede observar al igual que en el caso anterior, el número de banda de los picos detectados tienen cierta cercanía con los números de banda del extracto. Al igual que el espectro anterior se encuentran picos que coinciden con los reportados para cafeína (1650-1700cm^{-1}) y para ácidos clorogénicos (1150-1400 cm^{-1}). Los números de banda que se encuentran en 1728 y 1656 cm^{-1} pertenecen a la cafeína, mientras que los números de banda centrados en 1417, 1338 y 1217 cm^{-1} pertenecen a ácidos clorogénicos. También se observa la presencia de agua ligada alrededor de 3257 cm^{-1} y algunos autores coinciden en que las bandas en 2933 y 2887 cm^{-1} también pertenecen a la cafeína. Por lo tanto, también se afirma la presencia de cafeína y ácidos clorogénicos provenientes del extracto los cuales se encuentran recubriendo a la nanopartícula.

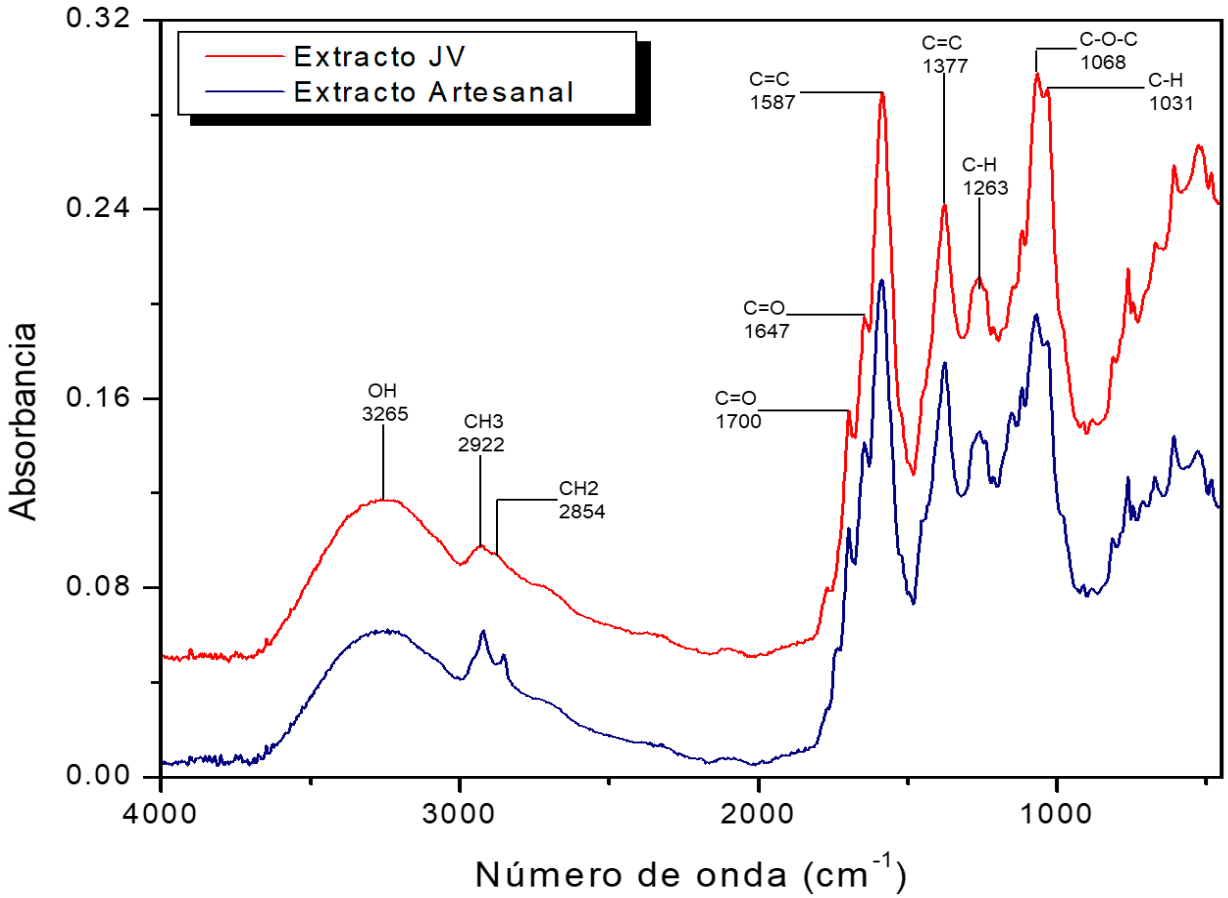


Figura 7: Espectro FTIR de extracto JV y A, resaltando los grupos funcionales importantes.

En la figura 7, se hizo la comparación entre los espectros de ambos extractos de café (JV: línea azul y A: línea roja), donde se observa que las bandas de absorción coinciden en su mayoría, también se observa que el extracto artesanal tiene algunas bandas con mayor nitidez, lo cual puede deberse a que tiene una menor variedad de compuestos afines, mientras que JV tiene una mayor variedad de compuestos por lo cual algunas de sus bandas no son tan nítidas. El espectro FTIR reportado para cafeína coincide para las bandas 2922, 2854, 1647 y 1700 cm^{-1}, mientras que el reportado para ácidos clorogénicos coincide con las bandas en 1263, 1377 cm^{-1}; otros autores han reportado que para ácidos clorogénicos también coinciden con los números de banda en 1068 y 1031 cm^{-1}.

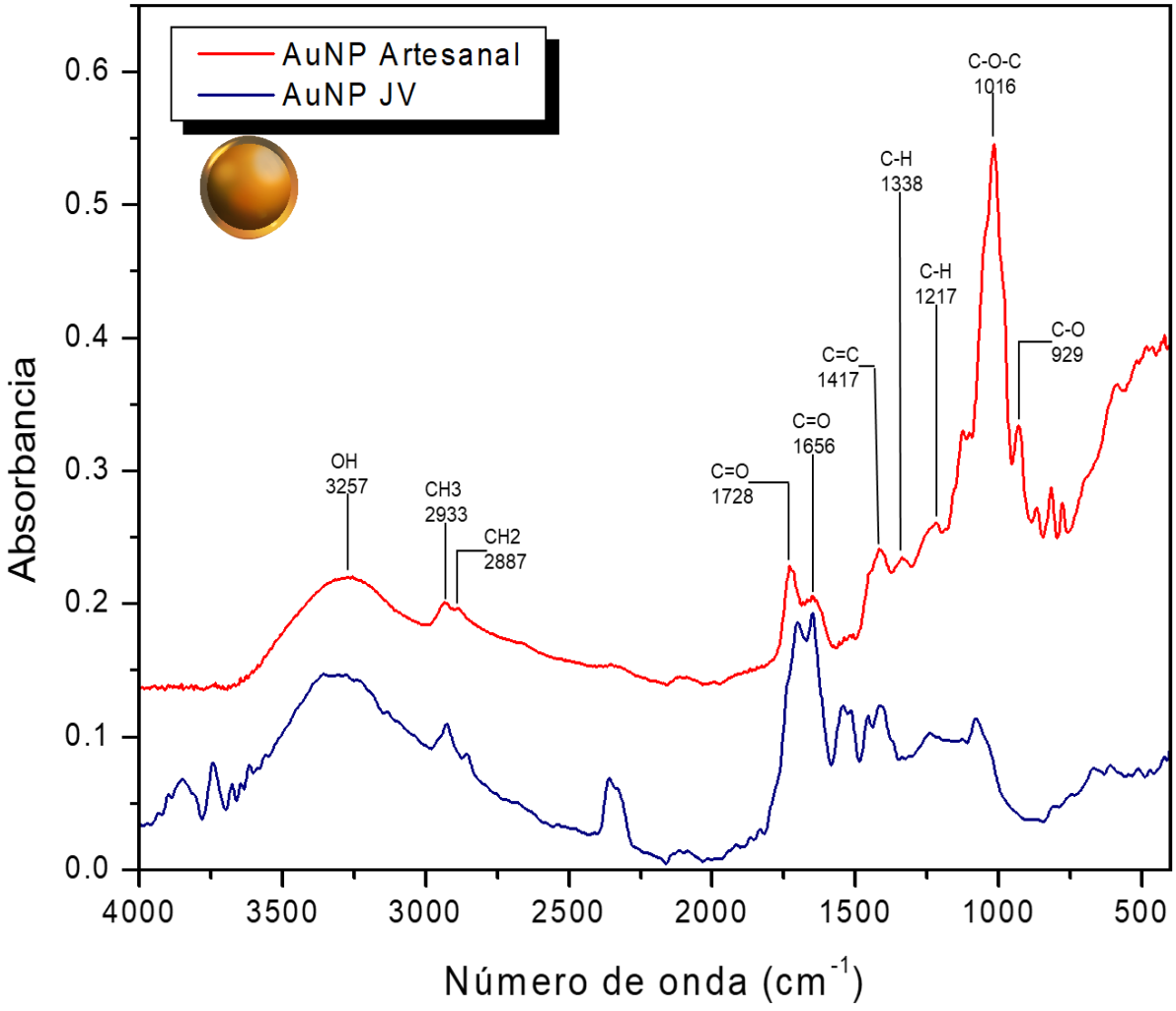


Figura 8: Espectro FTIR de AuNPA y AuNPJV, resaltando los grupos funcionales más importantes.

En la figura 8, se muestra la comparación de espectros entre ambas síntesis de nanopartículas AuNPA (línea roja) y AuNPJV (línea azul), en los cuales se observan diferencias en los picos ubicados en 1728 cm^{-1},1656,1217, 1016 y 929 cm^{-1}, algunos son más pronunciados como el pico 1016 cm^{-1} en café artesanal o los picos de 1728 y 1656 cm^{-1} en café JV. Además, ambas síntesis presentan una fuerte definición en sus picos, al igual que se observan más picos en la región de 1750 a 1000 cm^{-1} en AuNPJV y para AuNPA hay mayor expresión de picos en la región de 1500 a 750 cm^{-1} lo cual indica que en ambas síntesis se conjugaron grupos funcionales de los respectivos extractos pero en diferente cantidad, excepto por los picos que se encuentran en la zona de 1750 a 1250 cm^{-1} que corresponden a la cafeína en AuNPJV, los cuales podrían ser los responsables de la doble producción de nanopartículas durante la síntesis, que a comparación de AuNPA no se encuentran presentes o con esa intensidad.

La Tabla (4) muestra el número de banda, modo de vibración y su referencia de los picos FTIR observados en los extractos, AuNPA y AuNPJV. Se ordenaron los números de banda que corresponden para los extractos y las síntesis de nanopartículas, si había ausencia o presencia de estas bandas en las síntesis y que tanto se recorría, así como el desplazamiento de la posición “original” del extracto.

Posteriormente se realizó una búsqueda bibliográfica para localizar los grupos funcionales y el compuesto a los cuales pertenece cada banda, así como su modo de vibración de cada grupo, con el fin de poder detectar más fácil las diferencias entre cada síntesis y poder hacer una interpretación de cada espectro.

Como se observa en la tabla 4 los extractos presentaron un total de 15 bandas o picos que se presentaron en los extractos, para la síntesis AuNPJV se observa que hay solo 13 picos y finalmente para la síntesis de AuNPA hay 14 picos, por lo cual ambos extractos se están conjugando a la superficie de la nanopartícula de oro.

Tabla 6: Número de banda y grupos funcionales del extracto y AuNP (A y JV) en FTIR.

Número de banda extracto (cm^{-1})	Número de banda AuNPJV (cm^{-1})	Número de banda AuNPA (cm^{-1})	Grupo funcional	Compuesto	Modo de vibración	Referencia
3265	3264	3257	OH	Agua	Stretching	Barrios-Rodríguez *et al,* 2021.
2922	2929	2933	C-H	Cafeína	Stretching	Barrios-Rodríguez *et al*, 2021. Dhan *et al*, 2016. Paradkar *et al*, 2002.
2854	2862	2887	C-H	Cafeína	Asymetric Stretching	Barrios-Rodríguez *et al*, 2021. Dhan *et al,* 2016. Paradkar *et al*, 2002.
2100	2117	2113	CHO	Carbohidratos/Ácidos clorogénicos/ Proteínas	Stretching	Barrios-Rodríguez et al, 2021.
1700	1701	1728	C=O	Cafeína/ Aldehídos/ Quetonas/ Compuestos aromáticos	Stretching	Barrios-Rodríguez *et al,* 2021. Keijok *et al*, 2019. Paradkar et al, 2002.
1647	1649	1656	C=O	Cafeína	Stretching	Barrios-Rodríguez *et al,* 2021. Dhan *et al*, 2016. Paradkar *et al*, 2002.
1587	1546	-	C=C/ C=N	Cafeína	Stretching	Keijok *et al*, 2019. Dhan *et al*, 2016. Paradkar *et al*, 2002.
1377	1417	1417	C=C/ COO^-	Ácidos clorogénicos	Stretching	Barrios-Rodríguez *et al*, 2021. Keijok *et al,* 2019. Dhan *et al,* 2016. Paradkar *et al,* 2002.
1263	1242	1338	C-H/ -OH/ C-N	Ácidos clorogénicos/ Sacarosa	Stretching	Barrios-Rodríguez *et al*, 2021. Keijok *et al,* 2019. Dhan *et al*, 2016. Paradkar *et al,* 2002.
1215	-	1217	C-H/ C=O	Ácidos clorogénicos	Stretching	Barrios-Rodríguez *et al*, 2021. Paradkar *et al*, 2002.
1118	1124	1124	C=O	Ácidos clorogénicos/ Arabinogalactanos	Stretching	Barrios-Rodríguez *et al,* 2021. Keijok *et al*, 2019. Dhan *et al*, 2016. Paradkar *et al*, 2002.
1068	1078	1016	C-O-C	Ácidos clorogénicos	Stretching	Barrios-Rodríguez *et al*, 2021.
1031	-	929	C-O/ C=O	Arabinogalactanos	Stretching	Paradkar *et al*, 2002. Dhan *et al,* 2016. Barrios-Rodríguez *et al*, 2021.
813	806	817	C-H	-	Stretching	Keijok *et al*, 2019. Dhan *et al*, 2016.
763	748	779	CHO/ C-X	-	Stretching	Barrios-Rodríguez *et al*, 2021.

Dentro de los principales grupos funcionales que se encontraron en el espectro FTIR de ambos extractos y sus respectivas AuNPs se encuentran la cafeína y ácidos clorogénicos. También se encontró la presencia de agua ligada, de proteínas y carbohidratos como la sacarosa y los arabinogalactanos que son macromoléculas presentes en la mayoría de las plantas.

Todos estos grupos funcionales presentes en los extractos y en las síntesis de nanopartículas corresponden a modos vibracionales stretching o de extensión, esto quiere decir que son lineales o que los átomos están unidos por enlaces simples, dobles o triples se acerca y alejan siguiendo la misma linealidad o dirección, dentro de este modo de vibración hay dos subgrupos de vibración de tensión simétrica y asimétrica, como se observa en la tabla 4 todos los grupos funcionales son simétricos excepto uno en el número de banda 2854 cm^{-1}.

También se observa que los picos en: 763, 1031, 1215, 1263, 1377 y 1587 cm^{-1}, tienen más de un grupo funcional reportado por diferentes autores, lo cual sugiere que si bien pertenecen al mismo compuesto descrito, puede surgir la variación de los grupos por los enlaces que se cancelan o se crean durante la síntesis o que esos grupos funcionales vibran de forma parecida, por lo cual son cercanos, también la presencia de compuestos en cada extracto de café puede variar, además de que para poder separar y distinguir cada grupo debería llevarse a cabo un proceso de separación más fino, que nos permita analizar individualmente cada grupo y los compuestos que contiene cada extracto.

7.6.3 Caracterización por Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Las micrografías obtenidas de las muestras de nanopartículas (AuNPJV y AuNPA) que se analizaron por SEM se realizaron con 3 escalas de amplificación (x50000, x100000 y x150000) como se observa en las imágenes (12, 13 y 14), donde se aprecia que las nanopartículas de oro sintetizadas con las dos variedades de café tienen tamaños similares (monodispersidad) y son esféricas.

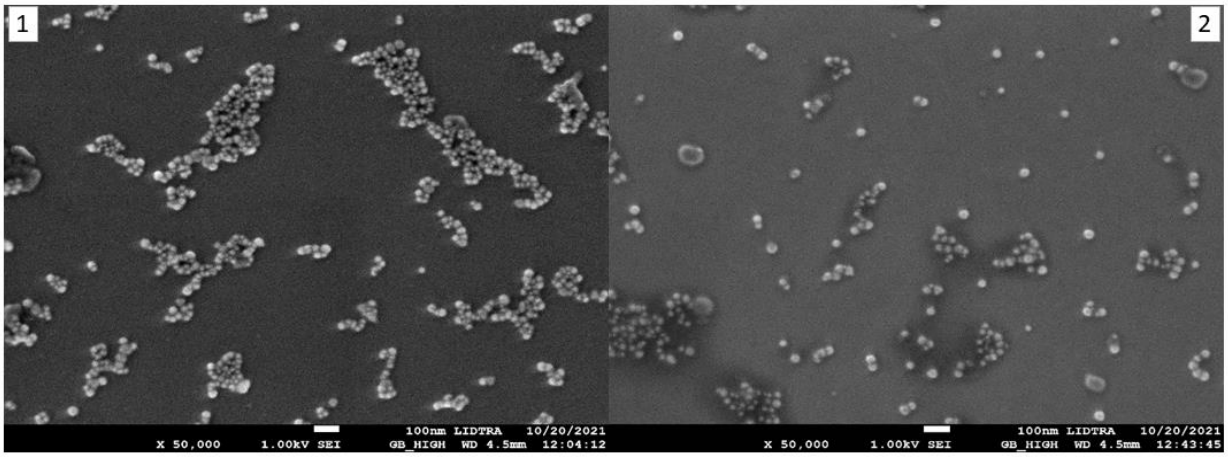


Imagen 12: Micrografías SEM, 1: AuNPJV y 2: AuNPA, aumento x50000.

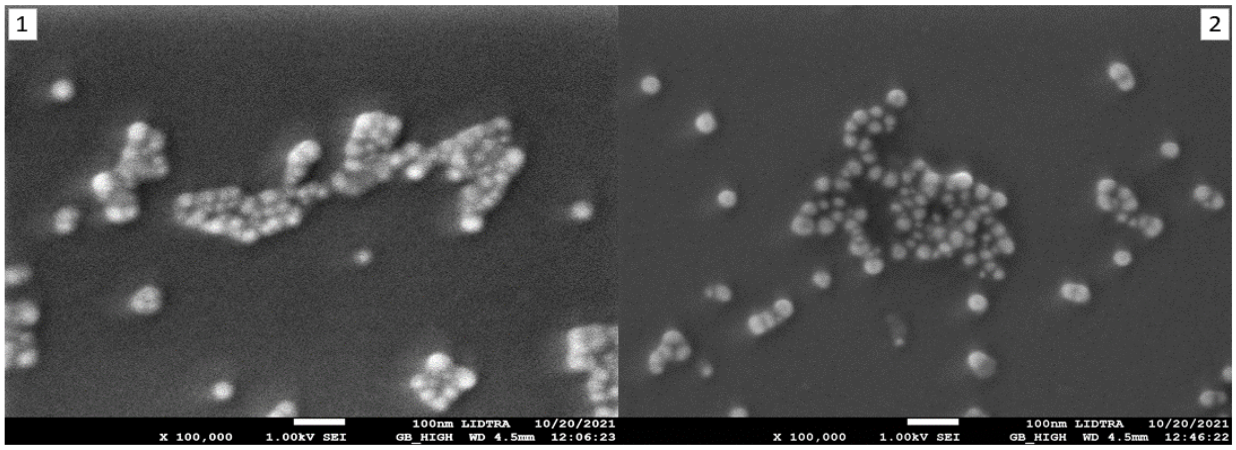


Imagen 13: Micrografías SEM, 1: AuNPJV y 2: AuNPA, aumento x100000.

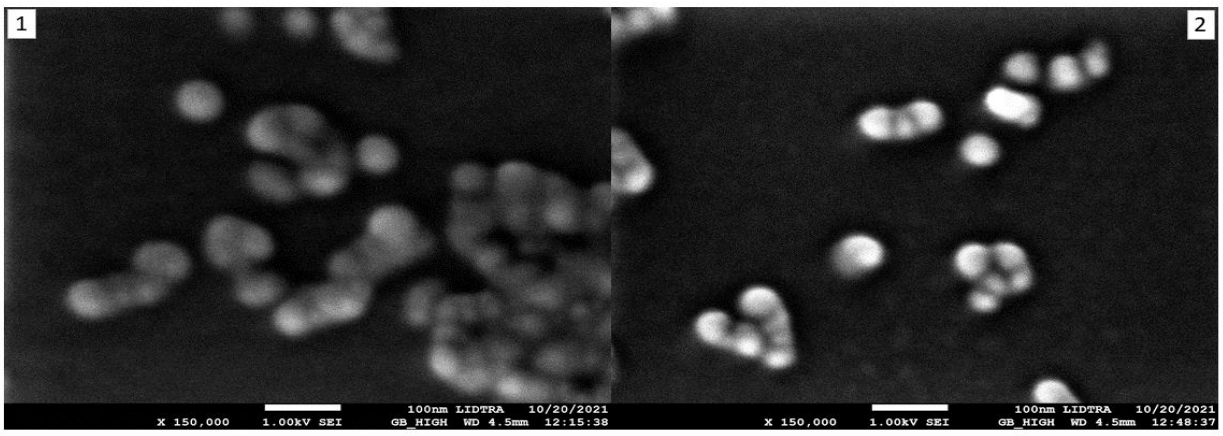


Imagen 14: Micrografías SEM, 1: AuNPJV y 2: AuNPA, aumento x150000.

8. Discusión

Dentro de los resultados anteriormente mencionados hay algunas discrepancias con otros autores, para comenzar durante la síntesis de nanopartículas se utilizó el extracto vegetal de café como agente reductor para reemplazar el uso convencional del citrato de sodio. De acuerdo con varios autores como Keijok *et al,* 2019; realizar síntesis de nanopartículas de oro con extracto de café (grano) es mejor no solo para el medio ambiente sino también la calidad de las partículas producidas es mayor, además de que pueden tener múltiples aplicaciones, mientras otros autores utilizan la pulpa del café como Duangjai *et al,* 2016 y Bonilla-Nepomuceno *et al*, 2021; afirman que hay mayor presencia de metabolitos en la pulpa; Bogireddy *et al,* 2017; utilizan el café verde sin tostar cuyos resultados se asemejan con nuestras síntesis de café JV y se observa que el pH de sus extractos fue de 6.7, mientras que para nuestros extractos el pH fue de 5, es decir nuestros extractos fueron más ácidos que los del autor.

Duangjai *et al,* 2016; también reportan un alto contenido de compuestos fenólicos y alcalinos en los extractos de café, al igual que nuestros resultados de las pruebas fitoquímicas obtenidas pues se observa la alta presencia de alcaloides y fenoles, dicha presencia se ve reflejada en los espectros de FTIR de ambos extractos y síntesis pues la cafeína es un metabolito alcaloide y los ácidos clorogénicos son metabolitos fenólicos.

De acuerdo con los resultados obtenidos mediante espectrofotometría UV-Vis, se pudo observar la monodispersidad de acuerdo con el ancho medio de la banda del plasmón, así como la relación entre las diferentes síntesis que se llevaron a cabo tamaño/concentración. Las realizadas con extracto de café artesanal, compiten con el método tradicional utilizando citrato de sodio como en el estudio que llevo a cabo por Dong *et al,* 2019; en el cual manipularon diferentes variables para observar el tamaño máximo y mínimo de nanopartículas obtenidas las cuales van de 15 nm a 30 nm. Sin embargo, este autor ha reportado la posibilidad de un tamaño máximo con citrato de sodio de 50 nm, mientras que las síntesis obtenidas con extracto de café Juan Valdez se encuentran en un rango de 8.4 a 14.5 nm y las de café artesanal

en un rango de 9.5 a 17.5 nm, en ambas síntesis el tamaño de partícula es relativamente menor al ya reportado. Estas diferencias podrían deberse a la cantidad de metabolitos presentes en cada café, mientras que la variación de tamaño entre las síntesis con café A y JV, puede deberse a este mismo fenómeno que se observa en los espectros de FTIR que muestran los grupos funcionales presentes en cada extracto.

Para los resultados de espectros FTIR se observaron las siguientes bandas o picos de absorción en los extractos de café en 3265, 2922, 2854, 2100, 1700, 1647, 1587, 1377, 1263, 1215, 1155, 1068, 1031, 813 y 763 cm^{-1}, las cuales coinciden para la mayoría de los espectros FTIR de distintos autores como Liang *et al,* 2016. Sin embargo, para la clasificación de los grupos funcionales y los compuestos a los que pertenecen varían según cada autor. Las bandas que coinciden en posición y grupo funcional con los espectros de otros autores son: 3265 cm^{-1} (OH), que es una banda encontrada en todos los extractos acuosos y compuestos vegetales, las bandas de 2854 y 2922 cm^{-1} (C-H) se ha reportado por algunos autores como Barrios-Rodríguez *et al,* 2021; que estas bandas pertenecen a la cafeína, mientras que otros solo hacen mención del grupo funcional y el número donde se encuentra cada banda. Para la banda en 2100 cm^{-1} (CHO), no se encuentra presente en ningún otro espectro de cafeína o extracto perteneciente a la cafeína, solo Barrios-Rodríguez *et al*, 2021; coinciden en su espectro con una banda en 2113 cm^{-1}, en la cual mencionan que puede pertenecer a varios grupos como carbohidratos, proteínas y ácidos clorogénicos.

Posteriormente en las siguientes bandas del extracto en 1700 y 1647 cm^{-1}, las cuales si aparecen en todos los espectros revisados de otros autores corresponde el grupo C=O, pero hay una controversia entre a que compuesto pertenece, según los números de banda para cafeína son las bandas de 1600 a 1700 cm^{-1}, información con la que coinciden Barrios-Rodríguez *et al, 2021;* Paradkar *et al*, 2002 y Keijok *et al,* 2019. Aunque Dhand *et al*, 2016; mencionan que las bandas equivalentes a 1550-1750 cm^{-1}, también pertenecen a la cafeína debido a que los espectros suelen tener ligeros desplazamientos según diversos parámetros.

Mientras que para las bandas de 1400 a 1150 cm^{-1}, es el fingerprint para corresponder a ácidos clorogénicos. Sin embargo, autores como Barrios-Rodríguez *et al,* 2021; Paradkar *et al,* 2002; Keijok *et al,* 2019 y Dhand *et al,* 2016; sugieren que las bandas pertenecientes de 1150 a 1000 cm^{-1}, también pertenecen a ácidos clorogénicos. Y algunas bandas específicas como 1031 y 1118 cm^{-1}, pertenecen a arabinogalactanos según reportan Barrios-Rodríguez *et al,* 2021 y Dhand *et al,* 2016; la banda en 1263 cm^{-1} también se ha reportado como sacarosa por Barrios-Rodríguez *et al,* 2021.

Dentro de los grupos funcionales hay ciertas discrepancias en su clasificación para la banda en 1587 cm^{-1}, pues Dhan *et al, 2016;* entre otros autores la ubican como un grupo C=C, pero Paradkar *et al,* 2002; como C=N, la siguiente banda en 1377 cm^{-1} está reconocida como un grupo C=C, pero Dhan *et al, 2016;* mencionan que el grupo correcto es COO-, motivo por lo cual se trata de dar relevancia al número de autores que coinciden con un grupo y que tan reciente es la información.

Para la banda en 1031cm^{-1} Rivera *et al,* 2013; documentaron diferentes grupos funcionales como en las bandas de 1030 a 1060cm^{-1}, donde ellos indican un grupo C-O-C y otros autores como Paradkar *et al,* 2002; clasifican esa banda con el grupo C-O, mientras que Dhand *et al,* 2016; dicen que es un grupo C=O, además según la literatura todos los picos poseen cierto error, y cada grupo puede aparecer ciertas veces en diferentes zonas según el compuesto o la muestra que se esté midiendo en el espectro, además de que algunas se hacen más evidentes que otras según el número de compuestos que compartan ese grupo. Ya que a mayor número de compuestos es menor la nitidez de las bandas y proporcionalmente al revés, a menor número de compuestos es mayor la nitidez de cada espectro.

Pujol *et al,* 2013; trabajaron con desechos de café y realizaron un análisis FTIR donde al igual que nosotros señalan la presencia de agua ligada en 3400 cm^{-1}, mientras que nosotros la encontramos en 3265 cm^{-1}, posteriormente señalan que las bandas en 2925 y 2855 cm^{-1} C-H pertenecen a la cafeína y que la banda en 1742 cm^{-1} es un C=O al igual que Rivera *et al, 2*013.

Lyman *et al,* 2003 y Wang *et al,* 2012; resaltan el fingerprint de cafeína y ácidos clorogénicos en general para las regiones de 1300 a 1150c m^{-1} y 1650 a 1600 cm^{-1}, pero explican que hay una amplia variedad de compuestos dentro del extracto de café que puede hacer que este rango reportado sea más ancho además de que presentan en su espectro 2 bandas extras a las que nos aparecen en nuestro espectro y en los de otros autores, este espectro es más completo para esa zona pues menciona por rango diferentes grupos y compuestos propios del café como: ácidos aromáticos, ácidos alifáticos, quetonas, aldehídos, esteres alifáticos, lactonas, entre otros lo cual brinda más claridad para el momento de identificar ciertos compuestos en las diferentes bandas.

Barcelo *et al,* 2015; hizo un análisis de FTIR para la pulpa de café en el cual, registra bandas en el mismo rango que las de nuestro espectro, pero para las bandas de absorción FTIR con números de banda en 1043, 719, 1238 y 1458cm^{-1}, los grupos que menciona son completamente diferentes a los que se han reportado por otros autores, incluso el modo de vibración es diferente, esto puede deberse a que se utilizó la pulpa del café y puede haber diferentes compuestos que modifiquen estos grupos, pero dificulta la clasificación correcta de estos grupos.

Las micrografías obtenidas de las muestras de nanopartículas (AuNPJV y AuNPA) que se analizaron por SEM, muestran nanopartículas esféricas y monodispersas, mientras que las nanopartículas de oro obtenidas por Zeiri *et al*, 2014; no tienen una forma definida y son polidispersas, lo cual puede deberse a los compuestos presentes en los extractos de *Salvia officianalis* y *Punica granatum*.

Yu *et al*, 2016; sintetizaron nanopartículas de oro con extracto de *Citrus máxima*, las caracterizaron por medio de microscopia TEM, donde se aprecian nanopartículas de tamaño de 25 a 10 nm, de forma esférica y tubular, y son polidispersas. Keijok *et al,* 2019; también utilizaron microscopia TEM para sus nanopartículas de oro con las cuales utilizaron también extracto de café (*Coffea arabica*) a una escala de x100000, donde se aprecia que las nanopartículas tienen forma esférica-triangular, un tamaño de 14 nm y son monodispersas, las diferencias

en la forma pueden deberse a varios factores durante la síntesis como el porcentaje y la cantidad de extracto, el tiempo de síntesis, entre otros.

Song *et al*, 2009; sintetizaron nanopartículas de oro a partir de dos extractos vegetales (*Magnolia Kobus* y *Diopyros kaki*), en las micrografías SEM que tomaron, se observa que las nanopartículas tienen diversas morfologías: triangulares, bastones, hexagonales y que son polidispersas, al igual que con Izadiyan *et al*, 2018 que utilizaron extracto de J*unglans regia* y Sheny *et al*, 2012; que usaron extracto de *Anacardium occidentale*, ambos autores utilizaron microscopia TEM, aunque son diferentes técnicas se observan diversas morfologías y polidispersidad de las nanopartículas.

9. Conclusiones

El extracto de café artesanal y el extracto de café Juan Valdez mostraron ser útiles para sintetizar nanopartículas de oro. Las características de estas nanopartículas compiten en tamaño, concentración y estabilidad con las síntesis de nanopartículas de oro que utilizan citrato de sodio como agente reductor.

Las nanopartículas sintetizadas con extracto de café artesanal resultaron ser monodispersas y de un tamaño de partícula de 15 a 30 nm a comparación de las nanopartículas sintetizadas con café Juan Valdez que fueron polidispersas y su tamaño de partícula fue de 20 a 50 nm.

Con el extracto de café Juan Valdez se logró obtener el doble de producción de nanopartículas sintetizadas a comparación con las nanopartículas sintetizadas con extracto de café Artesanal, esto podría deberse a una mayor disponibilidad de compuestos que participan en el proceso de reducción química en el extracto del café Juan Valdez.

Las nanopartículas sintetizadas con ambos extractos de café (A y JV) son estables y tienen conjugado compuestos del extracto en su superficie, es decir están recubiertas por metabolitos secundarios, principalmente compuestos fenólicos y alcalinos (ácidos clorogénicos y cafeína).

Las características de cada extracto son únicas, mostrando diferencias en la cantidad o la presencia de grupos funcionales conjugados a la nanopartícula.

10. Referencias

1. (ICCR) International Cooperation on Cosmetic Regulation. (2010). Report of the ICCR Joint Ad Hoc Working Group on Nanotechnology in Cosmetic Products: Criteria and Methods of Detection - ICCR-4
2. Acay H., Baran M. F., Eren A. (2019). Nanoparticles produced trough Green synthesis using leaf extract of common grape (*Vitis vinífera*). Applied ecology and Environmental research. 17(2):4539-4546. DOI:
3. Ahamed M., Khan M., Siddiqui M., AlSalhi MS., Alrokayan SA. (2011). Green synthesis, characterization and evaluation of biocompatibility of silver nanoparticles. Physica E Low Dimens Syst Nanostruct. 43:1266–71.
4. Ahmed S., Ahmad M., Swami B. L., & Ikram S. (2016). A review on plants extracts mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. Journal of Advanced Research. 7(1):17-28. https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007
5. Alivisatos A.P. (2000). Naturally Aligned Nanocrystals. Science, 289. 736-737. http://doi.org/10.1126/science.289.5480.736
6. Aljabali, A., Akkam, Y., Al Zoubi, M., Al-Batayneh, K., Al-Trad, B., Abo Alrob, O., … Evans, D. (2018). *Synthesis of Gold Nanoparticles Using Leaf Extract of Ziziphus zizyphus and their Antimicrobial Activity. Nanomaterials, 8(3), 174.* https://doi.org/10.3390/nano8030174
7. Anselmo, A. C., & Mitragotri, S. (2019). Nanoparticles in the clinic: An update. Bioeng. Transl. Med. 4(3). https://doi.org/10.1002/btm2.10143
8. Arévalo A.C., Quintero J.H., Rincon S.A., Rodriguez J., & Opsina R. (2019). Gold nanoparticles size distribution by pulsed laser varying the wavelength. J. Phys. https://doi.org/10.1088/1742-6596/1418/1/012019
9. Barcelo J.M., Gatchallan A.M., Aquino I.J.B., Ollero D.R.E., Cortez F.L.D., Costales T.M.C., Marzo L.A.Q. (2015). FTIR Spectrum and Antimutagenicity of *Coffea arabica* Pulp and *Arachis hypogaea* testa in relation to their in vitro antioxidant properties. Asia Pacific Journal of Multidisciplinary Research. 3(4):99-108.

10. Barreto C.M. & Brandelli A. (2016). Antimicrobial activity of nanoliposomes co-encapsulating nisin and garlic extract against Gram-positive and Gram-negative bacteria in milk. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 36: 287-291.
11. Barrios-Rodriguez Y., Collazos-Escobar G.A., Gutierrez-Guzman N. (2021). ATR-FTIR for characterizing and differentiating dried and ground coffee Cherry Pulp of different varieties (*Coffea arabica L*.). Engenharia Agrícola, Jaboticabal.41(1):70-77. https://doi.org/10.1590/1809-4430-eng.agric.v41n1p70-77/2021
12. Baughman R, Zakhidov A, de Heer W (2002) Carbon Nanotubes-the Route toward Applications. *Science, 297*: 787-792. https://doi.org/10.1126/science.1060928
13. Bhandari, G. (2018). Environmental nanotechnology: Applications of nanoparticles of bioremediation. Approaches in Bioremediation. 301-315.
14. Biswas, A., Bayer, I. S., Biris, A. S., Wang, T., Dervishi, E., & Faupel, F. (2012). Advances in top–down and bottom–up surface nanofabrication: Techniques, applications & future prospects. Advances in Colloid and Interface Science, 170(1-2), 2–27. https://doi.org/10.1016/j.cis.2011.11.001
15. Boberek JM, Stach J, Good L (2010) Genetic Evidence for Inhibition of Bacterial Division Protein FtsZ by Berberine. PLoS ONE 5(10): e13745. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013745
16. Bogireddy, N.K.R., Gomez, L.M., Osorio-Roman I., & Agarwal, V. (2017). Synthesis of gold nanoparticles using *Coffea arabica* fruit extract. Advances in Nano Research. 5(3):253-260. DOI: https://doi.org/10.12989/ANR.2017.5.3.253
17. Bonilla-Nepomuceno G., Ríos-Corripio MA., Gómez-Merino F, C., Méndez-Rojas M, A., Arcila-Lozano L, S., Hernández-Cázares A, S. & Rojas-López M. (2021). Analysis by response Surface methodology of gold nanoparticles obtained by green chemical reduction using aqueous coffe Pulp extract *(Coffea arabica*). Can. J. Chem. 99:519-530. https://doi.org/dx.doi.org/10.1139/cjc-2020-0360

18. Burger C., Hsiao B. S., & Chu B. (2006). Nanofibrous materials and their applicatios. Annual Review of Materials Research. 36(1):333-368. https://doi.org/10.1146/annurev.matsci.36.011205.123537
19. Chandran SP, Chaudhary M, Pasricha R, Ahmad A, Sastry M. (2006). Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloe vera* plant extract. Biotechnol Prog. 22:577–83.
20. Chau, C.-F., Wu, S.-H., & Yen, G.-C. (2007). *The development of regulations for food nanotechnology. Trends in Food Science & Technology, 18(5), 269–280.* https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.01.007
21. Chaves-Ulate E.C., Esquivel-Rodríguez P. (2019). Ácidos clorogénicos presentes en el café: capacidad antimicrobiana y antioxidante. Agron. Mesoam. 30/1:299-311. https://doi.org/10.15517/am.v30i1.32974
22. [a]Chen G., Roy I., Yang C., & Prasad P.N. (2016). Nanochemistry and Nanomedicine- based Diagnostics and Therapy. Chemical Reviews. 116(5):2826-2885. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00148
23. Chen, Y., Kan, M., Sun, Q., & Jena, P. (2016). *Structure and Properties of Egyptian Blue Monolayer Family: XCuSi4O10 (X = Ca, Sr, and Ba). The Journal of Physical Chemistry Letters, 7(3), 399–405.* https://doi.org/10.1021/acs.jpclett.5b02770
24. Chirayil C. J, Abraham J., Mishra R. K., George S. C., Thomas S. (2017). Chapter 1- Instrumental techniques for the characterization of nanoparticles. Micro and Nano Technologies. pp 1–36 https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46139-9.00001-3
25. Cinar G., Englert C., Lehmann M., & Nischang I. (2020). In situ, quantitative assessment of multifunctional nanoscale drug delivery systems in human serum. Anal. Chem. 2-9. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01323
26. Cushnie, T. P. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. International Journal of Antimicrobial Agents, 44(5), 377–386. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001

27. Dahan, M., Laurence, T., Pinaud, F., Chemla, D.S., Alivisatos, A.P., Sauer, and Weiss, S. (2001). Time-gated biological imaging by use of coloidal quantum dots. Optic Letters, 26.825-827. https://doi.org/10.1364/OL.26.000825
28. Ditta A. (2012). How helpful is nanotechnology in agriculture? Adv. Nat. Sci: Nanosci. Nanotechnol. 3:1-11. https://doi.org/10.1088/2043-6262/3/3/033002
29. Dhand V., Soumya L., Bharadwaj S., Chakra S., Bahtt D., Sreedhar B. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Coffea arabica* seed extract and its antibacterial activity. Materials Science and Engineering C. 58:36-43.
30. (A)Dong J., Carpione P.L., Pyrgiotakis G., Demokritou P., Moudgil B.M. (2020). Synthesis of precisión gold nanoparticles using Turkevich Method. KONA Powder and Particle Journal. https://doi.org/10.14356/kona.2020011
31. Dong S., Yang X., Zhao L., Zhang F., Hou Z., & Xue P. (2020). Antibacterial activity and mechanism of action saponins from chenopodium quinoa wild. Husks against foodborne pathogenic bacteria. Industrial Crops & Products. 149:14pp. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112350
32. Drago S.M.E., López L.M., & Sainz E.T.R. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas. 37(4):58-68.
33. Duangjai A., Suphrom N., Wungrath J., Ontawong A., Nuengchamnong., Yosboonruang A. (2016). Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffe (*Coffea arabica L.)* pulp aqueous extracts. Integr Med Res. 5:324-331.
34. Duncan R., & Gaspar R. (2011). Nanomedicine(s) under the Microscope. Molecular Pharmaceutics. 2011; 8:2101-41
35. Dwivedi AD, & Gopal K. (2010) Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using Chenopodium album leaf extract. Colloids Surf A. 369:27–33.
36. Echlin P., Handbook of Sample Preparation for Scanning Electron Microscopy and XRay Microanalysis. Springer Science + Business Media, LLC, 2009.

37. Efros, A. L., & Rosen, M. (2000). The electronic structure of semiconductor nanocrystals. Annual Review of Materials Science, 30. 475-521. https://doi.org/10.1146/annurev.matsci.30.1.475
38. Elavazhagan T, Arunachalam KD. (2011). Memecylon edule leaf extract mediated green synthesis of silver and gold nanoparticles. Int J Nanomedicine. 6:1265–78.
39. Facchini PJ. & De Luca V. (2008). *Opium poppy* and Madagascar periwinkle: model non-model systems to investigate alkaloid biosynthesis in plants. The Plant Journal. 54:763-784. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03438.x
40. Faraday, M. (1957). “Experimental relations of gold (and other Metals) to light”. Philosophical Transactions of the Royal Society. Londres, 147, 145.
41. Food and Drug Administration (FDA). (2014). Guidance for industry safety of nanomaterials in cosmetic products**.** Available at: http://www.fda.gov/downloads/Cosmetics/GuidanceRegulation/GuidanceDocuments/UCM300932.pdf
42. Fowler, M., Cotter, J., Knight, B. E., Sevick-Muraca, E. M., Sandberg, D. I., & Sirianni, R. W. (2020). Intrathecal drug delivery in the era of nanomedicine. Advanced Drug Delivery Reviews*.* https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.02.006
43. Friedman, M., Henika, P. R., & Mandrell, R. E. (2002). Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni, Escherichia coli, Listeria monocytogenes,* and *Salmonella enterica*. Journal of Food Protection, 65(10), 1545–1560
44. Fu, X., Cai, J., Zhang, X., Li, W.-D., Ge, H., & Hu, Y. (2018). Top-down fabrication of shape-controlled, monodisperse nanoparticles for biomedical applications. Advanced Drug Delivery Reviews. https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.07.006
45. Geszke-Moritz, M., and Moritz, M. (2016). Solid lipid nanoparticles as attractive drug vehicles: composition, properties, and therapeutic strategies. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 68, 982–994. https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.119

46. Gopal, R., Kaur, S., Ma, Z., Chan, C., Ramakrishna, S., & Matsuura, T. (2006). Electrospun nanofibrous filtration membrane. Journal of Membrane Science, 281(1-2):581–586. https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.04.026
47. Goswami A., Roy I., Sengupta S., Debnath N. (2010). Novel applications of solid and liquid formulations of nanoparticles against insect pests and pathogens. Thin Solid Films 519:1252–1257. https://doi.org/10.1016/j.tsf.2010.08.079
48. Grzelczak, M., Pérez-Juste, J., Mulvaney, P., & Liz-Marzán, L. M. (2008). Shape control in gold nanoparticle synthesis. Chemical Society Reviews, *37(9), 1783.* https://doi.org/10.1039/b711490g
49. Guimaraes A.C., Martins M.L., Fumiere L.M., Cunegundes G.MC., Coutinho E.D., Fronza M., & Scherer R. (2019). Antibacterial activity of terpenes and terpenoides present in essential oils. Molecules. 24(13):2471. https://doi.org/10.3390/molecules24132471
50. Haiss W., Thanh N.Y.K., Aveyard J. & Ferning D.G. (2007). Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-Vis spectra. Anal. Chem. 79(11):4215-4221.
51. Hamada, N., Sawada, S., and Oshiyama, A. (1992). New One-Dimensional Conductors: Graphitic Microtubules. *Phys. Rev. Lett, 68*. 1579-158.
52. Heiligtag F. J., & Niederberger M. (2013). The fascinating world of nanoparticle research. Materials Today. 16(7):262-271. Doi: https://doi.org/10.1016/j.mattod.2013.07.004
53. Heinrich M., Barnes J., Garcia P.J., Gibbons S., Williamson E.M. (2017). Fundamentals of Pharmacognosy and phytotherapy. Elservier. ISBN: 9780702070082.
54. Hoo C. M., Starostin N., West P., & Mecartney M. L. (2008). A comparison of atomic force microscopy (AFM) and dynamic light scattering (DLS) methods to characterize nanoparticle size distributions. *J Nanopart Res*. 10: 89–96 https://doi.org/10.1007/s11051-008-9435-7
55. Huang Y., Tan H., Guo Z., Wu X., Zhang Q., Zhang L., & Diao Y. (2016). The biosynthesis and genetic engineering of bioactive indole alkaloids in plants.

Journal of plant Biology. 59:203-214. https://doi.org/10.1007/s12374-016-0032-5

56. ISO/TR 13014:2012. (2012). Nanotechnologies–guidance on physico-chemical characterization of engineered nanoscale materials for toxicologic assessment, International Organization of Standards, Geneva, Switzerland
57. Izadiyan Z., Shameli K., Hara H., Taib S.H.M. (2018). Cytotoxicity assay of biosynthesis gold nanoparticles mediated by walnut (*Juglans regia*) green husk extract. Journal of Molecular Structure. 1151 (5):97-105. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.09.039
58. Jeevanandam J., Barhoum A., Chan Y. S., Dufresne A. & Danquah M. K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulatios. Beilstein Journal of Nanotechnology. 9:1050-1074. Beilstein J. Nanotechnol. 2018, 9, 1050–1074. https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98
59. Katumba, G., Mwakikunga, B. & Mothibinyane, T. (2008). FTIR and Raman Spectroscopy of Carbon Nanoparticles in SiO_2, ZnO and NiO Matrices. *Nanoscale Res Lett* 3, 421 https://doi.org/10.1007/s11671-008-9172-y
60. Kaviya, S., Santhanalakshmi, J., Viswanathan, B., Muthumary, J., & Srinivasan, K. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using *citrus sinensis* peel extract and its antibacterial activity. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 79(3), *594–598.* https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.03.040
61. Kawasaki, E. S., & Player, A. (2005). Nanotechnology, nanomedicine, and the development of new, effective therapies for cáncer. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 1(2):101-109. https://doi.org/10.1016/j.nano.2005.03.002
62. Keijok, W.J., Pereira, R.H.A., Alvarez, L.A.C. *et al.* Controlled biosynthesis of gold nanoparticles with *Coffea arabica* using factorial design. *Sci Rep* 9**,** 16019 (2019). https://doi.org/10.1038/s41598-019-52496-9
63. Kimling, J., Maier, M., Okenve, B., Kotaidis, V., Ballot, H., & Plech, A. (2006). Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited. The

Journal of Physical Chemistry B, 110(32), 15700–15707. https://doi.org/10.1021/jp061667w

64. Kohane D.S. (2008). Microparticles and Nanoparticles for Drug Delivery. Biotechnology and Bioengineering.96 (2) 203-209. https://doi.org/10.1002/bit.21301
65. Krishnaraj C, Jagan E, Rajasekar S, Selvakumar P, Kalaichelvan P, Mohan N. (2010). Synthesis of silver nanoparticles using Acalypha indica leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. Colloids Surf B Biointerfaces. 76:50–6.
66. Kroto, H., Allaf, A., and Balm., S. (1991). C60: Buckminsterfullerene. Chem. Rev, 91. 1213-1235.
67. Kumar AM., Chisti Y., Chand BU. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. Biotechnolofy Advances. 31(2): 346-356. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.003
68. Law M., Greene L. E., Johnson J.C., Saykally R., & Yang P. (2005). Nanowire dye-sensitized solar cells. Nature Materials. 4:455-459.
69. Li, X., Wang, L., & Lu, X. (2010). Preparation of silver-modified TiO2 via microwave-assisted method and its photocatalytic activity for toluene degradation. Journal of Hazardous Materials, 177. 639-647.
70. Liang N., Lu X., Hu Y., Kitts D. (2016). Application of attenuated total reflectance-Fourier transformed infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy to determine Chlorogenic acid isomer profile and antioxidant capacity of coffee beans. J.Agric.Food. Chem. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05682
71. Lin, N., Huang, J., & Dufresne, A. (2012). Preparation, properties and applications of polysaccharide nanocrystals in advanced functional nanomaterials: a review. Nanoscale, 4(11) 3274. *https://doi.org/*10.1039/c2nr30260h
72. Liu F., Wen LX., Li ZZ., Yu W., Sun HY., Chen JF. (2006). Porous hollow silica nanoparticles as controlled delivery system for water-soluble pesticide. Mat Res Bull 41:2268–2275 https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2006.04.014
73. López-Lorente A.I. & Mizaikoff B. (2016). Recent advandes on the characterization of nanoparticles using infrared spectroscopy. Trends in Analytical Chemistry. 84: 97-106. https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.01.012

74. Louis, C. (2017). Gold Nanoparticles in the Past: Before the Nanotechnology Era. Gold Nanoparticles for Physics, Chemistry and Biology, 1–28. https://doi.org/10.1142/9781786341259_0001
75. Lu, P.-J., Huang, S.-C., Chen, Y.-P., Chiueh, L.-C., & Shih, D. Y.-C. (2015). *Analysis of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in cosmetics. Journal of Food and Drug Analysis, 23(3), 587–594.* https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.02.009
76. Lyman D.J., Benck R., Dell S., Merle S., Murray-Wijelath J. (2003). FTIR-ATR Analysis of brewed Coffee: Effect of roasting conditions. J. Agric. Food. Chem. 51:3268-3272.
77. Mallikarjunaiah S., Pattabhiramaiah M., & Metikurko B. (2020). Application of nanotechnology in the bioremediation of heavy metals and wastewater management.Nanotechnology for food, Agriculture, and Environment. Nanotechnology in the life Sciences. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-31938-0_13
78. Mayer, J., Giannuzzi, L. A., Kamino, T., & Michael, J. (2007). *TEM Sample Preparation and FIB-Induced Damage. MRS Bulletin, 32(05), 400–407.* https://doi.org/10.1557/mrs2007.63
79. Michalet, X., Pinaud, F. F., Bentolila, L. A., Tsay, J. M., Doose, S., Li J. J., Sundaresan, G., Wu, A. M., and Gambhir, S. S. (2005). Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics. Science, 307. 538-544. https://doi.org/10.1126/science.1104274
80. Mirzaei H., & Darroudi M. (2017). Zinc oxide nanoparticles: Biological synthesis and biomedical applications. Ceramics International. 43(1):907-914. https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.10.051
81. Mohr F. (2009). Gold Chemistry, Applications and Future Direccion in the life Sciences, Wiley VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 1ª edición, Wippertal, Germany.
82. Monente, C., Bravo, J., Vitas, A. I., Arbillaga, L., De Peña, M. P., & Cid, C. (2015). Coffee and spent coffee extracts protect against cell mutagens and inhibit growth of food-borne pathogen microorganisms. Journal of Functional Foods, 12: 365–374. https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.006

83. Mourdikoudis, S., & Liz-Marzán, L. M. (2013). *Oleylamine in Nanoparticle Synthesis. Chemistry of Materials, 25(9), 1465–1476.* https://doi.org/10.1021/cm4000476
84. MubarakAli D, Thajuddin N, Jeganathan K, Gunasekaran M. (2011). Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. Colloids Surf B Biointerfaces. 85(2):360-5. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.03.009 Epub 2011 Mar 17. PMID: 21466948.
85. Mukhopadhyay S.S. (2014). Nanotechnology in agriculture: prospects and constraints. Nanotechnol Sci Appl. 7:63-71. https://doi.org/10.2147/NSA.S39409
86. Nobukazu Shitan (2016) Secondary metabolites in plants: transport and selftolerance mechanisms, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 80:7, 1283-1293, https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1151344
87. Origin (Pro), Version *6*. OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA.
88. Ovais M., Khalil A.T., Islam N. U., et al. (2018). Role of plant phytochemicals and microbial enzymes in biosynthesis of metallic nanoparticles. Appl Microbiol Biotechnol. 102:6799-6814. https://doi.org/10.1007/S00253-018-9146-7
89. Oz, M.; Lozon, Y.; Sultan, A.; Yang, K.H.S.; Galadari, S. Effects of monoterpenes on ion channels of excitable cells. *Pharmacol. Ther.* 2015, *152*, 83–97. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.05.006
90. Paradkar M.M & Irudayaraj J. (2002). Arapid FTIR Spectroscopic method for estimation of caffeine in soft drinks and total methylzanthines in tea and coffee. JFS: Food Chemistry and Toxicology. 67(7):2507-2511.
91. Parr AJ. & Bolwell GP. (2000). Phenols in the plant and in man. The potential for posible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80:985-1012.https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<985::AID-JSFA572>3.0.CO;2-7

92. Patel A., Prajapati P., Boghra R. (2011). Overview on application of nanoparticles in cosmetics. AJPSCR. 1(2):20-55.
93. Patel, H. K., Kalaria, R. K., and Khimani, M. R. (2020). Nanotechnology: A promising tool for Bioremediation. Removal of Toxic Pollutants Through Microbiological and Tertiary Treatment, 515–547. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821014-7.00020-4
94. Peng, X., Manna, L., Yang, W., Wickham, J., Scher, E., Kadavanich, A., and Alivisatos, A. P. (2000). Shape control of CdeSe nanocrystals. Nature, 404. 59-61. https://doi.org/10.1038/35003535
95. Philip, D. (2010). Green synthesis of gold and silver nanoparticles using *Hibiscus rosa sinensis*. Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures, 42(5), 1417–1424. https://doi.org/10.1016/j.physe.2009.11.081
96. Popov A. P., Lademann J., Priezzhev A. V., Myllyla R. (2005). " Effect of size of TiO2 nanoparticles embedded into stratum corneum on ultraviolet- A and ultraviolet-B sun-blocking properties of the skin" J Biomed. 10: 1–9.
97. Priftis A., Panagiotou EM., Lakis K., Plika C., Halabalaki M., Ntasi G., Veskoukis AS., Stagos D. (2018). Roasted and green coffe extracts show antioxidant and cytotoxic activity in myoblast and endotelial cell lines in a cell specific manner. Food and Chemical Toxicology. 114:119-127. https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.029
98. Pujol D., Liu C., Gominho J., Olivella M.A., Fiol N., Villaescusa I., Pereira H. (2013). The chemical composition of exhausted coffe waste. Industrial Crops and Products. 50:423-429.
99. Rai M.K., Deshmukh S.D., Inlge A.P., Gade A.K. (2012). Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. Journal of Applied Microbiology. 112 (5): 841-852. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05253.x
100. Rajan S. (2011). Nanotechnology in groundwater remediation. InT. J. Environ. Sci. Dev. 2:182-187.

101. Rao, C., Satishkumar, B. C., Govindaraj, A., Sen, R., and Nath, M. (2001). Nanotubes. Chem Phys Chem, 2. 78-105. https://doi.org/10.1002/1439-7641(20010216)2:2<78::AID-CPHC78>3.0.CO;2-7
102. Rathianaraj B.S., Lima F., Pereira T.E.O., Florindo G.M.I. (2019). Current trends in nanotechnology for bioremediation. Int. J. Environment and Pollution. 66(1/2/3):1-22. https://doi.org/10.1504/IJEP.2019.104526
103. Rempe Caroline S., Burris Kellie P., Lenaghan Scott C., Stewart C. Neal (2017). The potential of systems biology o discover antibacterialmechanism of plant phenolics. Frontiers in Microbiology. 8:422. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00422
104. Rivera W., Velasco X., Rincón C.A. (2013). Evaluación por TGA y FTIR de los cambios producidos por la tostión en granos de café. RCF.45(3)205-208.
105. Romero J, Luengo C, Huber J, Rosolen J (2002) Synthesis of Single-Wall Nanotubes by Pyrolysis of Graphite in Helium Atmosphere. *Química Nova, 25*: 59-61.
106. Rufián-Henares J. A., & De-la-Cueva. S.P. (2008). Antimicrobial activity of melanoidins against Escherichia coli ismediated by amembrane-damage mechanism. J. Agric. Food Chem. 56:2357-438. https://doi.org/10.1021/jf073300+
107. Runti G., Pacor S., Colomban S., Gennaro R., Navarin L., Scocchi M. (2015). Arabica coffee extract shows antibacterial activity against *Staphylococcus epidermidis* and *Enterococcus faecalis* and low toxicity towards a human cell line. LWT-Food Sci. Technol. 62:108-114. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.039
108. Saklani A., & Kutty S.K. (2008). Plant- derived compounds in clinical trials. Drug Discovery Today. 13(3-4):161-171. https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.10.010
109. Salata, O. (2004). Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J Nanobiotechnol*, 2. 1-6. https://doi.org/10.1186/1477-3155-2-3

110. Sathishkumar M, Sneha K, Yun YS. (2010). Immobilization of silver nanoparticles synthesized using Curcuma longa tuber powder and extract on cotton cloth for bactericidal activity. Biores Technol. 101:7958–65.
111. Schaming, D., & Remita, H. (2015). *Nanotechnology: from the ancient time to nowadays. Foundations of Chemistry, 17(3), 187–205.* https://doi.org/10.1007/s10698-015-9235-y
112. Shamaila S., Zafar N., Riaz S., Sharif R., Nazir J., Naseem S. (2016). Gold nanoparticles: an efficient antimicrobial agent against enteric bacterial human pathogen. Nanomaterials. 6(71):1-10. https://doi.org/10.3390/nano6040071
113. Shanker VD., Bhalla R., & Luthra R. (2003). An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. J. Biosci. 28(5):637-646.
114. Sheny D. S., Mathew J., Philip D. (2012). Synthesis characterization and catalytic action of hexagonal gold nanoparticles using essential oils extracted from *Anacardium occidentale*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 97:306-310. https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.06.009
115. Shi, Y., Van der Meel, R., Chen, X., and Lammers, T. (2020). The EPR effect and beyond: Strategies to improve tumor targeting and cancer nanomedicine treatment efficacy. Theranostics, 10. 7921-7924. https://doi.org/10.7150/thno.49577
116. Shrivastava, S., & Dash, D. (2009). Agrifood nanotechnology: a tiny revolution in food and agriculture. Journal of Nanoparticle Research, 6. 1–14. https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/JNanoR.6.1
117. Singh P., Kim Y. J., Zhang D., & Yang D. C. (2016). Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. Trends in Biotechnology. 34(7):588-599. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.02.006
118. Singh V. y Mishra A. K. (2014). White Light Emission from Vegetable Extracts.Nature. Vol 5:1-9. https://doi.org/10.1038/srep11118

119. Sondi, I., & Salopek-Sondi, B. (2004). *Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. Journal of Colloid and Interface Science, 275(1), 177–182.* https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.02.012
120. Song J.Y., Jang H.K., & Kim B.S. (2009). Biological synthesis of gold nanoparticles using *Magnolia Kobus* and *Diopyros kaki* leaf extracts. Process Biochemistry. 44(10):1133-1138. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.06.005
121. Sonneville-Aubrun, O., Simonnet, J. T., and L'Alloret, F. (2004). "Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products". Adv Colloid Interface Sci, 108/109. 145–149.
122. 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(1), 58–63.* https://doi.org/10.1016/s2221-1691(13)60024-6
123. Sun, Y.-P., Li, X., Cao, J., Zhang, W., & Wang, H. P. (2006). *Characterization of zero-valent iron nanoparticles. Advances in Colloid and Interface Science, 120(1-3), 47–56.* https://doi.org/10.1016/j.cis.2006.03.001
124. Tong HW, Zhang X, Wang M. (2012). "A New Nanofiber Fabrication Technique Based on Coaxial Electrospinning", Mater. Lett, 66, 257
125. Torchilin V. P. (2006). Nanoparticulates as drug carriers. Imperial College Press. London UK. ISBN: I-8604-630-5.
126. Turkevich, J., Hiller, J., y Stevenson, P. C. (1951). "A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. Discuss. Faraday Soc., 11, 55-75.
127. Usman, M., Farooq, M., Wakeel, A., Nawaz, A., Cheema, S. A., Rehman, H. ur, Sanaullah, M. (2020). *Nanotechnology in agriculture: Current status, challenges and future opportunities. Science of The Total Environment, 137778.* https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137778

128. Utreja P., Verma S., Rahman M. & Kumar L. (2019). Use Nanoparticles in Medicine. Current Biochemical Engineering. 6(1):7-24. https://doi.org/10.2174/2212711906666190724145101
129. Vilchis-Nestor AR, Sánchez-Mendieta V, Camacho-López MA, Gómez-Espinosa RM, Arenas-Alatorre JA. (2008). Solventless synthesis and optical properties of Au and Ag nanoparticles using Camellia sinensis extract. Mater Let. 62:3103-3105.
130. Wang N. & Loong-Tak L. (2012). Fourier transform infrared and physicochemical analyses of roasted coffe. J. Agric.Food. Chem. 60:5446-5453.
131. Wang Y., Pu C., Lei H., Qin H., & Peng X. (2019). CdSe@CdS@Platelet nanocrystals: controlled epitaxy, monoexponential decay of two-dimensional exciton, and nonblinking photoluminescence of single nanocrystal. J. Am. Chem. Soc. 141(44):17617-17628. https://doi.org/10.1021/jacs.9b06932
132. Xie, Z., Fan, T., An, J., Choi, W., Duo, Y., Ge, Y., … Kim, J. S. (2020). Emerging combination strategies with phototherapy in cancer nanomedicine. Chemical Society Reviews. https://doi.org/10.1039/d0cs00215a
133. Yan R., Gargas D., & Yang P. (2009). Nanowire photonics. Nature Photonics. 31.569-576.
134. Yu, H.-D., Regulaci, M. D., Ye, E., & Han, M.-Y. (2013). *Chemical routes to top-down nanofabrication. Chemical Society Reviews, 42(14), 6006.* https://doi.org/10.1039/c3cs60113g
135. Yu J., Xu D., Guan H. N., Wang C., Huang L. K., Chi D. F. (2016). Facile one- step green synthesis of gold nanoparticles using *Citrus maxima* aqueous extracts and its catalytic activity. Materials Letters. 166(1):110-112.
136. Zeiri, Y., Elia, P., Zach, R., Hazan, S., Kolusheva, S., & Porat, Z. (2014). *Green synthesis of gold nanoparticles using plant extracts as reducing agents. International Journal of Nanomedicine, 4007.* https://doi.org/10.2147/ijn.s57343

137. Zhang, L., Meng, G., & Phillipp, F. (2000). *Synthesis and characterization of nanowires and nanocables. Materials Science and Engineering: A, 286(1), 34–38.* https://doi.org/10.1016/s0921-5093(00)00664-x

11. Anexos

PARTICIPACION EN EL CONGRESO INTERNACIONAL LA INVESTIGACION EN EL POSGRADO