



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

**BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO USANDO EXTRACTO DE
RESIDUO DE CAFÉ**

TESIS DE LICENCIATURA

**PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIATURA EN INGENIERÍA QUÍMICA**

PRESENTA:

SAMUEL GIL MOTA

DIRECTOR:

DRA. NANCY TEPALE OCHOA

CO-DIRECTOR:

DRA. MARÍA ELENA RAMOS CASSELLIS

AGOSTO 2023

ÍNDICE

RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	5
JUSTIFICACIÓN.....	7
HIPÓTESIS	8
OBJETIVO GENERAL.....	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
CAPITULO 1: Marco Teórico	9
1.1 Nanociencia	9
1.2 Nanotecnología	9
1.3 Nanopartículas metálicas.....	10
1.4 Síntesis de nanopartículas metálicas	10
1.5. Biosíntesis de nanopartículas metálicas	11
1.6 Biosíntesis de nanopartículas de oro	15
1.7 Desechos de la industria cafetera	20
CAPITULO 2. Metodología.....	25
2.1 Diagrama de proceso	25
2.2 Reactivos.....	26
2.3 Obtención de extracto de cascara de café	26
2.4 Obtención de solución de oro	26
2.5 Biosíntesis de nanopartículas de oro	26
2.6 Caracterización de nanopartículas	26
2.6.1 Espectroscopia UV-VIS.....	27
2.6.2 Dispersión Dinámica de Luz (DLS)	27
2.7 Evaluación de compuestos fenóles totales en extracto de residuo de café	27
2.8 Actividad antioxidante en nanopartículas de oro	28

2.8.1 Método DPPH.....	28
2.8.2 Método ABTS	28
2.9 Método estadístico	28
CAPITULO 3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADO	29
3.1 Elaboración de extracto de residuo de café	29
3.2 Elaboración de solución de oro.....	29
3.3 Biosíntesis de nanopartículas de oro	30
3.4 Caracterización de nanopartículas de oro por espectroscopia UV-VIS	30
3.5 Caracterización de nanopartículas de oro por Dispersion Dinamica de Luz.....	36
3.6 Evaluación de compuestos fenoles totales en extracto de residuo de café	38
3.7 Evaluación de actividad antioxidante en nanopartículas de oro	40
3.7.1 Método DPPH.....	40
3.7.2 Método ABTS	40
CONCLUSIONES	42
BIBLIOGRAFÍA	43

RESUMEN

Las nanopartículas de oro se han convertido en uno de los nanomateriales más importantes de la actualidad debido a las propiedades fisicoquímicas que adquiere cuando su tamaño de partícula es reducido, esto ha provocado que en los últimos años aumente el número de investigaciones relacionadas con estos materiales. En este trabajo de tesis se llevó a cabo un proceso de biosíntesis de nanopartículas de oro usando como agente precursor ácido tetracloroáurico (HAuCl_4) a diferentes concentraciones (0.5mM, 1mM y 2mM) y como agente reductor extracto de residuo de café. Estos residuos generan una contaminación al medio ambiente debido a la enorme cantidad que se produce todos los años gracias a la alta demanda de café a nivel mundial. La caracterización de las nanopartículas se llevó a cabo por medio de espectroscopia UV-Vis, donde se observó la presencia de bandas máximas entre 510 y 570 nm, denotando la formación de nanopartículas de oro. Para conocer el tamaño de partícula se utilizó la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS, de sus siglas en inglés *Dynamic Light Scattering*), reportando tamaños entre 5 y 10 nm. Adicionalmente, se comprobó la presencia de compuestos fenoles y la actividad antioxidante en los residuos de café, obteniendo un porcentaje de inhibición de $69.759 \pm 2.005\%$. Finalmente se obtuvo el porcentaje de inhibición de las nanopartículas de oro elaboradas con HAuCl_4 a 0.5mM y 1mM, los resultados fueron $5.9877 \pm 2.5178\%$ y $0.9916 \pm 0.6301\%$ respectivamente. El notable descenso en la actividad antioxidante después de la formación de las nanopartículas de oro se atribuyó a la reacción de los compuestos que dotan de actividad antioxidante a los residuos de café con el agente precursor HAuCl_4 , lo que permite la formación de nanopartículas de oro.

Palabras clave: nanopartículas, residuos de café, antioxidantes.

INTRODUCCIÓN

La industria del café genera una gran cantidad de residuos, aproximadamente el 45% del fruto del café es desechado, en 2019 la cosecha mundial se estima que fue de 1465.30 millones de sacos, es decir 21.236 millones de toneladas, por lo que se generaron un total de 9.55 millones de toneladas de residuos (ICO, 2021).

México genera alrededor de 440,000 toneladas de estos residuos al año, provocando un grave problema para el país. Esto se debe a que la biodegradación puede tomar años, además de consumir grandes cantidades de oxígeno durante este proceso. Además, liberar esta cantidad de residuos al medio ambiente es perjudicial para la flora y fauna de los ecosistemas (Figueroa, 2019).

El estado de Puebla, según SADER, en 2018 obtuvo el tercer lugar a nivel nacional en la producción de café con 128 995.35 toneladas. Asumiendo que el 45% son desechos, se generaron 58 047.9 toneladas.

Las enormes cantidades de desechos orgánicos generados por las industrias han impulsado investigaciones que buscan utilizarlos para la creación de nuevos productos, o como sustitutos de compuestos peligrosos o costosos, algunos ejemplos son los biocombustibles, biofertilizantes, alimento para ganado, nanomateriales, etc.

En el caso de los desechos producidos por la industria cafetera se ha reportado una fuerte presencia de compuestos fenólicos, generados por la esterificación de ácido quínico con ácido cafeico (ácidos clorogénicos). Además, se tiene registro de la presencia de ácido 5-feruolquínico, taninos condensados y diferentes tipos de antocianinas, estos compuestos dotan a los residuos de una fuerte actividad antioxidante, abriendo la posibilidad de ser usados como agente reductor en la síntesis de nanopartículas metálicas (Chaves, 2019).

Los nanomateriales se han convertido en uno de los focos principales de las investigaciones en todo el mundo. La relación que existe entre el área superficial y el volumen es una de las principales razones de su nivel de reactividad y su mejora en sus propiedades magnéticas, ópticas y eléctricas. Son estas características las que han impulsado su uso en diversas áreas de la ingeniería como en la electrónica, mecánica, óptica, medicina, aeroespacial, plásticos, industria textil, etc. Gracias a esto se han logrado elaborar nanorobots, nanocomputadoras,

nanofertilizantes, nanopesticidas, nanosensores, nanoceramicas, nanotubos, nanocatalizadores, nanofibras etc., los cuales son usados en las industrias para facilitar procesos, o mejorar las características de los productos obtenidos (Subhan, 2020).

La síntesis química de nanomateriales emplea compuestos inorgánicos u orgánicos que son clasificados como peligrosos y tóxicos tales como el borohidruro de sodio, hipofosfito y el hidrato de hidracina, esto provoca que la elaboración de estos materiales sea perjudicial para el medio ambiente (Reverberi, 2017). La búsqueda de un proceso amigable con el medio ambiente, económico y eficiente da como resultado los métodos de síntesis verde, estos se basan en la reducción de partículas metálicas mediante especies naturales que contienen un alto poder antioxidante (Mondal, 2020).

En el presente trabajo se presenta la biosíntesis de nanopartículas de oro usando como agente reductor el extracto de residuos de café. Para comprobar la formación de nanopartículas se utilizó la técnica espectroscópica UV-Vis, y para conocer el tamaño se empleó la técnica por dispersión dinámica de luz (DLS). Posteriormente se utilizó el método Folin-Ciocalteu para conocer la cantidad de compuestos fenoles presentes en los residuos de café. Por último, se midió la actividad antioxidante de los residuos de café, así como de las nanopartículas de oro por el método DPPH y ABTS.

JUSTIFICACIÓN

Este proyecto busca utilizar los desechos generados por la industria cafetera para la elaboración de nanopartículas de oro por medio de un método amigable con el medio ambiente. El uso de extractos orgánicos como agentes reductores en la síntesis de nanopartículas metálicas, elimina el uso de compuestos tóxicos y la formación de residuos peligrosos generados al utilizar métodos de síntesis convencionales.

En México en 2021 se generaron más de 9.5M de toneladas (ICO, 2021). Autores como Keijok en 2019 o Abbasian en 2020 han utilizado granos de café para la elaboración de nanopartículas de oro debido a las propiedades antioxidantes que estos presentan, algunos de los compuestos presentes en el grano del café también se presentan en el fruto dotándolo de propiedades antioxidantes, esta característica vuelve viable el uso de estos desechos agroindustriales como agente reductor en la elaboración de nanopartículas de oro. Una propuesta similar a la de este proyecto fue presentada por Bonilla *et al.* en 2021, los autores utilizaron pulpa de café como agente reductor, y una temperatura de 85°C durante el proceso de biosíntesis realizando exitosamente la obtención de nanopartículas de oro. Esta investigación plantea hacer uso de todas las partes desechadas de la cereza del café, específicamente son, cascara (pericarpio), pulpa (mesocarpio), capa de pectina, pergamino (endocarpio) y piel plateada (tegumento), esto permitirá el uso de mayor cantidad de residuos, contribuyendo a que menos cantidad sea liberada al medio ambiente, reduciendo el impacto generado a los ecosistemas en comparación a la investigación de Bonilla *et al.* el proceso será más económico al no requerir un proceso de limpieza para separar la pulpa de los demás componentes, por otro lado, también habrá una reducción de costos al no requerir un aumento en la temperatura, debido a que el proceso de biosíntesis se realizará a temperatura ambiente (25 °C).

HIPÓTESIS

La obtención de nanopartículas de oro se llevará de manera exitosa a temperatura ambiente gracias a las moléculas antioxidantes presentes en el residuo de café, además se podrá determinar la concentración de HAuCl_4 que presenta mejores resultados con relación a su tamaño y actividad antioxidante.

OBJETIVO GENERAL

Obtener nanopartículas de oro utilizando como agente reductor extracto de residuos de café, variando la concentración de oro para analizar los cambios en su morfología, tamaño y tiempo de reacción.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la cantidad de compuestos fenólicos presentes en los residuos del café.
- Sintetizar nanopartículas de oro usando como agente reductor extracto de deshecho de café y solución de HAuCl_4 a 0.5, 1 y 2 mM a una temperatura de 25°C.
- Comprobar la presencia de nanopartículas de oro utilizando espectroscopia UV-Vis.
- Determinar el diámetro promedio de las nanopartículas de oro utilizando dispersión dinámica de luz (DLS).
- Medir la actividad antioxidante de las nanopartículas de oro utilizando el método DPPH.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Nanociencia

El prefijo nano se utiliza para representar la milmillonésima parte de un todo (10^{-9}), la nanociencia tiene como objeto de estudio las estructuras químicas y biológicas que contienen al menos una de sus dimensiones en el rango 1 a 100 nanómetros(nm), estos reciben el nombre de nanomateriales. Las propiedades que estos materiales adquieren a escala nanométrica varían notablemente a las presentadas por estos materiales en tamaño molecular o mayor, una de las principales razones de que esto suceda es el aumento del área superficial en relación con la reducción del volumen, lo que genera un mayor nivel de reactividad y una mejora en las propiedades ópticas, magnéticas y eléctricas (Bayda, 2019).

El aumento de investigaciones enfocadas en la obtención de nuevos nanomateriales, en sus propiedades y en las metodologías que permiten su obtención es un reflejo del interés que estos materiales provocan en el ámbito científico. Esto genera que surjan propuestas en el uso de nanomateriales aprovechando las propiedades que estos presentan (Subhan, 2020).

1.2. Nanotecnología

La nanotecnología puede definirse como la aplicación de la información obtenida a partir de la nanociencia. Esta rama de la tecnología tiene como principal objetivo el aprovechamiento de las propiedades físicas y químicas de los nanomateriales, para ello es necesario observar, manipular, medir, controlar, comprender y fabricar estos materiales (Bayda, 2019).

Cada material presenta condiciones diferentes para ser llevados a una escala nanométrica, además sus propiedades varían dependiendo de las características propias del material, del tamaño de las nanopartículas y de la morfología que estas presenten. Es esta necesidad de comprender el comportamiento de estos materiales lo que genera la creación de la nanoquímica, una rama de la química enfocada en la obtención de métodos de síntesis, así

como de la caracterización de los nanomateriales. En la última década la nanoquímica junto a la nanotecnología ha creado diversas aplicaciones en muchos campos industriales, siendo los más importantes el campo de la medicina y la electrónica, donde las nanopartículas metálicas han resaltado sobre las demás debido a las propiedades físicas y químicas que estas presentan (Meinguer, 2022).

1.3. Nanopartículas metálicas

Las nanopartículas metálicas han acaparado la atención de los científicos debido a sus propiedades optoelectrónicas, térmicas, magnéticas y catalíticas, estas les confieren un gran potencial en su uso en aplicaciones en diversos campos de la ingeniería. Estas investigaciones han dado como resultado la elaboración de nanopartículas metálicas de una gran variedad de metales y aleaciones, entre ellas las más utilizadas y estudiadas son de hierro, oro y plata debido a sus propiedades antimicrobianas y a su baja toxicidad, esta última característica es importante pues les permite ser utilizados en diferentes productos sin restricciones ambientales o sanitarias (Cadenas, 2021).

Para la síntesis de estas nanopartículas se han desarrollado diferentes métodos químicos y físicos los cuales brindan la posibilidad de obtener nanopartículas metálicas con diferentes formas, tamaños y composiciones lo cual les proporciona características únicas aun cuando se trate de nanopartículas de un mismo metal.

1.4. Síntesis de nanopartículas metálicas

Entre las técnicas desarrolladas para la síntesis de nanopartículas metálicas destacan dos tipos, *top-down* de manera simple y general esta técnica consiste en la descomposición de un material grande en piezas más pequeñas, hasta obtener pedazos de este material en escalas nanométricas, para este proceso se requieren cantidades grandes de energía química o física. El segundo método es *bottom-up*, consiste en la formación de nanopartículas por medio de reacciones químicas cuando se realiza en disoluciones o por medio de condensación de átomos si se trabaja con gases, contrario al anterior este método consiste en el agrupamiento

de materia de un tamaño atómico o molecular, para obtener un material en escala nanométrica (Chopra, 2022).

Una de las principales características que se tiene en cuenta al momento de escoger el método a emplear para la formación de nanopartículas es que permita tener un control preciso del tamaño y morfología de las nanopartículas, es por ello que el método más utilizado en la formación de estos nanomateriales es la reducción química de sales metálicas disueltas en medios acuosos. Este proceso requiere de dos componentes un precursor metálico y un agente reductor, se puede adicionar un agente estabilizador. El mecanismo de reacción consta de dos etapas, la nucleación y crecimiento, la velocidad con las que se den estas dos etapas determinará el tamaño y forma de las nanopartículas, esta es fácilmente modificable variando los parámetros como el método de síntesis, tipo de solvente, concentración del precursor, pH, poder reductor y temperatura de síntesis. Los métodos convencionales hacen uso de compuestos como borohidruro de sodio, hipofosfito e hidrato de hidracina los cuales son peligrosos y tóxicos, se requieren altas temperaturas y los desechos generados, así como algunos subproductos son contaminantes. Por esta razón las investigaciones de los últimos años se han enfocado en el uso de un método de obtención de las nanopartículas que sea amigable con el medio ambiente, la biosíntesis.

1.5. Biosíntesis de nanopartículas metálicas

En las últimas décadas la concientización por el medio ambiente ha provocado que muchos proyectos de investigación tengan como prioridad el uso de procesos amigables con el medio ambiente, por esta razón la biosíntesis ha captado la atención de muchos científicos, este método de síntesis consiste en la sustitución de materiales costosos o peligrosos por materiales orgánicos como plantas, frutos, raíces, semillas, hongos o bacterias. En el caso específico de la síntesis de nanopartículas metálicas estos materiales orgánicos funcionan como reductores de iones permitiendo la formación de nanopartículas y supliendo los componentes peligrosos y tóxicos usados convencionalmente en los métodos de reducción y a su vez eliminando los desechos y subproductos contaminantes (Mohamed, 2021).

No todos los materiales orgánicos pueden ser utilizados como agentes reductores, diversas investigaciones señalan que estas deben contener al menos uno de los siguientes grupos funcionales, ácidos carboxílicos, alcaloides, aldehídos, aminoácidos, cetonas, fenoles o flavonoides (Singh. 2018). Esto le confiere a la planta una fuerte capacidad antioxidante permitiendo que durante la reacción de biosíntesis el material orgánico genere la reducción de iones permitiendo la formación de nanopartículas metálicas.

Artículos reportan exitosamente el uso de compuestos orgánicos para la formación de nanopartículas, es el caso del trabajo realizado por Fatimah, Hidayat, Hernawan y Saddam en 2020 donde se logró llevar a cabo la biosíntesis de nanopartículas de plata utilizando como agente reductor la flor de *Clitoria Ternatea*, conocida comúnmente como Clitoria azul, se usaron dos métodos de asistencia, por reflujo (R) y por ultrasonido (US). En la figura 1.1 se observa que al analizar las reacciones por medio de un espectrofotómetro UV-Vis en ambas muestras se obtuvieron bandas entre 400-450 nm estos valores son los esperados al analizar una muestra que contiene nanopartículas de plata, pero se observa que en el caso de nanopartículas de plata(US) se obtiene una banda con un máximo mayor que el obtenido por las nanopartículas de plata(R), además se observa que el pico máximo en nanopartículas de plata(US) se encuentra en una longitud de onda menor.

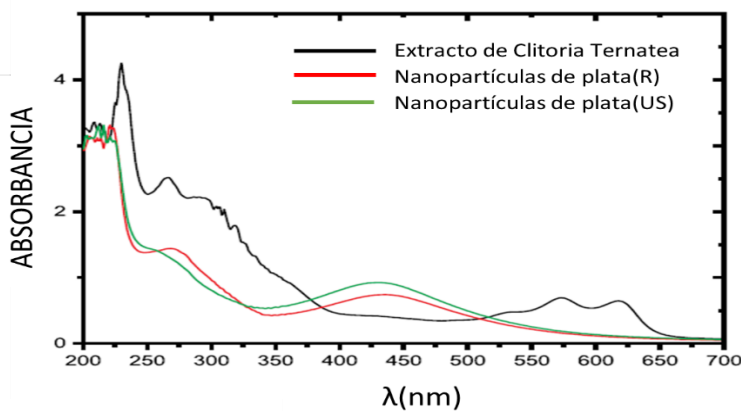


Figura 1.1. Espectros UV-VIS de nanopartículas de plata(R), nanopartículas de plata(US) y Extracto de Clitoria Ternatea (Fatimah, 2020)

Por su parte, Guzmán *et al.*, llevaron a cabo la biosíntesis de nanopartículas de plata en el año 2019 haciendo uso de conchas y exoesqueletos de crustáceos, para ello el material

orgánico se lavó, seco y pulverizo, posteriormente se realizó un extracto de este material el para utilizarlo como agente reductor. El extracto presento una consistencia muy densa y adhesiva lo que afecto a las nanopartículas causando que el extracto se adhiriera a estas generando aglomeraciones, para eliminar estos cúmulos de materia orgánica se empleó ondas ultrasónicas durante la reacción de biosíntesis. En la figura 1.2 se muestra el análisis UV-Vis realizado después de que la muestra fue sometida a 10 y 20 minutos de radiación ultrasónica, los resultados mostraron una absorbancia máxima en aproximadamente 420 nm lo que indico la formación de nanopartículas de plata, además se observó que la banda de absorbancia máxima se redujo cuando la exposición a la radiación ultrasónica fue mayor.

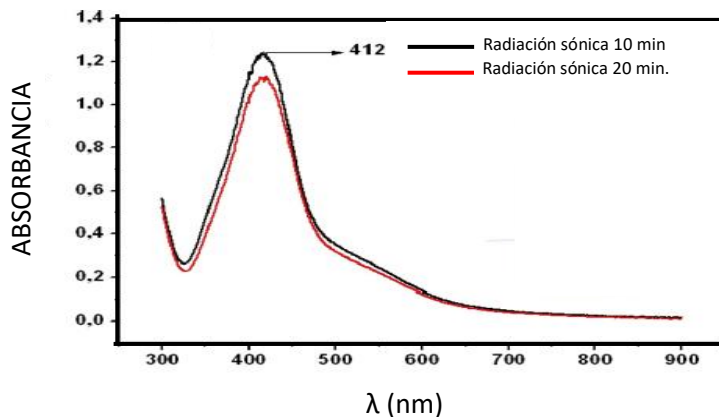


Figura 1.2. Espectros UV-Vis a 10 y 20 minutos de radiación sónica. (Guzmán, 2019)

En 2022 Maulana, Fasya y Ginting lograron obtener nanopartículas de cobre, por medio de biosíntesis, utilizando extracto de raíz de *Polyalthia longifolia*. Para llevar a cabo la caracterización de las nanopartículas se utilizó la espectroscopia UV-Vis. En la figura 1.3 se aprecia la absorbancia máxima en 420 nm un claro indicio de la presencia de nanopartículas de cobre, además la solución obtuvo un característico color verde, visible en la figura 1.4, después de una hora de iniciada la reacción.

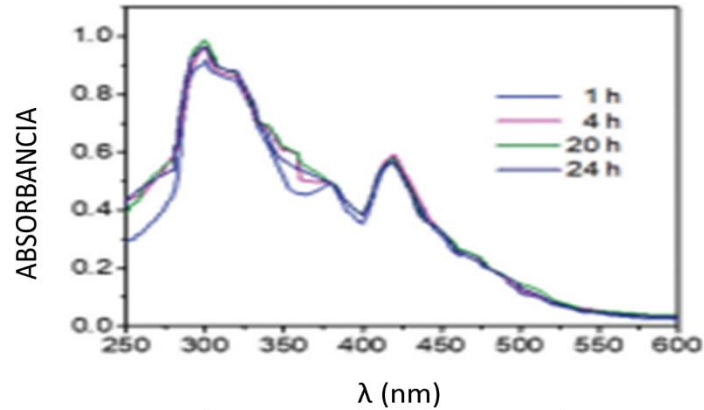


Figura 1.3. Espectros de absorción de nanopartículas de cobre biosintetizadas a 1, 4, 20 y 24 horas. (Maulana, 2022).

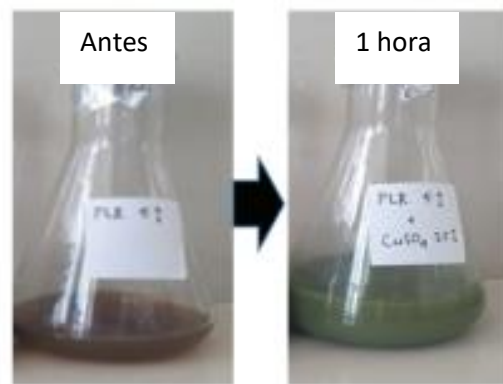


Figura 1.4. Cambio de color en la síntesis de nanopartículas de cobre biosintetizadas (Maulana, 2022).

Los autores Habelian, Varmia y Veisi en 2018 sintetizaron nanopartículas de oro utilizando extracto de tomillo como agente reductor, se lavó las hojas de tomillo con agua desionizada, posteriormente se secó en una incubadora a 25°C. Con un mortero la planta se pulverizó, 2 g de ese polvo fueron disueltos en 300 ml de agua destilada durante 30 minutos, después fue filtrado usando un filtro Whatman No. 1, el extracto se guardó a una temperatura de 4°C.

Para realizar la síntesis de nanopartículas a temperatura ambiente se agregó 10 ml de extracto de tomillo a 100 ml de HAuCl₄-3H₂O 1mM, se agitó durante una hora, posteriormente se centrifugó a 1200 rpm durante 15 minutos. Las nanopartículas obtenidas se lavaron con agua

desionizada para eliminar los residuos biológicos, y finalmente se dejaron secar en una estufa a 50°C.

Para la determinación de actividad antioxidante de las nanopartículas se llevó a cabo un ensayo de eliminación de radicales, se agregó 1 ml de solución con nanopartículas con diferentes concentraciones (10, 40, 60, 80, 100 µg/ml) a 3 ml de solución metanol DPPH con una concentración de 10 mg/ 250 ml. La mezcla se incubo a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se registro la absorbancia de las muestras a 517 nm. La absorbancia del DPPH sin nanopartículas se registró como control. El butilhidroxitolueno (BHT) fue usado como antioxidante estándar. El análisis mostro que las nanopartículas de oro sintetizadas con extracto de tomillo tuvieron una inhibición efectiva contra los radicales libres de DPPH comparándolo con el antioxidante estándar BHT, en la figura 1.5 se aprecia el porcentaje de inhibición el cual aumento conforme se aumentó la concentración de la solución.

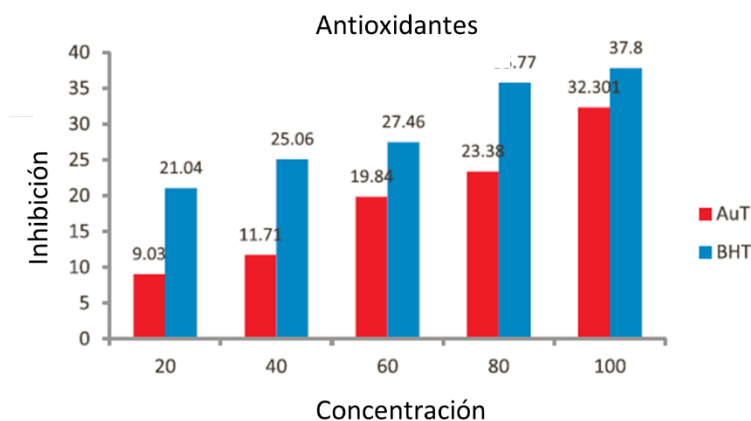


Figura 1.5. Actividad de eliminación de radicales libres de DPPH por nanopartículas de oro sintetizadas mediante extracto de tomillo (Habelian, 2018)

1.6. Biosíntesis de nanopartículas de oro

Las nanopartículas de oro es uno de los nanomateriales más importantes, esto se debe a las propiedades que solo se presentan en este tipo de materiales, algunas de ellas son sus propiedades eléctricas, ópticas, magnéticas, su capacidad para relacionarse con otras moléculas, su morfología y la facilidad con la que se modifica su tamaño, son relativamente inertes y presenta una buena estabilidad, además presenta una conveniente facilidad para ser

sintetizada, esto genera que estas nanopartículas sean utilizadas en multitud de aplicaciones biomédicas, como en la aplicación de fármacos, en terapia fototérmica, radioterapia, tomografías computarizadas y biosensores (Santhosh, 2022).

Llevar a cabo el proceso de biosíntesis de nanopartículas de oro es relativamente sencillo, no se necesitan temperaturas o presiones altas. Primero se lleva a cabo la elaboración del extracto biológico, posteriormente se mezcla con una solución salina de oro, agente precursor, esto provoca la reducción de los iones de oro a átomos de oro, conforme la reacción avanza se genera un crecimiento y estabilidad en las partículas dando como resultado nanopartículas de oro.

En 2021 Barnawi, Allehyani y Seoudi lograron la elaboración de nanopartículas de oro por medio de extracto de jugo de limón como agente reductor y HAuCl_4 como agente precursor. El extracto se obtuvo mezclando 10 ml de jugo de limón con 50 ml de agua destilada, para llevar a cabo la biosíntesis se varió la cantidad de extracto utilizado, 4 ml, 5ml y 6ml. A través de un análisis por espectroscopia UV-Vis, figura 1.6, se observó una banda de absorción máxima en 564 nm, 556 nm y 548 nm, estos valores son los esperados cuando se tiene presencia de nanopartículas de oro.

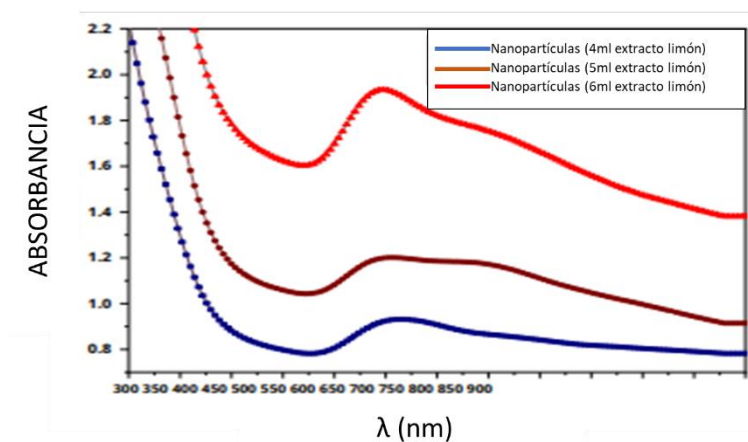


Figura 1.6. Espectros UV-Vis de nanopartículas de oro biosintetizadas con 4ml, 5 ml y 6ml de extracto de jugo de limón (Barnawi, 2021).

En la figura 1.7 se muestran los resultados del análisis TEM que permitió determinar el tamaño y morfología de las nanopartículas. En todas las muestras se presentaron partículas

triangulares, hexagonales, trapezoides, pero las más abundantes fueron las nanopartículas esféricas, sus tamaños promedios dependiendo de la muestra analizada fueron 54nm, 22nm y 28nm, respectivamente.

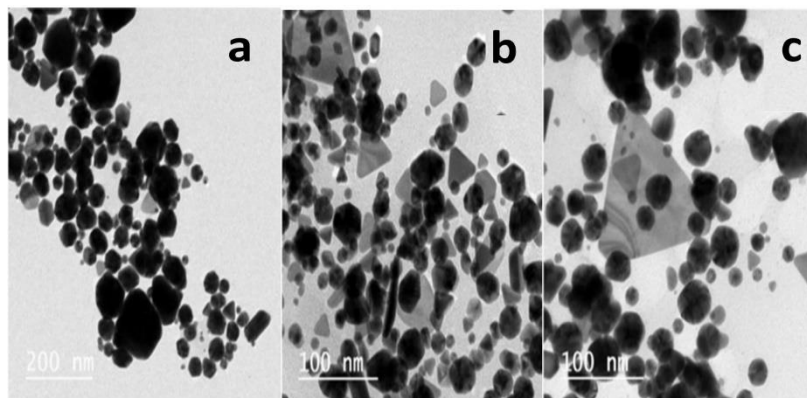


Figura 1.7. Perfiles TEM de nanopartículas de oro realizadas con extracto de jugo de limón a) 4 ml, b) 5ml c) 6ml. (Barnawi, 2021).

Ayyoub *et al.* en 2022 presentaron la elaboración de nanopartículas de oro por biosíntesis, como agente reductor se utilizó un extracto elaborado a partir de hojas secas de *Ditrichia viscosay*. El espectro obtenido, figura 1.8, mostro una banda de absorción en 536 nm, señalando la presencia del nanomaterial.

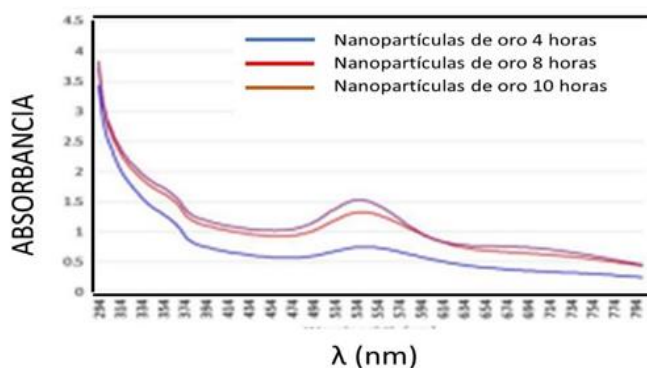


Figura 1.8. Análisis UV-Vis de nanopartículas de oro sintetizadas a partir de hojas de a 4 hr, 8 hr y 10 hr (Ayyoub, 2022).

El análisis TEM mostro que el 95% de las nanopartículas presentaban una morfología esférica, el 5% restante eran triangulares, su tamaño oscilo entre los 20 y 50 nm de diámetro,

además se realizó un análisis DLS para obtener su diámetro hidrodinámico, los resultados se corroboraron con el obtenido mediante TEM.

En 2019 Keijok *et al.*, usaron un extracto obtenido mediante semillas de café, específicamente de la especie *Coffea arabica*. Para la caracterización de las nanopartículas obtenidas se realizó un análisis de espectroscopía UV-Vis mostrado en la figura 1.9, aquí se aprecia una banda de absorción máxima en aproximadamente 556 nm.

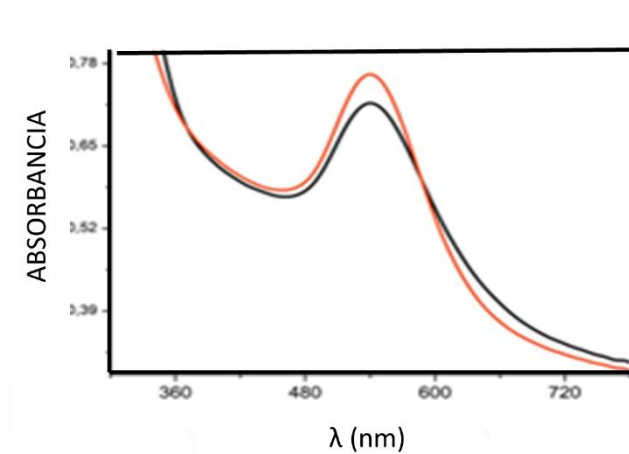


Figura 1.9. Análisis UV-Vis en rojo se observa el espectro teórico, en negro el espectro obtenido de las nanopartículas de oro sintetizadas (Keijok, 2019).

El análisis TEM mostro que las nanopartículas tenían un tamaño de 14.09 ± 3.02 nm, Figura 1.10a. Adicionalmente se obtuvo la relación de aspecto (AR), este valor es la relación que se tiene entre el ancho y la altura de una imagen, el cual fue de 1.17 ± 0.12 , esto nos indica que la morfología de las nanopartículas es cuasi esférica. También fue realizado un análisis de tamaño a través de la técnica DLS, el tamaño de partícula obtenido fue de 500 nm, este es un valor considerablemente más grande que el obtenido en TEM esto se debe a que en ocasiones el extracto crea una “nube”, que rodea a las nanopartículas el cual solo es observado por el DLS al utilizar el diámetro hidrodinámico para calcular el tamaño de las nanopartículas. Para lograr su visualización en TEM los investigadores añadieron un tinte al extracto, Figura 1.10b.

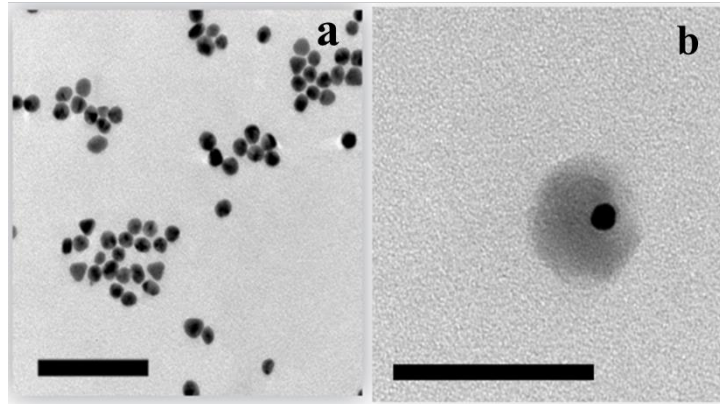


Figura 1.10. Perfiles TEM del lado izquierdo se observa un tamaño de partícula media de 14.9 nm (a), del lado derecho se observa la nube ocasionada por el extracto vegetal (b) (Keijok, 2019).

Finalmente se realizó un análisis de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR, de sus siglas en ingles *Fourier-transform infrared spectroscopy*) al extracto de granos de café y a la solución con nanopartículas de oro, los resultados obtenidos se muestran en la figura 1.11. La banda ubicada en 1550 y 1750 cm^{-1} se atribuye a la molécula de la cafeína, se puede observar la formación de una banda de absorción entre 1150 y 1300 cm^{-1} atribuible al ácido clorogénico, esto puede ser explicado por el proceso oxido-reducción que se lleva a cabo durante la formación de nanopartículas de oro.

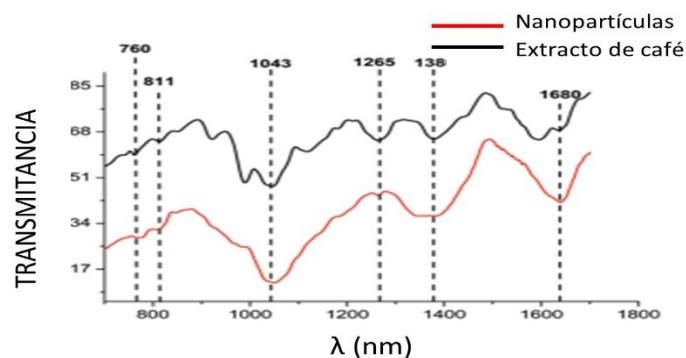


Figura 1.11. Espectros FTIR de extracto obtenido mediante semillas de café (negro) y solución con nanopartículas de oro sintetizadas con extracto de semillas de café (rojo). (Keijok, 2019)

1.7. Deshechos de la industria cafetera

Los registros sobre la planta del café indican que tuvo su origen en las tierras de Abisinial, hoy territorio de Etiopia fue en territorios mediterráneos donde se desarrolló una economía alrededor de este fruto, impulsando su comercio y generando un proceso eficiente para su cosecha.

Es en el año 1795 cuando la planta de café llegó al país de México, esta fue introducida por los inmigrantes franceses que arribaron en las costas de Córdoba, Veracruz, esto ocasiono que los habitantes comenzaran a cosechar el cultivo, gracias a las condiciones ambientales de esta zona la cosecha de este fruto prolifero, convirtiéndose en una fuente económica para el país (INAES, 2019).

Para que la cosecha de café se lleve a cabo se requiere de un clima cálido, con porcentajes altos de humedad, se debe situar entre los 1000 y 1300 metros sobre el nivel del mar y se debe tener una temperatura de cultivo entre los 13 y 26 °C. Son doce estados de la República Mexicana los que cuentan con los requerimientos para la producción de café de calidad, Guerrero, Hidalgo, San Luis Potosí, Nayarit, Colima, Jalisco, Querétaro, Tabasco, Chiapas, Veracruz, Puebla, Oaxaca, sin embargo, el 85% de la producción nacional se concentra en los últimos cuatro estados (SAGARPA, 2017).

El cafeto es el nombre popular con la que se conoce a la planta del café, pertenece a la botánica *Rubiaceae*, se conocen 500 géneros y más de 6000 especies. Entre estas encontramos al miembro *coffea*, esta especie es la más cosechada y comercializada en el mundo, presenta una altura de aproximadamente 10 metros en estado salvaje, aunque en los cultivos su altura se mantiene entre los 4 y 5 metros para facilitar el cultivo de los frutos (Suazo, 2020).

El fruto del cafeto es una drupa recubierta de una cascarilla de color rojo, en algunas ocasiones se puede presentar un color amarillento, su textura es lisa y brillante, la pulpa presenta el mismo color y protege al pergamino. En el centro el fruto dispone de dos semillas con un acomodo semi-simétrico, figura 1.12. La presencia de compuestos como cafeína, ácidos fenólicos, ácidos clorogénicos, ácido 5-feruoliquinico, ligninas, grupos de polisacáridos y diferentes tipos de antocianinas le confieren propiedades antioxidantes. Es

por ello que tanto el grano como la pulpa del café tienen la capacidad de evitar o reducir la formación de radicales libres, ayudando a combatir enfermedades asociadas al estrés oxidativo como la diabetes, la neurodegeneración, las enfermedades hepáticas, cardiovasculares y cáncer (Figueroa, 2019).

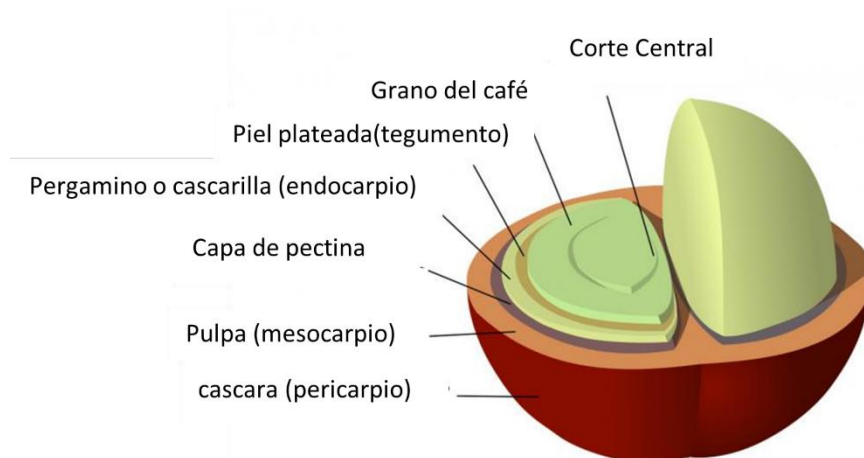


Figura 1.12. Estructura del fruto del cafeto (Heuzé, 2015).

La pulpa genera la mayor cantidad de residuos en la industria del café, generando un problema de contaminación ambiental. La degradación de este material requiere de semanas a meses, dependiendo de los tipos y cantidad de microorganismos que se encuentren en la zona donde se desecharon los residuos. Debido a estos periodos de tiempo tan elevado de degradación y a la generación de residuos constante, se llega a una acumulación muy grande, generando problemas de contaminación (Wong, 2014). Como solución a este problema se han buscado aplicaciones para estos residuos, tal es el caso del compostaje donde la cascara del café es usado en proporciones pequeñas favoreciendo el crecimiento de algunos cultivos, otro ejemplo es la implementación en la comida utilizada en ganados, donde estos residuos son mezclados con la comida común, lo que aumenta el valor nutricional; los residuos deben ser sometidos a un tratamiento previo para evitar la mala absorción nutricional (Bonilla, 2021).

El fruto del café en todas sus partes presenta compuestos que le confieren propiedades antioxidantes, esta característica lo vuelve un buen candidato para actuar como agente reductor en la síntesis de nanopartículas de oro. Existen investigaciones que han usado los granos de café como agente reductor y han logrado sintetizar nanopartículas de oro exitosamente, este es el caso del trabajo realizado por Abbasian y Jafarizadeh en 2020, donde se usó extracto de granos de café para la elaboración de nanopartículas de oro. Como método de caracterización se utilizó espectroscopia UV-Vis el cual se muestra en la figura 1.13, este análisis presento una banda de absorción máxima en 561 nm.

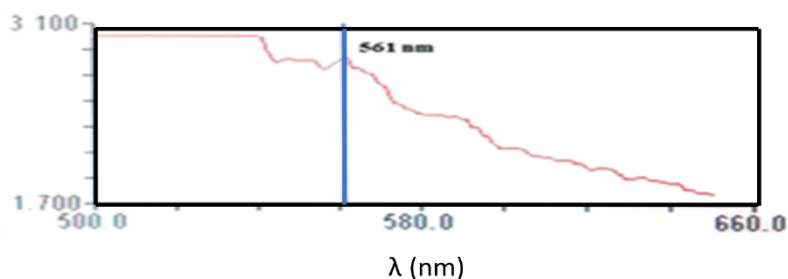


Figura 1.13. Espectro UV-Vis de nanopartículas de oro (Abbasian, 2020).

Posteriormente se realizó un análisis DLS en el cual se observa que las nanopartículas tuvieron un tamaño medio de 1256 nm y un PDI de 0.312, figura 1.14, los valores pequeños en este índice son señal de una mayor homogeneidad en el tamaño de las partículas. Finalmente se realizó un análisis para medir la actividad antioxidante para ello se utilizó el método DPPH arrojando un porcentaje de inhibición de 9.1, señalando una baja actividad antioxidante, según los autores esto puede deberse a la concentración baja de sales metálicas utilizadas en la biosíntesis.

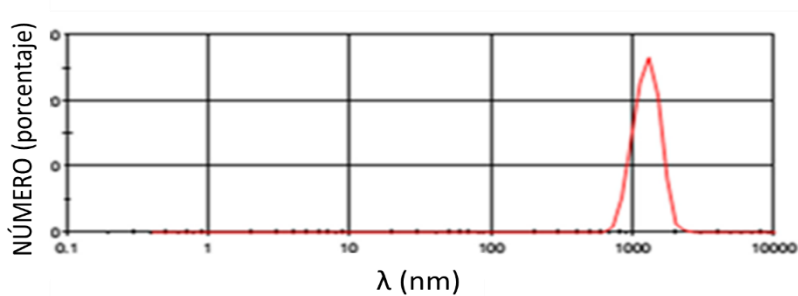


Figura 1.14. Distribución del tamaño de partícula de las nanopartículas de oro sintetizadas (Abbasian, 2020).

Las propiedades antioxidantes del fruto del café han atraído a otros investigadores que buscan aprovechar al máximo las virtudes de esta baya, incluso su pulpa, la cual no es consumida por el ser humano y es desechada en el proceso de recolección de granos, tal es el caso de Bonilla *et al.* quien en 2021 realizó extracto de pulpa de café para su uso como agente reductor en la elaboración de nanopartículas de oro, las cuales se obtuvieron mezclando 200 ml de extracto de pulpa de café, el cual fue calentado en una placa con agitación magnética hasta alcanzar una temperatura de 85°C, posteriormente se añadió 1 ml H_{AuCl}₄ a una concentración de 0.5, 1.25 y 2 mg/ml. Esta mezcla se mantuvo a 85°C durante 1 hora. La caracterización de las nanopartículas obtenidas se llevó a cabo mediante un análisis de espectroscopía UV-Vis, figura 1.15, en todos los espectros obtenidos al analizar las diferentes muestras se observó una banda de absorción máxima centrada en los 520 nm. La resonancia del plasmón de superficie varió proporcionalmente con el aumento en la concentración de H_{AuCl}₄.

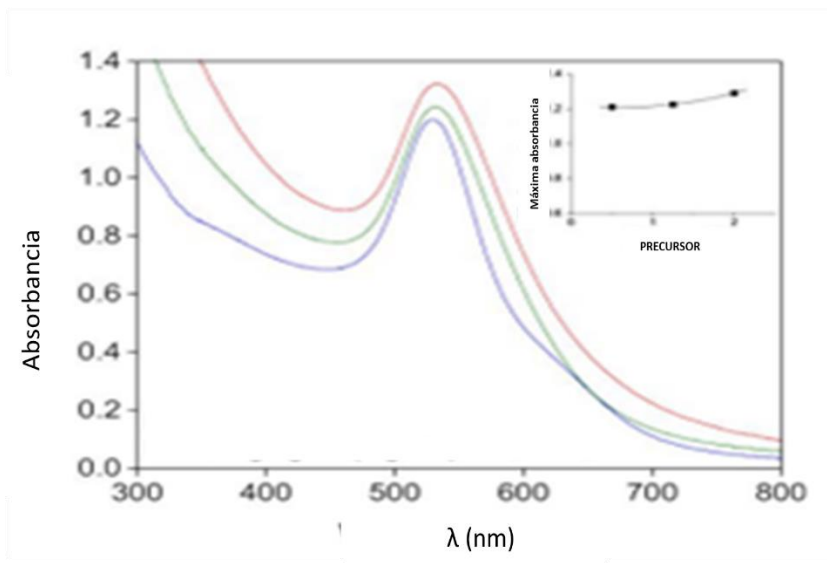


Figura 1.15. Espectro UV-Vis con una concentración (mg/ml) de HAuCl_4 0.5 (azul), 1.25 (verde) y 2(rojo) (Bonilla, 2021).

Posteriormente se realizó un FT-IR al extracto y a la solución con nanopartículas sintetizadas con diferentes concentraciones de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. En la figura 1.16 se observa la aparición de una banda en 3310 cm^{-1} en los espectros realizados a las soluciones con nanopartículas, sugiriendo la formación de estas, también se aprecia que a mayor concentración de HAuCl_4 la absorción máxima en esta banda aumenta.

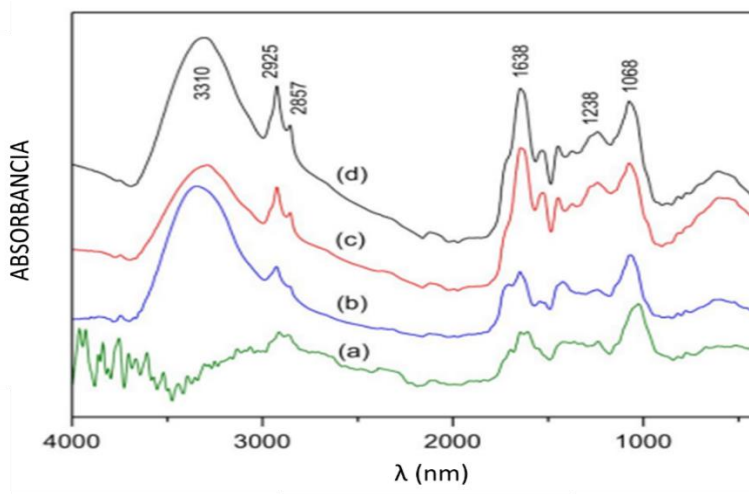
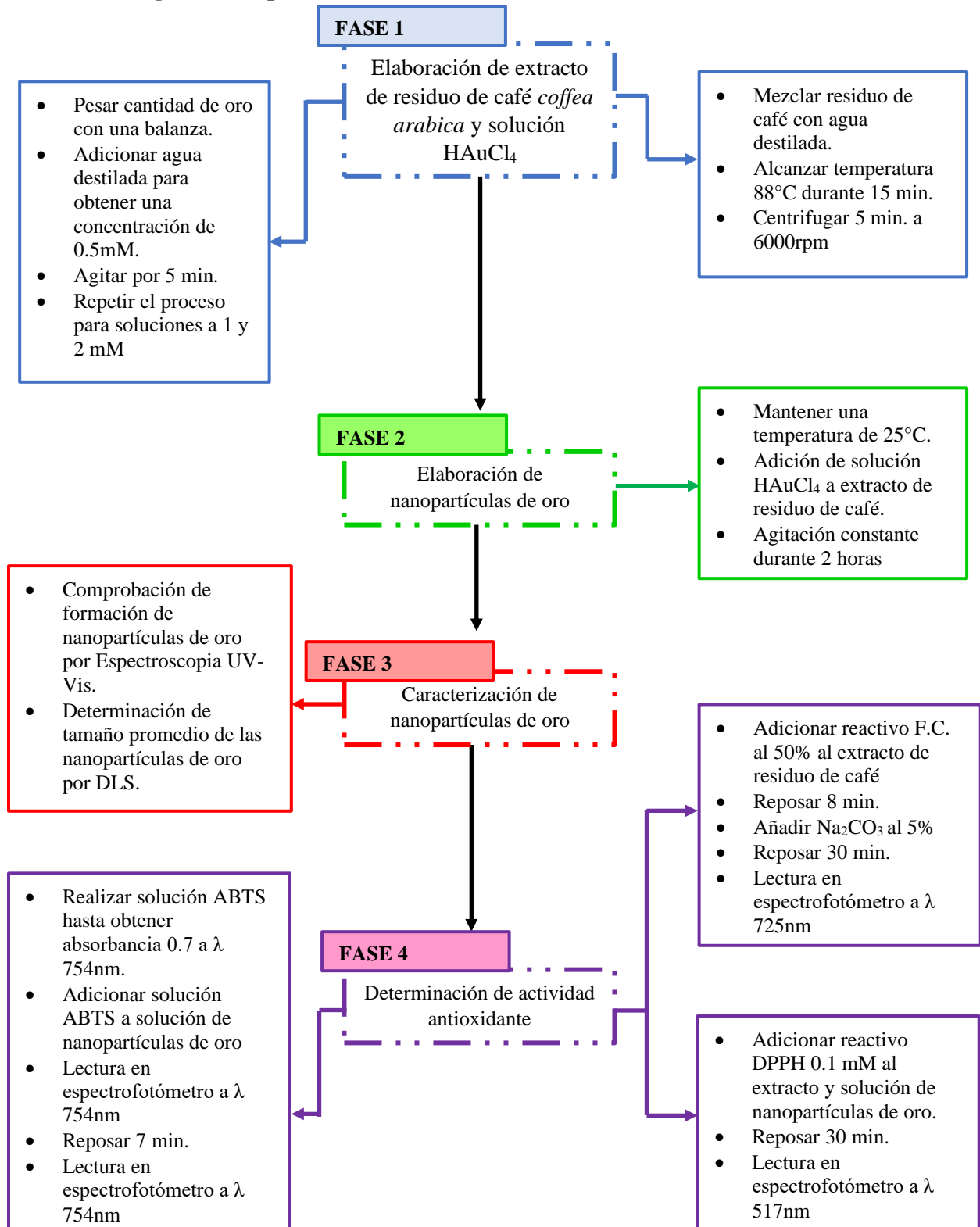


Figura 1.16. FTIR a) Agente reductor (extracto). Los siguientes corresponden a las soluciones con nanopartículas obtenidas con diferentes concentraciones de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, b) 0.5 mg/ml, c) 1.25 mg/ml y d) 2 mg/ml. (Bonilla, 2021)

CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA

2.1. Diagrama del proceso



2.2 Reactivos

Para la reacción se utilizará ácido tetracloroáurico HAuCl_4 (solución de oro) con una pureza del 99.9% de Sigma-Aldrich Química, S. A. de C. V. Para la preparación de las soluciones se utilizará agua tridestilada proveniente de Hycel de México, S.A. de C.V. Los deshechos de café pertenecen a la especie *coffea arabica*, fueron obtenidos deshidratados y molidos en Tochimilco, Puebla. 22% del residuo presenta un tamaño de partícula mayor a 0.335mm, 49.5% entre 0.335 y 0.214mm, finalmente el 28.5% presenta un tamaño menor a 0.214mm.

2.3 Obtención de extracto de residuo de café

El extracto se obtendrá mezclando deshechos de café deshidratados de la especie *coffea arabica* con agua destilada, la mezcla se calentará hasta llegar a una temperatura de 88°C y se mantendrá por 15 minutos. Posteriormente se dejará enfriar a temperatura ambiente y se someterá a un proceso de centrifugación a 3000 rpm durante 5 minutos en el equipo Hermle Z206A, finalmente el extracto se filtrará utilizando papel de 0.2µm.

2.4 Obtención de solución de oro

Para la elaboración de solución de oro se pesará reactivo HAuCl_4 con ayuda de una balanza modelo Adventurer Pro AV114, posteriormente se adicionará agua destilada hasta obtener la concentración deseada, en este trabajo se utilizarán concentraciones de 0.5, 1 y 2 mM.

2.5 Biosíntesis de nanopartículas de oro

La obtención de nanopartículas de oro se obtendrá mezclando solución de HAuCl_4 a las diferentes concentraciones elaboradas y solución de extracto, a una temperatura de 25°C con agitación constante.

2.6 Caracterización de nanopartículas

Una vez realizada la síntesis de nanopartículas de oro, se someterá a un proceso de caracterización a través de espectroscopia UV-Vis, DLS y un análisis de actividad antioxidante por el método DPPH y ABTS.

2.6.1 Espectroscopia UV-Vis

Una de las características de las nanopartículas metálicas es la formación de plasmones de superficie característicos, estos se presentan debido al tamaño de las nanopartículas, la estructura cristalina de sus caras y mayor proporción de átomos presentes en su superficie. De esta manera la radiación suministrada por el espectrógrafo UV-Vis interactúa con los electrones de la superficie de las nanopartículas metálicas, proporcionando datos como el tamaño, cristalinidad y naturaleza química (Duque, 2015). Para el caso específico de las nanopartículas de oro se espera que la banda de absorción máxima se encuentre entre 510 y 570 nm. (Picollo, 2018)

Para llevar a cabo el análisis se hará uso del instrumento Genesys 10S, ThermoScientific. A partir de la síntesis de nanopartículas de oro los análisis se llevarán a cabo a los 30 segundos, 1 minuto, 5 minutos, 30 minutos y cada hora hasta llegar a un total de 5 horas.

2.6.2 Dispersión Dinámica de Luz (DLS)

El análisis consiste en iluminar una muestra que contenga partículas en suspensión, el choque de la luz con las partículas genera fluctuaciones en la intensidad. El equipo lleva a cabo un análisis y mediante estas fluctuaciones obtiene la velocidad del movimiento browniano y por tanto el tamaño de las partículas suspendidas en la solución (Singh, 2018). Para estas mediciones fue necesario realizar una dilución de la muestra de AuNP (50 μ L de AuNP con 1600 μ L de agua tridestilada). Después se somete a sonicación durante 5 minutos para dispersar bien a las nanopartículas, enseguida la muestra se coloca en una celda adecuada. El equipo de medición utilizado fue un Zetasizer nanoseries de Malvern Panalytical.

2.7 Evaluación de compuestos fenólicos totales en extracto de residuo de café

Para llevar a cabo el conteo de compuestos fenólicos presentes en el residuo del café se usa el método Folin-Ciocalteu con ligeras modificaciones (Singleton 1965). Se toman 50 μ l de extracto de café y se mezclan con 250 μ l de Folin-Ciocalteu al 50%, la solución se deja reposar por 8 minutos. Posteriormente la mezcla de ambas soluciones se neutraliza con 1250

μl de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 5%. Finalmente se obtiene la absorbancia de la muestra a una longitud de onda de 725 nm con un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 10s).

2.8 Actividad antioxidante en nanopartículas de oro

2.8.1 Método DPPH

Para analizar la actividad antioxidante se utilizará el método DPPH con algunas modificaciones (William, 1995), para obtener el porcentaje de inhibición del extracto se mezclarán 100 μl de extracto de residuo de café con 900 μl de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) con una concentración de 0.1mM en metanol, posteriormente para obtener el porcentaje de inhibición de las nanopartículas de oro se mezclarán 100 μl con 900 μl de DPPH con una concentración de 0.1mM en metanol, ambos procesos se realizarán a temperatura ambiente por 30 minutos en ambiente oscuro. Posteriormente se medirán la absorbancia de las mezclas a una longitud de onda de 517 nm con un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 10s)(Montiel, 2021).

2.8.2 Método ABTS

Se realizará el método ABTS con ligeras modificaciones (Re, 1999), se elaborará una disolución utilizando 5 ml de agua destilada y agregando 0.0033g de persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) y 0.0194g de reactivo ABTS. Esta disolución se dejará reposar por 16 horas en oscuridad y a temperatura ambiente. Trascurrido el tiempo de reposo se mezclará la solución obtenida con etanol puro logrando obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.002 nm a 754nm. A continuación, en un tubo de ensayo se agregarán 80 μl de solución con nanopartículas de oro y se agregarán 3920 μl de la solución ABTS/etanol. Se medirá su absorbancia inicial a 754 nm se dejará reposar por 7 minutos y se volverá a medir su absorbancia a 754 nm.

2.9 Método estadístico

Los resultados se expresaron como el valor medio $\pm\text{DE}$. Las diferencias significativas se evaluaron mediante análisis de la varianza (ANOVA). Un valor de $p < 0,05$ fue considerado como significativo. Los datos se analizaron con el programa MINITAB 19.

CAPÍTULO III

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A continuación, se presenta la síntesis de nanopartículas de oro usando como agente reductor extracto de residuos de café variando la concentración de la solución de oro (0.5 mM, 1 mM y 2 mM). Además, se muestran los resultados obtenidos de la caracterización de nanopartículas de oro y de las pruebas realizadas para el conteo de fenoles totales y actividad antioxidante.

3.1 Elaboración de extracto de residuo de café

Para la elaboración de extracto se adiciono 1 g de residuo de café a 100ml de agua destilada, se realizó el proceso especificado en la metodología, obteniendo aproximadamente 80 ml del extracto presentando un color café cristalino.



Figura 3.1. Extracto de residuo de café.

3.2 Elaboración de solución de oro

Para la elaboración de las soluciones de oro a 0.5, 1 y 2 mM se tomaron 10 ml de agua destilada y se le agrego 1.9691, 3.9383 y 7.8766 g de reactivo HAuCl_4 , respectivamente, obteniendo soluciones con un color amarillo.

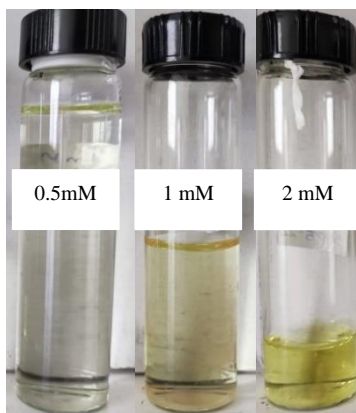


Figura 3.2. Soluciones de oro a diferentes concentraciones (0.5, 1 y 2 mM).

3.3 Biosíntesis de nanopartículas de oro

La biosíntesis se llevó a cabo mezclando 5 ml de extracto de residuo de café más 5 ml de solución de HAuCl_4 con diferentes concentraciones.

3.4 Caracterización de nanopartículas de oro por espectroscopia UV-Vis

En la figura 3.3 se observa el espectro UV-Vis de la síntesis realizada con una solución de oro 0.5 mM. En el gráfico se observa la formación de una banda ancha entre 510 y 570 nm, aproximadamente en 540 nm, esta banda indica la presencia de nanopartículas de oro (Picollo, 2018). El comportamiento de la reacción se monitoreo durante 4 horas, la banda de absorción alcanza un valor máximo, después de dos horas no se aprecia un aumento o una disminución en la absorbancia máxima. Durante la síntesis se observó un cambio de color en la muestra en los primeros segundos de la reacción pasando de un amarillo típico del oro a un violeta claro, figura 3.4.

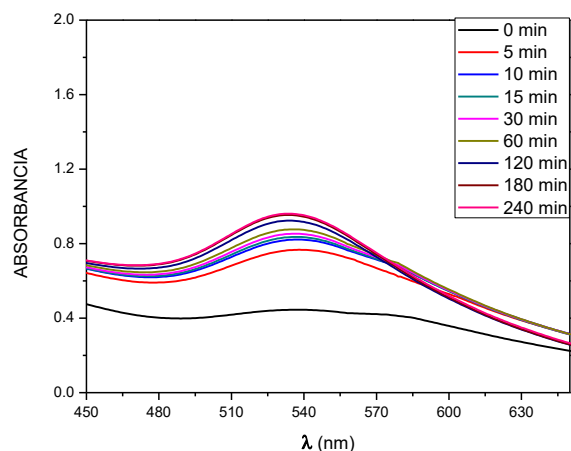


Figura 3.3. Espectro UV-Vis con una concentración de HAuCl₄ 0.5mM.

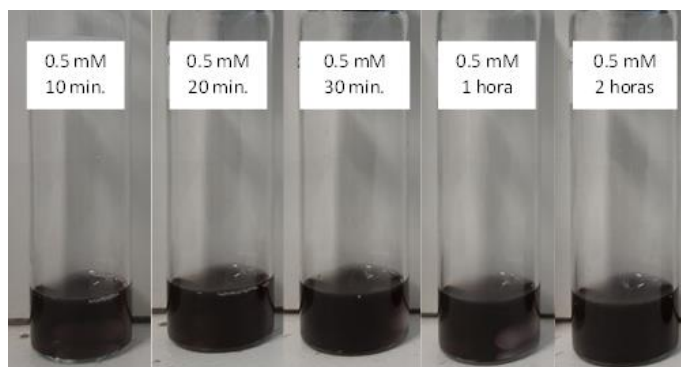


Figura 3.4. Cambio de color de nanopartículas de oro realizadas con concentración de HAuCl₄ 0.5 mM.

La síntesis realizada con solución de oro 1 mM presento un cambio de color más paulatino, mostrando un cambio de color a los 5 minutos. Aproximadamente a los 30 minutos, el color de la solución paso a un violeta oscuro, indicando de manera visual la presencia de nanopartículas de oro, figura 3.5. El seguimiento por espectroscopia confirmo lo apreciado visualmente, figura 3.6. La formación de nanopartículas toma más tiempo que cuando se utilizó una concentración de oro 0.5 mM. Una vez que la reacción comienza se aprecia un aumento en la absorbancia y un estrechamiento de la banda, este comportamiento es similar al reportado por Alhumaydhi en 2022 al sintetizar nanopartículas de oro usando extracto de

Pistacia chinensis. Este autor señala que una absorbancia mayor representa una mayor concentración de nanopartículas presentes en la disolución y que el estrechamiento de la banda puede ser señal de una morfología mayoritariamente esférica con poca presencia de aglomeraciones.

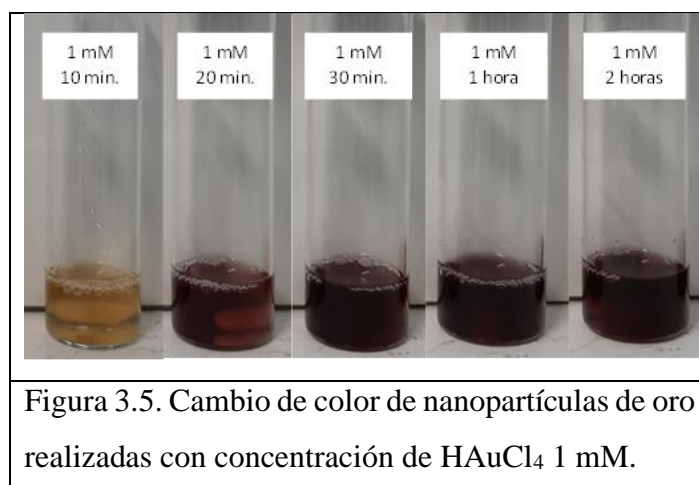


Figura 3.5. Cambio de color de nanopartículas de oro realizadas con concentración de HAuCl₄ 1 mM.

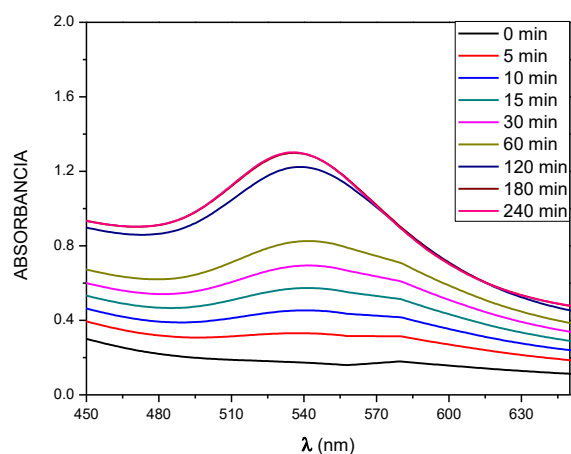


Figura 3.6. Espectro UV-Vis con una concentración de HAuCl₄ 1mM.

Por último, se llevó a cabo la reacción utilizando una solución de oro 2mM, en este caso se presentó una demora considerable en el cambio de color, como puede apreciarse en la figura 3.7, no se aprecia un color morado hasta transcurridos 60 minutos. En la figura 3.8 se aprecia que la banda en los espectros se forma a partir de los 120 minutos en una longitud de onda

aproximadamente de 541 nm, transcurridas 4 horas la banda máxima se recorre a aproximadamente 545nm, además presenta una absorbancia máxima menor a la presentada por la reacción donde se utilizó solución de oro 1mM. Por otra parte, la amplitud de la banda es más ancha lo que sugiere que las nanopartículas podrían presentar aglomeraciones.

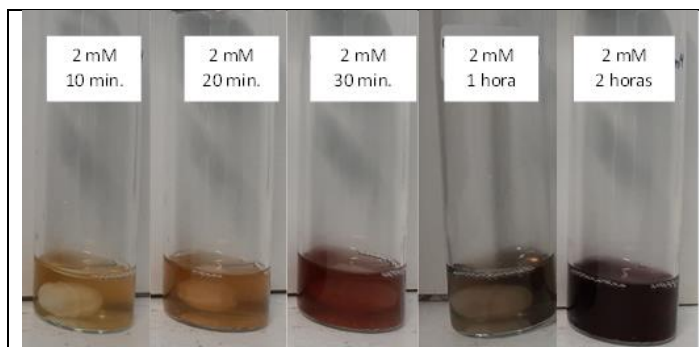


Figura 3.7. Cambio de color de nanopartículas de oro realizadas con concentración de HAuCl_4 2 mM.

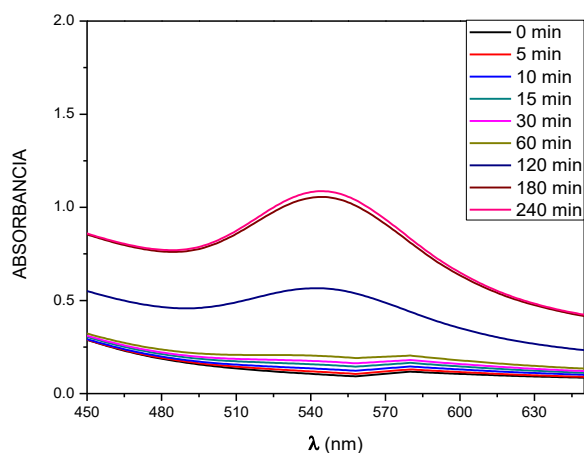


Figura 3.8. Espectro UV-Vis con una concentración de HAuCl_4 2mM.

En la figura 3.9 se compara la absorbancia que se obtuvo en cada muestra respecto al tiempo. En el caso de la solución con una concentración de oro al 0.5mM, en poco tiempo se obtiene un valor de absorbancia que indica la creación de nanopartículas, este valor presenta un ligero aumento transcurridas las 4 horas. En el caso de la reacción con solución de oro 1mM,

la absorbancia tiene valores bajos al inicio de la reacción, transcurridas las 4 horas presenta la mayor absorbancia de los tres casos estudiados. Por último, se analizó la reacción con una concentración de oro 2 mM, la reacción tiene un inicio lento lo que se aprecia en los valores bajos de absorbancia, pero una vez la reacción comienza su valor aumenta obteniendo valores mayores a la obtenida en la reacción de oro al 0.5mM, se aprecia que, debido al retardo en el inicio de la reacción, transcurridas las 4 horas de seguimiento la tendencia de aumento en la absorbancia continua. Resultados similares fueron reportados por Chen *et al.* en 2020 donde se utilizó raíces de *Scutellaria baicalensis* para la formación de nanopartículas de oro variando la concentración de solución de oro, se observó que a mayor concentración de sal metálica la absorbancia máxima aumentaba lo que señala un aumento en la concentración de las nanopartículas de oro obtenidas.

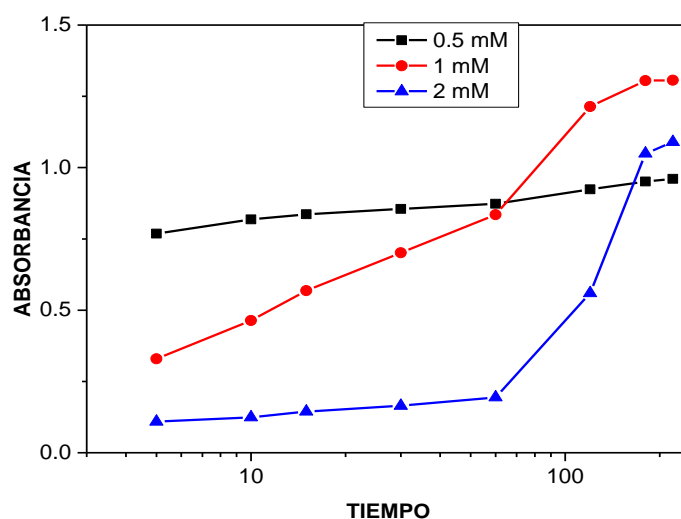


Figura 3.9 Absorbancia vs tiempo de las soluciones realizadas con 2ml de extracto y solución de oro a 0.5, 1 y 2 mM.

Para comprobar la reproducibilidad de las reacciones con diferentes concentraciones de solución de oro, cada reacción se realizó por triplicado a una temperatura de 25°C, se dio seguimiento a los valores de absorbancia máxima en las bandas características de las nanopartículas de oro durante 4 horas, posteriormente se obtuvo la desviación estándar y los resultados obtenidos se muestran en la figura 3.10.

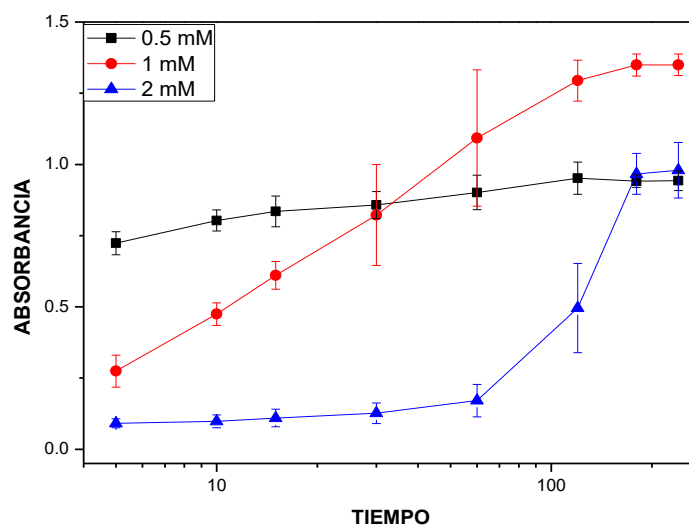


Figura 3.10 Desviación estándar para las reacciones con diferentes concentraciones de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 0.5 mM (línea color azul), 1 mM (línea color verde) y 2 mM (línea color rojo).

Tabla 3.1 ABSORBANCIA MÁXIMA EN NANOPARTÍCULAS DE ORO UTILIZANDO HAuCl_4 A DIFERENTES CONCENTRACIONES

Concentración de HAuCl_4	N	Absorbancia máxima
0.5 mM	3	0.9429 ± 0.0349 b
1 mM	3	1.3498 ± 0.0382 a
2 mM	3	0.9796 ± 0.0977 b

Los valores son promedios de tres repeticiones \pm DE. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$).

Por otra parte, se comparó la longitud de onda obtenida vs. tiempo de las diferentes soluciones. En la figura 3.11, se aprecia que todas las reacciones tuvieron un desplazamiento hacia el azul, este comportamiento es similar al reportado por Barnawi *et al.*, en 2021, quienes sintetizaron nanopartículas de oro utilizando extracto de limón, según estos autores este fenómeno se presenta cuando las partículas se alejan entre si debido a la reducción de su diámetro provocando un alejamiento entre los electrones de las partículas, por tanto el desplazamiento de estas bandas de absorción están relacionados con la disminución de tamaño de la partícula. De acuerdo con la información obtenida, las reacciones con mayor reducción en el tamaño de partícula fueron las que utilizaron una concentración de solución de oro 0.5 mM y 1 mM.

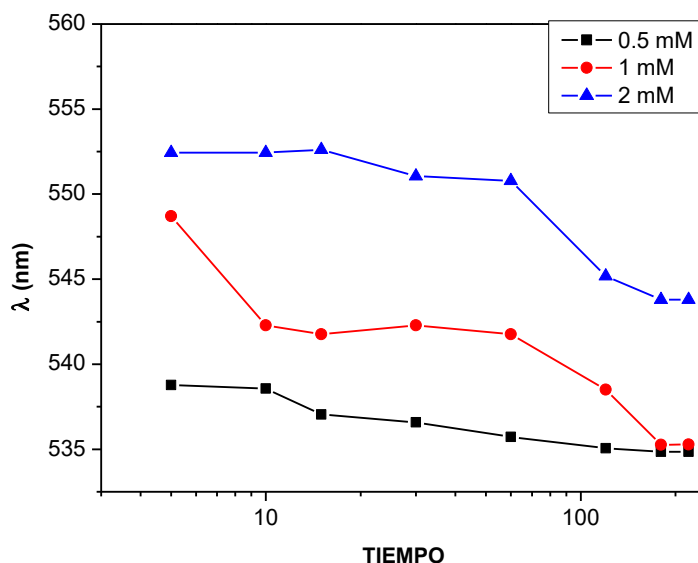


Figura 3.11 Longitud de onda vs. tiempo de las soluciones realizadas con 2ml de extracto y solución de oro a 0.5, 1 y 2 mM.

3.5 Caracterización de nanopartículas de oro por DLS

El análisis DLS en función de la intensidad, se observa en la figura 3.12. Este grafico mostró la presencia de dos señales, sugiriendo la formación de partículas de dos tamaños diferentes.

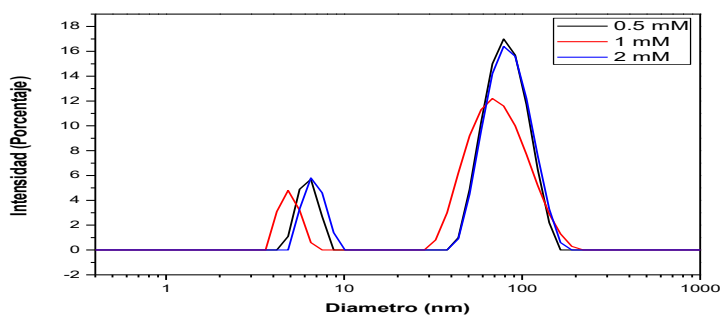


Figura 3.12 Estudio DLS en intensidad para soluciones con concentración de oro 0.5mM (rojo), 1mM (azul) y 2mM (verde).

En la figura 3.13 se aprecia el tamaño de partícula en número. En este grafico se aprecia una mayor presencia de partículas con un diámetro entre 5 y 10 nm, dependiendo de la concentración de oro utilizada durante la biosíntesis de nanopartículas de oro.

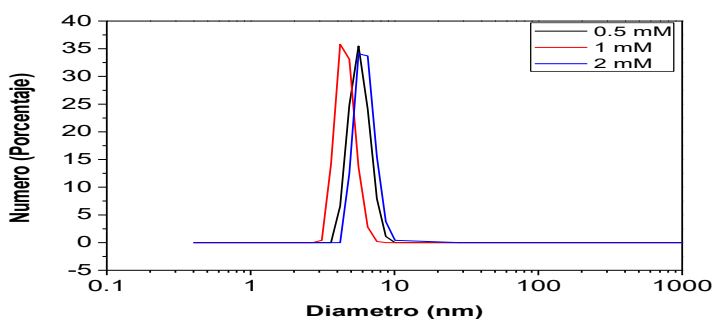


Figura 3.13 Estudio DLS en función del número de partículas para soluciones con concentración de oro 0.5mM (rojo), 1mM (azul) y 2mM (verde).

La distribución del tamaño de las nanopartículas con respecto al volumen se presenta en la figura 3.14. Aquí se puede observar nuevamente la presencia de una sola señal para las diferentes concentraciones de oro, confirmando que estos tamaños son los predominantes en las soluciones que contienen nanopartículas de oro.

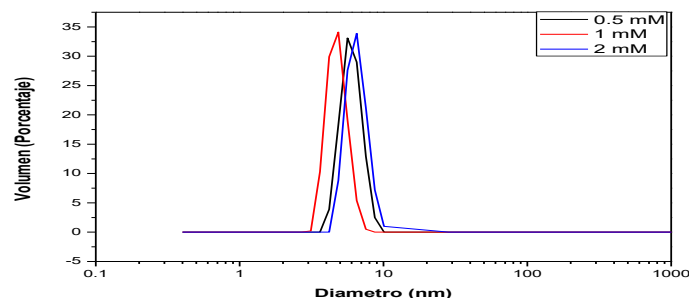


Figura 3.14 Distribución del volumen en función del tamaño de partículas para soluciones con concentración de oro 0.5mM (rojo), 1mM (azul) y 2mM (verde).

Investigaciones enfocadas en la biosíntesis de nanopartículas de oro utilizando como agente reductor extracto de granos de café (*coffea arabica*), reportan diferencias en los resultados obtenidos mediante DLS, tal es el caso de Abbasian *et al.* que en 2020 reportaron un tamaño de partícula alrededor de 1000nm, o Keijok *et al.* en 2019 reportaron un tamaño de partícula de 500nm. En ambas investigaciones se atribuye este fenómeno a la formación de una “nube” de extracto que envuelve a las nanopartículas. Esto no ocurrió al utilizar como agente reductor el extracto del residuo de café, esto puede deberse a las diferentes propiedades de los materiales biológicos utilizados o al uso mínimo de extracto empleado en las pruebas. Keikoj *et al.* obtuvieron el tamaño real de las nanopartículas al realizar un análisis TEM obteniendo valores similares a los reportando en este trabajo con un diámetro de 14.9 ± 3.02 nm.

3.6. Evaluación de compuestos fenoles totales en extracto de residuo de café

El conteo de compuestos fenoles totales presentes en el extracto de residuo de café se llevó a cabo mediante el método de Folin-Ciocalteu. En primera instancia se observó el cambio de color característico ante la presencia de compuestos fenoles en la muestra, la solución paso de un color amarillo intenso característico del reactivo Folin-Ciocalteu a un color azulado, figura 3.15.

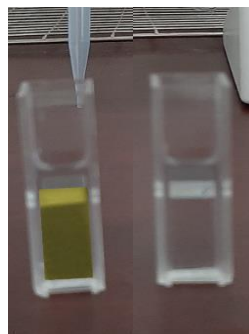


Figura 3.15. Cambio de color del reactivo Folin-Ciocalteu ante la presencia de compuestos fenólicos.

En la tabla 3.2 se muestra el contenido de compuestos fenoles totales obtenidos a través de espectroscopia UV-Vis. Resultados similares fueron reportados por Cruzalegui *et al* en 2021, donde determinaron la cantidad de compuestos fenoles totales presentes en la pulpa de café (*coffea arabica*) deshidratada por el método Folin-Ciocalteu, sus resultados variaron de 26 a 74 mg AG/100g MS cuando utilizaron agua destilada como solvente, los valores variaron dependiendo de la zona donde fue recolectada la muestra de café.

Adicionalmente se realizaron pruebas de actividad antioxidante al extracto de los residuos de café mediante el método DPPH para comprobar el efecto antioxidante que presentan los compuestos fenoles, tabla 3.2. Aquí se aprecia una fuerte actividad antioxidante alrededor del $69.759 \pm 2.005\%$ de inhibición. Estos resultados concuerdan con los expuestos por Valdez *et al.* en 2018 donde se midió el porcentaje de inhibición de la pulpa de café de la especie *coffea arabica* a través del método DPPH arrojando un valor de $70.97 \pm 9.59\%$. También presentan similitud con la investigación realizada por Gomes *et al* en 2019, en ella realizaron pruebas de actividad antioxidante a la cascarilla del café obteniendo porcentajes de inhibición que oscilaron entre 81.37% y 86.29%.

Tabla 3.2 CONTENIDO DE COMPUESTOS FENOLES TOTALES Y PORCENTAJE DE INHIBICIÓN POR EL METODO DPPH EN LOS RESIDUOS DE CAFÉ

Repetición	ml AG/100g Muestra	% de Inhibición por
	Seca	DPPH
1	23.6299	67.4698
2	22.4317	71.2048
3	22.6401	70.6024

3.7. Evaluación de actividad antioxidante en nanopartículas de oro

3.7.1 Método DPPH

Posteriormente se llevó a cabo la medición de actividad antioxidante en las nanopartículas de oro obtenidas usando el extracto de residuo de café como agente reductor. Para llevar a cabo la evaluación de actividad antioxidante, se seleccionaron las muestras con una concentración de oro 0.5mM y 1mM debido a que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos con concentraciones de 0.5mM y 2mM.

En la tabla 3.3 se muestran los resultados obtenidos, las nanopartículas donde se utilizó solución de oro 0.5 mM presentan una mayor actividad antioxidante, posiblemente debido a la cantidad de compuestos fenoles que no lograron reaccionar debido a la baja concentración de solución de oro. En 2020 Abbasian y Jafarizadeh obtuvieron nanopartículas de oro utilizando 10 mL de extracto de granos de café de la especie *coffea arabica* y 10 mL de solución de oro a una concentración de 1 mM, realizaron pruebas de actividad antioxidante mediante la técnica DPPH obteniendo un porcentaje de inhibición de 9.1.

3.7.2 Método ABTS

Para corroborar los datos obtenidos por el método DPPH se realizó una prueba de actividad antioxidante usando la técnica ABTS, Tabla 3.3. Nuevamente se observa bajos niveles de porcentaje de inhibición en ambas muestras con un valor más alto en las nanopartículas donde se utilizó solución de oro 0.5 mM. Bajos porcentajes de inhibición también fueron reportados por Vanna *et al* en 2014, donde obtuvieron nanopartículas de oro utilizando tres

polifenoles obtenidos de plantas y frutos, Epigallocatechin-3-gallate, Resveratrol y Fisetin, para una concentración de nanopartículas de 25 µg/mL los porcentajes de inhibición por ABTS fueron, 6%, 8% y 15%, respectivamente, estos valores aumentaron conforme la concentración de nanopartículas también aumento, obteniendo valores de 46%, 51% y 55% para una concentración de 200 µg/mL.

Tabla 3.3 PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO UTILIZANDO EL MÉTODO DPPH Y ABTS

Concentración de H _{Au} Cl ₄	% Inhibición por DPPH	% Inhibición por ABTS
0.5 mM	5.988 ± 1.587 a	3.527 ± 0.342 a
1 mM	0.992 ± 0.630 b	2.496 ± 0.439 b

Los valores son promedios de tres repeticiones ±DE. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos (p<0,05).

4. CONCLUSIONES

Se realizo con éxito la biosíntesis de nanopartículas de oro utilizando 3 concentraciones diferentes de H_{Au}Cl₄ (0.5mM, 1mM y 2 mM) a temperatura ambiente.

Se llevo a cabo la caracterización de las nanopartículas obtenidas a través del cambio de color a un violeta oscuro, característico de la formación de nanopartículas de oro.

Utilizando espectroscopia UV-Vis se observaron bandas máximas en un intervalo de 510 a 570 nm, señal característica de la presencia de nanopartículas de oro.

Por medio de un análisis DLS se mostró que las nanopartículas poseen un tamaño predominante entre 5 y 10 nm para las tres concentraciones.

La concentración de compuestos fenoles presente en el residuo de café fue de 22.9006 ± 0.64 ml AG/100 g de MS.

El porcentaje de inhibición por el método DPPH para el residuo de café fue de 69.759 ± 2.005, para el caso de las nanopartículas con concentración de 0.5mM se obtuvo 5.9877 ± 2.5178% y para 1 mM 0.9916 ± 0.6301%.

El porcentaje de inhibición por el método ABTS de las nanopartículas de oro a 0.5 mM fue de $3.5270 \pm 0.1169\%$ y 1 mM de $2.4963 \pm 0.1930\%$.

Bibliografía

- Abbasian R., Jafarizadeh H. (2020) Green approach in gold, silver and selenium nanoparticles using coffee bean extract. *Open Agriculture, De Gruyter*. 5, 761. Doi: <https://doi.org/10.1515/opag-2020-0074>
- Alhumaydhi A. (2022) Green Synthesis of Gold Nanoparticles Using Extract of *Pistacia chinensis* and Their In Vitro and In Vivo Biological Activities. *Journal of Nanomaterials, Hindawi*. vol. 2022. Doi: <https://doi.org/10.1155/2022/5544475>
- Ayyoub S., Trad T., Aljabali A., Alshaer W., Al M., Omari S., Fayyad D., Tambuwala M. (2022) Biosynthesis of gold nanoparticles using leaf extract of *Dittrichia viscosa* and in vivo assessment of its anti-diabetic efficacy. *Drug Delivery and Translational Research, Springer*. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13346-022-01163-0>
- Barnawi N., Allehyani S., Seoudi R. (2021) Biosynthesis and characterization of gold nanoparticles and its application in eliminating nickel from water. *Journal of Materials Research and Technology. ELSEVIER*. 17, 537-545. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.12.013>
- Bayda S., Adeel M., Tuccinardi T., Cordani m., Rizzolio F. (2019) The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine. MDPI. Doi: <https://doi.org/10.1515/opag-2020-0074><https://doi.org/10.3390/molecules25010112>

- Bonilla G., Ríos M., Gómez F., Méndez M., Arcila L., Hernández A., Rojas M. (2021) Analysis by response surface methodology of gold nanoparticles obtained by green chemical reduction using aqueous coffee pulp extract (*Coffea arabica*). Canadian Journal of Chemistry. Canadian Science Publishing. 99, 6 Doi: <https://doi.org/10.1139/cjc-2020-0360>
- Cadenas G. (2021) Síntesis de Nanopartículas Metálicas y Estudio de sus Aplicaciones. CIQA. Recuperado el 15 de Junio de 2022 de: <https://ciqa.mx/NanoparticulasMetalicas.aspx>
- Chen L., Huo Y., Xi Y., Feng J., Ali H., Batjikh I., Hurh J., Pu J. y Chun D. (2020) Biosynthesis of gold and silver nanoparticles from *Scutellaria baicalensis* roots and in vitro applications. Applied Physics A. Springer. 124, 424. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00339-020-03603-5>
- Chaves E., Esquivel P. (2019) Chlorogenic acids present in coffee: antioxidant and antimicrobial capacity. Mesoamerican Journal of Agronomy. Scielo SA 30, 1 Doi: <https://doi.org/10.15517/AM.V30I1.32974>
- Chopra H., Bibi S., Singh I., Mehedi M., Saad M., Yousafi Q., Amin A., Rahman M., Islam F., Bin T., Cavalu S. (2022) Green Metallic Nanoparticles: Biosynthesis to Applications. Frontiers. Doi: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.874742>
- Cruzalegui J., Güivin O., Fernández A., Cruz R. (2021). Caracterización de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de pulpa de café (*Coffea arabica* L.) deshidratada de tres fincas cafeteras de la región Amazonas. información tecnológica. 32, 5. Doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642021000500157>
- Duque J., Osorio G., Cuenca J., Riascos H. (2015) Análisis UV-Vis de nanopartículas metálicas crecidas en ambiente líquido mediante PLD. El hombre y la máquina. Redalyc. 47, 37. ISSN: 0121-0777.

- Fatimah, E., Hidayat, H., Hermawan, B. y Huseln, S. (2020) Ultrasound-assisted biosynthesis of silver and gold nanoparticles using Clitoria ternatea flower. South African Journal of Chemical Engineering. ELSEVIER. 34,97-106. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2020.06.007>
- Figueroa E., Pérez F., Godínez L. (2019) La Producción y el consumo del café; ECORFAN; España.
- Gomes J., Borges V., Silva D., Leite C., Correia M., Barbosa M., Caetano S., Silva N. (2019). Total phenolic content and primary antioxidant capacity of aqueous extracts of coffee husk: chemical evaluation and beverage development. Food science and technology. Scielo SA. 39, 348-353. Doi: <https://doi.org/10.1590/fst.36018>
- González V., Kharisov B., Gómez I. (2019) Preparation , optical characterization and stability of gold nanoparticles by facile methods. Revista Mexicana de Fisica. 65, 690-698 DOI: <https://doi.org/10.31349/RevMexFis.65.690>
- Guzman, K., Kumar, B., Vallejo, J., Grijalva, M. y Alexis, D. (2019) Ultrasound-assisted synthesis and antibacterial activity of gallic acid-chitosan modified silver nanoparticles. Progress in Organic Coatings. ELSEVIER. 19, 229-235. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.01.009>
- Hamelian M., Varmira K., Veisi H. (2018) Green synthesis and characterizations of gold nanoparticles using Thyme and survey cytotoxic effect, antibacterial and antioxidant potential. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. ELSEVIER 184, 71 Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.05.016>

- International Coffee Organization (14 de enero 2022) What's New. Recuperado el 18 de enero de 2022 de: <https://www.ico.org>.
- Instituto nacional de la economía social (2019) Historia del café y su cultivo. Recuperado el 18 de enero de 2022 de: <https://www.gob.mx/inaes/es/articulos/historia-del-cafe-y-sucultivo?idiom=es>.
- Keijok J., Arruda H., Contreras A., Ribeiro A., Silva A., Ribeiro J., Pinto J., Cunegundes M. (2019) Controlled biosynthesis of gold nanoparticles with *Coffea arabica* using factorial design. Nature search. Scientific Report 9, 16019. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52496-9>
- Maulana., Fasya D., Ginting B. (2022). Biosynthesis of Cu nanoparticles using *Polyalthia longifolia* roots extracts for antibacterial, antioxidant and cytotoxicity applications. Materials Technology. Taylor and Francis Online. Doi: <https://doi.org/10.1080/10667857.2022.2044217>
- Mohamed A., Abdallah M., Abs M. y Bandar M. (2021) Biosynthesis of silver nanoparticles using *Penicillium verrucosum* and analysis of their antifungal activity. Saudi Journal of Biological Science. ELSEIVER. 28, 2123. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.01.063>
- Mondal P., Anweshan A., Kumar M. (2020) Green synthesis and environmental application of Iron-based nanomaterials and nanocomposite. ELSEIVER. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127509>
- Montiel B., Sanchez G., Ramos M., Luna J., Luna M., Ibarra D. (2021) Propiedades de calidad fisicoquímica y antioxidantes de un licor artesanal de toronjil (*dracopcephalum moldavica* L.). Alianzas y Tendencias BUAP. 6, 75. Doi: <http://doi.org/10.5281/zenodo.5644421>

- Picollo M., Aceto, M. Vitorino T. (2018) UV-Vis spectroscopy. Journal Physical Sciences Reviews. De Gruyter. 4, 4 Doi: <https://doi.org/10.1515/psr-2018-0008>
- Reverberi A., Vocciantea M., Lunghib E., Pietrellic L., Fabianob B. (2017) New Trends in the Synthesis of Nanoparticles by Green Methods. AIDIC. Chemical Engineering Transactions. AIDIC 6, 667-672. Doi: <https://doi.org/10.3303/CET1761109>
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala., Yang M., Rice C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine. ELSEVIER. 26, 1231-1237. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Santhosh P., Genova J., Chamati H. (2022) Green Synthesis of Gold Nanoparticles: An Eco-Friendly Approach. Chemistry. MDPI. Doi: <https://doi.org/10.3390/chemistry4020026>
- Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación (2017) Planeación agrícola nacional 2017 – 2030: Café mexicano; México
- Singh D., Ullah L., Kumar S. (2018) Handbook of Materials Characterization. Springer; Doi: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-92955-2>
- Singh, J., Dutta, T., Kim, KH., Rawat m., Samddar P., Kumar P. (2018) Green synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. Journal of Nanobiotechnology. Springer. 16, 84. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0408-4>.
- Singleton V., Orthofer R. Lamuela R. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Methods in Enzymology. ELSEVIER. 299, 152-178. Doi: <https://doi.org/10.1016/S0076->

- Suazo T. (2020) Caracterización morfológica y molecular de café (*Coffea arabica* L.) UNAN; Nicaragua.
- Subhan A., Priya K., Neogi N. (2020). Advances with Molecular Nanomaterials in Industrial Manufacturing Applications. *Nanomanufacturing*. MDPI. 2, 75. Doi: <https://doi.org/10.3390/nanomanufacturing1020008>
- Valdez B., Oseguera E., Fernández L., Cerón A., Abraham M., Ozuna C. (2018). Efecto del tiempo de almacenamiento en el contenido de compuestos bioactivos presentes en la pulpa de café orgánico. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 3, 692-696.
- Sanna V., Pala N., Dessì G., Manconi P., Mariani A., Dedola S., Rassu M., Crosio C., Iaccarino C., Sechil M. (2014) Single-step green synthesis and characterization of gold-conjugated polyphenol nanoparticles with antioxidant and biological activities. *International Journal of Nanomedicine*. Dovepress 9: 4935–4951. Doi: <https://doi.org/10.2147/IJN.S70648>
- Williams B., Cuvelier M., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food science and technology*. ELSEVIER. 28, 25-30. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Wong J., Guyot S., Rodríguez R., Gutiérrez G., Contreras J., Saucedo G., Aguilar C. (2014). Alternativas Actuales para el Manejo Sustentable de los Residuos de la Industria del Café en México. *Acta Química Mexicana*. 5, 10.

