



---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**ESTUDIO RAMAN Y APLICACIÓN VERDE DE TÉS E INFUSIONES**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**DAFNÉ AYALA LÓPEZ**



**Ciudad Universitaria, CD. MX.**

**2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesor: FRANCISCO ROJO CALLEJAS  
**VOCAL:** Profesor: JOSE GUILLERMO DE JESUS AGUILAR OSORIO  
**SECRETARIO:** Profesor: ROBERTO YSACC SATO BERRÚ  
**1er. SUPLENTE:** Profesor: JUAN RAUL ALVAREZ IDABOY  
**2º SUPLENTE:** Profesor: LUIS ALEJANDRO DIAZ FLORES

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**INSTITUTO DE CIENCIAS APLICADAS Y TECNOLOGÍA (ICAT)**

**ASESOR DEL TEMA:**

\_\_\_\_\_  
Dr. Roberto Ysacc Sato Berrú

**SUSTENTANTE:**

\_\_\_\_\_  
Dafné Ayala López

# Contenido

<b>Resumen .....</b>	<b>9</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>11</b>
<b>Objetivos.....</b>	<b>13</b>
-Objetivo general .....	13
-Objetivos particulares .....	13
<b>Capítulo 1 Generalidades.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1 Té.....</b>	<b>14</b>
1.1.1 Té verde .....	15
1.1.2 Té blanco.....	16
1.1.3 Té negro.....	16
1.1.4 Té rojo.....	17
<b>1.2 Infusiones .....</b>	<b>17</b>
1.2.1 Uña de gato .....	17
1.2.2 Mate de coca .....	19
1.2.3 Rooibos .....	19
<b>1.3 Composición química .....</b>	<b>20</b>
1.3.1 Polifenoles .....	21
1.3.1.1 Aspalatina .....	23
1.3.2 Alcaloides .....	24
1.3.2.1 Alcaloides tetracíclicos .....	24
1.3.2.2 Cocaína .....	27
<b>Capítulo 2 Síntesis verde de Nanopartículas.....</b>	<b>28</b>
<b>2.1 Nanociencia.....</b>	<b>28</b>
<b>2.2 Nanopartículas metálicas .....</b>	<b>28</b>
2.2.1 Aplicaciones.....	29
<b>2.3 Síntesis de nanopartículas de plata .....</b>	<b>30</b>
2.3.1 Química de la plata .....	30
2.3.2 Métodos químicos .....	31
2.3.3 Métodos físicos .....	32
2.3.4 Métodos biológicos .....	34
<b>Capítulo 3 Espectroscopía RAMAN.....</b>	<b>36</b>
<b>3.1 Introducción a la espectroscopía Raman.....</b>	<b>36</b>
<b>3.2 Efecto SERS .....</b>	<b>38</b>
<b>3.3 Aplicación de espectroscopía Raman y Efecto SERS.....</b>	<b>40</b>
<b>Capítulo 4 Técnicas de caracterización .....</b>	<b>41</b>

4.1 Espectroscopía UV-vis .....	41
4.2 Microscopía electrónica de transmisión .....	44
4.3 Espectroscopía de absorción infrarroja .....	45
4.4 Química computacional.....	46
4.4.1 Métodos computacionales .....	46
4.4.1.1 Usos de la química computacional .....	47
4.4.1.2 Programa de cálculo Gaussian 03.....	48
<b>Capítulo 5 Materiales y métodos .....</b>	<b>50</b>
5.1 Reactivos .....	50
5.2 Método de extracción.....	50
5.3 Síntesis .....	51
5.4 Caracterización .....	52
5.4.1 Espectroscopía Infrarroja (IR) .....	53
5.4.2 Espectroscopía UV-visible .....	53
5.4.3 Espectroscopía Raman efecto (SERS) .....	53
5.4.4 Microscopía electrónica de transmisión.....	53
<b>Capítulo 6 Resultados y análisis de resultados.....</b>	<b>54</b>
6.1 Obtención de muestras y síntesis de nanopartículas .....	54
6.2 Espectroscopía Infrarroja (IR) .....	57
6.3 Espectroscopía UV-vis .....	62
6.4 Espectroscopía electrónica de transmisión .....	66
6.5 Espectroscopía Raman .....	68
6.5.1 Espectroscopía Raman: "efecto SERS" .....	69
<b>Conclusiones .....</b>	<b>84</b>
<b>Referencias .....</b>	<b>86</b>
<b>Anexo.....</b>	<b>93</b>
I. Imágenes SERS de la zona donde se detectó señal en cada una de las muestras analizadas en esta tesis .....	93
II. Representación de las estructuras químicas de los compuestos que en la literatura se conocen como reductores de la plata para la generación de nanopartículas obtenidas por el programa computacional Gaussian. ....	96
III. Resumen de factores de escala de frecuencia recomendados (Merrick, Moran, & Radom, 2007)	98
IV. Equipo utilizado en la caracterización.....	99

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Planta del té ( <i>Camellia sinensis</i> ) (Ecología, 2018).....	14
<b>Figura 2.</b> Té verde (Alonso, 2018) .....	15
<b>Figura 3.</b> Té blanco (Alonso, 2018).....	16
<b>Figura 4.</b> Té negro (Alonso, 2018).....	16
<b>Figura 5.</b> Té rojo (Alonso, 2018).....	17
<b>Figura 6.</b> Diversos frutos o hierbas aromáticas utilizadas para hacer infusiones (AETi, 2017) .....	17
<b>Figura 7.</b> a) esquema de la descripción botánica y b) foto de una planta de <i>Uncaria tomentosa</i> (uña de gato) (Quintela & Lock de Ugaz, 2003) .....	18
<b>Figura 8.</b> Arbusto y fruto de mate de coca (cultura, 2018).....	19
<b>Figura 9.</b> Infusión, arbusto y flor de Rooibos (AKBAR, 2018) .....	20
<b>Figura 10.</b> Principales grupos de polifenoles. ....	21
<b>Figura 11.</b> Subgrupos de los grupos principales de polifenoles. ....	22
<b>Figura 12.</b> Catequina y subgrupos de catequina .....	23
<b>Figura 13.</b> Estructura de la Aspalatina encontrada en las hojas de Rooibos. ....	23
<b>Figura 14.</b> Alcaloides de <i>Uncaria tomentosa</i> . Estructuras químicas y su configuración de los centros asimétricos de los alcaloides oxindólicos pentacíclicos 1-6, tetracíclicos 7-10, y de los precursores indólicos respectivos 11-13 y 14-17. Harmano, carboxiestrictosidi (Zúñiga Quiroz, 1998). ....	26
<b>Figura 15.</b> Cocaína; Benzoylmethylecgonine (Sauvain, y otros, 1997) .....	27
<b>Figura 16.</b> Alcaloides con núcleo tropánico encontradas en las hojas de Mate de coca (Arango Acosta, 2008) .....	27
<b>Figura 17.</b> Comparación de tamaños de nanomateriales (Eli, 2016) .....	28
<b>Figura 18.</b> Nitrato de plata .....	31
<b>Figura 19.</b> Diagrama de niveles de energía para el esparcimiento Raman. A) esparcimientos Raman Stokes y b) esparcimiento Raman anti-Stokes.....	37
<b>Figura 20.</b> Proceso de dispersión Raman en ausencia y presencia de nanopartículas metálicas (Hering, y otros, 2008) .....	39
<b>Figura 21.</b> Diagrama del espectro electromagnético (Esopo, 2018) .....	41
<b>Figura 22.</b> Descripción de los desplazamientos electrónicos de nubes en nanopartículas electromagnéticas (K. Lance, Coronado, Zhao, & C. Schatz, 2003) .....	42
<b>Figura 23.</b> Espectro de nanopartículas de plata esféricas 1h y triangulares 24h (Hernández Canales, 2016) .....	43
<b>Figura 24.</b> Esquema para obtención de flavonoides y/o alcaloides a partir de extractos de tés e infusiones usadas para la síntesis de nanopartículas metálicas.....	51
<b>Figura 25.</b> Esquema utilizado para la síntesis de nanopartículas de plata .....	52
<b>Figura 26.</b> Hojas trituradas de A) tés ( <i>Camellia sinensis</i> ) y B) infusiones utilizadas en esta investigación.....	54
<b>Figura 27.</b> Estructuras de los flavonoides que se encuentran en mayor concentración en la planta de <i>Camellia sinensis</i> .....	58
<b>Figura 28.</b> Esquema del mecanismo tentativo para la oxidación por iones metálicos a $\alpha$ , $\beta$ - insaturado de los grupos carbonilo.....	81
<b>Figura 29.</b> Ilustración esquemática del mecanismo de formación y estabilización de nanopartículas de plata en una solución acuosa reducidas por EGCG (Zhu, y otros, 2012).....	83

## Índice de Gráficos

<b>Grafica 1.</b> Espectros FTIR de extractos de té al 5%: A. verde, B. blanco, C. rojo y D. negro .....	57
<b>Grafica 2.</b> Espectro FTIR de extracto de uña de gato al 5% .....	59
<b>Grafica 3.</b> Espectro FTIR de extracto de mate de coca al 5%.....	60
<b>Grafica 4.</b> Espectro FTIR de extracto de rooibos al 5% .....	61
<b>Grafica 5.</b> Espectro UV-vis de los extractos de té diluido al 5% comparando con una solución estándar de catequina 5%.....	62
<b>Grafica 6.</b> Espectros UV-vis de los extractos de infusiones diluidos al 5%.....	63
<b>Grafica 7.</b> Espectros de absorción de la dispersión acuosa de nanopartículas de plata a una concentración final de $10^{-4}$ M obtenidas por los extractos de té ( <i>Camellia sinensis</i> ). A) exposición de las muestras a la luz blanca a 24 horas y 48 horas. B) muestras en la obscuridad por 24 horas y 48 horas.....	65
<b>Grafica 8.</b> Espectros de absorción de la dispersión acuosa de nanopartículas de plata obtenidos con las infusiones de uña de gato, mate de coca y rooibos. A) exposición de las muestras a la luz blanca a 24 horas y 48 horas. B) muestras en la obscuridad durante 24 horas y 48 horas.....	66
<b>Grafica 9.</b> Espectros Raman de los extractos de tés e infusiones al 5%.....	69
<b>Grafica 10.</b> Comparación de los espectros Raman obtenidos en el programa computacional Gaussian 03 de la catequina, EGCG, EGC y el espectro Raman efecto SERS del coloide de plata con el extracto de té verde, te blanco, té rojo y té negro (espectro Raman inferior) .....	71
<b>Grafica 11.</b> Comparación de los espectros Raman obtenidos en el programa computacional Gaussian 03 de la catequina, Rhynchophyllina, Uncarina F y el espectro Raman efecto SERS del coloide de plata con el extracto de uña de gato (espectro Raman inferior). .....	74
<b>Grafica 12.</b> Comparación de los espectros Raman obtenidos en el programa computacional Gaussian 03 de la, cocaína, higrina, cuscohigrina y el espectro Raman efecto SERS del coloide de plata con el extracto de Mate de coca (espectro Raman inferior) .....	77
<b>Grafica 13.</b> Comparación de los espectros Raman obtenidos en el programa computacional Gaussian 03 de la catequina, EGC, aspalatina y el espectro Raman efecto SERS del coloide de plata con el extracto de Rooibos (espectro Raman inferior).....	80

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Cambios de color observados durante el proceso de síntesis de nanopartículas de plata, expuestas a la luz y en la obscuridad de los tés.....	55
<b>Tabla 2.</b> Cambios de color observados durante el proceso de síntesis de nanopartículas de plata, expuestas a la luz y en la obscuridad de infusiones .....	56
<b>Tabla 3.</b> Imágenes obtenidas por espectroscopia electrónica de transmisión de los extractos de tés e infusiones y los respectivos gráficos de distribución de tamaños de nanopartículas.....	67
<b>Tabla 4.</b> Comparación de las vibraciones moleculares calculadas (gaussian 03), experimentales de los coloides de extractos de <i>Camellia sinensis</i> con nitrato de plata y teóricas (literatura): a. (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández , 2013). b. (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007). c. (C. Barthus & J. Poppi, 2001). .....	72
<b>Tabla 5.</b> Comparación de las vibraciones moleculares calculadas (gaussian 03), teóricas (literatura): a. (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández , 2013). b. (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007). c. (C. Barthus & J. Poppi, 2001) y experimentales de los coloides de extractos de Uña de gato con nitrato de plata. ....	75
<b>Tabla 6.</b> Comparación de las vibraciones moleculares calculadas (gaussian 03), teóricas (literatura): a. (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández , 2013). B. (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007). C. (C. Barthus & J. Poppi, 2001). D. (Baranska & Schulz, 2009) y experimentales de los coloides de extractos de Mate de coca con nitrato de plata. ....	78
<b>Tabla 7.</b> Comparación de las vibraciones moleculares calculadas (gaussian 03), teóricas (literatura): a. (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández , 2013). B. (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007). C. (C. Barthus & J. Poppi, 2001). D. (Baranska & Schulz, 2009) y experimentales de los coloides de extracto de Rooibos con nitrato de plata. ....	82

## Abreviaturas

<b>AgNO<sub>3</sub></b>	Nitrato de plata	<b>EGCG</b>	Epigallocatequingalato	<b>cm</b>	centímetro
<b>-OH</b>	Grupo funcional hidroxilo	<b>EGC</b>	Epigallocatequina	<b>μm</b>	micrómetro
<b>-NH<sub>2</sub></b>	Grupo funcional amino	<b>UV-vis</b>	Ultravioleta visible	<b>λ</b>	Longitud de onda
<b>-SH</b>	Grupo funcional tiol o grupo sulfhidrilo	<b>SERS</b>	Surface Enhanced Raman Scattering	<b>Å</b>	ångström
<b>F</b>	Flúor	<b>TEM</b>	Microscopía electrónica de transmisión	<b>m</b>	metros
<b>S</b>	Azufre			<b>eV</b>	electro voltios
<b>CN<sup>-</sup></b>	Cianuro	<b>CVD</b>	Depósito Químico en fase vapor	<b>g</b>	gramos
<b>Zn</b>	Zinc	<b>NP</b>	Nanopartículas	<b>°C</b>	grados Centígrados
<b>PVP</b>	Polivinilpirrolidona	<b>RRS</b>	Resonance Raman Scattering	<b>rpm</b>	revoluciones por minuto
<b>HNO<sub>3</sub></b>	Ácido nítrico	<b>SPR</b>	Resonancia de plasmón de superficie	<b>h</b>	hora
<b>ARN</b>	ácido ribonucleico	<b>EDS</b>	Espectroscopía de dispersión de energía	<b>min</b>	minuto
<b>ADN</b>	ácido desoxirribonucleico	<b>DFT</b>	Método funcional de la densidad	<b>μL</b>	micro litro
<b>H<sup>+</sup></b>	protón	<b>FTIR</b>	Infrarrojo para transformada de Fourier	<b>mL</b>	mililitro
<b>e<sup>-</sup></b>	electrón	<b>nm</b>	nanómetro		

## Resumen

En este trabajo se estudian las moléculas presentes en los extractos de té e infusiones, los polifenoles (catequinas, EGC, EGCG, aspalatina) y los alcaloides (Rhynchophyllina, Uncarina F, cocaína, higrina y cuscohigrina) de las cuales en la literatura se ha reportado su actividad antioxidante.

Para obtener los extractos de los té e infusiones se presenta un método para conseguir los compuestos polares líquido-líquido, que se llevó a cabo entre 2 líquidos inmiscibles a una concentración de 1:1 utilizando un embudo de decantación, la fase acuosa se obtuvo del hervor a 95°C de agua desionizada con 2 gramos de muestra triturada, se centrifugó a 25000 rpm / 15 min y en la fase orgánica se utilizó n-hexano, después del proceso de adición de las fases y agitación de la mezcla, se separan las fases en las que la fase acuosa se encuentra en la parte inferior del embudo siendo esta la fase polar, la cual contiene los polifenoles y alcaloides de los extractos.

El estudio cualitativo de la fase polar de los extractos naturales de té e infusiones fue por medio de la espectrofotometría UV-vis en los cuales obtuvimos bandas características, con respecto a las a los cuatro té (*camellia sinensis*) se obtuvo en promedio 270 nm y en el caso de las infusiones se obtuvo en promedio 276 nm. También se caracterizaron por medio de espectros FT-IR los cuales muestran bandas características de los compuestos estudiados.

Las nanopartículas de plata fueron sintetizadas mediante un método de oxidación-reducción debido a la naturaleza antioxidante de los compuestos polares de los extractos a partir de una solución de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) 0.1 M, facilitando la formación de nanopartículas de plata sin residuos contaminantes y/o tóxicos. Los coloides obtenidos, a simple vista, se podía ver un cambio en la coloración de un amarillo translúcido a un amarillo fuerte o a un color naranja. Con respecto a la caracterización con la espectroscopía UV-vis se obtuvieron bandas en ~440 nm que indica la formación de nanopartículas esféricas, también se realizó un estudio de estos coloides con la espectroscopía electrónica de transmisión que nos permitió ver la forma real de las nanopartículas obtenidas, las cuales son esféricas de tamaño promedio de  $5 \pm 1$  nm.

Por medio de la amplificación Raman: "efecto SERS", se estudiaron las moléculas como los flavonoides y los alcaloides ya que por su naturaleza producen un fenómeno de absorción de luz (efecto de fluorescencia) enmascarando las bandas Raman, para poder reducir este ruido, se realizó la síntesis de nanopartículas de plata en el que se aumentó la señal Raman, procedente de las

moléculas de los extractos cuando están en contacto con un metal (Ag) y no haya pérdida de información. Y por último se realizó un estudio teórico de las moléculas reductoras ya mencionadas por medio de la Teoría de Funcional de la Densidad (por sus siglas en inglés: DFT), con el programa computacional Gaussian 03, se predijeron los espectros Raman, los cuales se compararon con los resultados experimentales.

## **Introducción**

Las espectroscopias intensificadas han sido de gran interés ya que se emplean para el análisis cuantitativo de prácticamente cualquier material, ya sea orgánico o inorgánico. Sus principales ventajas radican en que no es necesaria ninguna preparación de la muestra a estudiar y que se trata de un proceso no destructivo (Gutierrez Cano & Otero Márquez , 2014).

El efecto SERS (Surface-Enhanced Raman Scattering) se descubrió en los años setenta y consiste en un aumento de la difusión inelástica (señal Raman), procedente de determinadas moléculas en presencia de una nanoestructura metálica. Actualmente existen dos mecanismos fundamentales que explican el aumento de la intensidad Raman; el modelo electromagnético y el modelo químico o de transferencia de carga. Ambos contribuyen al efecto SERS aunque la contribución de cada uno depende del sistema a estudiar. La técnica SERS implica un aumento de la sensibilidad como de la selectividad (García Ramos & Sánchez Cortés, 2006).

La mecánica cuántica se considera como uno de los logros trascendentales realizados por la comunidad científica mundial, la misma que ha abierto un nuevo enfoque en las futuras investigaciones y aplicaciones. La química cuántica está presente en los campos de la química como es la cinética, espectroscopía, la ciencia de los materiales o el diseño de los fármacos, siendo uno de los motores básicos de su desarrollo. El nivel de aproximación teórica queda definido por cada problema. Así, el hidrógeno, helio o análogos pueden ser tratados con un alto nivel de exactitud, con respecto a problemas que involucran muchos electrones (átomos y moléculas) (Cjuno H. & Arroyo Cuyubamba, 2003). Una de las tareas de la química computacional es la determinación de estructuras y sus propiedades moleculares mediante el uso de mecánica molecular, métodos semiempíricos y teorías de orbitales moleculares (Angulo Cornejo & F. Tovar, 2014).

Las nanopartículas son de gran importancia debido a su tamaño y propiedades electrónicas y ópticas dependientes de la forma. Por lo tanto, se han utilizado en distintos campos como la catálisis, fotónica y dispersión Raman de superficie mejorada (por sus siglas en inglés: SERS) (Ramirez & Jaramillo, 2016).

Se ha descubierto que las nanopartículas de metal tienen una muy alta sensibilidad en la detección biomolecular, diagnósticos antimicrobianos, terapéuticos, catálisis y microelectrónica. La síntesis de nanopartículas metálicas ha atraído la atención en diversas áreas de la ciencia particularmente en las

ciencias químicas, físicas, materiales, biológicas, alimentos, médicas, ópticas, de ingeniería y mecánicas. Las propiedades de las nanopartículas metálicas dependen principalmente de su tamaño, forma, morfología, composición y fase cristalina, así como su superficie (Ali, Arfan, & Shahverdi, 2013).

La producción de las nanopartículas de plata con diferentes morfologías y tamaños ha sido realizada durante la última década usando diferentes métodos. Las técnicas rutinariamente fisicoquímicas para la producción de nanopartículas, como la reducción fotoquímica, la ablación con láser, la electroquímica, la litografía, la irradiación de alta energía, siguen siendo costosas o emplean sustancias peligrosas tales como disolventes orgánicos y agentes reductores tóxicos como borohidruro de sodio y N, N-dimetilformamida. El desarrollo de procesos fiables y ecológicos para la síntesis de nanomateriales es un aspecto importante de la nanotecnología. Debido a la creciente necesidad de minimizar o eliminar el uso de sustancias de riesgo ambiental, como lo describen los principios de la química verde, la síntesis de nanopartículas metálicas utilizando entidades biológicas ha recibido una creciente atención en la última década. Los procesos biosintéticos conllevan el uso de organismos vivos, tales como bacterias, hongos y plantas o biomasa, como extractos de plantas, que es en lo que se enfocó este trabajo.

Las plantas producen diversos componentes orgánicos. Se ha demostrado en diversas investigaciones la efectividad de síntesis de nanopartículas de plata utilizando distintas especies de plantas. Tal reacción de reducción es debido a la presencia de fitoquímicos como flavonas, cetonas, aldehídos, amidas, ácidos carboxílicos entre otros compuestos (K. Jha & Prasad, 2013).

El enfoque respetuoso con el medio ambiente tiene mucha más importancia sobre los métodos químicos y físicos, la cual resulta más fácil de manejar. Además, no hay necesidad de usar presión, energía o productos químicos tóxicos. En la síntesis verde de nanopartículas fue utilizada la reacción oxido - reducción (Jayaseelan , y otros, 2011).

La presente investigación se refiere a una pequeña parte del estudio de las moléculas presentes en los extractos de tés (té verde, té rojo, té negro, té blanco) e infusiones (uña de gato, mate de coca y rooibos), además de que se utilizan métodos económicos y ambientalmente limpios para sintetizar nanopartículas y así facilitar el estudio de estas moléculas.

# **Objetivos**

## **-Objetivo general**

Caracterizar los extractos moleculares obtenidos de tés e infusiones mediante espectroscopía Raman: “efecto SERS”.

## **-Objetivos particulares**

- Implementar una metodología de extracción de flavonoides o moléculas con propiedades reductoras en muestras de té e infusiones.
- Caracterizar los extractos mediante técnicas espectroscópicas.
- Obtener nanopartículas metálicas utilizando como agente reductor las diferentes infusiones y tés.
- Estudiar las moléculas reductoras por espectroscopía Raman: “efecto SERS” en las diferentes muestras (extractos).

# Capítulo 1 Generalidades

En las plantas los metabolitos secundarios juegan un papel importante en la adaptación al entorno, son compuestos químicos cuyas interacciones tienen una gran complejidad, son responsables de varias funciones como estabilización de la estructura, condensación de fenoles y quinonas, interacciones electrostáticas de poliaminas en componentes celulares, fotoprotección, antioxidante y anti radical por la disponibilidad de los grupos -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, núcleos aromáticos y cadenas alifáticas insaturadas (K. Jha & Prasad, 2013).

## 1.1 Té

El té proviene de las hojas de *Camellia sinensis*, comenzó como una medicina y sólo más tarde se convirtió en bebida, la más consumida en el mundo. Se creó que fue descubierta accidentalmente por el rey Chino, Shen Nong, cerca del año 3000 a.c. (Juneja, Kapoor, Okubo, & Rao, 2013). Las propiedades sensoriales y los efectos estimulantes, con beneficios potenciales para la salud, hacen que esta bebida sea muy popular. Es un arbusto de hoja perenne que crece principalmente en climas tropicales y subtropicales y requiere por lo menos cincuenta pulgadas de lluvia anuales con preferencia por suelos bien drenados que tienen un pH ácido de 4,5 a 5,5. La planta de té puede originar cuatro tipos principales de té, por lo general clasificados en tres categorías: té no “fermentado” (té blanco y verde), semi-“fermentado” (té rojo) y totalmente “fermentado” (té negro). Esta clasificación se basa en las diferencias que se producen en los procesos de recogida y fabricación, lo que resulta en diferentes composiciones químicas. En este trabajo el término fermentación se refiere al proceso en el cual hay una oxidación de los de los componentes de las hojas frescas de *Camellia sinensis*, modificando las características químicas, lo que conlleva que el té cambie de color y libere sustancias aromáticas, pero al no tener uno de los productos principales de la fermentación, el alcohol, no es realmente una fermentación.



**Figura 1.** Planta del té (*Camellia sinensis*) (Ecología, 2018)

Tras la cosecha, las hojas sufren un proceso de oxidación enzimática, comúnmente llamado "fermentación". Este proceso ocurre con la exposición al aire por una reacción, que implica a la enzima polifenol oxidasa. Como era de esperar, según el nivel de "fermentación", los tipos de té tienen diferentes composiciones químicas (perfiles fenólicos), propiedades organolépticas, apariencias y gustos (Powell, 2015) (R. Preedy, 2013).

A pesar de que desde hace muchos años se conocen algunos efectos benéficos del té, los estudios científicos de actividades biológicas, incluyendo antimutagénicos, anticancerígenos y antioxidantes, se iniciaron recientemente. Entre estos estudios, los compuestos antioxidantes han recibido atención por diversos investigadores porque la ingestión de estos productos químicos ayuda a prevenir el daño oxidativo in vivo, como la peroxidación de lípidos, asociada con muchas enfermedades, incluyendo el cáncer, la aterosclerosis, la diabetes, el envejecimiento, la artritis y la deficiencia inmunitaria (Yanagimoto, Ochi, Lee, & Shibamoto, 2003).

Hábitat: se cultiva principalmente en China, India, Sri Lanka, Japón, Indonesia y varios países africanos y sudamericanos.

### 1.1.1 Té verde



*Figura 2. Té verde (Alonso, 2018)*

Descripción: el té verde se produce típicamente cosechando las primeras dos a tres hojas del brote, que tienen sabor y aroma únicos, de cada planta. La recolección de hojas de té frescas se repite generalmente cada una a dos semanas, dependiendo de donde crece. Una vez cosechadas, las hojas frescas se secan inmediatamente para evitar el proceso de "fermentación" inhibiendo la actividad polifenol oxidasa causante de la oxidación de los compuestos polifenólicos del té verde. La inactivación de la polifenol oxidasa en hojas de té frescas se logra generalmente por cocción o por vaporización. Las hojas de té son luego moldeadas (laminadas), secadas, envasadas y etiquetadas para su distribución y comercialización.

La calidad final del té verde depende de la calidad de las hojas de té frescas que se cosechan. Los atributos naturales de las hojas frescas de té, incluyendo el color y el aroma, se deben conservar durante la fabricación para producir el té verde de alta calidad (R. Preedy, 2013).

### 1.1.2 Té blanco



*Figura 3. Té blanco (Alonso, 2018)*

Descripción: el té blanco es un té mínimamente procesado. Los brotes de té fresco con abundantes tricomas (vellosidades blancas), se marchitan bajo condiciones ambientales naturales durante unos días y luego secado al sol. El producto final parece blanquecino debido a los densos tricomas blancos de hojas que cubren los brotes de té.

### 1.1.3 Té negro



*Figura 4. Té negro (Alonso, 2018)*

Descripción: el té negro es un té totalmente “fermentado”, su proceso consta de los siguientes pasos: marchitamiento-laminación-“fermentación”-secado. Las hojas frescas se marchitan en aire caliente y se enrollan en una máquina de laminación cilíndrica. Las hojas laminadas se “fermentan” bajo temperatura y humedad controladas, durante las cuales los polifenoles del té son oxidados por la enzima polifenol oxidasa, resultando en la formación de pigmentos de té rojo y naranja.

### 1.1.4 Té rojo



**Figura 5.** Té rojo (Alonso, 2018)

Descripción: el té Pu-erh es un té post-“fermentado”, y su fabricación incluye procesamiento de té crudo, “fermentación” y compresión. Las hojas frescas se fijan y se enrollan como té verde. Las hojas enrolladas se secan al sol y se utilizan como té crudo para la post-“fermentación”. El té crudo se hace húmedo y se amontona durante unos meses, durante el cual la post-“fermentación” tiene lugar por la acción del moho. Las hojas “fermentadas” finalmente se comprimen en tortas o ladrillos (Zheng, Li, Xiang, & Liang, 2016).

## 1.2 Infusiones

Son las bebidas calientes realizadas con hierbas distintas a *Camellia sinensis* y frutas. Al igual que los tés, las infusiones se han vuelto muy populares. Los fitoquímicos (compuestos biológicamente activos de las plantas) han estado recibiendo mayor atención debido a sus importantes y reconocidos beneficios para la salud, proporcionando una protección potencial contra varios daños biomoleculares (Barroso, y otros, 2016).



**Figura 6.** Diversos frutos o hierbas aromáticas utilizadas para hacer infusiones (AETi, 2017)

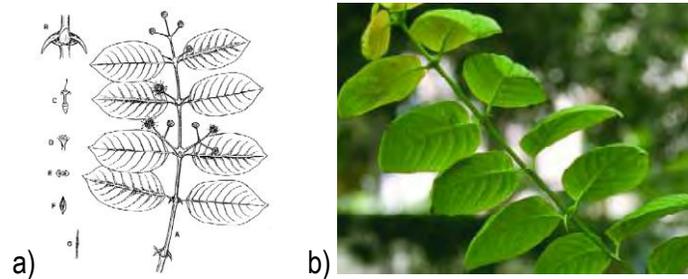
### 1.2.1 Uña de gato

El nombre científico es *Uncaria tomentosa* (Wild) está distribuida principalmente en el área tropical de África y Asia. En Sudamérica, desde las Guayanas y Venezuela hasta Bolivia y Brasil. Es una planta típicamente peruana. En este país está circunscrita a la Selva baja, ceja de selva y Selva alta, crece en climas tropicales y lluviosos, en zonas de bosques altos con abundante luz solar.

Descripción: la planta Uña de Gato en la pos cosecha se limpia la parte externa de la corteza (musgos, líquenes) y se seca al sol. El buen secado es muy importante para evitar la contaminación con hongos y la podredumbre.

Descripción botánica.

Es una planta perteneciente a la familia *Rubiaceae*, arbusto trepador que sube a los árboles aledaños a su nacimiento formando enredaderas que alcanzan 20 metros de altura. Las ramas jóvenes son cuadrangulares y los tallos poseen espinas ganchudas y leñosas, dirigidas hacia abajo pero no retorcidas, que llegan a medir hasta 2 cm de largo. Estas espinas son las que le dan origen a su nombre común de uña de gato (Figura 7).



**Figura 7.** a) esquema de la descripción botánica y b) foto de una planta de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) (Quintela & Lock de Ugaz, 2003)

Las hojas son pecioladas, opuestas, de forma oblonga y de color verde amarillento, opaco en el haz y verde pálido en el envés, con finos vellos característicos del término “tomentosa”. El fruto es bivalvo, oblongo y las semillas son fusiformes, longitudinales y pequeñas (Quintela & Lock de Ugaz, 2003).

Aunque los principales compuestos activos, como los alcaloides, han sido estudiados mayormente en la corteza de *Uncaria*, estas pueden también estar presentes en diferentes partes de la planta. Sin embargo, las propiedades de la uña de gato no se debe exclusivamente a la presencia de alcaloides, existen otros metabolitos secundarios que en conjunto presentan una acción sinérgica las cuales tienen efectos benéficos sobre el organismo humano, como los polifenoles, grupo químico importante, que se encuentra presente en muchas plantas medicinales (Romero Paucar, 2014).

Se han reportado usos medicinales de hojas de *U. tomentosa Willd* para el tratamiento del sarampión, la raíz se ha utilizado como anticancerígeno, antiinflamatorio en el tratamiento de artritis. Keplinger (1982) reportó reducciones estadísticamente significativas del edema (hinchazón causada por

acumulación de líquidos en el cuerpo) mediante el uso de alcaloides. Kreutzkamp B. (1984), encontró componentes de bajo peso molecular con efectos inmuno estimulantes, se estudia también el efecto biológico de esta planta sobre los eritrocitos y en diferentes cepas de bacterias. Ellos consideraron que el grupo de las sustancias activas eran los indolalcaloides (Ramírez, 2003).

### 1.2.2 Mate de coca

De la familia *Erythroxylum coca* es una especie botánica de planta con flor sudamericana de la familia de las *Eritroxiláceas* originaria de las escarpadas estribaciones de los andes amazónicos. Crece hasta 2.5 m de altura, de tallos leñosos y hojas elipsoidales, pequeñas y de color verde intenso. Sus frutos, de color rojo, tienen forma ovoide y miden alrededor de un centímetro. Las hojas son arrancadas por el peciolo y secadas al sol para su posterior venta y comercialización.



**Figura 8.** Arbusto y fruto de mate de coca (cultura, 2018)

Su cultivo y el conocimiento de sus efectos neuro-estimulantes por el habitante de Perú, data de épocas remotas, sin duda mucho antes de la fundación del imperio Incaico.

En 1832, el médico alemán Eduard Poepping, revela que el masticado de las hojas de coca y la ingestión de bebidas alcohólicas por los campesinos peruanos era como una forma de aliviar el estado de melancolía que les producía su condición de vida, observó desórdenes físicos y psíquicos múltiples en los masticadores. Los efectos de la hoja de coca son diferentes a los de la cocaína. La hoja es un buen tratamiento para problemas gastrointestinales, artritis y diabetes (Bolo Lozano & Ocampo Santillna, 2004).

### 1.2.3 Rooibos

El Rooibos es una infusión elaborada a partir de la planta *Aspalathus linearis*, y sin contenido de cafeína, propiedades antioxidantes saludables, como por ejemplo calmar trastornos digestivos y problemas estomacales, reduciendo tensión nerviosa y alivio de alergias. Se ha encontrado que el rooibos evita la acumulación de peroxidasa lipídica relacionada con la edad en el cerebro. Se

recolectan sus ramas más delgadas, y se deja oxidar al sol, lo cual sirve para que adquiera su particular sabor y color rojo (AKBAR, 2018).



**Figura 9.** Infusión, arbusto y flor de Rooibos (AKBAR, 2018)

Es uno de los pocos alimentos de los indígenas khoikhoi y San, que los colonizadores europeos adoptaron con entusiasmo, fue una infusión elaborada a partir de las puntas de hojas secas y fermentadas de una planta de *Aspalathus linearis*, conocida como redbush o rooibos. El comercio de *rooibos* se encuentra en Cederberg, ciudad del Cabo.

El proceso de elaboración de esta hierba es permitiendo la oxidación, desarrollando la hoja color marrón y un sabor ligeramente dulce. Pocas personas fuera de África meridional saben cómo preparar rooibos adecuadamente, es uno de las pocas infusiones que se pueden hervir sin llegar a ser impalpable, tánico y fuerte; el rooibos gana dulzura y sabor cuanto más tiempo se infunde (Sellick, 2010).

### **1.3 Composición química**

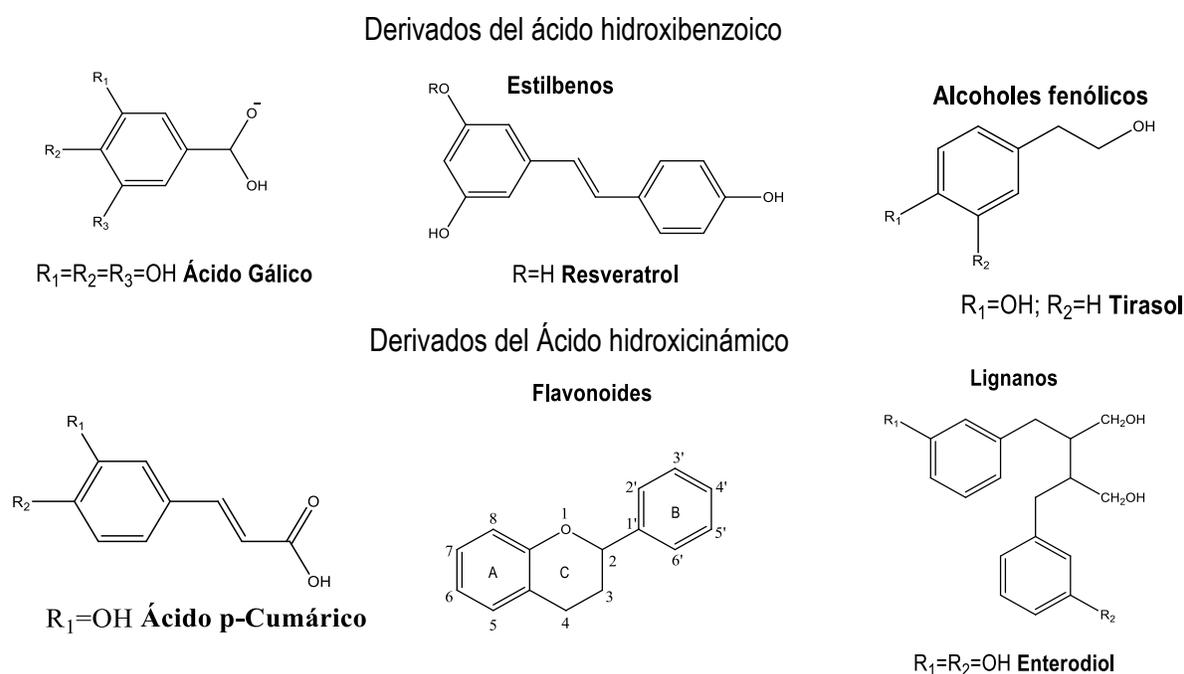
En esta perspectiva, los antioxidantes exógenos y los compuestos bioactivos (Polifenoles, vitaminas, tocoferoles, entre otros) de las plantas de hierbas han sido supuestamente utilizados por los seres humanos para contrarrestar y prevenir los efectos deletéreos inducidos por radicales libres en las células. Además, varios estudios han destacado el efecto protector antioxidante sobre el cuerpo humano promovido por los tés e infusiones (Barroso, y otros, 2016).

### 1.3.1 Polifenoles

La planta *Camellia sinensis* contiene polifenoles, cafeína, aminoácidos, compuestos aromáticos, vitaminas e hidratos de carbono. Los polifenoles son los compuestos de mayor importancia en la calidad y la función de las hojas de té, y son los compuestos más ampliamente reportados, su contenido es de 18-36% del peso seco (Chen, y otros, 2016).

Los polifenoles son compuestos bio-sintetizados por las plantas. La principal característica estructural de los polifenoles es poseer uno o más grupos hidroxilo (-OH) unidos a uno o más anillos bencénicos.

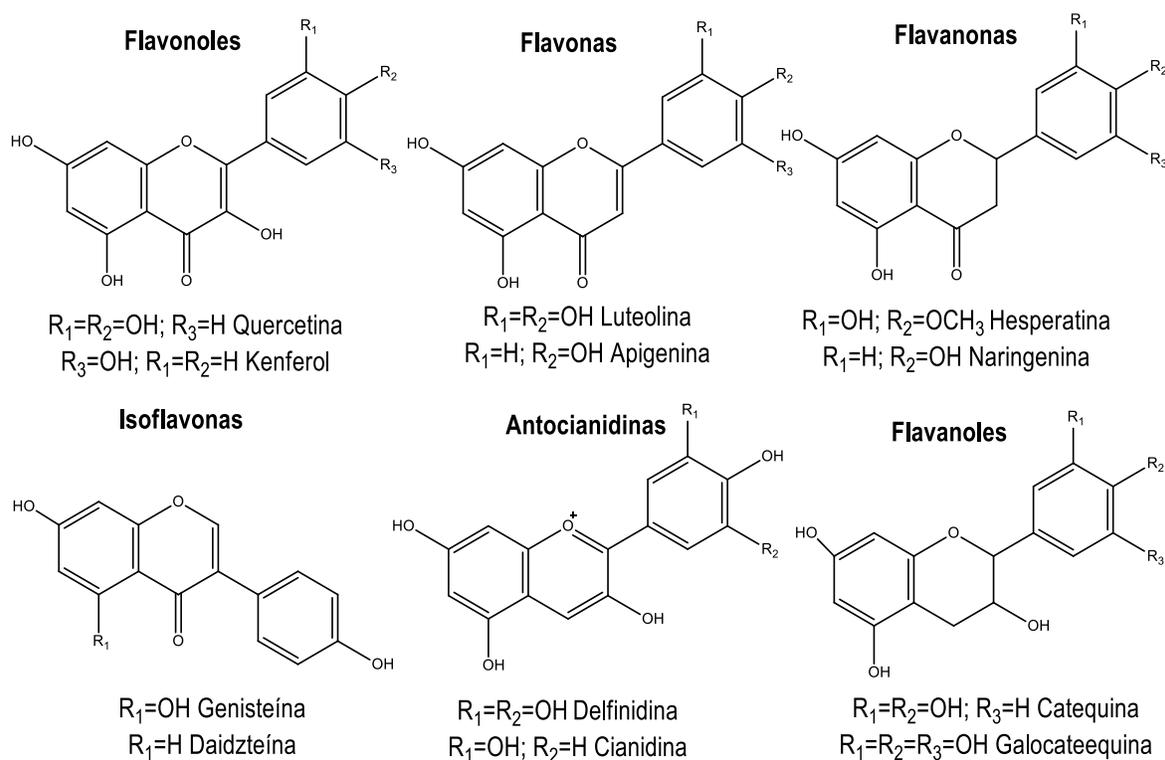
Existen varias clases y subclases de polifenoles que se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos. Los principales grupos de polifenoles son: ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides (Figura 10).



**Figura 10.** Principales grupos de polifenoles.

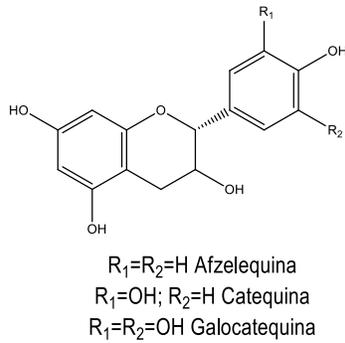
Los flavonoides se encuentran mayoritariamente como glucósidos, pero también pueden aparecer en forma libre (llamados agliconas flavonoides). Además, se pueden presentar como sulfatos, dímeros o polímeros. Los glucósidos se pueden encontrar de dos formas: como O-glucósidos con los carbohidratos ligados a través de átomos de oxígeno (enlace hemiacetal), o como C-glucósidos con

los carbohidratos ligados a través de enlaces carbono-carbono. De todas estas formas naturales, los O-glucósidos son los mayoritarios. Existen varios subgrupos de flavonoides. La clasificación de estos compuestos se hace en función del estado de oxidación del anillo heterocíclico (anillo C) y de la posición del anillo B. Dentro de cada familia existen una gran variedad de compuestos, que se diferencian entre sí por el número y la posición de los grupos hidroxilos, y por los distintos grupos funcionales que pueden presentar (metilos, azúcares, ácidos orgánicos). Los principales subgrupos de compuestos flavonoides son: flavonoles, flavonas, flavanonas (dihidroflavonas), isoflavonas, antocianidinas y flavanoles (Figura 11) (M. Quiñones y cols. , 2012).



**Figura 11.** Subgrupos de los grupos principales de polifenoles.

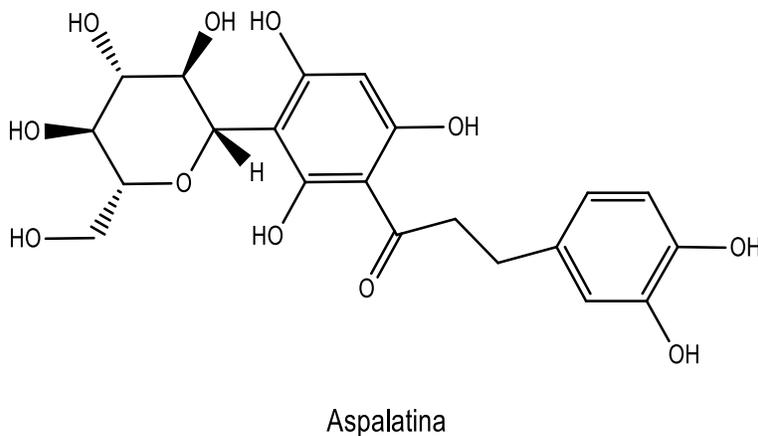
Las catequinas representan el principal componente polifenólico del té, son miembros de una clase más general de flavonoides: los flavanoles, los cuales se clasifican en tres subgrupos: afzelequina, catequina, y galocatequina, que representan grados variables de hidroxilación de anillo B (Figura 12). Son las formas dominantes, de los cuales los epi-isómeros de las catequinas y galocatequinas son los componentes principales encontrados en el té. Las catequinas del té componen hasta un 30% de sólidos disueltos (Harbowy & Balentine, 1997).



**Figura 12.** Catequina y subgrupos de catequina

### 1.3.1.1 Aspalatina

La aspalatina es un flavonoide presente en niveles altos en la planta de rooibos, el material no “fermentado” contiene 4% y 12 % de aspalatina. Sin embargo también contiene otros flavonoides aunque en menor concentración. La aspalatina se caracteriza como una c-glicosidilchalcona, en los flavonoides c-glucósidos, el azúcar está directamente relacionado con el núcleo de los falvonoides a través de un enlace C-C resistente a los ácidos y altamente enzimático. La estructura de la aspalatina se muestra en la figura 13, se ha descrito su efecto fisiológico como una sustancia antioxidante y antimutagénica (Kreuz, Joubert, Waldmann, & Ternes, 2008). Tan pronto como se tritura el material de la planta, las dihidrochalconas, la aspalatina y el nothofagin se oxidan rápidamente y se produce un oscurecimiento notable. El secado al sol se usa para detener la “fermentación”. Se ha estudiado que el contenido de aspalatina en la infusión y la actividad antioxidante tiene una buena relación lineal, siendo así la aspalatina la molécula con mayor capacidad antioxidante del Rooibos (Schulz, Joubert, & Schütze, 2003).



**Figura 13.** Estructura de la Aspalatina encontrada en las hojas de Rooibos.

### 1.3.2 Alcaloides

Los alcaloides son compuestos orgánicos cíclicos nitrogenados derivados de aminoácidos que contienen nitrógeno con propiedades farmacológicas importantes a dosis bajas, son compuestos de carácter básico. A pesar de que los alcaloides muestran una amplia gama de diferentes estructuras químicas y son de interés biológico significativo.

La mayoría de los alcaloides son sustancias alcalinas que protonizan el átomo de nitrógeno, por lo que la mayoría de los alcaloides están cargados positivamente y generalmente forman sales solubles en agua como citratos, malatos, tartratos, benzoatos, etc.

Son sustancias presentes en todos los órganos de la planta, pueden encontrarse mayoritariamente en hojas, flores, en frutos, en semillas, en cortezas y en raíces. Los alcaloides son casi siempre incoloros a excepción de aquellos altamente conjugados, son normalmente sólidos a temperatura ambiente. La existencia de los alcaloides en las plantas se presentan como sales de ácidos orgánicos los cuales son solubles en agua. Los vegetales contienen generalmente cantidades apreciables de materia grasa que impide un buen desarrollo en los procesos extractivos, por lo que se utilizan disolventes como hexano o éter de petróleo para poder extraerlos (Gabriel Jaime, 2008).

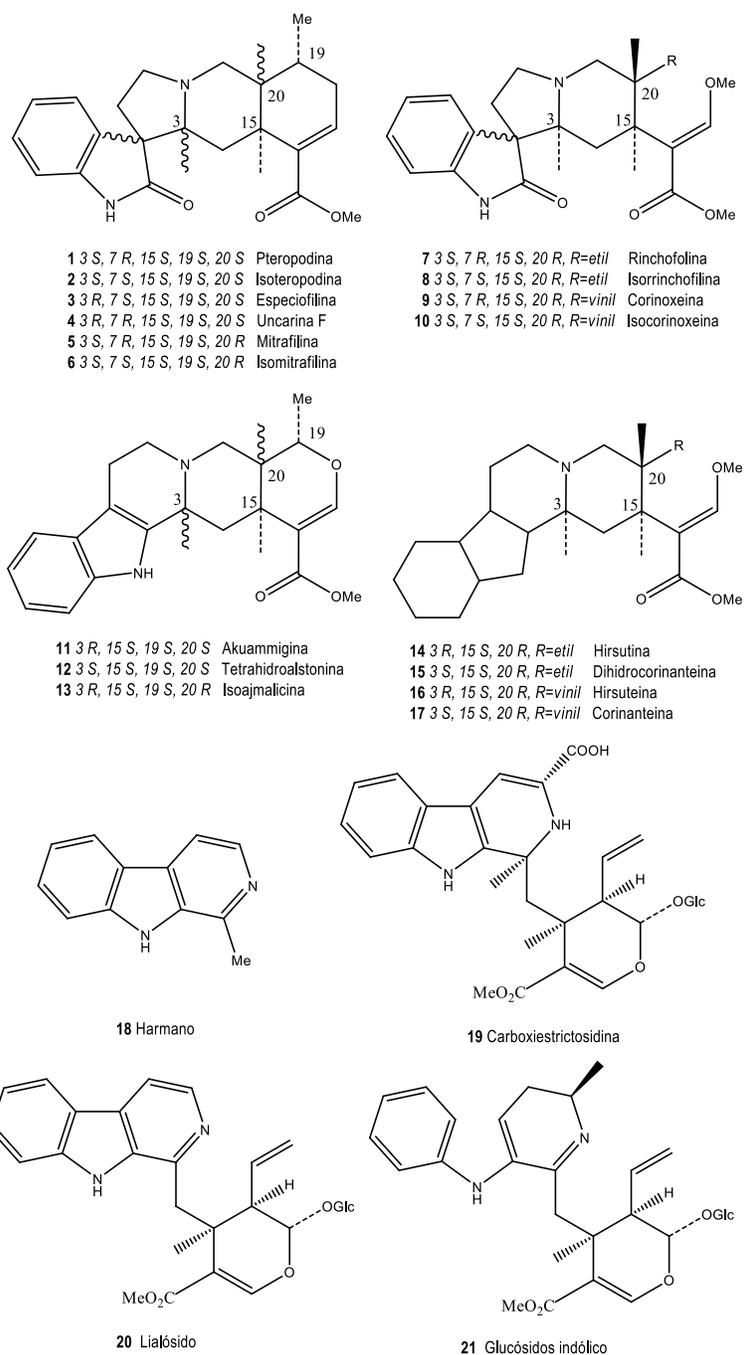
#### 1.3.2.1 Alcaloides tetracíclicos

La uña de gato tiene más de 50 ingredientes activos, como son los alcaloides, heterósidos del ácido quinóico, triterpenos, esteroides y compuestos fenólicos. La primera y más ampliamente estudiada es el grupo de alcaloides, los análisis fitoquímicos indican que en las hojas de *Uncaria tomentosa* (willd) la concentración de alcaloides totales alcanza 1.24%, de este porcentaje se ha descrito la presencia de alcaloides oxindólicos pentacíclicos y tetracíclicos, así como de algunos de sus N-óxidos y de sus precursores indólicos. En la figura 14 se señalan las estructuras químicas y la configuración de los centros asimétricos de los alcaloides oxindólicos pentacíclicos 1-6, tetracíclicos 7-10, y de los precursores indólicos respectivos 11-13 y 14-17 que han demostrado propiedades y la estimulación inmune antileucémica (Zúñiga Quiroz, 1998).

En las hojas y los tallos de *U. tomentosa* se encontró que contienen Rhynchophyllina e Isorhynchophyllina como principales alcaloides, el contenido total de alcaloides oxindoles se reporta que en las hojas es de 0.360-4.792% (Condori Peñaloza, 2015). Además, la rotundifolina y la isorotundifolina se encontraron como alcaloides menores en una muestra de herbario. Se informó la presencia de los alcaloides estereoisoméricos pteropodina, isomitrafalina, especiofilina, uncarina F e

isomitrafalina en la corteza de uña de gato (Keplinger, Laus, Wurm, P. Dierich, & Teppner, 1999). Se han hecho varios estudios de los tipos de alcaloides que predominan en las hojas de *Uncaria tomentosa* (willd), se ha detectado Uncarina F, especiofilina, pteropodine e isopteropodine son principales alcaloides detectados como predominantes en hojas de uña de gato en algunas de las muestras reportadas (Condori Peñaloza, 2015).

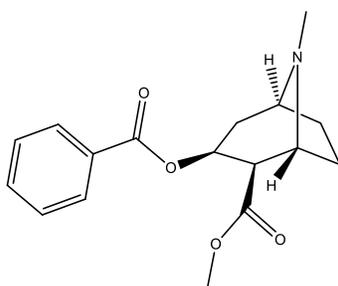
Otro grupo de compuestos llamados glucósidos triterpenos oxindol y el ácido quinóvico, tiene propiedades antiinflamatorias y antivirales demostradas, al igual que los compuestos antioxidantes (taninos, catequinas, polifenoles y procianidina A, B1, B2 y B4) y los esteroides vegetales. Los azúcares encontrados son glucosa, fructosa, quinovosa, ramnosa y galactosa.



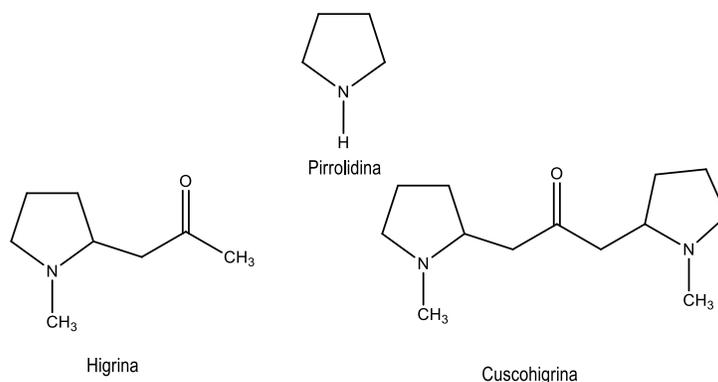
**Figura 14.** Alcaloides de *Uncaria tomentosa*. Estructuras químicas y su configuración de los centros asimétricos de los alcaloides oxindólicos pentacíclicos 1-6, tetracíclicos 7-10, y de los precursores indólicos respectivos 11-13 y 14-17. Harmano, carboxiestricosidi (Zúñiga Quiroz, 1998).

### 1.3.2.2 Cocaína

En las hojas de mate de coca los compuestos que se encuentran en mayor concentración son los alcaloides, la cocaína benzoylmethylecgonine (figura 15) es el alcaloide más abundante con una concentración promedio de 4.14mg por 180mL de infusión mate de coca (J. Jenkins, Llosa, Montoya, & J. Cone, 1996). La cocaína es un éster alcaloide, anestésico local (el cual ya no es utilizado debido a sus potentes cualidades adictivas) y vasoconstrictor (se usa clínicamente para ese propósito). También tiene efectos en el sistema nervioso central similares a las anfetaminas y es una droga de abuso. Esta se une a las proteínas de transporte de dopamina, serotonina y norepinefrina e inhibe la recaptación en las neuronas presinápticas (PubChem, 2018).



**Figura 15.** Cocaína; Benzoylmethylecgonine (Sauvain, y otros, 1997)



**Figura 16.** Alcaloides con núcleo tropánico encontradas en las hojas de Mate de coca (Arango Acosta, 2008)

La planta de mate de coca contiene, pequeñas cantidades de taninos, flavonoides y aceite esencial, además de alcaloides con el núcleo tropánico, bases volátiles derivadas de la N-acetil pirrolidina como la  $\alpha$  y  $\beta$  higrina y la cuscohigrina (Figura 16). Los principios activos son alcaloides derivados del pseudotropanol ( $3\beta$ -alcohol) más precisamente del núcleo acgonina (Arango Acosta, 2008).

# Capítulo 2 Síntesis verde de Nanopartículas

## 2.1 Nanociencia

Nanociencia es el estudio y desarrollo de sistemas en escala nanométrica que corresponde a un factor de longitud de  $10^{-9}$  metros. La nanociencia estudia la materia desde un nivel de resolución nanométrico, entre 1 y 100 nanómetros. En esta escala se observan propiedades y fenómenos que se rigen bajo las leyes de la mecánica cuántica, estas propiedades se aprovechan para crear nuevos materiales (nanomateriales) o dispositivos nanotecnológicos, de esta forma la Nanotecnología promete soluciones a múltiples problemas que enfrenta actualmente la humanidad, como los ambientales, energéticos, de salud (nanomedicina), construcción, agricultura, cosmética, en la industria de alimentos, etc. (Cristian, 2015).

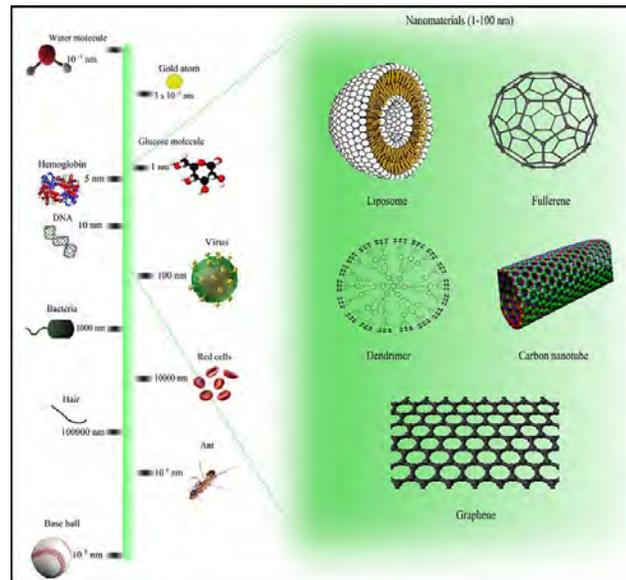


Figura 17. Comparación de tamaños de nanomateriales (Eli, 2016)

## 2.2 Nanopartículas metálicas

Las nanopartículas son una serie de átomos reunidos en escala nanométrica ( $10^{-9}$  m), las cuales pueden presentar una gran variedad de morfologías, entre las que se encuentran esferas, cubos, prismas, estrellas, entre otras. Estas presentan características entre los iones ( $10^{-10}$  m) y los materiales macroscópicos y son de gran interés debido a que el número de átomos en estas partículas es bastante pequeño y una fracción de estos están cerca o en la superficie, esto hace que se modifique

su comportamiento atómico, electrónico y magnético, así como sus propiedades físicas, químicas y su reactividad relativa con respecto del volumen total de la partícula. (F. Banfield & Zhang, 2001).

Las propiedades de las nanopartículas metálicas son diferentes de las de los materiales a granel fabricados a partir de los mismos átomos ( D. Solomon, Bahadory, V. Jeyarajasingam, A. Rutkowsky, & Boritz , 2007).

Las nanopartículas inorgánicas son particularmente atractivas como piezas de construcción para tales propósitos, debido a sus propiedades ópticas, electrónicas, magnéticas y catalíticas únicas, muchas de las cuales pueden ser moduladas simplemente cambiando su tamaño, forma, o la funcionalización de la superficie de la nanopartícula, sin cambiar la composición del material. Hasta ahora se han realizado avances significativos utilizando estrategias de química húmeda, para sintetizar nanopartículas de alta calidad de una gran variedad de materiales inorgánicos, incluyendo oro, plata, óxido de hierro y semiconductores (Zentella, 2012).

### **2.2.1 Aplicaciones**

Las nanopartículas de plata se utilizan en numerosas tecnologías y se incorporan en una amplia gama de productos de consumo que aprovechan sus propiedades ópticas, conductivas y antibacterianas deseables. El tamaño más pequeño de las partículas de plata es muy importante en muchas de estas aplicaciones novedosas de nanopartículas:

Campo de la biología: Secuenciación de ADN antibacteriano, la plata se une al ADN y ARN bacterianos por desnaturalización e inhibe la replicación bacteriana (Rucha Desai, 2012).

Aplicaciones diagnósticas: Las nanopartículas de plata se utilizan en biosensores y numerosos ensayos en los que las nanopartículas de plata se pueden utilizar como etiquetas biológicas para la detección cuantitativa.

Aplicaciones antibacterianas: Las nanopartículas de plata se incorporan en prendas de vestir, calzado, pinturas, vendajes para heridas, electrodomésticos, cosméticos y plásticos por sus propiedades antibacterianas, los iones de plata y los compuestos a base de plata son altamente tóxicos para los microorganismos, las partículas más pequeñas con una mayor área de superficie son más eficientes en las pruebas de actividad antibacteriana (Durán, Marcato, De Souza, Alves, & Esposito, 2007) y se ha demostrado su eficacia antimicrobiana contra bacterias, virus y otros microorganismos eucariotas (Rai, Yadav & Gade, 2009).

Aplicaciones Conductivas: Las nanopartículas de plata se utilizan en tintas conductoras e integradas en compuestos para mejorar la conductividad térmica y eléctrica.

Aplicaciones ópticas: Las nanopartículas de plata se utilizan para la recolección eficiente de la luz y para espectroscopias ópticas mejoradas, incluyendo la fluorescencia potenciada con metal (MEF) y la dispersión Raman de superficie mejorada (SERS) (J. Oldenburg, 2017).

Nanotecnología Alimentaria: se encuentra aún en fase de ascenso; no obstante por sus numerosas y diversas aplicaciones, entre las que se destacan las siguientes: aseguramiento de la calidad y seguridad alimentaria, análisis de composición, detección y neutralización de microorganismos alterantes y patógenos, contaminantes abióticos, detección de factores anti nutricionales y alérgenos, control de procesos, alimentos más saludables, nutritivos y/o con mejores características organolépticas.

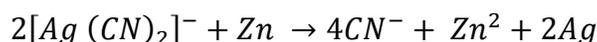
La aplicación de la nanotecnología en el campo de la alimentación permite la elaboración de alimentos más saludables, más resistentes y de mayor durabilidad (Almengor, 2009).

## **2.3 Síntesis de nanopartículas de plata**

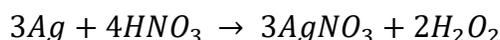
Los avances en los procesos de síntesis han permitido el control preciso sobre los parámetros estructurales que gobiernan la formación de las nanopartículas lo que ha permitido adaptar las propiedades de estos átomos artificiales de acuerdo con su uso específico. La síntesis y el ensamblado modular de nanopartículas permiten explotar sus propiedades únicas, lo que puede llevar a nuevas aplicaciones en catálisis, electrónica, fotónica, magnetismo así como censado químico y biológico (Zentella, 2012).

### **2.3.1 Química de la plata**

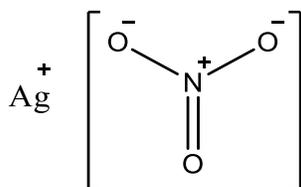
La plata es un elemento químico cuyo símbolo "Ag" proviene del latín Argentum, que significa "brillante", de número atómico 47, estado de oxidación +1 ya que tiene poca tendencia a perder más de un electrón. Es raro encontrar compuestos formados con un estado de oxidación de la plata de +2, por ejemplo el difluoruro de plata ( $\text{AgF}_2$ ). En el mundo se encuentra solamente 0.05 ppm. En la naturaleza se forma como argentita  $\text{Ag}_2\text{S}$  y cloruro de plata  $\text{AgCl}$ , su extracción consiste en la formación de un complejo  $[\text{Ag}(\text{CN})_2]$  y el tratamiento de un mineral de plata con ion de cianuro acuoso  $\text{CN}^-$ , para después desplazar la plata del complejo con zinc:



El nitrato de plata es la sal de plata más común y se obtiene disolviendo el metal en ácido nítrico (Chambers & Holliday, 1975):



El nitrato de plata es importante como antiséptico, en la preparación industrial de otras sales de plata y como reactivo en química analítica. El nitrato de plata puro es un intermedio en la preparación de otras sales de plata, incluidos los compuestos de plata coloidal utilizados en medicina y los haluros de plata incorporados en emulsiones fotográficas. En química analítica, las soluciones acuosas de nitrato de plata se utilizan en la determinación de haluros, cianuros y tiocianatos, así como para la detección de agentes reductores y de los cationes de diversos ácidos que forman sales de plata insolubles. (Editors, 2018). Es ampliamente utilizado como precursor metálico para producir plata iónica, que puede reducirse y precipitarse para producir nanopartículas, además de su bajo costo y estabilidad química en comparación con otros tipos de sales de plata (Tolaymat, y otros, 2010).



**Figura 18.** Nitrato de plata

### 2.3.2 Métodos químicos

El método químico es el más conveniente para la obtención de nanopartículas uniformes y pequeñas. El método coloidal es uno de los principales métodos químicos que consiste en disolver una sal del precursor metálico o del óxido a preparar, un reductor y un estabilizante en una fase continua o dispersante (un líquido en este caso). Este último puede jugar el papel de reductor, de estabilizante o ambos. En principio el tamaño promedio, la distribución de tamaños y la forma o morfología de las nanopartículas pueden ser controlados variando la concentración de los reactantes, del reductor y del estabilizante así como la naturaleza del medio dispersante. Por este método se pueden formar dispersiones estables por periodos de tiempo muy largos.

Dentro de este método el precursor más utilizado es el nitrato de plata. Para solubilizar estas sales y otros productos químicos se utiliza el agua, ya que se reporta que la plata produce nanopartículas estables y móviles en este ambiente acuoso. El agente reductor proporciona los electrones libres

necesarios para reducir iones de plata y formar las nanopartículas, uno de los agentes reductores más fuertes es el borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ), el cual produce un rango estrecho de pequeñas partículas monodispersas, y el agente reductor más débil como el ácido ascórbico produce tamaños de partícula más grandes. La estabilidad, reactividad, solubilidad, forma y tamaño de las partículas están determinadas por la concentración de un agente estabilizador como la polivinil pirrolidona (PVP) (Tolaymat, y otros, 2010).

Otro método químico utilizado es el de la reducción fotoquímica y radioquímica, las cuales modifican el sistema químico por medio de altas energías y se asocia con la generación de reductores fuertes altamente activos como electrones, radicales y especies excitadas. La reducción fotoquímica (fotólisis) y la radicación-química (radiólisis) difieren en el nivel de energía utilizado. La síntesis fotoquímica está caracterizada por energías por debajo de 60 eV, mientras que la radiólisis utiliza energías de  $10^3$ - $10^4$  eV. Los métodos de reducción fotoquímica y radioquímica tienen la ventajas sobre el método de reducción química. Debido a la ausencia de impurezas formadas cuando se usan reductores químicos, estos métodos producen nanopartículas de alta pureza. Además, la reducción fotoquímica y radioquímica permiten producir nanopartículas en condiciones de estado sólido y a bajas temperaturas. La reducción fotoquímica en solución se emplea frecuentemente para sinterizar partículas de metales nobles. Estas partículas se obtienen a partir de las correspondientes sales en agua, alcohol o solventes orgánicos (Zentella, 2012).

### **2.3.3 Métodos físicos**

Los métodos físicos describen la evaporación térmica, la preparación de clusters gaseosos, la implantación de iones, el depósito químico en fase vapor y la molienda o activación mecano química.

La evaporación térmica, que consiste en el calentamiento hasta la evaporación del material que se pretende depositar. Se lleva a cabo en una cámara de vacío en la que se condensa el vapor sobre una lámina fría requiriendo en todo momento un control preciso de las condiciones de crecimiento para no producir una modificación de la morfología de la capa depositada.

El depósito químico en fase vapor (CVD, por sus siglas en inglés) es un proceso en el que un sólido se deposita sobre una superficie calentada a través de una reacción química de la fase de vapor o gas ( Rajput , 2015).

La preparación de clusters gaseosos, que utiliza un láser pulsado de alta potencia para producir vapores atómicos metálicos que son acarreados en un gas inerte y posteriormente son depositados en un óxido monocristalino u otro sustrato, bajo condiciones de ultra-alto vacío.

La implantación de iones, que consiste en que los iones de un material pueden ser implantados en un sólido, cambiando por tanto las propiedades físicas y químicas de este último, ya que el ion implantado puede ser de un elemento distinto al que lo compone, también se pueden causar cambios estructurales en el sólido implantado, puesto que la estructura cristalina del objetivo puede ser dañada. El equipamiento necesario para la implantación de iones suele consistir en una fuente de iones que produce los iones del elemento deseado, un acelerador donde dichos iones son electrostáticamente acelerados hasta alcanzar una alta energía, y una cámara donde los iones impactan contra el objetivo. Cada ion suele ser un átomo aislado, y de esta manera la cantidad de material que se implanta en el objetivo es en realidad la integral respecto del tiempo de la corriente de ion. Esta cantidad es conocida como dosis. Las corrientes suministradas suelen ser muy pequeñas (microamperios), y por esto la dosis que puede ser implantada en un tiempo razonable es también pequeña. Por todo esto, la implantación de iones encuentra aplicación en los casos en que el cambio químico necesario es pequeño. Las energías típicas de ion se encuentran en el rango de 10 a 500 keV. La energía de los iones junto con la especie de ion y la composición del objetivo determina la profundidad de penetración de los iones en el sólido.

La molienda de partículas de tamaño macro o micrométrico, por medio de molinos de alta eficiencia; las partículas resultantes son clasificadas por medios físicos, recuperándose las de tamaño nanométrico. Dado que la molienda enérgica y continua de los materiales iniciales puede inferir cambios energéticos en los sólidos, debido a la acumulación de defectos en situación de no-equilibrio, lo que puede causar una disminución de las energías de activación, activando los sólidos para llevar a cabo reacciones químicas en estado sólido. La activación mecano química de sólidos cristalinos puede producir también alteraciones y cambios tanto texturales como estructurales, que pueden resultar de gran interés en el desarrollo de materiales (Zentella, 2012).

Mecano síntesis. En este proceso, la reacción química es inducida por la energía mecánica. Los precursores químicos son en su mayor parte una mezcla de cloruros, óxidos y / o metales que reaccionan durante la molienda o tratamiento térmico subsiguiente para producir un polvo compuesto en el que se dispersan partículas ultra-estrechas en una matriz de sal estable. Estas partículas ultra

finas se recuperan lavando con un disolvente adecuado a partir de la eliminación selectiva de la matriz. Muchos tipos diferentes de nanopartículas se pueden producir usando el método mecánico químico tales como metales de transición, cerámica del óxido y semiconductores del óxido (Umer, Naveen, & Ramzan, 2012).

#### **2.3.4 Métodos biológicos**

La síntesis biológica de nanopartículas es un enfoque de química verde que interconecta la nanotecnología y la biotecnología. Se informan biosíntesis de oro, plata, aleación oro-plata, selenio, telurio, platino, paladio, sílice, titania, zirconia, puntos cuánticos, magnetita y uraninita NP (Shankar , Shobana, Karuppusamy, & Pugazhendhi, 2016).

El uso de microorganismos como bacterias, levaduras, hongos y actinomicetos se ha descrito para la formación de nanopartículas y sus aplicaciones. La síntesis y el ensamblaje de nanopartículas se benefician de un desarrollo limpio, no tóxico y ambientalmente aceptable involucrando organismos que van desde bacterias hasta hongos e incluso plantas. Los organismos vivos tienen un gran potencial para la producción de nanopartículas. Al usar los organismos de bacterias simples a eucariotas altamente complejos se puede obtener la producción de nanopartículas (Mohanpuria , K. Rana, & Kumar Yadav, 2008). Los nanomateriales biosintetizados han estado controlando eficazmente las diversas enfermedades endémicas con menos efectos adversos. La planta contiene abundantes compuestos naturales tales como alcaloides, flavonoides, saponinas, esteroides, taninos y otros compuestos nutricionales. Estos productos naturales se derivan de varias partes de la planta, tales como hojas, tallos, brotes de raíces, flores, cortezas, semillas. Recientemente, muchos estudios han demostrado que los extractos de plantas actúan como un precursor potencial para la síntesis de nanomateriales en formas no peligrosas. Dado que el extracto vegetal contiene metabolitos secundarios, actúa como agentes reductores y estabilizantes para la reacción de biorreducción a nanopartículas metálicas nuevas sintetizadas. No obstante, los métodos no biológicos (químicos y físicos) se utilizan en la síntesis de nanopartículas, que tiene un riesgo grave y alto de toxicidad para los organismos vivos. Además, la síntesis biológica de nanopartículas metálicas es económica, de un solo paso y respetuosa con el medio ambiente. Las plantas se utilizan con éxito en la síntesis de varias nanopartículas más verdes tales como cobalto, cobre, plata, oro, paladio, platino, óxido de zinc y magnetita (Kuppusamy, Yusoff, & Govindan , 2016).

El uso de la biomasa vegetal y de los extractos de plantas para la síntesis de nanopartículas son potencialmente ventajosos frente a los microorganismos debidos a varios factores tales como procedimientos simples, facilidad de escalabilidad y preclusión del mantenimiento del cultivo celular. Además se pueden obtener fácilmente debido a la disponibilidad y la abundancia de las plantas (Bonnia, y otros, 2016).

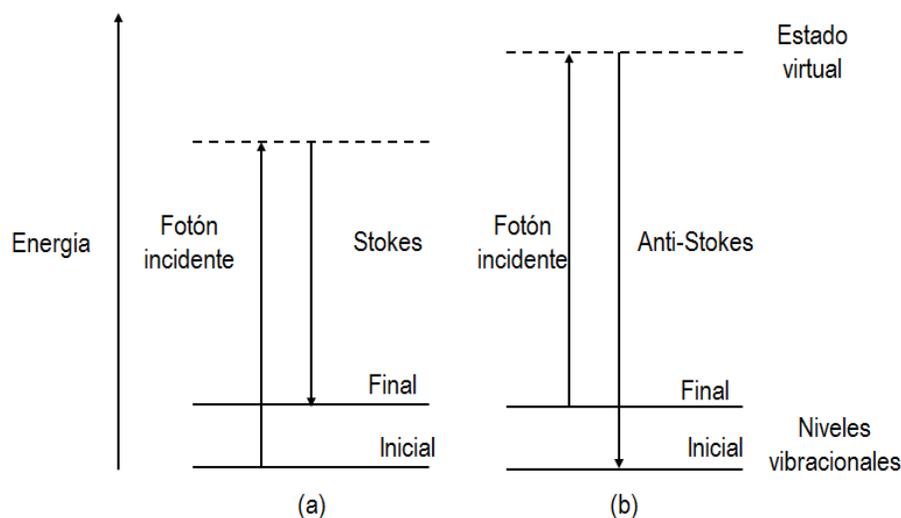
## Capítulo 3 Espectroscopía RAMAN

### 3.1 Introducción a la espectroscopía Raman

La espectroscopía se originó como el estudio de la interacción entre radiación y materia en función de la longitud de onda. Actualmente la espectroscopía comprende el uso de los efectos de absorción, emisión o dispersión de radiación electromagnética por el material con el objetivo de estudiar cualitativa o cuantitativamente la materia. La espectroscopía Raman es una técnica espectroscópica empleada para el análisis de prácticamente cualquier material, ya sea orgánico o inorgánico. Sus principales ventajas radican en que no es necesaria ninguna preparación de la muestra a estudiar y que se trata de un proceso no destructivo. El fundamento físico de la técnica está basado en el efecto Raman, por el físico indio que descubrió el efecto que lleva su nombre Chandrasekhra Venkata Raman, consistente en la dispersión inelástica de una fracción de la luz incidente en la muestra, la cual sufre entonces un cambio de frecuencia debido al intercambio de energía con la materia en dicha colisión, según la ecuación de energía de los fotones.

El procedimiento de medida es el siguiente: un haz de luz monocromático, de frecuencia  $\nu=0$ , incide sobre la muestra, dispersándose de manera elástica (dispersión Rayleigh) en su mayor parte, pero existiendo una cantidad de luz que ha sido dispersada inelásticamente, y por tanto presenta un cambio en su frecuencia. Estos cambios en la frecuencia son característicos de la naturaleza química y del estado físico de la muestra, y por tanto son los datos que permiten identificar distintos compuestos y características moleculares. Microscópicamente, este efecto se puede describir como una excitación de la nube electrónica de la molécula debido a la interacción con el fotón incidente. Este provoca que la excitación de la molécula a un estado excitado virtual, luego emite otro fotón con el objetivo de regresar al estado fundamental. Sin embargo, si el choque ha sido inelástico y se ha perdido o ganado energía, la molécula no volverá exactamente al mismo estado, sino que se encontrará en un estado rotacional o vibracional distinto del inicial. La diferencia de energía entre estos estados es lo que modifica la frecuencia del fotón emitido. Según la frecuencia de los fotones dispersados, se pueden distinguir los siguientes casos, representados gráficamente en la Figura 19. Dispersión Rayleigh: Cuando el choque es elástico, la frecuencia del fotón incidente y emitido es la misma, y por tanto no hay ninguna variación energética. Este proceso no proporciona información espectroscópica. Dispersión Raman-Stokes: Un espectro Raman desplazado al rojo, si el choque es inelástico, y la frecuencia del fotón emitido es menor, quiere decir que ha transferido energía a la molécula, la cual

se encontrará ahora en un estado vibracional o rotacional superior al inicial. **Dispersión Raman Anti-Stokes:** Un espectro Raman desplazado al azul, también para choques inelásticos, pero con frecuencias mayores del fotón. En este caso, la molécula no se encontraba en el estado fundamental, y al proporcionar energía al fotón, decae al estado de mínima energía.



**Figura 19.** Diagrama de niveles de energía para el esparcimiento Raman. A) esparcimientos Raman Stokes y b) esparcimiento Raman anti-Stokes

Para obtener información molecular, se analizan los niveles de energía vibracionales, los cuales son característicos de los átomos del enlace, su conformación y su entorno. Estos niveles tienen frecuencias de resonancia características, las cuales son función de la masa de las moléculas y la fortaleza de sus enlaces. A diferencia de la espectroscopía infrarroja, en la que es necesario un cambio en el momento dipolar de la molécula, para la espectroscopía Raman es necesario un cambio en la polarizabilidad, lo cual permite obtener información espectral complementaria sobre moléculas homonucleares. En general, un espectro Raman es una representación de la intensidad de la luz dispersada frente al número de onda (Gutierrez Cano & Otero Márquez , 2014).

La espectroscopía Raman es un proceso débil, con secciones transversales moleculares en el rango de  $10^{-29} - 10^{-32} \text{ cm}^2$ ; se han encontrado dos métodos para aumentar estas secciones transversales: resonancia electrónica y mejora de superficie. En la dispersión Raman de resonancia, la frecuencia de excitación es igual o cercana a la frecuencia a un cromóforo molecular. Una desventaja importante es la fuerte fluorescencia causada por la excitación a una frecuencia que coincide con la de una

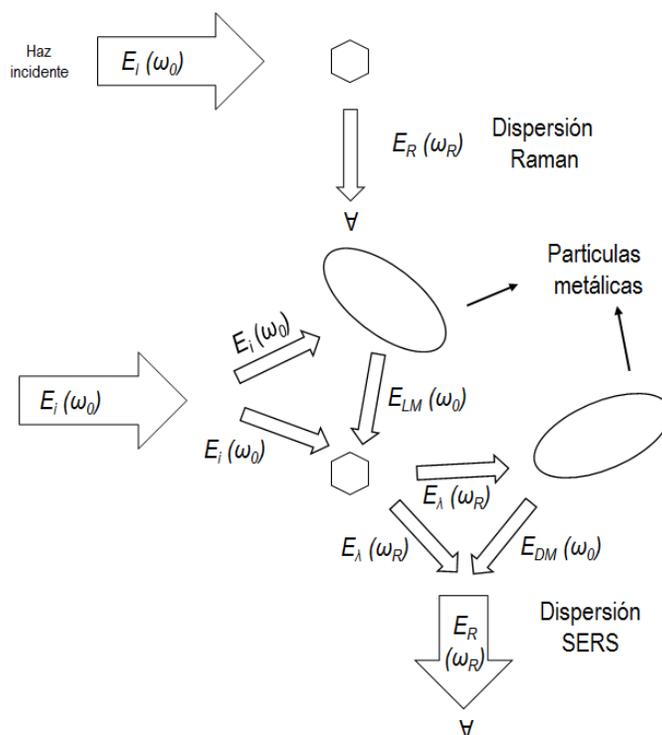
transición electrónica, por la relación de la señal RRS (resonance Raman scattering), la fluorescencia que es muy dependiente de la molécula en cuestión, este método no es muy útil.

Otro método que puede usarse para aumentar drásticamente las señales de dispersión Raman es la mejora de superficie conocido como efecto SERS, este efecto se observó cuando se usaba la dispersión Raman para tratar de comprender las reacciones espectroquímicas de la piridina en un electrodo de plata rugoso. (A. Baker & S. Moore, 2005).

### **3.2 Efecto SERS**

El efecto SERS (Surface Enhanced Raman Scattering) fue detectado por primera vez en 1974 por Fleischmann y col. dicho efecto se basa en el aumento de la difusión inelástica (señal Raman), procedente de determinadas moléculas en presencia de una nanoestructura metálica rugosa especialmente preparada, cuya intensidad excede en un factor de  $10^5 - 10^6$  del que cabe esperar cuando la molécula no está ligada a la superficie metálica. Puesto que el efecto SERS está relacionado con la existencia de una geometría rugosa en la superficie metálica, el modelo electromagnético puede simplificarse considerando la intensificación de la señal Raman cuando una radiación de frecuencia incide sobre una partícula esférica o esferoidal aislada. Es lo que se conoce como modelo de la esfera metálica y constituye la aproximación más simple al estudio teórico de estos sistemas. Según este modelo, la polarizabilidad de la molécula no se ve afectada por la presencia del metal. La contribución electromagnética de la mejora de SERS se debe a una mejora del campo electromagnético causada por la excitación del plasmón a través de la luz láser incidente en la superficie del metal. Los electrones en el metal están excitados con una oscilación contra los núcleos del metal, llamado plasmón de superficie. En las superficies nanoestructuradas, los plasmones salidos de la superficie conducen a un campo electromagnético que llega a la superficie del metal donde se encuentra el analito. Dado que los plasmones superficiales deben ser excitados por la luz láser incidente, la longitud de onda de excitación para un experimento SERS debe adaptarse a la longitud de onda del plasmón del metal respectivo y también a la nanoestructura de la superficie metálica, que también tiene un efecto sobre la resonancia del plasmón. SERS requiere estructuras metálicas con tamaños de características claramente debajo de la longitud de onda de la luz. La capacidad de un metal para mostrar el efecto SERS se determina a través de la función dieléctrica compleja dependiente de la frecuencia, la relación entre las partes reales e imaginarias y su relación con la función dieléctrica del entorno (Hering, y otros, 2008).

En la Figura 20 se muestra de forma esquemática el fenómeno que tiene lugar en un proceso de dispersión Raman en ausencia y en presencia de estas partículas metálicas tomadas como modelo.



**Figura 20.** Proceso de dispersión Raman en ausencia y presencia de nanopartículas metálicas (Hering, y otros, 2008)

El desplazamiento en frecuencia de las bandas de los espectros SERS y la modificación de la anchura de éstas, con respecto a las equivalentes de los espectros Raman convencionales, son una consecuencia de la interacción química que tiene lugar entre el metal y el adsorbato. Generalmente, las bandas de los modos más directamente implicados en esta unión experimentan desplazamientos en frecuencia más acusados y suelen presentar una mayor anchura, respecto a las mismas bandas en el Raman de la disolución acuosa. Este ensanchamiento en el SERS se debe, posiblemente, a la heterogeneidad de la geometría de la superficie metálica, hecho éste que da lugar a numerosos centros de adsorción distintos sobre dicha superficie. Una de las características más importantes de los espectros SERS es la aparición de una nueva banda, en muchos casos de gran intensidad, correspondiente a la vibración de tensión del enlace que se establece entre el metal y la molécula adsorbida. Esta nueva banda suele aparecer en el intervalo de frecuencias 250-200  $\text{cm}^{-1}$ , dependiendo del átomo de la molécula implicado en esta interacción y de la fuerza con que se produce la unión de la molécula al metal; y suele presentar una gran anchura, lo que indica la existencia de muchos centros

de unión sobre la superficie. La observación de esta banda en el espectro constituye una prueba inequívoca de la formación del complejo metal-adsorbato (García Ramos J. V., 2004). Las mejoras más fuertes provienen de características agudas y áreas de gran curvatura, como las que se encuentran en nano estructuras como agregados coloidales.

### **3.3 Aplicación de espectroscopía Raman y Efecto SERS**

La espectroscopía Raman es una técnica en la cual se puede analizar la composición química de distintos compuestos sin destruir las muestras y puede analizar materiales en cualquier estado: sólido, líquido o gaseoso. Algunos campos de aplicación en la espectroscopía Raman son en la industria petroquímica para resolver problemas de control de calidad en los polímeros y emulsiones; aplicaciones biomédicas en el estudio de proteínas y estructuras polipeptídicas en su estado fisiológico natural; industria alimentaria para determinar la presencia de macro-componentes tales como proteínas, lípidos, carbohidratos y agua, en el medio ambiente; análisis de polímeros; identificación de materiales pictóricos en donde proporciona información completa de una molécula y de forma no invasiva, siendo esto último un requisito fundamental en el análisis del patrimonio cultural (Gonzalo Barja-Becker, 2011).

Debido a su sensibilidad superficial, el alto contenido de información y la naturaleza no destructiva, se ha encontrado una amplia utilidad como sonda de diagnóstico in situ para determinar la estructura y orientación molecular detallada en áreas como los estudios fundamentales de adsorción / coadsorción, electrocatálisis, corrosión, investigación de células de combustible e interfaces biológicas. La utilidad del método SERS continua resolviendo una variedad de problemas analíticos, biomédicos, ambientales y de seguridad nacional y global que van desde el monitoreo de la calidad del agua y las investigaciones forenses hasta la guerra química y biológica, detección y uso de agentes en entornos de puntos de atención (A. Baker & S. Moore, 2005).

SERS es de gran interés porque constituye una herramienta importante para la detección de alta sensibilidad de un amplio tipo de compuestos (Sato Berrú, Rondón, Vázquez Olmos, & M. Sániger, 2009), por ejemplo, de drogas, otra aplicación es en biospectroscopía para la investigación de bacterias, células eucariotas o tejidos, SERS ofrece ventajas para la detección de biomoléculas: es una herramienta rápida no destructiva, da información específica del compuesto, y tiene el potencial de análisis multicomponente (Hering, y otros, 2008).

# Capítulo 4 Técnicas de caracterización

## 4.1 Espectroscopía UV-vis

Para que la radiación electromagnética incidente, interactúe con la materia tiene que tener una  $\lambda$  del mismo tamaño o menor que las dimensiones del cuerpo irradiado. Es por ello que la radiación de la región del ultravioleta ( $\approx 1-400$  nm) nos permite obtener información de las transiciones electrónicas de las moléculas.

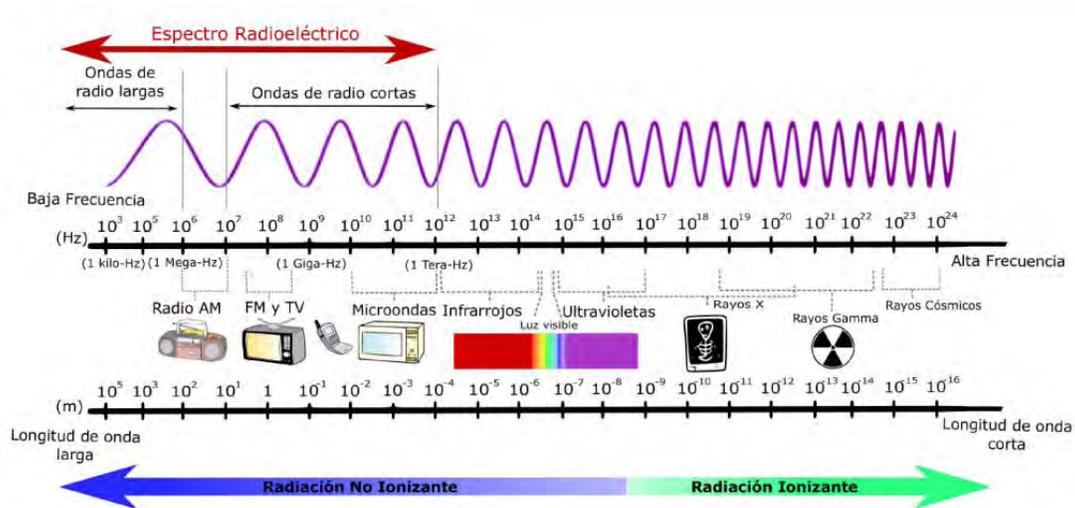
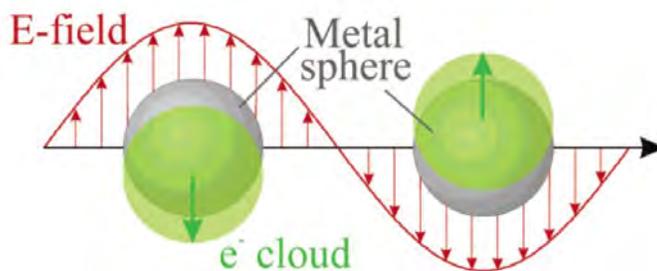


Figura 21. Diagrama del espectro electromagnético (Esopo, 2018)

La espectroscopía UV-Vis se basa en el análisis de la cantidad de radiación electromagnética (en el rango de longitudes de onda del ultravioleta y visible) que puede absorber o transmitir una muestra en función de la cantidad de sustancia presente. Todas las técnicas de absorción suponen que cuando una radiación incide sobre una muestra se produce una absorción parcial de esta radiación, lo que hace que se produzca una transición entre los niveles energéticos de la sustancia: átomo, molécula o ion, pasando esta al estado excitado, el resto de radiación es transmitida. Así analizando una u otra podemos relacionar la cantidad de especie activa presente en la muestra.

Las propiedades ópticas de nanopartículas metálicas son determinadas por la interacción de la luz incidente en la conducción de electrones libres. Cuando hay un acoplamiento entre la frecuencia del campo eléctrico alternativo de la radiación electromagnética y la oscilación de los electrones conductores, bajo ciertas condiciones, este fenómeno se denomina oscilación del plasma, que en el

marco de la mecánica se denomina plasmón y entonces se produce la absorción (Guerrero Dib, Ortiz Méndez, Sepúlveda Guzmán, Ferrer Lupi, & Yacamán, 2009), el plasmón se define como la oscilación coherente y colectiva de los electrones libres de una esfera metálica. Bajo ciertas condiciones, pueden interactuar con la radiación electromagnética en un fenómeno conocido como resonancia de plasmón de superficie (por sus siglas en inglés: SPR). Los plasmones de superficie son especialmente útiles, su campo eléctrico oscilante amplifica mucho algunos fenómenos ópticos como la dispersión Raman. Se conocen como plasmones de superficie localizados a las oscilaciones colectivas de electrones restringidos en pequeños volúmenes metálicos. Para que este fenómeno ocurra, la partícula tiene que ser mucho menor que la longitud de onda de la luz incidente. El campo eléctrico oscilante de la luz incidente, induce un dipolo eléctrico en la partícula desplazando a una parte de los electrones móviles deslocalizados en una dirección lejos del resto de la partícula metálica, generando así una carga negativa en un lado de la partícula como se muestra en la Figura 22. Como el resto de los núcleos y sus electrones internos no se han desplazado, constituyen una carga opuesta (red catiónica) (A. Cruz, y otros, 2012).



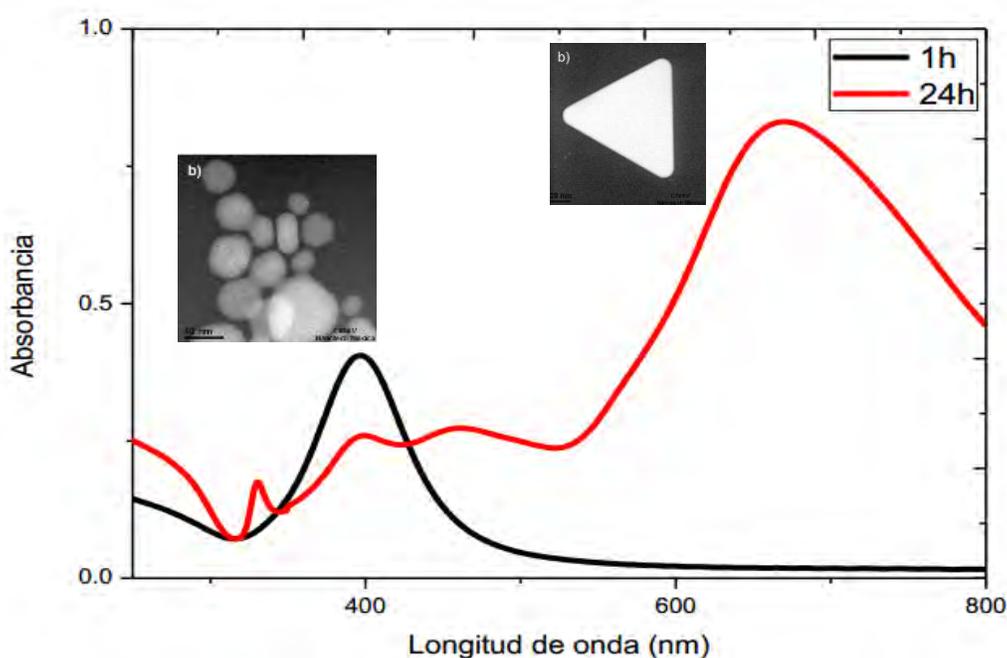
**Figura 22.** Descripción de los desplazamientos electrónicos de nubes en nanopartículas electromagnéticas (K. Lance, Coronado, Zhao, & C. Schatz, 2003)

Determinado por la forma y tamaño de la nanopartícula, los electrones acelerados producen un campo de polarización adicional que dependen de la relación del tamaño de la partícula y la longitud de onda de la luz incidente ya que de esta radiación secundaria los electrones pierden energía experimentando un efecto de amortiguación lo que hace más amplio el plasmón. Este campo reacciona con el campo de polarización coestático y desplaza la posición de los modos a una longitud de onda más grande (Noguez, 2007).

La teoría de Mie predice una dependencia del tamaño de la nanopartícula con la intensidad del plasmón y el ancho de la banda y la posición es un efecto del diámetro. El diámetro modifica la expresión de la constante dieléctrica del metal y de este modo altera la condición de resonancia, el

ancho de la banda crece al aumentar el tamaño de las nanopartículas. Las propiedades ópticas de las nanopartículas dependen también de la naturaleza de las mismas y del medio ambiente en el que se encuentren (Moores & Goettmann, 2006).

Los espectros de extinción de las nanopartículas metálicas aportan una gran cantidad de información sobre la naturaleza, tamaño, forma y modificaciones del entorno fisicoquímico de las nanopartículas, si se trabaja con nanopartículas de plata esféricas, es de esperar que la banda de absorción esté en el rango de 400 nm, si son nanopartículas triangulares se debe observar un máximo de absorción cercano a los 800 nm (Figura 23).



**Figura 23.** Espectro de nanopartículas de plata esféricas 1h y triangulares 24h (Hernández Canales, 2016)

El tamaño también puede afectar la posición del máximo observado. A mayor tamaño de partícula se observa un corrimiento del máximo hacia mayores longitudes de onda. El ancho medio del pico es un parámetro útil para saber la distribución de tamaño de las partículas, si el ancho del pico la variabilidad de los tamaños es mayor. Los incrementos del ancho del pico posiblemente responden a la disminución del espacio inter-partícula, lo cual evidencia la presencia de agregación (Rucha Desai, 2012).

## 4.2 Microscopía electrónica de transmisión

Los microscopios electrónicos son instrumentos del siglo XX, varios científicos alemanes se dedicaron a la construcción de un microscopio que utilizará haces de electrones acelerados como radiación de iluminación y lentes de electrones. En 1932 se construyeron 2 prototipos de microscopios electrónicos, uno con lentes electrostáticas (Brüche y Johannson), y otro con lentes electromagnéticas (Knoll y Ruska). En 1938 Von Borries y Ruska construyeron un instrumento mucho más perfeccionado que resolvía 10 nanómetros. En años posteriores la técnica siguió mejorando, lográndose en la actualidad resoluciones de hasta 0.15 nm (Vázquez Nin & Echeverría, 2000).

La microscopía electrónica de transmisión sirve para estudiar todo tipo de materiales siempre y cuando cuenten con la preparación adecuada y tengan dimensiones dentro del rango manométrico o incluso sub-micrométrico. Por sus características, es una herramienta importante para la caracterización estructural de materiales nanoestructurados, de los cuales se puede obtener no solo información morfológica, sino también cristalográfica y de composición química con la ayuda de la espectroscopia de dispersión de energía de rayos-X (EDS). En la modalidad de STEM es posible hacer estudios de dispersión de partículas y mapeos químicos.

En un microscopio electrónico de transmisión convencional, se irradia una muestra delgada con un haz de electrones de densidad de corriente uniforme.

La distribución de intensidad de electrones detrás de la muestra se visualiza con un sistema de lente de tres o cuatro etapas en una pantalla fluorescente. La imagen puede ser registrada por exposición directa de una emulsión fotográfica o una placa de imagen dentro del vacío o digitalmente a través de una pareja de pantalla fluorescente mediante una placa de fibra óptica a una cámara CCD.

Una capacidad adicional de TEM moderno en la formación de sondas electrónicas de tamaño nanométrico, de 1-10 nm de diámetro, por medio de un sistema de condensado de tres etapas, cuya última lente es el campo objetivo previo del espesor de la muestra. La aplicación principal de tales sondas de electrones está en microscopía electrónica analítica. Esto permite que el instrumento funcione en el modo de transmisión de exploración (STEM) con una resolución determinada por el diámetro de la sonda electrónica, esto tiene ventajas para obtener imágenes de especímenes gruesos y registrar electrones secundarios y electrones retro-dispersados (Reimer, 1997).

### 4.3 Espectroscopía de absorción infrarroja

La espectroscopía infrarroja es una técnica basada en las vibraciones de los átomos de una molécula. Se utiliza para obtener un espectro infrarrojo de absorción, emisión, fotoconductividad o dispersión de un sólido, líquido o gas. La técnica consiste en hacer brillar un rayo de luz monocromática en una muestra. Medir la cantidad de transformada de Fourier refleja el hecho de que, en todas las técnicas, una transformada de Fourier es necesaria para convertir los datos en bruto en el espectro real basado en el teorema de Wiener-Khinchin.

Un espectro infrarrojo se obtiene al pasar la radiación infrarroja a través de una muestra y determinar que fracción de la radiación incidente se absorbe en una energía particular. La energía a la que aparece un pico de absorción corresponde a la frecuencia de una vibración de una parte de la molécula muestra.

La espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier (FTIR) se basa en la idea de la interferencia de la radiación entre dos haces para producir un interferómetro. El último es una señal producida como una función del cambio de longitud de trayectorias entre los dos haces. Los dos dominios de distancia y frecuencia son interconvertibles por el método matemático de transformada de Fourier.

El principio básico de esta técnica se basa en la excitación de grupos moleculares por un haz de luz infrarroja que genera movimientos vibracionales en los enlaces de la molécula. Los movimientos vibracionales se distinguen por el tipo de desplazamiento generado en los enlaces, conociéndose como vibraciones de tensión o flexión. Las tensiones provocan un estiramiento o estrechamiento del enlace y las flexiones generan una deformación del enlace (Barraza Garza, y otros, 2013).

La radiación que emerge de la fuente se pasa a través de un interferómetro a la muestra antes de llegar a un detector. Al amplificar la señal, en el cual las contribuciones de alta frecuencia han sido eliminadas por un filtro, los datos se convierten a formato digital por un convertidor de analógico a digital y se transfieren a la computadora para la transformada de Fourier.

La espectroscopía de reflectancia total atenuada (ATR) es un método que utiliza el fenómeno de reflexión interna. Un haz de radiación que entra en un cristal se someterá a un cristal de reflexión interna total cuando el ángulo de incidencia en la interfaz entre la muestra y el cristal sea mayor que el ángulo crítico, donde este último es una función de los índices de refracción de las dos superficies. El rayo penetra una fracción de una longitud de onda más allá de la superficie reflectante y cuando un

material que absorbe radiación electivamente está en contacto cercano con la superficie reflectora, el rayo pierde energía en la longitud de onda donde el material absorbe. La Radiación atenuada resultante se mide y traza en función de la longitud de onda por el espectrómetro y da lugar a las características espectrales de absorción de la muestra. Los cristales utilizados en las celdas de ATR están hechos de materiales que tiene baja solubilidad en agua y tienen un índice de refracción muy alto. Tales materiales incluyen seleniuro de zinc (ZnSe), germanio (Ge) y yoduro de talio (KRS-5) (Stuart, 2004).

El análisis de una muestra por FT-IR provee como resultado un espectro de absorción de infrarrojo el cual proporciona información de la estructura y concentración molecular. Todas las moléculas pueden manifestar una serie de bandas de absorción, cada banda corresponde con un movimiento de vibración de un enlace específico dentro de la molécula. La mayoría de los componentes de un enlace químico tienen movimientos vibracionales con frecuencias dentro del infrarrojo ( $4000$  a  $650\text{ cm}^{-1}$ ). Estructuras químicas grandes como es el caso de las biomoléculas tiene picos de absorción predecibles, los cuales pueden variar ligeramente dependiendo de las distintas interacciones moleculares y propiedades físicas de las muestras. El análisis de células o tejidos biológicos es complejo, ya que la técnica no solo detecta una sola molécula, sino que permite observar la composición química de toda la célula o tejido (Barraza Garza, y otros, 2013).

#### **4.4 Química computacional**

La química computacional nace con la necesidad de comprender aspectos importantes que no se pueden resolver de forma práctica, como lo es conocer estados intermediarios en reacciones que se efectúan rápidamente, conocer el comportamiento de un material a temperaturas muy altas que son muy difíciles de alcanzar en un laboratorio, o simplemente calcular propiedades en sistemas de alto costo.

El objetivo principal de la química computacional es predecir todo tipo de propiedades moleculares de sistemas químicos utilizando la fisicoquímica, la física molecular y la física cuántica, y emplea una gran variedad de técnicas teóricas en constante desarrollo (Valles Sánchez, 2014).

##### **4.4.1 Métodos computacionales**

La química computacional abarca un amplio rango de métodos matemáticos que pueden dividirse en dos categorías:

- La mecánica molecular: que aplica las leyes de la física clásica al núcleo molecular sin considerar explícitamente a los electrones.
- La mecánica cuántica: se basa en la ecuación de Schrödinger para describir una molécula con un tratamiento directo de la estructura electrónica y que se subdivide a su vez en dos clases, según el tratamiento realizado, métodos semiempíricos y métodos ab initio ("desde el principio").

#### **4.4.1.1 Usos de la química computacional**

La implementación y aplicación de la química computacional nos permite investigar múltiples propiedades y comportamientos moleculares como los siguientes (Valles Sánchez, 2014):

- La geometría molecular en un sentido amplio, además de distancias y ángulos de enlace, es posible caracterizar la forma y tamaños relativos de todo tipo de moléculas y macromoléculas.
- La energía de todo tipo de especies químicas, incluyendo intermedios, estados de transición, estados excitados, etc. Es posible estimar magnitudes termodinámicas tanto en fase gas como en fases condensadas.
- La reactividad química. La química computacional dispone de herramientas sofisticadas para el cálculo de todo tipo de propiedades cinéticas como constantes de velocidad, efectos científicos isotópicos, secciones eficaces de reacción, etc.
- Las propiedades físicas de las fases condensadas. La descripción correcta de las interacciones intermoleculares es un desafío que es posible afrontar con éxito con la ayuda de varios métodos.
- Las propiedades espectroscópicas, pero también todo tipo de propiedades eléctricas y magnéticas de moléculas individuales. Para la espectroscopia Raman (en la que se mide la luz IR dispersada en lugar de la transmitida), la necesidad de observar un modo vibratorio (es decir, para la absorción de un fotón) es que la vibración se produce con un cambio en la polarizabilidad. Los espectros Raman son rutinariamente calculables (por ejemplo, los programas gaussianos, las frecuencias IR y Raman son las mismas) junto con los espectros IR (Lewars, 2004).

#### 4.4.1.2 Programa de cálculo Gaussian 03

El programa Gaussian 03 es producido por Gaussian Inc., es un sistema de programas conectados para ejecutar una variedad de cálculos de estructura electrónica. Acompañada de Gauss View permite dibujar las moléculas, ver las vibraciones moleculares, representar los orbitales moleculares y las cargas atómicas en las moléculas. Es capaz de predecir muchas propiedades moleculares y reacciones químicas, incluyendo: Energías y estructuras moleculares, estructuras de estado de transición, frecuencias, vibraciones, espectros infrarrojos y Raman, propiedades termodinámicas, energías de reacción y de enlace, trayectorias de reacción, orbitales moleculares, cargas atómicas, apantallamiento en resonancia magnética nuclear y susceptibilidad magnética, afinidades electrónicas y potenciales de ionización, polarización e hiperpolarización, potenciales electrostáticos y densidades electrónicas (Gaussian.com, 2003).

En este programa están implementados los métodos siguientes:

- Mecánica molecular
- Mecánica cuántica

Los diversos módulos del programa permiten optimizar estructuras moleculares, determinar energías, espectros vibracionales y electrónicos, así como las cargas atómicas en los sistemas moleculares. Calcular estados fundamentales y estados excitados, singuletes y tripletes (Figuerola Nazuno, Rentería Aguilimpia, & Baustillo Hernández, 2008).

Las aproximaciones habituales implican la separación de la función de partición en un producto de componentes traslacionales, rotacionales, vibratorios, electrónicos y nucleares (Nicolaidis, Rauk, Glukhovtsev, & Radom, 1996). Para obtener las propiedades espectrales de sistemas moleculares se plantea un operador hamiltoniano que toma en cuenta la energía cinética y la energía potencial generada por las interacciones intermoleculares y en algunos casos en los sistemas moleculares externos. Después de esto se plantea la ecuación de Schödinger y se obtienen las soluciones. Existen sistemas en los cuales se pueden aproximar los operadores hamiltoneanos permitiendo plantear estas ecuaciones que se resuelven por medio de métodos computacionales.

- Método Funcional de la Densidad (DFT) se basa en la función de densidad de probabilidad electrónica o función de densidad de electrones, comúnmente llamada densidad electrónica o densidad de carga. DFT es un cálculo SCF (Self-Consistent-Field).

- Método Hartree-Fock. Hartree fue el que introdujo un método que posteriormente modificarían Fock y Slater para introducir los términos de intercambio, o la consideración de las funciones antisimétricas que son producto de las funciones monoeléctricas (modelo de partículas independientes).

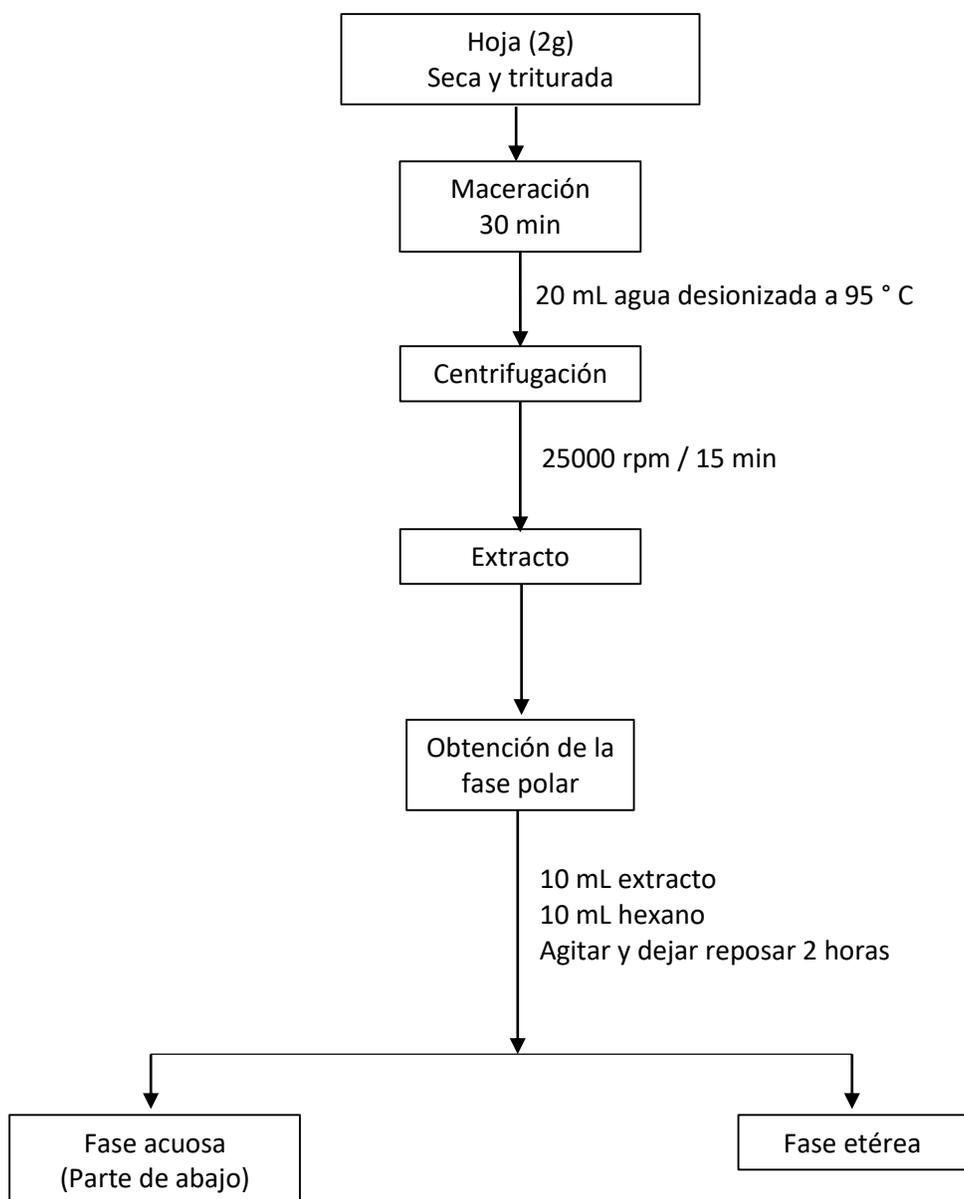
# Capítulo 5 Materiales y métodos

## 5.1 Reactivos

- AgNO<sub>3</sub> (Aldrich 99%)
- Agua desionizada MEYER (Lote: D0614308)
- n-Hexano (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>, MERCK, 95%)
- Extractos de: té (*Camellia sinensis*) e infusiones

## 5.2 Método de extracción

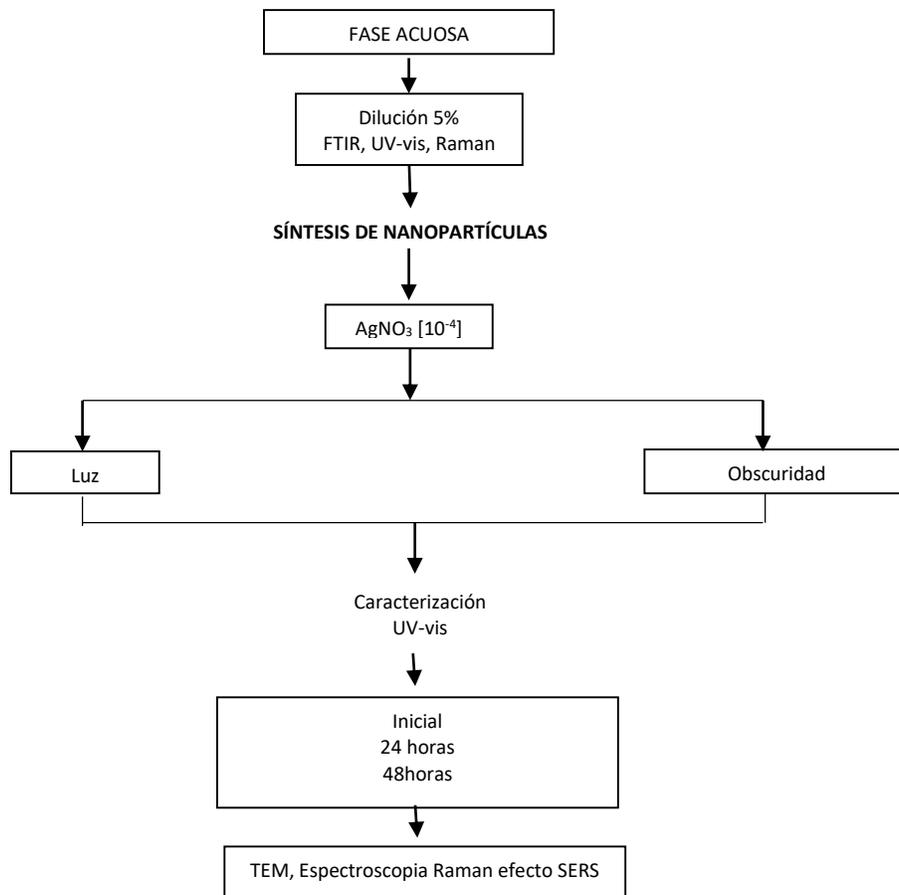
Se calentó agua desionizada hasta llegar a la temperatura de ebullición (aprox. 95 °C). Se apagó la parrilla y se agregaron 2g de muestras en el agua caliente; dejando la mezcla por 30 min. Posteriormente, la mezcla (infusión) generada se centrifugó a 25000 rpm (centrífuga Hermle Labortechnik Z36) durante 15 min. El sólido fue desechado y el sobrenadante (extracto) centrifugado se diluyó 1:1 con hexano en un embudo de separación; luego se agitó vigorosamente por 5 min y se dejó reposar por 90 min. Después de este tiempo se obtuvieron dos fases, una polar y otra no polar. En la Figura 24 se muestra un esquema que resume este método de extracción.



**Figura 24.** Esquema para obtención de flavonoides y/o alcaloides a partir de extractos de tés e infusiones usadas para la síntesis de nanopartículas metálicas

### 5.3 Síntesis

La fase polar (acuosa) del extracto de té e infusiones se diluyó al 5% con agua desionizada, se agitó por 3 minutos, se tomaron 10 mL de la dilución adicionándole 10  $\mu$ L de nitrato de plata 0.1 M y se deja agitar por 20 minutos, para obtener una concentración final de  $1 \times 10^{-4}$  M de nitrato de plata.



**Figura 25.** Esquema utilizado para la síntesis de nanopartículas de plata

La síntesis consistió en la reducción de la sal de plata con los compuestos antioxidantes de los tés e infusiones y se dejó 24 horas y 48 horas en presencia de luz (Foco: 13.5 W, 6500K. PHILIPS) y en la oscuridad (Figura 25).

#### 5.4 Caracterización

Las propiedades ópticas que poseen las nanopartículas metálicas son de interés para su observación y así determinar estructura, configuración y distribución de tamaños, al igual que las moléculas reductoras que se encuentran en los extractos. Los espectros para este trabajo han sido medidos en el Laboratorio LUCE del ICAT UNAM. Las pruebas realizadas para la caracterización fueron las siguientes:

#### **5.4.1 Espectroscopía Infrarroja (IR)**

Una vez obtenidos los extractos de té e infusiones estos se caracterizaron por Espectroscopía Infrarroja (IR) para poder identificar las moléculas que van a conducir a la plata a su reducción, utilizando un espectrofotómetro Nicolet Nexus 670 FT-IR.

#### **5.4.2 Espectroscopía UV-visible**

Las nanopartículas de plata se expusieron a la luz blanca y a la oscuridad, se caracterizaron por espectrofotometría (UV-VIS\_NIR, Cary 5000) cada 24 horas se analizó la muestra observando la interacción entre el nitrato de plata y los flavonoides contenidos en el té observando los cambios de las propiedades ópticas de los extractos sin  $\text{AgNO}_3$  y de las nanopartículas de plata. Se utilizan celdas de cuarzo cuadradas, ya que el vidrio absorbe radiación UV.

#### **5.4.3 Espectroscopía Raman efecto (SERS)**

El equipo utilizado fue el Microscopio Confocal Raman acoplado a un Microscopio de Fuerza Atomica Alpha 300AR- WITec y se obtuvieron espectros Raman por efecto SERS observando los cambios de las propiedades ópticas de las moléculas que se encuentran en los extractos cuando interaccionan con las nanopartículas de plata.

#### **5.4.4 Microscopía electrónica de transmisión**

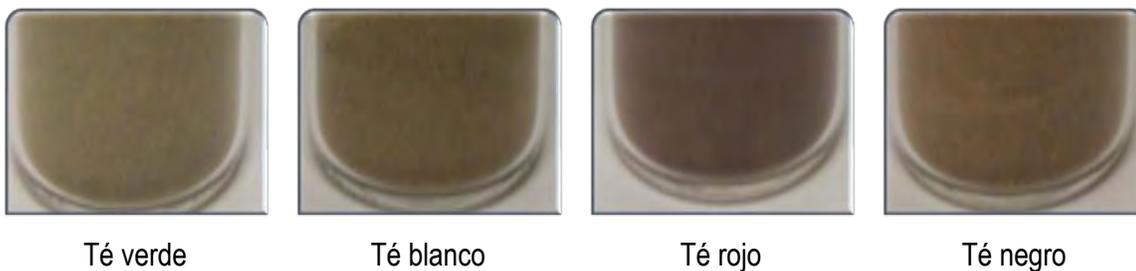
Las imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM), fueron llevadas a cabo en los laboratorios del CIMAV (Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C.), ubicado en el complejo industrial Chihuahua Chihuahua, usando un microscopio Electrónico de Transmisión de Alta Resolución. Nanotech TEM JEOL JEM 2200FS+CS.

# Capítulo 6 Resultados y análisis de resultados

## 6.1 Obtención de muestras y síntesis de nanopartículas

Se utilizaron muestras trituradas Figura 26 ya que mejora la eficiencia de extracción al aumentar la superficie del material vegetal, también disminuye la cantidad de disolvente necesaria para la extracción al permitir que el material se empaque más densamente (Ali, Arfan, & Shahverdi, 2013). La extracción de los polifenoles del té y compuestos reductores de las infusiones con agua fría no es exitosa, considerando que el té e infusiones son usualmente consumidos con una cocción previa, al hervirlos se obtienen diferentes sustancias como sales inorgánicas (sabor y color), cafeína, materia gomosa (sabor y color), y sustancias no nitrogenadas (astringentes) como catequinas (polifenoles) (Juneja, Kapoor, Okubo, & Rao, 2013) por lo que se decidió realizar la obtención del extracto con agua desionizada caliente y se dejó enfriar por 30 min; se deja que los sólidos se decanten para poder obtener el extracto con menos sólidos posibles. El extracto se centrifugó para separar las partículas grandes (sólidos) restantes.

**A**



**B**



**Figura 26.** Hojas trituradas de A) té (Camellia sinensis) y B) infusiones utilizadas en esta investigación

**Tabla 1.** Cambios de color observados durante el proceso de síntesis de nanopartículas de plata, expuestas a la luz y en la obscuridad de los tés.

Tés	Dilución 5%	AgNO <sub>3</sub> [10 <sup>-4</sup> ] inicial	AgNO <sub>3</sub> [10 <sup>-4</sup> ] 24hrs Luz	AgNO <sub>3</sub> [10 <sup>-4</sup> ] 24hrs Obscuridad	AgNO <sub>3</sub> [10 <sup>-4</sup> ] 48hrs Luz	AgNO <sub>3</sub> [10 <sup>-4</sup> ] 48hrs Obscuridad
Verde						
Blanco						
Rojo						
Negro						

Los compuestos polares que se encuentran en los extractos de tés e infusiones tienen propiedades antioxidantes, estas actividades adicionales de fitoquímicos antioxidantes contribuyen a la síntesis de nanopartículas. En la síntesis de nanopartículas de plata la reacción que se lleva a cabo es la reducción del nitrato de plata por acción de los compuestos que se encuentran en los extractos. Se realizó una separación de fase polar y fase no polar del extracto removiendo los demás compuestos que no son de interés para la síntesis, utilizando hexano como disolvente, el cual además de la ya mencionada principal función, puede también desactivar las enzimas presentes en la planta.

En el embudo de separación, la parte superior se encuentra la fase no polar (compuestos insolubles en agua) como celulosa y fibra cruda, proteínas, lignina, almidón (Wittig de Penna, 2005), en la parte inferior se encuentra la fase acuosa que es la que contiene los compuestos polares (solubles en agua) catequinas, alcaloides, cafeína, aminoácidos, azúcares, pectinas, cenizas e inositol (Wittig de Penna, 2005).

**Tabla 2.** Cambios de color observados durante el proceso de síntesis de nanopartículas de plata, expuestas a la luz y en la obscuridad de infusiones

Infusiones	Dilución 5%	AgNO <sub>3</sub> [10 <sup>-4</sup> ] inicial	AgNO <sub>3</sub> [10 <sup>-4</sup> ] 24hrs Luz	AgNO <sub>3</sub> [10 <sup>-4</sup> ] 24hrs Obscuridad	AgNO <sub>3</sub> [10 <sup>-4</sup> ] 48hrs Luz	AgNO <sub>3</sub> [10 <sup>-4</sup> ] 48hrs Obscuridad
Uña de gato						
Mate de coca						
Rooibos						

La resonancia entre la frecuencia del campo electromagnético y el movimiento de electrones coherente resulta en una fuerte absorción que es el origen del color observado (Rucha Desai, 2012). Los tés

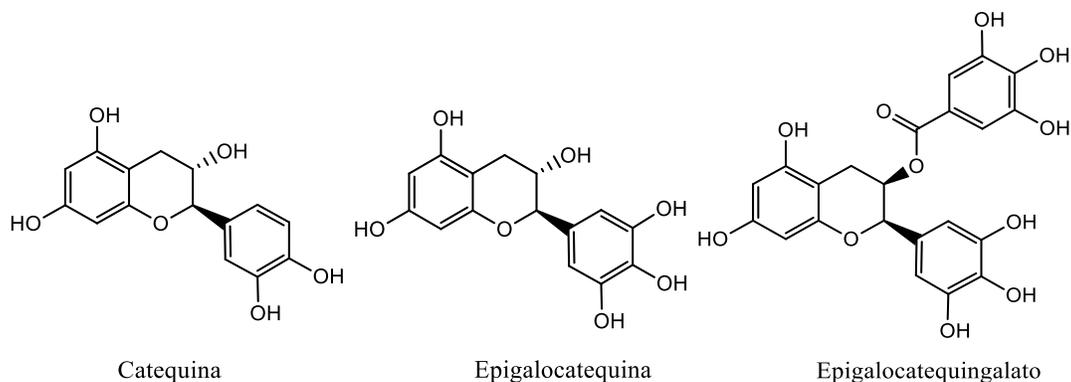
tuvieron una coloración amarillenta con distintos matices, el té negro y el té verde son los que se aprecia mejor esta coloración. El té verde es el único que presenta coloración en la obscuridad ya que los otros té solo mostraron esta coloración en presencia de la luz (Tabla 1).

En la Tabla 2 podemos ver que a pesar de que la dilución 5% tiene coloración propia de las infusiones, hay un cambio de coloración amarillenta y anaranjada después de la adición del nitrato de plata y las muestras expuestas a la luz, el color amarillo o anaranjado es más intenso que en la obscuridad.

## **6.2 Espectroscopía Infrarroja (IR)**

Se realizó un estudio adicional para caracterizar las moléculas reductoras en los extractos. Para la obtención de los espectros FT-IR se dejó secar la muestra líquida sobre la celda por 1 hora y se utilizó un espejo; mediante la incidencia de un haz de luz infrarroja sobre la muestra de los extractos diluidos al 5% son indicados en las gráficas 1, 2, 3 y 4.

**Grafica 1.** Espectros FTIR de extractos de té al 5%: A. verde, B. blanco, C. rojo y D. negro



**Figura 27.** Estructuras de los flavonoides que se encuentran en mayor concentración en la planta de *Camellia sinensis*

En la gráfica 1 A se muestra el espectro IR del extracto de té verde diluido al 5%, el pico de absorción a  $1448\text{ cm}^{-1}$  es asignado a la deformación de C-H en anillos aromáticos, la absorción en  $1355\text{ cm}^{-1}$ ,  $1144\text{ cm}^{-1}$  y  $1043\text{ cm}^{-1}$  pertenecen al alargamiento de C-O y C-O-H de hidroxilos fenólicos. La banda de absorción en  $3329\text{ cm}^{-1}$  implica alargamiento del enlace O-H del fenol libre y enlaces de H.

La banda en  $1605\text{ cm}^{-1}$  se debe al doble enlace C=C aromático, en  $2929\text{ cm}^{-1}$  se encuentra el alargamiento del  $\text{CH}_2$ , la banda en  $827\text{ cm}^{-1}$  podemos encontrar la sustitución meta (3 H adyacentes).

El espectro obtenido del extracto de té blanco se muestra en la gráfica 1 B, la banda ubicada en  $3331\text{ cm}^{-1}$  corresponde al alargamiento de los enlaces O-H, las señales de mayor intensidad, se encuentran en  $2924\text{ cm}^{-1}$  y  $2854\text{ cm}^{-1}$  se le asignan alargamientos simétricos y asimétricos de grupos C-H y  $\text{CH}_2$  de saturación, la banda que se ubica en  $1697\text{ cm}^{-1}$  es una vibración de flexión asimétrica C=O de flavonoides, en  $1456\text{ cm}^{-1}$  se encuentra la vibración de flexión de C-H de grupos  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$  aromáticos de flavonoides y anillos aromáticos. La señal en  $1377\text{ cm}^{-1}$  es una deformación de los enlaces C-H del grupo  $\text{CH}_3$  en flavonoides, la frecuencia en  $1099\text{ cm}^{-1}$  son vibraciones de alargamiento en C-C y de flexión en C-OH de flavonoides.

El espectro IR de la gráfica 1 C corresponde al extracto de té rojo, que como en los espectros anteriores podemos ver la frecuencia del alargamiento del enlace de O-H ubicada en  $3306\text{ cm}^{-1}$ , La banda que se encuentra en  $1632\text{ cm}^{-1}$  es la vibración del alargamiento de C-O y la flexión de C-OH siendo esta banda la más intensa, los enlaces de C-C y C-OH se ubican en la vibración  $1076\text{ cm}^{-1}$ .

Por último en la gráfica 1 D la cual pertenece al extracto de té negro que tiene la banda de O-H en  $3498\text{ cm}^{-1}$  que no está bien definida y tiene mucha intensidad, la banda en  $1697\text{ cm}^{-1}$  se encuentra la señal de vibración de flexión asimétrica en flavonoides del enlace C-O, la señal en  $1605\text{ cm}^{-1}$  coincide

con la gráfica 1 A donde se le atribuye al doble enlace en C=C, para flavonoide y anillos aromáticos, en los enlaces C-H de los grupos CH<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub> se encuentran en la banda 1448 cm<sup>-1</sup>.

En la comparación de los espectros de *Camellia sinensis* las señales que coinciden con los enlaces que se atribuyen a los fenoles y flavonoides por algunos autores para este tipo de muestras, lo cual se puede considerar como indicativo de la presencia de moléculas reductoras principalmente catequinas, EGC y EGCG Figura 27 (Delgado Aceves, Andrade Ortega, & Ramírez Barragán, 2015).

**Grafica 2.** Espectro FTIR de extracto de uña de gato al 5%

El espectro de la infusión de Uña de gato se presenta en la gráfica 2, donde podemos ver la banda en 3336 cm<sup>-1</sup> del enlace O-H y N-H, los enlaces del grupo C-H se detectaron la banda de absorción de 1498 cm<sup>-1</sup>, el pico a 1635 cm<sup>-1</sup> indica la presencia del grupo carbonilo C=O aromático conjugado, con dobles enlaces. En el área de 1398 cm<sup>-1</sup> se observa una banda característica del grupo CH<sub>3</sub>. La señal en 1265 cm<sup>-1</sup> es debida a la vibración de estiramiento del C-O, los modos de estiramiento de C-O-C se puede encontrar en la región de 1078 cm<sup>-1</sup>.

**Grafica 3.** Espectro FTIR de extracto de mate de coca al 5%

En el espectro de la gráfica 3 del extracto de mate de coca se observa una de las señales destacadas en  $3304\text{ cm}^{-1}$  característica para grupos O-H. La otra banda identificada en  $1601\text{ cm}^{-1}$  se ha considerado debido a la absorción de la amina  $\text{:N} - \text{CH}_3$  y de vibraciones de los grupos carbonilo C=O del anillo aromático. En la banda  $1049\text{ cm}^{-1}$  se encuentran las vibraciones de estiramiento de C-O-C, en  $2922\text{ cm}^{-1}$  se puede observar la banda aromática de -C-H de los alcaloides. La banda que se encuentra en  $1709\text{ cm}^{-1}$  se atribuye al estiramiento de C=O, en  $1390\text{ cm}^{-1}$  representa la flexión de  $\text{CH}_3$  asimétrica.

**Grafica 4.** Espectro FTIR de extracto de rooibos al 5%

En la gráfica 4 se muestra el espectro FTIR de la infusión de Rooibos, podemos encontrar la banda característica del enlace O-H en  $3342\text{ cm}^{-1}$  con una intensidad menor a las de las demás infusiones, la señal en  $2884\text{ cm}^{-1}$  se atribuye al alargamiento simétrico de C-H de hidrocarburos, Las bandas con mayor intensidad en este espectro son las que se encuentran en  $2360\text{ cm}^{-1}$  y  $2341\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a las bandas de estiramiento C-H de compuestos aromáticos (Stuart, 2004), la señal en  $1603\text{ cm}^{-1}$  se asigna al doble enlace C=C de compuestos aromáticos, la banda en  $1508\text{ cm}^{-1}$  se refiere al alargamiento de los enlaces de los compuestos aromáticos de los anillos de flavonoides. Los grupos  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$  aromáticos de los flavonoides que tiene la señal en  $1362\text{ cm}^{-1}$ , también encontramos la banda en  $1271\text{ cm}^{-1}$  indica la flexión asimétrica de enlaces C-CO de hidrocarburos, la banda encontrada en  $1072\text{ cm}^{-1}$  son señales de vibración de alargamiento de C-C, flexión de C-OH y alargamiento de C-O-C de los flavonoides (Delgado Aceves, Andrade Ortega, & Ramírez Barragán, 2015). Por ser la aspalatina el compuesto reductor que se encuentra en mayor concentración en el

rooibos, podemos compararlo con los espectros de *Camellia sinensis* ya que la aspalatina es un tipo de flavonoide y tiene bandas que son similares a los espectros de los tés.

### 6.3 Espectroscopía UV-vis

Los extractos de té e infusiones fueron caracterizados antes de sintetizar nanopartículas de plata, se realizó la dilución al 5% de cada extracto. Una de las pruebas principales se hizo con el espectrofotómetro UV-visible-NIR.

Se reporta en la literatura que la catequina y sus derivados se encuentra en mayor concentración en el té (*Camellia sinensis*) por lo que se comparó el espectro UV-vis de cada uno de los tés con una solución estándar de catequina al 5% (Gráfica 5), se observó que la catequina tiene una longitud de onda máxima de 279 nm, el té verde de 271 nm, el té blanco 269 nm, té rojo 270 nm, té negro 271 nm. Estos valores se encuentran dentro del rango establecido para la detección de catequinas que son de 269-280 nm (V. Vuong, B. Golding, Nguyen, & D. Roach, 2010).

**Grafica 5.** Espectro UV-vis de los extractos de té diluido al 5% comparando con una solución estándar de catequina 5%

La Gráfica 6 presenta los espectros UV-vis de los extractos de las infusiones diluido al 5% en donde se pueden observar los picos de uña de gato en 280 nm, mate de coca 265 nm y rooibos 284 nm, los alcaloides tienen un rango de absorción de 232 nm – 292 nm (Katoch, Kumar, Kumar, & Singh, 2012). A pesar de que el compuesto más abundante en el Rooibos es la aspalatina su banda se encuentra

dentro del rango de los alcaloides, esto puede ser por la presencia de otros compuestos que van a influir en el análisis de esta infusión. Los anillos bencénicos sustituidos por grupos amino, presentan dos bandas fundamentales que aparecen en 230 y 280 nm (Espada Domínguez, Ferrer Serrano, Batista King, Bandera Nápoles, & Almeida Acosta, 2016) y las catequinas en 269 nm – 280 nm (V. Vuong, B. Golding, Nguyen, & D. Roach, 2010). El espectro UV de los alcaloides depende de su estructura, naturaleza, número, tipo y posición de los sustituyentes (Arango Acosta, 2008), las bandas se encuentran dentro del rango reportado en la literatura y también se encuentran en el rango de catequinas y polifenoles que podrían encontrarse en este tipo de plantas.

**Grafica 6.** Espectros UV-vis de los extractos de infusiones diluidos al 5%.

En las Gráficas 7 y 8 se muestran los espectros de absorción de UV-vis de las dispersiones acuosas de nanopartículas de plata con los diferentes extractos de té e infusiones expuestas a la luz y en la obscuridad durante 24 horas y 48 horas.

Extractos 5% + AgNO<sub>3</sub> [10<sup>-4</sup> M]

Primeramente, analizaremos el espectro de absorción correspondiente a la dispersión de nanoesferas producidas por los compuestos reductores de los extractos de té (*Camellia sinensis*) Gráfica 7, en dicho espectro podemos observar que en la Gráfica 7 A a 24 horas expuestos a la luz se presentan tres bandas, una en 270 nm la cuál al compararla con los espectros de la Gráfica 5 en donde solo se

tomaron los espectros de las diluciones al 5% de los extractos de té, podemos afirmar que esta banda se refiere a la presencia de catequinas/polifenoles presentes en los extractos los cuales no han reaccionado con la plata ya que la intensidad disminuye en comparación con la banda encontrada antes de agregar la plata a la dilución del extracto, así que en los próximos espectros esta banda no se tomara en cuenta como plasmón. Otra banda de absorción solo la presenta el té verde en 347nm, y una banda de absorción en ~437nm que presentaron la mayoría de los té. El té rojo no presento ninguna de las bandas ya mencionadas a pesar de que se expuso a la luz durante 24 horas. Comparando estos resultados con la Tabla 1 en donde podemos observar las fotos de estos procesos, el único coloide que no mostró coloración en presencia de la luz a 24 horas fue el té rojo. En la gráfica 7 A en 48 horas expuestos a la luz blanca se sigue observando que el té verde muestra una banda en 349 nm y hay otra banda que muestran todos los té en ~440 nm, siendo el té negro el té más reductor de todos en presencia de luz, ya que es el plasmón que presenta la mayor intensidad en comparación con los demás té. La dilución al 5% con  $\text{AgNO}_3$  [ $10^{-4}$  M] del té negro es incolora, después de 24 horas en la luz blanca la solución se vuelve amarilla clara, y se observa una banda de plasmón en 437nm, cuando la solución fue expuesta a la luz durante 48 horas su color amarillo se intensificó un poco. El coloide muestra una banda de resonancia más intensa y se hace más ancha a las 48 horas de la exposición a la luz y se desplazó de 437nm a 440nm, siendo que la irradiación con luz blanca sobre el coloide del té negro tuvo mayor influencia en la producción de nanopartículas de plata con los extractos de las infusiones.

Analizando la Gráfica 7 B a 24 horas en la obscuridad se puede observar que el té verde sigue mostrando dos bandas de absorción en 346nm y otra en 442 nm, los espectros de los demás té no muestran ningún plasmón, viendo las fotografías obtenidas de los coloides a 24 horas en la obscuridad (Tabla 1), estos no muestran ninguna coloración. Al igual que en la Gráfica 7 B a 24 horas, en la obscuridad no hubo cambios en los espectros, el extracto de té verde es el único que muestra las bandas en 346nm y 442nm, siendo este el té con mayor poder reductor ya que presentó plasmones expuesto a la luz y en la obscuridad.

**Grafica 7.** Espectros de absorción de la dispersión acuosa de nanopartículas de plata a una concentración final de  $10^{-4}$  M obtenidas por los extractos de té (*Camellia sinensis*). A) exposición de las muestras a la luz blanca a 24 horas y 48 horas. B) muestras en la oscuridad por 24 horas y 48 horas

Por otro lado en la Gráfica 8 A a 24 horas en la luz se pueden observar dos bandas una en 281 nm la cual, al igual que en el caso de los tés se refiere a la banda que se observa en los espectros de los extractos de las infusiones diluidas al 5%, no se tomará en cuenta como plasmón, y la otra banda es en 422 nm la cual se observa con poca intensidad, comparando con las imágenes de la Tabla 2 a pesar de que la misma dilución ya tiene un color característico de la infusión, si hubo un cambio en su coloración en las tres infusiones a un color anaranjado intenso. En la Gráfica 8 A a 48 horas de exposición a la luz los plasmones se intensificaron por mucho a una longitud de onda de 434 nm en los cuales el plasmón más intenso pertenece a la uña de gato y el siguiente al mate de coca, para el Rooibos no hubo ninguna diferencia de 24 horas ni en 48 horas. En el espectro de absorción de la Gráfica 8 B a 24 horas y 48 horas en la oscuridad, solo se observa la banda de 281 nm correspondientes a los componentes de los extractos sin nitrato de plata, lo que podemos ver es que solo con fotoreducción podemos obtener nanopartículas de plata con los extractos de las infusiones.

**Grafica 8.** Espectros de absorción de la dispersión acuosa de nanopartículas de plata obtenidos con las infusiones de uña de gato, mate de coca y rooibos. A) exposición de las muestras a la luz blanca a 24 horas y 48 horas. B) muestras en la obscuridad durante 24 horas y 48 horas

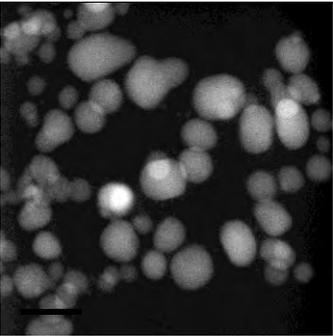
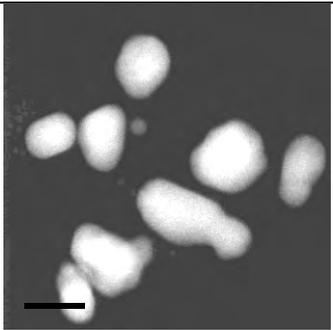
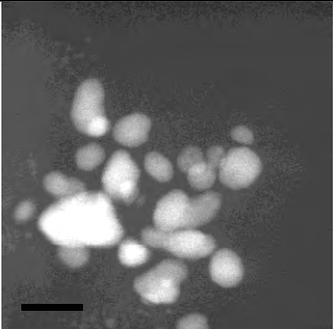
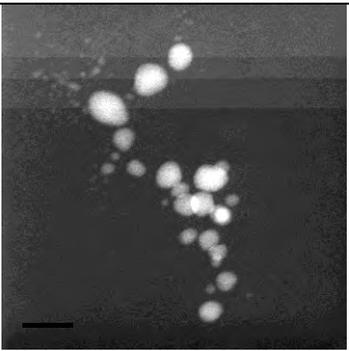
La longitud de onda del máximo, así como la forma, se han asociado con la formación de nanoesferas de plata.

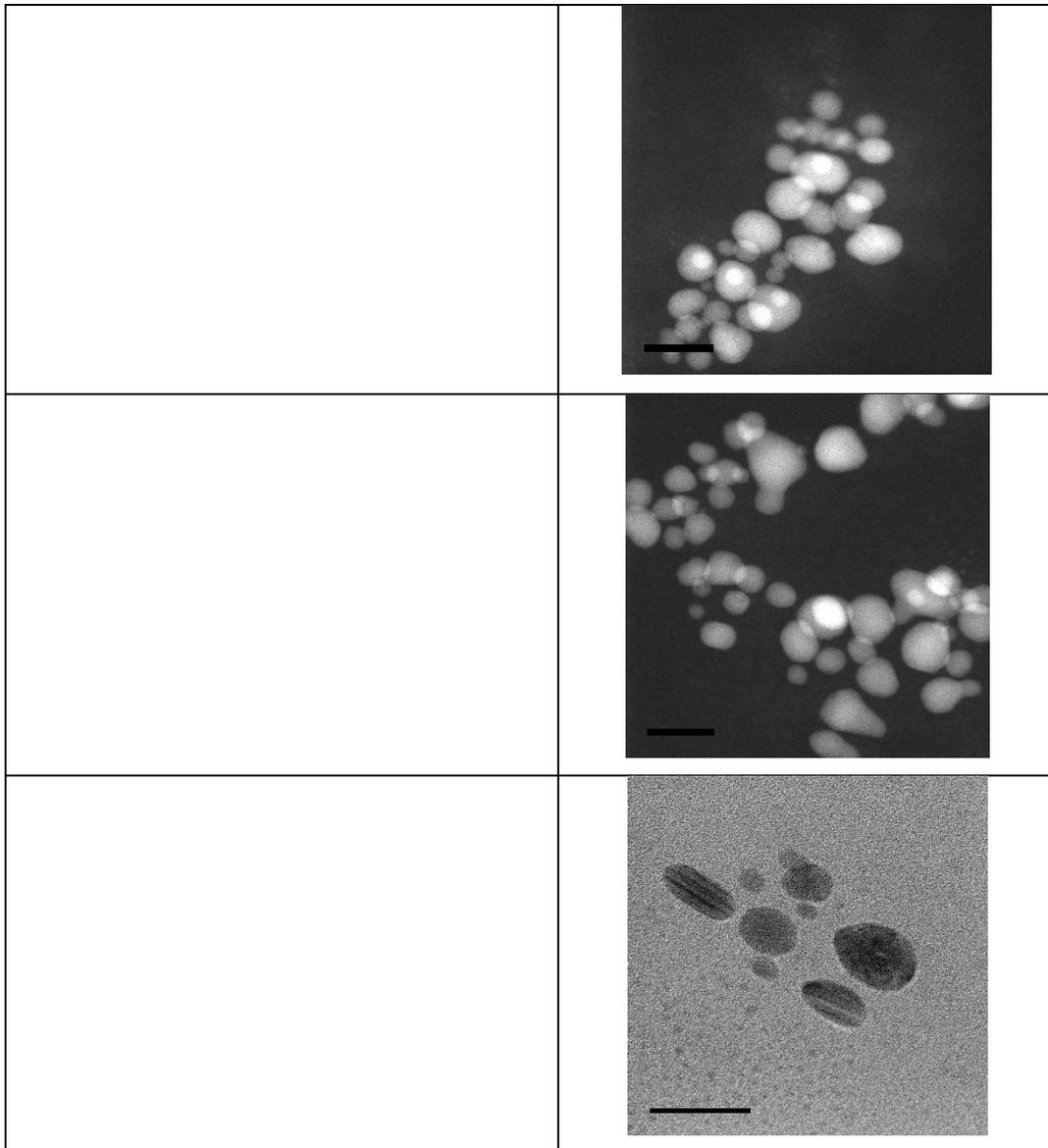
#### **6.4 Espectroscopía electrónica de transmisión**

A pesar de que los espectros de absorción proveen una evidencia sólida de la formación de las nanopartículas de plata al igual que su crecimiento, la forma y el tamaño puede ser mejor ilustrado con la ayuda de las imágenes TEM.

Se obtuvieron las imágenes TEM la cual consiste en realizar un barrido con un haz estrecho de electrones a través de una muestra delgada. En la Tabla 3 se confirma la formación de nanopartículas de plata en un rango de tamaño de  $\sim 4.7 \pm 1.3$  nm sintetizadas en los medios de extractos de té e infusiones. El té verde tiene un tamaño promedio de  $\sim 6.9 \pm 1.8$  nm siendo el segundo tamaño mas grande en comparación al promedio de las nanopartículas formadas por los tés e infusiones. Las nanopartículas del té blanco son las de mayor tamaño con un promedio de  $\sim 15.4 \pm 4.1$  nm. La mayoría las nanopartículas formadas por el método de síntesis utilizado presentan morfología semi-esférica.

**Tabla 3.** Imágenes obtenidas por espectroscopia electrónica de transmisión de los extractos de té e infusiones y los respectivos gráficos de distribución de tamaños de nanopartículas.

Gráfico de distribución de tamaño de las nanopartículas	Imágenes TEM
	
	
	
	



### 6.5 Espectroscopía Raman

Se obtuvieron espectros Raman de los extractos de los tés e infusiones (Gráfica 9) donde se observó fluorescencia, la cual ha sido un gran desafío en el análisis espectroscópico Raman de muestras orgánicas y especímenes biológicos. La dispersión Raman y la fluorescencia tiene orígenes similares. Generalmente, un fotón láser rebota en una molécula y pierde cierta cantidad de energía que permite a la molécula vibrar (Stokes). El fotón disperso es por lo tanto menos energético y la luz asociada exhibe un cambio de frecuencia. Los diversos cambios de frecuencia asociados con diferentes vibraciones moleculares dan lugar a un espectro, que es característico de un compuesto específico. Por el contrario, en la fluorescencia la emisión sigue un proceso de absorción (JobinYvon, 2018).

**Grafica 9.** Espectros Raman de los extractos de té e infusiones al 5%

### 6.5.1 Espectroscopía Raman: “efecto SERS”

Los espectros se observaron en el corrimiento Raman de 1200 a 1800  $\text{cm}^{-1}$  (rango donde se observaron las bandas significativas), los coloides de plata fueron utilizados para minimizar la fluorescencia en los extractos y mejorar las señales de los componentes de interés. En las siguientes Gráficas 10, 11, 12 y 13 se obtuvieron de los extractos de té e infusiones los cuales en todas las muestras se observó fluorescencia, y después de 48 horas de la síntesis de nanopartículas de plata, cuando los componentes de los extractos se ponen en contacto con las nanopartículas se obtiene el efecto SERS, que permite la mejora de las señales Raman de moléculas absorbidas en la superficie del metal debido a factores electromagnéticos y químicos (Baranska & Schulz, 2009). Los cálculos DFT teóricos de química cuántica se usaron para comparar con los espectros experimentales. Los cálculos se realizaron dentro de DFT utilizando software Gaussian 03 el cual como ya se mencionó anteriormente, permite simular las estructuras de las moléculas responsables de la reducción de la plata (Anexo II), ver las vibraciones moleculares, representar los orbitales moleculares y las cargas atómicas en las moléculas. Los factores de escala han sido desarrollados para una variedad de niveles teóricos con el fin de lograr que las frecuencias teóricas estén en mejor acuerdo con los fundamentos experimentales (Nicolaidis, Rauk, Glukhovtsev, & Radom, 1996). Los factores de escala óptimos dependen de la propiedad que se va a calcular, en este caso la geometría de la molécula se optimizó mediante el método de la densidad de la red de integración en las frecuencias DFT para una cuadrícula

en B3-LYP/6-31G (d). En cada uno de los espectros obtenidos por el software Gaussian se multiplicó por el factor 0.9614 ver anexo III (en donde se muestran los factores que se recomiendan utilizar para cada método utilizado en el análisis computacional).

En las gráfica 10 se muestran los espectros Raman de los compuestos que se encuentran en mayor cantidad en los tés (verde, blanco, rojo y negro) calculados por el software Gaussian 03 como son la catequina, epigallocatequingalato y epigallocatequina los cuales se compraran con un espectro Raman efecto SERS de cada uno de los coloides de nanopartículas de plata que se sintetizaron utilizando los extractos de tés. Las bandas experimentales de los tés en el rango de  $1262\text{ cm}^{-1}$  –  $1303\text{ cm}^{-1}$  no se encontró coincidencia con las bandas teóricas de Gaussian 03, sin embargo en la literatura (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández , 2013) las bandas ubicadas en  $\sim 1272\text{ cm}^{-1}$  son asignadas a las vibraciones de los enlaces C-H y C-OH en el anillo fenilo.

Las bandas ubicadas en  $1324\text{ cm}^{-1}$  –  $1403\text{ cm}^{-1}$  se comparan con las bandas calculadas de las moléculas de catequina en  $1314\text{ cm}^{-1}$ , EGC en  $1349\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica de los grupos C-H del anillo aromático y EGCG en  $1332\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica de grupos C-H y C-OH. Los cuatro tés se encuentran alrededor de  $1372\text{ cm}^{-1}$  que pertenecen al C-H del anillo del hexano (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007). La banda que se encuentra en  $1439\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a la deformación de tijera en  $\text{CH}_2$  (C. Barthus & J. Poppi, 2001), esta banda coincide con la banda de la catequina en  $1439\text{ cm}^{-1}$  flexión asimétrica de los grupos C=C, C-H y C-C del anillo fenilo (teórica) y al té negro (experimental) en  $1436\text{ cm}^{-1}$ .

1000 1200 1400 1600 1800 2000 2200 2400 2600 2800 3000 3200 3400 3600

1000 1200 1400 1600 1800 2000 2200 2400 2600 2800 3000 3200 3400 3600

**Grafica 10.** Comparación de los espectros Raman obtenidos en el programa computacional Gaussian 03 de la catequina, EGCG, EGC y el espectro Raman efecto SERS del coloide de plata con el extracto de té verde, te blanco, té rojo y té negro (espectro Raman inferior)

**Tabla 4.** Comparación de las vibraciones moleculares calculadas (gaussian 03), experimentales de los coloides de extractos de *Camellia sinensis* con nitrato de plata y teóricas (literatura): a. (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández, 2013). b. (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007). c. (C. Barthus & J. Poppi, 2001).

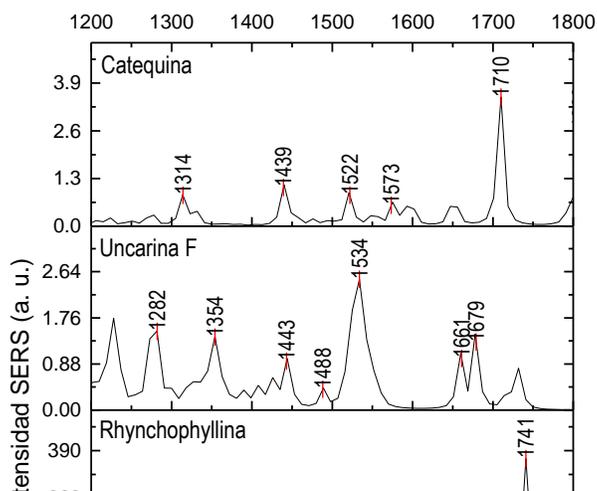
Grupos funcionales Referencia	Vibraciones moleculares referencia cm <sup>-1</sup>	Vibraciones moleculares calculadas cm <sup>-1</sup>			Vibraciones moleculares experimentales cm <sup>-1</sup>			
		EGC	EGCG	Catequina	té verde	té blanco	té rojo	té negro
CH del anillo del ciclohexano	1372 <sup>b</sup>	1349	1332	1314	1353	1324 1370	1399	1403
C=C, C-H, C-C	1439 <sup>c</sup>	--	--	1439	--	--	--	1436
Estiramiento del anillo fenilo	1459 <sup>b</sup>	1460	1448	--	1469	1419	1452	1509
Estiramiento del Anillo fenilo C=C	1554 <sup>b</sup>	1530	1539 1584	1521 1573	1534 1590	1497 1558	1514 1574	--
Estiramientos de los anillos fenilicos y extensiones de los etilenos C=C	1608 y 1630 <sup>a</sup>	1608	1601	--	1647	--	1635	1611 1647

Los picos encontrados cerca de  $1459\text{ cm}^{-1}$  se asignó a los estiramientos del anillo fenilo (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007), en las vibraciones teóricas de las estructuras fenólicas analizadas, el rango encontrado está en  $1448\text{ cm}^{-1} - 1460\text{ cm}^{-1}$  hay movimiento en el anillo fenilo de los enlaces C=C y C-H y en los espectros experimentales estas vibraciones están en  $1419\text{ cm}^{-1} - 1509\text{ cm}^{-1}$ . Las vibraciones de los estiramientos de C=C en el anillo fenilo son en  $\sim 1554\text{ cm}^{-1}$ , en las vibraciones teóricas las bandas se encuentran en  $1530\text{ cm}^{-1}$  de la EGC por la flexión asimétrica del anillo pirano en los grupos C-H,  $1539\text{ cm}^{-1}$  tensión asimétrica de grupos C-H y  $1584\text{ cm}^{-1}$  de las vibraciones de los anillos aromáticos en C=C y C-C de la EGCG y las bandas en  $1521\text{ cm}^{-1}$  flexión simétrica de C-H y  $1573\text{ cm}^{-1}$  flexión asimétrica en el anillo pirano de los enlaces C-C y C-H de la catequina. Con respecto a las bandas experimentales se encontraron bandas en  $1497\text{ cm}^{-1} - 1590\text{ cm}^{-1}$ .

Las bandas que se atribuyen a los estiramientos C=C de los etilenos están en las bandas de  $1608\text{ cm}^{-1}$  y  $1630\text{ cm}^{-1}$  (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández, 2013), la EGC tiene una banda en  $1608\text{ cm}^{-1}$  de la deformación de los enlaces C-H, C-OH y C=C del anillo fenilo y la EGCG en  $1601\text{ cm}^{-1}$  de la tensión asimétrica de grupos C-H y  $1584\text{ cm}^{-1}$  de las vibraciones de los anillos aromáticos en C=C y C-C, en el té blanco no se presentan bandas dentro de estos rangos, el té verde se encuentra en  $1647\text{ cm}^{-1}$ , el té rojo en  $1635\text{ cm}^{-1}$  y el té negro en  $1611\text{ cm}^{-1}$  y  $1647\text{ cm}^{-1}$ .

Para terminar con el análisis de los espectros de los tés, se encuentra el estiramiento del C=O en  $1690\text{ cm}^{-1}$  (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández, 2013), en las vibraciones teóricas la EGC hay una banda en  $1670\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica de los enlaces C-C de los anillos pirano y fenólico y  $1730\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica del anillo fenólico en los enlaces C=C y C-H, las bandas de EGCG en  $1665\text{ cm}^{-1}$  de las flexiones en el anillo aromático en C=C y C-C; en  $1728\text{ cm}^{-1}$  de las flexiones y estiramientos asimétricos de grupos C-OH y C-H del anillo, la catequina tiene una banda en  $1710\text{ cm}^{-1}$  de las flexiones asimétricas de C-H y C=C del anillo fenilo. El té verde es el único que presentó una banda en  $1690\text{ cm}^{-1}$ .

Al comparar las bandas encontradas experimentales con las bandas obtenidas teóricamente de las moléculas que se encuentran en mayor concentración en los extractos de té podemos ver que estas bandas se encuentran en la región espectral donde se identifican estos compuestos fenólicos ya reportados en la literatura y con los espectros Raman obtenidos del Software Gaussian 03.



**Grafica 11.** Comparación de los espectros Raman obtenidos en el programa computacional Gaussian 03 de la catequina, Rhynchophyllina, Uncarina F y el espectro Raman efecto SERS del coloide de plata con el extracto de uña de gato (espectro Raman inferior).

Como ya se revisó en la gráfica 1 la presencia de fluorescencia, se realizó la adición de nitrato de plata para formar nanopartículas de plata y utilizar la técnica SERS para así poder identificar las bandas características de los compuestos reductores. En la Gráfica 11, se observa la comparación de los espectros experimentales de la infusión de Uña de gato, las moléculas analizadas en el software Gaussian 03 fueron la catequina, rhynchophyllina y uncarina F (las últimas dos son moléculas que se encuentran en mayor concentración en esta infusión).

**Tabla 5.** Comparación de las vibraciones moleculares calculadas (gaussian 03), teóricas (literatura): a. (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández, 2013). b. (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007). c. (C. Barthus & J. Poppi, 2001) y experimentales de los coloides de extractos de Uña de gato con nitrato de plata.

Grupos funcionales	Vibraciones moleculares referencia cm <sup>-1</sup>	Vibraciones moleculares calculadas cm <sup>-1</sup>			Vibraciones moleculares experimentales cm <sup>-1</sup>
		Rhynchophyllina	Uncarina F	Catequina	Uña de gato
<b>CH y COH en el anillo fenilo y a una distorsión en la vibración</b>	1272 <sup>a</sup>	1264	1282	--	1295
<b>CH del anillo del ciclohexano</b>	1372 <sup>b</sup>	1328	1354	1314	1362
<b>Estiramiento del anillo fenilo</b>	1439 <sup>c</sup>	1426	1443	1439	1437
<b>Deformación de tijera en CH<sub>2</sub></b>	1459 <sup>b</sup>	1472	--	--	1460
<b>Estiramiento del Anillo fenilo C=C</b>	1554 <sup>b</sup>	1580	1534	1521 1573	1566
<b>Estiramientos de los anillos fenilicos y a extensiones de los etilenos C=C</b>	1608 y 1630 <sup>a</sup>	1651	1661	--	1598 1635

Comparando las vibraciones moleculares de Uña de gato, el pico experimental a  $1295\text{ cm}^{-1}$  se encuentra cerca de la región reportada en la literatura (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández, 2013) en  $1272\text{ cm}^{-1}$  que se le atribuye a las vibraciones de CH y COH en el anillo, los picos ubicados en  $1264\text{ cm}^{-1}$  corresponden a las flexiones de los grupos C-H,  $\text{CH}_2$  en los anillos pirano de Rhynchophyllina y la banda en  $1282\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica del C-H y N-H del anillo fenilo de Uncarina F.

La banda en  $1362\text{ cm}^{-1}$  está cercana a la vibración reportada en  $1372\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al enlace C-H del ciclo hexano (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007) y hay cercanía de las bandas en las moléculas teóricas, en rhynchophyllina hay dos bandas en  $1328\text{ cm}^{-1}$  de la flexión del enlace  $\text{CH}_2$  y  $1389\text{ cm}^{-1}$  de la flexión de C-H,  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$  de los anillos fenilo, en la Uncarina F está la banda en  $1354\text{ cm}^{-1}$  de la flexión de los grupos CH,  $\text{CH}_2$  de los anillos pirano y en la catequina está en  $1314\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica del grupo C-H del anillo aromático.

La banda de la uña de gato en  $1437\text{ cm}^{-1}$  coincide con la rhynchophyllina en  $1426\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica del anillo pirano de los grupos  $\text{CH}_2$ , la Uncarina F en  $1443\text{ cm}^{-1}$  del estiramiento del anillo fenilo en C=C y las vibración teórica de la catequina en  $1439\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica de los grupos C=C, C-H y C-C del anillo, el cual corresponde al estiramiento del anillo fenilo que en la literatura se encontró en  $1439\text{ cm}^{-1}$  (C. Barthus & J. Poppi, 2001). El pico experimental en  $1460\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a la deformación en  $\text{CH}_2$  que se encuentra en la literatura en  $1459\text{ cm}^{-1}$  (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007) y en la rhynchophyllina se encontró coincidencia en  $1472\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica de los grupos  $\text{CH}_3$  y  $\text{CH}_2$ .

La Uncarina F tiene un pico en  $1534\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica de los grupos  $\text{CH}_2$  del anillo pirano y estiramiento del anillo fenilo en C=C, la catequina en  $1521\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica de los enlaces C-H y  $1573\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica de C-C y C-H del anillo pirano y en el coloide está en  $1566\text{ cm}^{-1}$  estos picos se asignan a lo estiramientos del anillo fenilo en C=C ya que se encuentran cerca de la banda en  $1554\text{ cm}^{-1}$  (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007). Las bandas encontradas en  $1598\text{ cm}^{-1}$  y  $1634\text{ cm}^{-1}$  en el espectro experimental de uña de gato que coinciden con las bandas calculadas de uncarina F en  $1661\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica de los enlaces C-H y C=C del anillo fenilo, la rhynchophyllina en  $1651\text{ cm}^{-1}$  de las vibraciones de los enlaces  $\text{CH}_2$  del anillo pirano que en la literatura las podemos comparar con las bandas en  $1608$  y  $1630\text{ cm}^{-1}$  a las cuales se les atribuye a las extensiones de los etilenos en C=C (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández, 2013).

1200 1300 1400 1500 1600 1700 1800

**Grafica 12.** Comparación de los espectros Raman obtenidos en el programa computacional Gaussian 03 de la, cocaína, higrina, cuscohigrina y el espectro Raman efecto SERS del coloide de plata con el extracto de Mate de coca (espectro Raman inferior)

En la gráfica 12 podemos observar los espectros teóricos de la higrina, cuscohigrina y cocaína que son las moléculas en mayor concentración encontradas en la infusión de mate de coca. Estas bandas teóricas se comparan con un espectro Raman efecto SERS experimental de la infusión de mate de coca con nitrato plata a las 48 horas.

Las bandas más representativas que se encontraron en la infusión Mate de coca se analizarán a continuación. La banda en  $1253\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica de los grupos  $\text{CH}_2$  del anillo pirano de la higrina y la banda en  $1260\text{ cm}^{-1}$  de la flexión asimétrica de los grupos  $\text{CH}_2$  de los anillos pirano de la cuscohigrina coinciden con el pico experimental de mate de coca en  $1283\text{ cm}^{-1}$ . La banda experimental en  $1432\text{ cm}^{-1}$  está cerca del pico calculado en  $1420\text{ cm}^{-1}$  de los estiramientos asimétricos de  $\text{CH}_2$  de la cocaína y del pico en  $1407\text{ cm}^{-1}$  del estiramiento del anillo pirano y flexión asimétrica de

**Tabla 6.** Comparación de las vibraciones moleculares calculadas (gaussian 03), teóricas (literatura): a. (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández, 2013). B. (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007). C. (C. Barthus & J. Poppi, 2001). D. (Baranska & Schulz, 2009) y experimentales de los coloides de extractos de Mate de coca con nitrato de plata.

Grupos funcionales	Vibraciones moleculares referencia cm <sup>-1</sup>	Vibraciones moleculares calculadas cm <sup>-1</sup>			Vibraciones moleculares experimentales cm <sup>-1</sup>
		higrina	cuscohigrina	cocaina	Mate de coca
Deformación de tijera en CH <sub>2</sub>	1439 <sup>c</sup>	--	1407	1420	1432
Estiramiento del anillo fenilo	1459 <sup>b</sup>	1498	1484	--	1509
Estiramiento del Anillo fenilo C=C	1554 <sup>b</sup>	1562	1568	--	1566
Estiramiento asimétrico de C=O	1690 <sup>a</sup>	--	--	1692	1693

los enlaces CH<sub>2</sub> de la cuscohigrina que en la literatura los picos cercanos a estas vibraciones se atribuyen a la deformación en tijera del CH<sub>2</sub> en la banda 1439 cm<sup>-1</sup> (C. Barthus & J. Poppi, 2001).

El estiramiento del anillo fenilo tiene señal en 1459 cm<sup>-1</sup> (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007) se asemeja a los picos calculados de la higrina en 1498 cm<sup>-1</sup> de la flexión asimétrica de los enlaces CH<sub>3</sub> y la cuscohigrina en 1498 cm<sup>-1</sup> de la flexión simétrica de los enlaces CH<sub>3</sub>, estas bandas coinciden con la experimental en 1509 cm<sup>-1</sup>. El estiramiento de C=C del anillo fenilo en 1554 cm<sup>-1</sup> (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007) está dentro del rango de la higrina en 1562 cm<sup>-1</sup> de la flexión del enlace de CH<sub>2</sub> del anillo pirano y la cuscohigrina en 1568 cm<sup>-1</sup> e la flexión simétrica de CH<sub>2</sub> en el anillo pirano y de 1566 cm<sup>-1</sup> del extracto del mate de coca. En el estiramiento asimétrico de C=O en 1690 cm<sup>-1</sup> (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández, 2013) está en la cocaína en 1692 cm<sup>-1</sup> de la flexión del enlace C=O y en 1693 cm<sup>-1</sup> del espectro experimental.

Por último tenemos la gráfica 13 donde se compara el extracto de rooibos con nanopartículas, los espectros calculados de la aspalatina, molécula que se encuentra en mayor concentración en los extractos de rooibos, la catequina y la epigalocatequina. Esta comparación de los fenoles se realiza ya que aunque en pequeñas concentraciones se encuentran presentes en el extracto.

La banda en 1324 cm<sup>-1</sup> y 1391 cm<sup>-1</sup> en el espectro experimental se compara con las bandas calculadas en 1312 cm<sup>-1</sup> de la flexión simétrica de los enlaces de CH<sub>2</sub>, 1344 cm<sup>-1</sup> de los estiramientos de enlaces C=C del anillo fenólico y 1384 cm<sup>-1</sup> de la flexión asimétrica de enlaces C-H del anillo pirano y extensión de C-OH de la aspalatina, por otro lado la banda en 1314 cm<sup>-1</sup> de la flexión asimétrica del grupo C-H del anillo aromático de la catequina y la banda en 1332 cm<sup>-1</sup> de la flexión asimétrica de los grupos C-H y C-OH de la EGCG.

El pico experimental en 1485 cm<sup>-1</sup> coincide con las bandas calculadas en 1488 cm<sup>-1</sup> de la deformación en tijera del enlaces de CH<sub>2</sub> de la aspalatina y 1448 cm<sup>-1</sup> de los enlaces C=C y C-H del anillo fenilo de EGCG, que con respecto a la literatura es la deformación de tijera del CH<sub>2</sub> en 1459 cm<sup>-1</sup>. También se puede observar una banda cerca de 1554 cm<sup>-1</sup> el cual se atribuye al estiramiento del anillo fenilo C=C (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007), las vibraciones moleculares teóricos en 1536 cm<sup>-1</sup> del estiramiento del anillo fenilo en los enlaces C=C y la flexión simétrica de CH<sub>2</sub> y C-OH que corresponden a la aspalatina, las bandas en 1521 cm<sup>-1</sup> de la flexión simétrica de C-H y 1573 cm<sup>-1</sup> de la flexión asimétrica de C-C y C-H del anillo pirano de la catequina y las bandas en 1539 cm<sup>-1</sup> de la tensión

asimétrica de grupos C-H y  $1584\text{ cm}^{-1}$  de las vibraciones de C=C y C-C de los anillos aromáticos de EGCG que se encuentran muy cercano al pico experimental en  $1566\text{ cm}^{-1}$ .

1200 1300 1400 1500 1600 1700 1800

**Grafica 13.** Comparación de los espectros Raman obtenidos en el programa computacional Gaussian 03 de la catequina, EGC, aspalatina y el espectro Raman efecto SERS del coloide de plata con el extracto de Rooibos (espectro Raman inferior)

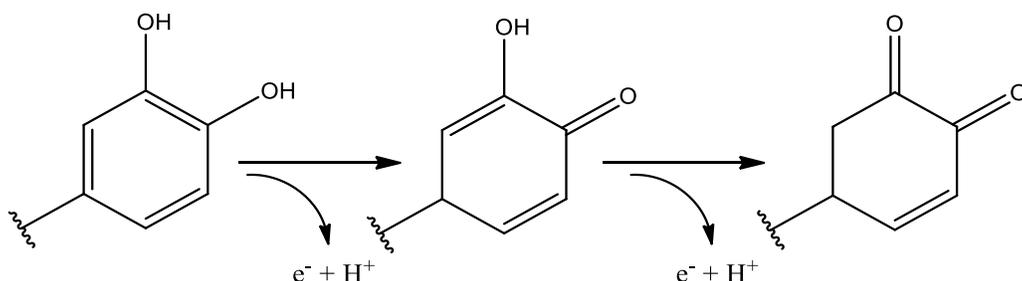
La diferencia de las bandas experimentales con las bandas teóricas pueden deberse a que los cálculos que solo se basan en la estructura molecular ignorando las fuerzas intermoleculares en los coloides (Cai, Xue, Wang, & Du, 2018).

Las bandas fuertes reportadas en la literatura (Baranska & Schulz, 2009) de diferentes alcaloides se encuentran en  $1600\text{ cm}^{-1}$  –  $1560\text{ cm}^{-1}$  se han considerado debido a las vibraciones simétricas y asimétricas de estiramiento de carbonilo C=O de los alcaloides. En la generación de nanopartículas de plata en los extractos de té e infusiones lo más probable es que los flavonoides y los alcaloides sean los potenciadores de causar la reducción de la plata  $Ag^1 \rightarrow Ag^0$ . Está reacción de reducción

genera una superficie compleja que involucra átomos de plata y moléculas del analito; cuyas propiedades electrónicas son más resonantes debido a un aumento de la contribución del mecanismo de transferencia de carga y un cambio de conformación en las moléculas de los extractos lo que provoca el aumento químico de las señales obtenidas en los espectros SERS.

Las intensidades de las señales presentes en todos los espectros corresponden a las vibraciones de estiramiento para  $[-C = C - C = O]$ ,  $[-C = C -]$ ,  $[-C - C-]$  en el anillo aromático,  $[-C - O]$  en éter, ésteres y polioles como las hydroxiflavonas y las catequinas.

En la siguiente figura se muestra un mecanismo de oxidación (Begum, Mondal, Basu, Laskar, & Mandal, 2009):

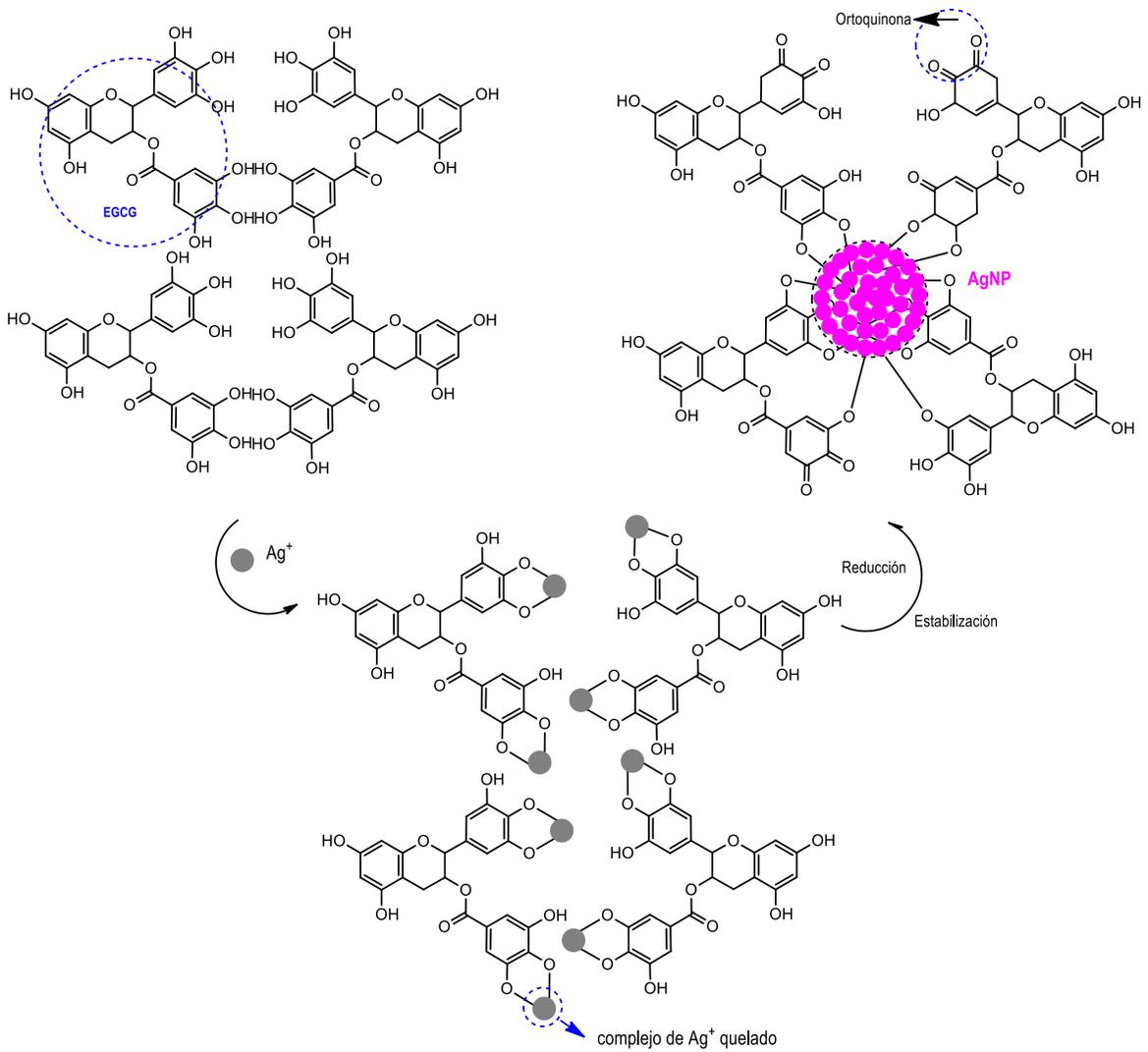


**Figura 28.** Esquema del mecanismo tentativo para la oxidación por iones metálicos a  $\alpha$ ,  $\beta$ - insaturado de los grupos carbonilo

El mecanismo de reacción para la formación de nanopartículas de plata en solución acuosa se lleva a cabo mediante la reducción de las moléculas polifenólicas y alcaloides presentes en los extractos de té e infusiones, esta solución acuosa tiene una mezcla de diferentes polifenoles y alcaloides con múltiples hidroxilos ortofenólicos, que podrían tener varias capacidades reductoras. Por ejemplo en la literatura se demuestra que EGCG es un excelente ligando bidentado que une con los iones de la plata, lo que conduce a la formación de un complejo de quelato de  $Ag^+$  la cual se reduce a  $Ag^0$ , mientras que una parte de los hidroxilos fenólicos se oxidan simultáneamente a los grupos carbonilo de la molécula. Los carbonilos formados como los hidroxilos libres son capaces de estabilizar las nanopartículas de plata por la interacción entre la superficie de átomos de plata en las nanopartículas y átomos de oxígeno de la molécula (Zhu, y otros, 2012).

**Tabla 7.** Comparación de las vibraciones moleculares calculadas (gaussian 03), teóricas (literatura): a. (Barrera, Losada Losada, & Vargas-Hernández, 2013). B. (Biswas, Kapoor, & S. Mahal, 2007). C. (C. Barthus & J. Poppi, 2001). D. (Baranska & Schulz, 2009) y experimentales de los coloides de extracto de Rooibos con nitrato de plata.

Grupos funcionales	Vibraciones moleculares referencia cm <sup>-1</sup>	Vibraciones moleculares calculados cm <sup>-1</sup>			Vibraciones moleculares experimentales cm <sup>-1</sup>
		aspalatina	catequina	EGCG	Rooibos
Extensión de C-N	1331 <sup>d</sup>	1312	1314	1332	1324
		1344			1391
		1384			
Deformación de tijera en CH <sub>2</sub>	1459 <sup>b</sup>	1488		1448	1485
Estiramiento del Anillo fenilo C=C	1554 <sup>b</sup>	1536	1521	1539	1566
			1573	1584	



**Figura 29.** Ilustración esquemática del mecanismo de formación y estabilización de nanopartículas de plata en una solución acuosa reducidas por EGCG (Zhu, y otros, 2012)

## Conclusiones

Se obtuvieron los extractos de tés (verde, blanco, rojo y negro) y de infusiones (Uña de gato, mate de coca y rooibos) de una manera simple, económica y didáctica para el estudiante.

Se caracterizaron los extractos mediante espectroscopía IR y UV-vis. En donde se determinaron las bandas características de los grupos funcionales existentes en las moléculas estudiadas en el presente trabajo. Se obtuvieron los espectros de absorbancia de los cuatro tés de *Camellia sinensis* en 270 nm, la cual es característica de la molécula de la catequina (279 nm); las infusiones mostraron espectros de absorbancia con bandas entre 250 nm y 350 nm, región que es característico de los flavonoides y los alcaloides.

Se sintetizaron y generaron nanopartículas de plata mediante un método libre de disolventes, síntesis verde, con los diversos extractos estudiados en el presente trabajo. Se observó que el té verde puede generar nanopartículas de plata en ausencia de luz; por el contrario todos los extractos necesitaron la presencia de luz para aumentar su capacidad de generar nanopartículas (método de fotoreducción). El té negro y la uña de gato presentaron mejor capacidad de reducción de iones de plata en presencia de luz (24 y 48 horas).

Se pudo observar la evolución de las nanopartículas de plata en el color de los coloides. Los coloides evolucionaron de incoloro a un color amarillo o a un color naranja en presencia de luz blanca (desde 400 nm a 715 nm). La banda de absorción en 440 nm muestra una variedad de nanopartículas de plata, la cual es respaldada con imágenes de microscopía electrónica (TEM). Se obtuvieron nanopartículas de plata de forma esférica con un tamaño promedio de  $5 \pm 1$  nm.

Se caracterizaron los extractos moleculares obtenidos de los tés y de algunas infusiones mediante una variante de la técnica Raman, la cual es conocida como técnica SERS. Se aprovechó el efecto SERS debido a que la interacción metal-molécula disminuye o apaga la señal de fluorescencia; la cual es muy intensa en las moléculas orgánicas como los flavonoides y los alcaloides.

Por lo tanto, los extractos de tés e infusiones contienen moléculas que pueden servir como agentes reductores y generar nanopartículas de plata. Lo cual, lo hace un método alternativo; así también es un proceso respetuoso al medio ambiente, rentable y no hay necesidad de usar alta presión, energía, ni productos químicos peligrosos.

Se simularon, optimizaron y estudiaron los polifenoles (catequina EGC, EGCG, aspalatina) y los alcaloides (Rynchophyllina, Uncarina F, cocaína, higrina y cuscohigrina) mediante el software Gaussian, con el método DFT y la base B3LYP. Los espectros Raman experimentales y teóricos fueron comparados y una alta correspondencia fue encontrada; así también fue posible una visualización e identificación de las vibraciones moleculares de los extractos estudiados.

En proyectos futuros se puede explorar el control eficiente de la morfología de las nanopartículas optimizando las condiciones de reacción. Por último, se puede considerar que estos nanomateriales son obtenidos en forma limpia y creemos que pueden ser utilizados en diversas áreas; como en productos farmacéuticos, cosméticos y alimenticios.

## Referencias

(s.f.).

- Chen , Y., Fu , X., Mei , X., Zhou , Y., Du, B., Tu, Y., & Yang, Z. (2016). Characterization of functional proteases from flowers of tea (*Camellia sinensis*) plants. *Journal of Functional Foods*, 149-159.
- D. Solomon, S., Bahadory, M., V. Jeyarajasingam, A., A. Rutkowsky, S., & Boritz , C. (2007). Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. *Journal of Chemical Education* , 322-325.
- Rajput , N. (2015). METHODS OF PREPARATION OF NANOPARTICLES – A REVIEW . *International Journal of Advances in Engineering & Technology*, 1806-1811 .
- A. Baker, G., & S. Moore, D. (2005). Progress in plasmonic engineering of surface-enhanced. *Anal Bioanal Chem*, 1751-1770.
- A. Cruz, D., C. Rodriguez, M., M. López, J., M. Herrera, V., G. Orive, A., & H. Creus, A. (2012). NANOPARTÍCULAS METÁLICAS Y PLASMONES DE SUPERFICIE: UNA . *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 67-78.
- AETi. (2017). *Asociación Española de Té e Infusiones*. Obtenido de ¿Qué son?: <http://asociacionteinfusiones.es/infusiones/que-son/>
- AKBAR. (4 de Junio de 2018). *El Rooibos, o té rojo sin teína*. Obtenido de Copyright 2018 © AKBAR TEA SPAIN (Rusomar de Sol S.L.): <http://www.akbar.es/sobre-te/el-rooibos-o-te-rojo-sin-teina/>
- Ali, M., Arfan, M., & Shahverdi, A. R. (2013). Role of Natural Products in Green Synthesis of Nanoparticles. En M. Rai, & C. Posten, *Green Biosynthesis of Nanoparticles, Mechanim and Applications* (págs. 31-52). London: CABI.
- Almengor, L. (2009). NANOTECNOLOGÍA EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA . *Revista Electrónica* , 35-52.
- Alonso, D. (4 de Junio de 2018). *Té, infusiones saludables*. Obtenido de Inma: <https://www.webconsultas.com/belleza-y-bienestar/plantas-medicinales/te-verde-3817>
- Angulo Cornejo, J. R., & F. Tovar, C. (2014). UTILIZACIÓN DE LA QUÍMICA COMPUTACIONAL: MÉTODO. *Rev Soc Quím Perú*, 136-139.
- Arango Acosta, G. J. (2008). *Alcaloides y compuestos nitrogenados*. Medellín: Universidad de antioquia.
- Baranska, M., & Schulz, H. (2009). The Alkaloids: Chemistry and Biology. Chapter 4 Determination of Alkaloids through Infrared and Raman Spectroscopy. *Elsevier*, 217-255.

- Barraza Garza, G., A. de la Rosa, L., Martínez Martínez, A., Castillo Michel, H., Cotte, M., & Alvarez Parrilla, E. (2013). La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos. *Rev. Latinoamer. Quím*, 125-148.
- Barrera, S. G., Losada Losada, J., & Vargas-Hernández, C. (2013). Caracterización vibracional por espectroscopía Raman del grano de café tío comercial. *Scientia et Technica Año XVIII*, 275-279.
- Barroso, M. F., Ramalhosa, M. J., Alves, R. C., Dias, A., Soares, C. M., Oliva-Teles, M., & Delerue-Matos, C. (2016). Total antioxidant capacity of plant infusions: Assessment using electrochemical DNA-based biosensor and spectrophotometric methods. *Food control*, 153-161.
- Begum, N., Mondal, S., Basu, S., Laskar, R., & Mandal, D. (2009). Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solution of black tea leaf extracts. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 113-118.
- berru, s., & berru, e. (2005). *hola. mexico: CCADET*.
- Biswas, N., Kapoor, S., & S. Mahal, H. (2007). Adsorption of CGA on colloidal silver particles: DFT and SERS study. *Chemical Physics Letters* 4, 338-345.
- Bolo Lozano, L. A., & Ocampo Santillana, P. (2004). Mate de coca y episodio depresivo. *Medicina naturista*, 223-232.
- Bonnia, N., Kamaruddin, M. S., Nawawi, M., Ratim, S., Azlina, H., & Ali, E. S. (2016). Green Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using 'Polygonum. *Procedia Chemistry*, 594-602.
- C. Barthus, R., & J. Poppi, R. (2001). Determination of the total unsaturation in vegetable oils by Fourier transform Raman spectroscopy and multivariate calibration. *Vibrational Spectroscopy*, 99-105.
- Cai, Q., Xue, J., Wang, Q., & Du, Y. (2018). Structural investigation of anhydrous nitrofurantion and its. *Journal of Molecular Structure*, 170-178.
- Chambers, C., & Holliday, A. K. (1975). *Modern inorganic chemistry and intermediate text*. England: BUTTERWORTHS.
- Cjuno H., J. A., & Arroyo Cuyubamba, J. (2003). LA QUÍMICA TEÓRICA Y LA QUÍMICA CUÁNTICA COMPUTACIONAL. *CSI Boletín*. 48, 16-19.
- Condori Peñaloza, E. M. (2015). CHEMICAL COMPOSITION VARIABILITY IN THE *Uncaria tomentosa* (cat's claw) WILD POPULATION. *Quim. Nova*, Vol.38, No. 3, 378-386.
- Cristian, M. (22 de Abril de 2015). *¿Que es Nanotecnología?* Obtenido de <http://www.nanotecnologia.cl/que-es-nanotecnologia/>
- cultura, M. (2018). *Museo y jardín botánico. Prof. Attilio Lombardo*. Obtenido de Leyenda de la yerba Mate: <http://jardinbotanico.montevideo.gub.uy/node/10/coleccion/cuentos-y-leyendas-de-nuestra-flora-nativa/leyenda-de-la-yerba-mate>

- Delgado Aceves, M. d., Andrade Ortega, J. Á., & Ramírez Barragán, C. A. (2015). Caracterización fisicoquímica de propóleos colectados en el Bosque LA Primavera Zapopan, Jalisco. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 74-87.
- Durán, N., Marcato, P. D., De Souza, G. I., Alves, O. L., & Esposito, E. (2007). Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles. *Journal of*, 203-208.
- E. Harbowy, M., & A. Baleentine, D. (1997). Tea Chemistry . *Critical reviews in plant science*, 415-480.
- Ecología, I. d. (4 de Junio de 2018). *Planta del té. Camellia sinensis*. Obtenido de Instituto de Ecología, A.C. INECOL: <http://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/planta-del-mes/37-planta-del-mes/596-camellia-sinensis>
- Editors, E. o. (4 de Junio de 2018). *Encyclopaedia Britannica* . Obtenido de Silver nitrate: <https://www.britannica.com/science/silver-nitrate>
- Eli. (26 de Abril de 2016). *Mi Hiper-Ciber Espacio*. Obtenido de Nanos, nanos, nanos: <https://mihiperciberespacio.wordpress.com/2016/04/26/nanos/>
- Esopo. (4 de Junio de 2018). *Espectro electromagnético*. Obtenido de <https://iie.fing.edu.uy/proyectos/esopo/eem/>
- Espada Domínguez, L., Ferrer Serrano, A., Batista King, Y., Bandera Nápoles, A., & Almeida Acosta, Y. (2016). Separación y clasificación de los alcaloides presentes en las hojas y. *Revista cubana de química*, 409-430.
- F. Banfield, J., & Zhang, H. (2001). Nanoparticles in the Environment. *Department of Earth and Planetary Science* , 1-58.
- Figuroa Nazuno, J., Rentería Agualimpia, W., & Baustillo Hernández, C. (2008). Química Computacional. *INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN COMPUTACIÓN*, 1-12.
- Gabriel Jaime, A. A. (2008). *Alcaloides y compuestos nitrogenados*. Medellín: Universidad de Antioquia.
- García Ramos, J. V. (2004). Mecanismo Electromagnético del efecto SERS . *ÓPTICA PURA Y APLICADA*, 17-22.
- García Ramos, J. V., & Sánchez Cortés, S. (2006). Espectroscopía vibracional sobre nanoestructuras metálicas (SERS y SEIR): nuevos sustratos y aplicaciones. *Opt. Pura Apl.*, 125-128.
- Gaussian.com. (4 de Abril de 2003). *Gaussian 03 Capabilities*. Obtenido de Gaussian 03 Online Manual: [http://www.lct.jussieu.fr/manuels/Gaussian03/g\\_ur/m\\_techfeat.htm](http://www.lct.jussieu.fr/manuels/Gaussian03/g_ur/m_techfeat.htm)
- Gonzalo Barja-Becker, S. R.-M.-G.-P. (2011). Análisis no destructivo de obras de arte con espectroscopia Raman. *Grupo de Comunicaciones Ópticas. Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones*, 4-10.

- Guerrero Dib, X. E., Ortiz Méndez, U., Sepúlveda Guzmán, S., Ferrer Lupi, D., & Yacamán, M. J. (2009). Síntesis y propiedades de nanopartículas monometálicas y bimetálicas oro-plata. *Ingenierías*, 72-78.
- Gutierrez Cano, V., & Otero Márquez, J. (2014). Espectroscopía Raman: Fundamento y aplicaciones. *Trabajo de la asignatura "Caracterización de nuevos"*, 1-18.
- Harbowy, M. E., & Balentine, D. A. (1997). Tea Chemistry. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 415-480.
- Hering, K., Cialla, D., Ackermann, K., Dörfer, T., Möller, R., Schneidewind, H., . . . Popp, J. (2008). SERS: a versatile tool in chemical. *Anal Bioanal Chem*, 113-124.
- Hernández Canales, L. (2016). *Investigación y aplicación de nanopartículas de plata en Espectroscopía Raman*. Universidad Nacional Autónoma de México: Licenciatura en Química.
- J. Jenkins, A., Llosa, T., Montoya, I., & J. Cone, E. (1996). Identification and quantitation of alkaloids in coca tea. *Forensic Science International*, 179-189.
- J. Oldenburg, S. (2017). Silver Nanoparticles: Properties and Applications. *SIGMA-ALDRICH*.
- Jayaseelan, C., Rahuman, A., Rajakumar, G., Vishnu Kirthi, A., Santhoshkumar, T., Marimuthu, S., . . . Elango, G. (2011). Synthesis of pediculocidal and larvicidal silver nanoparticles by leaf extract from heartleaf moonseed plant, *Tinospora cordifolia* Miers. *Parasitol Res*, 185-194.
- JobinYvon. (4 de Junio de 2018). *Raman Scattering and Fluorescence*. Obtenido de Application Note: <http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/Raman/Fluorescence01.pdf>
- Juneja, L. R., Kapoor, M. P., Okubo, T., & Rao, T. P. (2013). *Green tea Polyphenols. Nutraceutical of modern life*. Lodon: CRC Press.
- K. Jha, A., & Prasad, K. (2013). Understanding the Involved Mechanisms in Plan-mediated Synthesis of nanoparticles. En M. Rai, & C. Posten, *Green Biosynthesis of Nanoparticles, mechanisms and applications* (págs. 122-131). London: CABI.
- K. Lance, K., Coronado, E., Zhao, L. L., & C. Schatz, G. (2003). The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment. *J. Phys. Chem. B*, 668-677.
- Katoch, D., Kumar, S., Kumar, N., & Singh, B. (2012). Simultaneous quantification of Amaryllidaceae alkaloids from Zephyranthes. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 187-192.
- Keplinger, K., Laus, G., Wurm, M., P. Dierich, M., & Teppner, H. (1999). *Uncaria tomentosa*(Willd.) DC.—Ethnomedicinal use and new. *Journal of Ethnopharmacology* 64, 23-34.
- Kreuz, S., Joubert, E., Waldmann, K. H., & Ternes, W. (2008). Aspalathin, a flavonoid in *Aspalathus linearis*(rooibos), is absorbed by. *Nutrition Research*, 690-701.
- Kuppusamy, P., Yusoff, M., & Govindan, N. (2016). Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in . *Saudi Pharmaceutical Journal*, 473-484.

- Lewars, E. (2004). *Computational Chemistry. Introduction to the theory and Applications of molecular and quantum mechanics*. United States of America: Kluwer Academic Publishers.
- M. Quiñones y cols. . (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp.*, 76-89.
- Merrick, J. P., Moran, D., & Radom, L. (2007). An Evaluation of Harmonic Vibrational Frequency Scale Factors. *J. Phys. Chem.*, 11683-11700.
- Mohanpuria , P., K. Rana, N., & Kumar Yadav, S. (2008). Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts. *J Nanopart Res*, 507-517.
- Moore, A., & Goettmann, F. (2006). The plasmon band in noble metal nanoparticles: an introduction to theory and applications. *New Journal of Chemistry*, 1121-1132.
- Moore, A., & Goettmann, F. (2006). The plasmon band in noble metal nanoparticles: an introduction to theory and applications. *New Journal of Chemistry*, 1121-1132.
- Nicolaidis, A., Rauk, A., Glukhovtsev, M. N., & Radom, L. (1996). Heats of Formation from G2, G2(MP2), and G2(MP2,SVP) Total Energies. *J. Phys. Chem.*, 17460-17464.
- Noguez, C. (2007). Surface Plasmons on Metal Nanoparticles: The Influence of Shape and Physical Environment. *J. Phys. Chem*, 3806-3819.
- Powell, N. (2015). *Green tea and health. Antioxidant properties consumption and role in disease prevention*. New York: nova publishers.
- PubChem. (4 de Junio de 2018). *National Center for Biotechnology Information*. Obtenido de cocaine: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/446220#section=Top>
- Quintela, J. C., & Lock de Ugaz, O. (2003). Uña de gato *Uncaria tomentosa* (Wild.) DC. *Revista de fitoterapia*, 5-16.
- R. Preedy, V. (2013). *Tea in health and disease prevention*. Amsterdam: ELSEVIER.
- Rai, M. (2013). *Green Biosynthesis of Nanoparticles*. Londres: Cabi.
- Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 76-83.
- Ramirez, D., & Jaramillo, F. (2016). Facile one-pot synthesis of uniform silver nanoparticles and growth . *DYNA*, 165-170.
- Ramírez, G. (2003). Uña de gato (*Uncaria tomentosa* Willd. y *U. guianensis* (Aubl.) Gmel). *NATURA MEDICATRIX*, 279-284.
- Reimer, L. (1997). *Optical Sciences. Physics of image formation and microanalysis*. New York: Springer.

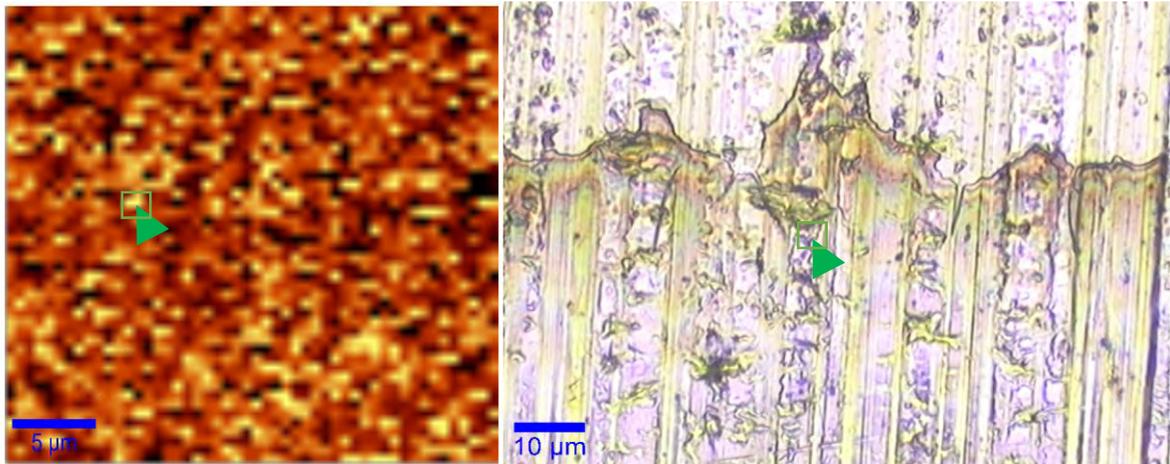
- Romero Paucar, S. R. (2014). Cuantificación de Polifenoles en hojas de uña de gato *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult) DC. proveniente de tres localidades en Ucayali. *Rev Soc Quím Perú*, 174-182.
- Rucha Desai, V. M. (2012). Size distribution of silver nanoparticles: UV-Visible spectroscopic assessment. *Nanoscience and nanotechnology letters*, 30-34.
- Sato Berrú, R., Rondón, R., Vázquez Olmos, A., & M. Sániger, J. (2009). Silver nanoparticles synthesized by direct. *J. Raman Spectrosc.*, 376-380.
- Sauvain, M., Rerat, C., Moretti, C., Saravia, E., Arrazola, S., Gutierrez, E., . . . Muñoz, V. (1997). A study of the chemical composition of *Erythroxylum coca* var. *coca* leaves collected in two ecological regions of Bolivia. *Journal of Ethnopharmacology*, 179-191.
- Schulz, H., Joubert, E., & Schütze. (2003). Quantification of quality parameters for reliable evaluation. *Eur Food Res Technol*, 539-543.
- Sellick, W. (2010). *Thr Imperial African Cookery Book. Recipes from English-speaking Africa*. London: Jeppestown.
- Shankar , P., Shobana, S., Karuppusamy, I., & Pugazhendhi, A. (2016). A review on the Biosynthesis of metallic Nanoparticles (Gold and Silver) using Biocomponents of microalgae: Formation Mechanism and Applications. *Enzyme and Microbial Technology*, 28–44.
- Stuart, B. (2004). *Infrared Spectroscopy: fundamentals and applications*. England: John Wiley & Sons, Ltd.
- Tolaymat, T. M., El Badawy, A. M., Genaidy, A., Scheckel, K. G., Luxton, T. P., & Suidan, M. (2010). An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in. *Science of the Total Environment*, 999-1006.
- Umer, A., Naveen, S., & Ramzan, N. (2012). SELECTION OF A SUITABLE METHOD FOR THE SYNTHESIS OF COPPER NANOPARTICLES. *NANO*, 1-18.
- V. Vuong, Q., B. Golding, J., Nguyen, M., & D. Roach, P. (2010). Extraction and isolation of catechins from tea. *J. Sep. Sci.*, 3415-3428.
- Valles Sánchez, A. (2014). Métodos y Usos de la Química Computacional . *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 16-21.
- Vázquez Nin, G., & Echeverría, O. (2000). *Introducción a la microscopía electrónica aplicada a las ciencias bioógicas*. Ciudad de México: Fondo de cultura económica.
- Wittig de Penna, E. Z. (2005). Caracterización sensorial y química de la calidad de TÉS (*Thea sinensis*) consumidos en Chile. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 93-1000.
- Yanagimoto, K., Ochi, H., Lee, K.-g., & Shibamoto, T. (2003). Antioxidative Activities of Volatile Extracts from Green Tea, Oolong Tea, and Black Tea. *J. Agric. Food Chem*, 7396-7401.
- Zentella, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas:. *Mundo Nano*, 69-81.

- Zheng, X.-Q., Li, Q.-S., Xiang, L.-P., & Liang, Y.-R. (2016). Recent Advances in Volatiles of Teas. *molecules*, 1-12.
- Zhu, H., Du, M., Zou, M., Xu, C., Li, N., & Fu, Y. (2012). Facile and green synthesis of well-dispersed Au nanoparticles in PAN nanofibers by tea polyphenols. *Journal of Materials Chemistry*, 9301-9307.
- Zúñiga Quiroz, J. d. (1998). *Nuevos aspectos en el estudio agronómico y fitoquímico de las dos especies peruanas del género Uncaria: Uncaria tomentosa (Wild) DC. y Uncaria guianensis (Aubl) Gmel. "Uña de Gato"*. República Peruana: Instituto Nacional de Medicina Tradicional INMETRA.

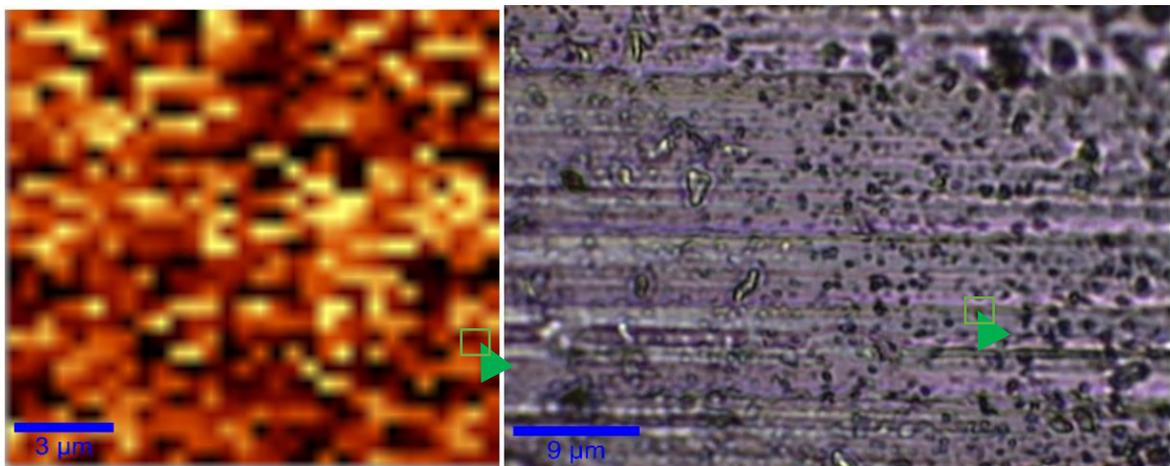
# Anexo

- I. Imágenes SERS de la zona donde se detectó señal en cada una de las muestras analizadas en esta tesis.

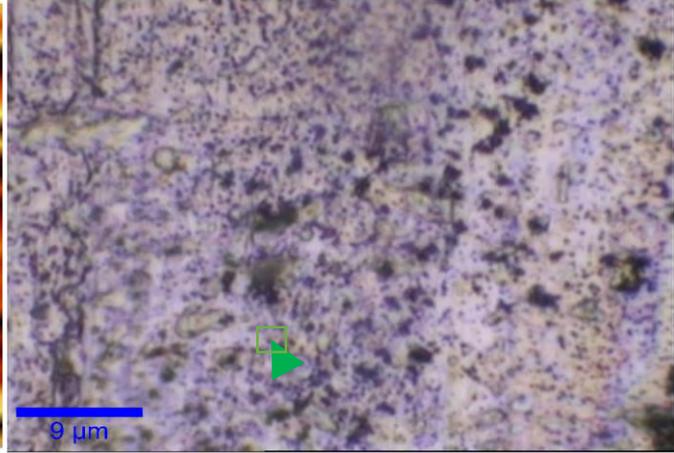
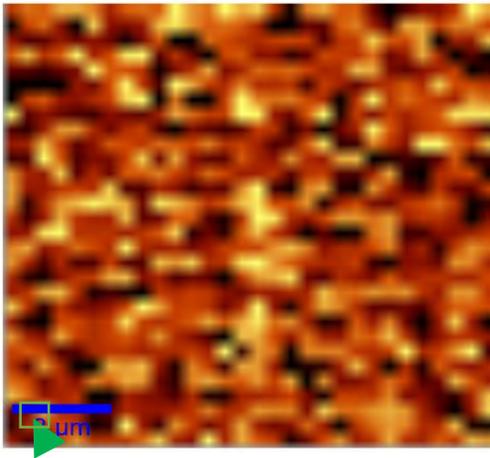
Té verde



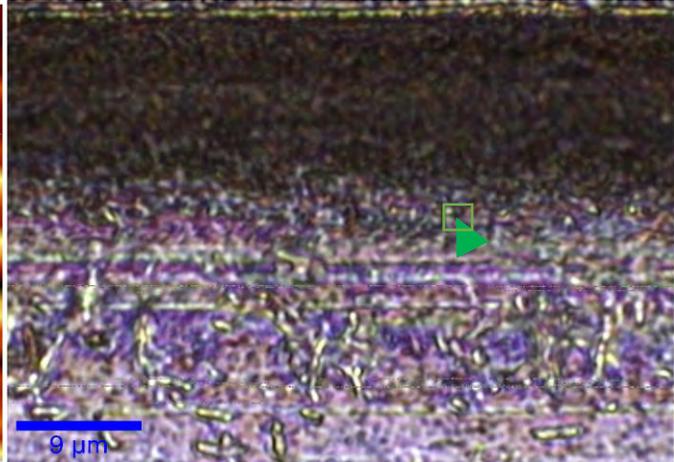
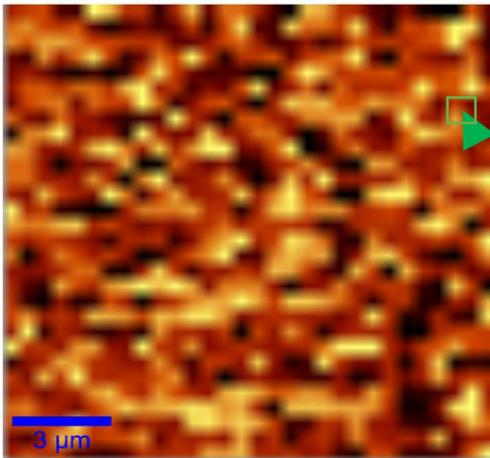
Té blanco



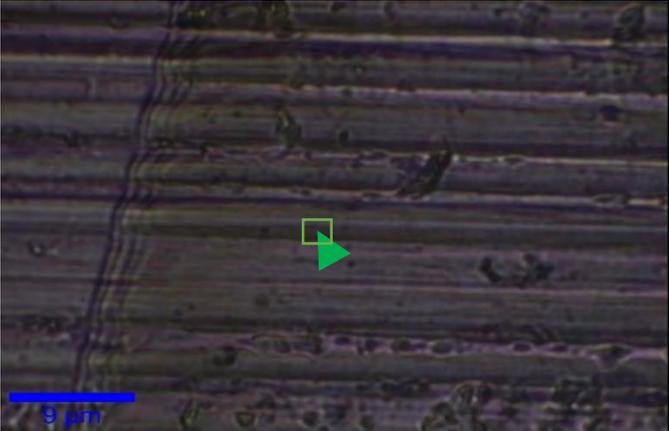
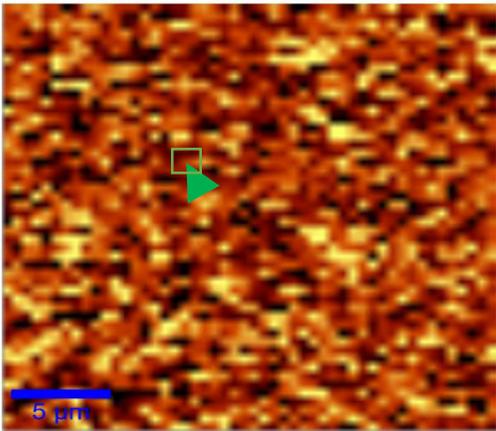
Té rojo



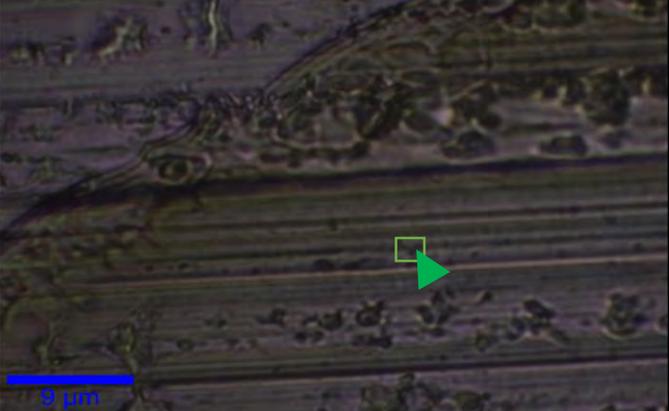
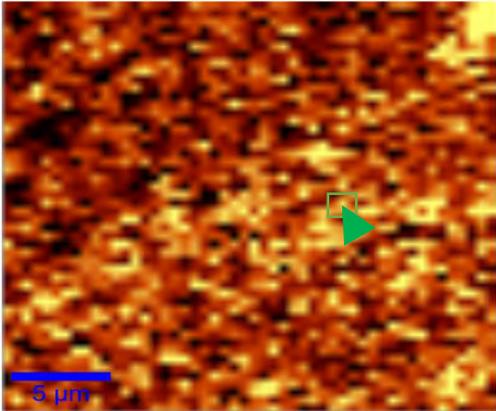
Té negro



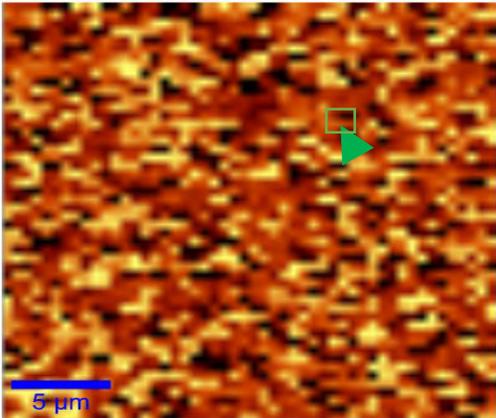
Uña de gato



Mate de coca

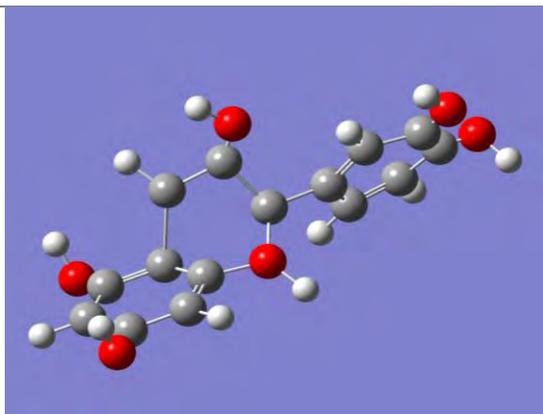


Rooibos

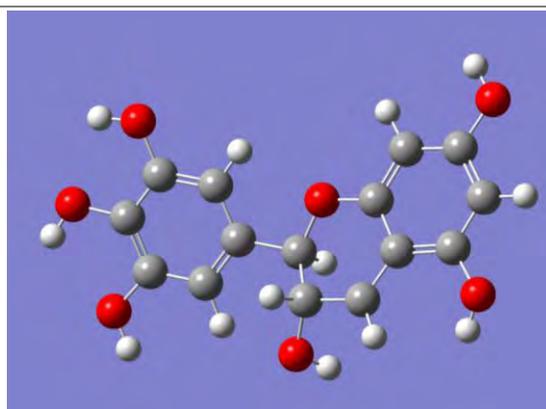


II. Representación de las estructuras químicas de los compuestos que en la literatura se conocen como reductores de la plata para la generación de nanopartículas obtenidas por el programa computacional Gaussian.

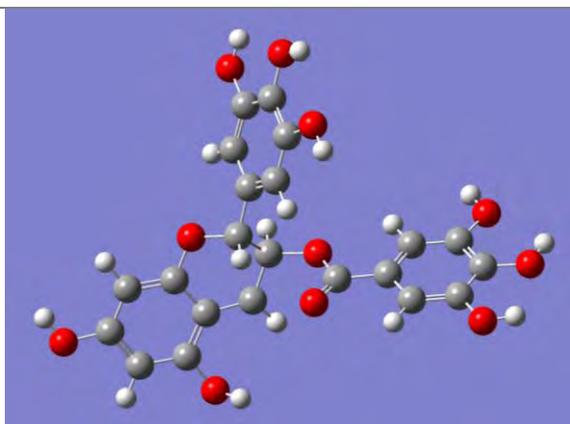
Catequina



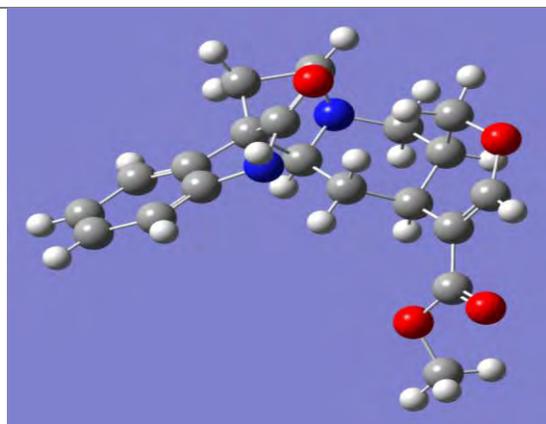
Epigallocatequina



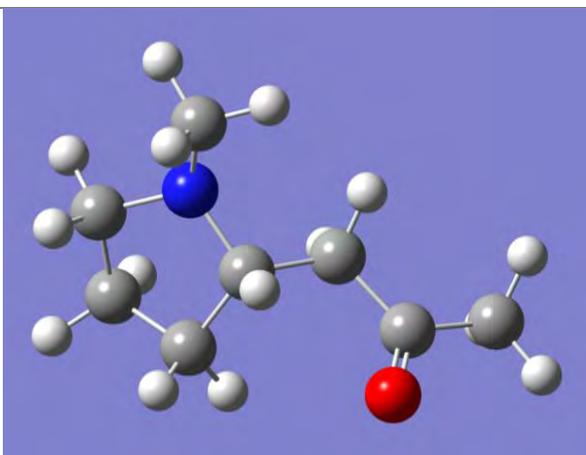
Epigallocatequingallato



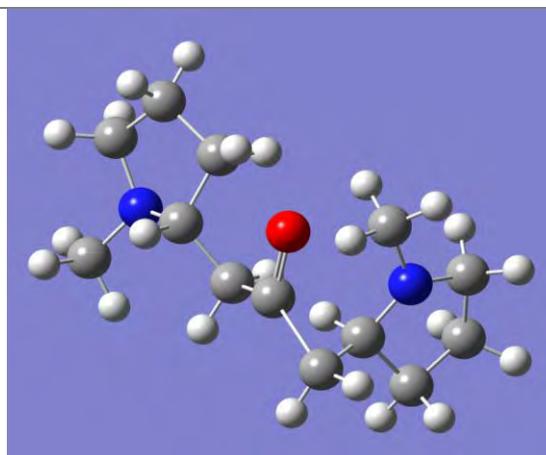
Uncarina F



Higrina

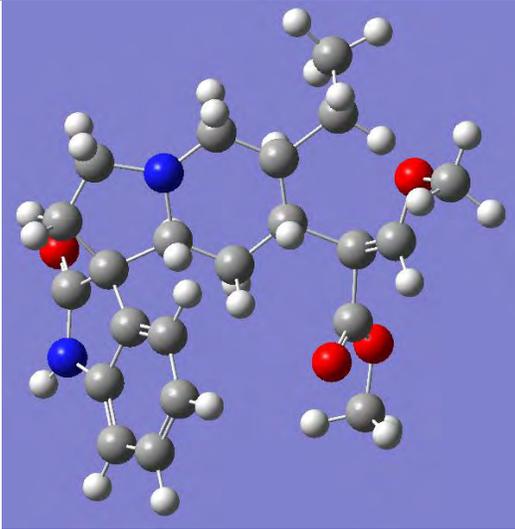


Cuscohigrina

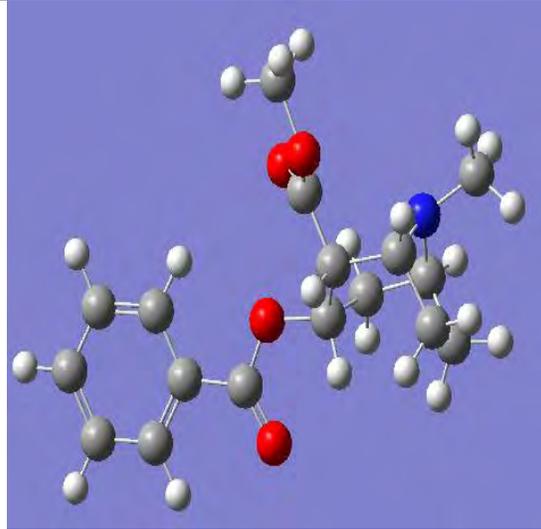


---

**Rhynchophyllina**

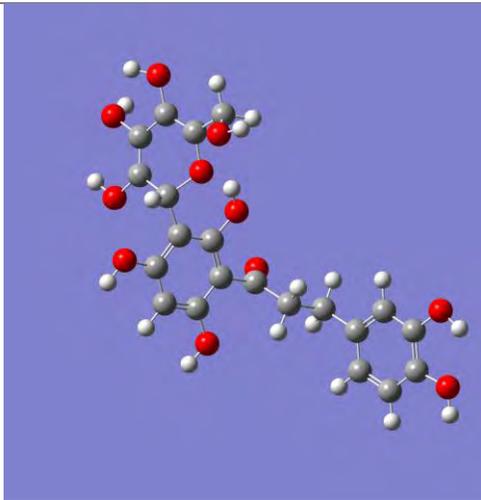


**Cocaina**



---

**Aspalatina**

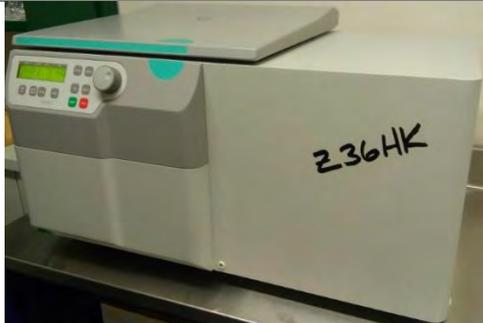


III. Resumen de factores de escala de frecuencia recomendados (Merrick, Moran, & Radom, 2007)

Método	Factor de escala
AM1	0.9532
PM3	0.9761
HF/3-21G	0.9085
HF/6-31G(d)	0.8953
HF/6-31+G(d)	0.8970
HF/6-31G(d,p)	0.8992
HF/6-311G(d,p)	0.9051
HF/6-311G(df,p)	0.9054
MP2-fu/6-31G(d)	0.9427
MP2-fc/6-31G(d)	0.9434
MP2/6-31G(d,p)	0.9370
MP2/6-311G(d,p)	0.9496
QCISD-fc/6-31G(d)	0.9538
B-LYP/6-31G(d)	0.9945
B-LYP/6-311G(df,p)	0.9986
B-P86/6-31G(d)	0.9914
B3-LYP/6-31G(d)	0.9614
B3-P86/6-31G(d)	0.9558
B3-PW91/6-31G(d)	0.9573

#### IV. Equipo utilizado en la caracterización.

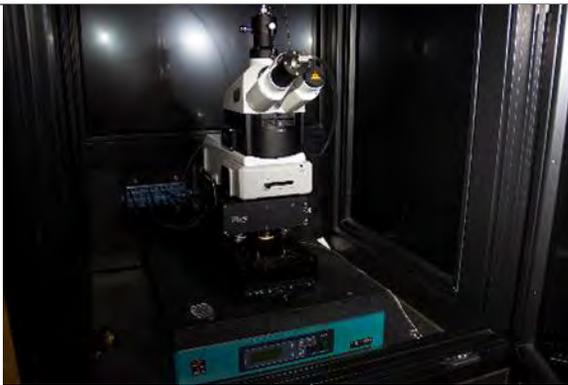
**Centrífuga Hermle Labortechnik Z36 HK**



**Espectrofotómetro UV-VIS-NIR Cary 5000**



**Microscopio con focal AF acoplado a espectroscopía Raman**



**Espectroscopía de absorción infrarroja para transformada de Fourier**

