



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO



Instituto de Ciencias Agropecuarias
Área de posgrado

**Síntesis verde de nanopartículas metálicas a partir de un
extracto hidroalcohólico de cahuiche (*Vaccinium leucanthum*)
y su actividad antioxidante y antimicrobiana**

Tesis que para obtener el grado de

Maestra en Ciencia de los Alimentos

Presenta:

Ing. Agroindustrial
Mirna Canales Francisco

Director:

Dr. Rubén Jiménez Alvarado

Comité revisor:

Dr. Gabriel Aguirre Álvarez

Dr. Antonio de Jesús Cenobio Galindo

Dr. Aldahir Alberto Hernández Hernández

Dr. José Antonio Sánchez Franco

Tulancingo de Bravo Hidalgo a 25 de octubre del 2023



COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO DEL ICAP

Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos
Apertura:

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis intitulada: "Síntesis verde de nanopartículas metálicas a partir de un extracto hidroalcohólico de cahuiche (*Vaccinium leucanthum*) y su actividad antioxidante y antimicrobiana", que desarrolla la estudiante Mirna Canales Francisco

Asistentes:

- Dr. Rubén Jiménez Alvarado
- Dr. Antonio de Jesús Cenobio Galindo
- Dr. Gabriel Aguirre Álvarez
- Dr. Aldahir Alberto Hernández Hernández
- Dr. José Antonio Sánchez Franco

A. Revisión de Trabajo de Tesis

Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por la estudiante, comunicando a la estudiante, Mirna Canales Francisco, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

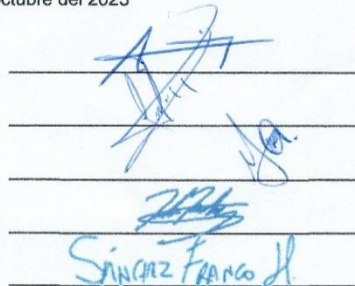
B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que la estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE
"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"

Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 25 de octubre del 2023

- Dr. Rubén Jiménez Alvarado
- Dr. Antonio de Jesús Cenobio Galindo
- Dr. Gabriel Aguirre Álvarez
- Dr. Aldahir Alberto Hernández Hernández
- Dr. José Antonio Sánchez Franco




Avenida Universidad Km. 1 s/n, Exhacienda Aquetzalpa,
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México; C.P. 43600
Teléfono +52 (771) 71 72000 ext. 2425
maestria_alimentos@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx

DEDICATORIA

Principalmente a Dios por haber cuidado de mi durante estos años, permitiéndome concluir una etapa más en mi vida profesional; por concederme el conocimiento necesario para superar cada uno de los obstáculos que se me presentaron a lo largo de esta maestría, y por darme paciencia y salud para lograr cada uno de mis objetivos. Así también, por permitirme aprender de mis errores para ser cada día una mejor persona, además por otorgarme su infinita bondad, misericordia y amor.

A mi madre Natalia por su apoyo incondicional y desinteresado que me ha brindado en todas y cada una de las etapas mi vida, por sus consejos y motivación constantes que me han permitido mejorar como persona cada día, por sus sacrificios y esfuerzos constantes, por compartir conmigo tristezas, alegrías, éxitos, fracasos y nunca dudar de mí, por estar a mi lado motivándome y ayudándome en los momentos más difíciles. Pero sobre todo por ese gran amor que me da día con día.

A mis hermanos Arturo y Fernando que a pesar de nuestras diferencias y la distancia que en ocasiones nos separan, me han brindado su apoyo y han creído en mí haciéndome saber que puedo contar con ellos en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), por la beca otorgada para realizar los estudios de la Maestría en Ciencia de los Alimentos en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, inscrita en el Sistema Nacional de Posgrados (SNP).

Al Dr. Rubén Jiménez Alvarado por motivarme cada día a ser mejor, por su apoyo, consejos y tiempo que ha dedicado a esta investigación, por ser una gran persona y compartir conmigo su conocimiento de manera voluntaria, y sobre todo por esa paciencia que tuvo conmigo a lo largo de estos dos años

A los miembros de mi comité revisor por brindarme su apoyo, y aconsejarme durante la realización de este documento, además de compartir conmigo sus experiencias y permitirme ser parte de su equipo de trabajo.

A Carlos por brindarme su amistad a lo largo de estos últimos nueve años, por su apoyo incondicional durante todo este tiempo, y estar a mi lado, motivándome a continuar a pesar de las circunstancias, por cuidarme y alegrar mis días de tristeza y hacerme entender que, aunque el día está nublado el sol siempre está presente.

A Javier por permitirme conocerlo y ser su amiga, por apoyarme y tenerme paciencia durante esta etapa de mi vida, por compartir conmigo parte de su conocimiento y motivarme aprender cada día más.

A Bibiana por su amistad incondicional, por apoyarme y alentarme a alcanzar mis objetivos, por compartir conmigo alegrías, tristezas y recordarme lo fuerte que puedo ser.

Al Dr. Martín Meza Nieto por la amistad y el apoyo invaluable que me ha brindado durante este tiempo, por compartir conmigo su amplio conocimiento, por ser una extraordinaria persona y ayudarme de la mejor manera y con una actitud positiva y agradable.

A ti que confiaste en mi desde el primer día que tomé la decisión de iniciar este proyecto, que nunca dudaste y me brindaste tu apoyo día a día, por escucharme, alentarme y apoyarme cuando sentí que ya no podía más, por permanecer a mi lado y compartir conmigo alegrías, tristezas y enojos, por prestarme atención y ayudarme a superar cada obstáculo.

A mis profesores, compañeros, amigos y todas aquellas personas, quienes sin esperar nada a cambio compartieron su conocimiento conmigo, y durante estos últimos años estuvieron a mi lado apoyándome para lograr que este sueño se hiciera realidad.

Y a cada uno de ustedes que dedican el tiempo e interés por leer este documento, espero que les sea de gran ayuda la información aquí presentada.

RESUMEN

La nanotecnología estudia los materiales a escalas pequeñas, tales como las nanopartículas metálicas que tienen al menos una de sus dimensiones en la escala de 1 a 100 nm y poseen diversas propiedades. Existen varios métodos de síntesis de nanopartículas, sin embargo, algunos generan daños al ambiente. Su biosíntesis es una alternativa ecológica en la que se aprovecha la presencia de biomoléculas reductoras en los vegetales, las cuales brindan funcionalidad y estabilidad a las nanopartículas (NPs). El objetivo de este trabajo fue sintetizar nanopartículas metálicas de hierro, cobre y plata, utilizando un extracto hidroalcohólico de cahuiche (*Vaccinium leucanthum*) como agente reductor. El cahuiche es una baya silvestre con alta concentración de compuestos bioactivos tales como compuestos polifenólicos y azúcares simples, los cuales actúan en la reducción de metales. Posteriormente se llevó a cabo la síntesis de las NPs metálicas siguiendo un diseño central compuesto completamente aleatorizado independiente para cada uno de los metales empleados, utilizando como variables independientes el volumen de la solución metálica y el volumen del extracto hidroalcohólico de cahuiche (EHAC), y como variable dependiente el tamaño (diámetro z-promedio). Las NPs obtenidas se caracterizaron por espectrofotometría UV-Visible, los espectros UV-Visible mostraron picos máximos de absorbancia de 260, 380 y 450 nm para nanopartículas de hierro, cobre y plata respectivamente. El tamaño de partícula se determinó por dispersión dinámica de luz láser obteniendo tamaños z-promedio de 120nm para NPs de cobre, 240 nm para las NPs de plata y 280 nm para las NPs de hierro. Además, se midió el potencial Z por electroforesis en líquido y se encontraron valores de -17.4, -25.4 y 30 mV para nanopartículas de cobre, plata y hierro en el orden dado. También se obtuvieron los espectros Infrarrojo por Transformada de Fourier, los cuales mostraron la presencia de compuestos fenólicos, anillos aromáticos y grupos OH en cada uno de los tratamientos lo que indicó la existencia del EHAC en la superficie de las NPs. Posteriormente se determinó el porcentaje de inhibición antioxidante para los radicales ABTS y DPPH de las nanopartículas sintetizadas por vía verde con el EHAC, para lo cual se prepararon soluciones a una concentración de 233 µg/mL para los tres metales. Mostrando valores de 97.54 y 55.06 % para las NPs de hierro, de 83.52 y 16.89 % para las NPs de plata

y de 4.72 y 3.53 % para las NPs de cobre contra el radical ABTS. Del mismo modo, se obtuvo inhibición del radical DPPH presentando porcentajes de inhibición de 88.35, 91.02 % para las NPs de hierro, de 44.49 y 15.98% para las NPs de plata y de 5.35 y 1.79 % para las NPs de cobre. De igual manera, se halló que las nanopartículas metálicas sintetizadas conferían actividad antimicrobiana, siendo los mejores tratamientos aquellos que tenían plata en su estructura con valores de concentración mínima inhibitoria de 0.031 y 0.114 mg/mL para *S. aureus* y de 0.002 y 0.31 mg/mL para *S. enterica* Typhimurium y *E. coli*. Por otro lado, las nanopartículas de cobre mostraron valores de 1 y 3.340 mg/mL para *S. aureus* y de 1 y 1.39 mg/mL para *S. enterica* Typhimurium y *E. coli*. Por último, las nanopartículas de hierro mostraron valores de 1.34, 2.670 y 4 mg/mL para los tres microorganismos. Además, las nanopartículas poseen la capacidad de destruir a los microorganismos, esto se determinó mediante la identificación de la concentración mínima bactericida siendo de igual manera el mejor tratamiento las nanopartículas de plata presentando concentraciones de 0.058 y 0.163 mg/mL para *S. aureus* y de 0.003, 0.004 y 0.058 mg/mL para *S. enterica* Typhimurium y *E. coli*. Las nanopartículas de cobre mostraron valores de 1.390, 1.680 y 4 mg/mL para *S. aureus*, *S. enterica* Typhimurium y *E. coli* y concentraciones de 1.68, 3.34 y 5.34 mg/mL para los tres microorganismos analizados para las nanopartículas de hierro. En conclusión, se lograron sintetizar NPs de hierro, cobre y plata empleando el extracto hidroalcohólico de cahuiche como agente reductor. Dichas NPs fueron funcionalizadas por los compuestos bioactivos presentes en el fruto de cahuiche y extraídos por la solución hidroalcohólica de etanol, estos le confirieron actividad antimicrobiana contra microorganismos como *S. aureus*, *S. enterica* Typhimurium y *E. coli*, además de actividad antioxidante para los radicales ABTS y DPPH.

Palabras clave: biosíntesis, cahuiche, caracterización, nanopartículas metálicas

ABSTRACT

Nanotechnology studies materials at small scales, such as metal nanoparticles that have at least one of their dimensions in the scale of 1 to 100 nm and possess various properties. There are several methods for synthesizing nanoparticles, however, some cause damage to the environment. Its biosynthesis is an ecological alternative that takes advantage of the presence of reducing biomolecules in plants, which provide functionality and stability to nanoparticles (NPs). The objective of this work was to synthesize metallic nanoparticles of iron, copper and silver, using a hydroalcoholic extract of cahuiche (*Vaccinium leucanthum*) as a reducing agent. Cahuiche is a wild berry with a high concentration of bioactive compounds such as polyphenolic compounds and simple sugars, which act in the reduction of metals. Subsequently, the synthesis of the metal NPs was carried out following a completely randomized central composite design independent for each of the metals used, using as independent variables the volume of the metal solution and the volume of the hydroalcoholic extract of cahuiche (EHAC), and size (z-average diameter) as the dependent variable. The NPs obtained were characterized by UV-Visible spectrophotometry, the UV-Visible spectra showed maximum absorbance peaks of 260, 380 and 450 nm for iron, copper and silver nanoparticles respectively. The particle size was determined by dynamic laser light scattering, obtaining z-average sizes of 120 nm for copper NPs, 240 nm for silver NPs and 280 nm for copper NPs. Furthermore, the Z potential was measured by liquid electrophoresis and values of -17.4, -25.4 and 30 mV were found for copper, silver and iron nanoparticles in the given order. Fourier Transform Infrared spectra were also obtained, which showed the presence of phenolic compounds, aromatic rings and OH groups in each of the treatments, which indicated the existence of EHAC on the surface of the NPs. Subsequently, the percentage of antioxidant inhibition for ABTS and DPPH radicals of the nanoparticles synthesized by the green route with the EHAC was determined, for which solutions were prepared at a concentration of 233 µg/mL for the three metals. Showing values of 97.54 and 55.06% for iron NPs, 83.52 and 16.89% for silver NPs and 4.72 and 3.53% for copper NPs against the ABTS radical. Similarly, inhibition of the DPPH radical was obtained, presenting inhibition percentages of 88.35, 91.02% for iron NPs, 44.49 and 15.98% for silver NPs and

5.35 and 1.79% for copper NPs. Likewise, it was found that the synthesized metal nanoparticles conferred antimicrobial activity, with the best treatments being those that had silver in their structure with minimum inhibitory concentration values of 0.031 and 0.114 mg/mL for *S. aureus* and 0.002 and 0.31 mg/mL. mL for *S. enterica* Typhimurium and *E. coli*. On the other hand, copper nanoparticles showed values of 1 and 3,340 mg/mL for *S. aureus* and 1 and 1.39 mg/mL for *S. enterica* Typhimurium and *E. coli*. Finally, the iron nanoparticles showed values of 1.34, 2.670 and 4 mg/mL for the three microorganisms. In addition, nanoparticles have the ability to destroy microorganisms; this was determined by identifying the minimum bactericidal concentration, with silver nanoparticles also being the best treatment, presenting concentrations of 0.058 and 0.163 mg/mL for *S. aureus* and 0.003, 0.004 and 0.058 mg/mL for *S. enterica* Typhimurium and *E. coli*. The copper nanoparticles showed values of 1.390, 1.680 and 4 mg/mL for *S. aureus*, *S. enterica* Typhimurium and *E. coli* and concentrations of 1.68, 3.34 and 5.34 mg/mL for the three microorganisms analyzed for the iron nanoparticles. In conclusion, NPs of iron, copper and silver were synthesized using the hydroalcoholic extract of cahuiche as a reducing agent. These NPs were functionalized by the bioactive compounds present in the cashew fruit and extracted by the hydroalcoholic ethanol solution, these conferred antimicrobial activity against microorganisms such as *S. aureus*, *S. enterica* Typhimurium and *E. coli*, in addition to antioxidant activity for the ABTS and DPPH radicals.

Keywords: Biosynthesis, cahuiche, characterization, metal nanoparticles

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTOS	IV
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT	VIII
ÍNDICE	X
ÍNDICE DE IMÁGENES	XVI
ÍNDICE DE TABLAS	XVIII
ABREVIATURAS	XIX
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO.....	2
2.1 Nanociencia y nanotecnología	2
2.1.1 Aplicaciones de la nanotecnología.....	3
2.2 Nanopartículas.....	3
2.2.1 Métodos para la síntesis de nanopartículas	4
2.2.2 Síntesis verde.....	6
2.2.2.1 Factores que afectan la síntesis verde	8

2.2.2.2 Beneficios de la síntesis verde	8
2.2.3 Técnicas de caracterización.....	9
2.2.3.1 Espectrofotometría UV–Visible.....	9
2.2.3.2 Espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)..	10
2.2.3.3 Dispersión de Luz Dinámica (DLS).....	10
2.2.3.4 Potencial Z por electroforesis en líquido.....	11
2.2.3.5 Microscopía electrónica de transmisión (TEM).....	12
2.2.4 Nanopartículas metálicas.....	13
2.2.4.1 Nanopartículas de Hierro (Fe).....	13
2.2.4.2 Nanopartículas de Cobre (Cu).....	14
2.2.4.3 Nanopartículas de Plata (Ag)	15
2.2.5 Aplicación de las nanopartículas.....	16
2.3 Características botánicas de <i>Vaccinium</i>	18
2.3.1 Cahuiche (<i>Vaccinium leucanthum</i>)	20
2.3.2 Composición de <i>Vaccinium leucanthum</i>	21
2.3.3 Producción, uso y aprovechamiento de <i>Vaccinium leucanthum</i>	22
2.4 Compuestos bioactivos.....	23

2.4.1 Compuestos fenólicos	24
2.4.1.1 Flavonoides	24
2.4.1.2 Antocianinas	25
2.4.2 Azúcares reductores	26
2.4.3 Actividades biológicas de los compuestos bioactivos.....	27
2.4.3.1 Capacidad antioxidante	27
2.4.3.2 Actividad antimicrobiana	29
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
4. JUSTIFICACIÓN.....	32
5. OBJETIVOS.....	33
5.1 Objetivo general	33
5.2 Objetivos específicos.....	33
6. METODOLOGÍA	34
6.1 Obtención del extracto hidroalcohólico de cahuiche	34
6.2 Caracterización del extracto hidroalcohólico de cahuiche	34
6.2.1 Determinación de fenoles totales	34
6.2.2 Determinación de flavonoides.....	35

6.2.3 Determinación de antocianinas	36
6.2.4 Actividad antioxidante del extracto de hidroalcohólico de cahuiche.....	37
6.2.4.1 Determinación de actividad antioxidante por ABTS +	37
6.2.4.2 Determinación de la actividad antirradicalaria por el método DPPH37	
6.2.5 Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de cahuiche	38
6.2.5.1 Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida	38
6.3 Síntesis verde de nanopartículas	39
6.3.1 Nanopartículas de hierro	39
6.3.2 Nanopartículas de cobre	40
6.3.3 Nanopartículas de plata	40
6.4 Caracterización de nanopartículas de hierro, cobre y plata.....	41
6.4.1 Espectroscopia UV– Visible	41
6.4.2 Espectroscopia de infrarrojo con trasformada de Fourier (FTIR).....	41
6.4.3 Determinación de tamaño por dispersión de luz dinámica (DLS)	41
6.4.4 Potencial Zeta por electroforesis	42
6.4.5 Capacidad antioxidante de las nanopartículas.....	42
6.4.5.1 Determinación de actividad antioxidante por ABTS +	42

6.4.5.2 Determinación de la actividad antirradicalaria por el método DPPH	43
6.4.6 Actividad antimicrobiana	44
6.4.6.1 Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida	44
6.5 Diseño experimental.....	45
6.6 Análisis estadístico.....	46
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
7.1 Caracterización del extracto hidroalcohólico de cahuiche	47
7.1.1 Compuestos bioactivos.....	47
7.1.2 Capacidad antioxidante	47
7.1.3 Actividad antimicrobiana	48
7.2 Caracterización de nanopartículas metálicas.....	49
7.2.1 Determinación de tamaño por dispersión de luz láser (DLS)	50
7.2.2 Observación visual y espectroscopía UV-Vis.....	51
7.2.3 Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).....	53
7.2.4 Potencial Z.....	54
7.2.5 Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM).....	56
7.2.6 Actividades biológicas	58

7.2.6.1 Capacidad antioxidante	58
7.2.6.2 Actividad antimicrobiana	59
8. CONCLUSIONES	61
9. BIBLIOGRAFÍA.....	62

ÍNDICE DE IMÁGENES

Figura 1 Escala nanométrica	2
Figura 2 Micrografías de TEM de nanopartículas de plata	4
Figura 3 Representación esquemática de la síntesis de nanopartículas por las técnicas descendentes y ascendentes.....	5
Figura 4 Mecanismo de acción de la síntesis verde por extractos de frutas.....	6
Figura 5 Esquema representativo de la excitación de electrones	9
Figura 6 Vibraciones moleculares	10
Figura 7 Diámetro hidrodinámico medido mediante DLS	11
Figura 8 Esquema de potencial zeta de una nanopartícula.....	12
Figura 9 Principales aplicaciones de las nanopartículas en la industria alimentaria.....	18
Figura 10 Plantas de la familia de las Ericaceae	19
Figura 11 Fruto de cahuiche (<i>Vaccinium leucanthum</i>)	20
Figura 12 Usos del cahuiche A) mermelada, B) panques y C) mole	22
Figura 13 Clasificación de compuestos fenólicos).....	24
Figura 14 Estructura química de algunos flavonoides. a) Quercetina; b) Kaempferol; c) Miricetina.	25
Figura 15 Estructura general de las antocianinas R ₁ y R ₂ pueden ser H o azúcares R pueden ser OH o H.....	26

Figura 16 Estructura química de algunos azúcares reductores. a) Glucosa; b) Fructuosa; c) Lactosa..... 26

Figura 17 Etapas de la oxidación lipídica..... 27

Figura 18 Ejemplo del cambio de coloración en la síntesis de nanopartículas A) NPs de hierro, B) NPs de cobre y C) NPs de plata. 52

Figura 19 Espectros UV-Visible. A) NPs de Hierro, B) NPs de cobre y C) NPs de plata. 53

Figura 20 Espectros FTIR de nanopartículas obtenidas por síntesis verde utilizando un extracto hidroalcohólico de cahuiche. A) NPsFe_{0.5, 1.5}, B) NPsFe_{1.5, 0.98}, C) NPsCu_{2, 7}, D) NPsCu_{6, 3.38}, E) NPsAg_{0.34, 5.5} y F) NPsAg_{6, 3.38}..... 55

Figura 21 Suspensiones de nanopartículas A) NPsFe_{0.5, 1.5}, B) NPsFe_{1.5, 0.98}, C) NPsCu_{2, 7}, D) NPsCu_{6, 3.38}, E) NPsAg_{6, 3.38} y F) NPsAg_{0.34, 5.5} 56

Figura 22 Micrografías de las nanopartículas metálicas sintetizadas..... 57

Figura 23 Porcentaje de inhibición de las nanopartículas sintetizadas con extracto hidroalcohólico de cahuiche. 58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Ejemplos de síntesis de nanopartículas con extractos de frutas	7
Tabla 2 Aplicación de NPs de Ag obtenidas de extractos de frutas	16
Tabla 3 Aplicaciones de diferentes tipos de nanopartículas (NP)	17
Tabla 4 Contenido nutricional de <i>Vaccinium leucanthum</i> por cada 100 g de peso fresco ..	21
Tabla 5 Compuestos bioactivos de <i>Vaccinium leucanthum</i>	22
Tabla 6 Compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana.....	30
Tabla 7 Factores y niveles para determinar la síntesis de nanopartículas	45
Tabla 8 Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de cahuiche (<i>Vaccinium leucanthum</i>).....	48
Tabla 9 Nanopartículas metálicas seleccionadas y sus condiciones de síntesis	50
Tabla 10 Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida de las nanopartículas metálicas sintetizadas y del EHAC	60

ABREVIATURAS

abs: Absorbancia

ABTS●+: Acido 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolino-6-sulfónico)

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria

CMB: Concentración Mínima Bactericida

EAA: Equivalentes de ácido ascórbico

EAG: Equivalentes de ácido gálico

EHAC: Extracto hidroalcohólico de cahuiche

ET: Equivalente de Trolox

EtOH: Alcohol Etílico

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo

MeOH: Alcohol Metílico

NPs: Nanopartículas

nm: nanómetro

pf: peso fresco

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la nanotecnología ha sido de sumo interés en diferentes industrias, ésta es una ciencia que se basa en el estudio, síntesis y caracterización de diversos materiales, así como para mejorar algunos procesos o tecnologías, que ayudan a crear y mejorar productos, técnicas o equipos (Mejias, Cabrera, & Toledo, 2009).

Entre los materiales más estudiados se encuentran las nanopartículas metálicas, estas poseen al menos una de sus dimensiones en un intervalo que oscila entre 1 a 100 nm, y poseen una gran diversidad de propiedades como: magnetismo, mayor área superficial, actividad antimicrobiana, antioxidante, entre otras. Sin embargo, en la actualidad la síntesis de nanopartículas metálicas por lo general se lleva a cabo mediante procesos químicos, lo que representa un riesgo para el medio ambiente, por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar métodos de síntesis ambientalmente benignos (Mejias, Cabrera, & Toledo, 2009).

La síntesis verde de nanopartículas mediante el uso de plantas o extractos de estas es una alternativa amigable con el medio ambiente, esta se lleva a cabo por la presencia de biomoléculas como carbohidratos, proteínas, aminoácidos, vitaminas, polifenoles, terpenoides y ácidos orgánicos, las cuales actúan como agentes reductores, además de brindar estabilidad y funcionalidad a las nanopartículas (Garzón, 2018).

El cahuiche (*Vaccinium leucanthum*) es una baya silvestre que posee una gran cantidad de compuestos bioactivos como: compuestos fenólicos entre ellos flavonoides, antocianinas y ácido ascórbico, además de azúcares reductores (Sánchez-Franco, *et al*, 2019).

La presente investigación, tuvo como objetivo utilizar un extracto hidroalcohólico de cahuiche (*Vaccinium leucanthum*) para la síntesis de nanopartículas de plata, hierro y cobre, las nanopartículas obtenidas se caracterizaron mediante técnicas espectrofotométricas de UV-Visible e infrarrojo, se determinó el potencial Z por electroforesis, tamaño por dispersión de luz laser y se realizó microscopía electrónica de transmisión, además se determinó su capacidad antioxidante y antimicrobiana para proponer su uso en la industria alimentaria.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Nanociencia y nanotecnología

La nanociencia es la ciencia que estudia los fenómenos y la manipulación de los materiales que se encuentran a nanoescala, ya que a estos tamaños sus propiedades son distintas a las de su escala convencional (Uribe & Rodríguez-López, 2007). Esta se relaciona fuertemente con la nanotecnología, la cual estudia la materia a escalas muy pequeñas, las cuales oscilan entre uno y cien nanómetros.

Dentro de la escala nanométrica (Figura 1) se encuentran una gran variedad de materiales, procesos de fabricación y tecnologías que se usan para crear y mejorar productos, técnicas o equipos (Mejias, Cabrera, & Toledo, 2009).

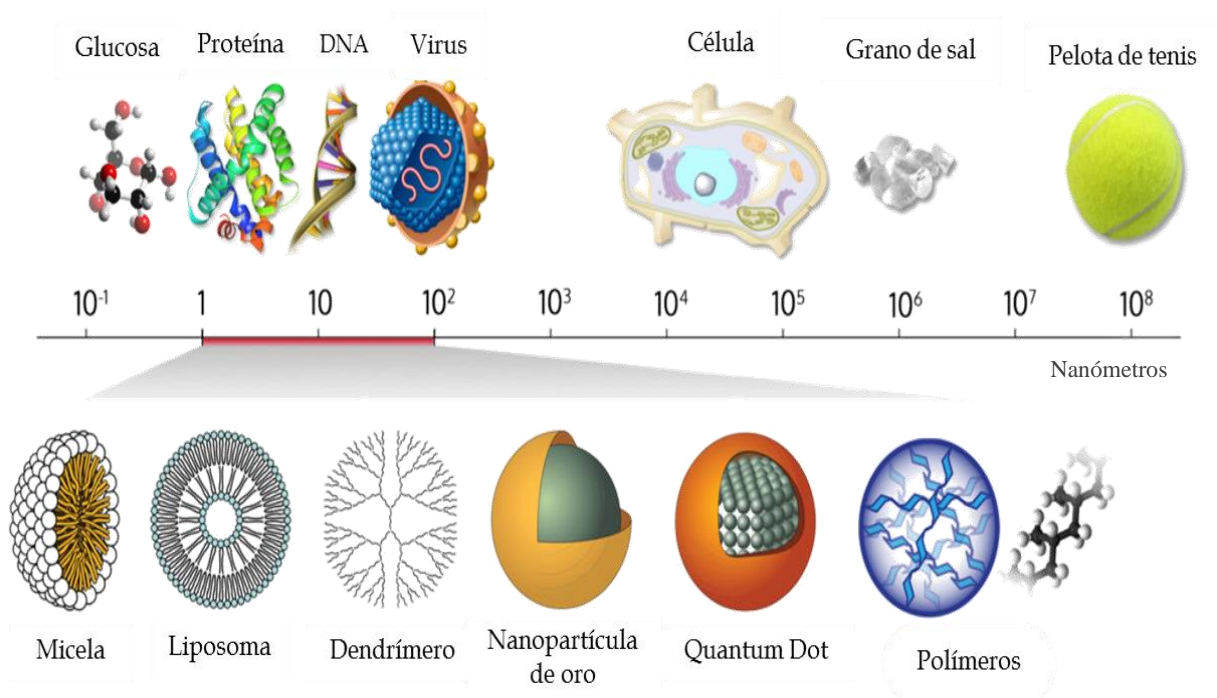


Figura 1 Escala nanométrica (Anzures & Guerrero, 2016)

El estudio de la nanotecnología está siendo de gran interés para la ciencia debido a las propiedades que pueden ofrecer los materiales a escalas más pequeñas, es importante

mencionar que la nanotecnología es un área de estudio multidisciplinaria ya que involucra diferentes disciplinas como química, física, biotecnología, entre otras. Por otro lado, la nanotecnología está siendo aplicada en áreas como la agricultura, medicina, tecnologías de la información, comunicación, energía, medio ambiente y alimentos (Zayago Lau & Foladori, 2010).

2.1.1 Aplicaciones de la nanotecnología

A pesar de que el uso de la nanotecnología es reciente, ya ha sido usada en diferentes áreas como las mencionadas anteriormente, además de algunos productos y equipos como los que se mencionan a continuación (Roque, 2021):

- La creación de las películas de lentes, pantallas de computadoras y ventanas para mejorar su capacidad hidrófuga.
- En el desarrollo de herramientas para detectar y tratar el cáncer.
- En la fabricación de vacunas y fármacos que ayuden a combatir enfermedades en el ganado.
- En la elaboración de algunos productos para el cuidado personal, tales como cosméticos y protectores solares.
- Envases para evitar el deterioro o la contaminación de los alimentos.
- En el desarrollo de sensores alimenticios que ayuden a determinar la viabilidad de los alimentos.
- Elaboración de alimentos funcionales.
- La creación de nanopartículas metálicas.

2.2 Nanopartículas

Las nanopartículas (Figura 2) son sistemas muy pequeños, las cuales poseen al menos una de sus dimensiones entre uno a cien nanómetros, esto las hace ser imperceptibles a la vista o a un microscopio óptico. La palabra “nano” proviene del griego que significa “enano” (Medina & Reyes, 2015). Existen diversas formas en las que se han dividido las

nanopartículas metálicas, sin embargo, la principal es por el método de obtención clasificándose en:

- Naturales: Las que se producen en erupciones volcánicas.
- Incidentales: Producidas por la combustión en motores.
- Producidas o sintéticas: Obtenidas mediante distintos métodos de síntesis.

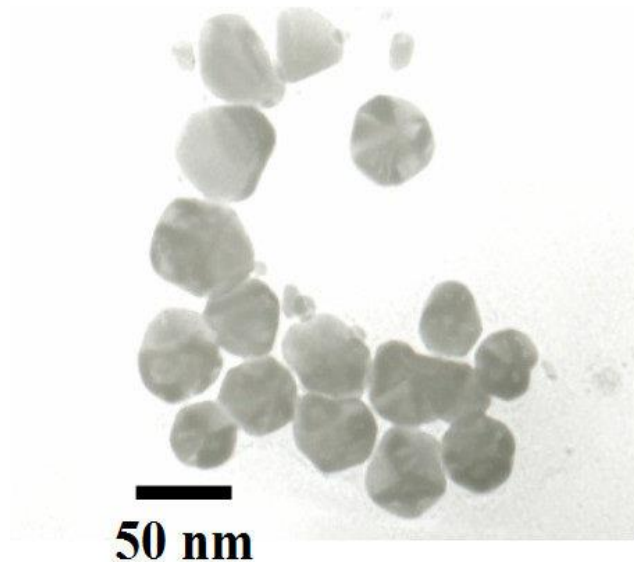


Figura 2 Micrografías de TEM de nanopartículas de plata (Saenz, Hernández, & Martínez, 2011)

2.2.1 Métodos para la síntesis de nanopartículas

La síntesis de nanopartículas se lleva a cabo mediante dos métodos de fabricación los descendentes (top-down) y ascendentes (bottom-up) (Figura 3). Las técnicas descendentes o de arriba hacia abajo consisten en la degradación por métodos físicos como la molienda o el desgaste de un material macroscópico para la obtención de partículas de tamaño nanométrico (Salem & Fouda, 2020).

Por otro lado, en las técnicas ascendentes o de abajo hacia arriba parten de una de una solución que contiene átomos o moléculas con capacidad de auto ensamblarse, esto mediante las interacciones moleculares (hidrofóbicas, hidrofílicas, puentes de hidrógeno y las fuerzas

de Vander Waals) generadas por factores como el pH, la concentración del soluto o la aplicación de un campo eléctrico, lo que permite la formación de partículas nanométricas (Salem & Fouda, 2020).

Las técnicas ascendentes involucra síntesis químicas, por ejemplo, el método coloidal, hidrolisis, sol-gel, el hidrotérmicos, vapor químico, entre otros, sin embargo cada uno de ellos genera residuos que al ser desechados pueden llegar a dañar el medio ambiente, dentro de estas técnicas también se encuentra la síntesis verde que al contrario de la síntesis química posee la ventaja de realizarse en un solo paso, es decir, al llevar acabo la síntesis también se realiza una estabilización y funcionalización de la nanopartícula obtenida, lo que permite que los residuos obtenidos sean mínimos o nulos, reduciendo de esta manera el daño al ambiente (Zanella, 2021).

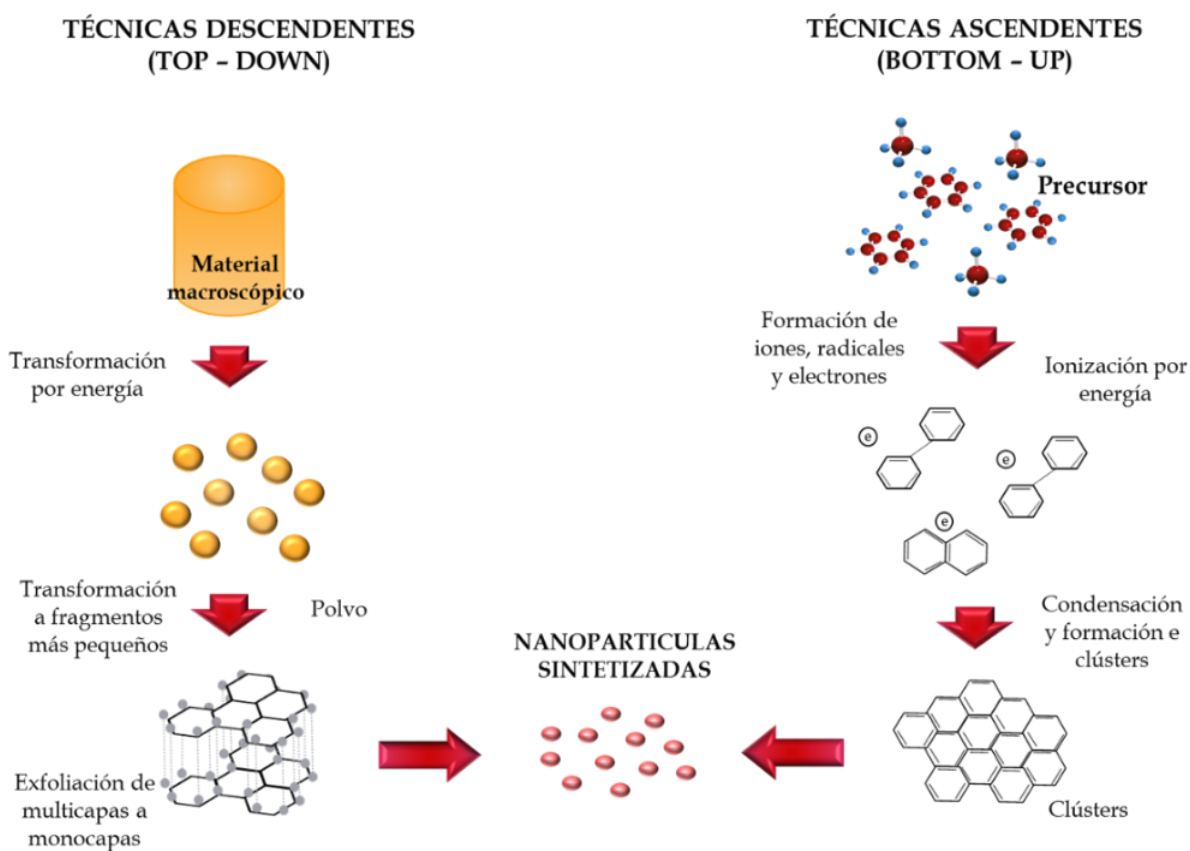


Figura 3 Representación esquemática de la síntesis de nanopartículas por las técnicas descendentes y ascendentes. Modificado de Garzón (2018)

2.2.2 Síntesis verde

En la actualidad se han realizado diferentes investigaciones con sistemas biológicos como levaduras, bacterias, actinomicetos, hongos, algas y extractos de plantas, para la producción de nanopartículas de metales como plata, oro, zinc, titanio, cobre, alginato y magnesio (Ávalos, Haza, & Morales, 2016).

La síntesis verde con extractos de frutas se lleva a cabo en tres fases (Figura 4). La fase de activación consiste en la ruptura de los grupos OH presentes en los compuestos bioactivos, provocando la liberación de un electrón, el cual interactúa con el metal para reducirlo, posteriormente en la fase de crecimiento los átomos del metal comenzarán a auto ensamblarse para formar partículas de tamaño nanométrico, y por último en la fase de terminación se obtienen nanopartículas metálicas funcionalizadas, esto quiere decir, que el núcleo formado por el metal sintetizado es cubierto por una capa de compuestos bioactivos (Torres & Bastos, 2021; Santos, *et al*, 2020). Está cubierta que se forma es lo que brinda la actividad biológica a la nanopartícula, como la capacidad antioxidante y antimicrobiana.

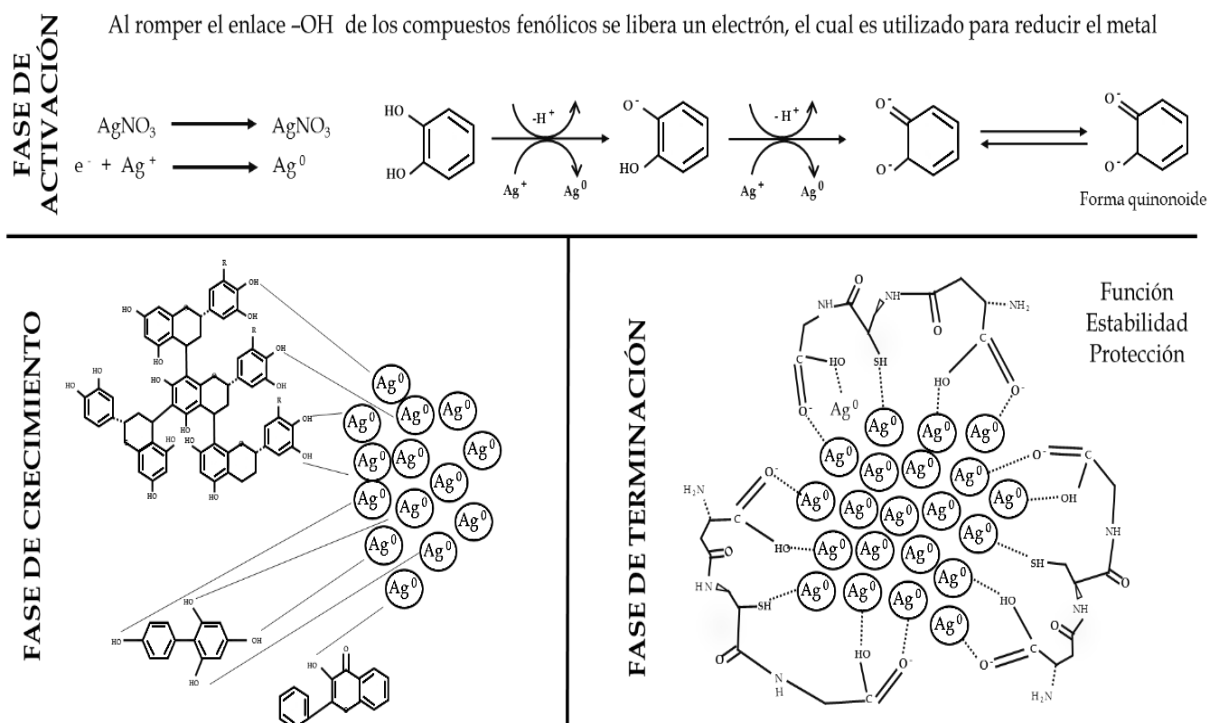


Figura 4 Mecanismo de acción de la síntesis verde por extractos de frutas. Modificado de Santos, *et al* (2020)

Durante la síntesis verde las nanopartículas se forman debido a una reacción de oxidoreducción de los iones metálicos presentes en la sal metálica y por biomoléculas como enzimas, proteínas, azúcares, carbohidratos, compuestos bioactivos, entre otros (Torres & Bastos, 2021).

La síntesis verde de nanopartículas mediante el uso de extractos de frutas se debe a la presencia de azúcares reductores y biomoléculas en los frutos usados. Por ejemplo, frutas como *Vaccinium macrocarpon*, *Rubus glaucu*, *Cornus L.*, *Citrullus lanatus*, *Vitis vinífera* y *Punica granatum* poseen antocianinas, ácido ascórbico, compuestos fenólicos, flavonoides y azúcares. En la Tabla 1 se muestran algunos ejemplos de nanopartículas sintetizadas por extractos de frutas (Kumar & Kanchan, 2020).

Tabla 1 Ejemplos de síntesis de nanopartículas con extractos de frutas

NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	ORIGEN DEL EXTRACTO	METAL U OXIDO SINTETIZADO	REFERENCIA
Fresa	<i>Fragaria ananassa</i>	Fruta entera	Óxido de cobre	(Hemmati, Ahmeda, & Salehabadi, 2020)
Guayaba	<i>Psidium guajava</i>	Fruta entera	Óxido de cobre	(Kaur, Thakur, & Chaudhary, 2016)
Granada	<i>Punica granatum</i>	Jugo	Plata	(Ibrahiem, & Dalloul, 2016)
Uva	<i>Vitis vinífera</i>	Fruta entera	Plata	(Vanaja, K Paulkumar, & Gnanajobitha, 2013)
Mortiño	<i>Vaccinium floribundum</i>	Fruta entera	Hierro	(Murgueitio, Debut, Landivar, & Cumbal, 2016)
Arándano azul	<i>Vaccinium corymbosum</i>	Fruta entera	Hierro	(Asmat, Asmat-Aguirre, Delfin, & Juarez, 2019)

2.2.2.1 Factores que afectan la síntesis verde

Entre los principales factores que afectan la producción de nanopartículas por medio de la síntesis verde se encuentran (Salem & Fouda, 2020):

- **Método de producción:** Está relacionado con la elección del agente biológico (microorganismos, plantas, frutos o biomoléculas) para la síntesis.
- **Temperatura:** Determina el tamaño y la forma de las nanopartículas.
- **pH:** Influye principalmente en el tamaño y forma de las nanopartículas
- **Otros factores:** El tiempo, centrifugación, técnicas de cromatografía, electroforesis, método de purificación, los cuales pueden influir en la cantidad y calidad de las nanopartículas.

Cada uno de estos factores determinarán e influirán directamente en el tamaño, forma, cantidad y calidad de las nanopartículas sintetizadas. Y estas características permiten determinar el uso o aplicación que las nanopartículas tendrán en las diferentes industrias.

2.2.2.2 Beneficios de la síntesis verde

Algunos beneficios de la biosíntesis de nanopartículas por medio de frutas son (Hernández, 2022):

- Requiere menos tiempo para reducir los iones metálicos
- Permite la selección de un agente reductor ecológico
- Elección de disolventes y reactivos menos tóxicos para la estabilización.
- Reducir el volumen de residuos dañinos para el medio ambiente

Diversos compuestos como los alcaloides, aminos, amidas, flavanonas, terpenoides, proteínas y fenólicos están presentes en los extractos verdes obtenidos a partir de frutas, y estos ayudan a la reducción de iones metálicos, además, brindan estabilidad y funcionalidad a las nanopartículas. Roy (2015) menciona que los azúcares, vitaminas, péptidos y agua presentes en los extractos de frutas también intervienen en la producción de nanopartículas.

Actualmente las nanopartículas metálicas son las más estudiadas, debido a que han mostrado ser agentes antimicrobianos, capaces de afectar el metabolismo bacteriano, debido a su tamaño (Torres & Bastos, 2021).

2.2.3 Técnicas de caracterización

2.2.3.1 Espectrofotometría UV-Visible

La espectroscopía UV-Visible ocurre principalmente por la capacidad que poseen las moléculas para absorber la radiación a diferentes longitudes de onda, las cuales se encuentran en el espectro ultravioleta (195-400 nm) y el espectro visible (400-780 nm). La absorción de esta radiación depende de factores como la estructura atómica, pH, temperatura, forma, entre otras. Debido a lo anterior es que se usa espectrofotometría UV-Visible determinar y caracterizar a las nanopartículas (Almanza, Garcia, Mendoza, Lobato, & Sanchez, 2021).

En esta técnica los electrones de los enlaces presentes en la muestra se excitan mediante la absorción de la radiación, por lo que se generan picos de absorción a diferentes longitudes de ondas los cuales brindan información de la capacidad de absorción de la muestra (Figura 5). Debido a ello, la espectroscopía UV-Vis se utiliza para la identificación de los grupos funcionales, además de proporcionar una aproximación al tamaño y forma de la misma (Almanza, Garcia, Mendoza, Lobato, & Sanchez, 2021).

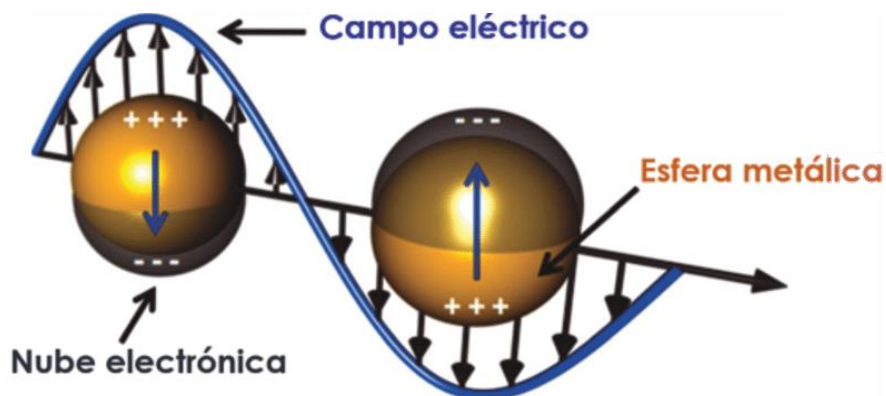


Figura 5 Esquema representativo de la excitación de electrones (Aguilar & Zanella, 2017)

2.2.3.2 Espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

La espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier es una técnica que se usa para la identificación y análisis de la estructura de una muestra ya sea líquida o sólida. Es considerada una técnica eficiente y muy conocida, la cual se basa principalmente en la excitación de las moléculas, generada por un haz de luz infrarroja, lo que produce la vibración de las mismas, y estas vibraciones (Figura 6) están relacionadas principalmente con los diversos enlaces químicos y grupos funcionales presentes en la muestra (Barraza-Garza, y otros, 2013).

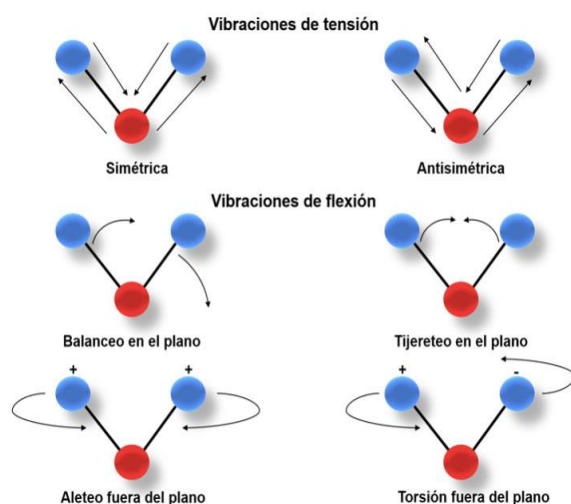


Figura 6 Vibraciones moleculares (Capitaine, Núñez, Sosa, & Ramírez, 2020)

En los espectros infrarrojos se pueden identificar la intensidad de la radiación infrarroja como el número de onda (cm^{-1}) en el eje de las X, y en el eje de las Y se encuentra la intensidad de la radiación absorbida, también se pueden observar una diversidad de picos en diferentes posiciones y con alturas y anchuras diferentes debido a las vibraciones generadas por los distintos enlaces intermoleculares, los cuales permiten identificar la composición de las muestras (Barraza-Garza, y otros, 2013).

2.2.3.3 Dispersión de Luz Dinámica (DLS)

La dispersión de luz dinámica es una técnica no invasiva que ayuda a estimar el tamaño y distribución de las partículas presentes en la suspensión, las cuales pueden

encontrarse en un intervalo de 1 – 100 nm de tamaño. En esta técnica se hace pasar un haz de luz láser a través de la solución de nanopartículas, posteriormente se monitorean los fotones dispersos en diferentes ángulos. Cabe mencionar que es un parámetro hidrodinámico, por lo que sólo se aplica a partículas que se encuentran en dispersión o suspendidas en solución (Figura 7).

Esta técnica proporciona información de todas las partículas presentes, debido a que la medición es sensible a los pequeños cambios de tamaño de la muestra, esto quiere decir que puede realizar la lectura de agregados como si fueran partículas individuales, lo que ocasiona que el tamaño z-promedio aumente, y debido a ello las lecturas no proporcionan información exacta respecto al tamaño y forma de las nanopartículas de manera individual, por ello es importante confirmar los tamaños obtenidos con técnicas microscópicas (García, 2015).

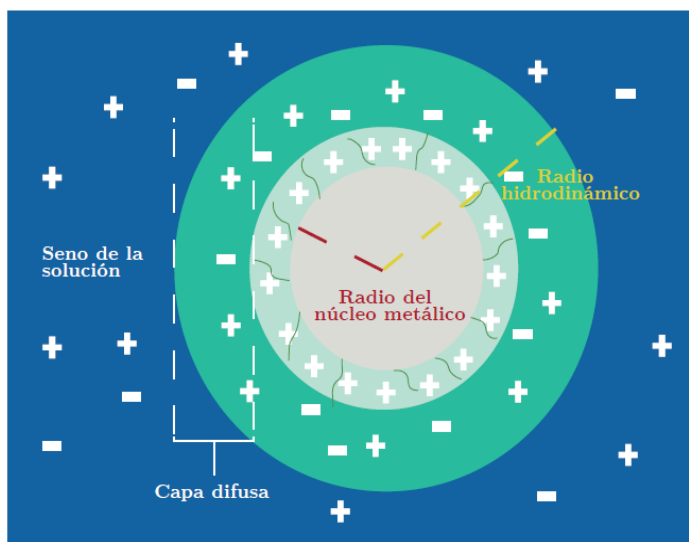


Figura 7 Diámetro hidrodinámico medido mediante DLS (BOTASINI, 2020)

2.2.3.4 Potencial Z por electroforesis en liquido

El potencial zeta es una técnica que permite medir la magnitud de repulsión o atracción electrostática de las partículas, es considerado un parámetro fundamental el cual afecta la estabilidad de la muestra en suspensión (Figura 8) (Mantilla, Pedraza, & Laverde, 2008).

Su medición proporciona información de la dispersión, agregación o floculación de la muestra, dicha información ayuda a determinar el uso o aplicación de las nanopartículas. Existen algunos factores los cuales afectan el potencial zeta como son la fuerza iónica, la concentración de la muestra, la temperatura y pH, siendo este último el de mayor importancia, debido a que a diferentes valores de pH las nanopartículas podrían ser más estables o podrían precipitar rápidamente (Mantilla, Pedraza, & Laverde, 2008).

Es importante mencionar que aquellas suspensiones con valores superiores a 20 mV de potencial zeta, ya sea negativo o positivo, las nanopartículas serán más estables en comparación con aquellas que tienen valores más cercanos a cero (Mantilla, Pedraza, & Laverde, 2008).

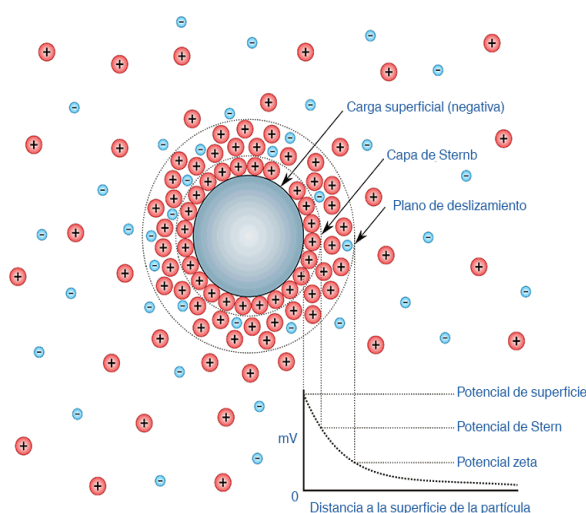


Figura 8 Esquema de potencial zeta de una nanopartícula (Rivera, 2019)

2.2.3.5 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

El microscopio electrónico de transmisión permite observar la muestra en cortes ultrafinos. Esta técnica utiliza un haz de electrones como fuente de luz los cuales son dirigidos hacia la muestra. Estos electrones atraviesan la muestra lo que produce una dispersión de los mismos en diferentes trayectorias (Calderon, 2020). La microscopía electrónica de transmisión permite determinar el tamaño, forma de la partícula, cristalinidad en la superficie y la distribución de las partículas en la superficie.

2.2.4 Nanopartículas metálicas

Las nanopartículas metálicas (Ag, Au, Fe) y de óxidos metálicos (TiO₂, ZnO, SiO₂, CeO₂) han sido de gran interés en distintas industrias como la farmacéutica, alimentaria, textil, cosmética, la médica, entre otras ya que han mostrado poseer diversas actividades biológicas como la actividad antimicrobiana, antioxidante, fotocatalítica, entre otras (Gregorio, Rivera, & Caballero, 2013).

El uso de materiales metálicos ha sido de gran importancia en la vida del ser humano, este comprende desde transporte, arquitectura, en la ciencia de la información, en la tecnología, electrónica y biomedicina. Esto se debe a que en forma masiva los metales poseen un alto esfuerzo mecánico, buena maleabilidad y propiedades electromagnéticas, por lo contrario, al sintetizar los metales a tamaños nanométricos estos se comportan de diferente forma cambiando así sus propiedades físicas y químicas, esto se debe principalmente al tamaño, área superficial y efectos cuánticos (Gomez, 2020). Entre las nanopartículas metálicas más estudiadas se encuentran las de cobre, hierro y plata.

2.2.4.1 Nanopartículas de Hierro (Fe)

El hierro es un elemento químico, situado en el grupo 8, periodo 4 de la tabla periódica. Su símbolo es Fe y una masa atómica de 55.85. Es un metal maleable, de color gris plateado y presenta propiedades magnéticas (al encontrarse en magnetita (Fe₃O₄)), además es duro y denso (Serpa, Velez, & Barajas, 2015).

Es un mineral esencial para el cuerpo, debido a que participa en el crecimiento del ser humano y el mantenimiento del organismo, es parte de diversas enzimas y complejos moleculares que participan en procesos metabólicos (Gómez, 2004). Entre las principales funciones que desempeña son (Torres & Bastos, 2021) :

- El transporte de oxígeno por medio de la hemoglobina
- Síntesis, degradación y almacenamiento de neurotransmisores

- En la respuesta inmune de las células
- En el tratamiento de la anemia ferropénica causada por un déficit de hierro

En la industria alimentaria el hierro en nanopartículas ha demostrado poseer una actividad antimicrobiana, la cual ayuda a los alimentos a mejorar significativamente su vida de anaquel permitiendo así mayor tiempo y facilidad de distribución, otros estudios han demostrado que posee actividad anticancerígena por que han sido usadas en el tratamiento de cáncer (Ismat, Nosheen, Sadia, Ali, & Jalal, 2019; Serpa, Velez, & Barajas, 2015).

2.2.4.2 Nanopartículas de Cobre (Cu)

El cobre es un elemento químico cuyo símbolo es Cu, numero atómico 29 y una masa atómica de 63.546, este posee un color cobrizo y junto con la plata, el oro y el roentgenio forma parte familia del cobre, en su tamaño macro se caracteriza por ser uno de los mejores conductores de electricidad. El cobre está presente en la naturaleza, y desde la antigüedad ha sido usado en la elaboración de utensilios y cables de electricidad (Victorava & Feoktistova, 2018).

Sin embargo, este es considerado un micronutriente esencial que se encuentra en órganos con elevada actividad metabólica, como son hígado, el cerebro, los riñones y el corazón (Salem & Fouda, 2020). Existen varias funciones que desempeña el cobre dentro del cuerpo algunas de ellas se mencionan a continuación (Victorava & Feoktistova, 2018):

- **Participa en el metabolismo del hierro:** La ceruloplasmina y la ferroxidasa II son enzimas que requieren del cobre para transportar el hierro.
- **Formación de tejido conectivo:** La lisil-oxidasa es una enzima que favorece la formación de tejido conectivo y para su funcionamiento necesita del cobre.
- **Favorece la cicatrización:** Debido a su rol en la formación de colágeno.
- **Antioxidante:** Su capacidad antioxidante se da por la interacción del cobre y la enzima superóxido dismutasa (SOD), la cual cataliza los radicales superóxidos (radicales libres) a peróxido de hidrógeno.

- **Formación de la mielina y melanina:** La mielina es una capa que protege los nervios con la ayuda del citocromo C oxidasa una enzima que requiere de cobre para su funcionamiento. La tirosinasa es una enzima cobre dependiente la cual interviene en la formación de la melanina.

Las nanopartículas de cobre han mostrado eficacia como agente antimicrobiano, por dicho motivo han sido propuestas como una alternativa del uso de conservadores en los alimentos. Además, han sido sintetizadas para ser usadas como aditivos industriales para la fabricación de plásticos, cubiertas metálicas, tintes, entre otros (Tapia, 2020).

2.2.4.3 Nanopartículas de Plata (Ag)

La plata es un elemento químico con número atómico 47, su símbolo es Ag y tiene una masa atómica de 107.87, es un metal noble, de transición, de color gris, este es blando, dúctil y maleable. En la naturaleza se encuentra como parte de distintos minerales (generalmente en forma de sulfuro) o como plata libre (Vega & Samano, 2013).

Debido a las propiedades físicas de la plata como son fuerza, brillo, maleabilidad y ductilidad ha sido usada en joyería, vajillas y artes plásticas, otra de las aplicaciones de este elemento es a nivel industrial debido a su conductividad, sensibilidad a la luz y a sus propiedades antibacterianas. También ha sido empleada en el tratamiento y prevención del cáncer, en enfermedades antimicrobianas o antivirales, se ha usado en ungüentos para tratar quemaduras, así como en la adición de suplementos alimenticios (Rodríguez, Gutiérrez, & Román, 2010).

En la industria se han sintetizado nanopartículas de Ag para su aplicación en alimentos, debido a sus actividades antibacterianas, antivirales, y antifúngicas (Maldonado, Nieto, & Cruz, 2019). Estas ayudan a tener una mayor vida de anaquel al evitar el deterioro de los alimentos debido a la presencia de microorganismos patógenos que dañan a los alimentos. En la Tabla 2 se enlistan algunas aplicaciones de nanopartículas de plata (Kumar & Kanchan, 2020).

Tabla 2 Aplicación de NPs de Ag obtenidas de extractos de frutas (Kumar & Kanchan, 2020)

FRUTA	NOMBRE CIENTÍFICO	APLICACIÓN
Granada	<i>Punica granatum</i>	Actividad antibacteriana contra <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>K. pneumoniae</i>
Piña	<i>Ananas comosus</i>	Actividad antioxidante; Efecto citotóxico contra HepG2 (línea celular de cáncer de hígado); Actividad antidiabética; Actividad antibacteriana contra <i>Bacillus cereus</i>
Ojo de dragón	<i>Dimocarpus longan</i>	Actividad antibacteriana contra <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>B. subtilis</i> ; Actividad antifúngica contra <i>Candida albicans</i>
Plátano	<i>Musa paradisiaca</i>	Actividad antibacteriana contra <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> Actividad antioxidante
Guayaba	<i>Psidium cattleianum</i>	Actividad antimicrobiana contra <i>S. aureus</i>
Uva	<i>Vitis vinifera</i>	Actividad antibacteriana contra <i>Klebsiella planticola</i> y <i>Bacillus subtilis</i>

2.2.5 Aplicación de las nanopartículas

Debido a las propiedades de las nanopartículas metálicas, éstas se han aplicado en múltiples áreas del conocimiento como la medicina, biología, electrónica, entre otras. La Tabla 3 muestran algunas aplicaciones de las nanopartículas (Torres & Bastos, 2021).

Tabla 3 Aplicaciones de diferentes tipos de nanopartículas (NP)

APLICACIÓN	TIPO DE NANOPARTÍCULA
POTENCIA/ENERGÍA	
Células Solares sensibilizadas por Colorante	TiO ₂ es el más empleado. ZnO y Au
Almacenamiento de Hidrógeno	Nanopartículas Híbridas Metálicas
SALUD/MEDICINA	
Protectores Solares	ZnO y TiO ₂
Apósitos para heridas antibacterianos	Ag
Fungicidas	Nanopartículas Cu ₂ O
INGENIERÍA	
Recubrimientos resistentes a la abrasión	Nanopartículas de Alúmina y Y-Zr ₂ O ₃
Pigmentos	Pb, Zn, Mg y Ag.
Mejora estructural y física de Polímeros	Nanoarcillas, Nano-óxidos y Nano-hidróxidos de Metales.
MEDIO AMBIENTE	
Tratamientos de agua (Foto-Catálisis)	Cerámicas Óxidos Metálicos, TiO ₂
ELECTRÓNICA	
Nanoescala partículas magnéticas para la alta densidad de almacenamiento de datos	Fe en combinación con otros metales (o no metales), CoPt o FePt
Circuitos electrónicos	Plata, Cobre y Nanopartículas de Al

Aunque la aplicación de las nanopartículas ha tenido una diversa utilidad en distintas áreas como se ha mencionado, cabe destacar que también se ha empleado en la industria y tecnología de los alimentos (Berekaa, 2015).

El uso de las nanopartículas en la industria alimentaria ha contribuido a mejorar la producción, la conservación y la calidad nutricional de los alimentos desde el procesamiento, el envasado, así como en la distribución contribuyendo a que los alimentos lleguen a lugares lejanos y conservando sus propiedades (Medina & Reyes, 2015). En la Figura 9 se muestran algunas de las aplicaciones de nanopartículas en el sector alimentario (Gomez, 2020).

El uso de las nanopartículas en la industria alimentaria está tomando un auge cada vez más importante, con el desarrollo de alimentos con menos grasa, azúcar y sales, no sólo en el procesamiento, sino en operaciones posteriores, además de que podría contribuir a disminuir o prevenir enfermedades degenerativas con el consumo de los mismos (Gomez, 2020).

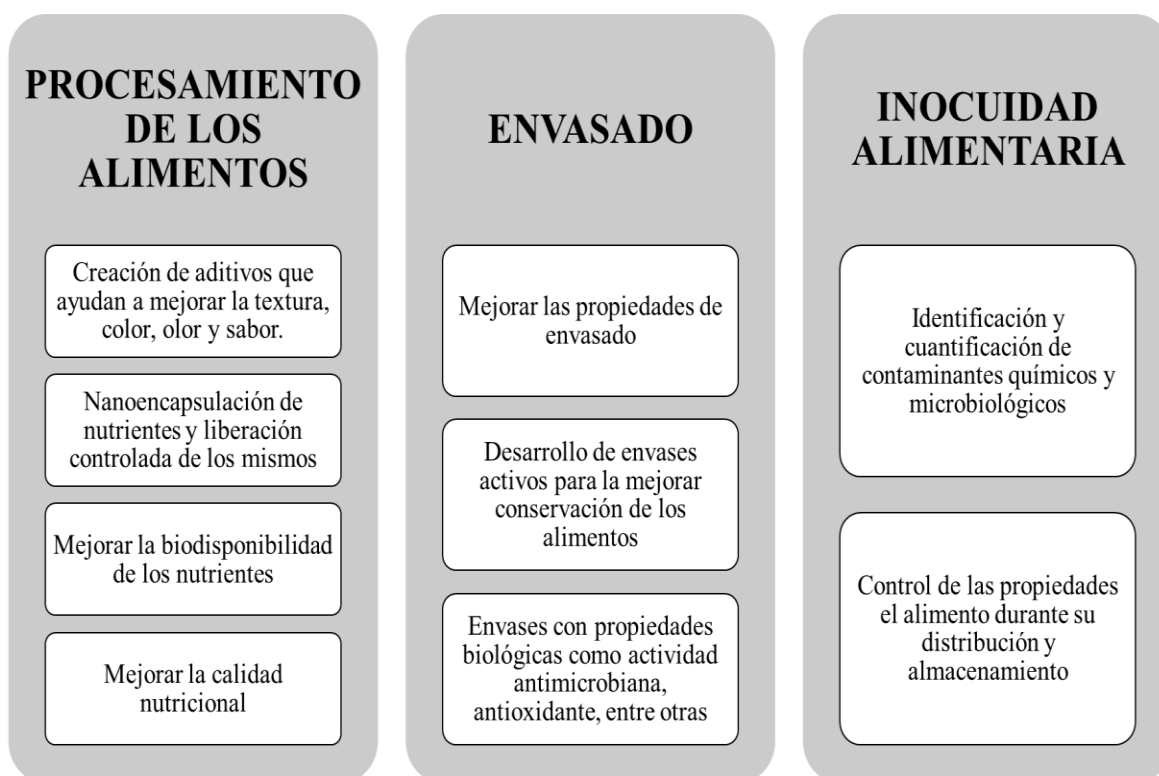


Figura 9 Principales aplicaciones de las nanopartículas en la industria alimentaria

2.3 Características botánicas de *Vaccinium*

Las Ericaceae son una familia de plantas que se caracterizan por ser arbustos (terrestres o epifitos), subarbustos o árboles pequeños (Luteyn, 2005; Smith, 2004). Estas

comprenden cerca de 1500 especies, las cuales se adaptan a terrenos pobres y ácidos por medio de simbiosis, y abundan en zonas templadas y frías (Abril-Ramírez, 2010).

Morfológicamente están compuestas por hojas ericoides o lauroides, simples, alternas, enteras y rara vez subopuestas; estas pueden ser coriáceas y persistentes, además de membranosas y caducas (Smith, 2004; Wilbur & Luteyn, 1978). De igual manera, presentan inflorescencias axilares, sus flores son bisexuales, actinomorfas o en algunos casos zigomorfas y unisexuales; los granos de polen son tetrados; estilo hueco, el ovario es superior o inferior, y pueden llegar a presentar de 4 a 5 carpelos. El fruto de esta familia puede presentarse en cápsula, baya o drupa (Luteyn, 2005; Wilbur & Luteyn, 1978).

Algunos géneros que conforman a las ericáceas son *Cavendishia*, *Psammisia*, *Thibaudia*, *Gaylussacia*, *Vaccinium*, *Macleania*, *Disterigma*, *Gaultheria* y *Ceratostema* (Smith, 2004). En la Figura 10 se muestran algunas plantas pertenecientes a la familia de las Ericaceae.



Figura 10 Plantas de la familia de las Ericaceae

Entre las especies más importantes de *Vaccinium* destacan *V. corymbosum*, *V. ashei* Reade y *V. angustifolium* las cuales se producen principalmente en Canadá, Europa, Australia y Estados Unidos. En México se cuenta con especies como *V. confertum* y *V. consaguineum* las cuales se producen principalmente en Hidalgo, Puebla y Veracruz además de *Vaccinium leucanthum* la cual crece principalmente en el estado de Hidalgo (Sánchez, *et al.*, 2019).

2.3.1 Cahuiche (*Vaccinium leucanthum*)

El cahuiche (*Vaccinium leucanthum*) es un fruto comestible que crece en el Estado de Hidalgo, principalmente en los municipios de Omitlán de Juárez y Huasca de Ocampo, es un árbol silvestre perteneciente a la familia de las Ericaceae, el cual crece en bosques mesófilos de la montaña, su fruto (Figura 11) es una baya carnosa y jugosa, siendo considerado un fruto climatérico lo que permite ser cosechado previo a su maduración, mostrando un color rojo oscuro al alcanzar esta etapa (Sánchez, *et al.*, 2019).



Figura 11 Fruto de cahuiche (*Vaccinium leucanthum*)

El árbol de cahuiche presenta hojas coriáceas, simples y alternas, además de flores blancas las cuales nacen en racimos; su floración se da durante los meses de abril y mayo, mientras que la recolección del fruto en los meses de agosto y septiembre. Cabe resaltar que las características fisicoquímicas de *Vaccinium leucanthum* dependerá principalmente de las condiciones climáticas, la disminución de las precipitaciones, condiciones del suelo,

temperatura y altitud, así como la nutrición del árbol, el tipo de cosecha y tratamientos postcosecha (Sánchez, *et al.*, 2019).

2.3.2 Composición de *Vaccinium leucanthum*

Nutricionalmente el cahuiche presenta un alto contenido de carbohidratos, fibra, azúcares reductores, además de poseer micronutrientes como hierro, cobre, zinc y manganeso, también cuenta con macroelementos como el sodio, fósforo, potasio, calcio y magnesio, en la Tabla 4 se puede apreciar la composición nutricional del cahuiche.

Tabla 4 Contenido nutricional de *Vaccinium leucanthum* por cada 100 g de peso fresco

COMPUESTO	CONTENIDO
Contenido energético (kcal)	78.70
Proteína (g)	1.07
Carbohidratos (g)	24.57
Fibra dietética total (g)	8.35
Fibra dietética soluble (g)	1.25
Fibra dietética insoluble (g)	7.10
Azúcares reductores (mg)	226.06
Hierro (mg)	11.42
Cobre (mg)	1.30
Sodio (g)	0.77
Vitamina C (mg)	102.30

Además, cuenta con compuestos bioactivos como ácido ascórbico, fenoles, flavonoides y antocianinas los cuales le confieren una gran capacidad antioxidante. En la Tabla 5 se muestra el contenido de los compuestos bioactivos presentes en *Vaccinium leucanthum* (Sánchez, *et al.*, 2019).

Tabla 5 Compuestos bioactivos de *Vaccinium leucanthum*

COMPUESTO BIOACTIVO	CONTENIDO
Ácido ascórbico (AA) (mg AA/100 g)	102.3
Compuestos fenólicos (mg EAG/100g)	1 090.3
Flavonoides (mg EQ/100 g)	112.0
Antocianinas (mg cianidina-3glucósido/100g)	267.1

2.3.3 Producción, uso y aprovechamiento de *Vaccinium leucanthum*

Actualmente no se conoce la producción de cahuiche debido a que este crece de forma silvestre o de traspatio. Este fruto es consumido principalmente a nivel regional en productos como mermeladas, licores, jaleas y dulces, también es consumido en platillos como atoles, mole, agua, galletas, postres y otros platillos típicos de la región (Sánchez, *et al.*, 2019). En la Figura 12 se muestran algunos platillos o productos alimenticios en los cuales se usa el cahuiche.

Como puede observarse su consumo es a nivel local en platillos y algunas conservas, esto es porque es un fruto poco estudiado, por lo que es necesario la difusión de las propiedades del cahuiche para su aprovechamiento a nivel industrial.



Figura 12 Usos del cahuiche A) mermelada, B) panques y C) mole

2.4 Compuestos bioactivos

Se conoce como metabolismo al conjunto de reacciones químicas que tienen lugar en el organismo, este se divide en metabolismo primario y secundario. Durante el metabolismo primario la mayor parte del carbono, del nitrógeno y de la energía son degradadas o transformadas a moléculas comunes, por ejemplo, aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos a los que se les ha denominado como metabolitos primarios y son necesarios para el funcionamiento de las células y de los organismos (García & Carril, 2009).

Las plantas además de contar con metabolismo primario como todos los seres vivos, poseen también un metabolismo secundario el cual les permite producir y acumular compuestos con importantes propiedades biológicas para la supervivencia de la planta, estas actividades van actuar de diversas maneras, por ejemplo, como repelentes o atrayentes de animales, otros proporcionan color a flores y frutos, lo que permite atraer insectos polinizadores o animales que utilizan los frutos como fuente de alimento, permitiendo así la dispersión de semillas; otros compuestos tienen funciones protectoras proporcionando a la planta sabores amargos, lo que ocasiona que no puedan ser consumidas o sean venenosas, a estas moléculas se les ha denominado como metabolitos secundarios o compuestos bioactivos (Almaraz, Reyes, Alvarado, Jimenez, & Corral, 2006).

Los metabolitos secundarios no son de gran importancia para el funcionamiento de las plantas; sin embargo, son sintetizados por estas en pequeñas cantidades; su producción depende del género, la familia e incluso la especie de la planta, así como de las condiciones de estrés a las cuales crecen, es decir, a altas o bajas temperaturas, a la exposición a depredadores, escases de agua, entre otras.

Los compuestos bioactivos se han aplicado en productos como colorantes, medicamentos, herbicidas, insecticidas, perfumes, entre otros, debido a sus propiedades biológicas. Estos han sido clasificados en tres grandes grupos: terpenos, compuestos azufrados y compuestos fenólicos como cumarinas, flavonoides, lignina, taninos, entre otros (García & Carril, 2009).

2.4.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos, fenoles o polifenoles vegetales, son sustancias que presentan un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo, además de un grupo fenólico. Los polifenoles son uno de los grupos más abundantes en las plantas, estos son sintetizados principalmente de la fenilalanina y algunos de la tirosina, obteniendo compuestos con diferentes estructuras y una diversidad de actividades biológicas (Tapas, Sakarkar, & Kakde, 2008). Los compuestos fenólicos se pueden clasificar en diferentes grupos entre los que destacan flavonoides, ácidos fenólicos, polifenoles, lignanos, estilbenos entre otros (García & Carril, 2009) (Figura 14).

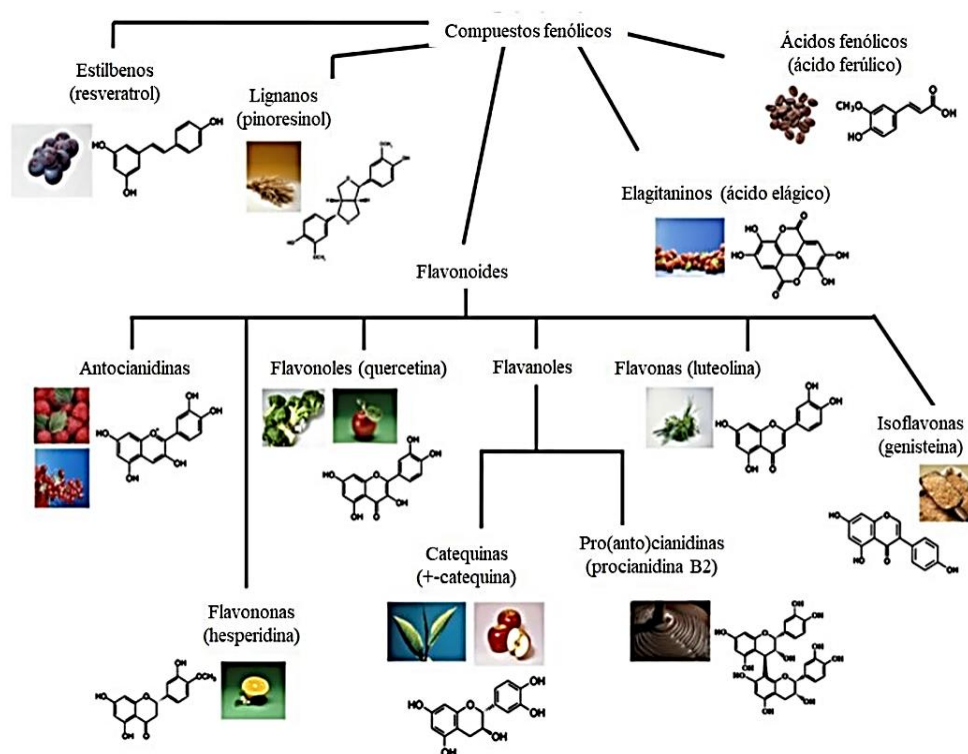


Figura 13 Clasificación de compuestos fenólicos tomada de Barba (2018)

2.4.1.1 Flavonoides

Los flavonoides (Figura 14) son un conjunto de compuestos presentes en una gran variedad de frutas y hortalizas. Estos poseen dos anillos aromáticos, unidos a tres átomos de

carbono que suelen formar un heterociclo oxigenado, entre los flavonoides más comunes en los alimentos se encuentra la quercetina y la kaempferol (Sánchez, *et al.*, 2019). Dentro de las principales clases de flavonoides se puede encontrar los flavonoles, isoflavonas, flavonas, chalconas, antocianinas, entre otros.

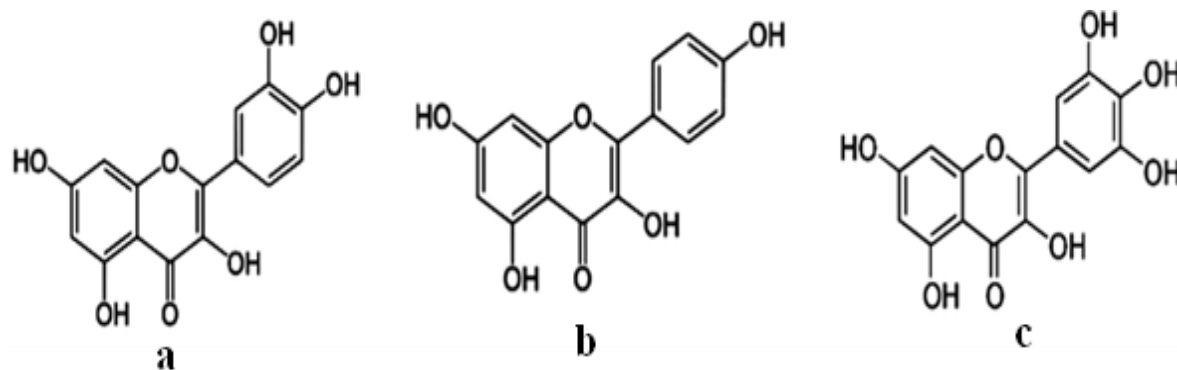


Figura 14 Estructura química de algunos flavonoides. a) Quercetina; b) Kaempferol; c) Miricetina. Tomada de Magne, *et al* (2015)

2.4.1.2 Antocianinas

Las antocianinas (Figura 15) son un subgrupo perteneciente a los flavonoides, estas se encuentran en diversas hortalizas y frutos, como uvas, zarzamoras, manzanas, fresas, frambuesas, moras, arándanos, entre otras. Las antocianinas son las responsables de brindar distintos colores a las plantas, los cuales pueden ser rojo, anaranjado, azul y morado. Generalmente se encuentran en la cáscara o piel, como en las peras y las manzanas, también pueden estar presentes en la parte carnosa del fruto como en las fresas, bayas y ciruelas (Badui, 2020).

Químicamente, las antocianinas son cationes de flavilio unidos a una fracción de azúcar, entre los azúcares que forman parte de la molécula se encuentran la glucosa, ramnosa, galactosa, xilosa y arabinosa. Dependiendo de los valores de pH, las antocianinas muestran colores que van desde el rojo (en condiciones muy ácidas) hasta el azul púrpura (en condiciones de pH intermedio) y amarillo verdoso (condiciones alcalinas) (Badui, 2020; García & Carril, 2009).

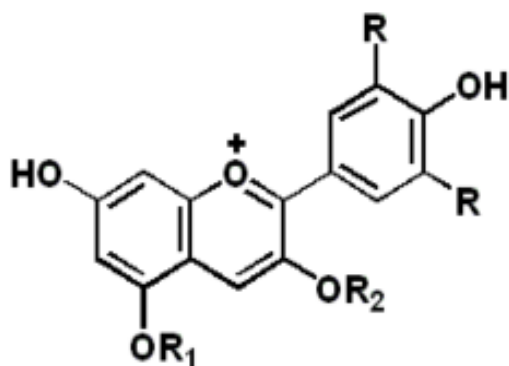


Figura 15 Estructura general de las antocianinas
 R_1 y R_2 pueden ser H o azúcares R pueden ser OH
 o H. Tomada de (Shimamoto & Rossi, 2016)

2.4.2 Azúcares reductores

Se le denomina azúcares reductores (Figura 16) a aquellos carbohidratos que poseen su grupo OH del carbono anomérico libre para interactuar con otras moléculas. Los principales azúcares reductores son los monosacáridos (fructuosa, galactosa, glucosa), sin embargo, también existen algunos disacáridos (lactosa, maltosa, celobiosa) que son considerados azúcares reductores (Badui, 2020).

Los monosacáridos son los carbohidratos más sencillos, y por lo cual no pueden ser hidrolizados a formas más simples, estos son solubles en agua e insolubles en etanol, algunos

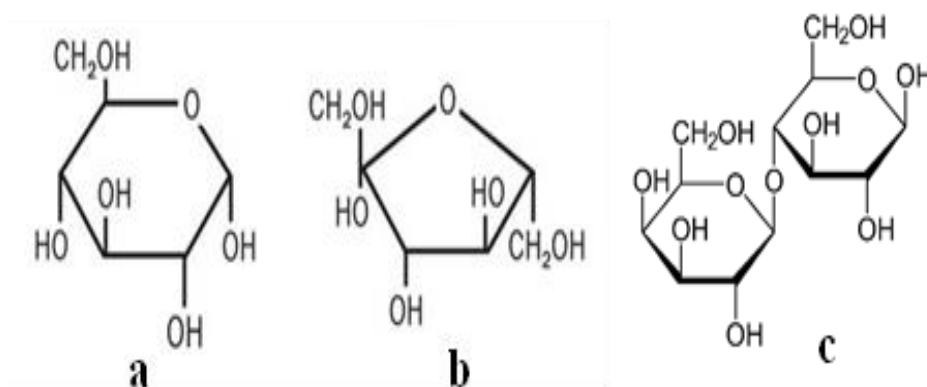


Figura 16 Estructura química de algunos azúcares reductores (Badui, 2020). a) Glucosa; b) Fructuosa; c) Lactosa.

de ellos suelen ser dulces mientras que otros amargos (Badui, 2020). Además, pueden presentar reactividad química ante álcalis, ácidos, altas temperaturas y oxidantes; lo que ocasiona isomerización, deshidratación, oxidación, enolización, reducción, entre otros (Badui, 2020).

2.4.3 Actividades biológicas de los compuestos bioactivos

Los metabolitos secundarios desempeñan funciones muy diversas y fundamentales para las plantas. Además de poseer diferentes actividades biológicas como antidiabética, antifúngica, antiviral, antioxidante, antimicrobiana, entre otras.

2.4.3.1 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de las plantas está estrechamente relacionada con la presencia de compuestos bioactivos como por ejemplo los compuestos fenólicos, esto se debe a la capacidad que tienen dichos compuestos de atrapar, o inhibir la producción de radicales libres evitando su formación o propagación retrasando así la oxidación lipídica (Figura 17) del alimento (Wong, 2009; Datta, 2003).

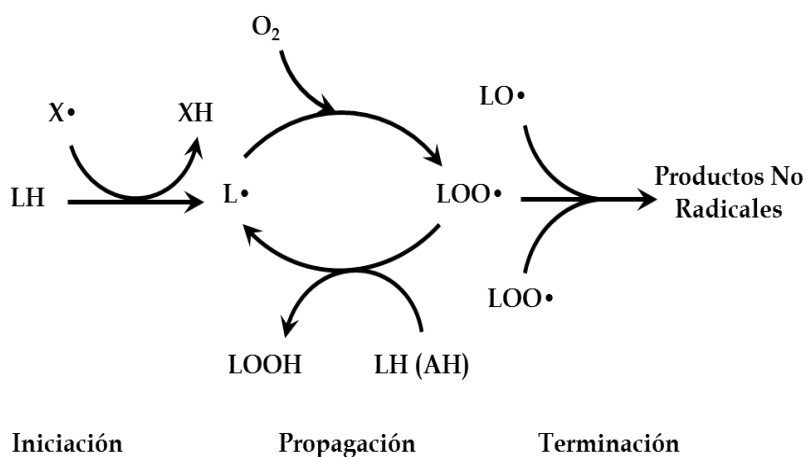


Figura 17 Etapas de la oxidación lipídica (Datta, 2003)

Los flavonoides actúan principalmente como tampones, y capturan radicales libres para generar el radical flavínico, el cual es menos reactivo, ya que los electrones

desapareados están más deslocalizados en este radical. De igual manera los flavonoles y flavanonas pueden quelar iones metálicos de transición como el hierro o el cobre, evitando la formación de las especies reactivas de oxígeno producidas (Quiñones, Miguel, & Aleixandre, 2012).

Se ha reportado que algunas variedades de papa (*Solanum tuberosum*) contienen luteína, zeaxantina, vitamina C, ácidos fenólicos y α y β -carotenos, los cuales impiden la peroxidación de los lípidos (Brown, 2005). Otro ejemplo es el tomate (*S. lycopersium*) el cual también presenta compuestos fenólicos, carotenos y licopeno lo que le otorga una capacidad antioxidante al fruto (Choi, Kim, & Lee, 2011).

2.4.3.1.1 Método ABTS●+ (ácido 2,2'azinobis-3-etilbenzotiazolina-6- sulfónico)

Con este método podemos determinar la capacidad antioxidante de los compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, este radical es soluble tanto en medios orgánicos como acuosos, sin embargo, requiere una preparación previa la cual puede ser química (persulfato potasio), enzimática (peroxidasa) o electroquímica.

Esta técnica se basa en la transferencia de electrones la cual se da entre el radical ABTS●+ y el antioxidante presente en la muestra. Es un método espectrofotométrico que se da cuando el radical ABTS●+ (forma inestable) de color verde azulado acepta un electrón del antioxidante cambiando su color a un azul pálido o incoloro, formando así ABTS (forma estable). Es importante mencionar que el radical ABTS tiene una absorbancia longitudes de onda de 414, 654, 754 y 815 nm (Munteanu & Apetrei, 2021).

2.4.3.1.2 Método DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)

El fundamento del método DPPH se basa en la captación de los radicales libres presentes en la muestra, este radical posee un electrón desapareado el cual brinda un color azul-violeta a la solución esta va a decolorarse a un color amarillo pálido debido a la reacción

generada entre el radical y el antioxidante presente en la misma. Es importante mencionar que el radical DPPH tiene la capacidad de disolverse en medios orgánicos para su preparación la cual es de forma directa a diferencia del radical ABTS, de igual manera cabe resaltar que el DPPH sólo identifica la capacidad antioxidante de los compuestos hidrofóbicos a una longitud de onda de 517 nm (Munteanu & Apetrei, 2021).

2.4.3.2 Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de los compuestos fenólicos se basa principalmente en su capacidad de inhibir el crecimiento, reproducción, respiración, y cualquier otra función vital de los microorganismos. Esto mediante la oxidación de enzimas específicas causando una desnaturalización enzimática, alterando las funciones vitales de dichos microorganismos (Martinez & Gonzalez, 2002).

Se ha reportado otro mecanismo de acción el cual consiste en que los compuestos fenólicos presentes en los frutos se unen a las cadenas de ADN interrumpiendo la reproducción o la síntesis de proteínas y elementos vitales para los microorganismos (Aliero & Afolayan, 2006).

De igual manera se ha planteado que algunos polifenoles tienen la capacidad de romper las membranas celulares de algunos microorganismos, esto se da debido a que alteran la hidrofobicidad y la carga superficial de las células, causando una fisura y posteriormente la muerte celular (Maddox & Laur, 2010; Tomas, 2003).

Los ácidos fenólicos poseen una actividad antimicrobiana más efectiva en especies gram positivas debido a que poseen propiedades prooxidantes (Cueva, Moreno, & Martin, 2010). Durante la actividad antibacteriana, influye el tipo y la posición de los sustituyentes del anillo bencénico y la longitud de la cadena lateral de los ácidos fenólicos (Gill & Holley, 2006). En la Tabla 6 se muestran algunos ejemplos de compuestos bioactivos los cuales poseen actividad antimicrobiana.

Tabla 6 Compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana recuperada de (Soriano, 2020)

COMPUESTO ACTIVO	MICROORGANISMO	CMI (mg/g)	REFERENCIA
HIDROXICINÁMICOS			
Cafeico	<i>Escherichia</i>	0.23	(Sanchez & Schieber, 2011)
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.52	
	<i>Bacillus subtilis</i>	0.30	
Ferúlico	<i>Listeria monocytogenes</i>	0.97	(Miyague, Macedo, & Holley, 2015)
	<i>Lactobacillus hammesii</i>	0.89	(Sanchez & Schieber, 2011)
Sináptico	<i>Listeria monocytogenes</i>	1.12	(Miyague, Macedo, & Holley, 2015)
HIDROXIBENZOICOS			
Benzoico	<i>Escherichia coli</i>	0.07	(Sanchez & Schieber, 2011)
	<i>Listeria monocytogenes</i>	2.56	(Deos & Douglas, 1994)
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.45	(Sanchez & Schieber, 2011)
Gálico	<i>Listeria monocytogenes</i>	1.70	
		<i>Lactobacillus hammesii</i>	4.56
OTROS ÁCIDOS			
Tánico	<i>Escherichia coli</i>	0.025	(Sanchez & Schieber, 2011)
	<i>Listeria monocytogenes</i>	0.025	(Miyague, Macedo, & Holley, 2015)
Fenilacético	<i>Escherichia coli</i>	0.50	(Cueva, Moreno, & Martin, 2010)

CMI = Concentración Mínima Inhibitoria

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad los métodos convencionales para la síntesis de nanopartículas metálicas utilizan agentes químicos que tienen un efecto negativo en el medio ambiente, debido a los residuos generados. La presente investigación tiene como finalidad la síntesis verde de nanopartículas metálicas de hierro, plata y cobre, utilizando un extracto hidroalcohólico de cahuiche (*Vaccinium leucanthum*).

El cahuiche es un fruto endémico del Estado de Hidalgo poco aprovechado, este posee características químicas importantes debido a la presencia de compuestos fenólicos como flavonoides y antocianinas, las cuales le brindan una capacidad antioxidante, además de azúcares reductores, los cuales pueden aprovecharse para la síntesis verde de nanopartículas metálicas. Estas partículas podrían adquirir propiedades antioxidantes y antimicrobianas, las cuales han sido demostradas en los extractos de cahuiche y en nanopartículas metálicas por separado.

Hasta el momento no se ha reportado la funcionabilidad biológica de nanopartículas metálicas sintetizadas utilizando extractos del género *Vaccinium*, únicamente se ha reportado su síntesis y caracterización. Por lo tanto, en este trabajo se generará conocimiento respecto a la funcionalidad de las nanopartículas metálicas sintetizadas utilizando extractos de cahuiche, con lo que se incentivaría el consumo de este fruto, dándole un valor agregado y diversificando las especies de frutos rojos comúnmente consumidas en México.

4. JUSTIFICACIÓN

La síntesis verde de nanopartículas mediante extractos de frutos es una alternativa amigable con el medio ambiente disminuyendo el uso de productos químicos, además de disminuir los costos elevados para llevar a cabo la síntesis por dichos métodos. El cahuiche posee grandes beneficios para la salud debido a su composición, al presentar compuestos fenólicos entre ellos los flavonoides y antocianinas brindándole propiedades antioxidantes al fruto. La formación y aplicación de nanopartículas permite mejorar el valor nutricional de los productos y mejorar su absorción en el cuerpo. Estudios han reportado que metales como el hierro poseen propiedades magnéticas las cuales se han aplicado en la biomedicina para el tratamiento de cáncer. Por otro lado, se ha demostrado que el cobre y la plata poseen propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Por lo anterior se pretende sintetizar nanopartículas de hierro, plata y cobre que posean o mantengan estas propiedades para su aplicación en la industria alimentaria.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Sintetizar y caracterizar nanopartículas de hierro, plata y cobre utilizando un extracto hidroalcohólico de cahuiche como agente reductor, para proponer su uso en alimentos funcionales.

5.2 Objetivos específicos

- Establecer las condiciones más adecuadas de síntesis verde, utilizando un extracto hidroalcohólico de cahuiche como agente reductor, para la obtención de nanopartículas de hierro, plata y cobre.
- Caracterizar las nanopartículas obtenidas mediante espectrometría infrarroja, microscopía electrónica de transmisión, dispersión de luz dinámica y potencial Z, para conocer sus propiedades fisicoquímicas.
- Caracterizar la funcionabilidad de las nanopartículas mediante determinaciones de capacidad antioxidante y antimicrobiana para proponer su aplicación en alimentos.

6. METODOLOGÍA

6.1 Obtención del extracto hidroalcohólico de cahuiche

Se utilizó fruto de cahuiche (*Vaccinium leucanthum*), este fue recolectado del municipio de Omitlán de Juárez, Hidalgo ubicado a una altitud de 2.417 msnm, latitud 20° 10' 11" norte, longitud 98° 38' 52" oeste. El fruto fue sometido a ultracongelación para su conservación.

Para la elaboración del extracto hidroalcohólico de cahuiche se siguió la metodología descrita por Sánchez-Franco *et al.* (2019), la cual consistió en triturar 5 g de muestra en un mortero de porcelana y se dejó en maceración con etanol al 60% (relación 1:25, p:v) durante 24 horas en oscuridad y a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo el extracto se filtró con papel Whatman No. 1 y se concentró en un rotavapor (Büchi R-3000, Flawil, Suiza) a una presión reducida de 111 mbar y una temperatura de 35 °C. Posteriormente se almacenó a 4 °C, para su posterior caracterización y uso.

6.2 Caracterización del extracto hidroalcohólico de cahuiche

Una vez obtenido el extracto hidroalcohólico de cahuiche, éste se caracterizó mediante la concentración de fenoles totales, flavonoides y antocianinas, de igual forma se midió su actividad antioxidante y actividad antimicrobiana, mediante las metodologías que se describen a continuación.

6.2.1 Determinación de fenoles totales

La determinación de fenoles totales (FT) se llevó a cabo por el método de Folin-Ciocalteu descrito por Mathur & Vijayvergia (2017) y Sánchez-Franco *et al.* (2019), el cual consistió en la elaboración de una curva estándar de ácido gálico para determinar de la concentración de compuestos fenólicos, para ello se preparó una solución de ácido gálico

(300 mg/L) y, a partir de esta solución se prepararon las siguientes concentraciones: 0, 50, 100, 150, 200, 250 y 300 mg/L.

Posteriormente en un matraz volumétrico de 10 mL se mezclaron 5 mL de la muestra con 1.5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu previamente diluido 1:10 (v/v), se agitó y dejó reposar por 5 min. Transcurrido el tiempo se agregaron 1.5 mL de carbonato de sodio al 7% y se aforó a 10 mL con agua destilada.

A continuación, se agitó y se dejó reposar por 90 min a temperatura ambiente y en oscuridad. Por último, se realizó la lectura de cada solución a 750 nm usando un espectrofotómetro (Espectrofotómetro JENWAY 6715 UV/Vis). Los resultados obtenidos se reportaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por cada 100 g de peso fresco (mgEAG/100g de peso fresco).

6.2.2 Determinación de flavonoides

Para la determinación de flavonoides se empleó el método de tricloruro de aluminio descrito por Mathur & Vijayvergia (2017) y Sánchez-Franco et al. (2019). Para ello se realizó una curva de calibración usando quercetina como estándar. Para ello se comenzó por preparar una solución de quercetina (100 mg/L), y a partir de esta solución se realizaron diluciones de 0–50 mg/L.

Después en un matraz volumétrico de 10 mL se mezclaron 1 mL de muestra con 4 mL de agua destilada para obtener un volumen de 5 mL, posteriormente se le agregaron 0.3 mL de nitrato de sodio al 5%, y se dejó reposar durante 5 min, trascurrido el tiempo se agregaron 0.3 mL de tricloruro de aluminio al 10%, después de 6 min se adicionaron 2 mL de hidróxido de sodio 1 M y se aforó a 10 mL con agua destilada.

Finalmente, cada una de las soluciones se leyeron a 5100 nm en un espectrofotómetro (Espectrofotómetro JENWAY 6715 UV/Vis). Los resultados obtenidos se reportaron como miligramos equivalentes de quercetina por cada 100 g de peso fresco (mgEQ/100 g de peso fresco).

6.2.3 Determinación de antocianinas

La cantidad de antocianinas se estimó por el método diferencial de pH descrito por Maltabar (2020), el cual consistió en preparar dos soluciones buffer, una con cloruro de potasio pH 1.0 (0.025 M) y otra con acetato de sodio pH 4.5 (0.4 M).

Posteriormente se agregaron 0.5 mL de muestra en tubos de 10 mL con 4.5 mL del buffer con pH 1.0 y 4.5 mL del buffer con pH 4.5 en tubos separados, con la muestra previamente adicionada. Una vez agregados los reactivos se agitaron y se dejaron en reposo por 15 min a temperatura ambiente y en oscuridad. Para realizar la lectura se tomaron 3 mL de cada solución y se midió la absorbancia a 510 nm y 700 nm en un espectrofotómetro (Espectrofotómetro JENWAY 6715 UV/Vis). Para la determinación de antocianinas se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Antocianinas totales} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{A * MW * DF * 10,000}{\varepsilon * Tc}$$

Donde:

A = Absorbancia de la resta entre los valores (510 – 710 nm) correspondientes a cloruro de potasio menos la absorbancia de la resta de los valores (510 -710 nm) de acetato de sodio

MW = Peso molecular de cianidina-3-glucósido (449.2 g/mol)

DF = Factor de dilución (1:100)

ε = Coeficiente de absortividad molar (26,900 L/cm/mg)

Tc = Tamaño de la celda de la microplaca (0.52 cm)

Los resultados se reportaron como miligramos de cianidina-3-glucósido por 100 g de peso fresco (mg cianidin-3-glucósido/100 g PF).

6.2.4 Actividad antioxidante del extracto de hidroalcohólico de cahuiche

Para la determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de cahuiche se llevaron a cabo los métodos de ABTS⁺ y DPPH los cuales se describen a continuación.

6.2.4.1 Determinación de actividad antioxidante por ABTS +

La determinación de actividad antioxidante por el método de ABTS se realizó de acuerdo a Re *et al.* (1999) con algunas modificaciones. Para la determinación se preparó una solución de ABTS^{•+} 7 mM con persulfato de potasio 2.45 mM, se dejó reposar durante 24 h en oscuridad y a temperatura ambiente, transcurrido el tiempo se diluyó con etanol absoluto hasta obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.02 . Se realizó una curva estándar de Trolox, para ello se preparó una solución de etanol absoluto con Trolox 10 mM. A partir de esta solución se realizaron diluciones con etanol absoluto para obtener diferentes concentraciones: 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 y 3 mM.

La preparación de los estándares y la muestra de estudio se realizó vertiendo 0.07 mL de la muestra y 2.93 mL de la solución ABTS^{•+} con una absorbancia de 0.7 ± 0.02 , se agitó en un vórtex y se dejó en reposo durante 30 min, luego se midió la absorbancia de la solución a una longitud de onda de 734 nm (Espectrofotómetro JENWAY 6715 UV/Vis). Se utilizó etanol absoluto como blanco. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por 100 g de peso fresco ($\mu\text{mol ET} / 100 \text{ g PF}$).

6.2.4.2 Determinación de la actividad antirradicalaria por el método DPPH

Para la determinación de actividad antirradicalaria por el método DPPH se siguió la metodología descrita por Brand-Williams (1995) con algunas modificaciones. Primeramente, se preparó el radical DPPH[•] 0.2 mM con metanol al 80%, se dejó reposar durante 24 h en

oscuridad y a temperatura ambiente, transcurrido el tiempo, se diluyó con metanol al 80% hasta obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.02 .

Posteriormente se realizó una curva estándar de Trolox, para ello se preparó una solución de Trolox 8 mM con metanol al 80%, a partir de esta solución se realizaron diluciones con metanol al 80% para obtener diferentes concentraciones de 0.05, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 mM.

Las lecturas de los estándares y de la muestra de estudio se realizaron vertiendo 0.3 mL de la muestra y 2.7 mL de la solución DPPH• con una absorbancia de 0.7 ± 0.02 , los tubos se agitaron en un vórtex y se dejó en reposo durante 60 min, luego se realizó la lectura a 517 nm (Espectrofotómetro JENWAY 6715 UV/Vis.). Para este método se utilizó metanol al 80% como blanco. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por 100 g de peso fresco ($\mu\text{mol ET} / 100 \text{ g PF}$).

6.2.5 Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de cahuiche

La determinación de la actividad antimicrobiana se llevó a cabo mediante la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB).

6.2.5.1 Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida

La determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) se utilizó el método de micro-dilución en placa descrito por González *et al.* (2020). Se utilizaron 3 microorganismos obtenidos de American Type Culture Collection (ATCC), un Gram positivo (*Staphylococcus aureus* ATCC 29740) y dos Gram negativos (*Salmonella enterica* Typhimurium y *Escherichia coli* ATCC 8783), de igual manera se utilizaron concentraciones de 200, 100, 50, 25, y 12.5 mg/mL del extracto hidroalcohólico de cahuiche.

El procedimiento se realizó por triplicado en microplacas de 96 pocillos, donde se colocaron 50 μL de caldo nutritivo cerebro corazón, 140 μL de cada concentración del extracto previamente preparado con la solución de fosfatos (PBS) y 10 μL de la suspensión bacteriana previamente ajustada a 0.5 McFarland.

Una vez que se realizó la inoculación, la microplaca se incubó a 35.5 °C durante 24 h, para el control positivo se usó Amikacina a 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y el control negativo fue el extracto hidroalcohólico de cahuiche solo, además de una solución de caldo nutritivo con las bacterias.

Para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) se utilizó un método de sembrado en placa Petri, para ello se tomaron 10 μL de cada pozo y se colocaron en una placa Petri, posteriormente se incubó a 35.5 °C por 72 h, con la ayuda de un microscopio óptico se observó el crecimiento bacteriano cada 24 h por tres días.

6.3 Síntesis verde de nanopartículas

Para determinar las condiciones óptimas de síntesis de las nanopartículas se llevó a cabo un diseño experimental central compuesto completamente aleatorio, este permitió determinar el número de tratamientos y los parámetros a analizar de manera independiente en cada uno de los metales.

La biosíntesis de las nanopartículas de hierro, cobre y plata se llevó a cabo usando el extracto hidroalcohólico de cahuiche, por el proceso que se describe a continuación.

6.3.1 Nanopartículas de hierro

El cloruro de hierro (FeCl_3) se compró a Reactivos Química Meyer. Para llevar a cabo la síntesis verde de las nanopartículas de hierro, se mezclaron 9.5, 10.5 y 11.5 mL de cloruro

de hierro (1 M) con 2.5, 1.5 y 0.5 mL de extracto hidroalcohólico de cahuiche respectivamente, cada una de las mezclas se agitó y calentó a 30 °C por 10 min en baño María, posteriormente con un potenciómetro (Hanna HI 2211 pH/ORP Meter) se ajustó el pH de cada una de las muestras a 4, 2.75 y 1.5 con hidróxido de sodio (NaOH) al 10%, después las soluciones se centrifugaron a 12 000 rpm durante 30 min en una centrifuga Hermle Z 36 HK, por último, los pellets se secaron a 38 °C por 24 h en un horno de secado (ARSA modelo AR2900). Cabe señalar que la biosíntesis se llevó a cabo por triplicado.

6.3.2 Nanopartículas de cobre

El nitrato de cobre ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$) se compró a Reactivos Química Meyer. Para la síntesis verde de las nanopartículas de cobre se mezclaron 10, 6 y 2 mL de nitrato de cobre (1 M) con 2, 6 y 10 mL respectivamente del extracto hidroalcohólico de cahuiche, cada una de las soluciones se agitó y calentó a 30 °C por 10 min en baño maría, posteriormente con un potenciómetro (Hanna HI 2211 pH/ORP Meter) se ajustó el pH de cada una de las muestras a 7, 5.5 y 4 con hidróxido de sodio (NaOH) al 10%, y después se centrifugaron a 12 000 rpm durante 30 min en una centrifuga Hermle Z 36 HK, por último se secaron en un horno de secado (ARSA modelo AR2900) a 38 °C por 24 h. Cada tratamiento se realizó por triplicado.

6.3.3 Nanopartículas de plata

El nitrato de plata (AgNO_3). Se comenzó por mezclar 10, 6 y 2 mL de una solución de nitrato de plata (1 M) con 2, 6 y 10 mL del extracto hidroalcohólico de cahuiche, cada una de las mezclas se agitó y calentó a 30 °C por 10 min en un baño María, transcurrido el tiempo se ajustó el valor de pH con hidróxido de sodio (NaOH) al 10%, esto con la ayuda de un potenciómetro (Hanna HI 2211 pH/ORP Meter) a cada una de las muestras obteniendo valores de 4, 5.5 y 7, después se centrifugaron a 12 000 rpm durante 30min en una centrifuga Hermle Z 36 HK y por último, se secaron a 38 °C por 24 h en un horno de secado (ARSA modelo AR2900). Este proceso se realizó por triplicado.

6.4 Caracterización de nanopartículas de hierro, cobre y plata

Una vez obtenidas las nanopartículas de hierro, cobre y plata se realizó la caracterización de cada una mediante los siguientes métodos

6.4.1 Espectroscopia UV– Visible

Para determinar la formación de nanopartículas de hierro, cobre y plata se realizó una suspensión de cada una de ellas. Posteriormente se tomó una alícuota de 2 ml de cada suspensión y se realizó un barrido de longitud de onda con un espectrofotómetro (Espectrofotómetro JENWAY 6715 UV/Vis) en un rango de 250 hasta 900 nm para abarcar el espectro ultravioleta y visible, con una resolución de un nanómetro.

6.4.2 Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

El análisis de FTIR se realizó con un espectrofotómetro infrarrojo Frontier (Perkin Elmer, Waltham, MA, E. U.) con accesorio ATR. Las muestras se pusieron en contacto con el cristal de diamante aplicando una presión de carga y se escanearon en el intervalo de 400-4000 cm^{-1} con una resolución de 1 cm^{-1} . Para cada muestra, el espectro representaba un promedio de cuatro escaneos con una resolución de 4 cm^{-1} . Además, los espectros fueron corregidos en la línea base. Para obtener contribuciones espectrales individuales, todos los espectros se deconvolucionaron usando técnicas descritas por Cameron y Moffatt (1984). En este caso, la forma de línea superpuesta era Lorentzian con un ancho medio de 15 cm^{-1} .

6.4.3 Determinación de tamaño por dispersión de luz dinámica (DLS)

El análisis de tamaño se llevó a cabo por el método de dispersión de luz dinámica (DLS), el cual consistió en preparar una suspensión de 300 ppm de cada una de las nanopartículas sintetizadas, después se tomaron 3 ml de cada suspensión y se colocaron en una celda de cuarzo para llevar a cabo su lectura en un Zetasizer (Malvern, Zetasizer nano-sz, Reino Unido).

6.4.4 Potencial Zeta por electroforesis

La medición de potencial Z se realizó por el método de electroforesis en un equipo Malvern Zetasizer nano-sz (Malvern, Zetasizer nano-sz, Reino Unido). Las medidas se realizarán a diferentes valores de pH en el intervalo de 2-10. El control de pH se realizó mediante un autotitulado Malvern modelo MPT-3 con soluciones de HCl y NaOH 0.1 M.

6.4.5 Capacidad antioxidante de las nanopartículas

La determinación de la capacidad antioxidante de las nanopartículas metálicas sintetizadas se llevó a cabo mediante el método ABTS y DPPH los cuales se describen a continuación.

6.4.5.1 Determinación de actividad antioxidante por ABTS +

La determinación de actividad antioxidante por el método de ABTS se realizó de acuerdo a Re *et al.* (1999) con algunas modificaciones, para la determinación se preparó una solución de ABTS^{•+} al 7 mM con persulfato de potasio al 2.45 mM, se dejó durante 24 h en oscuridad y a temperatura ambiente, transcurrido el tiempo se diluyó con etanol absoluto hasta obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.02 .

Para determinar de la actividad antioxidante se evaluaron diferentes concentraciones de nanopartículas de 233,175, 117 y 58 $\mu\text{g/mL}$. La preparación de las muestras se realizó vertiendo 0.07 mL de la suspensión de nanopartículas y 2.93 mL de la solución ABTS^{•+} con una absorbancia de 0.7 ± 0.02 , se agitó en un vórtex y se dejó en reposo durante 30 min, luego se midió la absorbancia de la solución a una longitud de onda de 734 nm (Espectrofotómetro JENWAY 6715 UV/Vis.). Se utilizó etanol absoluto como blanco.

Para la determinación del porcentaje de inhibición antioxidante se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición antioxidante} = 1 - \left(\frac{Amuestra - Ablanco}{AR} \right) * 100$$

Donde:

Amuestra = Absorbancia de la muestra con el radical

Ablanco = Absorbancia de la muestra con etanol

AR = Absorbancia de referencia (radical con el solvente de la muestra)

Los resultados se expresaron como % de inhibición antioxidante.

6.4.5.2 Determinación de la actividad antirradicalaria por el método DPPH

Para la determinación de actividad antirradicalaria se realizó el método DPPH descrito por Brad-Williams (1995) con algunas modificaciones. Se preparó el radical DPPH• al 0.2 mM con metanol al 80%, se dejó reposar durante 24 h en oscuridad y a temperatura ambiente, transcurrido el tiempo, se diluyó con metanol al 80% hasta obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.02 . Para determinar de la actividad antioxidante se evaluaron diferentes concentraciones de nanopartículas de 233,175, 117 y 58 $\mu\text{g/mL}$

Para la preparación de las muestras se mezclaron 0.07 mL de la muestra y 2.93 mL de la solución DPPH• con una absorbancia de 0.7 ± 0.02 , los tubos se agitaron en un vórtex y se dejó en reposo durante 60 min, transcurrido el tiempo se realizó la lectura de cada muestra a 517 nm (Espectrofotómetro JENWAY 6715 UV/Vis.). Se utilizó metanol al 80% como blanco. Para el cálculo del porcentaje de inhibición antioxidante se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición antioxidante} = 1 - \left(\frac{Amuestra - Ablanco}{AR} \right) * 100$$

Donde:

Amuestra = Absorbancia de la muestra con el radical

Ablanco = Absorbancia de la muestra con etanol

AR = Absorbancia de referencia (radical con el solvente de la muestra)

Los resultados se expresaron como % de inhibición antioxidante.

6.4.6 Actividad antimicrobiana

Para la actividad antimicrobiana de las nanopartículas se determinó la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida. Cabe señalar que cada prueba se realizó por triplicado para cada uno de los tratamientos, así como para uno de los microorganismos utilizados.

6.4.6.1 Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida

Para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) se utilizó el método de micro-dilución en placa descrito por González *et al.* (2020). Se utilizaron 3 microorganismos obtenidos de American Type Culture Collection (ATCC), un Gram positivo (*Staphylococcus aureus* ATCC 29740) y dos Gram negativo (*Salmonella entérica* Typhi y *Escherichia coli* ATCC 8783), de igual manera se utilizaron concentraciones de 8 mg/mL a 0.5 µg/mL de las suspensiones de nanopartículas metálicas.

El procedimiento se realizó por triplicado en microplacas de 96 pocillos, donde se colocaron 50 µL de caldo nutritivo cerebro corazón, 140 µL de cada concentración de las nanopartículas en suspensión, previamente preparado con una solución de fosfatos (PBS) y 10 µL de la suspensión bacteriana previamente ajustada a 0.5 McFarland. Una vez que se

realizó la inoculación, la microplaca se incubó a 35.5 °C durante 24 h, para el control positivo se usó Amikacina a 10 µg/mL y el control negativo fue el extracto hidroalcohólico de cahuiche solo y caldo nutritivo con las bacterias.

Para la determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) se utilizó un método de sembrado en placa Petri, para ello se tomaron 10 µL de cada pozo y se colocaron en la placa Petri, posteriormente se incubó a 35.5 °C por 72 h, observando visualmente y con el microscopio óptico el crecimiento bacteriano cada 24 h.

6.5 Diseño experimental

Se llevo a cabo un diseño central compuesto, sin bloques completamente al azar con 2 factores y tres niveles teniendo como variable de respuesta el tamaño de las nanopartículas. En la Tabla 7 se muestran los factores y niveles a utilizar.

Tabla 7 Factores y niveles para determinar la síntesis de nanopartículas

METAL SINTETIZADO	NIVEL	FACTORES	
		Volumen EHAC (mL)	pH
HIERRO	-1	1.5	1.0
	0	2.0	1.5
	+1	2.5	2.0
COBRE	-1	2.0	4.0
	0	6.0	5.5
	+1	10.0	7.0
PLATA	-1	1.0	4.0
	0	3.5	5.5
	+1	6.0	7.0

Cabe señalar que se usó como factores el pH y el volumen del extracto hidroalcohólico de cahuiche los cuales se muestran en la Tabla 7, posteriormente la solución se llevó a un volumen final de 12 mL con las soluciones de las sales metálicas.

6.6 Análisis estadístico

El análisis de datos se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA) con significancia de $P \leq 0.05$ con prueba de comparación de Tukey. Los datos se analizaron en el programa SPSS Statistics 25.0 (IBM, 2017, EUA) y las gráficas se realizaron con el programa SigmaPlot 14.0 (SYSTAT Software, 2017, Alemania).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Caracterización del extracto hidroalcohólico de cahuiche

7.1.1 Compuestos bioactivos

La concentración de compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium leucanthum* presentó un valor de 632.1 mg EAG/100 g de peso fresco, Narváez & Carrión, (2022) cuantificaron la cantidad de compuestos fenólicos en *Vaccinium corymbosum* y determinaron que la concentración de compuestos fenólicos se encontraba en un intervalo de 275 – 645 mg EAG/100 g de peso fresco; por lo tanto, el valor obtenido coincide con el intervalo reportado por dichos autores.

Para la concentración de antocianinas se encontró un valor de 309.6 mg de cianidina-3-glucósido/100 g de peso fresco, Sánchez-Franco, *et al.*, (2019) reportaron un valor de 267.1 mg de cianidina-3-glucósido/100 g de peso fresco para el extracto de cahuiche, mientras que Narváez & Carrión, (2022) reportaron un contenido de antocianinas totales de 28.55 – 43.75 mg de cianidina-3-glucósido/100 g de peso fresco para el arándano azul; por lo cual, podemos observar que el contenido de antocianinas presentes en el fruto de cahuiche es mayor en comparación con lo reportado por ambos autores.

Es importante mencionar que la concentración de los compuestos fenólicos puede variar debido diferentes factores tales como la acidez del suelo, pH, manejo postcosecha y almacenamiento, ubicación, tiempo de cosecha, así como los nutrientes de la planta y el clima (Anticona, Frigola, & Esteve, 2016).

7.1.2 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante por el método ABTS para el extracto hidroalcohólico de cahuiche presentó un valor de 1093.6 $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$ de peso fresco el cual coincide con lo

reportado por Sánchez-Franco, *et al.*, (2019) quienes determinaron un valor de 1035.5 ± 48.8 $\mu\text{mol ET}/100$ g de peso fresco, esto permite corroborar la actividad antioxidante del extracto para el radical ABTS.

Con respecto al método DPPH se encontró un valor de $1200.4 \mu\text{mol ET}/100\text{g}$ de peso fresco, Sánchez-Franco, *et al.*, (2019) reportaron un valor de $1293.6 \mu\text{mol ET}/100\text{g}$ de peso fresco; el cual coincide con el valor obtenido, lo que indica que el fruto de cahuiche posee actividad antioxidante.

Cabe mencionar que la actividad antioxidante está determinada por la concentración de compuestos bioactivos del fruto, tales como los compuestos fenólicos, antocianinas, flavonoides, los cuales le proporcionan actividades antioxidantes de gran interés para la industria (Antezana, *et al.*, 2018).

7.1.3 Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de cahuiche se determinó por la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB), lo que indicó que el extracto hidroalcohólico de cahuiche posee la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano a ciertas concentraciones, mostrando de igual manera diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) las cuales pueden observarse en la Tabla 8.

Tabla 8 Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de cahuiche (*Vaccinium leucanthum*)

Bacteria	Extracto hidroalcohólico de cahuiche (mg/mL)	
	CMI	CMB
<i>Staphylococcus aureus</i>	50 ^b	100 ^b
<i>Salmonella enterica</i> Typhimurium	25 ^a	50 ^a
<i>Escherichia coli</i>	50 ^b	100 ^b

CMI (Concentración mínima inhibitoria), CMB (Concentración mínima bactericida). Los resultados se expresan como promedio (n=3). Letras minúsculas distintas en cada columna representan diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$)

Con respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcohólico de cahuiche se encontraron valores de 25 mg/mL para *Salmonella enterica* Typhimurium y de 50 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* mostrando diferencias significativas entre la primera bacteria y las dos últimas. González (2022) reportó un valor de 3.12 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y de 12.5, mg/mL para *Salmonella enterica* Typhimurium.

En cuanto a la concentración mínima bactericida se encontraron valores de 50 mg/mL para *Salmonella enterica* Typhimurium y de 100 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Misma autora reporta valores de actividad bactericida de 6.25 y 12.5 mg/mL respectivamente, siendo en ambos casos, es decir, para la actividad inhibitoria y bactericida concentraciones inferiores a las reportadas en esta investigación, esto se debe a la composición fisicoquímica del fruto de cahuiche la cual puede variar por factores como la temperatura, el tiempo de cosecha, el tratamiento postcosecha, acides del suelo y cuidados de la planta.

Rivas-Morales, Oranday-Cárdenas y Verde-Star (2016), mencionan que la actividad antimicrobiana de los extractos de frutas puede variar por la presencia y concentración de los compuestos bioactivos entre ellos los compuestos fenólicos como antocianinas, flavonoides, ácido ascórbico entre otros.

7.2 Caracterización de nanopartículas metálicas

Una vez sintetizadas las nanopartículas metálicas se midió el tamaño de las mismas, el diseño experimental mostró que el tamaño de las nanopartículas sintetizadas se vio influenciado principalmente por el pH de la solución para los tres metales sintetizados, posteriormente se seleccionaron los dos tratamientos con menor tamaño de partícula de cada metal sintetizado.

En la Tabla 9 se muestran los seis tratamientos finales a caracterizar estos fueron recodificados, en donde las primeras tres letras corresponden a la palabra nanopartículas (NPs), seguidas del metal sintetizado hierro (Fe), cobre (Cu) y plata (Ag), y en superíndice

separados por una coma las condiciones de síntesis, en primer lugar, el volumen del extracto seguido del pH final de la solución.

Tabla 9 Nanopartículas metálicas seleccionadas y sus condiciones de síntesis

METAL	TRATAMIENTO	VOLUMEN (mL)		pH DE LA SOLUCIÓN	CÓDIGO
		EHAC	Sal		
Hierro	5	0.5	11.5	1.5	NPsFe _{0.5, 1.5}
	12	1.5	10.5	0.98	NPsFe _{1.5, 0.98}
Cobre	13	2	10	7	NPsCu _{2, 7}
	8	6	6	3.38	NPsCu _{6, 3.38}
Plata	7	6	6	3.38	NPsAg _{6, 3.38}
	10	0.34	11.66	5.5	NPsAg _{0.34, 5.5}

EHAC = Extracto Hidroalcohólico de Cahuiche

7.2.1 Determinación de tamaño por dispersión de luz láser (DLS)

El tamaño obtenido de las nanopartículas de hierro sintetizadas por vía verde se encontró entre 21.4 – 220.2 nm, con un diámetro promedio de 116.6 nm para el tratamiento NPsFe_{1.5, 0.98} y para el tratamiento NPsFe_{0.5, 1.5} se encontró en un intervalo de 36.7 – 204.9 nm, y un promedio de 173.8 nm, siendo el primer tratamiento el de menor tamaño. Ismat, *et al.*, (2019) reportaron tamaños entre 25 – 55 nm en nanopartículas de hierro sintetizadas con semillas de *Punica granatum*, estos valores coinciden con los reportados en esta investigación; sin embargo, aún son mayores.

Por otro lado, las nanopartículas de cobre mostraron tamaños de 122.4 a 458.7 nm, y un diámetro promedio de 225.2 nm para NPsCu_{2, 7}, para el tratamiento NPsCu_{6, 3.38} se obtuvo

un intervalo de 90 a 510 nm con un diámetro promedio de 284.1 nm. Kumar *et al.*, (2015) reportaron valores de 43.3 – 53.5 nm para nanopartículas de cobre sintetizadas con *Rubus glaucus* Benth los cuales son inferiores a los obtenidos en esta investigación.

En cuanto al diámetro obtenido de las nanopartículas de plata sintetizadas por vía verde este se encontró entre 29.8 – 342.6 nm, y un diámetro promedio de 194.7 nm para el tratamiento NPsAg_{0.34}, 5.5. Para el tratamiento NPsAg₆, 3.38 se encontraron tamaños más grandes los cuales fueron de 105 – 640 nm, con un diámetro promedio de 296.3 nm. Otro estudio reportó tamaños de 35.1 – 40.5 para nanopartículas de plata sintetizadas con *Allium sativum* (Pilaquina *et al.*, 2019).

La diferencia de tamaños entre nanopartículas puede deberse a las condiciones de síntesis (volumen de la sal, volumen de extracto, tiempo de síntesis, pH), el tipo de fruta utilizada, el método de extracción de compuestos así como el metal sintetizado, a la formación de agregados y a la técnica utilizada para determinar el tamaño.

7.2.2 Observación visual y espectroscopía UV-Vis

La formación de las nanopartículas metálicas sintetizadas por síntesis verde se pudo observar debido al cambio de color de la solución (Figura 18). Kumar *et al.*, (2015) mencionan que este comportamiento es común en la biosíntesis de nanopartículas dada por extractos de frutas. Zia *et al.*, (2016) comentan que el cambio de apariencia puede deberse a la excitación de las moléculas y a la concentración de los iones metálicos que forman a las nanopartículas lo que provocara un cambio de color en la solución.

La espectrofotometría UV-Visible mostró diferentes plasmones de resonancia superficial (SPR) para los tres metales, la Figura 19A muestra los SPR de las nanopartículas de hierro las cuales mostraron dos picos de absorbancia a 180 y 200 nm para ambos tratamientos, Ismat *et al.*, 2019 reportaron un intervalo de longitud de onda a 280 – 410 nm para nanopartículas de hierro sintetizadas con semillas de *Punica granatum*.

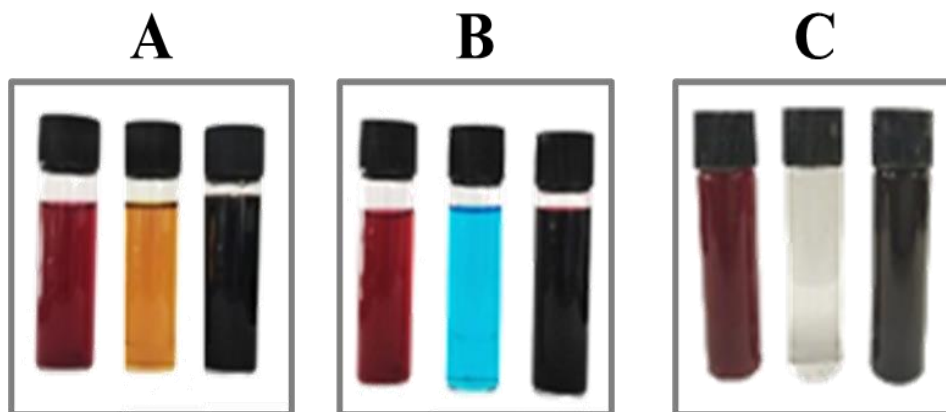


Figura 18 Ejemplo del cambio de coloración en la síntesis de nanopartículas A) NPs de hierro, B) NPs de cobre y C) NPs de plata.

Por otro lado, en la Figura 19B se pueden observar picos de 360 – 363 nm para las nanopartículas de cobre, ambos picos son similares, Kumar *et al.*, 2014 encontraron picos de absorbancia de 200 – 320 nm para nanopartículas de cobre sintetizadas con *Rubus glaucus*. De igual manera en la Figura 19C se muestra los SRP de las nanopartículas de plata donde se pueden observar picos a 400 y 415 nm, Zia *et al.*, 2016 encontraron picos a 400 – 420 nm en nanopartículas biosintetizadas con jugo de *Vitis vinifera* y *Solanum lycopersicum*.

Las nanopartículas de hierro y cobre sintetizadas con el extracto hidroalcohólico de cahuiche mostraron picos de absorbancia menores a los reportados por Ismat *et al.*, (2019) y Kumar *et al.*, (2014), mientras que las nanopartículas de plata se encuentran dentro de lo reportado por Zia *et al.*, (2016).

Ismat *et al.*, (2019), Zia *et al.*, (2016) y Kumar *et al.*, (2014) mencionan que los plasmones de resonancia superficial dependen principalmente de las propiedades de la partícula como son el tamaño, forma y concentración de la muestra, así como del metal sintetizado y el agente de recubrimiento, por lo tanto, al usar otro fruto como material de reducción la absorbancia de las nanopartículas varió en comparación a lo ya reportado, sin embargo, la presencia de dichos picos se puede atribuir a la presencia de nanopartículas de cada metal.

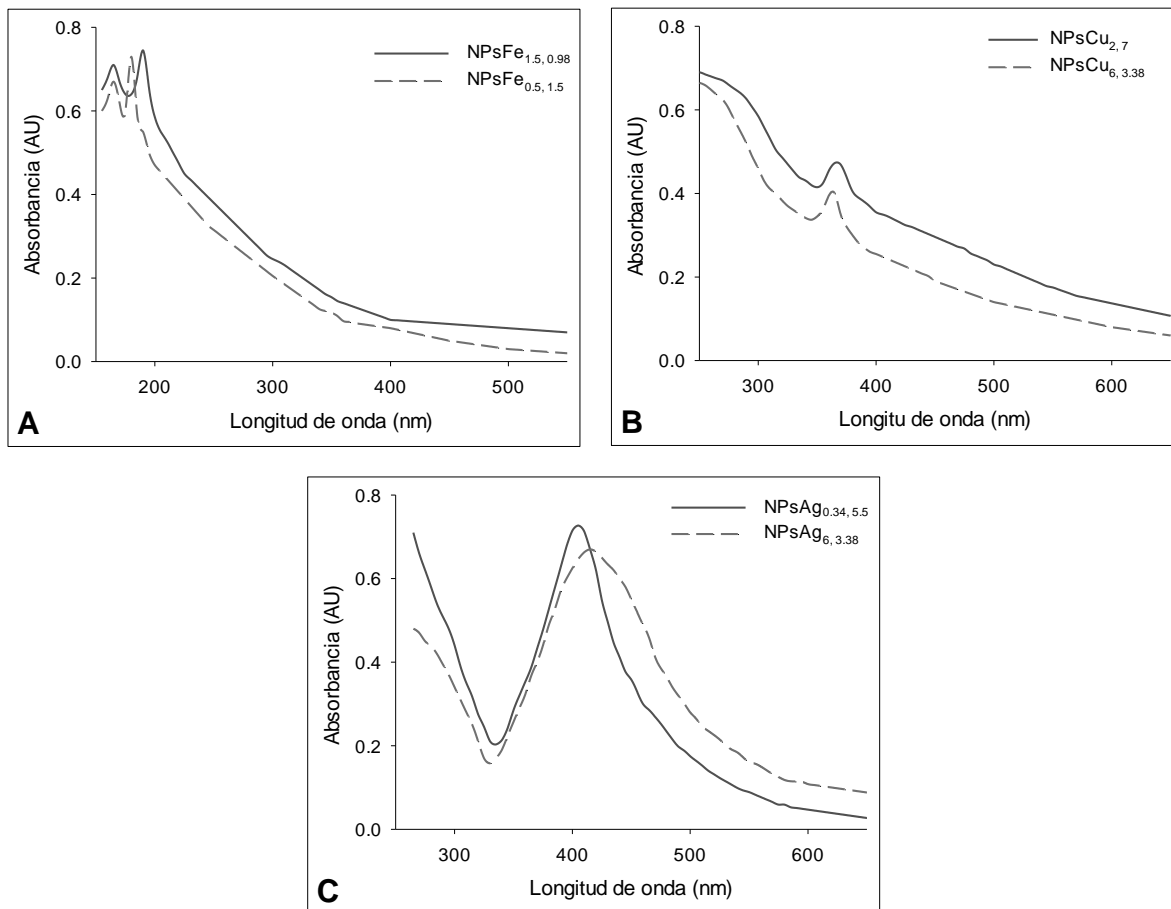


Figura 19 Espectros UV-Visible. A) NPs de Hierro, B) NPs de cobre y C) NPs de plata

7.2.3 Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

La Figura 20 muestra los espectros infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR) de las nanopartículas de hierro, cobre y plata producidas usando el extracto hidroalcohólico de cahuiche. Se pueden observar bandas para cada uno de los tratamientos exceptuando al tratamiento $\text{NPsAg}_{0.34, 5.5}$ dentro de un intervalo de 3600 a 3100 cm^{-1} (correspondiente a la presencia de compuestos fenólicos debido a un alargamiento en el grupo O – H) y entre 1600 – 1500 cm^{-1} (correspondiente a enlaces C – C por la presencia de anillos aromáticos).

De igual manera se encontraron picos entre 1400 – 1200 cm^{-1} (correspondientes a estiramientos de dobles enlaces de C = C) para el tratamiento $\text{NPsFe}_{1.5, 0.98}$ y para ambos

tratamientos de las nanopartículas de cobre y plata sintetizadas. Además, se encontraron picos en los intervalos de $1200 - 1050 \text{ cm}^{-1}$ (corresponden a alargamiento de enlaces C – O por la presencia de alcoholes) y de $875 - 675 \text{ cm}^{-1}$ (corresponden a la flexión de enlaces C – H por presencia de anillos aromáticos) en cada una de las nanopartículas sintetizadas por vía verde (Boyd & Morrison, 1998).

Por último, se encontraron picos de absorbancia en intervalos de $3100 - 2800 \text{ cm}^{-1}$ (corresponde a estiramientos C – H de anillos aromáticos) y de $1830 - 1650 \text{ cm}^{-1}$ (correspondiente a vibraciones por dobles enlaces de C = O) solo en las nanopartículas de plata (Zia, *et al*, 2016) y (Cruz, 2014) se puede observar que los tratamientos con mayor cantidad de extracto mostraron bandas más fuertes.

Por último, puede observarse que los espectros de las nanopartículas de hierro, cobre y plata sintetizadas con mayor volumen de extracto mostraron bandas más fuertes, esto es porque la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) identifica los grupos funcionales (hidroxilo, carbonilo, carboxilo, alcoholes, etc.) presentes en las muestras los cuales se deben a la existencia de compuestos bioactivos provenientes del extracto.

7.2.4 Potencial Z

Para la determinación de potencial zeta se usó electroforesis en líquido en muestras de nanopartículas suspendidas en agua al pH natural de la suspensión (6.45) (Figura 21). Las nanopartículas de hierro mostraron valores de 31.1 y 28 mV para los tratamientos NPsFe_{1.5, 0.98} y NPsFe_{0.5, 1.5} respectivamente.

Para las nanopartículas de cobre se obtuvieron valores de -26.1 mV para el tratamiento NPsCu_{2, 7} y de -9.44 mV para el tratamiento NPsCu_{6, 3.38}. por último, las nanopartículas de plata mostraron valores de -21.2 y -26.3 mV para NPsAg_{0.34, 5.5} y NPsAg_{6, 3.38} en el orden mencionado.

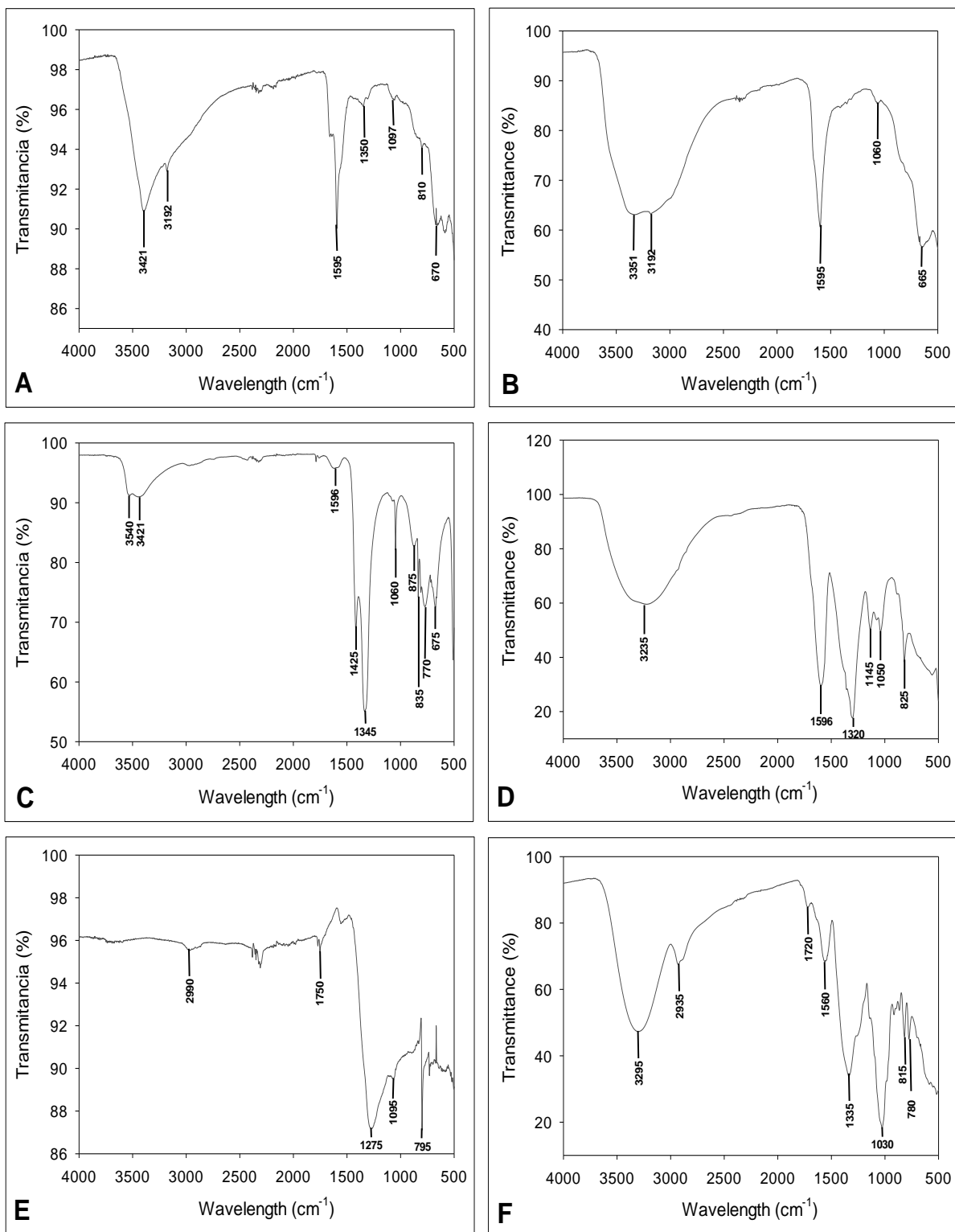


Figura 20 Espectros FTIR de nanopartículas obtenidas por síntesis verde utilizando un extracto hidroalcohólico de cahuiche. A) NPsFe_{0.5}, 1.5, B) NPsFe_{1.5}, 0.98, C) NPsCu₂, 7, D) NPsCu₆, 3.38, E) NPsAg_{0.34}, 5.5 y F) NPsAg₆, 3.38.

El potencial zeta está relacionado con las cargas producidas por las fuerzas de repulsión electrostáticas entre las partículas, si el valor absoluto del potencial es mayor a 20 mV las partículas permanecen dispersas y en suspensión, por otro lado, si es valor absoluto es inferior se presenta aglomeración y precipitación de las partículas por la presencia de las cargas electrostáticas. Por lo tanto, las nanopartículas de hierro presentaron mejor estabilidad en suspensión para ambos tratamientos, seguidos de los dos tratamientos de plata y del tratamiento NPsCu_{2,7} de las nanopartículas de cobre los cuales también fueron estables en suspensión, por otro lado, el tratamiento NPsCu_{6,3,38} presentó una mayor precipitación debido a la aglomeración de las nanopartículas.

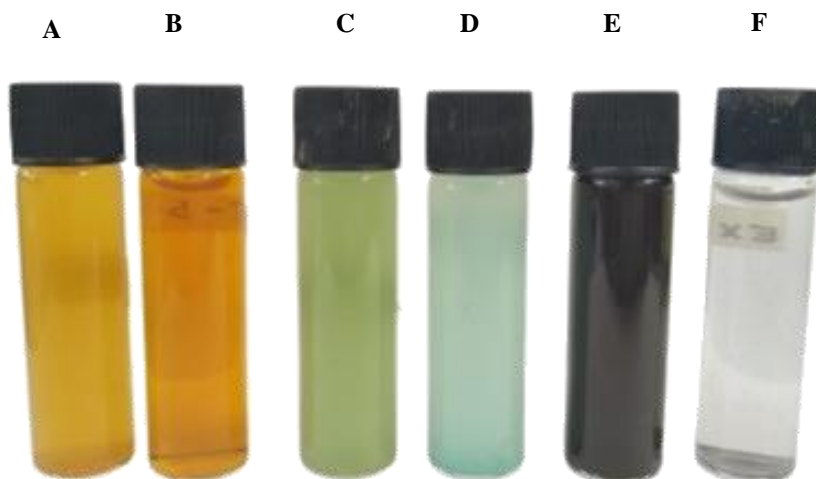


Figura 21 Suspensiones de nanopartículas A) NPsFe_{0,5,1,5}, B) NPsFe_{1,5,0,98}, C) NPsCu_{2,7}, D) NPsCu_{6,3,38}, E) NPsAg_{6,3,38} y F) NPsAg_{0,34,5,5}

7.2.5 Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

La Figura 22 muestra las micrografías de las nanopartículas sintetizadas, se puede observar que las nanopartículas de cobre mostraron del tratamiento NPsCu_{2,7} la presencia de aglomerados, sin embargo también se pudieron observar partículas individuales de forma rectangular con tamaños entre 20 – 105 nm, por otro lado las nanopartículas del tratamiento NPsCu_{6,3,38} se encontraron mayormente dispersas, con tamaños de 6 – 7 nm y forma esférica aunque al igual que el tratamiento anterior hubo presencia de aglomerados. Para las nanopartículas de plata se puede observar que estas están mayormente dispersas y con forma

esférica para ambos tratamientos, con diámetros que van de los 25 – 55 nm y de 14 – 50 nm para $\text{NPsAg}_{6,3,38}$ y $\text{NPsAg}_{0,34,5,5}$ respectivamente.

Por último, se puede observar las micrografías de las nanopartículas de hierro mostraron tamaños de 10 – 20 nm, así como formas cristalinas hexagonales compactas y la presencia de aglomerados para ambos tratamientos.

Autores como Kumar *et al.*, (2014), Ledezma *et al.*, (2014) y Torres *et al.*, (2020) reportaron tamaños de 28 – 60 nm de nanopartículas de cobre sintetizadas con jugo de caña, de 7 – 75 nm para nanopartículas de plata biosintetizadas con nopal y de 15 - 36 nm para nanopartículas de hierro obtenida por síntesis verde con flor de té, en el orden dado. Mismos autores mencionan que el tamaño dependerá principalmente, de la cantidad de compuestos bioactivos que recubren la nanopartícula, así como de la forma y condiciones de síntesis utilizadas para la reducción del metal.

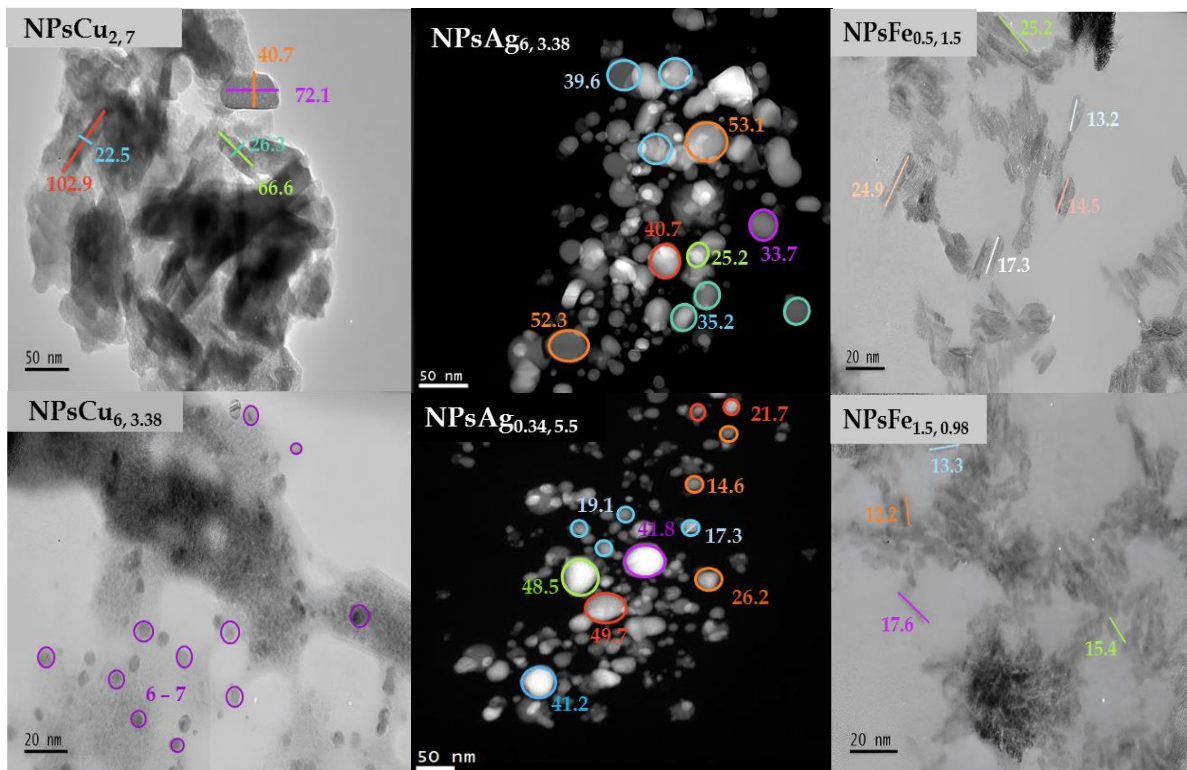


Figura 22 Micrografías de las nanopartículas metálicas sintetizadas

7.2.6 Actividades biológicas

7.2.6.1 Capacidad antioxidante

Se midió la capacidad antioxidante de las nanopartículas de cobre, hierro y plata obtenidas. En la Figura 23 muestra el porcentaje de inhibición antioxidante para cada uno de los tratamientos a una concentración de 233 $\mu\text{g/mL}$, se encontraron diferencias significativas con una $p \leq 0.05$, cada uno de los tratamientos presentó inhibición del radical ABTS presentando valores de 97.54, 83.52, 55.06, 16.89, 4.72 y 3.53 % para $\text{NPsFe}_{1.5, 0.98}$, $\text{NPsAg}_{6, 3.38}$, $\text{NPsFe}_{0.5, 1.5}$, $\text{NPsAg}_{0.34, 5.5}$, $\text{NPsCu}_{6, 3.38}$ y $\text{NPsCu}_{2, 7}$ en el orden señalado.

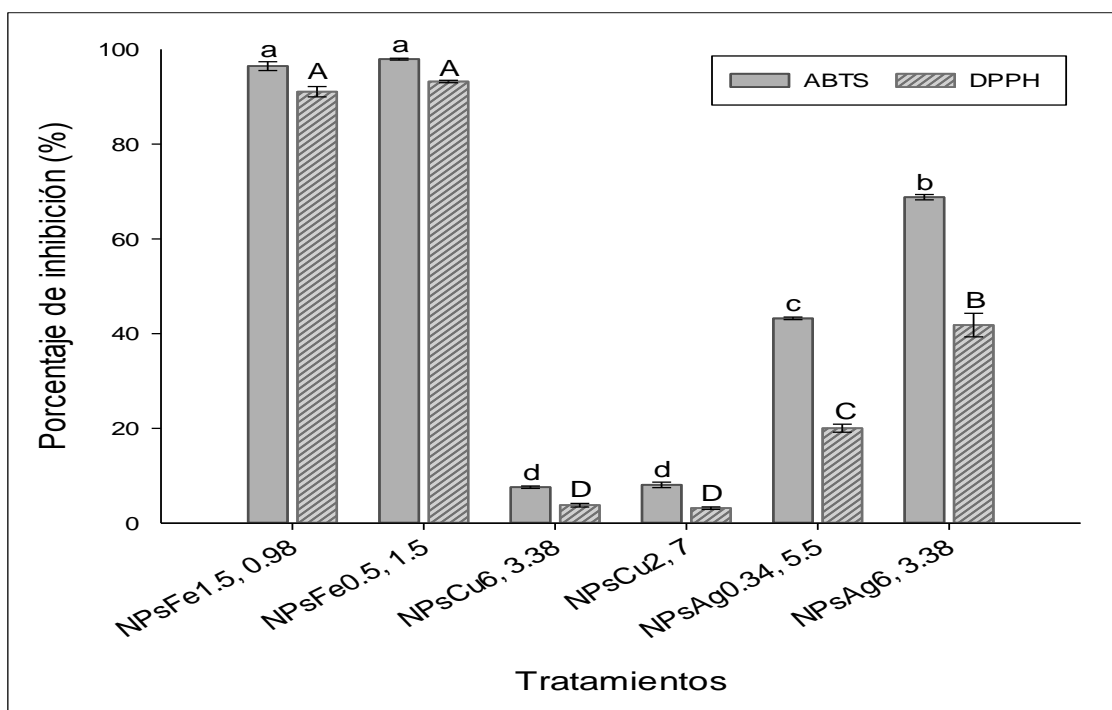


Figura 23 Porcentaje de inhibición de las nanopartículas sintetizadas con extracto hidroalcohólico de cahuiche. Los resultados se expresan como promedio ($n = 3$). ^{abc} Letras minúsculas diferentes representan diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos para ABTS. ^{ABC} Letras mayúsculas distintas representan diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos para DPPH.

Mientras que para la inhibición del radical DPPH se encontraron diferencias significativas con una $p \leq 0.05$ entre cada tratamiento, para DPPH se hallaron valores de 88.35, 91.02, 44.49, 15.98, 5.35 y 1.79 % para $\text{NPsFe}_{1.5, 0.98}$, $\text{NPsFe}_{0.5, 1.5}$, $\text{NPsAg}_{6, 3.38}$, $\text{NPsAg}_{0.34, 5.5}$, $\text{NPsCu}_{6, 3.38}$ y $\text{NPsCu}_{2, 7}$ respectivamente. Cabe resaltar que los mejores

tratamientos para inhibición antioxidante para DPPH y ABTS fueron las nanopartículas de hierro, esto podría deberse a que las nanopartículas de hierro generalmente son porosas lo que permite que absorban con mayor facilidad los radicales.

El porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de cahuiche fue de 96.81% para ABTS y de 87.39 % para DPPH estos valores son mayores a los obtenidos de las nanopartículas, ya que la actividad antioxidante está relacionada con la presencia de compuestos bioactivos en la superficie de la nanopartícula y no con el metal sintetizado, sin embargo, las nanopartículas de hierro mostraron porcentajes de inhibición similares a los del extracto esto puede deberse a que las nanopartículas de hierro suelen ser rugosas lo que les permite una mayor absorción de los radicales mostrando una mayor inhibición antioxidante en comparación con otros metales.

7.2.6.2 Actividad antimicrobiana

Los resultados obtenidos de la concentración mínima inhibitoria y bactericida para las nanopartículas sintetizadas confirmaron la actividad antimicrobiana de las mismas, logrando inhibir e incluso matar a las bacterias, la cual es dada por la presencia de compuestos bioactivos, provenientes del extracto hidroalcohólico de cahuiche.

Se hallaron diferencias significativas $p \leq 0.05$ para todos los tratamientos (Tabla 3), siendo los mejores tratamientos NPsAg_{6, 3.38}, NPsAg_{0.34, 5.5} presentando la menor CMI y CMB para *S. aureus*, *E. coli* y *S. enterica* Typhi en comparación con los demás tratamientos, esto se debe a que la actividad antimicrobiana está dada por la presencia de compuestos bioactivos, el tamaño y forma de la nanopartícula, pero además interviene el metal sintetizado debido a ello los tratamientos con plata obtuvieron mayor actividad antimicrobiana ya que esta es un antimicrobiano natural.

También el extracto hidroalcohólico de cahuiche mostro actividad antimicrobiana para los tres microorganismos, sin embargo, el uso de nanopartículas potencializo dicha actividad, y se pudo corroborar que, a mayor volumen de extracto utilizado en la síntesis, se requiere una menor concentración de nanopartículas para inhibir a las bacterias.

Tabla 10 Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida de las nanopartículas metálicas sintetizadas y del EHAC

BACTERIA	CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (mg/mL)						EHAC
	NPsFe _{1.5, 0.98}	NPsFe _{0.5, 1.5}	NPsCu _{6, 3.38}	NPsCu _{2, 7}	NPsAg _{6, 3.38}	NPsAg _{0.34, 5.5}	
<i>S. aureus</i>	1.340 ^{cb}	2.670 ^{bb}	1.000 ^{db}	3.340 ^{aa}	0.031 ^{fa}	0.114 ^{ea}	25
<i>S. enterica</i> Typhimurium	2.670 ^{ba}	4.000 ^{aa}	1.000 ^{db}	1.390 ^{cb}	0.002 ^{fb}	0.031 ^{eb}	50
<i>E. coli</i>	2.670 ^{aa}	2.670 ^{ab}	1.390 ^{ba}	1.390 ^{bb}	0.002 ^{db}	0.031 ^{cb}	50
CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (mg/mL)							
<i>S. aureus</i>	1.680 ^{cb}	3.340 ^{bb}	1.390 ^{db}	4.000 ^{aa}	0.058 ^{fa}	0.168 ^{ea}	50
<i>S. enterica</i> Typhimurium	3.340 ^{ba}	5.340 ^{aa}	1.390 ^{db}	1.680 ^{cb}	0.003 ^{fb}	0.058 ^{eb}	100
<i>E. coli</i>	3.340 ^{aa}	3.340 ^{ab}	1.680 ^{ba}	1.680 ^{bb}	0.004 ^{db}	0.058 ^{cb}	100

Los resultados se expresan como promedio (n = 3). ^{abc} Letras minúsculas distintas en cada columna representan diferencias estadísticamente significativas (p ≤ 0.05) entre tratamientos por cada bacteria. ^{ABC} Letras mayúsculas distintas en cada fila representan diferencias estadísticamente significativas (p ≤ 0.05) entre bacterias para cada tratamiento.

8. CONCLUSIONES

El extracto hidroalcohólico de cahuiche es rico en compuestos bioactivos (fenoles y antocianinas) los cuales permitieron la síntesis verde y funcionalización de nanopartículas metálicas de hierro, cobre y plata, esto se pudo comprobar mediante la caracterización de las nanopartículas sintetizadas, estas mostraron tamaños dentro de la escala nanométrica, además de presentar diferentes morfologías, ambos parámetros dependieron de las condiciones de síntesis y del metal utilizado para su síntesis. El potencial zeta demostró que las nanopartículas obtenidas eran estables en suspensión y los espectros infrarrojos mostraron la presencia de compuestos bioactivos en la estructura de las nanopartículas, estos compuestos en la superficie de la nanopartícula confirieron importantes actividades biológicas como la capacidad antioxidante por la inhibición de radicales libres (ABTS y DPPH) y la actividad antimicrobiana mediante la inhibición de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* Typhimurium y *Escherichia coli*. Cabe resaltar que tanto la actividad antioxidante como la actividad antimicrobiana se logró comprobar para el extracto hidroalcohólico de cahuiche como para las nanopartículas metálicas obtenidas, además, se logró demostrar que las nanopartículas sintetizadas mostraron mayor eficacia para ambas actividades biológicas.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Abril, L. (2010). *LAS ERICÁCEAS CON FRUTOS COMESTIBLES DEL ALTIPLANO CUNDIBOYACENSE*. Tesis de grado, Bogota. Obtenido de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8516/tesis472.pdf;sequence=1>
- Abril-Ramírez, L. (2010). *LAS ERICÁCEAS CON FRUTOS COMESTIBLES DEL ALTIPLANO*. Tesis de grado, Universidad Javeriana , Facultad de ciencias , Bogota. doi:<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8516/tesis472.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Aguilar, A., & Zanella, R. (2017). Las nanopartículas bimetálicas y algunas de sus aplicaciones. *Mundo Nano*, 10(19), 72 - 92. doi:doi:10.22201/ceiich.24485691e.2017.19.61783
- Aliero, A., & Afolayan, A. (2006). Antimicrobial activity of *Solanum tomentosum*. *African Journal of Biotechnology*, 365-372.
- Almanza, J. L., Garcia, C. E., Mendoza, E. C., Lobato, A. G., & Sanchez, E. M. (2021). Nanoestructuras metálicas y su resonancia de plasmones superficial. *Ciencia Latina*, 5(6), 15274-15287. doi:https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i6.1641
- Almaraz, N. A., Reyes, J. A., Alvarado, E. A., Jimenez, N. N., & Corral, J. H. (2006). EL METABOLISMO SECUNDARIO DE LAS PLANTAS, UN NUEVO CONCEPTO. *Instituto Politecnico Nacional*(1), 39-50. Obtenido de <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/8292>
- Antezana, A. P., Vizaluque, B. E., Tejeda, L., Book, O., Mollinedo, P., & Peñarrieta, M. (2018). DETERMINATION OF THE TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY, TOTAL PHENOLS, AND THE ENZYMATIC ACTIVITY IN A NON-DIARY

BEVERAGE BASED ON GRAINS OF CHENOPODIUM QUINOA. *Boliviana de Química*, 35(5), Boliviana de Química.

Anticona, M. L., Frigola, A., & Esteve, M. J. (2016). Determinación de polifenoles totales en arándanos y productos derivados. *Scientia*, 8(1), 13-21.

Anzures, F. E., & Guerrero, L. C. (2016). Nanobiomateriales. *Ingenierias*, 19(70), 55 - 68. Obtenido de <https://ingenierias.uanl.mx/antiores/70/documentos/nanobiomateriales.pdf>

Asmat, A., Asmat-Aguirre, E., Delfin, D., & Juarez, L. (2019). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles, by the reductive action of the aqueous extract of blueberry (*Vaccinium corymbosum*). *Researchgate*, 24 - 27. doi:<http://dx.doi.org/10.18687/LACCEI2019.1.1.92>

Ávalos, A., Haza, A., & Morales, P. (2016). Nanotechnology in the food industry I: applications. *Complutense de Ciencia Veterinarias*, 1-17.

Azuero, A., Jaramillo, C., Martin, S. S., & D'Armas, H. (2016). Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. *Revista Ciencia UNEM*, 9(20), 11-18. doi:<https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol9iss20.2016pp11-18p>

Badui, S. (2020). *Química de los alimentos* (Sexta ed.). Mexico: Pearson.

Barba, M. (2018). *Encapsulación de compuestos fenólicos de Vaccinium corymbosum a través del desarrollo de matrices biopoliméricas y su efecto en la modulación de la microbiota intestinal humana*. CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO, A. C. , Zapopan, Jalisco.

- Barraza-Garza, G., Rosa, L. A., Martínez-Martínez, A., Castillo-Michel, H., Cotteb, M., & Alvarez-Parrilla, E. (2013). La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos. *Revista latinoamericana de química*, 41(3), 125-148. doi:http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-59432013000300001&lng=es&tlng=es.
- Berekaa, M. (2015). Nanotechnology in Food Industry; Advances in Food processing, Packaging and Food Safety. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 345-357.
- BOTASINI, S. (2020). Comparison of the size of gold nanoparticles using different measurement techniques and protocols. *INOTEC*(21). doi:<https://doi.org/10.12461/21.02>
- Boyd, R., & Morrison, R. (1998). *Química Organica*. Mexico: Pearson Eddison Wesley .
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & C Berset. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity,. *LebensmittelWissenschaft und Technologie*, 28(1), 25 - 30.
- Brown, C. (2005). Antioxidants in potato. *American journal* , 163-172.
- Calderon, A. H. (2020). Microscopía electrónica de transmisión para observar átomos: principios y desarrollo. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 13(25), 133-156. Obtenido de <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2020.25.69649>
- Capitaine, B. P., Núñez, H. H., Sosa, P. P., & Ramírez, J. I. (2020). La interacción de la luz con moléculas. *Revista Digital Universitaria*, 21(5), 1 -10. doi:<http://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2020.21.5.1>

- Choi, C., Kim, H., & Lee, L. (2011). Free Amino Acid and Phenolic Contents and Antioxidative and Cancer Cell-Inhibiting Activities of Extracts of 11 Greenhouse-Grown Tomato Varieties and 13 Tomato-Based Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 12801-12814.
- Cruz, J. E. (2014). *Determinacion de fenoles y flavonoides en extractos de hojas de plantas con actividad antioxidante empleando espectroscopia FTIR y analisis multivariado*. Instituto Politecnico Nacional, CIBA, Tlaxcala.
- Cueva, C., Moreno, V., & Martin, P. (2010). Antimicrobial Activity of Phenolic Acids Against Commensal, Probiotic and Pathogenic Bacteria. *Microbiology*, 372-382.
- Datta, S. (2003). Fish as a source of antioxidants. *ResearchGate*, 1 - 39. doi:DOI: 10.13140/2.1.1229.9842
- Deos, O., & Douglas, M. (1994). Enhanced Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Glycerol onolaurate with Organic Acids. *Louisiana Agricultural experiment Station Manuscript* , 21-64.
- Ebnesajjad, S. (2006). Surface Treatment of Materials for Adhesion Bonding. William Andrew Publishing. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-081551523-4.50006-7>
- García, A. Á., & Carril, E. P.-U. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*, 2(3), 119-145.
- García, I. N. (2015). *Síntesis verde de nanopartículas para la eliminación de colorantes en medios acuosos*. Tesis de Doctorado, Facultad de Coruña, Departamento de química e ingeniería química, Coruña.
- Garzón, M. G. (2018). Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde. *Repertorio de Medicina y Cirujía*, 27(2), 75 - 80. doi:<https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.v27>.
-

- Gill, A., & Holley, R. (2006). Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. *International Journal of Food Microbiology*, 170-174.
- Gomez, B. G. (2020). *síntesis y caracterización de nanopartículas metálicas y metaloides. Evaluación de su interacción con poblaciones bacterianas para el ámbito alimentario* . Madrid: Universidad Complutense de Madrid .
- Gómez, P. (2004). El hierro en la alimentación. *Elsevier*, 54 -58.
- Gonzales, I. H. (2022). *EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO, ANTIINFLAMATORIO Y ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Vaccinium leucanthum*(CAHUICHE)*. Tesis de Maestría , Instituto de Ciencias Agropecuarias , Hidalgo.
- Gonzalez , E. (2020). Antibacterial effect of the methanol extract of *Salix babylonica* against important bacteria in public Health. *Abanico veterinario*, 10(3), 2448-6132. Obtenido de <https://doi.org/10.21929/abavet2020.1>.
- Gregorio, K., Rivera, J., & Caballero, H. (2013). Las nanopartículas magnéticas y sus múltiples aplicaciones. *Universidad Autónoma de Coahuila* , 397 - 404 .
- Guajardo, J. M. (Diciembre de 2013). *Síntesis de nanopartículas de cobre mediante novedosa ruta química*. Tesis doctoral, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES AVANZADOS, S. C.
- Hemmati, S., Ahmeda, A., & Salehabadi, Y. (2020). Synthesis, characterization, and evaluation of cytotoxicity, antioxidant, antifungal, antibacterial, and cutaneous wound healing effects of copper nanoparticles using the aqueous extract of Strawberry fruit and L-Ascorbic acid. *Polyhedron* , 114 - 125.

- Hernández, C. d. (2022). *Análisis de la síntesis química y verde de nanopartículas de óxidos metálicos: ventajas y desventajas*. Puebla: Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica.
- Ibrahim, M., Ibrahiem, A., & Dalloul, T. (2016). Biosynthesis of silver nanoparticles using pomegranate juice extract and its antibacterial activity. *J. Appl. Sci. Biotechnol*, 254 - 258. doi:<http://dx.doi.org/10.3126/ijasbt.v4i3.15417>
- Ismat, B., Nosheen, N., Sadia, A., Ali, A., & Jalal, F. (2019). Green synthesis of iron oxide nanoparticles using pomegranate seeds extract and photocatalytic activity evaluation for the degradation of textile dye. *ELSEVIER*, 8(4), 6115 - 6124. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2019.10.006>
- Kaur, P., Thakur, A., & Chaudhary, A. (2016). Biogenesis of copper nanoparticles using peel extract of *Punica granatum* and their antimicrobial activity against opportunistic pathogens. *Green Chem*, 33-38.
- Kumar , H., & Kanchan , B. (2020). Fruit Extract Mediated Green Synthesis of Metallic Nanoparticles: A New Avenue in Pomology Applications. *International Journal Molecular Sciences*, 1 -18.
- Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., Debut, A., & Angulo, Y. (2015). Biofabrication of copper oxide nanoparticles using Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth.) fruit and leaf. *Journal of Saudi Chemical Society*, 21(1), S475-S480.
- Luteyn, J. (2005). *Flora genérica de los páramos: Guía ilustrada de las plantas* . New York, USA: Bronx.
- Maddox, C., & Laur, L. (2010). Antibacterial activity of phenolic compounds against the phytopathogen *Xilleya fastidiosa*. *Curr Microbiol*, 53-58.

- Magne, C. B., Zingue, S., Winter, E., Creczynski, T. B., Michel, T., Fernandez, X., . . . Clyne, C. (2015). Flavonoids, Breast Cancer Chemopreventive and/or Chemotherapeutic Agents. *Current Medicinal Chemistry*, 22(30), 3434-3446. doi:DOI:10.2174/0929867322666150729115321
- Maldonado, M., Nieto, M., & Cruz, L. (2019). Nanopartículas de plata como aditivo en alimentos para control de enfermedades causadas por *Vibrio* en *L. vannamei*. *ResearchGate*, 1 - 31.
- Mantilla, C., Pedraza, J., & Laverde, D. (2008). Utilización de estudios de potencial zeta en el desarrollo de un proceso alternativo de flotación de mineral feldespático. *Dyna*, 75(154), 65-71. doi:ISSN: 0012-7353.
- Martinez, S., & Gonzalez, J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *NutrHosp*, 271-278.
- Medina, M., & Reyes, L. G. (2015). Las nanopartículas y el medio ambiente. *Scielo*, 19(74), 49 - 58.
- Mejias, Y., Cabrera, N., & Toledo, M. (2009). Nanotechnology and its possibilities of application in the scientific-technological field. *Scielo*, 35(3), 1561 - 3127.
- Miyague, L., Macedo, R., & Holley, A. (2015). Combination of phenolic acids and essential oils against *Listeria monocytogenes*. *Food Science and Technology*, 333-336.
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *PubMed Central*, 22(7), 3380 - 3395. doi: 10.3390/ijms22073380
- Murgueitio, E., Debut, A., Landivar, J., & Cumbal, L. (2016). Synthesis of Iron Nanoparticles through Extracts of Native Fruits of Ecuador, as Capuli (*Prunus serotina*) and Mortiño

- (*Vaccinium floribundum*). *Biology and Medicine*, 8(3), 1 - 4. doi:DOI:10.4172/0974-8369.1000282
- Ojeda, A., Arias, A., & Sgroppo, S. (2019). Nanotechnology and its applications in food. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 12(23), 1e-14e. doi:<https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2019.23.67747>
- Pilaquinga, F., Pazmiño, K., Robalino, A., Jara, E., & López, F. (2019). GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING THE AQUEOUS EXTRACT OF THE LEAVES OF GARLIC PLANT (*Allium sativum*). *infoANALÍTICA*, 7(2), 1-10. doi:<https://doi.org/10.26807/ia.v7i2.102>
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, .. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *SCielo Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89. Obtenido de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S021216112012000100009&lng=es&tlng=es
- RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., & RICE-EVANS, C. (1999). ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL CATION DECOLORIZATION ASSAY. *ELSEVIER*, 1231-1237.
- Rivas-Morales, C., Oranday-Cárdenas, M. A., & Verde-Star, M. J. (2016). *Investigación en plantas de importancia médica*. Mexico: OmniaScience. doi:<http://dx.doi.org/10.3926/oms.313>
- Rivera, L. (2019). *Development and characterization of new bioactive and antibacterial coatings for biomedical applications using electric field assisted processing*. Tesis de doctorado, Colombia. doi:Development_and_characterization_of_new_bioactive_.pdf

- Rodríguez, E. M., Gutiérrez, R. A., & Román, R. G. (2010). Plata coloidal y salud. *ResearchGate*, 6(12), 56 - 68.
- Roque, E. G. (2021). *Nanotecnología*. Mexico: UNAM.
- Roy, S. (2015). Plant Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles. *International Journal of Plant Biology & Research*, 1044-1055.
- Saenz, G., Hernández, M. C., & Martínez, L. A. (2011). SÍNTESIS ACUOSA DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Metales*, S3, 34-35.
- Salem, S., & Fouda, A. (2020). Green Synthesis of Metallic Nanoparticles and Their Prospective Biotechnological Applications: an Overview. *Springer*, 1 - 27.
- Sanchez, A., & Schieber, A. (2011). Es tructure-function relationships of the antibacterial activity of phenolic acids and their metabolism by lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 1364-5072.
- Sánchez-Franco, J. A., Ayala Niño, A., Cariño, R., Hernandez Fuentes, A. D., Campos Montiel, R. G., & Jimenez Alvarado, R. (2019). Vaccinium leucanthum SCHLECHTENDAHL FRUIT, A NEW SOURCE OF DIETARY FIBER AND ANTIOXIDANT COMPOUNDS. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 18(3), 901- 911.
- Santos, Gutiérrez, F., Ruíz, V., & Montes, J. (2020). El papel de los compuestos polifenólicos en la síntesis verde de nanopartículas metálicas. *BioTecnología*, 46-57.
- Serpa, A., Velez, L., & Barajas, J. (2015). Compuestos de hierro para la fortificaciónde alimentos: El desarrollo de una estrategia nutricional indispensable para países en desarrollo . *Agroindustry and Food Science*, 340 { 353.

- Shimamoto, G. G., & Rossi, A. V. (2016). Una introducción artística a las tintas con antocianinas . *Science in School*, 32 - 36.
- Smith, N. (2004). *Flowering plants of the neotropics* (Primera ed.). New Jersey, USA: Princenton.
- Soriano, A. (2020). *ÁCIDOS FENÓLICOS COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS EN EL DESARROLLO DE MATERIALES ACTIVOS PARA EL ENVASADO DE ALIMENTOS*. UNIVERSIDAD POLITÈCNICA DE VALÈNCIA., Instituto de Ingenieria de Alimentos para el Desarrollo, Valencia.
- Tapas, A., Sakarkar, D., & Kakde, R. (2008). Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1089-1099.
- Tapia, A. A. (2020). Las nanopartículas bimetálicas y algunas de sus aplicaciones. *Scielo*, 72 - 92.
- Tomas, F. (2003). Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alimentación Nutrición y Salud*, 41-53.
- Torres, K., & Bastos, J. (2021). Metal and metal oxide nanoparticles: An integrated perspective of the green synthesis methods by natural products and waste valorization: applications and challenges. *Elsevier*, 433 -464.
- Uribe, G. M., & Rodríguez-López, J. L. (2007). La nanociencia y la nanotecnología: una revolución en curso. *Perfiles latinoamericanos*, 14(29), 161-186. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-76532007000100006&lng=es&tlng=es.
- Vanaja, M., K Paulkumar, C. M., & Gnanajobitha, G. (2013). Fruit-mediated synthesis of silver nanoparticles using *Vitis vinifera* and evaluation of their antimicrobial efficacy. *Nanotrut Chem*, 67-71.

- Vega, E., & Samano, A. (4 de Julio de 2013). *USOS Y OCURRENCIA DE LOS PRINCIPALES METALES QUE SE PRODUCEN EN SONORA*. Obtenido de Universidad de Sonora, Departamento de Geología.
- Victorava, L. F., & Feoktistova, Y. C. (2018). Metabolism of copper. Its consequences for human health. *Medisur*, 579 - 587.
- Wei, Y., Fang, Z., Zhong, L., Tan, L., & Pokong, E. (2016). Green synthesis of Fe nanoparticles using Citrus maxima peels aqueous extracts. *ELSEVIER*, 384-386. doi:<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2016.09.029>
- Wilbur, R., & Luteyn, J. (1978). Flora de Panamá. Parte VIII. Familia 149. Ericáceas. *Missouri Botanical Garden Press*, 65(1), 27-143. doi:<https://doi.org/10.2307/2395354>
- Wong, J. (2009). Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 269-277.
- Xu, Y., Chen, D., Jiao, X., & Xue, K. (2007). CuO microflowers composed of nanosheets: Synthesis, characterization, and formation mechanism. *Materials Research Bulletin*, 42 (9), 1723-1731. doi:<https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2006.11.023>
- Yufen, W., Zhanqiang, F., & Pokong, Z. L. (2016). Green synthesis of Fe nanoparticles using Citrus maxima peels aqueous extracts. *ELSEVIER*, 384 - 386. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2016.09.029>
- Zanella, R. (2021). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano*, 5(1), 69 - 81. doi:ISSN 2448-5691
- Zayago Lau, E., & Foladori, G. (2010). Nanotechnology in Mexico: an uncertain development. *Scielo*, 10(32), 1405 - 8421.

Zia, M., Gul, S., Akhtar, J., Haq, I. u., Abbasi, B. H., & Hussain, A. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles from grape and tomato juices and evaluation of biological activities. *IET Nanobiotechnology*, 11(2), 1 - 7. doi:10.1049/iet-nbt.2015.0099