

# Green synthesis and characterization of silver nanoparticles, by the reductive action of the aqueous extract of blueberry (*Vaccinium corymbosum*)

Asmat-Campos, D. , MSc.<sup>1,\*</sup>; Delfín-Narciso, D. , MSc.<sup>1</sup>; Juárez-Cortijo, L. , MSc.<sup>1</sup>; Renny Nazario, MSc.<sup>1</sup>; Roger Rengifo, Mg.<sup>2</sup>; Elena Asmat, Br.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Ciencias Aplicadas y Nuevas Tecnologías, Universidad Privada del Norte (UPN), Trujillo, Perú. david.asmat@upn.edu.pe; daniel.delfin@upn.edu.pe; [luisa.juarez@upn.edu.pe](mailto:luisa.juarez@upn.edu.pe); renny.nazario@upn.edu.pe;

<sup>2</sup>Departamento de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú. rogrengifo@hotmail.com

*Abstract -- The objective of the study was to evaluate the reducing properties of the aqueous extract of cranberry (*Vaccinium corymbosum*) at concentrations of 1 mM and 10 mM in the process of green synthesis of silver nanoparticles (NP Ag), starting from the precursor silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>). The samples were initially evaluated by UV-Vis spectrophotometry, which determined in the foreground the presence of nanostructures, since the surface plasmon resonance peaks were in the range of 408 and 412 nm respectively, in turn the dispersion results of dynamic light (DLS) reported information related to the hydrodynamic size and polydispersity of the colloidal solution, as far as the size was concerned, measurements of 9.74 and 13.67 nm were obtained, and with a tendency to be monodisperse; TEM images corroborate the aforementioned results. The results suggest the potential reducing effect of bilberry extract, in turn a higher molar concentration generates a better formation of the nanostructure and higher production of this.*

*Keywords – silver nanoparticles, metal nanoparticles, green synthesis.*

Digital Object Identifier (DOI):  
<http://dx.doi.org/10.18687/LACCEI2019.1.1.92>  
ISBN: 978-0-9993443-6-1 ISSN: 2414-6390

# Green synthesis and characterization of silver nanoparticles, by the reductive action of the aqueous extract of blueberry (*Vaccinium corymbosum*)

## Síntesis verde y caracterización de nanopartículas de plata, mediante la acción reductora del extracto acuoso de arándano (*Vaccinium corymbosum*)

Asmat-Campos, D. , MSc.<sup>1,\*</sup>; Delfín-Narciso, D. , MSc.<sup>1</sup>; Juárez-Cortijo, L. , MSc.<sup>1</sup>; Renny Nazario, MSc.<sup>1</sup>; Roger Rengifo, Mg.<sup>2</sup>; Elena Asmat, Br.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Ciencias Aplicadas y Nuevas Tecnologías, Universidad Privada del Norte (UPN), Trujillo, Perú. [david.asmat@upn.edu.pe](mailto:david.asmat@upn.edu.pe); [daniel.delfin@upn.edu.pe](mailto:daniel.delfin@upn.edu.pe); [luisa.juarez@upn.edu.pe](mailto:luisa.juarez@upn.edu.pe); [renny.nazario@upn.edu.pe](mailto:renny.nazario@upn.edu.pe)

<sup>2</sup>Departamento de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú. [rogrenifo@hotmail.com](mailto:rogrenifo@hotmail.com)

**Resumen**– El objetivo del estudio fue evaluar las propiedades reductoras del extracto acuoso de arándano (*Vaccinium corymbosum*) a concentraciones de 1 mM y 10 mM en el proceso de síntesis verde de nanopartículas de plata (NP Ag), partiendo del precursor nitrato de plata (AgNO<sub>3</sub>). Las muestras fueron evaluadas inicialmente por espectrofotometría UV-Vis, el cual determinó en un primer plano la presencia de nanoestructuras, pues los picos de resonancia de plasmón superficial estuvieron en el rango de 408 y 412 nm respectivamente, a su vez los resultados de dispersión de luz dinámica (DLS) reportaron información relacionada al tamaño hidrodinámico y la polidispersidad de la solución coloidal, en lo relacionado al tamaño se logró medidas de 9.74 y 13.67 nm, y con tendencia a ser monodispersas; imágenes TEM corroboran los resultados antes mencionados. Los resultados sugieren el potencial efecto reductor del extracto de arándano, a su vez una mayor concentración molar genera una mejor formación de la nanoestructura y mayor producción de este.

**Palabras clave:** nanopartículas de plata, nanopartículas metálicas, síntesis verde.

**Abstract**– The objective of the study was to evaluate the reducing properties of the aqueous extract of cranberry (*Vaccinium corymbosum*) at concentrations of 1 mM and 10 mM in the process of green synthesis of silver nanoparticles (NP Ag), starting from the precursor silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>). The samples were initially evaluated by UV-Vis spectrophotometry, which determined in the foreground the presence of nanostructures, since the surface plasmon resonance peaks were in the range of 408 and 412 nm respectively, in turn the dispersion results of dynamic light (DLS) reported information related to the hydrodynamic size and polydispersity of the colloidal solution, as far as the size was concerned, measurements of 9.74 and 13.67 nm were obtained, and

with a tendency to be monodisperse; TEM images corroborate the aforementioned results. The results suggest the potential reducing effect of bilberry extract, in turn a higher molar concentration generates a better formation of the nanostructure and higher production of this.

**Keywords:** silver nanoparticles, metal nanoparticles, green synthesis.

### I. INTRODUCCIÓN

El estudio de las nanopartículas metálicas es de gran interés por sus diversas aplicaciones que van desde optoelectrónica [1] a ciencias médicas, destacando en esta última las nanopartículas de plata por sus propiedades antimicrobianas [2]. Los métodos de síntesis desarrollados consiguen nanoestructuras de diferentes formas y tamaños las que están ligadas a una gama de nuevas propiedades, mejorando cada vez los campos de aplicación [3]. Las nuevas tendencias buscan métodos de elaboración de síntesis más seguros y amigables con la salud y el medio ambiente, así como económicamente rentables. Estos métodos, conocidos como “síntesis verde” por usar agentes biológicos, son la propuesta más prometedora. [4, 5].

Se ha identificado en la naturaleza que las biomoléculas participan activamente en la formación de nanopartículas, lo que permite desarrollar técnicas seguras y beneficiosas para el medio ambiente. El uso de materiales de residuos orgánicos no solo reduce los costos de la síntesis, sino que también reducen el uso de reactivos químicos peligrosos [6]. Sin embargo, estudios demuestran que existen ventajas y desventajas dependiendo del material orgánico utilizado. Por ejemplo, los polisacáridos y proteínas presentes en algunas algas actúan como recubrimiento, siendo difícil de remover después de la síntesis, lo que limita las propiedades biodegradables [7].

Digital Object Identifier (DOI):

<http://dx.doi.org/10.18687/LACCEI2019.1.1.92>

ISBN: 978-0-9993443-6-1 ISSN: 2414-6390

Las investigaciones sobre síntesis verde han abarcado el uso de polímeros biodegradables, microorganismos y extractos de plantas [4]. Logeswari [8] utilizó extractos de plantas de *Ocimum tenuiflorum*, *Solanum tricornatum*, *Syzygium cumini*, *Centella asiatica* y *Citrus sinensis*; obteniendo nanopartículas de plata de 28 nm, 26.5 nm, 65 nm, 22.3 nm y 28.4 nm respectivamente. La síntesis de nanopartículas de plata en medio acuoso es reportada por Padalia H. et al. [9], quienes utilizando el extracto de flores de marigold (*Tagetes erecta*) como agente reductor, obtuvieron nanopartículas esféricas, hexagonales y de forma irregular, con un rango de tamaño que van desde los 10 nm a los 90 nm. De la misma forma Khalil et al. [10] utilizando extracto de hojas de olivo obtuvieron nanopartículas en su mayoría esférica con tamaños promedios entre 20 – 25 nm.

Otros materiales orgánicos utilizados como agentes reductores en la síntesis de nanopartículas de plata son la papaya (*Carica papaya*), produciendo nanopartículas de 15 nm de tamaño promedio con estructura típica cúbica; la cáscara de naranja (*Citrus sinensis*), mostrando una notable variación del tamaño con la temperatura. [11]. Amit K. Mittal et al. [12] recopilaron los resultados de muchos trabajos en los que se usaron extractos de plantas como agentes reductores debido a sus componentes polifenólicos [13], encontrando una variedad de rutas de biosíntesis que producen nanopartículas de diversas formas con baja polidispersidad. Concluye que el uso de extractos de plantas permite un control del tamaño y la morfología de las nanopartículas; sin embargo, en los trabajos recopilados no se encontró alguno donde se use el arándano.

Las propiedades antioxidantes de algunos frutos como las moras, arándanos y frutos similares han sido aprovechados en procesos de síntesis verde de nanopartículas de plata. Nanopartículas de hierro fueron obtenidas a partir del extracto de hojas y brotes de arándano (*Vaccinium corymbosum*) con un tamaño promedio de 80.2 nm [14]. Brajesh Kumar et al. [15] usó mora de Castilla o Andean blackberry (*Rusbus glaucus*) para fabricar nanopartículas esféricas con tamaño de 12 - 50 nm mostrando en la espectroscopía UV-vis una absorbancia del plasmón en los 435 nm. Se usó la técnica DLS confirmando la polidispersidad de las partículas ( $PDI \geq 0.1$ ). Mientras que Mallikarjuna N. Nadagouda et al. [16] usó moras (*Rusbus*), granada (*Punica granatum*), cúrcuma (*Curcuma longa*) obteniendo nanopartículas con tamaño de 20 – 500 nm, las imágenes TEM mostraron que el extracto de granada produjo nanopartículas más uniformes en tamaño y forma.

En el presente artículo se muestran los resultados de la elaboración de nanopartículas de plata siguiendo una síntesis verde, la cual utiliza como agente reductor el arándano (*Vaccinium corymbosum*) en solución acuosa y se analiza el efecto de la variación de la concentración en la forma y tamaño de las nanopartículas producidas. Los efectos morfológicos son analizados mediante las técnicas de TEM y DLS, mientras que la absorbancia del plasmón característico será monitoreada mediante espectroscopía UV-vis.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra de arándano (*Vaccinium corymbosum*) es de procedencia del distrito de Virú, provincia de Virú, Departamento de La Libertad (Perú), el mismo que está inscrito en el *Herbarium Truxillense* de la Universidad Nacional de Trujillo.

### A. Preparación del extracto acuoso

Una vez identificado el fruto, se procedió a llevarlo a secado a temperatura ambiente (23 °C), por un periodo de 24 horas, para posteriormente realizar el secado en una estufa a 40°C hasta alcanzar un peso constante.

Con el producto seco, se procedió a tomar 10 g diluyéndolo con 100 mL de etanol a 96° G.L., seguidamente se sometió a temperatura hasta lograr la ebullición en un lapso de 15 minutos. El contenido se filtró por gravedad (cono de papel filtro) obteniendo el extracto libre de partículas, de este último se dejó secar en estufa a 40°C por 24 horas, para luego pesar 12 g. y diluirlo en 25 mL de agua ultrapura, obteniéndose un extracto acuoso al 48% de concentración. [17].

### B. Síntesis de nanopartículas de plata

Se utilizó el método de química verde, teniendo como precursor al nitrato de plata ( $AgNO_3$ ), de procedencia Sigma Aldrich, a una concentración de 0.03 M, este precursor se mezcló con el extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* (arándano) con concentraciones 1 mM y 10 mM, por un tiempo de 10 minutos a temperatura ambiente ( $T^\circ = 22^\circ C$ ), para luego ir incrementándolo hasta llegar a una temperatura de 65°C, paso seguido, se procedió a colocar las muestras en tubos de ensayo para llevarlo a una centrifuga a 3500 rpm, por un lapso de tiempo de 10 minutos. Del proceso antes mencionado, se pudo notar que en la base había la presencia de material particulado, ante ello se procedió a retirar con cuidado el sobrenadante, quedando solo un pellet de partículas; lo obtenido se diluyó con agua ultra pura para finalmente trasvasarlo en un vaso de precipitación y proceder a modificar el pH (gota a gota con NaOH) hasta un valor de 10. (Fig. 1).



Fig. 1. Protocolo de síntesis verde de nanopartículas de plata.

### C. Caracterización de nanopartículas de plata

A las muestras se le realizaron análisis de espectrofotometría UV-Vis, dynamic light scattering (DLS) y microscopía electrónica de transmisión (MET)

Los análisis de espectrofotometría se realizaron en el laboratorio de Físico-Química de la Universidad Nacional de Trujillo, así mismo los de DLS y MET fueron en colaboración con el laboratorio de Físico-Química de la Universidad de Almería (UAL) en España.

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados producto de la evaluación del protocolo de síntesis constaron de una variable: la concentración del extracto en estado acuoso del arándano (1 mM y 10 mM), los cuales fueron evaluados por técnicas de espectrofotometría UV-Vis para obtener los datos relativos a la ubicación del pico de absorbancia óptica y la longitud de onda, este dato nos da en un primer momento una idea de si realmente se logró nanopartículas con geometría esférica, esto debido a la resonancia de plasmón superficial. También se evaluó por la técnica de DLS (Dynamic Light Scattering) o Dispersión de Luz Dinámica que está basado en el movimiento Browniano de las partículas en suspensión, haciendo que la luz láser se disperse en diferentes intensidades, generando fluctuaciones de intensidad y la velocidad del movimiento browniano, con estas características al utilizar la relación de Stokes-Einstein dan como resultado el tamaño de la partícula (como medida del diámetro hidrodinámico de las nanoesferas logradas).

El índice de polidispersidad (IP) nos da sólo una idea de la polidispersidad de la muestra, pero no nos permite conocer como es la distribución completa de los tamaños.

Los resultados de espectrofotometría UV-Vis indican la presencia de nanopartículas de plata, esto debido a la ubicación del pico de resonancia de plasmón; se puede observar que para la muestra de 1mM está ubicado en 408 nm, sin embargo al incrementar la concentración del extracto acuoso a un valor de 10 mM este pico se desplaza hacia el redshift (derecha) con una ubicación en 412 nm, lo cual significa una mejor formación de la nanoestructura de tipo esférica y un ligero incremento del diámetro; pero para un mejor entendimiento es mejor comparar los picos de absorbancia, el cual aumenta al igual que cuando se acrecienta la concentración molar, pues pasa de 0.41 u.a. a 0.6 u.a. ; esto se relaciona al incremento de una mayor producción de nanopartículas de plata, es decir se da una reacción completa con el nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ), sin embargo al parecer existe la formación de clústers los cuales forman grandes conglomerados de nanopartículas, detectándose como un

incremento en diámetro de nanopartículas de plata (NP Ag). (Tabla 1).

TABLA 1  
RESULTADOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA

Muestra	Long. De Onda (nm)	Abs (u.a)
1mM	408	0.41
10 mM	412	0.6

La ubicación del pico de resonancia de plasmón, nos aseguró la formación de NP Ag, sin embargo, cabe destacar que con los resultados anteriores es posible calcular el diámetro de las nanoesferas utilizando la Teoría de Mie.

Para una mejor aproximación del diámetro se realizó el análisis de dispersión de luz dinámica (DLS), obteniéndose valores de 36.67 nm y 48.74 nm para las concentraciones de 1 mM y 10 mM respectivamente. Esta variación corrobora los resultados de espectrofotometría.

Respecto al índice de polidispersidad (IP), se observa que tienen tendencia a ser monodispersas, pues los valores cercanos a cero tienen uniformidad en tamaños, por el contrario, los valores cercanos a la unidad poseen gran variedad de tamaños [18], es así como la muestra de 10 mM es ligeramente más monodispersa con un valor de IP de 0.188, que la muestra de 1 mM cuyo resultado es de 0.191, (Tabla 2).

TABLA 2  
RESULTADOS DE DLS PARA APROXIMACIÓN EN DIÁMETRO DE NP Ag

Muestra	Diámetro (nm)	IP
1mM	36.67	0.191
10 mM	48.74	0.188

Se realizó análisis por microscopía electrónica de transmisión (MET), a ambas muestras, los mismos que confirman el haber logrado partículas nanométricas con geometría esférica.

En lo relacionado a la polidispersidad, se puede observar claramente que para el caso de 1 mM de extracto acuoso de arándano, no existe una uniformidad en los diámetros de las nanopartículas, observándose también la formación de conglomerados en tamaño y algunas geometrías alargadas, también se pudo observar que en algunas zonas está presente algunos cristales, estos quizás correspondientes al nitrato de plata el cual no se logró reducir en su totalidad, este resultado sumado al de espectrofotometría y DLS dan en manifiesto que en los tres métodos de caracterización reúnen la información de que la reacción, a la concentración comentada, es

incompleta, esto quizás debido a la falta de antocianos los cuales actúan en su mayoría como potente reductor (Fig. 2).

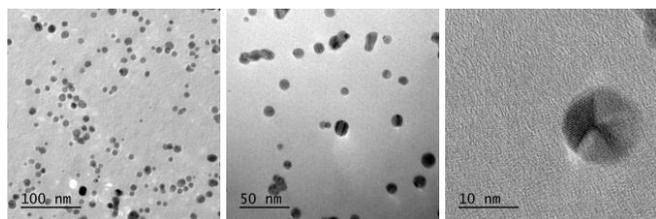


Fig. 2. Microscopía electrónica de transmisión de nanopartículas de plata sintetizadas con extracto acuoso de arándano, a una concentración de 1 mM.

En lo que corresponde las imágenes TEM de la muestra de nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de arándano a una concentración de 10 mM, es posible notar una mejor uniformidad del tamaño de las nanoestructuras, su mejor formación y la no formación de conglomerados; esto debido a que hubo un proceso de reducción del nitrato de plata más completa, tampoco se notó la presencia de cristales. El resultado de DLS refiere una disminución en el tamaño, (9.74 nm) lo cual es corroborado por las imágenes TEM.

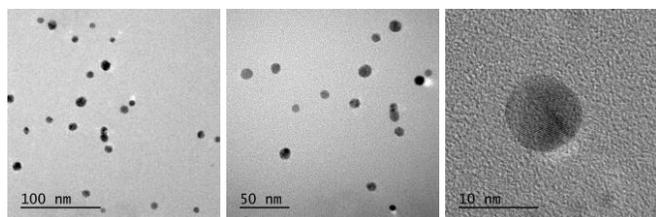


Fig. 3. Microscopía electrónica de transmisión de nanopartículas de plata sintetizadas con extracto acuoso de arándano, a una concentración de 10 mM.

#### IV. CONCLUSIONES

Se determinó la eficacia del extracto acuoso de arándano en el proceso de síntesis de nanopartículas de plata, sugiriendo nuestros resultados que se pueden lograr nanoestructuras con tamaños de hasta 36.67 nm, a su vez el efecto de la variación de la concentración molar de extracto es un factor importante, el cual al incrementarse se da una reacción más completa, lográndose una mejor geometría esférica de la nanoestructura y a su vez una mayor producción; un así es necesario el desarrollo de futuros trabajos en donde se puedan obtener más cantidad de antocianos, los cuales implicaría una mejora en la técnica y manejo de la estabilidad de las nanopartículas, a fin de determinar parámetros óptimos; a su vez desarrollar la aplicabilidad en diversos ámbitos.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del proyecto de investigación del Departamento de Ciencias de la Universidad Privada del Norte (UPN), Trujillo.

Agradecemos particularmente al Dr. Manuel Romero Cano, catedrático e investigador del Departamento de Física de la Universidad de Almería (UAL), España, por los análisis realizados.

También un agradecimiento a la Dirección Nacional de Investigación y Desarrollo (DNID) de la Universidad Privada del Norte (UPN), por el apoyo brindado para la difusión de la investigación.

#### REFERENCIAS

- [1] Tagad, C. K., Dugasani, S. R., Aiyer, R., Park, S., Kulkarni, A., & Sabharwal, S. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles and their application for the development of optical fiber based hydrogen peroxide sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 183, 144-149.
- [2] Sharma, V. K., Yngard, R. A., & Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in colloid and interface science*, 145(1-2), 83-96.
- [3] Petica, A., Gavrilu, S., Lungu, M., Buruntea, N., & Panzaru, C. (2008). Colloidal silver solutions with antimicrobial properties. *Materials Science and Engineering: B*, 152(1-3), 22-27.
- [4] Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. *Journal of advanced research*, 7(1), 17-28.
- [5] Prabhu, S., & Poulouse, E. K. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International nano letters*, 2(1), 32.
- [6] Kharissova, O. V., Dias, H. R., Kharisov, B. I., Pérez, B. O., & Pérez, V. M. J. (2013). The greener synthesis of nanoparticles. *Trends in biotechnology*, 31(4), 240-248.
- [7] Deepali Sharma, Suvardhan Kanchi, Krishna Bisetty (2015). Biogenic synthesis of nanoparticles: A review. *Arabian Journal of Chemistry*.
- [8] Logeswari, P., Silambarasan, S., & Abraham, J. (2015). Synthesis of silver nanoparticles using plants extract and analysis of their antimicrobial property. *Journal of Saudi Chemical Society*, 19(3), 311-317.
- [9] Padalia, H., Moteriya, P., & Chanda, S. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles from marigold flower and its synergistic antimicrobial potential. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(5), 732-741.
- [10] Khalil, M. M., Ismail, E. H., El-Baghdady, K. Z., & Mohamed, D. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles

using olive leaf extract and its antibacterial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(6), 1131-1139.

[11] Hebbalalu, D., Lalley, J., Nadagouda, M. N., & Varma, R. S. (2013). Greener techniques for the synthesis of silver nanoparticles using plant extracts, enzymes, bacteria, biodegradable polymers, and microwaves. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1(7), 703-712.

[12] Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology advances*, 31(2), 346-356.

[13] Hoag, G. E., Collins, J. B., Holcomb, J. L., Hoag, J. R., Nadagouda, M. N., & Varma, R. S. (2009). Degradation of bromothymol blue by 'greener' nano-scale zero-valent iron synthesized using tea polyphenols. *Journal of Materials Chemistry*, 19(45), 8671-8677.

[14] Manquián-Cerda, K., Cruces, E., Rubio, M. A., Reyes, C., & Arancibia-Miranda, N. (2017). Preparation of nanoscale iron (oxide, oxyhydroxides and zero-valent) particles derived from blueberries: Reactivity, characterization and removal mechanism of arsenate. *Ecotoxicology and environmental safety*, 145, 69-77.

[15] Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., & Debut, A. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using Andean blackberry fruit extract. *Saudi journal of biological sciences*, 24(1), 45-50.

[16] Nadagouda, M. N., Iyanna, N., Lalley, J., Han, C., Dionysiou, D. D., & Varma, R. S. (2014). Synthesis of silver and gold nanoparticles using antioxidants from blackberry, blueberry, pomegranate, and turmeric extracts. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(7), 1717-1723.

[17] Asmat, E; et al. (2018). Efecto de las Nanopartículas de plata sobre *Salmonella typhi* y *Streptococcus pyogenes* in vitro. Tesis de pregrado. EAP Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo. Perú.

[18] Lacheros, R., Beleño, J., et al. (2014) "Producción de nanopartículas de PLGA por el método de emulsión y evaporación para encapsular N-Acetilcisteína (NAC). *Revista Universitas Scientiarum*, 19 (2), pp. 161-168. Recuperado en 21 de Enero de 2019, de: <http://www.scielo.org.co/pdf/unsc/v19n2/v19n2a09.pdf>