

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Biosíntesis de Nanopartículas Metálicas Utilizando Extracto Acuoso de *Opuntia*
spp de Poblaciones Silvestre y Cultivada

Por:

MARÍA BRENDA OLIVIA BAYLON PALOMINO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México
Agosto 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Biosíntesis de Nanopartículas Metálicas Utilizando Extracto Acuoso de *Opuntia*
spp de Poblaciones Silvestre y Cultivada

Por:

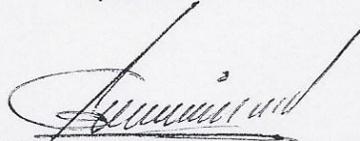
MARÍA BRENDA OLIVIA BAYLON PALOMINO

TESIS

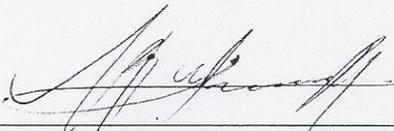
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

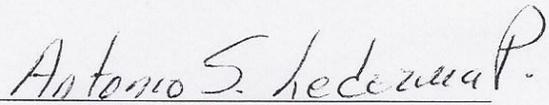
Aprobada



Dr. Manuel De La Rosa Ibarra
Asesor Principal



Dra. Ana Margarita Rodríguez Hernández
Coasesor



Dr. Antonio Serguei Ledezma Pérez
Coasesor



Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México
Agosto 2015

DEDICATORIA

A Dios y a la Virgen María por brindarme la sabiduría y paciencia para poder lograr esta meta.

A mi madre la Sra. Ma. Guadalupe Palomino Aoytes que amo y admiro sobre todo, ya que me ha enseñado a valorar y realizar las pruebas que se presenten por más difíciles que estas sean, con todo el cariño y amor que una madre pueda brindar.

A mi hermano Adolfo Baylon Palomino por su apoyo incondicional, regaños y consejos, por demostrarme que la perseverancia y constancia hacen llegar al éxito, que no decides de dónde vienes pero si en donde quieres estar.

A mis tíos Agustín, Leandro y Luis Palomino por alentar a seguir en el camino correcto aunque esto no siempre fuera lo más fácil.

A mi abuela Hilaria Aoytes Sandoval un ángel que cuida a toda la bella familia que en vida formó y seguirá cuidándonos desde donde se encuentre.



AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo financiero recibido por CONACYT a través del proyecto #250848 de la convocatoria Laboratorios Nacionales 2015 y el proyecto #174806 el consorcio BioNano de la convocatoria conjunta CONACYT/CNPq (Brasil) 2011.

A la Dra. Ana Margarita Rodríguez Hernández por la confianza, el conocimiento brindado a lo largo de este periodo.

Al Dr. Antonio Serguei Ledezma Pérez por la experiencia, el apoyo y dedicación aportada al proyecto.

Al Dr. Manuel De La Rosa Ibarra por la disposición, conocimiento y tiempo dedicado.

A Lic. Gabriela Padrón Gamboa, M.C. Eduardo Alfonso Treviño López y Lic. Jesús Alejandro Espinosa Muñoz por el apoyo técnico recibido durante la realización de este estudio, tanto en laboratorio como en campo.

Dr. Marco Antonio Castillo Campohermoso por el apoyo brindado.

A mi familia ya que sin su apoyo la realización de este objetivo no se hubiera cumplido. Sobre todo a mi hermosa madre y a mi hermano.

A mis amigos Mariela, Yessenia, Irvin, Evelyn, Ely, Fernanda, Lulú y Lizbeth por todos los momentos vividos y alegrías compartidas. A Diego Armando por todos estos años de amistad, cariño y confianza brindada.

A Luis Alberto Martínez Rodríguez por su cariño y comprensión durante los tiempos difíciles.



ÍNDICE

RESUMEN	VI
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL	4
Objetivos específicos	4
HIPÓTESIS	4
ANTECEDENTES	5
Nanotecnología y su impacto en la industria	5
Métodos de síntesis de nanopartículas	7
• Método coloidal.....	9
• Reducción fotoquímica y radioquímica	10
• Irradiación con microondas.....	12
• Utilización de dendrímeros.....	13
• Síntesis solvotermal	14
• Método sol-gel.....	16
Aplicaciones de nanopartículas metálicas.....	17
Importancia de la biosíntesis de nanopartículas	18
Síntesis de nanopartículas con especies vegetales	19
Composición química del genero <i>Opuntia spp</i>	23
Composición de las partes de la planta de acuerdo al estado fisiológico.....	24
• Frutos	24
• Los cladodios	25
• Flores.....	25
Compuestos químicos relacionados con las síntesis de nanopartículas	26
Técnicas modernas para la caracterización de nanopartículas y compuestos presentes en los extractos vegetales	29
• Espectroscopia UV.....	29
• Microscopio electrónico de transmisión (TEM).....	30
• Técnicas cromatograficas	31
• Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)	32
• Cromatografía de gases.....	32



• Cromatografía de capa fina (TLC)	33
METODOLOGÍA	34
Obtención de extracto acuoso y análisis bromatológico	35
Síntesis de nanopartículas metálicas.....	37
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
Contenido de azúcares reductores y fenoles en relación con la biosíntesis de nanopartículas en <i>Opuntia ficus-indica</i> en condición silvestre y cultivada.....	38
Análisis bromatológico de especies de <i>Opuntia</i> en condición silvestre.....	45
Contenido de azúcares reductores y fenoles en relación con la biosíntesis de nanopartículas en <i>Opuntia spp</i> en condición silvestre	48
Identificación de fenoles por Cromatografía de Capa Fina	52
CONCLUSIONES	54
BIBLIOGRAFÍA	55
ANEXOS	66
I.Determinación de sólidos solubles e insolubles.....	66
II.Determinación de proteínas totales por le método de microkjeldahl.....	67
III.Determinación de proteína soluble por el método Bio-Rad.....	68
IV.Determinación de Azucares Totales (Método de Antrona)	70
V.Determinación azúcares reductores por el método de Somogy-Nelson.....	73
VI.Determinación de Fenoles Totales por el Método Folin- Ciocalteu.....	76
VII.Determinación de fenoles utilizando cromatografía en capa fina (TLC).....	78

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Nombre científico y nombre común de las especies de <i>Opuntia spp</i> colectadas.	34
Cuadro 2. Análisis bromatológico de plantas de <i>Opuntia spp</i> colectadas en el ejido Palma Gorda, Saltillo, Coahuila. Parámetros SS: Sólidos solubles; SI: Sólidos insolubles; AT: Azúcares totales; PT: Proteínas totales; PS: Proteínas solubles.	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Flavonoides detectados en <i>Opuntia spp</i> comercial y silvestre.....	27
Figura 2. Ácidos fenólicos detectados en el estudio de <i>Opuntia spp</i> comercial y silvestre....	28
Figura 3. Desespinado de nopales (1). Cortado de nopales en trozos de aproximadamente 1 cm (2). Cocción de nopales a 95 °C durante 20 minutos (3). Liofilización de extractos de nopal (4).....	36
Figura 4. Cambio de coloración utilizando extracto acuoso de <i>Opuntia spp</i> . Cero horas (1), una hora (2), dos horas (3), cuatro horas (4).....	37
Figura 5. Contenido de azúcares reductores presentes en <i>Opuntia ficus-indica</i> variedad Copena y Milpa-alta en diferentes meses del año	40
Figura 6. Comportamiento de la máxima absorbancia registrada en la síntesis de nanopartículas obtenida mediante espectroscopia UV a una longitud de onda de 420 nm. ...	40
Figura 7. Espectro UV-Visible de la reacción de biosíntesis de nanopartículas de plata utilizando extracto acuoso de <i>Opuntia spp</i>	42
Figura 8. Contenido de fenoles presentes en <i>Opuntia ficus-indica</i> en condición cultivada y silvestre.....	44
Figura 9. Contenido de azúcares reductores presentes en especies silvestres de <i>Opuntia spp</i>	49
Figura 10. Comportamiento de la máxima absorbancia registrada en la síntesis de nanopartículas obtenida mediante espectroscopia UV a una longitud de onda de 420 nm en poblaciones silvestres de <i>Opuntia spp</i>	49
Figura 11. Contenido de fenoles totales presentes en diferentes especies de <i>Opuntia silvestre</i>	51
Figura 12. Bandas obtenidas a través de TLC en la identificación de fenoles presentes en las muestras de <i>Opuntia spp</i> colectadas dónde; ¹ Milpa-alta cultivada, ² Milpa-alta silvestre, ³ Copena cultivada, ⁴ Copena silvestre, ⁵ Nopal Cardón tuna blanca, ⁶ Nopal Cardón, ⁷ Milpa-alta silvestre tuna, ⁸ Nopal rastrero, ⁹ Coyonoxtle.....	53

RESUMEN

Durante la investigación se realizaron tres colectas en diferentes épocas del año, las colectas fueron realizadas ejido Palma Gorda, Saltillo, Coahuila, se eligieron 9 especies de *Opuntia* tanto silvestre como cultivada. Posteriormente fueron llevadas al laboratorio de Microbiología ubicado en el Centro de Investigación de Química Aplicada esto con el objetivo de comparar el extracto acuoso de *Opuntia spp* cultivada y silvestre para la biosíntesis de nanopartículas metálicas. Las muestras fueron desespínadas y liofilizadas para obtener extracto en polvo para un manejo factible, seguido de un estudio bromatológico el cual incluyó sólidos solubles e insolubles, azúcares totales y reductores, proteínas totales y solubles, además de fenoles totales. La siguiente etapa consistió en la síntesis de nanopartículas metálicas utilizando como agente reductor el extracto de las diferentes especies colectadas en donde el extracto de Cuyonoxtle demostró ser el mejor para la síntesis de nanopartículas además de presentar el mayor porcentaje de proteínas totales con 3.6%, 8.28%, 9.88% respectivamente obtenidos en las tres colectas realizadas. En fenoles totales el porcentaje obtenido en todas las especies fue muy pequeño ya que ninguna excede 0.005% en ninguna de las colectas realizadas. Se pudo demostrar que al utilizar extracto de *Opuntia spp* en condición silvestre o cultivada la síntesis de nanopartículas metálicas es eficiente, por lo que al utilizar especies silvestres no se compite con el mercado para consumo humano.

Palabras clave; Caracterización química, extracto acuoso, síntesis verde.

Correo electrónico; María Brenda Olivia Baylon Palomino, baylon.olivia@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La síntesis de nanopartículas de metales nobles ha cobrado gran importancia hoy en día debido a sus múltiples aplicaciones (Moreno-Manas y Pleixats, 2003). El uso de nanopartículas metálicas, promete beneficios de gran importancia en campos diversos como el área médica así como el desarrollo tecnológico y del medio ambiente (Wilson *et al.*; 2002). Para llevar a cabo la síntesis de nanopartículas metálicas, se han desarrollado diversos métodos físicos y químicos. Dentro de las técnicas aplicadas para llevar a cabo la síntesis de nanopartículas mediante métodos físicos, se encuentran: tecnologías en aerosol, litografía, ablación láser y campos ultrasónicos, los cuales han sido usados exitosamente para producir nanopartículas, sin embargo estas metodologías son muy costosas ya que utilizan equipos poco accesibles y/o altas cantidades de energía. (Seung *et al.*; 2006); (Deying *et al.*; 2008). Por otra parte, para llevar a cabo la síntesis de nanopartículas mediante la aplicación de métodos químicos, involucra el uso agentes reductores de origen natural o sintético, que actúan sobre iones metálicos para producir nanopartículas. También se ha recurrido al uso de agentes surfactantes para el control de la morfología y tamaño así como de solventes orgánicos. Sin embargo, estos reactivos son usualmente nocivos para el humano y el ambiente.

Actualmente, la búsqueda de tecnologías amigables con el medio ambiente ha permitido el desarrollo de investigación dirigida hacia lo que hoy en día se define como “Síntesis verde”. El caso de la síntesis de nanopartículas metálicas, se ha dirigido al uso de diferentes organismos (bacterias, hongos) así como plantas y sus

extractos donde sus componentes participan como agentes biológicos en las reacciones de reducción y formación de nanopartículas metálicas, estableciendo de esta forma una estrategia de síntesis o ruta verde. Hojas de Té Negro (Naznin *et al*; 2009); *Capparis zeylanica* (Saranyaadevi *et al.*; 2014), *Elaeocarpus ganitrus* Roxb., *Terminalia arjuna* Roxb., *Pseudotsuga menzietii*, *Prosopisspicigera*, *Ficus religiosa*, *Ocimum sanctum*, *Curcuma longa* (Dwivedi *et al.*; 2014), *Syzygium cumini* L. (Kumar y Kumar; 2012) son especies de las cuales se ha utilizado su extracto para la síntesis y caracterización de nanopartículas de plata y oro.

Rico-Moctezuma *et al* (2010) llevaron a cabo la síntesis de nanopartículas de oro por medio de un procedimiento sencillo empleando extracto de nopal (*Opuntia ficus-indica*) como agente reductor. El procedimiento de biosíntesis de nanopartículas de oro involucra la reacción del extracto vegetal con soluciones acuosas de HAuCl_4 , dando como resultado soluciones con tonalidad amarillo claro a violeta, dependiendo de la concentración de nanopartículas formadas así como una banda de absorción a 540 nm registrada mediante espectroscopia de UV-VIS característica de la formación de nanoestructuras de oro. Ledezma *et al.*, (2014) sintetizaron nanopartículas de plata (AgNPs) utilizando como agente reductor extracto acuoso de nopal (*Opuntia sp.*) en presencia de polímeros biocompatibles solubles en agua como poli (vinil alcohol) [PVA] para la estabilización de las nanopartículas.

Hasta el momento, se han realizado trabajos de síntesis de nanopartículas utilizando como agente reductor extractos de diferentes especies entre ellas de nopal, sin embargo, no se ha hecho un estudio exhaustivo de si la eficiencia en la biosíntesis de las nanopartículas metálicas se relaciona directamente con la composición

química del extracto acuoso de *Opuntia spp* y más aún, si esta diferencia está relacionada con el tipo de población bien sea silvestres o cultivadas.

Por lo anterior, en este trabajo se planteó la caracterización química de extractos acuosos de *Opuntia spp*, la evaluación de los extractos como una alternativa para llevar a cabo una biosíntesis de nanopartículas de plata económica, sencilla y amigable con el medio ambiente, así como establecer el efecto de la composición del extracto y el origen de *Opuntia spp* sobre la biosíntesis de nanopartículas de plata.

OBJETIVO GENERAL

Realizar un estudio experimental que permita comparar la factibilidad de uso de extracto acuoso de *Opuntia spp* cultivada y silvestre como agente para la biosíntesis y formación de nanopartículas metálicas.

Objetivos específicos

1. Obtener extractos acuosos de *Opuntia spp* proveniente de poblaciones cultivadas y silvestres e identificar y cuantificar los compuestos presentes mediante la caracterización bromatológica del extracto.
2. Determinar el efecto de la composición y tipo de componentes presentes en el extracto acuoso de *Opuntia spp* sobre la efectividad en la biosíntesis, tamaño y morfología de las nanopartículas metálicas biosintetizadas para su denominación.
3. Identificar la biomolécula o biomoléculas responsables de la capacidad reductora necesaria para la formación de nanopartículas metálicas.

HIPÓTESIS

Algunos compuestos presentes en el extracto acuoso de *Opuntia spp* determinan la capacidad de reducción de iones metálicos y su eficiencia en la biosíntesis de nanopartículas metálicas.

ANTECEDENTES

Nanotecnología y su impacto en la industria

La nanotecnología responde a procesos técnicos novedosos (manipulación directa de átomos y moléculas, y aplicación a materia viva o no viva) en escala muy pequeña, un rango entre 1 y 100 nanómetros. Sus usos actuales y potenciales abarcan diversas ramas de la economía. (Foladori e Invernizzi, 2005).

La nanotecnología no es una tecnología específica; ni siquiera un grupo de tecnologías bien definidas. La nanotecnología es más bien un campo muy amplio y heterogéneo de la tecnología en la que se diseñan, caracterizan, producen y aplican estructuras, componentes y sistemas manteniendo un control sobre el tamaño y la forma de sus elementos constituyentes (átomos, moléculas o macromoléculas) a nivel de la escala de los nanómetros, de tal manera que dichas estructuras, componentes o sistemas poseen al menos una propiedad característica nueva o mejorada debido al pequeño tamaño de sus constituyentes.(IDEPA, 2006).

Las aplicaciones de la nanotecnología en lo que a la industria se trata son muy variadas e incluyen:

- a) Tecnologías de la información y las telecomunicaciones (TIC's): Memorias RAM, láser de punto cuántico, estudios de investigación y desarrollo (I+D) de nanoelectrónica basada en nanotubos de carbono (I+D), circuitos ópticos integrados, aplicación a moduladores y conmutadores ópticos (I+D), superlentes (I+D), cristales fotónicos (I+D), monitores LCD basados en nanotubos de carbono (I+D), etc.
- b) Industria automotriz: Recubrimientos transparentes anticondensación basados en nanotubos de carbono, nanocompuestos, etc.

- c) Industria de biotecnología: Detección de bacterias mediante nanopartículas bioconjugadas, fotosistemas para conversión de energía solar, membranas nanoporosas de alúmina (I+D), etc.
- d) Industria médica y farmacéutica: Nanodiagnóstico mediante quantum dots, detectores de CO₂ y sistemas de monitorización de función respiratoria, terapia mediante nanopartículas, liberación controlada de fármacos, medicina regenerativa, Sustitutos óseos, implantes de rodilla y cadera, modificación de sueros en medicamentos, polímeros electroactivos para su uso como músculos artificiales (I+D), sensores de ADN (I+D), sensores de antígenos (I+D) entre otros.
- e) Industria aeroespacial: Plásticos conductores eléctricos, recubrimientos para componentes sometidos a altas temperaturas de operación, materiales cerámicos cristalinos transparentes, etc.
- f) Industria textil: Tejidos con superficie nanoestructurada repelentes a la suciedad y al agua, productos textiles antimicrobianos, etc.
- g) Industria cosmética: Cremas solares, lentes de contacto de colores, etc.
- h) Industria de la construcción: Modificación de pinturas y barnices con nanopartículas, aditivos para la optimización del rendimiento cemento-hormigón, nanocompuestos poliméricos de arcilla para el reciclaje de PET, pegamentos rápidos y activados a distancia basados en nanopartículas de ferrita, vidrios orgánicos como alternativa al vidrio común (I+D) entre otros.
- i) Industria energética: Baterías de ión-litio con ánodo basado en nanopartículas de titanato de litio, pilas de combustible, células solares flexibles, recubrimiento antirreflejante ideal (I+D), etc.

- j) Industria metal-mecánica y de bienes de equipo: Tratamientos superficiales de piezas metálicas sometidas a desgaste, materiales antifricción, materiales con alta dureza para herramientas de corte, nanofiltración, etc. (IDEPA, 2006)

Métodos de síntesis de nanopartículas

Los métodos de síntesis de nanopartículas suelen agruparse en dos categorías, las aproximaciones «de arriba hacia abajo» y las «de abajo hacia arriba» (Rao *et al.*, 2004; Schmid, 2004). La primera consiste en la división de sólidos másicos en porciones más pequeñas. Este enfoque puede involucrar la molienda o el desgaste, métodos químicos, y la volatilización de un sólido seguido por la condensación de los componentes volatilizados. La segunda aproximación, «de abajo hacia arriba», consiste en la fabricación de nanopartículas a través de la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en solución. Este último enfoque es mucho más popular en la síntesis de nanopartículas. Las nanopartículas pueden ser soportadas o no. El soporte da estabilidad a las nanopartículas, además de que les puede conferir propiedades específicas (Wachs, 2001)

Existen varios métodos que utilizan la aproximación «de arriba hacia abajo», los más representativos son (Rao *et al.*, 2004; Schmid, 2004): a) La evaporación térmica, que consiste en el calentamiento hasta la evaporación del material que se pretende depositar. Se lleva a cabo en una cámara de vacío en la que se condensa el vapor sobre una lámina fría requiriendo en todo momento un control preciso de las condiciones de crecimiento para no producir una modificación de la morfología de la capa depositada. b) El depósito químico en fase vapor (CVD, por sus siglas en

inglés) que consiste en la descomposición de uno o varios compuestos volátiles, en el interior de una cámara de vacío (reactor), en o cerca de la superficie de un sólido para dar lugar a la formación de un material en forma de capa delgada o de nanopartículas. c) La preparación de clusters gaseosos, que utiliza un láser pulsado de alta potencia para producir vapores atómicos metálicos que son acarreados en un gas inerte y posteriormente son depositados en un óxido monocristalino u otro sustrato, bajo condiciones de ultra-alto vacío. d) La implantación de iones, que consiste en que los iones de un material pueden ser implantados en un sólido, cambiando por tanto las propiedades físicas y químicas de este último, ya que el ion implantado puede ser de un elemento distinto al que lo compone, también se pueden causar cambios estructurales en el sólido implantado, puesto que la estructura cristalina del objetivo puede ser dañada. El equipamiento necesario para la implantación de iones suele consistir en una fuente de iones que produce los iones del elemento deseado, un acelerador donde dichos iones son electrostáticamente acelerados hasta alcanzar una alta energía, y una cámara donde los iones impactan contra el objetivo. Cada ion suele ser un átomo aislado, y de esta manera la cantidad de material que se implanta en el objetivo es en realidad la integral respecto del tiempo de la corriente de ion. Esta cantidad es conocida como dosis. Las corrientes suministradas suelen ser muy pequeñas (microamperios), y por esto la dosis que puede ser implantada en un tiempo razonable es también pequeña. Por todo esto, la implantación de iones encuentra aplicación en los casos en que el cambio químico necesario es pequeño. Las energías típicas de ion se encuentran en el rango de 10 a 500 keV. La energía de los iones junto con la especie de ion y la composición del objetivo determina la profundidad de penetración de los iones en el sólido. e) La

molienda de partículas de tamaño macro o micrométrico, por medio de molinos de alta eficiencia; las partículas resultantes son clasificadas por medios físicos, recuperándose las de tamaño nanométrico. Dado que la molienda enérgica y continua de los materiales iniciales puede inferir cambios energéticos en los sólidos, debido a la acumulación de defectos en situación de no-equilibrio, esto puede causar una disminución de las energías de activación, activando los sólidos para llevar a cabo reacciones químicas en estado sólido. La activación mecano-química de sólidos cristalinos puede producir también alteraciones y cambios tanto texturales como estructurales, que pueden resultar de gran interés en el desarrollo de materiales (Boldyrev, 2006; Imamura *et al.*, 1984). La mecano-síntesis por reacción entre metales y óxidos ha sido estudiada en algunos sistemas con el objeto de obtener materiales compuestos nanoestructurados (Schmid, 2004; Takacs, 1993).

Existen diversos métodos que utilizan la aproximación de “abajo hacia arriba” para la síntesis de nanopartículas, los más empleados son aquellos que utilizan procedimientos químicos. Por lo general, dichos procedimientos inician con la reducción de los iones metálicos a átomos metálicos, seguido por la agregación controlada de estos átomos. El método químico es el más conveniente para la obtención de nanopartículas uniformes y pequeñas. Los métodos más representativos de esta aproximación son:

- **Método coloidal**

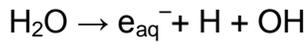
Este método consiste en disolver una sal del precursor metálico o del óxido a preparar, un reductor y un estabilizante en una fase continua o dispersante (un

líquido en este caso). Este último puede jugar el papel de reductor, de estabilizante o ambos. En principio el tamaño promedio, la distribución de tamaños y la forma o morfología de las nanopartículas se pueden ser controlar mediante variaciones en la concentración de los reactantes, del agente reductor y del estabilizante así como la naturaleza del medio dispersante. Por este método se pueden formar dispersiones estables por periodos de tiempo muy largos, por ejemplo, Michel Faraday, en 1857, creó dispersiones coloidales de oro, que hoy en día aún permanecen estables (Faraday, 1957)

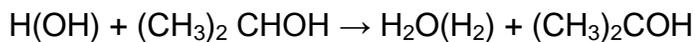
- **Reducción fotoquímica y radioquímica**

La síntesis de nanopartículas metálicas modificando el sistema químico por medio de altas energías se asocia con la generación de reductores fuertes altamente activos como electrones, radicales y especies excitadas. La reducción fotoquímica (fotólisis) y la radicación-química (radiólisis) difieren en el nivel de energía utilizado. La síntesis fotoquímica se caracteriza por energías por debajo de 60 eV, mientras que la radiólisis utiliza energías de 103-104 eV. Los métodos de reducción fotoquímica y radioquímica tienen como ventaja sobre el método de reducción química la ausencia de impurezas formadas cuando se usan reductores químicos, por lo que estos métodos producen nanopartículas de alta pureza. Además, la reducción fotoquímica y radioquímica permiten producir nanopartículas en condiciones de estado sólido y a bajas temperaturas. La reducción fotoquímica en solución se emplea frecuentemente para sinterizar partículas de metales nobles. Estas

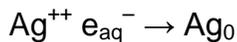
partículas se obtienen a partir de las correspondientes sales en agua, alcohol o solventes orgánicos. En estos medios, bajo la acción de la luz, se forman las siguientes especies activas:



En el caso de reacciones con alcoholes, un átomo de hidrógeno y un radical hidroxilo producen un radical alcohol:

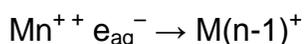


Un electrón solvatado interacciona con, por ejemplo, un átomo de plata, reduciendo el metal (Sergeev, 2006):



Se ha descrito también la síntesis de nanopartículas de plata en nanoemulsiones por reducción utilizando radiólisis (Revina *et al.*, 1999), obteniéndose distribuciones de tamaño de partícula muy estrechas. Debido a su disponibilidad y reproducibilidad, la reducción por radiación-química para sintetizar nanopartículas está teniendo una gran aceptación. En la fase líquida, las etapas asociadas con la distribución espacial de los productos intermediarios juegan un papel esencial en la producción de nanopartículas metálicas. En contraste con la fotólisis, la distribución de los intermediarios generados durante el proceso de síntesis es más uniforme, lo que permite obtener partículas con distribuciones de tamaño más estrechas. El método de radiólisis pulsada permite la síntesis de partículas metálicas activas con estados de oxidación inusuales (Ershov, 1997). La reacción con un electrón

hidratado e_{aq}^- que tiene un alto potencial de reducción, procede de la siguiente manera:



La presencia de un electrón unitario en el orbital exterior de un átomo o de un ion metálico determina su alta reactividad química. En el transcurso de la reducción por radiación-química, inicialmente se forman átomos o pequeños clusters metálicos, los cuales son transformados en nanopartículas.

- **Irradiación con microondas**

La técnica de irradiación con microondas produce nanopartículas con una muy baja dispersión de tamaño, aunque no siempre se logre un control preciso en la morfología, como pasa en la mayoría de las técnicas de “abajo hacia arriba”. Las microondas actúan como campos eléctricos de alta frecuencia, capaces de calentar cualquier material conteniendo cargas eléctricas como las moléculas polares en un disolvente o iones conductores en un sólido. Los solventes polares se calientan y sus componentes moleculares se ven obligados a girar con el campo y pierden energía en colisiones. Las muestras conductoras y semiconductoras se calientan cuando los iones y los electrones contenidos en ellas forman una corriente eléctrica y la energía se pierde debido a la resistencia eléctrica del material. En los últimos años, el proceso de calentamiento asistido por microondas se ha utilizado como una alternativa atractiva para la síntesis de materiales a escala nanométrica, dado que es un método rápido, uniforme y efectivo, que permite incrementar las cinéticas de

reacción en uno o dos órdenes de magnitud. Nanopartículas coloidales de Pt, Ru, Ag y Pd estabilizados por polímeros han sido preparadas por calentamiento con microondas, a partir de las sales precursoras del metal disueltas en soluciones de etilenglicol (Zhu *et al.*, 2004). Por otra parte, el calentamiento por microondas de las muestras líquidas permite la disminución de las fluctuaciones de temperatura en el medio de reacción, proporcionando, así, un entorno más homogéneo para la nucleación y el crecimiento de las partículas metálicas (Patel *et al.*, 2005; Zhu *et al.*, 2004)

- **Utilización de dendrímeros**

La síntesis de nanopartículas también se ha llevado a cabo usando micelas, emulsiones y dendrímeros como nanorreactores que permiten la síntesis de partículas de forma y tamaño definidos. Esto se logra alterando la naturaleza de los dendrímeros. Los dendrímeros son moléculas altamente ramificadas, las que incluyen un núcleo central, unidades intermediarias repetitivas y grupos funcionales terminales (Muzafarov y Rebrov, 2000). Los dendrímeros representan nuevos tipos de macromoléculas que combinan el alto peso molecular y baja viscosidad de sus soluciones con su forma molecular tridimensional y la presencia de una estructura espacial. El tamaño de los dendrímeros varía de 2 a 15 nm y representan nanorreactores naturales. Los dendrímeros con un número pequeño de unidades intermediarias existen en forma “abierta” mientras que los que involucran muchas unidades forman estructuras esféricas tridimensionales. Los grupos terminales de los

dendrimeros pueden ser modificados con grupos hidróxidos, carboxilos, hidroxicarboxilos, entre otros.

Los dendrimeros de diferentes generaciones con varios grupos funcionales terminales han probado ser templates adecuados para la síntesis de nanopartículas monometálicas y bimetálicas. Diferentes poli(amidoaminas) han sido muy populares como dendrimeros para la síntesis de nanopartículas. Con estos dendrimeros se han sintetizado nanopartículas de oro de 1-3 nm (Kim *et al.*, 2004; Zheng y Dickson, 2002). Otros trabajos, por ejemplo, han informado que este método es útil para la síntesis de nanopartículas de platino y paladio con tamaños de partícula entre 1 y 2 nm incorporadas en dendrimeros de poli(amidoaminas) funcionalizadas con grupos amino. Los dendrimeros han sido activamente utilizados para la síntesis de nanopartículas bimetálicas (Sergeev, 2006).

- **Síntesis solvotermal**

Con el nombre general de síntesis solvotermal se agrupan una serie de técnicas en las que un precursor metálico disuelto en un líquido, en un recipiente cerrado, se calienta por encima de su punto de ebullición, lo que genera una presión superior a la atmosférica (normalmente moderada). El líquido habitual es el agua, y de ahí el nombre de “síntesis hidrotermal”; sin embargo, cada vez se van utilizando con mayor frecuencia otros medios líquidos: tales como disolventes orgánicos, amoníaco líquido, hidracina, etc., y tenemos entonces la síntesis solvotermal. En este tipo de técnicas normalmente los tiempos de reacción son largos (comparados con otros

métodos químicos). La síntesis hidrotermal se refiere a reacciones heterogéneas en medio acuoso por encima de 100 °C y 1 bar. Una característica distintiva de la síntesis hidrotermal es que los reactivos que difícilmente se disuelven en agua pasan a la disolución por acción del propio disolvente o de mineralizadores. El objetivo de esta técnica es lograr una mejor disolución de los componentes de un sistema y así se logran disolver o hacer reaccionar especies muy poco solubles en condiciones habituales (p. ej., la sílice, aluminosilicatos, titanatos, sulfuros) (Xie y Shang, 2007). En este sentido cabe señalar que el agua, calentada a 600 °C (lo que obviamente requiere presión que evite su paso al estado de vapor) experimenta una disociación (H_3O^+ , OH^-) mucho mayor que lo habitual a presión ordinaria: llega a ser de 10^{-6} en lugar de 10^{-14} , lo que quiere decir que en estas condiciones, el agua, como anfótero que es, se comportará a la vez como un ácido y una base bastante fuertes, capaz por tanto de ataques ácido-base mucho más agresivos. Por otra parte, pueden añadirse distintas especies conocidas como “mineralizadores”, tanto básicos (carbonatos, hidróxidos) como ácidos (nitrato, clorhídrico, sales amónicas) oxidantes o reductores, complejantes, etc., que potenciarán la capacidad de disolución del agua en una u otra dirección. Además, el agua en estas condiciones suele actuar como agente reductor (liberando oxígeno), por lo que cabe esperar también variaciones en el estado de oxidación de los elementos implicados en la síntesis. No menos importante es la adición de especies utilizables como “plantilla” con el fin de nuclear el producto en su entorno y generar así cavidades o porosidad “a la medida” y, en este sentido, cationes orgánicos,

con geometría definidas como el terametilamonio (TMA) y otros, están siendo utilizados con gran éxito en la síntesis de nuevas especies nanométricas (Xie y Shang, 2007).

- **Método sol-gel**

El método sol-gel es un proceso químico en fase húmeda ampliamente utilizado en la ciencia de los materiales. Este método se utiliza principalmente para la fabricación de nanomateriales (normalmente un óxido metálico). Se parte de una solución química o sol que actúa como precursor de una red integrada ya sea de partículas discretas o de una red de polímeros. Los precursores típicos del proceso sol-gel son los alcóxidos metálicos y los cloruros metálicos, que sufren varias reacciones de hidrólisis y policondensación para formar una dispersión coloidal, que luego de una polimerización lenta forma un gel. En general, los alcóxidos son muy sensibles a la humedad (se descomponen muy fácilmente ante la presencia de ésta), es por ello que la hidrólisis para la formación del gel es llevada a cabo usando alcoholes como un solvente común para los diferentes líquidos inmiscibles. Un gel polimérico es una red macromolecular infinita, la cual está hinchada por solvente. Un gel puede ser creado cuando la concentración de la especie dispersa aumenta. El solvente es atrapado en la red de partículas y así la red polimérica impide que el líquido se separe, mientras el líquido previene que el sólido colapse en una masa compacta. La deshidratación parcial de un gel produce un residuo sólido elástico que se conoce como xerogel. Finalmente, este material es completamente deshidratado y eventualmente tratado

térmicamente en flujo de gas para obtener el material nanoestructurado final (de-Jong, 2009).

El método sol-gel ha sido usado en los últimos años para preparar una amplia variedad de materiales nanoestructurados. El método es atractivo porque involucra procesos a baja temperatura. También la alta pureza y homogeneidad son atribuibles a su forma de preparación en sistemas multicomponente (de-Jong, 2009).

Aplicaciones de nanopartículas metálicas

Las aplicaciones de las nanopartículas son muy variadas ya que van desde el ámbito médico hasta el medio ambiente. Las potenciales aplicaciones tecnológicas por venir son muy variadas claro ejemplo la llamada ley de Moore, que constituye actualmente la motivación principal de la industria microelectrónica y de semiconductores para encontrar mejores materiales y para desarrollar dispositivos electrónicos más compactos, más rápidos, más eficientes y sobretodo más baratos. Esta carrera tecnológica lleva a la búsqueda de otros materiales con características novedosas, como son las nanopartículas metálicas que presentan propiedades ópticas muy importantes (Cheang, 2005). En 2008, Rodríguez realizó un estudio en el cual las nanopartículas fueron utilizadas como semiconductoras y recubiertas con almidón esto con el objetivo de que el almidón las estabilizará. Alvarado *et al.*, (2014) realizaron la síntesis de nanopartículas de plata y óxido de zinc, empleando un acercamiento sonoquímico y estabilizándolas con quitosano. Las pruebas realizadas demostraron una fuerte actividad antimicrobiana de ambas nanopartículas tanto contra la bacteria *Gram negativa E. coli* ATCC 25922 como para la *Gram positiva S.*

aureus ATCC 25923. Las nanopartículas magnéticas son de sumo interés en biomedicina por sus diversas e importantes aplicaciones: i) para transporte de drogas terapéuticas o de radioisótopos, ii) como separadores magnéticos de células marcadas, iii) para el catabolismo de tumores vía hipertermia, y iv) como agentes de contraste en aplicaciones de resonancia magnética. El hecho de que puedan fabricarse con un tamaño homogéneo que va desde unos pocos nanómetros hasta decenas, las coloca en una dimensión comparable a una entidad biológica como una célula (10-100 μm), un virus (20- 450 nm), una proteína (5-50 nm) o un gen (2 nm de ancho por 10-100 nm de largo), (Hernando, 2007).

Importancia de la biosíntesis de nanopartículas

La síntesis de nanopartículas de metales nobles ha cobrado gran importancia hoy en día debido a sus múltiples aplicaciones (Moreno-Manas y Pleixast, 2003), ya que promete beneficios de varios tipos abarcando campos casi de cualquier índole, desde planos médicos, tecnológicos o beneficios al medio ambiente (Wilson *et al*, 2002). En la actualidad se han desarrollado diversos métodos para la síntesis de estos materiales a escala nanométrica con un control sobre la forma y tamaño de las nanopartículas suficientemente bueno para ser empleadas en diversas aplicaciones, sin embargo, la mayoría de los métodos de síntesis son costosos y/o agresivos con el medio ambiente, por lo que se han buscado rutas sintéticas biológicas (Frederix *et al.*, 2003; Shankar *et al.*, 2004). Los procedimientos biosintéticos más comunes involucran organismos vivos tales como bacterias (Vilchis-Nestor *et al.*, 2008), hongos (Joerger *et al.*, 2000) y plantas in vivo (Bhainsa y D'Souza, 2006) o biomasa (Gardea-Torresdey *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2007).

Síntesis de nanopartículas con especies vegetales

En la actualidad se han desarrollado diversos métodos para la síntesis de materiales a escala nanométrica con un control sobre la forma y tamaño de las nanopartículas suficientemente bueno para ser empleadas en diversas aplicaciones, sin embargo, la mayoría de los métodos de síntesis son costosos y/o agresivos con el medio ambiente, por lo que se han buscado rutas de síntesis alternativa (Frederix *et. al.*, 2003; Shankar *et.al.*, 2004). Debido al impacto que tiene la síntesis de nanopartículas en el medio ambiente, se han buscado alternativas para la producción de nanopartículas que sean más amigables con la naturaleza, también conocida como síntesis verde, que produzcan una menor cantidad de desechos tóxicos. Elementos como pétalos de flores y extractos de plantas (Philip, 2010; Dwivedi *et al.*, 2014; Kumar y Kumar; 2012) han sido exitosamente utilizados.

En 2010, Philip realizó la síntesis de nanopartículas de oro y plata utilizando el extracto de pétalo de *Hibiscus rosa sinensis*, el estudio resultó simple, rentable, estable y un método de síntesis amigable con el medio ambiente.

Dwivedi *et al.*, (2014) realizaron un estudio en el que utilizaron: *Elaeocarpus ganitrus.*, *Terminalia arjuna*, *Pseudotsuga menzietii*, *Prosopis spicigera*, *Ficus religiosa*, *Ocimum sanctum* y *Curcuma longa*, esto con el propósito de mediar en la formación de nanopartículas de plata. Para la caracterización de las nanoestructuras obtenidas, se utilizaron técnicas de espectroscopia UV/visible, microscopia electrónica de transmisión, análisis de rayos X de dispersión de energía y análisis del tamaño de las nanopartículas. La vitalidad de este estudio radicó en la información

que proporcionó a las industrias basadas en biomedicina y nanotecnología, para el desarrollo y el resultado de los productos de valor agregado, mediante la utilización de la riqueza de los recursos ecológicos globales, eliminando reactivos nocivos y tóxicos que son peligrosos para ser manipulados así como al ser aplicados.

Kumar y Kumar (2012) reportaron que con el extracto de hoja y semilla de *Syzygium cumini* L es posible la biosíntesis de nanopartículas de oro y de plata. Que la biosíntesis de ambos es diferente debido a la cantidad de polifenoles existentes en la hoja y en la semilla. Por lo que la biosíntesis de nanopartículas de oro era de menor tamaño en comparación a las nanopartículas de plata.

Se ha demostrado que la hoja de Té Negro es extremadamente eficiente en cuanto a la biosíntesis debido a que lleva una rápida formación de nanopartículas estables de diferentes morfologías: esferas, trapezoides, prismas y varillas. Esto utilizando tres diferentes soluciones acuosas de extractos derivados de las hojas del Té Negro para la síntesis de nanopartículas de oro y plata (Ara *et al.*, 2009).

La planta de *Rumex hymenosepalus* se encuentra ampliamente distribuida en América del Norte, es conocida por ser rica en moléculas antioxidantes que son utilizadas como agente reductor para la síntesis de nanopartículas. Al ser utilizada *Rumex hymenosepalus* en la síntesis de nanopartículas de plata estas crecen en un método de un solo paso, con la aplicación de temperatura y sin adición de energía externa. Las nanopartículas obtenidas se caracterizaron por microscopía electrónica de transmisión y espectroscopia de ultravioleta visible. Los diámetros de las nanopartículas obtenidas se establecieron en el rango de 2 a 40 nm. Además por

medio de la microscopía de transmisión de alta resolución y transformada rápida de Fourier se muestra que se obtienen dos tipos de estructuras cristalinas: cúbicas y hexagonales. (Rodríguez-León *et al.*, 2013).

Marchiol *et al.*, (2014) realizaron un estudio en el cual cultivaron plantas de *Brassica juncea*, *Festuca rubra* y *Medicago sativa* en solución de Hoagland durante 30 días y luego las expusieron 24 horas a una solución de AgNO_3 a 1000 ppm. En los extractos de hojas de plantas control, se determinaron las concentraciones de glucosa, fructosa, ácido ascórbico, ácido cítrico y polifenoles totales. El contenido total de plasma acoplado de plata en las fracciones de la planta se determinó por espectroscopia de emisión atómica. Las imágenes de microscopía electrónica de transmisión mostraron que existía formación de nanopartículas de plata en las raíces, tallos y hojas de las plantas. En las raíces estaban en las células parenquimatosas corticales, en la pared celular de los vasos del xilema. En la hoja las nanopartículas de plata se encontraron de diferentes tamaños y formas cerca de la pared celular así como en el citoplasma y dentro de los cloroplastos. Por lo que determinaron que la biosíntesis de nanopartículas de plata tiene una estrecha relación con el metabolismo que presenta la planta, además de que las tres especies elegidas resultaron agentes reductores muy eficientes.

La planta de alfalfa (*Medicago sativa*), es una más de las plantas usadas para la reducción de iones plata, donde la caracterización por TEM muestra una variedad de formas de las nanopartículas a través de esta biosíntesis, también en *Capsicum annuum* se reporta la formación de las estructuras metálicas con un tamaño de 20

nm, en un tiempo de reacción de 9 horas y de 40 nm en 13 horas, la forma que se presenta es esférica. (Romero, 2014)

Zargar *et al.*, (2011) reportaron que la planta de *Vitex negundo L.* es un agente reductor muy eficiente en la biosíntesis de nanopartículas de plata. Las nanopartículas de plata que resultaron de este estudio se caracterizaron mediante microscopía electrónica de transmisión, difracción de rayos X y técnicas espectroscópicas UV-visibles. Lo cual mostró que las nanopartículas obtenidas registraron un tamaño de partícula promedio de 18.2 nm.

Cardeño y Londoño (2014) llevaron a cabo la síntesis y evaluación de nanopartículas de plata obtenidas a partir de extracto de ajo (*Allium sativum*). En el experimento se prepararon 13 soluciones, en las cuales se observó el cambio de color, se realizaron mediciones por espectrofotometría UV-visible y microscopía de fuerza atómica para confirmar las características de las nanopartículas. Por medio de estas técnicas se corroboró la obtención de nanopartículas mediante un método que resulto viable ya que se reducen los costos de manufactura y el impacto negativo al medio ambiente debido a que el agente reductor usado fue de carácter natural.

Ledezma *et al.*, (2014) sintetizaron nanopartículas de plata (AgNPs), utilizando extracto acuoso de nopal (*Opuntia spp.*) como agente reductor en presencia de polímeros biocompatibles solubles en agua poli (vinil alcohol) [PVA] como agente de estabilización de las nanopartículas.

El extracto de *Opuntia ficus-indica* actúa como agente reductor de los iones metálicos Au^{+3} . Las nanoestructuras de oro se obtienen a partir de la sal de $HAuCl_4$

empleando extracto de *Opuntia ficus-indica*. La síntesis de nanopartículas de oro está fuertemente influenciada por la cantidad de extracto de *Opuntia ficus-indica*. El tiempo es un factor que influye de manera determinante en la formación de nanopartículas sintetizadas. El desplazamiento del plasmón se debe a la concentración del extracto de *Opuntia ficus-indica* al intervenir en el tamaño, forma y cantidad de las nanopartículas. Este método es una excelente ruta de síntesis de nanopartículas de oro, dando buenos resultados en cantidad, además de que permite regular la forma y el tamaño de las mismas. (Rico-Moctezuma *et al*, 2010). Ambas investigaciones demuestran que la síntesis de nanopartículas utilizando extracto acuoso de *Opuntia spp* es una alternativa efectiva y amigable con el medio ambiente.

Composición química del genero *Opuntia spp*

Desde el punto de vista de la industrialización es primordial tener un conocimiento cabal de la composición química de las diferentes partes de la planta. Este conocimiento es indispensable para tener éxito tanto en la elección de las tecnologías de procesamiento más adecuadas que se pueden aplicar como las condiciones de aplicación de las mismas, a fin de obtener productos inocuos, nutritivos y de alta calidad. Por lo tanto, las partes de la planta cuyas características interesa conocer mejor por sus amplias posibilidades de utilización son los frutos y cladodios. Las flores se consideran también, al igual que los cladodios o nopalitos, una verdura y se pueden consumir como tales (Villegas y De Gante, 1997).

La evolución de la composición de algunos parámetros hasta la madurez (pH, sólidos solubles, fibras) deberá tenerse en cuenta dependiendo del procesos al que se someterá la fruta o los cladodios, y más directamente al producto que se quiera destinar. (Sáenz *et al.*, 2006).

Composición de las partes de la planta de acuerdo al estado fisiológico.

Frutos

La composición de los frutos varía con la madurez. Es necesario tener en cuenta que son los frutos “no climatéricos “(no maduran una vez cosechados), por lo que es importante cosecharlos en el punto de madurez óptima de consumo, donde está mejor expresado su potencial. Esta madurez óptima de consumo está reflejada en los valores de algunos parámetros específicos. Cantwell (1999) señala que se han propuesto diferentes para definir la mejor época de cosecha de la fruta: tamaño y llenado del fruto; cambios en el color de la cáscara; firmeza del fruto; profundidad de la cavidad floral o receptáculo; contenido de sólidos solubles totales (SST) y caída de los gloquidios.

Los sólidos solubles totales aumentan rápidamente cuando la pulpa comienza a crecer (40-50 días después del cuajado de la flor); cuando se inicia el cambio de color de la cáscara, el contenido de esos sólidos es de 85 a 90 % del que alcanza un fruto maduro. Cuando el color de la cáscara ha llegado a la mitad de lo que alcanzaría en la madurez completa, el contenido de sólidos solubles totales llega a valores de 12-15 por ciento dependiendo del cultivar; es en esta etapa cuando se alcanza la mejor calidad de fruta para consumo en fresco o para almacenamiento. Los sólidos solubles totales aumentan ligeramente en frutos completamente

maduros, pero en esta etapa ya no son adecuados para almacenamiento y están muy blandos para el manejo. (Sáenz *et al*, 2006).

Los cladodios

Los cladodios, por su parte tienen interés desde el punto de vista industrial ya que cuando los brotes son tiernos (10-15 cm) se usan para la producción de nopalitas, y cuando están parcialmente lignificados (cladodios de 2-3 años), para la producción de harinas y otros productos.

En un estudio efectuado en 20 variedades de nopal y analizando tallos (suberificados), cladodios maduros (penca anual) y cladodios jóvenes (brotes), concluyeron que el contenido de proteínas es mayor en los brotes o renuevos; la fibra cruda aumenta con la edad del cladodio, llegando a 16.1% en los tallos suberificados, pero siendo cercana a 8.0%, en promedio en los renuevos (Flores *et al.*, 1995)

Por su parte, Rodríguez-Félix y Cantwell (1988), indican que la composición química de los nopalitas frescos es principalmente agua (91%) y 1.5% de proteínas; 0.2 por ciento de lípidos; 4.5% de carbohidratos totales; 1.3% de cenizas, de la cual 90% es calcio, además, contiene 11 mg/100 g de vitamina C y 30 µg/100g de carotenoides; el contenido de fibra (1.1%) lo hace comparable a la espinaca.

Flores

Las flores se consideran también, al igual que los cladodios o nopalitas, una verdura y se pueden consumir como tales, indican que algunos de los componentes

presentes son beneficiosos para combatir la hiperplasia prostática benigna, habiendo observado el efecto positivo de un extracto de flores secas. (Villegas y De Gante, 1997).

La composición química se puede determinar mediante un análisis cualitativo en el cual se pretende identificar las sustancias de una muestra o por análisis cuantitativo que busca determinar la cantidad o concentración en que se encuentra una sustancia específica en la muestra. La determinación de la composición química de una sustancia es fundamental en el comercio, en las legislaciones y en muchos campos de la ciencia (Peña, 2008).

Compuestos químicos relacionados con las síntesis de nanopartículas

Guevara-Figueroa *et al.*, (2010), realizaron un estudio de la composición proximal de ácidos fenólicos y flavonoides presentes en *Opuntia spp* comercial y silvestre. La figura 1 muestra los flavonoides presentes en *Opuntia spp* de valor comercial y silvestre, mientras que en la figura 2 muestra los ácidos fenólicos analizados y detectados en el estudio.

La especie *Opuntia ficus-indica* es considerada como una gran fuente de antioxidantes naturales debido a que contiene polifenoles, en concentraciones superiores a 900mg/100mg de materia seca, sustancias responsables de su actividad antioxidante (Sun *et al.*, 2009). A este tipo de compuestos se le atribuye el poder reductor de iones metálicos en métodos biosintéticos, (Huang *et al.*, 2007).

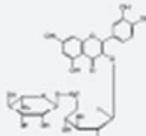
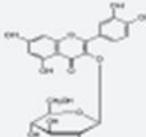
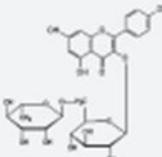
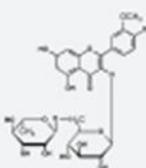
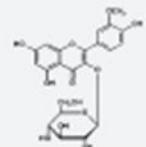
Short name	Systematic name	Structural formula	CAS #	Molar mass	Detection in LC-MS/MS
Rutin	Quercetin-3-O-rutinoside		153-18-4	610.51	611.0(302.9; Rt: 7.3 min)
Iso-querctin	Quercetin-3-O-β-glucopyranoside		482-35-9	464.38	465.0(302.8; Rt: 10.4 min)
Nicotiflorin	Kaempferol-3-O-rutinoside		17650-84-9	594.53	595.1(286.9; Rt: 10.7 min)
Narctisain	Isohammetin-3-O-rutinoside		604-80-8	624.56	625.2(316.7; Rt: 11.1 min)
	Isohammetin-3-O-glucoside		5041-82-7	478.41	479.8(217.6; Rt: 16.0 min)

Figura 1. Flavonoides detectados en *Opuntia spp* comercial y silvestre

En estudios previos aparentemente, los azúcares reductores y fenoles presentes en el extracto acuoso actúan como agentes reductores en la formación de nanopartículas metálicas utilizando diferentes fuentes vegetales. (Huang *et al.*, 2007; Rico-Moctezuma *et al.*, 2010)

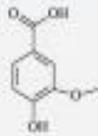
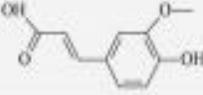
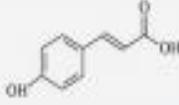
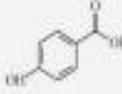
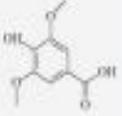
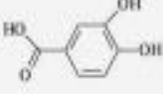
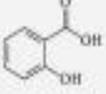
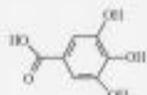
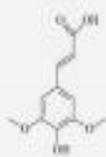
Short name	Systematic name	Structural formula	CAS #	Molar mass	Detection in LC/MS
Vanillic acid	4-Hydroxy-3-methoxybenzoic acid		121-34-6	168.15	Mass: 167; Rt: 9.9 min
Ferulic acid*	3-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-propenoic acid		1135-24-6	194.19	Mass: 193; Rt: 17.1 min
p-Coumaric acid*	(E)-3(4-Hydroxyphenyl)-2-propenoic acid		501-98-4	164.16	Mass: 163; Rt: 15.1 min
4-Hydroxybenzoic acid*	4-Hydroxybenzoic acid		99-96-7	138.12	Mass: 137; Rt: 9.0 min
Syringic acid	4-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzoic acid		530-57-4	198.175	Mass: 197; Rt: 10.4 min
Protocatechuic acid	3,4-Dihydroxybenzoic acid		99-50-3	154.122	Mass: 153; Rt: 6.7 min
Caffeic acid*	3,4-Dihydroxy-cinnamic acid		331-39-5	180.1598	Mass: 179; Rt: 10.8 min
Salicylic acid*	2-Hydroxybenzoic acid		69-72-7	138.1226	Mass: 137; Rt: 5.2 min
Galic acid*	3,4,5-Trihydroxybenzoic acid		149-91-7	170.1214	Mass: 169; Rt: 5.2 min
Synapic acid	3,5-Dimethoxy-4-hydroxycinnamic acid		530-59-6	224.2128	Mass: 223; Rt: 21.9 min

Figura 2. Ácidos fenólicos detectados en el estudio de *Opuntia spp* comercial y silvestre

Técnicas modernas para la caracterización de nanopartículas y compuestos presentes en los extractos vegetales

Existen varios métodos por medio de los cuales se pueden caracterizar las nanopartículas con el fin de establecer la forma y tamaño de ellas.

- **Espectroscopia UV**

Cuando la radiación interacciona con la materia, pueden ocurrir varios procesos como reflexión, dispersión, absorbanca, fluorescencia/fosforescencia (absorción y reemisión) y una reacción fotoquímica (absorbanca y rotura de enlaces). En general, cuando se miden espectros UV-visible, sólo es deseable que ocurra absorbanca, (Owen, 2000). La espectroscopia de absorción en el rango ultravioleta-visible (UV-Vis) es la medida de atenuación de un haz después de que éste pasa a través de una muestra o después de la reflexión de una superficie de la muestra. Esto se origina por la luz en los rangos UV y visible siendo lo suficientemente energética como para provocar excitación de electrones desde el estado fundamental a niveles de mayor energía. Un espectrómetro hace incidir un haz de luz a partir de una fuente de luz UV-Vis, el cual es separado en las longitudes de onda que lo componen. Experimentalmente lo que se mide es la absorbanca o la transmitancia, pero éstas están relacionadas con el coeficiente de absorción. Cuando un haz incide en una superficie, una parte de éste es reflejada y otra porción no es reflejada, sino absorbida por el material (Owen, 2000).

Martínez *et al.*, (2007) utilizaron la técnica de UV- vis con el fin de caracterizar y conocer los tamaños de las nanopartículas semiconductoras de cristales sólidos (CdS). En 2009, Morales *et al.*, concluyeron que el análisis UV-vis resulta indispensable para conocer el tiempo en que se debe mantener la reacción, así como el tamaño de partícula.

- **Microscopio electrónico de transmisión (TEM)**

A diferencia de otros microscopios, éste no explora superficies, por el contrario el haz de electrones incide atraviesa la muestra observada y la sombra con detalles finos o con una ultra-estructura, es capturada en una pantalla fosforescente con propiedades de emisión de luz, ubicada en la parte inferior de la columna. El tener una adecuada preparación de la muestra da lugar a una excelente definición de imagen. La operación del microscopio electrónico de transmisión (TEM), depende principalmente de la deflexión de los electrones por campos magnéticos, de modo que estos pueden ser enfocados. En principio los electrones pueden ser usados de igual manera que la luz es usada para formar una imagen ampliada de un objeto, con la ventaja de que las longitudes de onda de las ondas que representan a los electrones son cortas por lo tanto la resolución es mucho más alta que la que posee un microscopio óptico (Rodríguez, 2008).

López *et al.*, (2013), utilizaron la técnica de Microscopía Electrónica de Transmisión para caracterizar los biocompositos de nanopartículas de plata utilizando fibra de algodón como soporte y *Camellia sinensis* como agente reductor determinando así la impregnación de la superficie con las

nanopartículas de plata y la distribución de tamaño de las mismas, obteniendo tamaños promedio de 5 y 11nm.

Ruano (2013) sintetizó nanopartículas de Co, Au, Ag, aleación Ag-Au y Ag-Au-Pd y AgAu, las cuales caracterizó por medio de la técnica de Microscopía Electrónica de Transmisión, lo que arrojó un diámetro de 9.6 ± 2.0 nm de las nanopartículas además de que presentaban una geometría esférica.

- **Técnicas cromatográficas**

Según se ha mencionado la caracterización química de los extractos vegetales y la identificación y cuantificación de las moléculas biológicas presentes son de suma importancia en la biosíntesis de las diferentes nanoestructuras metálicas, en la actualidad existen muchas técnicas que nos ayudan en los procesos de caracterización de compuestos.

Una de las técnicas de caracterización química más utilizadas en la actualidad es la cromatografía, en la cual existe la presencia de dos fases; dispuestas de tal manera que mientras una permanece estacionaria dentro del sistema (fase estacionaria), la otra se desplaza a lo largo de él (fase móvil). La clave de la separación en cromatografía es que la velocidad con la que se mueve cada sustancia depende de su afinidad relativa por ambas fases (equilibrio de distribución). En general, los componentes más afines a la fase estacionaria avanzan lentamente (más retenidos) mientras que los más afines a la fase móvil (menos retenidos) se mueven con mayor rapidez. Por consecuencia, el medio cromatográfico (columna, placa o papel) funciona como un controlador de la velocidad de cada sustancia que constituye la

mezcla, logrando así su separación y mediante el uso de un detector, su caracterización química (UNAM, 2007).

Existen varios tipos de cromatografía, ejemplo de ellos son:

- **Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)**

La cromatografía de líquidos de alta eficacia es la técnica analítica de separación más ampliamente utilizada. Las razones son la sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, es ideal para la separación de especies no volátiles o termolábiles y por su gran aplicabilidad a sustancias que son de interés en la industria. Algunos ejemplos son: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, carbohidratos, fármacos, terpenoides, plaguicidas, antibióticos, esteroides, especies organometálicas y gran variedad de sustancias inorgánicas. La fase móvil es un líquido y la fase estacionaria es una columna que puede ser de acero inoxidable.

- **Cromatografía de gases**

En cromatografía de gases (GC), la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna. Existen dos tipos de cromatografía de gases: la cromatografía gas - sólido (GSC) y la

cromatografía gas-líquido (GLC). La cromatografía gas - líquido tiene gran aplicación en todos los campos de la ciencia y su denominación se abrevia normalmente como cromatografía de gases (GC) (Gomis, 2008)

- **Cromatografía de capa fina (TLC)**

La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa, uniforme, de un adsorbente mantenido sobre una placa de vidrio u otro soporte. Los requisitos esenciales son, pues, un adsorbente, placas de vidrio, un dispositivo que mantenga las placas durante la extensión, otro para aplicar la capa de adsorbente, y una cámara en la que se desarrollen las placas cubiertas. Es preciso también poder guardar con facilidad las placas preparadas y una estufa para activarlas. La fase móvil es líquida y la fase estacionaria consiste en un sólido. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares. (UNAM, 2007)

METODOLOGÍA

La investigación se llevó a cabo en dos etapas la primera: En la primera se realizó la colecta de cladodios de *Opuntia spp* provenientes de poblaciones cultivada y silvestre en etapa adulta localizadas en el ejido Palma Gorda, Saltillo, Coahuila, donde se eligieron siete especies dos de las cuales se colectaron en condición silvestre y cultivada, tal como se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Nombre científico y nombre común de las especies de *Opuntia spp* colectadas.

Nombre científico	Nombre común
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Milpa-alta cultivada, silvestre
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Copena cultivada, silvestre
<i>Opuntia streptacantha</i>	Nopal cardón tuna blanca
<i>Opuntia streptacantha</i>	Nopal cardón tuna cardona
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Milpa-alta tuna
<i>Opuntia rastrera</i>	Nopal rastrero
<i>Opuntia imbricata</i>	Coyonoxtle

En la segunda etapa las muestras recolectadas se llevaron al laboratorio del Departamento de Materiales avanzados situado en Centro de Investigación de Química Aplicada (CIQA) ubicado en el Boulevard Enrique Reyna No. 140, Colonia San José de los Cerritos, código postal 25294, Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México. Las muestras se mantuvieron en refrigeración a una temperatura de 4⁰C hasta su procesamiento para la obtención del extracto acuoso de cada material colectado.

Obtención de extracto acuoso y análisis bromatológico

Para la obtención del extracto acuoso; se le quitaron las espinas a los cladodios, se cortaron los cladodios (comúnmente conocidos como pencas) en trozos pequeños aproximadamente 1 cm², se pesaron 200 gramos de los cladodios cortados y se agregaron 250 mililitros de agua destilada para enseguida someterlo a un tratamiento de calentamiento a 95 °C por 20 minutos. El extracto obtenido a través del tratamiento térmico se filtró y se secó mediante secado a baja temperatura aplicando un proceso de liofilización el cual consiste en la eliminación del agua presente en el material por congelación y subsecuente sublimación en condiciones de vacío obteniéndose de esta manera el extracto seco en forma de polvo.

La figura 3 muestra el proceso de extracción. Desde el desespinado hasta el procesos de liofilización del extracto.

La caracterización de los extractos de nopal se estableció mediante el estudio de las siguientes variables: Porcentaje de sólidos solubles e insolubles, porcentaje de azúcares totales, azúcares reductores, proteínas totales, proteínas solubles, fenoles totales y la eficiencia de las especies en la síntesis de nanopartículas metálicas.

La determinación de sólidos solubles e insolubles se realizó con lo establecido en NOM-AA34-1976 y NOM-AA201980 (ANEXO I)

La determinación de proteínas totales se hizo por el método de microKjeldahl; utilizando una balanza analítica OHAUS modelo Explorer Pro, papel filtro 40 y un digestor microKjeldahl marca LABCONCO. (ANEXO II)

Las proteínas solubles se determinaron por el método de Bio-Rad (ANEXO III).

Los azúcares totales fueron determinados por el método de Antrona (ANEXO IV); los azúcares reductores se determinaron por el Método CIQA-BP-003 (ANEXO V).

Por otro lado el método de Folin-Ciocalteu fue utilizado para determinar el total de compuestos fenólicos (ANEXO VI). Además de utilizarse la técnica de cromatografía de capa fina para la identificación de compuestos fenólicos, utilizando placas de Silica-gel de 20x 20 cm con indicador fluorescente F254 marca Merck (ANEXO VII).

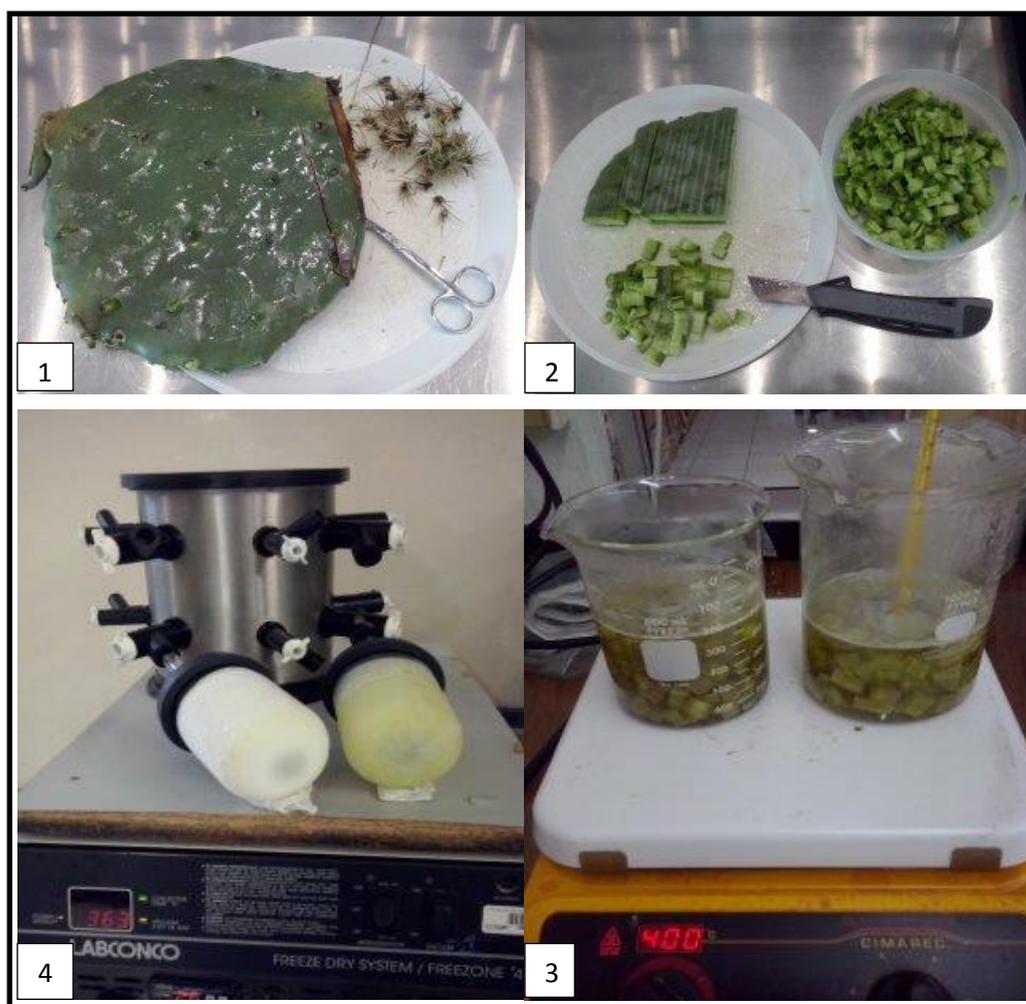


Figura 3. Desespinado de nopales (1). Cortado de nopales en trozos de aproximadamente 1 cm (2). Cocción de nopales a 95 °C durante 20 minutos (3). Liofilización de extractos de nopal (4).

Síntesis de nanopartículas metálicas

La síntesis de nanopartículas se realizó pesando en un vial criogénico 0.010 gr extracto de nopal y diluyendo en agua destilada, en un vial color ámbar se agregó agua, hidróxido de amonio y nitrato de plata; estas soluciones fueron mezcladas. La solución resultante se sumergió en un baño de aceite JULABO a 80 °C durante 4 hrs. Se realizó un barrido de la cinética del comportamiento de cada especie de *Opuntia spp* en el espectrofotómetro Shimadzu que va de los 200-600 nm. En la figura 4 se muestra el cambio de coloración que se presenta al utilizar el extracto acuoso de *Opuntia spp*.

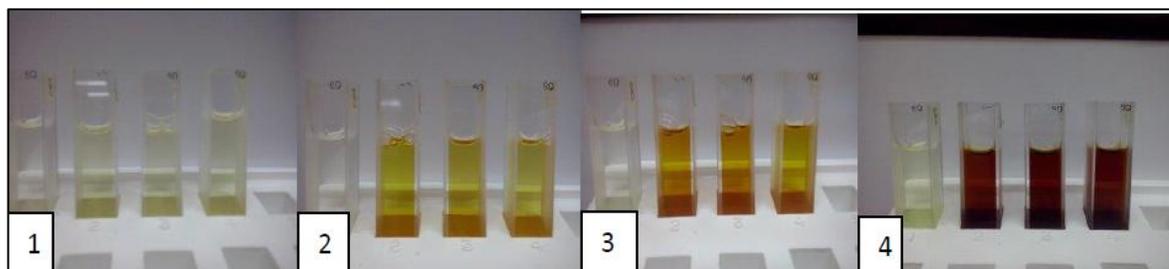


Figura 4. Cambio de coloración utilizando extracto acuoso de *Opuntia spp*. Cero horas (1), una horas (2), dos horas (3), cuatro horas (4).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de azúcares reductores y fenoles en relación con la biosíntesis de nanopartículas en *Opuntia ficus-indica* en condición silvestre y cultivada

En la figura 5, se muestran los porcentajes de azúcares reductores de *Opuntia ficus-indica* variedad Milpa-alta y Copena en condición silvestre y cultivada en diferentes meses del año. Para los meses tanto de abril como febrero se registró un porcentaje de azúcares reductores, este comportamiento podría ser atribuido a que son los meses que más estresada estaba la planta, ya que durante este período de tiempo no se registraron precipitaciones; caso opuesto al mes de septiembre en el cual los cladodios se encontraron hinchados, con un aumento en su tamaño debido a la acumulación excesiva de agua producto de las lluvias. En el mes de septiembre, se registró que entre especies evaluadas, la que menor porcentaje de azúcares reductores presentó, fue la variedad Milpa-alta tanto en su condición silvestre como cultivada. Otra característica que es posible observar en esta figura se relaciona con el comportamiento para la variedad Milpa-alta, donde en los tres muestreos efectuados la variedad silvestre supera en el contenido de azúcares reductores a la variedad cultivada. Para el caso de la variedad Copena, sólo en el primer muestreo se registró que en condición cultivada se presenta un mayor porcentaje de azúcares reductores con respecto a la variedad silvestre, sin embargo, para el caso de los muestreos subsecuentes, los muestreos efectuados para Copena silvestre superaron por mucho a los de Copena cultivada. Medina-Torres *et al* (2000) realizaron una comparación de los resultados obtenidos en su investigación con los reportados por McGarvie y Parolis (1981) donde se determinó el porcentaje exacto de los azúcares reductores presentes en el mucílago de *Opuntia ficus-indica*, en el cual coincidieron

ya que en ambas investigaciones el principal componente de azúcar presente en *Opuntia ficus-indica* es arabinosa seguido de xilosa. Tal comparación se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Composición de azúcar del mucílago (*Opuntia ficus-indica*)

Composición	Medina-Torres <i>et al.</i> , (2000) (peso en %)	Medina-Torres <i>et al.</i> , (2000) (mol %)	McGarvie y Parolis (1981) (mol%)
Arabinosa	44.04	46.68	42.4
Galactosa	20.43	17.92	18.4
Xilosa	22.13	23.45	24.5
Rhamnosa	7.02	6.76	6.4
Ácido Galacturónico	6.38	5.19	8.4

Fuente: Medina-Torres *et al.*, 2000.

En la figura 6, se muestran los valores de absorbancia registrados a una longitud de onda de 420 nm para las reacciones de síntesis de nanopartículas de plata utilizando el extracto acuoso obtenido de las especies de *Opuntia* variedad Milpa-alta y Copena. Las absorbancias registradas a dicha longitud de onda corresponden a señales características de la formación de nanopartículas de plata. Para el primer y tercer muestreo llevado a cabo en abril y febrero respectivamente, la síntesis de nanopartículas fue eficiente aunque en el mes de septiembre se vio afectada ya que hubo una disminución en cuanto a la síntesis de nanopartículas de las especies en general, esto se puede atribuir debido a que el porcentaje de azúcares reductores también disminuyó.

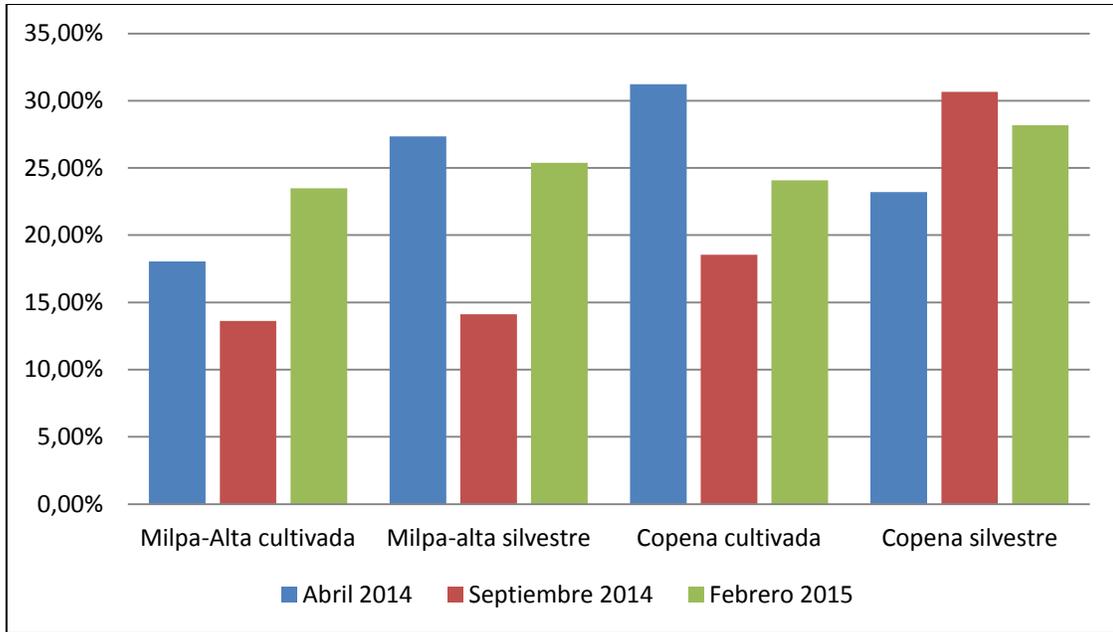


Figura 5. Contenido de azúcares reductores presentes en *Opuntia ficus-indica* variedad Copena y Milpa-alta en diferentes meses del año

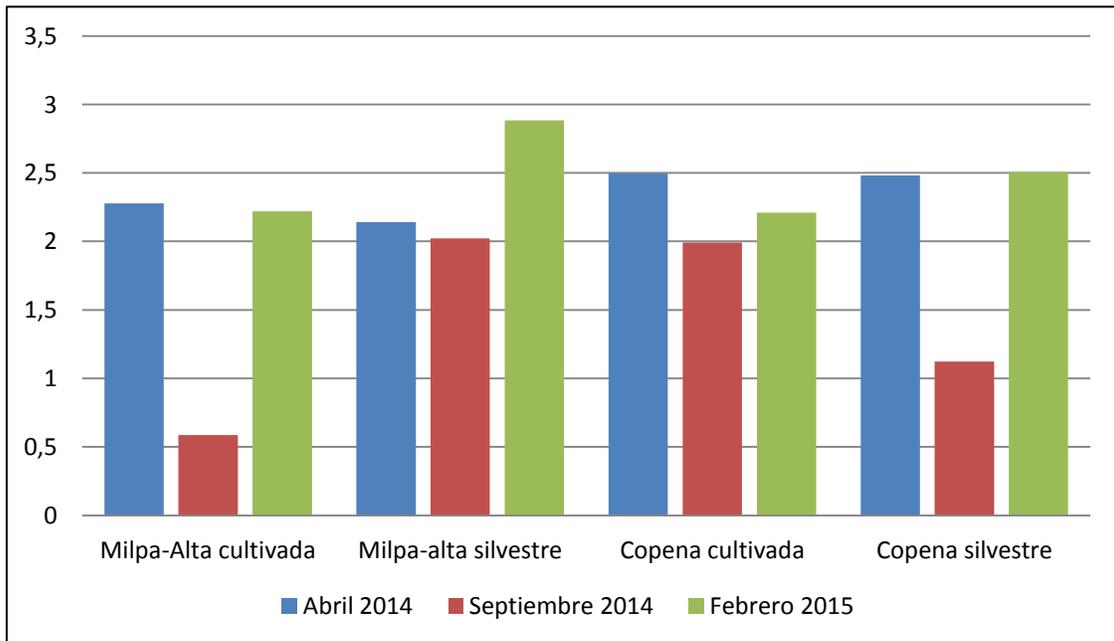


Figura 6. Comportamiento de la máxima absorbancia registrada en la síntesis de nanopartículas obtenida mediante espectroscopia UV a una longitud de onda de 420 nm.

Existe una relación en cuanto al porcentaje de azúcares reductores y la absorbancia obtenida. El comportamiento observado en cuanto a la influencia de los azúcares

reductores como agentes para la formación de nanopartículas de plata, ha sido observado también en la evaluación de extractos de plantas de *Cinnamomum camphora* y *Opuntia ficus-indica* para la formación de nanopartículas de plata y oro, donde atribuyen la capacidad reductora de estas plantas a los azúcares reductores presentes en el extracto acuoso. Lo anterior es debido a que en estudios previos aparentemente, los azúcares los cuales actúan como agentes reductores en la formación de nanopartículas metálicas (Huang *et al.*, 2007; Rico-Moctezuma *et al.*, 2010).

En la figura 7, se muestra un espectro de absorción característico, obtenido mediante espectroscopia de UV-Visible de las reacciones de síntesis de nanopartículas de plata desarrolladas en el estudio. Se analizó la cinética de la síntesis de las nanopartículas de todas las especies consideradas en este estudio, el barrido fue de 200-600 nm, tomando el valor obtenido a una longitud de onda de 420 nm ya que, el cambio de coloración durante la reacción de amarillo claro a café oscuro así como la presencia de una señal a esta longitud de onda registrada como valor de máxima absorbancia es característico de acuerdo a la literatura para la formación de nanopartículas de plata.

Roy *et al.*, (2010) en su trabajo sintetizando nanopartículas de oro y plata obtuvieron que la longitud de onda a la que hay mayor formación de nanopartículas es entre 400-450 nm para la formación de nanoestructuras de plata. Al igual que Dwivedi *et al.*, (2014) al hacer un estudio comparando diferentes especies en cuanto a la eficiencia de sintetizar nanopartículas de plata de cada una de ellas, demostraron que la longitud de onda a la que se encuentra presencia de nanopartículas es de

400-450 nm, ambos estudios concuerdan que a esa longitud de onda se encontró la mayor formación de nanopartículas.

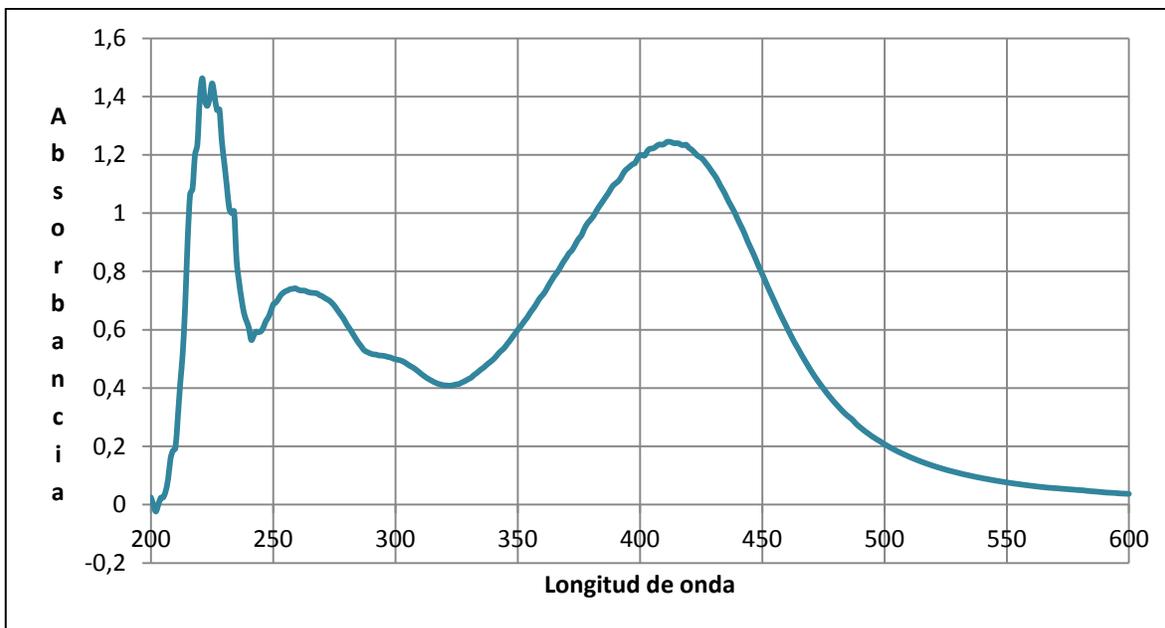


Figura 7. Espectro UV-Visible de la reacción de biosíntesis de nanopartículas de plata utilizando extracto acuoso de *Opuntia spp.*

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios presentes en las plantas, los cuales poseen una característica común de las estructuras; una fracción de fenol, y se comportan como antioxidantes excelentes debido a la reactividad de este grupo (Vallejo-Cordoba y Vargas, 2008). Debido a la importancia que presentan los fenoles como agentes oxidantes, han tomado un papel importante en diversas investigaciones, es por ello que en este estudio interesó el efecto que los fenoles presentes en *Opuntia spp* causan en la síntesis de nanopartículas metálicas.

En la figura 8, se muestra una gráfica comparativa del contenido de fenoles totales registrados en los diferentes meses de muestreo de plantas de *Opuntia spp*, tanto de la variedad Milpa-alta como Copena en condición silvestre y cultivada. Los valores que se muestran en esta grafica corresponden a tres colectas en distintas épocas del

año. Como se puede observar la época en la cual se obtuvo un mayor porcentaje de fenoles a nivel general es en la primera colecta realizada en el mes de abril, cabe destacar que en este período la escasez de precipitaciones fue muy notoria por lo que se atribuye que el acumulado en el porcentaje de fenoles en esta época es debido al estrés en el cual se encontraban las plantas de *Opuntia spp.* En caso de las siguientes colectas se nota una disminución en el porcentaje de fenoles en tres de las cuatro especies estudiadas con excepción de Milpa-alta silvestre en la cual se observó un aumento en el contenido de fenoles en la segunda colecta llevada a cabo en septiembre, mientras que para la variedad Copena en condición silvestre aumentó ligeramente, casi imperceptible su porcentaje en cuanto a fenoles a comparación de las otras especies en las cuales se nota una disminución considerable con respecto de la primera colecta. Los fenoles son de suma importancia debido a sus diversas propiedades como el caso de su actividad antioxidante es por ello que Guevara-Figueroa *et al* (2010) identificaron parcialmente los fenoles presentes en *Opuntia spp* con lo que concluyen que los fenoles presentes en *Opuntia spp* se encuentran en pequeñas cantidades lo cual concuerda con lo presentado en esta investigación, algunos de los fenoles identificados por Guevara-Figueroa *et al.*, (2010) fueron: Ácidos gálico, cumárico, 3,4-dihidroxibenzoico, 4-hidroxibenzoico, ferúlico, y salicílico, isoquercetina, isoramnetina-3-Oglucósido, nicotiflorina, narcisina y rutina. Tanto los azúcares reductores como los fenoles son de suma importancia en este estudio ya que ambos parámetros están altamente relacionados con la síntesis de nanopartículas metálicas. Esto basado en trabajos reportados en los cuales se encuentra una estrecha relación entre azúcares reductores-fenoles y la síntesis de nanopartículas metálicas (Huang *et al.*, 2007; Rico-Moctezuma *et al.*, 2010).

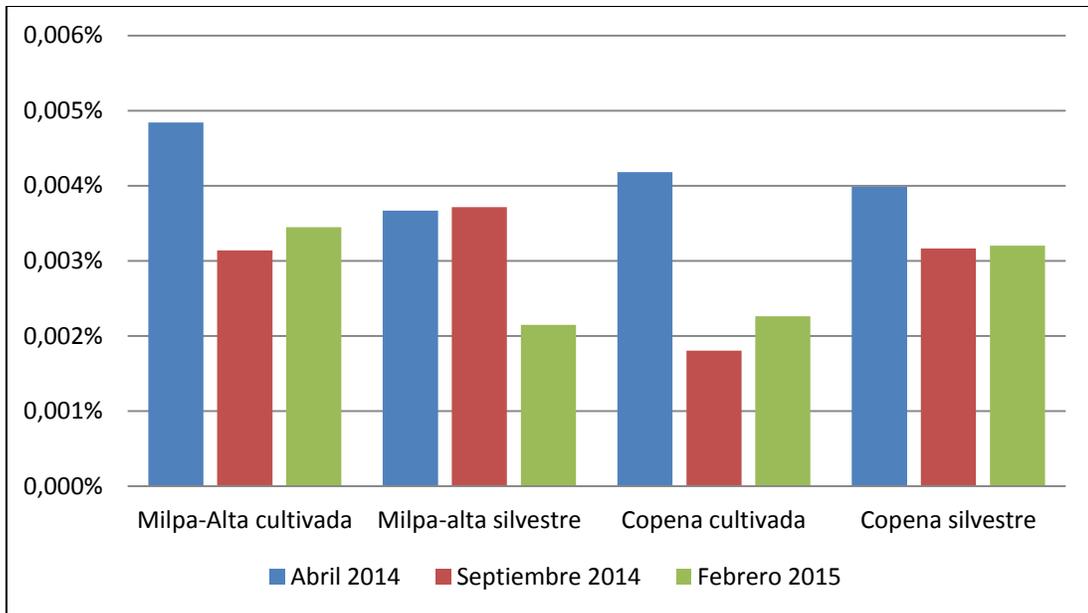


Figura 8. Contenido de fenoles presentes en *Opuntia ficus-indica* en condición cultivada y silvestre.

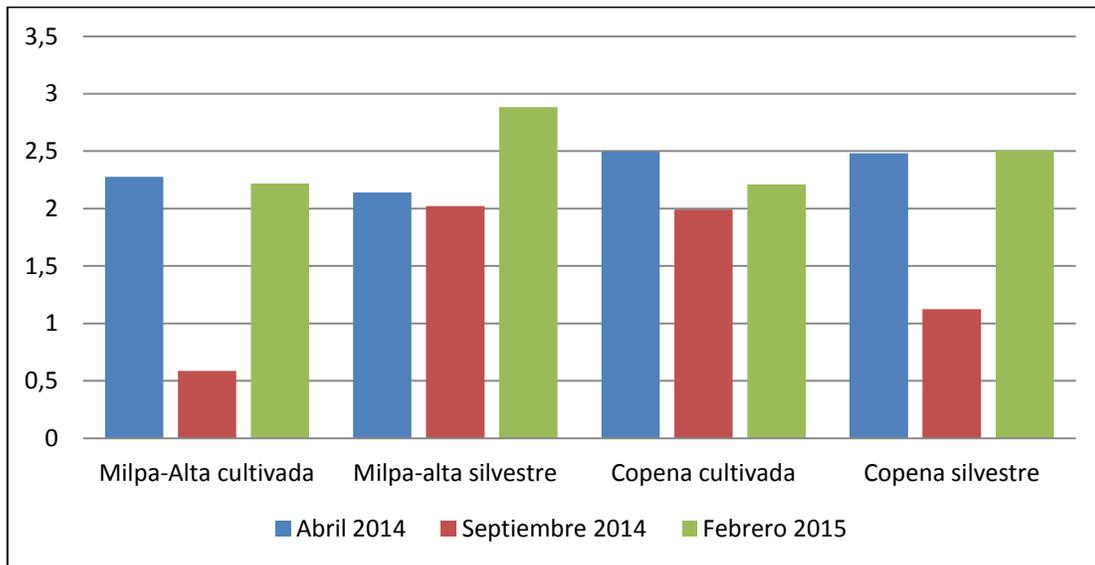


Figura 6. Comportamiento de la máxima absorbancia registrada en la síntesis de nanopartículas obtenida mediante espectroscopia UV a una longitud de onda de 420 nm

Análisis bromatológico de especies de *Opuntia* en condición silvestre

Los compuestos funcionales son aquellos que tienen efectos benéficos para la salud y tanto los frutos como los cladodios de *Opuntia spp* son una fuente interesante de tales componentes, entre los que destacan la fibra, los hidrocoloides (mucílagos), los pigmentos (betalaínas y carotenoides), los minerales (calcio, potasio), y algunas vitaminas como la vitamina C, buscada entre otros motivos, por sus propiedades antioxidantes; todos estos compuestos son muy apreciados desde el punto de vista de una dieta saludable y también como ingredientes para el diseño de nuevos alimentos (Sáenz *et al*, 2004).

Una vez establecido el comportamiento de la capacidad reductora para la formación de nanoestructuras de plata de extractos acuosos de plantas de *Opuntia spp* de variedades Milpa-alta y Copena en condición silvestre y cultivada las cuales son utilizadas en la producción de nopal verdura, y tomando en consideración que dicha capacidad está en función de la variedad, del manejo agronómico y de las moléculas o biomoléculas presentes en la planta se procedió a extender el estudio sobre otras poblaciones silvestres. En este caso se continuó el estudio sobre plantas utilizadas para la producción de tuna como las variedades Milpa-alta tuna, Nopal Cardón tuna blanca, Nopal Cardón tuna Cardona e incluyendo además otras poblaciones silvestres sin importancia que repercuta en lo económico, localizadas en la misma área de muestreo como fue el caso de Nopal rastrero y el Coyonoxtle.

En este estudio se realizó un análisis bromatológico, considerando ciertos parámetros de interés como se muestra en el cuadro 2. Tal fue el caso de sólidos

totales en los que se dividieron en sólidos solubles y sólidos insolubles. En sólidos solubles se nota un aumento en los meses de septiembre y febrero en todas las especies colectadas mientras que en sólidos insolubles se nota una disminución considerable. Otro de los parámetros medidos fue el porcentaje de proteínas, ya que son porcentajes bajos en la mayoría de las especies y pese a lo que se llegara pensar; en el caso de Milpa-alta cultivada presentó mayor porcentaje de proteínas totales en dos de las tres colectas realizadas que las registradas para la variedad Milpa-alta silvestre; caso opuesto para la variedad Copena que en condición silvestre superó a la cultivada en todas las colectas; la mayoría de las especies silvestres presentan un porcentaje considerablemente mayor con respecto a las cultivadas, esto con una excepción; el nopal rastrero ya que en las tres colectas realizadas fue el que menor porcentaje de proteínas presentó por el contrario el Coyonoxtle que sorprendió, ya que presentó el mayor contenido de proteínas en las tres colectas, además de que el porcentaje de proteínas se incrementó en la tercera colecta prácticamente en todas las especies estudiadas. Para el caso de proteínas solubles los porcentajes obtenidos son muy bajos ya que ninguna muestra se acerca al 1%. Las especies colectadas presentaron una baja muy notoria en cuanto a el parámetro de azúcares totales en la segunda colecta con respecto a las colectas llevadas a cabo en abril y febrero, ya que el porcentaje de los azúcares en esta colecta se redujo a casi la mitad, esto puede ser atribuido que en septiembre las plantas de *Opuntia spp* no estuvieron estresadas debido a la abundancia de precipitaciones que se presentaron durante este período por consecuencia las plantas acumularon menos azúcares totales, sin embargo, Copena silvestre mostró un porcentaje similar el cual mantuvo en las tres colectas realizadas.

Cuadro 2. Analisis bromatologico de plantas de *Opuntia spp* colectadas en el ejido Palma Gorda, Saltillo, Coahuila. Parámetros SS: Sólidos solubles; SI: Sólidos insolubles; AT: Azúcares totales; PT: Proteínas totales; PS: Proteínas solubles.

Muestras	Condición	Parámetros	abr-14	sep-14	feb-15
Milpa-Alta	Cultivado	SS (%)	38.00	91.80	80.80
		SI (%)	59.80	1.44	18.20
		AT (%)	28.19	15.05	30.63
		PT (%)	1.07	3.41	4.05
		PS (%)	0.06	0.27	0.10
	Silvestre	SS (%)	31.20	87.10	80.40
		SI (%)	61.60	7.30	14.20
		AT (%)	37.52	14.54	28.99
		PT (%)	2.10	1.40	1.95
		PS (%)	0.06	0.18	0.06
Copena	Cultivado	SS (%)	61.20	91.50	69.40
		SI (%)	33.60	6.40	24.50
		AT (%)	42.15	19.57	28.16
		PT (%)	1.70	0.97	3.03
		PS (%)	0.03	0.12	0.13
	Silvestre	SS (%)	30.60	49.70	76.80
		SI (%)	63.40	44.10	22.20
		AT (%)	30.05	31.70	29.47
		PT (%)	2.33	1.28	3.62
		PS (%)	0.05	0.05	0.08
Nopal Cardón tuna blanca	Silvestre	SS (%)	55.45	73.40	72.60
		SI (%)	41.40	22.60	23.00
		AT (%)	21.64	12.24	18.33
		PT (%)	2.35	3.60	4.91
		PS (%)	0.05	0.20	0.09
Nopal Cardón tuna cardona	Silvestre	SS (%)	38.60	89.70	75.60
		SI (%)	58.60	3.00	20.40
		AT (%)	15.34	13.94	28.68
		PT (%)	2.14	1.40	4.21
		PS (%)	0.09	0.18	0.13
Milpa-alta tuna	Silvestre	SS (%)	68.00	88.60	73.80
		SI (%)	28.60	4.70	23.00
		AT (%)	28.95	14.55	31.03
		PT (%)	1.71	2.96	4.16
		PS (%)	0.04	0.06	0.12
Nopal rastrero	Silvestre	SS (%)	29.60	29.70	55.00
		SI (%)	67.20	63.90	37.80
		AT (%)	46.47	17.14	41.53
		PT (%)	0.86	1.83	4.70
		PS (%)	0.05	0.21	0.13
Coyonoxtle	Silvestre	SS (%)	17.80	51.20	40.20
		SI (%)	79.80	41.60	51.60
		AT (%)	23.81	8.88	24.30
		PT (%)	3.60	8.28	9.89
		PS (%)	0.18	0.34	0.37

Contenido de azúcares reductores y fenoles en relación con la biosíntesis de nanopartículas en *Opuntia spp* en condición silvestre

En la figura 9 se muestra el porcentaje de azúcares reductores obtenidos en las especies de *Opuntia spp* de origen silvestre, en esta grafica se puede observar las especies de Milpa-alta y Copena son las que presentan en promedio el mayor porcentaje de azúcares reductores, por el contrario el Coyonoxtle presentó el menor porcentaje de azúcares en dos de las tres colectas siendo en la colecta de abril en la que presenta mayor porcentaje con respecto a Nopal cardón tuna blanca y Nopal cardón tuna cardona en la cual ambas tunas presentaron el menor porcentaje de azucare reductores de todas las especies colectadas, aunque esto cambió en las colectas siguientes en las cuales se notó un incremento en ambos casos. Al igual que lo reportado por Medina-Torres *et al.*, (2000); McGarvie y Parolis (1981), Matsuhiro *et al.*, (2006) encontraron que 12 kg de *Opuntia spp* contenían 93.48% de azucare donde se notó nuevamente la presencia de arabinosa, xilosa, glucosa y galactosa.

En la figura 10 se presentan las absorbancias obtenidas en la síntesis de nanopartículas metálicas en la cual se puede notar que el Coyonoxtle es el que tiene una mayor eficiencia en lo que a síntesis de nanopartículas se trata, seguido de Milpa-alta y Copena silvestre. En el caso de nopal rastreiro se presentó una gran contradicción; debido a que mientras presentó un porcentaje medio en azúcares reductores es el menos eficiente en cuanto a síntesis de nanopartículas metálicas, ya que es el que obtuvo los valores de absorbancias menores y durante la reacción era el que más tardaba. Ovalle (2012) demostró que azúcares reductores como fue el

caso de su estudio glucosa y fructosa son efectivos como agentes reductores en la síntesis de nanopartículas de plata, de ahí que tengan una estrecha relación los azúcares reductores y la síntesis de nanopartículas.

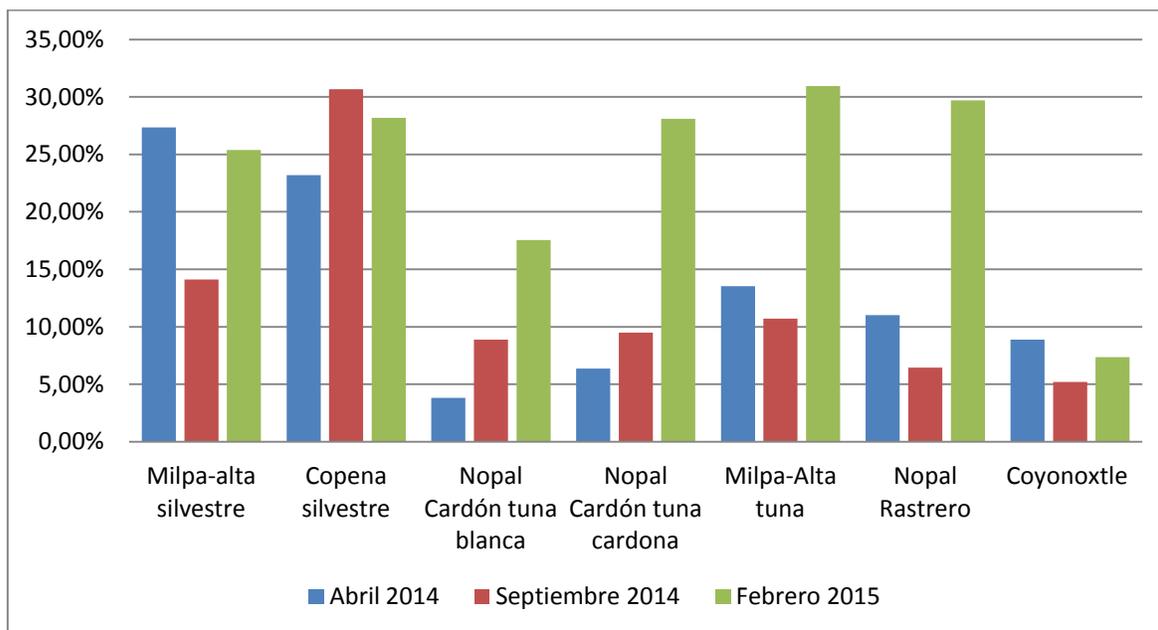


Figura 9. Contenido de azúcares reductores presentes en especies silvestres de *Opuntia spp.*

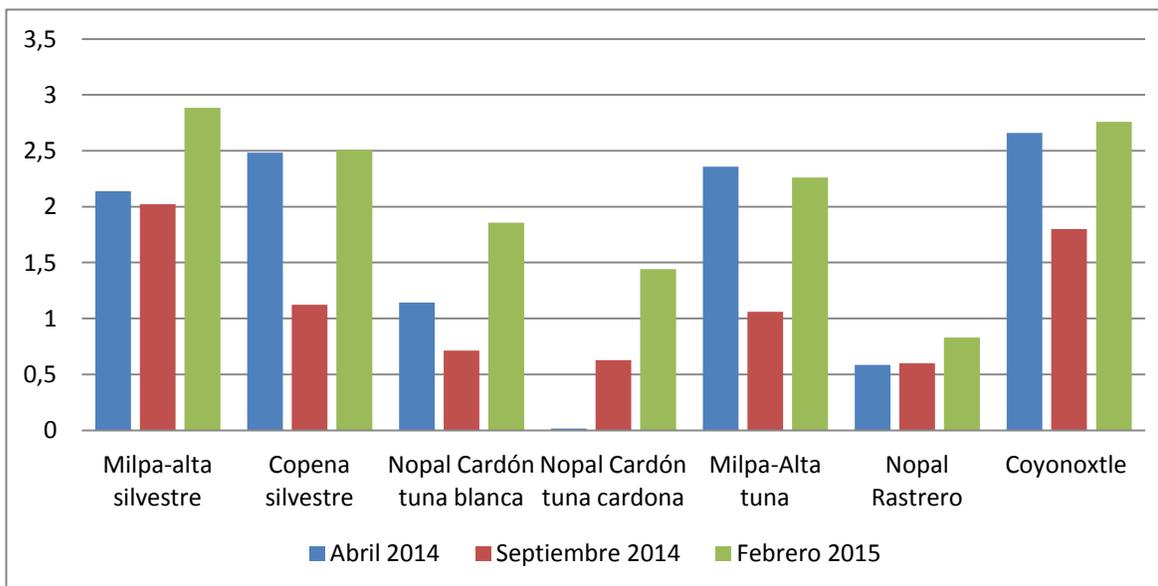


Figura 10. Comportamiento de la máxima absorbancia registrada en la síntesis de nanopartículas obtenida mediante espectroscopia UV a una longitud de onda de 420 nm en poblaciones silvestres de *Opuntia spp.*

En la figura 11 se muestran los porcentajes de fenoles obtenidos en *Opuntia spp* en condición silvestre, en lo que se puede notar que en la primera colecta realizada en el mes de abril se presentó una mayor acumulación de fenoles esto se puede atribuir al estrés en el cual se encontraban las plantas ya que durante este período se presentaron escasas precipitaciones. A comparación de las siguientes dos colectas en las cuales el porcentaje de fenoles se vio disminuido en todas las especies estudiadas. Casi todas las especies tuvieron porcentajes similares en cuanto a fenoles en las tres colectas realizadas excepto nopal rastrero el cual muestra un porcentaje de fenoles mucho menor a comparación de las demás especies estudiadas. Esto se puede relacionar con la capacidad de síntesis de nanopartículas, lo cual se pudo observar en las absorbancias presentadas en la figura 10; ya que como se pudo notar el nopal rastrero es el que presenta menor eficiencia en cuanto a la síntesis de nanopartículas a comparación de las demás especies. En cuanto a las especies en general se notó un comportamiento más o menos uniforme en el cual hubo una disminución en la eficiencia de síntesis en la segunda colecta realizada en septiembre. La literatura comprueba en diferentes trabajos que entre la síntesis de nanopartículas y fenoles existe una relación la cual hace que los fenoles actúen como agente reductor y por lo tanto se lleve a cabo la síntesis de nanopartículas metálicas (Huang *et al.*, 2007; Rico-Moctezuma *et al.*, 2010).

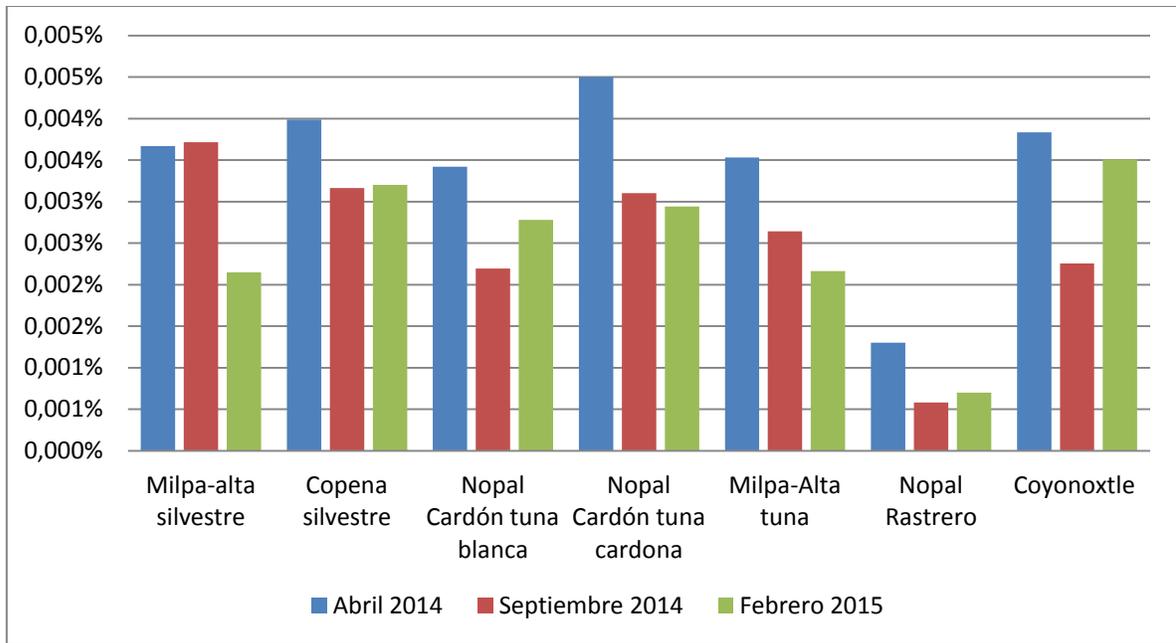


Figura 11. Contenido de fenoles totales presentes en diferentes especies de *Opuntia silvestre*

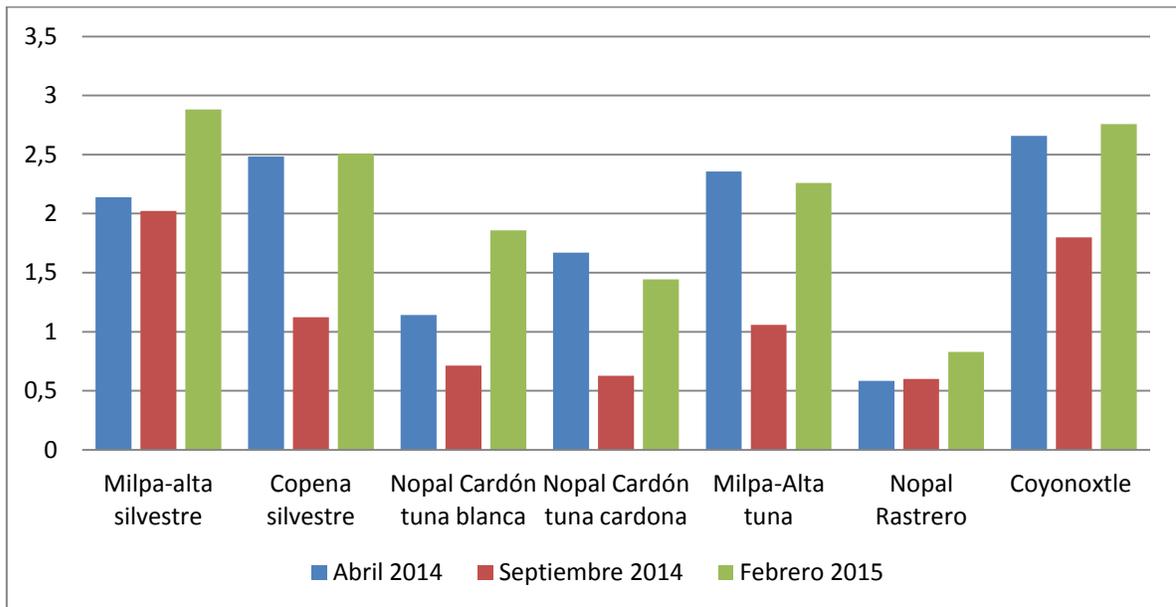


Figura 10. Absorbancia mayor en la síntesis de nanopartículas utilizando extractos de *Opuntia spp* silvestre tomando como referencia la longitud de onda de 420 nm en poblaciones silvestres

Identificación de fenoles por Cromatografía de Capa Fina

Mediante la Técnica de Cromatografía de Capa Fina (TLC), se pudieron identificar algunos de los fenoles presentes en las especies estudiadas los cual se puede observar en la figura 9 donde se muestran las bandas obtenidas las cuales corresponde a la primera, segunda colecta con su repetición y tercer colecta respectivamente, en las cuales se observó un patrón ya que el fenol que se presentó en casi todas las especies fue Siringaldehído (1), debido a los tiempos de retención (Rf's) que se presentaron el estándar que siguió fue ácido cúmarico (2), ácido gálico (3), al cual se le atribuyen varios efectos biológicos, que van desde la actividad antiinflamatoria, antioxidante y antibiótica, hasta la protección cardiovascular y anticancerígena (Govea *et al.*, 2013), rutina (4), a excepción del Coyonoxtle el cual presenta fenoles que no se pudieron identificar con los estándares que se tenían debido a que los Rf's de estos fenoles fueron distintos a los presentados por los estándares utilizados , por lo tanto no se puede especificar el fenol exacto, como se puede observar en la figura 12 en la primera y segunda colecta el Coyonoxtle presenta un fenol por debajo del estándar conocido (rutina), además en la repetición de la segunda colecta se encontraron dos fenoles más los cuales están cerca de rutina y ácido gálico pero la diferencia en sus Rf's no permiten que sean considerados como alguno de estos estándares la importancia de conocer los fenoles exactos presentes en Coyonoxtle incide que esta especie fue la que presentó la más alta eficiencia en la síntesis de nanopartículas metálicas.

Celis (2009) encontró que algunos de los fenoles presentes en *Opuntia spp* fueron ácido gálico, ácido cúmarico y ácido cafeico, reconocido por tener propiedades

antiinflamatorias, antiglucemicas, antioxidantes (Hyogo *et al.*, 2010) y antimicrobianas (Puupponen-Pimia *et al.*, 2005), además de ser precursor en la formación de ligninas en los tejidos vegetales (Waterman y Mole, 1994) lo cual coincide con el estudio realizado ya que se verificó que el ácido cúmarico y el ácido galico sí se encuentra presente en *Opuntia spp*, al igual Martínez (2011) demostró que los fenoles antes mencionados están presentes en *Opuntia spp* además de presentar fenoles como ácido protocatequico, ácido felúrico, ácido clorógeno, siríngico, sinánpico entre otros.

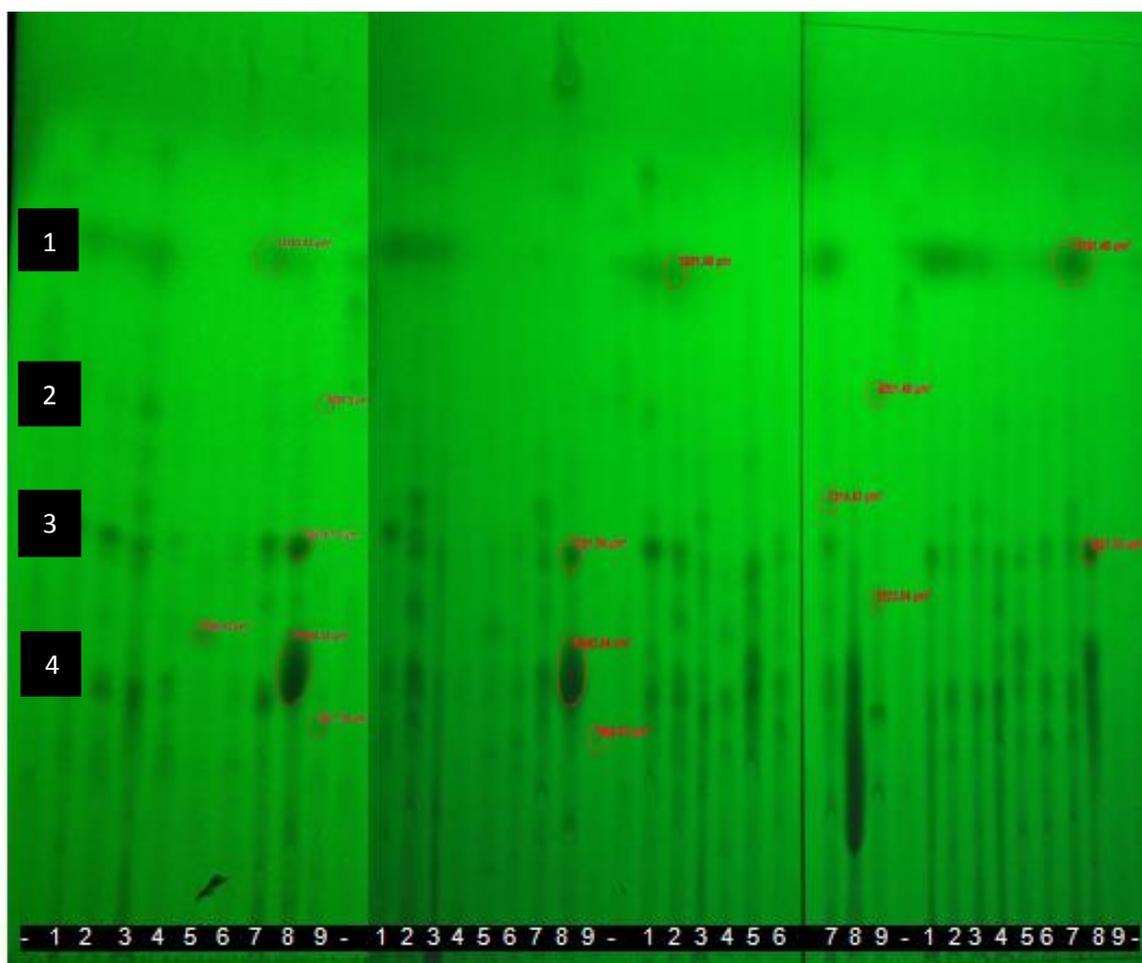


Figura 12. Bandas obtenidas a través de TLC en la identificación de fenoles presentes en las muestras de *Opuntia spp* colectadas dónde; ¹Milpa-alta cultivada, ² Milpa-alta silvestre, ³ Copena cultivada, ⁴Copena silvestre, ⁵Nopal Cardón tuna blanca, ⁶ Nopal Cardón, ⁷Milpa-alta silvestre tuna, ⁸Nopal rastrero, ⁹Coyonoxtle.

CONCLUSIONES

El estudio comparativo de la capacidad reductora para la formación de nanoestructuras de plata a partir de extractos acuosos de plantas de *Opuntia ficus-indica* de variedades Milpa-alta y Copena en condición silvestre y cultivada las cuales son utilizadas para la producción de nopal verdura, permitió establecer que dicha capacidad está en función de la variedad, del manejo agronómico y de los compuestos biológicos presentes en la planta.

La síntesis de nanopartículas metálicas es eficiente utilizando extracto acuoso de *Opuntia spp* tanto cultivada como silvestre, lo cual es excelente ya que al utilizar especies silvestres no se compite con el mercado para consumo humano.

Las especies silvestres de *Opuntia spp* resultaron ser eficientes en la síntesis de nanopartículas de plata, destacando Copena silvestre debido a que permitió la síntesis de nanopartículas en menor tiempo, además que es una de las especies que mayor cantidad de azúcares reductores presentó.

Otra alternativa es utilizar especies del genero *Opuntia* que hasta el momento no tiene una importancia económica y están subvaloradas, el caso específico sería el Coyonoxtle, ya que presentó un alto contenido de fenoles y sobresalió por encima del resto en la síntesis de nanopartículas de plata.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado R., Solera F., Vega-Baudrit J. 2014. Síntesis sonoquímica de nanopartículas de óxido de cinc y de plata estabilizadas con quitosano. Evaluación de su actividad antimicrobiana. Revista Iberoamericana de Polímeros. 15(3):134-148.
- Ara, B. N., Mondal, S. Basu, S. Laskar, R. A. Mandal, D. 2009. Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of Black Tea leaf extracts. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 71: 113-118.
- Bhainsa K.C., D'Souza S. F. 2006. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 47(2):160-164.
- Boldyrev, V. V. (2006). Mechanochemistry and mechanical activation of solids. Russian Chemical Reviews, 75:177-189.
- Cantwell, M. 1999. Manejo postcosecha de tunas y nopalitos. In: Agroecología, cultivo y usos del nopal. Estudio FAO: Producción y protección vegetal. 132:144-150.
- Cardeño, C.L., Londoño, E. M., 2014. Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo (*Allium sativum*). Revista Soluciones de Postgrado EIA, 12:126-137.
- Celis F. E. F. 2009. Potencial nutracético del cladodios de nopal (*Opuntia spp*). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro. México. 117 pp.

Cheang W. J. C., 2005. Ley de Moore, nanotecnología y nanociencias: síntesis y modificación de nanopartículas mediante la implantación de iones. Revista Digital Universitaria. 6(7):1067-6079.

de-Jong, K. P. 2009. Synthesis of solid catalysts. Wiley-VCH. Weinheim. Alemania. 400 pp.

Deying X, Zahyun Ku, Dong Li, and S. R. J. Brueck. 2008. Formation of Hierarchical Nanoparticle Pattern Arrays Using Colloidal Lithography and Two-Step Self-Assembly: Microspheres atop Nanospheres Chemistry of Materials. 20 (5):1847-1854.

Dwivedi, P., Narvi. S. S., Tewari, R.P. 2014. Phytofabrication characterization and comparative analysis of Ag nanoparticles by diverse biochemical from *Elaeocarpus ganitrus*, Roxb., *Terminalia arjuna* Roxb., *Pseudotsuga menzietii*, *Prosopis spicigera*, *Ficus religiosa*, *Ocimum sanctum*, *Curcuma longa*. Industrial Crops and Products 54:22-31.

Ershov, G. G. 1997. Metal ions in unusual and unstable oxidation states in aqueous solutions: Preparation and properties. Russian Chemical Reviews. 66: 93-106.

Faraday, M. 1957. Experimental relations of gold (and other Metals) to light. Philosophical Transactions of the Royal Society Londres. 147:145-181.

Flores H.A; Murillo S.M; Borrego E, F; Rodríguez O, J.L. 1995. Variación de la composición química en estratos de la planta de 20 variedades de nopal.

Memorias VI Congreso. Nacional y IV Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. U.A.G. Guadalajara, México. 110-115 pp.

Foladori, G., Invernizzi, N. 2005. Nanotecnología: ¿Beneficio para todos o mayor desigualdad?. *Redes* Vol.11 (021): 55-75.

Frederix, F.,J.M. Friedt, K. H. Choi, W. Laureyn, A. Campitelli, D. Mondelaers, G. Maes, G. Borghs,. 2003. Biosensing based on light absorption of nanoscaled gold and silver particles *Analytical Chemistry*. 75(24):6894-6900.

Gardea-Torresdey J.L., Parsons J.G., Gomez E., Peralta-Videa J., Troiani H.E., Santiago P., Yacaman. 2002. Formation and Growth of Au Nanoparticles inside Live Alfalfa Plants. *Journal Nano Letters*. 2 (4):397–401.

Gomis Y. V., 2008. Técnicas Instrumentales en el Análisis Industrial. Universidad de Alicante. Departamento de Ingeniería Química. <http://hdl.handle.net/10045/8247>.

Govea S. M., Zugasti C. A., Silva B. S. Y., Valdivia U. B., Rodríguez H. R., Aguilar G. C. N., Morlett C. J. 2013. Actividad Antocancerígena del ácido gálico en modelos biológicos *in vitro*. *Revista científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*. 5(9):11.

Guevara-Figueroa T., Jiménez-Islas H., Reyes-Escogido M. L., Mortensen A.G., Laursen B.B, Lin I.W., De León-Rodríguez A., Fomsgaard I.S., Barba de la Rosa A.P. 2010. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids

characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia spp.*). *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 525–532.

Hernando G. A. 2007. Nanotecnología y nanopartículas magnéticas: La física en lucha contra la enfermedad. *Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 101(2):321-327.

Huang J, Li Q, Sun D, Lu Y, Su Y, Yang X, Wang H, Wang Y, Shao W, He N, Hong J, Chen C. 2007. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf *Nanotechnology*, 18, (10):5104

Hyogo A., Kobayashi T., Garcia Del Saz E., Seguchi H. 2010. Antioxidant effects of protocatechuic acid, ferulic acid, and caffeic acid in human neutrophils using a fluorescent substance. *International Journal of Morphology*. 28(3):911-920.

IDEPA (Instituto de Desarrollo Económico del Principado de Asturias). 2006. Aplicaciones industriales de la nanotecnología. Proyecto NANO SME. Fundación ITMA. Asturias. España. 82 pp.

Imamura, K., Inagaki, M., S.Naka. 1984. Mechanochemical synthesis of hercynite. *Journal of Materials Science*. Vol.19.1397 pp.

Joerger R., Klaus T., Granqvist C.G.. 2000. Biologically Produced Silver–Carbon Composite Materials for Optically Functional Thin-Film Coatings. *Advanced Materials*. 12(6):407-409.

- Kim Y., Oh S., Crooks, R. M. 2004. Preparation and Characterization of 1–2 nm Dendrimer-Encapsulated Gold Nanoparticles Having Very Narrow Size Distributions. *Chemistry of Materials*. 16(1):167-172.
- Kumar, V., Kumar, Y.S. 2012. Characterization of gold nanoparticles synthesised by leaf and seed extract of *Syzygium cumini* L. *Journal of Experimental Nanoscience*. 7(4): 440-451.
- Ledezma A., Romero J., Hernández M., Moggio I., Arias E., Padrón G., Orozco V., Martínez A., Martínez C., Torres S. 2014. Síntesis biomimética de nanopartículas de plata utilizando extracto acuoso de nopal (*Opuntia sp.*) y su electrohilado polimérico. *Superficies y Vacío*. 27(4) 133-140.
- López I. J., Vilchis-Nestor A.R., Sánchez M.V., Avalos B. M. 2013. Obtención y caracterización de nanopartículas de plata soportadas en fibra de algodón. *Superficies y Vacío*. 26(3):73-78.
- Marchiol, L., Mattiello, A., Poscic, F., Giordano, C., Musetti, R. 2014. *In vivo* synthesis of nanomaterials in plants: location of silver nanoparticles and plant metabolism. *Nanoscale Research Letter*. 9:101-112.
- Martínez M. T. O., 2011. Calidad sanitaria en la producción de nopal verdura (*Opuntia sp*) en Otumba, México. Tesis Doctorado. Colegio de Postgraduados. Texcoco. Estado de México. México. 103 pp.

- Martínez S., Serrano T., Gómez I., Hernández. 2007. Síntesis y caracterización de nanopartículas de CdS obtenidas por microondas. Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio, 46 (2):97-101.
- Matsuhira. B., Lillo. L.E., Sáenz C., Urzúa C. C., Zárata O. 2006. Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus indica*. Carbohydrate Polymers. 63:263-267.
- McGarvie, D. Parolis, H. 1981. The mucilage of *Opuntia aurantiaca*. Carbohydrates research. 94(1): 67-71.
- Medina-Torres. L., Brito-De La Fuente. E., Torrestiana-Sánchez. B., Katthain. R. 2000. Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). Food Hydrocolloids 14. 417–424.
- Morales J., Morán J., Quintana M., Estrada W. 2009. Síntesis de nanopartículas de plata por la ruta sol-gel a partir de nitrato de plata. Revista Sociedad Química Perú. 75 (2): 177-184.
- Moreno-Manas, M.; Pleixats, R. 2003 .Formation of Carbon–Carbon Bonds under Catalysis by Transition-Metal Nanoparticles. Accounts Chemical Research. 36(8):638-643.
- Muzafarov, A. M., Rebrov, E. A. 2000. Current Trends in the Chemistry of Dendrimers¹. Polymer Science. 42:55-77.

- Naznin A. B., Samiran M., Saswati B., Rajibul A. L.a, Debabrata M. 2009. Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of Black Tea leaf extracts. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 71: 113–118.
- Ovalle S. S.A., 2012. Síntesis de nanopartículas de plata y óxido de cobre sobre fibras de fique. Tesis licenciatura. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. Colombia. 89 pp.
- Owen T. 2000. Fundamentos de la espectroscopia UV-visible moderna. Conceptos básicos. Agilent Technologies. Berlín. Alemania. 138 pp.
- Patel, K., Kapoor, S., Dave, D., Murkherjee, T. 2005. Synthesis of nanosized silver colloids by microwave dielectric heating”. *Journal of Chemical Sciences*. 117:53-160.
- Peña E. 2008. Técnicas de análisis químico. Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal. México.92 pp.
- Philip, D. 2010. Green synthesis of gold and silver nanoparticles using *Hibiscus rosa sinensis*. *Physica E*. 42:1417–1424.
- Puupponen-Pimia R., Nohynek L., Hanna-Leena A. H., L., Oksman-Caldentey K.M. 2005. Bioactive Berry compounds-novel tools against human pathogens *Applications Microbiological Biotechnology*. 67:8-18.
- Rao, C. N. R., Müller, A., Cheetham, A. K. 2004. *The Chemistry of Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications*. Vol 1 y 2. Wiley-VCH. Weinheim. Alemania. 761 pp.

- Revina, D. A., Egorova, E. M., Karataeva, A. D. 1999. Interaction of natural pigment quercetin with silver nanoparticles in reverse micelles. *Russian Journal of Physical Chemistry*. 73:1708-1715.
- Rico-Moctezuma A., Vilchis-Nestor A.R., Sánchez-Mendieta V., Avalos-Borja M., Camacho-López M. A. 2010. Biosíntesis de nanopartículas de oro mediante el extracto de *Opuntia ficus-indica*. *Superficies y vacío*.23:94-97.
- Rodríguez F. P. 2008. Síntesis de nanopartículas semiconductoras recubiertas con almidón. Tesis Doctorado. Instituto Politécnico Nacional. Distrito Federal. México. 104 pp.
- Rodríguez-Felix, A., Cantwell, M. 1988. Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). *Plant Foods for Human Nutrition*. 38: 83-93.
- Rodríguez-León, E., Iñiguez-Palomares, R., Navarro, R.E., Herrera-Urbina, R., Tánori, J., Iñiguez-Palomares, C., Maldonado, A. 2013. Synthesis of silver nanoparticles using reducing agent obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts). *Nanoscale Research Letters*. 8:318-327.
- Romero E.J. 2014. Comunicación personal. Departamento de Materiales Avanzados. Centro de Investigación de Química Aplicada. Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México.

- Roy N., Mondal S., Laskar R. A., Basu S., Mandal., Naznin A. B. 2010. Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles by *Indian propolis* and its constituents. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 76:317-325.
- Ruano D.M.M., 2013. Fabricación de nanopartículas metálicas por métodos físicos con tamaño, composición química y estructura controlados. Nanopartículas de Co, Au, Ag, aleación Ag-Au y Ag-Au-Pd, y Ag@Au. Tesis Doctorado. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. España. 151 pp.
- Sáenz, C., Berger, H., Corrales, G.J., Galletti, L., Gracia, C.V., Higuera, I., Mondragón, C., Rodríguez-Félix, A., Sepúlveda, E., Varnero, M.T. 2006. Utilización agroindustrial de nopal. Boletín de servicios agrícolas de la FAO. Roma, Italia. 97 pp.
- Sáenz, C., Sepúlveda, E., Matshuhiro, B. 2004. Opuntia spp mucilage's: a functional component with industrial perspectives. *Journal of Arid Enviroments*. 57:275-290.
- Saranyaadevi. K., V. Subha, R. S. R., Ernest, S. Renganathan. 2014. Green synthesis and characterization of silver nanoparticle using leaf extract of *Capparis zeylanica*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical*. 7(2): 44-48.
- Schmid, G. 2004. Nanoparticles. From theory to application. Wiley-VCH. Weinheim. Alemania. 436 pp.
- Sergeev, G. B. 2006. Nanochemistry. Elsevier Science. Amsterdam. Holanda 250 pp.

- Seung H. Ko, Yeonho Choi David J. Hwang, Costas P. Grigoropoulou, Jaewon Chungb, Dimos Poulikakos.2006. Nanosecond laser ablation of gold nanoparticle films. *Applied Physics Letters*. 89(14):141126-141129.
- Shankar, S, A. Rai, B. Ankamwar, A. Singh, A. Ahmad, M. Sastry. 2004. Biological synthesis of triangular gold nanoprisms. *Nature Materials*. 3:482-488.
- Sun K., Qiu J., Liu J., Miao Y. 2009. Preparation and characterization of gold nanoparticles using ascorbic acid as reducing agent in reverse micelles. *Journal of Materials Science*. 44(3):754.
- Takacs, L. 1993. Metal-metal oxide systems for nanocomposite formation by reaction milling. *Nanostructured Materials*. 2:241-249.
- UNAM. Universidad Nacional Autónoma de México. 2007. Técnicas Cromatográficas. Distrito Federal. México. 123 pp.
- Vallejo-Cordoba y Vargas M.M.G., 2008. Capillary Electrophoresis Applications for Food Analysis. Taylor and Francis Group. Washington. United States of America. Cap 30. 1-53 pp.
- Vilchis-Nestor A.R., Sánchez-Mendieta V., Camacho-López M.A., Camacho-López M.A., Arenas- Alatorre J.A. 2008. Solventless Synthesis And Optical Properties Of Au And Ag Nanoparticles Using *Camellia Sinensis* Extract. *Materials Letters* 62: 3103-3105.
- Villegas, A., De Gante, M. 1997. "Los Nopales (*Opuntia spp.*) recursos y símbolos tradicionales en México". In: Memorias. VII Congreso Nacional y V

Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey. Nuevo León. México. 271-273 pp.

Wachs, I. E. 2001. Characterization of catalytic materials. Momentum Press. New York. United States of America. 170 pp.

Waterman P.G., y Mole S. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. In methods in ecology. Blackwell Scientific Publications. Oxorfod. U.K. 238 pp.

Wilson M., K. Kannangara, G. Smith, M. Simmons, B. Raguse. 2002. Nanotechnology: Basic Science and Emerging Technologies. Chapman & Hall/CRC. Sydney. Australia. 264pp.

Xie, R. C., Shang, J. K. 2007. Morphological control in solvothermal synthesis of titanium oxide. Journal of Materials Science. 42: 6583.

Zargar, M., Abdul, H. A., Abu, B. F., Nor, S. M., Shameli, K., Jahanshiri, F., Farahani F. 2011. Green synthesis and antibacterial effect of silver nanoparticles using *Vitex negundo* L. Molecules. 16:6667-6676.

Zheng, J., Dickson, R. M. 2002. Individual water-soluble dendrimer-encapsulated silver nanodot fluorescence. Journal of the American Chemical Society. 124:13982-13983.

Zhu, H., Zhang, C., Yin, Y. 2004. Rapid synthesis of copper nanoparticles by sodium hypophosphite reduction in ethylene glycol under microwave irradiation. Journal of Crystal Growth. 270: 722-728.

ANEXOS

I. Determinación de sólidos solubles e insolubles

Para la determinación de sólidos solubles e insolubles se pesaron 0.5 gr de extracto seco y se depositaron en un vial de fondo cónico de 50 ml.

Se agregaron 20 ml de agua desionizada. Esta solución se agitó durante 20 minutos en una platina de agitación marca CIMAREC para posteriormente centrifugar a 14,000 rpm durante 15 minutos a 25 °C utilizando una centrifuga marca Labanet modelo z-36.

Al terminar la centrifugación, se observó la formación de dos fases en la muestra: sobrenadante (fase líquida) e insoluble (fase sólida). Se retiró el sobrenadante con mucho cuidado de no arrastrar sólidos y separarlo en un recipiente, mientras que la parte insolubles situada en el fondo del tubo de centrifugación se diluyó con 20 ml de agua desionizada, se dispersó y centrifugó nuevamente. Este procedimiento se efectuó 2 veces.

Los sobrenadantes obtenidos del tratamiento se juntaron en un recipiente previamente pesado y etiquetado, para su congelación. De igual forma el material insoluble que queda después del tratamiento se depositó en un recipiente previamente pesado y etiquetado para su congelación. Una vez congelados ambos materiales se sometieron a un secado por liofilización.

Después de secar los materiales se pesaron para determinar el peso de sólidos insolubles y sólidos solubles respectivamente por medio de la diferencia de pesos.

II. Determinación de proteínas totales por el método de microkjeldahl

Procedimiento

Pesar la muestra homogenizada 0.2 g. La cual se coloca en el matraz microkjeldahl de 100 ml. Añadir 1.3 g de mezcla reactiva de selenio. Agregar 5 ml de H₂SO₄ concentrado. Colocar los matraces en el digestor Labconco. Poner la mezcla a ebullición suave hasta total digestión, lo cual se reconoce cuando la muestra adquiere un color verde claro a incolora sin tintes amarillos, generalmente la digestión se completa en una hora.

Enfriar el producto y diluir con 10 ml de agua destilada. Posteriormente se transfiere al matraz de destilación enjuagando con 2 o 3 porciones de agua destilada.

Coloque el refrigerante de manera que el extremo del condensador quede sumergido en la solución fijadora (20 ml de H₃BO₃ con 2-3 gotas de indicador). Por el embudo muestreador se añade 15 ml de NaOH al 67 % al matraz de destilación enjuagando con 5 ml de agua destilada. Bajar el matraz receptor hasta que el extremo del condensador quede sobre la solución fijadora y continuar destilando durante un minuto más, lavar el extremo del condensador con agua destilada. Enjuagar el microkjeldahl con dos porciones de 5 ml de agua destilada. Titular con solución valorada de H₂SO₄ 0.1 N, la solución cambia de color verde a violeta. Titular un blanco que haya sido sometido a todo el procedimiento, utilizando los mismos reactivos que con la muestra.

$$\% N = (V1 - V2) N (0.0114) (100) / W$$

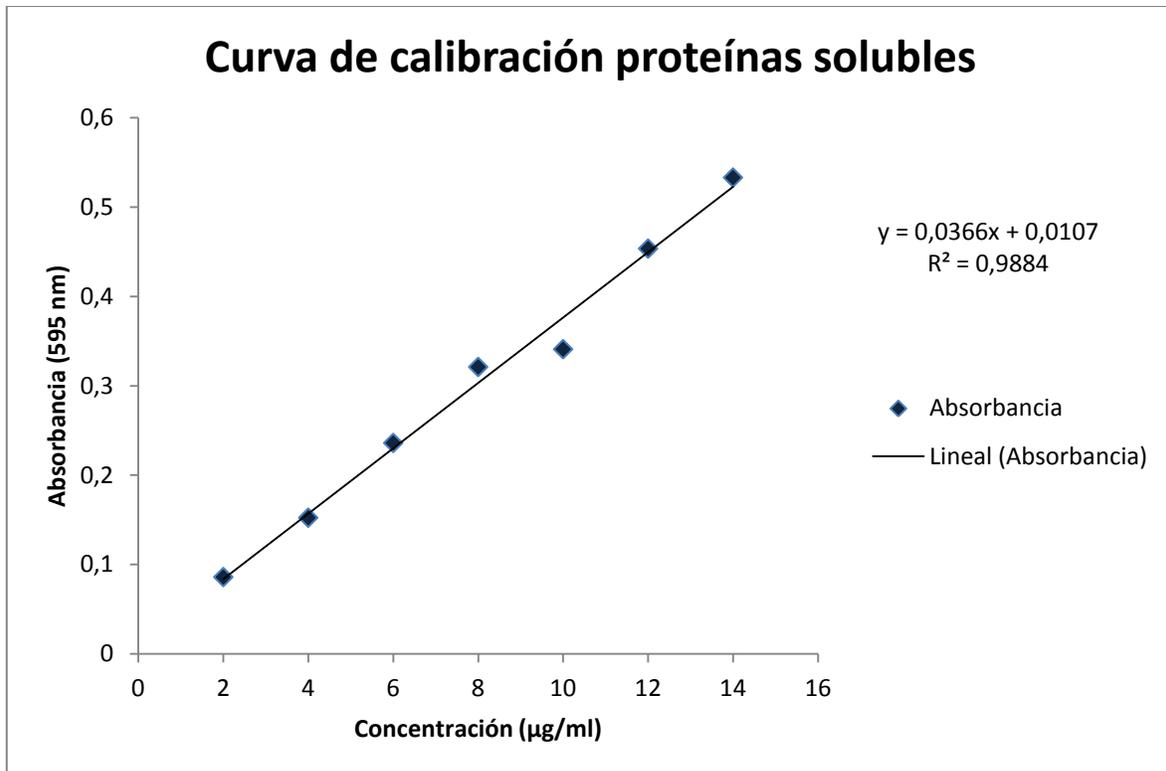
$$\% \text{Proteína} = (\% N) (6.25)$$

III. Determinación de proteína soluble por el método Bio-Rad

Curva de calibración.

Pesar 2 mg de albúmina sérica bovina, disolver en 10 ml de agua destilada, esta solución tiene una concentración de 2000 μ g/ml, y preparar la solución stock, con 1 ml de la primera dilución y aforar a 10 ml, obteniendo una concentración de 20 μ g/ml. De la solución stock preparar las diluciones correspondientes. Leer a 595 nm en el UV.

Solución stock (ml)	Agua destilada (ml)	Concentración (microgramos/ml)
0.1	0.7	2
0.2	0.6	4
0.3	0.5	6
0.4	0.4	8
0.5	0.3	10
0.6	0.2	12
0.7	0.1	14



Se preparó una muestra con 2 mg de extracto en 10 ml de agua. Agregar a un tubo de ensayo 0.8 ml de la muestra a analizar. Preparar por otro lado un blanco con 0.8 ml de agua destilada. A los tubos con muestra y blanco añadir 0.2 ml del reactivo concentrado Bio-rad.

Mezclar bien, después de cinco minutos leer a 595 nm de absorbancia.

IV. Determinación de Azúcares Totales (Método de Antrona)

1. Solución estándar de glucosa: se prepara una solución stock conteniendo 1000 microgramos de glucosa/ml. Se preparan de ahí las diluciones correspondientes para preparar la curva de calibración y los estándares en cada uno de los análisis.
2. Stock de ácido sulfúrico: Se utiliza ácido sulfúrico concentrado en la preparación del reactivo.
3. Reactivo de Antrona: En un matraz de aforación de 100 ml, agregar 200 mg (0.2 gr) del reactivo de Antrona y aforar a 100 ml con el ácido sulfúrico concentrado. Agitar hasta que se disuelva (es importante evitar la presencia de partículas flotantes de Antrona sin disolver). Este reactivo se prepara unas hrs antes de efectuar la prueba y se mantiene en hielo hasta su uso.

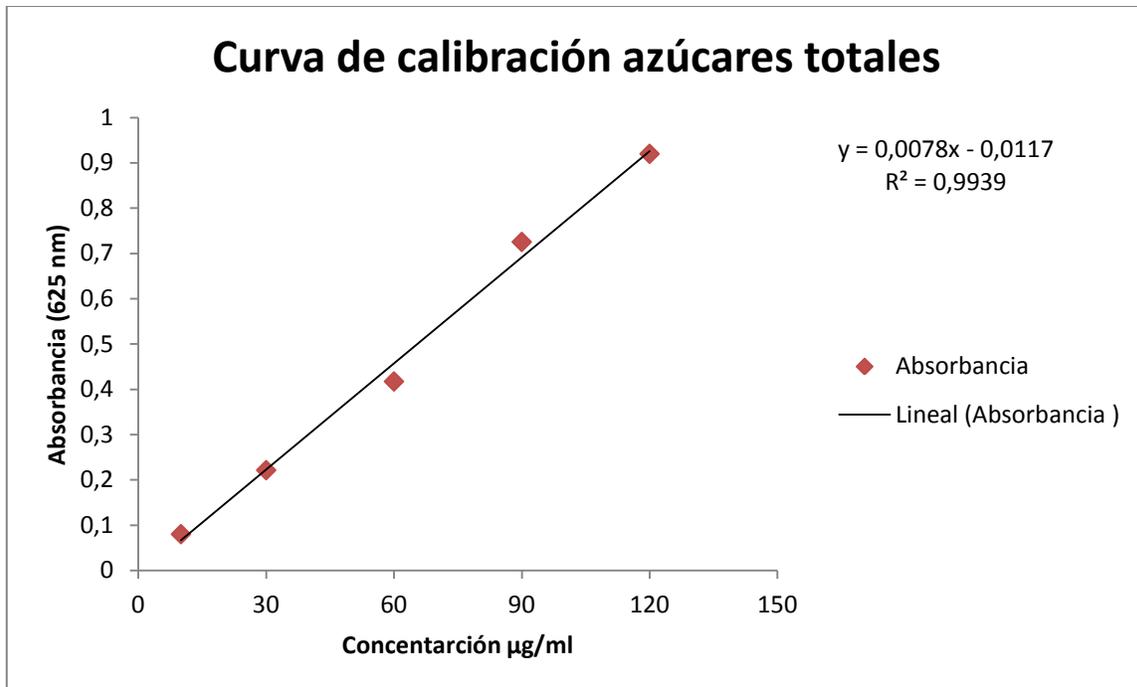
Curva de calibración

Para obtener la curva de calibración se preparó una solución stock de glucosa conteniendo 1000 microgramos/ml. Esto se obtuvo pesando 0.01 gr de glucosa en 10 ml de agua destilada. A partir de esta solución stock se prepararon los estándares siguientes:

Solución stock (ml)	Agua destilada (ml)	Concentración Estándar (microgramo/ml)
0.1	10	10
0.3	10	30
0.6	10	60
0.9	10	90
1.2	10	120

Procedimiento

1. Pipetear 1 ml de la muestra o de una solución estándar de glucosa. Al mismo tiempo se prepara un blanco de reactivo conteniendo 1 ml de agua destilada.
2. Los tubos conteniendo 1 ml de muestra se enfrían en una gradilla sumergida en agua y hielo, en la cual debe ser enfriado el reactivo de Antrona. Cuando este fría la muestra, añadir a los tubos, conservándolos en el agua fría, 5 ml del reactivo de Antrona, rotando el tubo durante la adición.
3. Después de mezclar, dejar en reposo durante 10 minutos.
4. Pasar los tubos a un baño de agua hirviendo y calentar durante 10 minutos. Una vez transcurrido el tiempo, enfriar en baño de agua y hielo.
5. Tomar las lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 625 nm.



La concentración de azúcares presentes en la muestra se obtuvo extrapolando las lecturas de absorbancias obtenidas en la curva de calibración preparada.

V. Determinación azúcares reductores por el método de Somogy-Nelson

Preparación de los reactivos

1. Reactivo alcalino de cobre: Este reactivo debe prepararse el día que se va a usar. En este caso se utilizó un matraz volumétrico de 50 ml en el cual se adicionaron 2 ml de solución "B" y se aforó hasta la marca con la solución "A".
Solución A: Disolver en agua destilada 50 gr de Carbonato de Sodio anhidrido, 50 gr de Tartrato doble de Sodio y Potasio y 400 gr de Sulfato de Sodio anhidrido. Después de disolver, aforar a 2000 ml de agua destilada y filtrar en caso necesario. Almacenar el reactivo a 15-20 °C.
Solución B: Disolver 150 gr de Sulfato de Cobre en 1000 ml de agua destilada y adicionar 0.5 ml de ácido sulfúrico concentrado.
2. Reactivo de Arseno-Molibdato: Disolver 100 gr de Molibdato de amonio en 1,800 ml de agua destilada, se agregan 84 ml de ácido sulfúrico concentrado y mezclar. Se agregan 12 gr de Orto- Arseniato disodico disuelto en 100 ml de agua, mezclar y dejar incubando a 37°C durante 24-48 hrs. Almacenar el reactivo en un frasco oscuro y bien tapado.

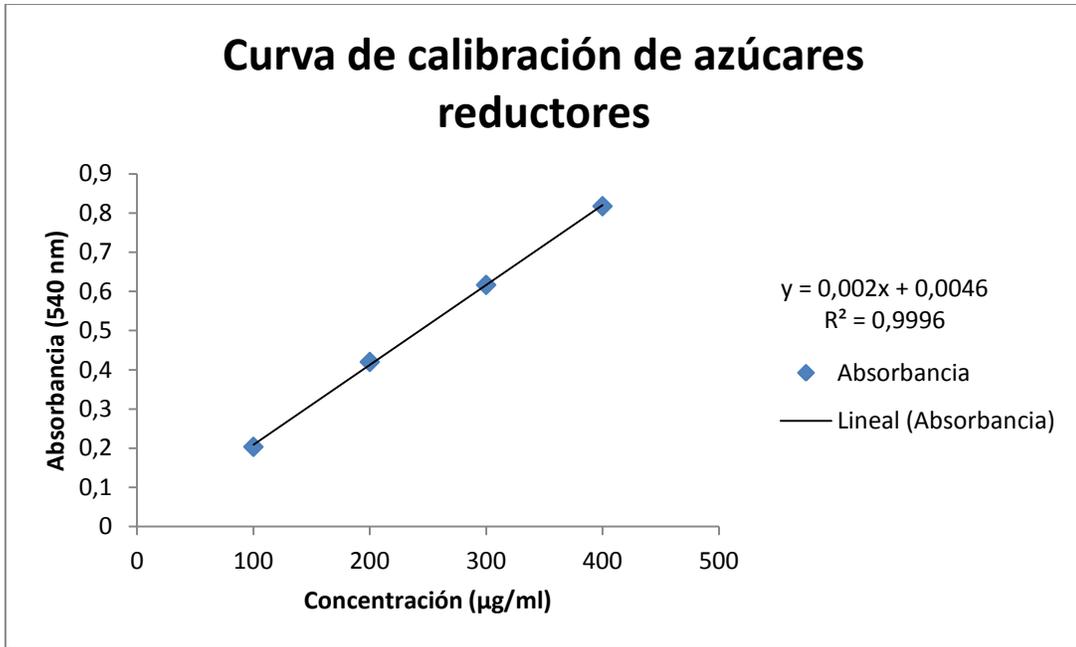
Curva de calibración

Para la curva de calibración se preparó una solución stock de 0.1 gr de glucosa en 10 ml de agua destilada obteniéndose una concentración de 10,000 microgramos/ml. A partir de esta solución stock se prepararon los estándares siguientes:

Solución stock (ml)	Agua destilada (ml)	Concentración (microgramos/ml)
0.1	10	100
0.2	10	200
0.3	10	300
0.4	10	400

Procedimiento

3. Se tomó 0.5 ml de muestra.
4. Se añadió 1 ml de reactivo de reactivo alcalino de cobre.
5. Se colocaron los tubos a baño María por 20 minutos.
6. Se enfriaron los tubos sobre el chorro del agua.
7. Se añadió 1 ml de reactivo de Arseno-Molibdato y mezclar.
8. Se Aforó con agua destilada a 12.5 ml.
9. Se tomó lecturas a 540 nm en el espectrofotómetro utilizando blanco de agua.



La concentración de azúcares presentes en la muestra se obtuvo extrapolando las lecturas de absorbancias obtenidas en la curva de calibración preparada.

VI. Determinación de Fenoles Totales por el Método Folin- Ciocalteu

Curva de calibración

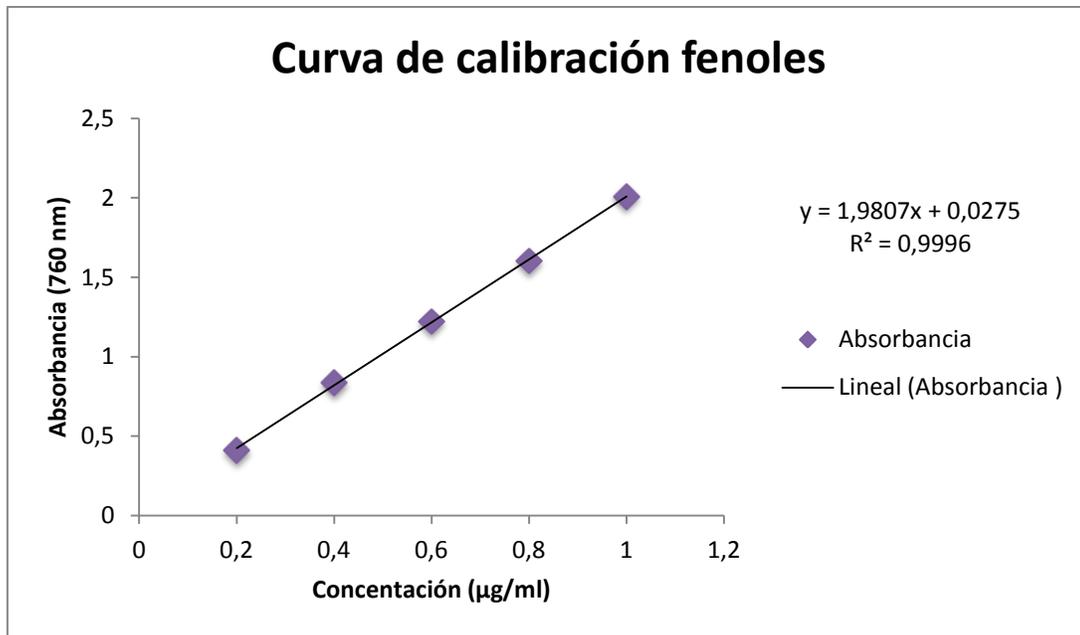
La solución stock se prepara con 25 mg de ácido tánico en 100 ml de acetona (30 % agua, 70 % acetona). A partir de esta solución stock se prepararon los estándares siguientes:

Solución stock (ml)	Agua destilada (ml)
0	1.0
0.2	0.8
0.4	0.6
0.6	0.4
0.8	0.2

Procedimiento

1. Se pesó 100 mg de muestra en polvo y se le agregaron 5 ml de acetona al 70%
2. La mezcla se dejó reposar por una hora a 4⁰C
3. Después de una hora las muestras se centrifugaron a 14,000 rpm durante 15 minutos a 25⁰C
4. Se toman 0.5 ml agregándole un ml de agua destilada.
5. Se adiciona 5 ml de Na₂CO₃.
6. Se dejan pasar 5 minutos y se agrega 0.5 ml de reactivo de Folin- Ciocalteu.

7. La mezcla se deja reposar durante 2 horas y posteriormente se lee en el espectrofotómetro a 760 nm.



La concentración de azúcares presentes en la muestra se obtuvo extrapolando las lecturas de absorbancias obtenidas en la curva de calibración preparada.

VII. Determinación de fenoles utilizando cromatografía en capa fina (TLC)

1. Se utilizaron placas de Silica-gel de 20x 20 cm con indicador fluorescente F254 marca Merck
2. Se marcó la placa con 5 mm en la base y 3 mm a los lados. Se hicieron separaciones de 5 mm a lo ancho de la placa.
3. Las muestras previamente fueron tratadas para extraer los fenoles presentes, esto pesando en un tubo eppendorf cónico 0.25 grs de muestras en 2 ml de metano
4. La mezcla se sometió a un tratamiento de ultra sonido por 10 minutos para recuperar el sobrenadante y dejarlo evaporar.
5. El sobrenadante evaporado se diluye en 30 μ l de metanol, con una micropipeta se carga la muestra y se colocaron 5 μ l en la placa de silica.
6. Para la fase estacionaria se utilizó 60 ml de acetato de etilo, metano y agua a una relación 10:2:1 respectivamente.
7. Se utilizaron 8 estándares, ácido clorogénico, rutina, ácido cúmarico, ácido cafeico, protocatequina, ácido gálico, ácido félicico y siringaldehído. Estos fueron colocados a manera de escales con el fin de poder identificar si los fenoles presentes en las muestras coincidían con alguno de los estándares. Se colocó 5 μ l de esta mezcla en la placa de silica.
8. Las placas de silica ya cargadas se pusieron en el recipiente que contenía los 60 ml de la fase estacionaria, se cerró y transcurrido el tiempo de 1:30 hrs aproximadamente se sacó la placa se marcó otra línea en la parte superior similar a las primera de 5 mm de grosor. Es de suma importancia realizar este

paso ya que la línea servirá para calcular los tiempos de retención de cada una de las muestras.

9. El comportamiento de las bandas obtenidas se lograron detectar por medio una lámpara UV portátil, marca UVP con dos longitudes de onda 254/365nm, la cual ayuda a revelar los puntos específicos en los que se encuentran los fenoles.