

Guatemala, 30 de noviembre, 2018

Señor Director  
MSc. Manuel de Jesús Martínez Ovalle  
Director General de Investigación  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Señor Director:

Adjunto a la presente el informe final “**Síntesis y evaluación de actividad biológica de nanopartículas de plata funcionalizadas con componentes del aceite de nuez de marañón (*Anacardium occidentale*)**” con partida presupuestal 4.8.63.6.11, coordinado por el M.A. Diana Pinagel y avalado por el Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Este informe final fue elaborado con base en la guía de presentación de la Dirección General de Investigación, el cual fue revisado su contenido en función del protocolo aprobado, por lo que esta unidad de investigación da la aprobación y aval correspondiente.

Así mismo, el coordinador(a) del proyecto, se compromete a dar seguimiento y cumplir con el proceso de revisión y edición establecido por Digi del **informe final y del manuscrito científico**. El manuscrito científico debe enviarse, por el coordinador(a) del proyecto, para publicación al menos en una revista de acceso abierto (*Open Access*) indexada y arbitrada por expertos en el tema investigado.

Sin otro particular, suscribo atentamente.

“Id y enseñad a todos”

Firma  
Diana Pinagel  
Coordinadora del proyecto de investigación

Firma y sello  
Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB)  
Facultad de Ciencias Química y Farmacia

Formato 01-2017

Informa Final

Síntesis y evaluación de actividad biológica de nanopartículas de plata funcionalizadas con componentes del aceite de nuez de marañón (*Anacardium occidentale*)

Equipo de investigación

Diana Pinagel

Byron Fuentes

Byron López

Mario Rodas

Rony Letona

Celeste Pelayes

Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB)

Universidad de Evry (Francia)

Universidad de Versailles (Francia)

Universidad Nacional Autónoma de México (México)

MSc. Manuel de Jesús Martínez Ovalle  
Director General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar  
Coordinador General de Programas

Inga. Liuba Cabrera  
Coordinador del Programa de Investigación

M.A. Diana Pinagel  
Coordinadora del Proyecto

M.Sc. Byron Fuentes  
Investigador

Dr. Byron López  
Investigador

Lic. Mario Rodas  
Investigador

Br. Rony Letona  
Auxiliar de Investigación II

Br. Celeste Pelayes  
Auxiliar de Investigación

Otros Colaboradores

Dr. Cecilio Alvarez (UNAM)

Dra. Caroline Cannizzo (Universidad de Evry)

Dr. Eddy Dumas (Universidad de Versailles)

Dr. Frederic Miserque (Oficina para energía atómica y energías alternativas en Francia)

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, 2018. El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada por la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la Partida Presupuestaria 4.8.63.6.11 durante el año 2018 en el Programa Universitario de Investigación en Alimentación y Nutrición.

Financiamiento aprobado por Digi: Q. 154641.00 Financiamiento ejecutado: mayor al noventa por ciento (>90%).

## Índice

1. Resumen.....	1
2. Palabras clave.....	1
3. Abstract and keywords.....	2
4. Introducción.....	3
5. Planteamiento del problema.....	3
6. Preguntas de investigación.....	4
7. Delimitación en tiempo y espacio.....	4
8. Marco teórico.....	4
9. Estado del arte.....	5
10. Objetivo General.....	6
11. Objetivos específicos.....	6
12. Hipótesis.....	7
13. Materiales y método.....	7
14. Vinculación, difusión y divulgación.....	10
15. Productos, hallazgos, conocimientos o resultados:.....	11
16. Análisis y discusión de resultados.....	15
17. Conclusiones.....	18
18. Impacto esperado.....	18
19. Referencias.....	19
20. Apéndice.....	22

## Índice de tablas

Tabla No. 1: Composición obtenida según cromatografía de gases del aceite obtenido.....	11
Tabla No. 2: Radio hidrodinámico obtenido por (DLS).....	13
Tabla No. 3: Actividad bactericida de compuestos a evaluar.....	14
Tabla No. 4: Valores registrados para el cálculo de la DL50 24 h.....	14
Tabla No. 5: DL50 de dos muestras de nanopartículas de plata.....	14

### Índice de figuras (fotografías, gráficas, diagramas)

Figura No. 1: Cromatograma del ácido anacárdico.....	11
Figura No. 2: Espectro UV-vis de las nanopartículas sintetizadas.....	12
Figura No. 3: Imágenes TEM de las Nanopartículas sintetizadas.....	13

### Apéndice

Anexo No. 1: Espectro de <sup>1</sup> H RMN 300 MHz del ácido anacárdico aislado (referenciado a TMS) .....	22
Anexo No. 2: Espectro de <sup>13</sup> C RMN 75 MHz ácido anacárdico aislado (CDCl <sub>3</sub> ) .....	23
Anexo No. 3: Espectro de masas del ácido anacárdico EM-DART+ (m/z) 349.28 [M++1]. .....	23
Anexo No. 4: Espectro de infrarrojo del ácido anacárdico. ....	24
Anexo No. 5: Fotografías de Síntesis de Nanopartículas.....	25

Síntesis y evaluación de actividad biológica de nanopartículas de plata funcionalizadas con componentes del aceite de nuez de marañón (*Anacardium occidentale*)

## 1. Resumen

Desde el tiempo de los antiguos romanos, se tiene conocimiento de las propiedades biocidas presentadas por la plata y sus compuestos relacionados. De ahí que hasta la fecha, se estén desarrollando una variedad de compuestos químicos que incluyen dentro de su estructura plata en estados de oxidación ( $\text{Ag}^0$  y  $\text{Ag}^{1+}$ ) y plata en forma de nanopartículas ( $\text{AgNP}$ 's) que explota esta propiedad. A partir de las múltiples síntesis de  $\text{AgNP}$ 's reportadas (Martínez-Castañón, Niño-Martínez, Martínez-Gutierrez, Martínez-Mendoza, & Ruiz, 2008), la estandarización de las condiciones, reproducibilidad y modificación de condiciones de reacción para su producción, ha tenido grandes avances, generando una enorme cantidad de publicaciones al respecto (Vlăsceanu et al., 2016).

Uno de los motivos que despierta interés para la investigación sobre las  $\text{AgNP}$ 's viene dado por la posibilidad de la funcionalización de su superficie, obteniendo comportamientos químicos variables, que pueden ser adaptados según la necesidad de los investigadores.

Con estas consideraciones se procedió a investigar una nueva ruta de síntesis para la funcionalización de  $\text{AgNP}$ 's, por medio del uso de la química de las sales de diazonio. Durante el estudio se utilizó el ácido anacárdico extraído de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*), como compuesto ancla para realizar la funcionalización. Este último compuesto fue caracterizado por técnicas analíticas (DLS, potencial-Z, UV-Vis e IR) y microscopía de electrónica (TEM), para analizar su composición y estructura química. Por último, se realizó ensayos biológicos determinando sus propiedades como agente biocida.

Se determinó que las condiciones planteadas para la funcionalización  $\text{AgNP}$ 's con el ácido anacárdico fueron exitosas, logrando unir químicamente el ácido anacárdico a la superficie de la partícula; además que el compuesto obtenido presentó alta actividad citotóxica e inactividad bactericida en las condiciones ensayadas.

## 2. Palabras clave

Nanotecnología, funcionalización de superficies, sales de diazonio, producto natural, actividad biológica.

### 3. Abstract and keywords

From the ancient roman age, the biocide properties of silver and related compounds have been known. Since then, several compounds of silver with different oxidation states ( $\text{Ag}^0$  and  $\text{Ag}^{1+}$ ) and silver as nanoparticle (AgNP's) are being developed to take advantage of the later property. Following the first synthesis of AgNP's reported by (Martínez-Castañón et al., 2008), standardizations, reproducibility and the optimization of synthetic conditions for production have improved, leading to the publishing of a great number of papers.

One of the reasons for the interest in AgNP's research has been the functionalization of the surface, allowing several chemical behaviors and modifications according to the need of the researchers (Vlăsceanu et al., 2016).

Taking the latter into account, this research proposes a new synthetic path for the functionalization of AgNP's, using diazonium salt chemistry. In the study, anacardic acid from the cashew nut (*Anacardium occidentale*) was extracted and isolated to be used as a molecular anchor in the functionalization of the AgNP's. The resulting composite was characterized by several analytical techniques (DLS, potential-Z, UV-Vis and IR) and electronic microscopy (TEM) to determine its chemical composition and structure. Finally, a biological assessment was performed to test the composite's biocide properties.

It was found that the proposed conditions for the functionalization of AgNP's with anacardic acid lead to an effective functionalization as the anacardic acid was chemically attached to the AgNP's surface. Also, the composite showed elevated cytotoxic activity and bactericide inactivity under the established conditions.

Keywords: Nanotechnology, surface functionalization, diazonium salts, natural product, biological activity.



#### 4. Introducción

Las nanopartículas de plata (AgNP's) poseen una gran cantidad de aplicaciones, de las cuales destacan las que involucran sus propiedades bioactivas. Amplios estudios se han desarrollado encontrando que tales propiedades se relacionan directamente con el tamaño y recubrimiento (capa ligada a la superficie de la partícula).

La modulación de tamaño y recubrimiento puede hacerse mediante la variación de las condiciones de reacción; para el tamaño puede lograrse mediante la relación entre la plata en su estado iónico y el agente reductor  $[Ag^+]:[H]$ . El recubrimiento, el cual puede ser el mismo agente reductor, al estar unido de manera electrostática o covalente a la superficie de la partícula, puede modificarse por medio de cambio de fase, reacciones de adhesión o realizando reacciones químicas directo sobre la superficie de la partícula.

Con la versatilidad de modificación de la superficie de las AgNP's (funcionalización) muchos autores han logrado alterar las propiedades bioactivas de las AgNP's, demostrándolo mediante ensayos de bioactividad en diversos tipos de bacterias, virus, protozoos, etcétera.

El aceite de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*) es un recurso poco aprovechado en nuestro país Este podría ser utilizado en ciencias de materiales, debido a que posee como componentes mayoritarios el ácido anacárdico y el cardanol.

#### 5. Planteamiento del problema

La nanotecnología ha venido a ser un motor para impulsar nuevos descubrimientos en nuestra sociedad, tanto a nivel de investigación pura como de procesos industriales. Esto evidenciado por las múltiples revistas especializadas en el tema y publicaciones en otras revistas de alto impacto.

A pesar de esto, Guatemala aún se encuentra en una etapa inicial de desarrollo de esta línea de investigación, teniendo un largo camino para que la industria apueste por hacer de la nanotecnología un motor para su de desarrollo.

Por esto y considerando la extensa la riqueza natural que existe en el país, una de las mayores fortalezas que se posee, se propuso combinar estos elementos para generar una posible línea de investigación en el área de nanotecnología.

Actualmente en el país no se encuentran estudios donde se utilicen elementos del extracto del aceite de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*) en conjunto con nanopartículas de plata para evaluar su posible actividad biológica, como agente biocida.

La investigación de agentes biocidas en nuestro país es un tópico de interés nacional debido a las tasas de morbilidad y mortalidad asociadas a enfermedades por condiciones de insalubridad. Es por ello que se busca que los agentes antes mencionados sean de bajo costo e incluyan derivados de productos naturales.

## **6. Preguntas de investigación**

Este trabajo pretendió responder y aportar información a la comunidad científica en relación a las siguientes preguntas: ¿Es posible obtener nanopartículas de plata de tamaños reproducibles, funcionalizadas con ácido anacárdico y/o cardanol? ¿La utilización de ciclodextrinas mejorarán las propiedades de solubilidad en agua de las nanopartículas funcionalizadas?, ¿Podrá lograrse una caracterización confiable de las nanopartículas funcionalizadas? y ¿Poseerán estas nanopartículas actividad biocida significativa, en patógenos comunes?

## **7. Delimitación en tiempo y espacio**

El trabajo fue realizado en la siguiente forma: síntesis y caracterizaciones, en los laboratorios del Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad del Valle de Guatemala, Universidad Nacional Autónoma de México (México), Universidad de Evry (Francia), Universidad de Versalles (Francia).

Los ensayos biológicos fueron realizados en el Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos –LAFYM–; los ensayos toxicológicos en el Laboratorio de investigación de productos naturales –LIPRONAT–, de la Facultad de Farmacia, USAC.

El proyecto fue realizado en 11 meses, de febrero a diciembre del 2018.

## **8. Marco teórico**

### **Nanopartículas de plata**

Las nanopartículas son agregados de átomos que presentan una distribución de tamaño regular, con propiedades diferentes al material macroscópico. Estas pueden ser sintetizadas por medio de dos métodos generales, de arriba-abajo (up – bottom) y de abajo-arriba (bottom-up), siendo este último el más utilizado, permitiendo un mejor control del tamaño de partículas y funcionalización de superficie (Sharma, 2013), (Sau, Pal, Jana, Wang, & Pal, 2001).

La síntesis de nanopartículas de la plata (AgNP's), puede llevarse a cabo utilizando métodos químicos, físicos e inclusive biológicos. Dentro de las propiedades más conocidas de las AgNP's,

se encuentra su efecto antimicrobiano, y ha sido utilizado en filtro para la purificación de agua o cosméticos como desodorantes (George, Kuriakose, Prakashkumar, & Mathew, 2010).

Las AgNP's, pueden ser caracterizadas por medio de técnicas analíticas como espectroscopia UV-visible, potenciales de oxidación y reducción, espectrometría infrarroja, que suelen ser de bajo costo (Jasmin, Cannizzo, Dumas, & Chaussé, 2014).

Tendencias actuales en la investigación de nanopartículas en temas de salud, comprenden la modificación de la superficie (funcionalización) modulando las propiedades químicas, generando superficies selectivas que interactúan con proteínas, interfiriendo en sistemas microbiológicos (Levard et al., 2013), (Sondi & Salopek-Sondi, 2004).

### **El aceite de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*)**

Una de las pocas fuentes naturales de fenoles de cadena larga con insaturaciones, se extrae de la semilla de *Anacardium occidentale*. Estos fenoles se presentan como un líquido viscoso de color oscuro y olor característico, al cual se le conoce como aceite o líquido de la cáscara de la nuez de marañón (Phani Kumar, Paramashivappa, Vithayathil, Subba Rao, & Srinivasa Rao, 2002; Yuliana et al., 2014). Este es un material renovable que ha sido ampliamente utilizado en la ciencia de los materiales, como barniz, componente de pinturas, repelente de agua, etc. sin embargo en estudios recientes, se ha observado que este tiene un potencial uso contra microorganismos patógenos (Alvarenga et al., 2016; Trox et al., 2010), eso aunado a que existen pocos reportes publicados de este componente con nanopartículas metálicas; los componentes mayoritarios de este aceite son el cardanol, el cardol y el ácido anacárdico (Varela, Oliveira, Souza, Rodrigues, & Costa, 2013).

## **9. Estado del arte**

La extracción y el aislamiento del líquido de la cáscara de la nuez de marañón (CNSL por sus siglas en inglés) se ha realizado por diferentes métodos: desde la recolección del líquido que escurre al momento de tostar el fruto de marañón para el posterior consumo de la semilla, o la extracción del líquido crudo utilizando diferentes solventes y un aparato Soxhlet, hasta la extracción por fluidos supercríticos. Dependiendo del método utilizado será la composición del CNSL obtenido. Por la misma razón, algunos métodos son preferidos para lograr una mayor cantidad de algún componente (Balachandran, Jadhav, Vemula, & John, 2013).

El CNSL crudo consta de ácido anacárdico, cardanol, cardol y metil-cardol. El ácido anacárdico es el componente principal si se extrae el líquido sin aplicar calor. Sin embargo, al tostar el fruto (lo que se conoce como la nuez de marañón), el ácido anacárdico sufre una descarboxilación convirtiendo este en cardanol y haciendo del CNSL el líquido técnico. Este último tiene como componente principal cardanol. El cardol y el metil-cardol se presentan en menor proporción.

Existe, sin embargo, mucha diversidad entre los componentes, pues cada uno existe en el CNSL (crudo o técnico) con diferentes grados de insaturación (Paramashivappa, Kumar, Vithayathil & Rao, 2001; Balachandran, Jadhav, Vemula, & John, 2013).

El aislamiento del ácido anacárdico, el cardanol, el cardol y el metil-cardol se ha llevado a cabo mediante una secuencia sistemática que consta de una serie de reacciones químicas y separaciones líquido-líquido. Posteriormente, para obtener alguno de los componentes puros se ha realizado la hidrogenación de cada uno de ellos eliminando así las insaturaciones. A partir de los componentes ya aislados se ha realizado varias reacciones aprovechando la química del grupo carboxilo, fenol, el anillo aromático o algún átomo de carbono cercano a este último (Abbina & Anilkumar, 2017; Kumar, Paramashivappa, Vithayathil, Rao, & Rao, 2002; Paramashivappa, Kumar, Vithayathil & Rao, 2001).

Aprovechando parte de sus propiedades, el CNSL o sus componentes también se han utilizado para sintetizar nuevos materiales. Se ha encontrado que el cardanol y el ácido anacárdico se han usado para dar origen a surfactantes, geles, cristales líquidos, polímeros, medicamentos y nanomateriales. Entre estos últimos se halla una investigación sobre nanopartículas de plata y oro sintetizadas utilizando CNSL (Anilkumar, 2017; Velmurugan et al., 2013).

Las nanopartículas de plata y de oro han encontrado aplicaciones físicas, biológicas y farmacéuticas. Las más estudiadas son las nanopartículas de plata, las cuales suelen ser sintetizadas mediante agentes reductores inorgánicos (e.g.  $\text{NaBH}_4$ ). Sin embargo, el uso de reductores orgánicos también ha llevado a resultados satisfactorios (e.g. citrato o ascorbato de sodio). Una de las tantas propiedades de las nanopartículas de plata es su actividad antimicrobiológica. Esta última también fue investigada y reportada junto con la síntesis de las nanopartículas de plata utilizando CNSL como agente reductor. El CNSL no cumplió ningún otro papel en el artículo consultado (Beyene, Werkneh, Bezabh & Ambaye, 2017; Velmurugan et al., 2013).

## 10. Objetivo General

Generar una metodología reproducible para la síntesis de nanopartículas de plata funcionalizadas con productos orgánicos provenientes del aceite de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*), que puedan ser utilizadas como agentes biocidas.

## 11. Objetivos específicos

Determinar condiciones para la síntesis de diferentes tamaños de nanopartículas de plata.

Desarrollar un método eficaz para funcionalizar las nanopartículas con distintos extractos del aceite de la semilla de marañón (*Anacardium occidentale*).

Evaluación de la actividad biocida de las nanopartículas de plata funcionalizadas.

## 12. Hipótesis

Las nanopartículas de plata funcionalizadas con productos orgánicos provenientes del aceite de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*), tendrán potenciales propiedades biocidas sobre microorganismos a evaluar.

## 13. Materiales y método

- 1.1. Enfoque de la investigación: Cuantitativa
- 1.2. Enfoque y tipo de investigación: Exploratoria y aplicada
- 1.3. Recolección de información:

La caracterización del compuesto orgánico fue realizada verificando la presencia del/los compuesto basados en los resultados espectroscópicos. Los tamaños de las nanopartículas se determinaron utilizando estadística descriptiva, según cada caso. La actividad biocida se determinó utilizando los protocolos estandarizados.

- 1.4. Para investigación cuantitativa:
- 1.5. Técnicas e instrumentos:

### 1.5.1. Síntesis de AgNP's con uso de NaBH<sub>4</sub>.

Agregar a 1 mL de una solución de nitrato de sodio (1 mM), 2 mL agua desionizada y 3 mL de borohidruro de sodio (2 mM). Realizar la adición de manera rápida con agitación constante y temperatura ambiente. Después de completar la adición de NaBH<sub>4</sub>, mantener la agitación y fuera de la luz por unos minutos. Verificar el cambio de color de la solución a un color amarillo claro. Dar seguimiento y comprobar la formación y estabilidad de las nanopartículas por medio de espectroscopia UV-vis (Sondi & Salopek-Sondi, 2004).

### 1.5.2. Extracción, reducción y purificación del ácido anacárdico.

Para la extracción del ácido anacárdico se usó una modificación a la metodología reportada por Kumar en el año 2002 (Phani Kumar, Paramashivappa, Vithayathil, Subba Rao, & Srinivasa Rao, 2002).

Una muestra de 10 g de cáscara de la nuez del marañón cortada en trozos de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> se colocó en un extractor tipo Soxhlet utilizando acetato

de etilo durante 25 ciclos. El disolvente fue eliminado en un rotavapor a presión reducida. El líquido aceitoso resultante fue redisoluelto en diclorometano y filtrado sobre celulosa para eliminar impurezas. El diclorometano fue eliminado a presión reducida y el aceite se almacenó en condiciones anhidras.

Para la hidrogenación del aceite obtenido, en un hidrogenador Parr® modelo 3911 de baja presión utilizando una botella de hidrogenación de 500mL se pre-hidrogenaron 0.76g de (Pd/C) en 120mL de metanol a 40psi por 1h. Posteriormente se agregaron 30g del aceite purificado y se hidrogenaron a 40 psi por 4h.

Al término de la hidrogenación, la mezcla de reacción se filtró sobre papel y el líquido fue llevado a sequedad a presión reducida. El sólido obtenido fue purificado por medio de cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con mezcla de hexano:acetato de etilo en gradiente. El ácido anacárdico obtenido fue disuelto en diclorometano y filtrado sobre carbón activado, obteniendo 7.00 gramos con un rendimiento de 23.3% con respecto al aceite.

#### **Caracterización por medio de CG, CG-MS, EM-DART, IR, RMN $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ .**

Los espectros de resonancia magnética de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  fueron realizados en un equipo Bruker® Advance III, a 300 MHz y 75 MHz respectivamente, utilizando cloroformo deuterado. El desplazamiento químico se obtuvo en partes por millón (ppm) utilizando como estándar interno TMS. El espectro de masas se realizó en un espectrómetro JEOL JMS-AX505 por la técnica Direct analysis in real time (EM-DART). El espectro infrarrojo (IR) fue realizado en un equipo Bruker TENSOR 27. Todas las mediciones anteriores fueron hechas en colaboración con el Instituto de química de la Universidad Nacional Autónoma de México. Para la cromatografía de gases se utilizó el equipo Perkin Elmer Clarus 580 SQ8S en la Facultad de ciencias químicas y farmacia, de la USAC.

#### **Funcionalización de las nanopartículas por medio de sales de diazonio con el ácido anacárdico.**

Agregar a 1mL de una solución de nitrito de sodio (1mM), 2 mL de agua desionizada y 3 mL de borohidruro de sodio (2mM). Inmediatamente añadir 1 mL de solución de 4-aminoanilina (10mM) disuelta en una solución de  $\text{NaNO}_2$  (1 mM) en medio ácido (10mM HCl) preparada previamente. Agregar 1 mL de la solución ácida de  $\text{NaNO}_2$  preparada previamente y 1 mL de ácido anacárdico (1mM) disuelto en solución 0.5N de NaOH. Realizar la mezcla de manera rápida con agitación constante y temperatura ambiente. Verificar el cambio de color a rojo

grana. Dar seguimiento y comprobar la formación y estabilidad de las nanopartículas por medio de espectroscopia UV-vis.

### **Caracterización de nanopartículas DLS, IR, UV-Vis y TEM**

Para la medición del radio hidrodinámico y potencial-Z se utilizó un equipo Zetasizer Nano Range de Malvern Panalytical. El espectro infrarrojo (IR) fue obtenido en un equipo Bruker TENSOR 27. Las mediciones en UV-vis fueron realizadas en un equipo VWR UV-1600PC Scanning Spectrophotometer. Las imágenes de microscopia fueron obtenidas en *L'Institut national de la recherche agronomique* (INRA) con el apoyo de la Universidad de Versailles.

### **Actividad biocidas de las nanopartículas**

Se ensayó por medio del poder bactericida según la metodología establecida en la United States Pharmacopoeia para las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Cándida albicans* ATCC 20231, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 y el protocolo de citotoxicidad para *T. platyurus*.

### **Actividad Citotóxica**

El método utilizado para determinar la toxicidad de las nanopartículas de plata fue el de artemia salina, el cual es un bioensayo preliminar, simple y de bajo costo, que nos permite medir la toxicidad de los compuestos (González et al., 2013).

En el ensayo se empleó agua de mar preparada con 35 g de sal de mar en 1 L de agua destilada. Para la eclosión de los huevos se utilizó una cámara de vidrio de 2 compartimentos, uno oscuro y el otro iluminado por una lámpara de 18 W colocada a una distancia aproximada de 30 cm. El agua se aireó a saturación 30 min antes de colocar los 40 mg de huevos y se dejaron incubar por 48 horas, utilizando para el ensayo los nauplios de no más de 18 horas de nacimiento.

Para la determinación de la DL50 se hicieron grupos de 10 nauplios y se probó un rango de concentraciones de 1, 0.5, 0.25 y 0.12 mM, donde se establecieron 3 réplicas por tratamiento, incluyendo el grupo control. El tiempo de exposición fue de 24 h. Culminado éste, se contaron las sobrevivientes (González y Aportela, 2001).

La determinación de la estructura molecular fue llevada a cabo de manera cualitativa. Esta se hizo mediante la interpretación de las señales características que se encontraron en los resultados de los diferentes análisis espectroscópicos y espectrométricos.

El tamaño de las partículas se determinó a partir de un análisis de estadística descriptiva y medidas de tendencia central, partiendo de los datos de microscopía.

#### **14. Vinculación, difusión y divulgación**

La caracterización estructural del ácido anacárdico extraído, se realizó gracias a la colaboración con el Dr. Cecilio Álvarez de la Universidad Nacional Autónoma de México y con el apoyo de la Universidad del Valle de Guatemala.

Las caracterizaciones espectrofotométricas y microscopía electrónica de las nanopartículas y nanopartículas funcionalizadas fueron realizadas por el MSc. Byron Fuentes durante una pasantía realizada en el *Laboratoire Analyse et Modélisation pour la Biologie et l'Environnement* (LAMBE) con el apoyo de Dra. Carolina Cannizzo – *L'Université d'Évry* –, Dr. Eddy Dumas – *Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines* – y Dr. Frederic Miserque – *Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives* (Oficina para energía atómica y energías alternativas en Francia).

Sobre la cuantificación y caracterización de la ácido anacárdico encontrado en las muestras de aceite de la cáscara de la nuez de marañón, se sometió un estudio de caso a la revista científica “Ciencia, Tecnología y Salud” de DIGI – USAC.

Se han realizado exposiciones sobre la metodología y caracterización utilizada en la conferencias realizadas en la actividad del celebración del Día de Químico en la Facultad de CCQQ y Farmacia, USAC.

Se someterán los resultados de la funcionalización en una revista internacional especializada en el campo de la nanotecnología.



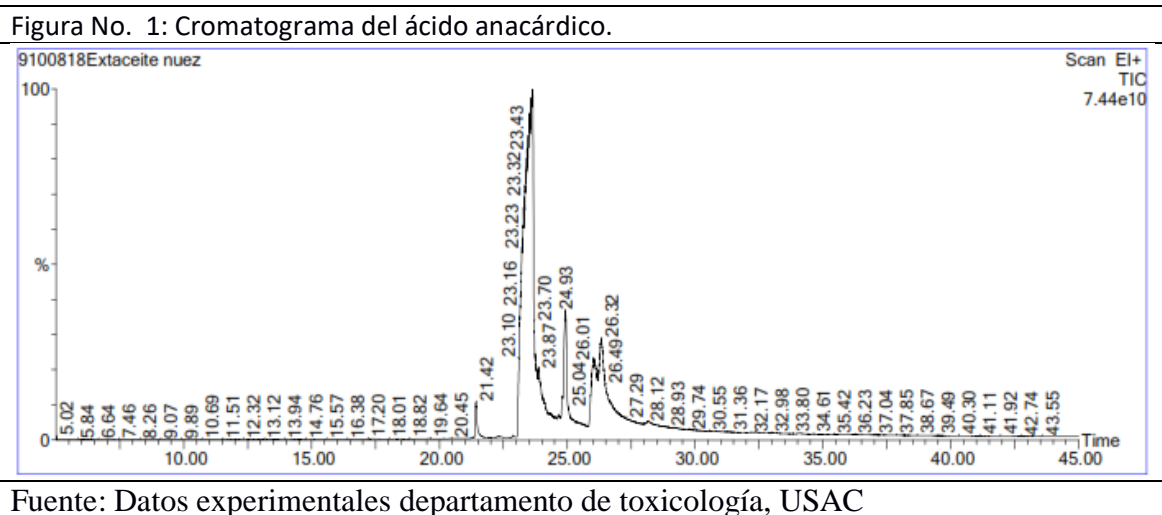
## 15. Productos, hallazgos, conocimientos o resultados:

Extracción de componente del aceite de marañón

Las áreas y los porcentajes de los componentes de la semilla de marañón obtenidos por cromatografía de gases se presentan en la Tabla No.01.

Tiempo de retención en minutos (TR)	Área del pico (%)
21.424	1.505
23.646	62.489
23.888	5.056
24.926	6.674
26.027	7.348
26.331	16.925

Fuente: Datos experimentales departamento de toxicología, USAC  
En el análisis por cromatografía de gases del aceite, se encontraron los picos más abundantes con tiempos de retención de 23.646 y 26.311 que corresponden a los isómeros de AA y cardol respectivamente.



### La identificación estructural para resonancia de $^1\text{H}$ RMN y $^{13}\text{C}$ RMN:

El compuesto aislado mostró los siguientes valores característicos para el ácido anacárdico  $^1\text{H}$  RMN (referencia a TMS) d 10.95 (s, 1H, OH), 7.28 (t, 1H, J = Hz, Ar-H), 6.81 (d, 1H, J = Hz, Ar-H), 6.71 (d, 1H, Ar-H), 2.90 (t, 2H), Ar-CH<sub>2</sub>-), 1.53 (m, (2H, Ar-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 1.18 (m, 22H, cadena alquílica), 0.81 (t, 3H, -CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$  RMN (referencia  $\text{CDCl}_3$ ) d 175 (C=O), 163 (C-OH fenol), 147.1 ( $\text{C}_{\text{ipso}}$  cadena alquílica), 136 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 135 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 120 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 110 ( $\text{C}_{\text{ipso}}\text{-COOH}$ ), 35.47, 31.02, 30.91, 28.80, 28.68, 28.62, 28.047, 28.34, 21.67 ( $-\text{CH}_2-$  cadena alquílica) 13.09 ( $-\text{CH}_3$ ).

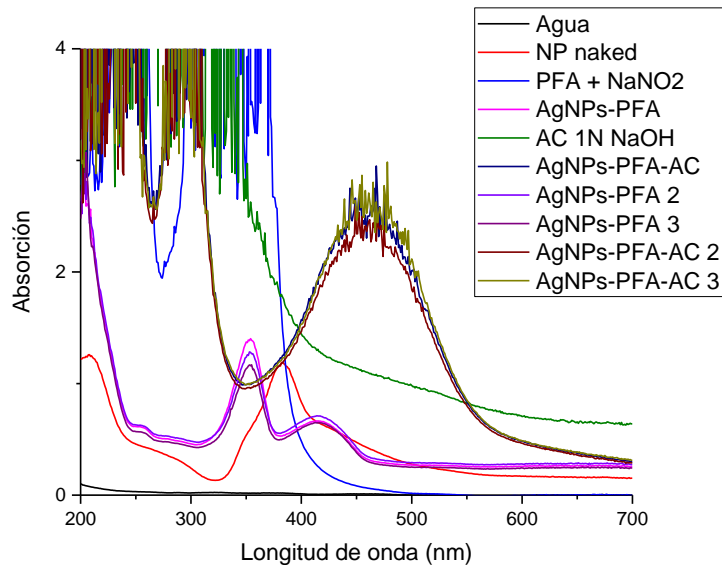
El espectro de masas del ácido anacárdico EM-DART<sup>+</sup> (m/z) 349.28 [ $\text{M}^++1$ ]. En el espectro FT-IR  $3394\text{ cm}^{-1}$  ( $-\text{OH}$ ) y  $1588\text{ cm}^{-1}$  (C=O).

## Caracterización de las nanopartículas

### Nomenclatura para nanopartículas

NP naked	= nanopartículas de plata sin revestimiento
AgNPs-PFA	= nanopartículas de plata con la superficie pegajosa
AgNPs-PFA-AC	= nanopartícula funcionalizadas con el ácido anacárdico

Figura No. 2: Espectro UV-vis de las nanopartículas sintetizadas.



Fuente: Datos experimentales obtenidos en la Universidad de Evry.

En el espectro puede observarse el comportamiento de la resonancia de plasmon para cada una de las partículas. Es posible ver la relación entre el corrimiento del máximo y el tamaño de la partícula.

Legenda:

NP naked	= nanopartículas de plata sin revestimiento
PFA – NaNO <sub>2</sub>	= sal de diazonio de la 4-animoanilina
AgNPs-PFA	= nanopartículas de plata con la superficie pegajosa
AC 1N NaOH	= ácido anacárdico disuelto en solución básica
AgNPs-PFA-AC	= nanopartícula funcionalizada con el ácido anacárdico

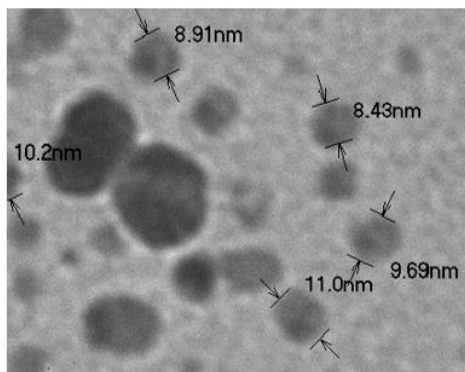
Tamaño obtenido para las nanopartículas

Tabla No. 2: Radio hidrodinámico obtenido por (DLS)	
Nanopartícula sintetizada	Diametro (nm)
AgNPs	8
AgNPs-PFA	17
AgNPs-PFA-AC	35

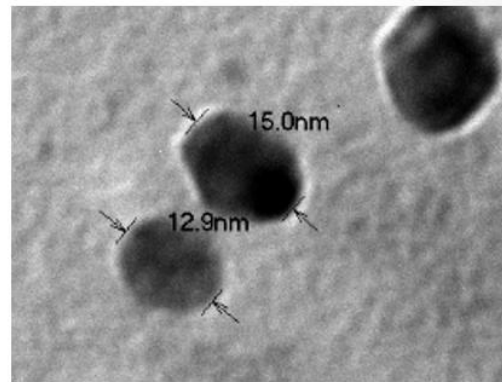
Fuentes: Datos experimentales en la Universidad de Evry, Francia

Figura No. 3: Imágenes TEM de las Nanopartículas sintetizadas.

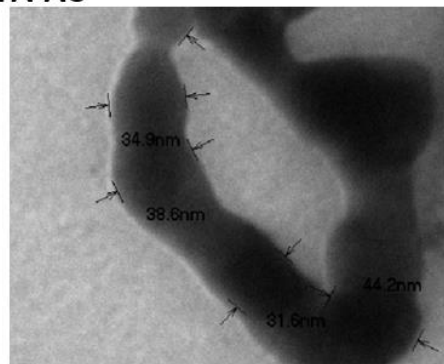
**AgNPs**



**AgNPs-PFA**



**AgNP-PFA-AC**



Fuente: Datos experimentales obtenidos en *L'Institut national de la recherche agronomique* (INRA), Francia.

De acuerdo a las mediciones microscópicas los tamaños de las partículas corresponde a:  
AgNP's =  $10 \pm 0.9$  nm, AgNp's-PFA =  $17 \pm 5.0$  nm, AgNP-PFA-AC =  $34 \pm 6.1$  nm

Tabla No. 3: Actividad bactericida de compuestos a evaluar.

<b>Bacteria</b>	<b>NP Ag</b>	<b>NP anacardato</b>	<b>anacardato</b>	<b>Fenol</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Cándida albicans</i>	-	-	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	-	-	-

NP = nanopartícula Ag = plata -/+ = actividad negativa / actividad positiva  
Todos los compuestos fueron utilizados en una concentración de 1mM

Tabla No. 4: Valores registrados para el cálculo de la DL50 24 h.

<b>Concentración</b>	<b>AgNPs</b>			<b>AgNP-PFA-AC</b>		
	<b>Números de artemias vivas por pocillo</b>			<b>Número de artemias vivas por pocillo</b>		
	1	2	3	1	2	3
0 (Control)	10	10	10	10	10	10
0.12 mM	NE	NE	NE	1	2	0
0.25 mM	NE	NE	NE	0	1	3
0.50 mM	10	10	10	2	1	0
1 mM	10	10	10	0	0	0

Nota. a. NE: No evaluado.

Fuente: Datos Experimentales. Laboratorio de Investigación de Productos Naturales –LIPRONAT-. Edificio T-10, Laboratorio 106, USAC.

En la Tabla 2 se muestra la dosis letal media obtenida por análisis probit de las dos muestras de nanopartículas de plata.

Tabla No. 5: DL50 de dos muestras de nanopartículas de plata.

<b>No.</b>	<b>Muestra</b>	<b>DL<sub>50</sub></b>
1	AgNPs	Mayor a 1 mM
2	AgNP-PFA-AC	0.1551 mM

Fuente: Datos Experimentales. Laboratorio de Investigación de Productos Naturales –LIPRONAT-. Edificio T-10, Laboratorio 106, USAC.

## 16. Análisis y discusión de resultados

### **Extracción y purificación:**

En concordancia con la literatura, se encontró que el componente mayoritario presente en el aceite de la cáscara cruda de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale*) de Guatemala, es el ácido anacárdico en un porcentaje peso/peso de hasta 62.8%. Esto se evidencia en los valores presentados en la Tabla No. 1.

Para la extracción del aceite se utilizó una metodología basada en la de Kumar (Phani Kumar, Paramashivappa, Vithayathil, Subba Rao, & Srinivasa Rao, 2002). Esta fue modificada al utilizar acetato de etilo como disolvente, el cual tiene la ventaja de solubilizar menos material polimérico y otros componentes fenólicos.

Todos los componentes del aceite de nuez de marañón cuentan con una cadena alquílica en la que se pueden hallar hasta 3 insaturaciones. Esto implica que cada componente no existe puro en el aceite, sino como una mezcla de sus isómeros. Con el fin de disminuir el número de isómeros de los componentes presentes en el aceite obtenido y facilitar su purificación, este último fue hidrogenado dando una mezcla sólida de productos fenólicos saturados (Figura No. 1). El rendimiento de la reacción de hidrogenación fue del 23.3% peso/peso con respecto al aceite extraído previamente.

### **Caracterización del ácido anacárdico:**

El espectro infrarrojo (FT-IR) del AA, presenta en 3394  $\text{cm}^{-1}$  la banda característica correspondiente al grupo hidroxilo fenólico (-OH), en 1588  $\text{cm}^{-1}$  se observa una señal intensa asignada al grupo carbonilo, desplazada a menor frecuencia debido a la formación de un puente de hidrógeno.

En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del AA, las señales correspondientes a los átomos de hidrógeno aromáticos aparecen como una señal triple en 7.28 ppm y dos señales dobles en 6.86, 6.71, ppm. La señal correspondiente al metileno unido al anillo aromático aparece como una señal triple en 2.9 ppm, la señal correspondiente al metileno unido al metilo se observa como una señal múltiple que integra para dos protones en 1.53 ppm. Finalmente la señal asignada al metilo aparece como una señal triple en 0.81 ppm.

El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  del AA muestra una señal en 175 ppm asignada al carbono del grupo carbonilo. El carbono ipso del anillo aromático unido al grupo hidroxilo se observa en 163 ppm. La señal del carbono cuaternario del anillo aromático unido a la cadena alifática se encuentra desplazada a 147 ppm. Finalmente el carbono ipso base del grupo carboxílico muestra una señal en 110 ppm. El resto de los carbonos aromáticos se encuentran en 135, 136 y 120 ppm.

Finalmente en el espectro de masas el ion molecular a 348.53  $\text{m/z}$ , corresponde al peso molecular esperado para el AA.

### **Síntesis y caracterización de las nanopartículas de plata:**

Para realizar la síntesis de las nanopartículas (nanopartículas desnudas [*Naked-AgNP's*]), se optó por el método “*bottom-up*”; a partir de iones plata ( $\text{Ag}^+$ ) en presencia de un agente reductor ( $\text{NaBH}_4$ ) se dio la formación de agregados de plata ( $\text{Ag}^0$ ) estabilizados gracias a la presencia de contra-iones producidos en la reacción. Debido a que la síntesis no cuenta con agentes estabilizantes adicionales (e.g. citrato) la superficie de la partícula se encuentra más disponible para realizar las funcionalizaciones posteriores.

La síntesis de las partículas pudo ser rápidamente verificada por medio del color amarillo claro característico de las nanopartículas de plata, además de la resonancia plasmon en el barrido UV-vis, presentando su máximo de absorbancia entre 398 nm. Según lo estudiado, este máximo corresponde a nanopartículas de tamaño 9 nm. En la Figura No. 2, se observa que la banda de absorción en el barrido no presenta ningún otro máximo o cola posterior a los 398 nm, lo que puede interpretarse como homogeneidad en el tamaño de la población nanopartículas obtenidas. Esto se confirma mediante el análisis de DLS (*Dynamic Light Scattering*) donde según las mediciones hidrodinámicas de las partículas, presenta tamaños similares con el máximo de absorción UV-vis. Junto con ello el índice de polidispersión muestra valores cercanos a 0.5, característico de poblaciones con baja dispersión de tamaños. Por último la microscopía de transmisión electrónica (*Transmission Electron Microscopy –TEM-*), confirma el tamaño y distribución previamente encontrado. Las fotografías (Figura No. 3) muestran nanopartículas con una geometría esférica, una distribución de tamaño con baja dispersión, y ausencia de agregados en las muestras analizadas. Al realizar las mediciones de tamaño utilizando las imágenes TEM, se encontró que el tamaño para las nanopartícula de plata era de  $10 \pm 2$  nm.

La estabilidad en el tiempo fue evaluada diariamente durante 5 días. Se determinó que las nanopartículas mantienen su máximo de absorción sin cambios relevantes, formación de agregado o cambio de color, por al menos 5 días cuando estas se mantenían en ausencia de aire y fuera de la luz.

### **Funcionalización de nanopartículas de plata con ácido anacárdico:**

Una vez se contaba con la certeza de condiciones de síntesis para la *Naked-AgNP's*, se procedió a realizar la funcionalización por medio del uso de las superficies pegajosas. En estas se utiliza la química de las sales de diazonio para crear enlaces covalentes entre la superficie de la nanopartícula y un sintón orgánico. La formación de un radical a partir de la reacción de formación de una sal de diazonio de una amina aromática, permite adherir de manera covalente la amina a la superficie. Sobre ésta, pueden desarrollarse diferentes reacciones posteriores según la naturaleza química lo permita. Al utilizar una diamina, 4-aminoanilina, se tienen dos posiciones en las cuales pueden generarse especies radicales reactivas. Al hacer reaccionar este compuesto en exceso, la reacción tiende a que se favorezca la activación de solo uno de los dos grupos amino; dejando la otra libre para poder ser activada posteriormente al ser sometida a una solución

ácida de nitrito de sodio. Una vez activada la segunda amina, esta puede reaccionar con grupos dadores de electrones que sean agregados al medio, creando el enlace químico.

Esta fue la base para la selección de la funcionalización de las nanopartículas. La diamina, en su forma de sal de diazonio, fue utilizada para realizar la adición de la partícula, posteriormente utilizando la reacción de sal de diazonio es posible adherir de manera covalente aminas y realizar sucesivas reacciones químicas sobre los grupos funcionales disponibles.

Para el caso de la funcionalización de las AgNP's con el ácido anacárdico, se inició con la síntesis de las nanopartículas, sin el uso de ningún agente estabilizante, buscando que el área de la nanopartícula se encontrara disponible. Esto puede seguirse por medio de los espectros UV-visible e infrarrojo donde no se observa la presencia de ninguna señal orgánica característica.

Mediante la adición de la sal de diazonio de la diamina a la mezcla de reacción, se lograron obtener cambios visibles, tanto el en color de las soluciones, como el en comportamiento químico de las partículas. Al analizar los espectros obtenidos para estas nuevas partículas ya funcionalizadas con la diamina AgNP's-Ph-NH<sub>4</sub>, se obtuvo un corrimiento en la resonancia plasmon de la partículas relacionado con el aumento del tamaño, señales de infrarrojo correspondiente a la presencia de grupos aromáticos y amina, y una variación de las estabilidad, formando agregados luego de unas pocas hora de su síntesis.

### **Análisis microbiológicos:**

La evaluación de la actividad bactericida de las nanopartículas de plata, tanto en su forma de nanopartículas desnudas, como ya funcionalizadas con anacardato en su periferia, y utilizando el anacardato y fenol como controles se llevó a cabo con cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cándida albicans* y *Salmonella enteritidis*, por medio del método de difusión de disco empleando un medio de cultivo en agar. La evaluación fue realizada por el Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos (LAFYM) donde, por método directo, observaron crecimiento de todas las cepas bacterianas utilizadas. Se concluyó que las muestras analizadas, no son efectivas para eliminar bacterias y levaduras (Tabla No. 3).

El fenol es bien conocido por tener un poder bactericida cuando su concentración es mayor al 3% y bacteriostático a concentraciones menores, las nanopartículas de plata también son reconocidas por su actividad antimicrobiana, sin embargo la mayoría de reportes proceden con una metodología a pH que oscila a valores cercanos al neutro (George, Kuriakose, Prakashkumar, & Mathew, 2010; Rai, Yadav, & Gade, 2009). Desafortunadamente, a las concentraciones trabajadas (1mM) y pH alcalino no se observó actividad en bacterias Gram positivas, Gram negativas y levaduras por parte de los compuestos evaluados. Por consiguiente, se recomienda realizar estudios a mayores concentraciones y diferentes pH, así como utilizando un método de conteo de colonias (Sondi & Salopek-Sondi, 2004).

Se determinó la DL50 tras 24 horas de exposición de dos muestras de nanopartículas de plata sobre larvas de *Artemia salina* con el propósito de estudiar la susceptibilidad de estos organismos a diferentes concentraciones de las muestras.

En el ensayo de toxicidad la viabilidad en el grupo control fue total (Tabla No. 4) al igual que el de la muestra de AgNP's a las concentraciones de 1.0 y 0.5 mM por lo que la dosis letal media es mayor a 1 mM (Tabla No. 5). Para la muestra de nanopartículas de plata funcionalizadas con ácido anacárdico (AgNP-PFA-AC) se observó la muerte de todos los nauplios a una concentración de 1 mM, por lo que fue necesario probar las concentraciones de 0.5, 0.25 y 0.12 mM. Se determinó la dosis letal media por medio de un análisis probit dando como resultado una dosis letal media de 0,1551 mM, por lo que la muestra de AgNP-PFA-AC presenta una mayor toxicidad comparada a la muestra AgNP's.

## 17. Conclusiones

Se estableció un método eficiente para el aislamiento del ácido anacárdico a partir de la cáscara de la nuez de marañón de Guatemala.

Según los resultados mostrados por las técnicas analíticas y microscopía, se logró la síntesis y funcionalización de las nanopartículas de plata con el componente (ácido anacárdico) aislado de la cáscara de la nuez del marañón.

El compuesto (AgNP-PFA-AC) obtenido presenta alta actividad citotóxica (DL50: 0,1551 mM) e inactividad bactericida en las condiciones ensayadas.

## 18. Impacto esperado

Generar una nueva línea de investigación en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, sobre desarrollo de nuevos materiales.



## 19. Referencias

- Abbina, S., & Anilkumar, P. (2017). Emergence of Sustainable Approaches for Functional Materials: Cashew Nut Shell Liquid and Other Relevant Crop-Based Renewable Resources. En *Cashew Nut Shell Liquid: A Goldfield for Functional Materials* (pp. 1-17). Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG. doi:10.1007/978-3-319-47455-7
- Anilkumar, P. (2017). *Cashew nut shell liquid: A goldfield for functional materials*. Cham, Switzerland: Springer. doi:10.1007/978-3-319-47455-7
- Attanasi, O. A., Berretta, S., Fiani, C., Filippone, P., Mele, G., & Saladino, R. (2006). Synthesis and reactions of nitro derivatives of hydrogenated cardanol. *Tetrahedron*, 62(25), 6113-6120. doi:10.1016/j.tet.2006.03.105
- Balachandran, V. S., Jadhav, S. R., Vemula, P. K., & John, G. (2013). ChemInform Abstract: Recent Advances in Cardanol Chemistry in a Nutshell: From a Nut to Nanomaterials. *ChemInform*, 44(20). doi:10.1002/chin.201320274
- Beyene, H. D., Werkneh, A. A., Bezabh, H. K., & Ambaye, T. G. (2017). Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. *Sustainable Materials and Technologies*, 13, 18-23. doi:10.1016/j.susmat.2017.08.001
- González, L., Guevara, E., Campos, J., Aburto, R., Hernández, Z., Espino, J., y Franco, M. (2013). *Actividad antimicrobiana y toxicidad contra Artemia salina: (ε)(4-bromo-fenil)-3 ferrocenil prop-2-en-1-ona y tiourea cytu*. México: Universidad de Colima.

González, Y., y Aportela, P. (2001). Determinación de la toxicidad aguda del dicromato de potasio en larvas de artemia salina. *Anuario Toxicología*, 1(1), 104-108.

Kumar, P. P., Paramashivappa, R., Vithayathil, P. J., Rao, P. V., & Rao, A. S. (2002). Process for Isolation of Cardanol from Technical Cashew (*Anacardium occidentale*L.) Nut Shell Liquid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(16), 4705-4708.  
doi:10.1021/jf020224w

Martínez-Castañón, G. A., Niño-Martínez, N., Martínez-Gutierrez, F., Martínez-Mendoza, J. R., & Ruiz, F. (2008). Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes. *Journal of Nanoparticle Research*, 10(8), 1343-1348.  
<https://doi.org/10.1007/s11051-008-9428-6>

Paramashivappa, R., Kumar, P. P., Vithayathil, P. J., & Rao, A. S. (2001). Novel Method for Isolation of Major Phenolic Constituents from Cashew (*Anacardium occidentale*L.) Nut Shell Liquid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2548-2551.  
doi:10.1021/jf001222j

Sandhya, K. Y., & Pillai, C. K. (2017). Liquid Crystalline Polymers and Molecules Derived from Cardanol, A Natural Phenol Derivative: A Summary. En *Cashew Nut Shell Liquid: A Goldfield for Functional Materials* (pp. 93-108). Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG. doi:10.1007/978-3-319-47455-7

Sondi, I., & Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study

on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface*

*Science*, 275(1), 177-182. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.02.012>

Velmurugan, P., lydroose, M., Lee, S., Cho, M., Park, J., Balachandar, V., & Oh, B. (2013).

Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles Using Cashew Nut Shell Liquid and Its

Antibacterial Activity Against Fish Pathogens. *Indian Journal of Microbiology*, 54(2), 196-

202. doi:10.1007/s12088-013-0437-5

Vlăsceanu, G. M., Marin, Ș., Țiplea, R. E., Bucur, I. R., Lemnaru, M., Marin, M. M., ...

Andronescu, E. (2016). Chapter 2 - Silver nanoparticles in cancer therapy. En

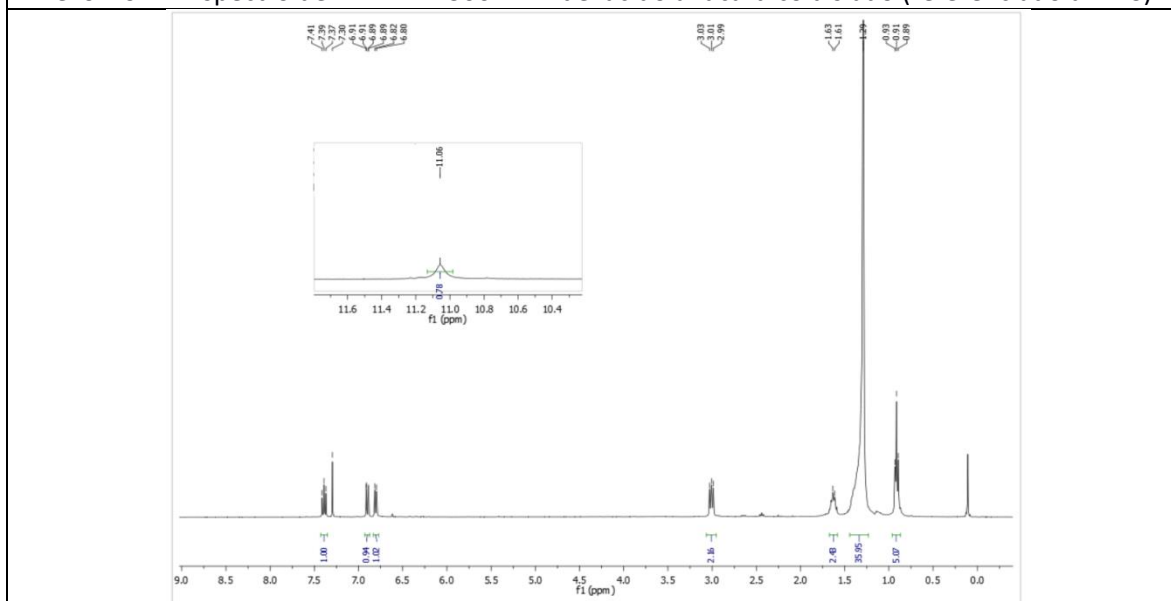
*Nanobiomaterials in Cancer Therapy* (pp. 29-56). William Andrew Publishing.

Recuperado de

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323428637000025>

## 20. Apéndice

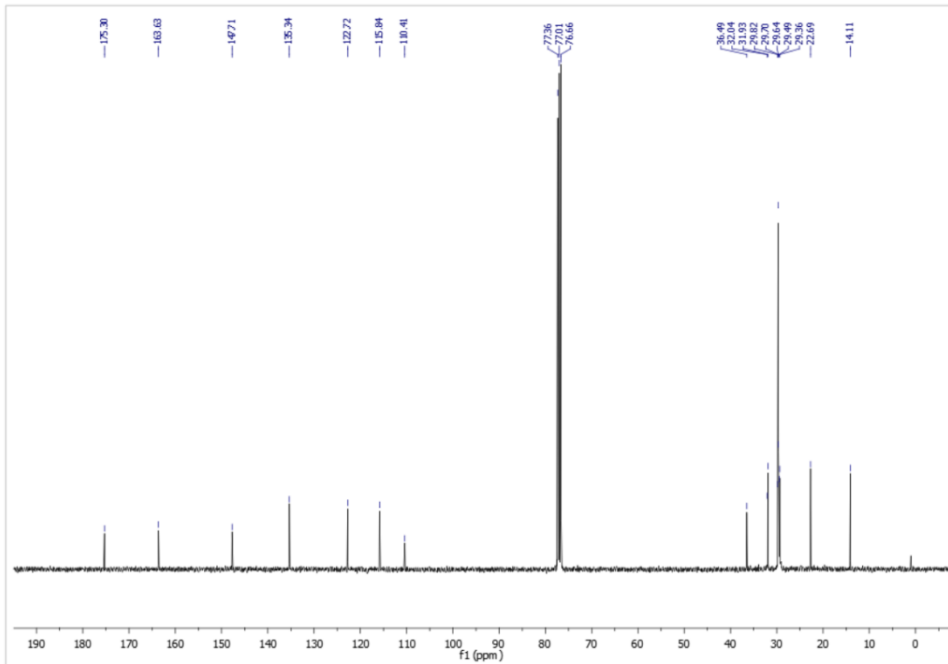
Anexo No. 1: Espectro de  $^1\text{H}$  RMN 300 MHz del ácido anacárdico aislado (referenciado a TMS)



d 10.95 (s, 1H, OH), 7.28 (t, 1H,  $J = \text{Hz}$ , Ar-H), 6.81 (d, 1H,  $J = \text{Hz}$ , Ar-H), 6.71 (d, 1H, Ar-H), 2.90 (t, 2H), (Ar- $\text{CH}_2$ -), 1.53 (m, (2H, Ar- $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -), 1.18 (m, 22H, cadena alquílica), 0.81 (t, 3H,  $-\text{CH}_3$ ).

Datos experimentales: Instituto de Química UNAM, México

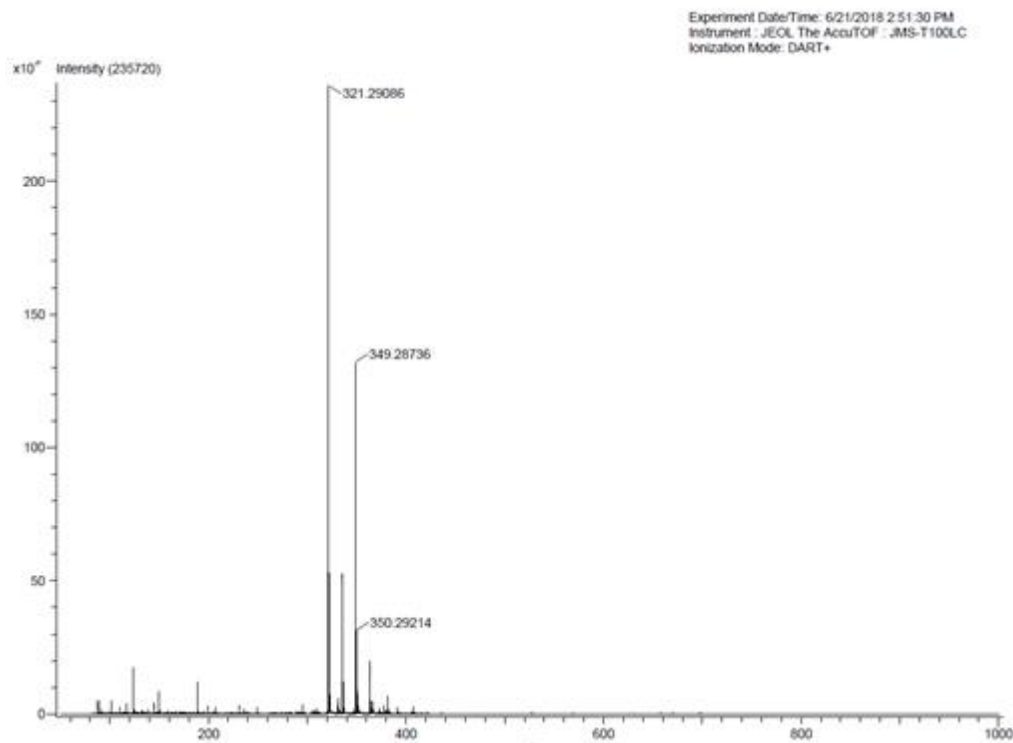
Anexo No. 2: Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN 75 MHz ácido anacárdico aislado ( $\text{CDCl}_3$ )



d 175 (C=O), 163 (C-OH fenol), 147.1 ( $\text{C}_{\text{ipso}}$  cadena alquílica), 136 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 135 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 120 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 110 ( $\text{C}_{\text{ipso}}$ -COOH), 35.47, 31.02, 30.91, 28.80, 28.68, 28.62, 28.047, 28.34, 21.67 ( $-\text{CH}_2-$  cadena alquílica) 13.09 ( $-\text{CH}_3$ ).

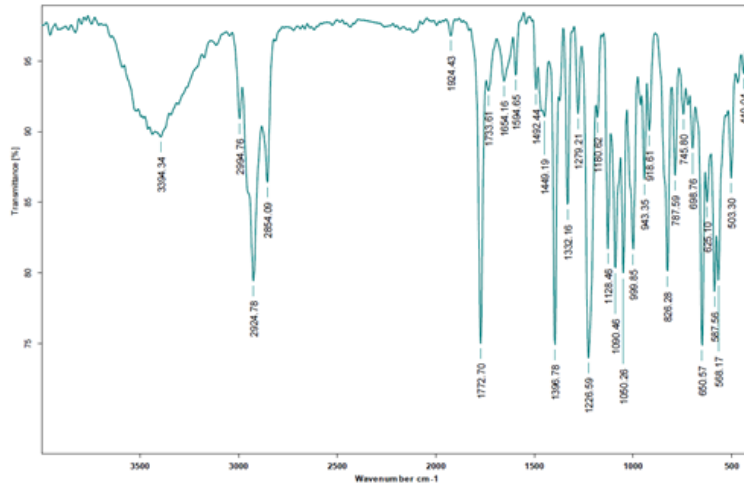
Datos experimentales: Instituto de Química UNAM, México

Anexo No. 3: Espectro de masas del ácido anacárdico EM-DART+ ( $m/z$ ) 349.28 [ $\text{M}+1$ ].



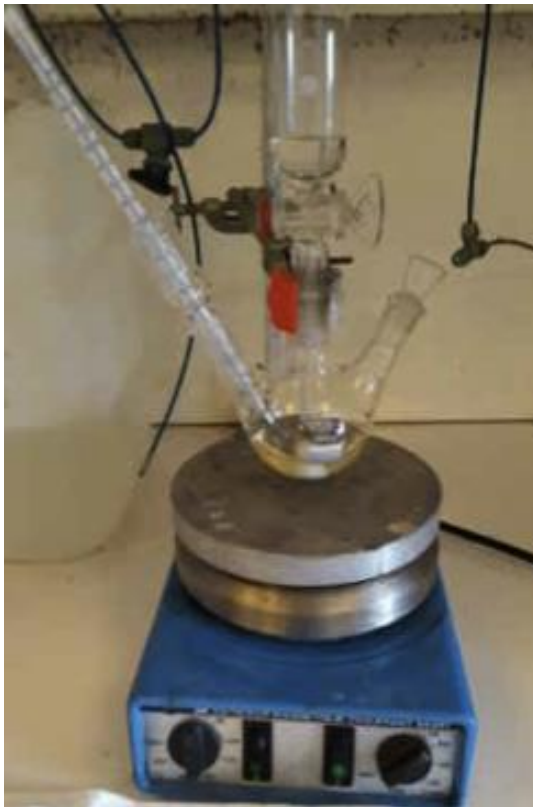
Datos experimentales: Instituto de Química UNAM, México

Anexo No. 4: Espectro de infrarrojo del ácido anacárdico.



Datos experimentales: Instituto de Química UNAM, México

Anexo No. 5: Fotografías de Síntesis de Nanopartículas.



Fuente: LAMBE, Universidad de Evry

**Listado de los integrantes del equipo de investigación (en una sola hoja)**

**Contratados por contraparte y colaboradores**

Nombre	Firma
Diana Pinagel (coordinadora)	
Byron Fuentes Juárez	
Byron José López	
Mario Manuel Rodas Morán,	
Celeste Pelayes	

**Contratados por la Dirección General de Investigación**

Contratados por la Dirección General de Investigación					
Nombre	Categoría	Registro de Personal	PAGO DIGI		FIRMA
			SI	NO	
Rony José Letona Lee	Auxiliar de Investigación II	20150805	X		

Guatemala 9 de Enero de 2019

**M.A. Diana Elizabeth Pinagel Cifuentes**  
Proyecto de Investigación

**Inga. Liuba Cabrera**  
Programa Universitario de Investigación  
en Desarrollo Industrial

**Ing. Agr. MARN Rufino Salazar**  
Coordinador General de Programas