

OBTENCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA SOPORTADAS EN MEMBRANA DE CABUYA (*FURCRAEA ANDINA*) Y SU ACCIÓN ANTIMICROBIANA FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

(Obtaining silver nanoparticles supported on cabuya membrane (*Furcraea andina*) and their antimicrobial action against *Staphylococcus aureus*)

Mayra Alexandra Logroño Veloz ^{(1)*}	mlogrono@esPOCH.edu.ec
Samay Anabell Asubadin Espin ⁽²⁾	2022250017@korea.ac.kr
Andrea Samantha Espín Logroño ⁽³⁾	andreas.espin@esPOCH.edu.ec
Alexis Fernando Espín Logroño ⁽⁴⁾	alexeSTCL@outlook.com

(1) Carrera de Nutrición y Dietética, Facultad de Salud Pública, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador

(2) Carrera de Ingeniería Biomédica, Korea University, Seoul, Corea del Sur

(3) Carrera de Física, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador

(4) Carrera Trabajo Social, Facultad Ciencias Sociales, Universidad Estatal de Milagro, Milagro, Ecuador

*Correspondencia: Dra. Mayra Logroño Veloz, Carrera de Nutrición y Dietética, Facultad de Salud Pública, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba ECO60155, Ecuador, E-mail: mlogrono@esPOCH.edu.ec Tel.: 0992844028

RESUMEN

Introducción: El progreso de la nanotecnología en los últimos años incluye las ciencias de la salud y la aplicación de la química verde. **Objetivo:** Desarrollar una membrana de *Furcraea andina*, cubierta con nanopartículas de plata usando como agente reductor cáscara de *Citrus reticulata* y analizar la actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*. **Metodología:** Se efectuó la síntesis in situ por método de química húmeda usando como agente reductor extractos de cáscara de mandarina variedad común y King y se evaluó los niveles de concentración, temperatura y tiempos de inmersión de las fibras de cabuya. **Resultados:** Los coloides se caracterizaron por espectroscopia UV- visible proporcionando un rango promedio de longitud de onda entre 430 a 450 nm. La concentración óptima de reactivo precursor fue de 0.0025 M Ag NO₃ y como agente reductor 5% de extracto acuoso de cáscara de mandarina variedad común y 3% de variedad King. La caracterización de la superficie se efectuó mediante microscopia SEM, EDX y FT-IR. **Conclusión:** El proceso permitió obtener un material con nanopartículas de plata que exhiben actividad antimicrobiana con mediana sensibilidad frente a *Staphylococcus aureus*.

Palabras claves: Nanopartículas de plata, química verde, nanobio-compuesto, antibacteriano.

ABSTRACT

Introduction: The progress of nanotechnology in recent years includes the health sciences and the application of green chemistry. **Objective:** Develop a membrane of *Andean Furcraea*, covered with silver nanoparticles using *Citrus reticulata* peel as a reducing agent and analyze the antimicrobial activity on *Staphylococcus aureus*. **Methodology:** The in situ synthesis was carried out by the wet chemistry method using extracts of the common and King variety tangerine peel as reducing agent, and the concentration levels, temperature, and immersion times of the cabuya fibers were evaluated. **Results:** The colloids were characterized by UV-visible spectroscopy providing an average wavelength range between 430 to 450 nm. The optimal concentration of precursor reagent was 0.0025 M AgNO₃ and as reducing agent, 5% aqueous extract of common variety mandarin peel and 3%

King variety. The characterization of the surface was carried out by means of SEM, EDX and FT-IR microscopy. **Conclusion:** The process made it possible to obtain a material with silver nanoparticles that exhibit antimicrobial activity with moderate sensitivity against *Staphylococcus aureus*.

Key words: Silver nanoparticles, green chemistry, nanobio-composite, antibacterial.

» 1. Introducción

La nanotecnología durante las últimas décadas ha concedido extraordinarios perfeccionamientos en varios campos, incluidas las ciencias de la salud. (1) El uso del nitrato de plata (AgNO_3) como antibacteriano tiene un largo historial con el tratamiento de varias enfermedades como úlceras y quemaduras gracias a su capacidad inhibidora hacia bacterias y otros patógenos. (2) Con el surgimiento de la nanotecnología, las aplicaciones de antibacterianos con nanopartículas de plata (AgNPs) presentan un potencial aún más prometedor. Diversas investigaciones (3) (4) señalan que las AgNPs poseen propiedades fisicoquímicas distintivas que incluyen alta conductividad eléctrica y térmica, dispersión Raman de superficie mejorada, estabilidad química, actividad catalítica, comportamiento óptico no lineal, y principalmente su alta relación superficie-volumen. Según Dakal, et. al. (5) se ha comprobado que las AgNPs son efectivas contra más de 650 microorganismos, como bacterias (tanto gram positivas como gram negativas), hongos, y virus". Es gracias a esta relación superficie-volumen a nanoescala, que las propiedades antibacterianas de las AgNPs se amplifican, llegando a combatir una amplia gama de microorganismos patogénicos, incluyendo bacterias multirresistentes tales como ***Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli***. (2)

Por ende, se ha dado énfasis en años recientes a la obtención de estas nanopartículas, y actualmente su síntesis se puede conseguir mediante procesos físicos, químicos y biológicos. Procesos físicos tienen un enfoque de "arriba hacia abajo" que sintetizan nanopartículas a partir de plata metálica en estado sólido o gaseoso, rompiendo estas partículas hasta la nanoescala y obteniendo AgNPs estables. (2) Dichos procesos incluyen técnicas como ablación laser, molino de bolas, pulverización catódica, electrospinning, y demás (2)(3) Por otro lado, procesos químicos y biológicos tienen un enfoque ascendente, de "abajo hacia arriba", el cual es contrario al de los procesos físicos antes mencionados. Este abordaje consiste en la nanoestructuración y estabilización

de átomos de Ag a través de diferentes métodos para formar nanopartículas. (2) Métodos químicos incluyen reacciones de reducción-oxidación (redox), síntesis electroquímica, precipitación química, etc. (2) Mientras que métodos biológicos incluyen todo tipo de síntesis que involucran componentes de origen biológico o directamente al propio organismo, es decir, síntesis mediada por hongos o bacterias, o síntesis utilizando extractos naturales como reactivos (2)(3). De hecho, a este último método se lo conoce también como "Síntesis verde" (5) y ha tomado relevancia en la síntesis de AgNPs debido a su bajo costo, por ser amigable con el medio ambiente (no genera residuos tóxicos), es estable, y no requiere de enormes cantidades de energía, presión, y temperatura. En síntesis verde se usa también β -D-glucosa, taninos, extractos de ajo y polifenoles como flavonoides que generalmente se encuentran en cáscaras de frutas cítricas y se utilizan como agentes reductores por poseer una elevada actividad antibacteriana. (6)(7)

Las nanopartículas metálicas son partículas que tienen escala entre 1 a 100 nm. Ahora bien, las principales propiedades antibacterianas de las AgNPs que tienen potencial para su aplicación en la medicina son tres: Desnaturalización de proteínas a nivel de membrana, afinidad con grupos de fósforo y azufre que le permitiría unirse y afectar al ADN citoplásmico bacteriano, y finalmente la liberación de iones de plata que alterarían vías metabólicas, membranas e incluso material genético. (1) Es así, que sus aplicaciones en la medicina estarían sobre todo dirigidas al diagnóstico, tratamiento y administración de fármacos. (3) Tiene a su vez aplicaciones biomédicas tales como la impregnación de catéteres e implantes cardiovasculares con AgNPs para inhibir la formación de biopelículas y crecimiento patogénico, y más recientemente se ha propuesto la aplicación de AgNPs como tratamiento anticancerígeno, por su efecto citotóxico, apoptótico y antiproliferativo. (5) (8) Oksman K. & Col. (2006); Ovalle S. & Col (2013) han efectuado síntesis in situ para formar biocompuestos con materiales naturales como

fibras de fique e incorporaron matrices a escala nanométrica, definidos como clusters de átomos entre rango de 1 a 100 nm. Los resultados han fomentado un desarrollo en la búsqueda de avances de química verde y formación de materiales híbridos con propiedades interesantes con respecto a resistencia mecánica, térmica y actividad antimicrobiana(9)(10)

En este estudio se obtuvo un bionanocompuesto, a partir de la cabuya, que es una planta rústica, la misma se ha explotado en Ecuador desde tiempos remotos (11).Cervantes y Cuya (2015) manifiestan que es una planta de origen americano, de las regiones de la cordillera de los Andes como Perú, Venezuela, Colombia, Bolivia y Ecuador (12) Villacrés P, (2018) indica que el fique o cabuya se usó en épocas incaicas con fines alimenticios, medicinales y en la construcción; además mencionan que es un importante legado histórico, cultural y económico de familias campesinas e indígenas. En Ecuador se cultivan aproximadamente 2349 hectáreas de cultivo de cabuya; siendo la provincia del Carchi el mayor productor que representa el 51%, y el porcentaje restante producen las provincias de Pichincha, Tungurahua, Cotopaxi, Bolívar, Chimborazo, Azuay, Loja, Guayas y Manabí.(13)

La especie *Furcraea andina*, es una planta de importancia industrial, se usan para la extracción de fibras naturales, obtención de bebidas fermentadas y sustancias precursoras de esteroides, representan importancia ambiental y económica.(14) La composición química de la cabuya según Yáñez, M (2017), revela que contiene del 40 al 80 % de celulosa, la más abundante de las paredes celulares de las plantas; de 5 a 25 % de lignina, considerado uno de los polímeros fundamentales de la pared celular que provee la rigidez adecuada a la planta y 10 % de hemicelulosa también llamado heteropolisacárido y cumple con la función de proteger a la celulosa de la planta; además contiene 1,58% de cenizas.(15)

En la actualidad la fibra es áspera y rústica lo cual limita la elaboración y diversificación de productos y se usa únicamente en la producción de sacos o costales, así como también en cordelería. Se usa la fibra para elaboración de productos textiles, hace las veces de jabón, leña, el jugo como fijador de colores y alimento para ganado; los indígenas lo usaban para teñirse el

cabello, blanquear casas, hacer cercas, pero no se utiliza con fines medicinales (11)

Por otra parte, el desecho orgánico reductor que se usó en esta investigación es la cáscara de mandarina; del cual su fruto es originario del suroeste de China y de la India; en la actualidad se cultiva en casi todo el mundo apreciado por el sabor y cualidades nutritivas. En el Ecuador las áreas de producción se desarrollan en lugares subtropicales en alturas entre 0 – 2500 msnm, la temperatura ideal es de 14 a 24°C y las cosechas comprenden entre los meses de marzo y agosto. (16). La mandarina se destinada para consumo local e insumo en agroindustria en la producción de concentrados, néctares y jugos, por tal motivo conlleva a la generación de desechos orgánicos como cáscaras, pulpas, semillas; donde la cáscara representa del 40 al 60% del peso aproximado de la fruta.(17)(18)

La cáscara de mandarina es fuente ideal de antioxidantes naturales, afirman varias investigaciones que prevalecen polifenoles considerados como agentes reductores; la cantidad y tipo de antioxidantes propios de la variedad King y común en base seca contienen entre 10.51 a 14.15 % de ácido ascórbico, 10.5 – 11.56 % de carotenoides y 75.79 a 77.21 de polifenoles totales. (17)

En Ecuador existen diferentes estudios de síntesis verde de nanopartículas de plata, pero no existen estudios de síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs) usando como agente reductor los componentes orgánicos del extracto de cáscara de mandarina soportadas en fibra natural como la cabuya que presenten actividad antimicrobiana. (19)

Consecuentemente, es importante que los métodos de síntesis de AgNPs y nano materiales no comunes sigan siendo estudiados, puesto que prometen ser la siguiente generación de antibióticos y nanopartículas dirigidas al tratamiento de una amplia gama de enfermedades; además las fibras naturales de celulosa son matrices ideales por su estructura nano porosa funciona como nanoreactor

Por lo anteriormente citado el objetivo de la investigación fue desarrollar una membrana de *Furcraea andina*, cubierta con nanopartículas de plata usando como agente reductor cáscara de *Citrus reticulata* y analizar la actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*. (20)

2. Metodología

2.1 Tipo de investigación

El tipo de investigación fue experimental con enfoque cuantitativo y se desarrolló en el Laboratorio de Investigación y Química Instrumental de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.(20) La síntesis de AgNPs se efectuó con la metodología de química verde utilizando el método de química húmeda asociados a la síntesis química.(21)(22)

2.2 Diseño de la investigación

La fase de formación de nanopartículas de plata por el método húmedo utilizó como sustancias reductoras extractos acuosos de dos variedades de mandarina (común y king), previa determinación de concentración adecuada se combinó el extracto de cáscara de mandarina con algunas soluciones de concentración de nitrato de plata en relación 1:1 sugeridas por diferentes investigaciones (21) a dos temperaturas 20 °C y 40 °C y en dos tiempos 30 y 60 minutos con aplicación de un diseño aleatorio: A x B (variedad común) y A x C (variedad King) como se indican en la tabla 1. Las variables respuestas fueron longitud de onda y absorbancia. (20)

Tabla 1. Diseño aleatorio Ax B con extractos de cáscara de mandarina variedad común y King.

% Extractos	A: [AgNO ₃]			
	A1	A2	A3	A4
B1	Y _{A1B1}	Y _{A2B1}	Y _{A3B1}	Y _{A4B1}
B2	Y _{A1B2}	Y _{A2B2}	Y _{A3B2}	Y _{A4B2}
B3	Y _{A1B3}	Y _{A2B3}	Y _{A3B3}	Y _{A4B3}
B4	Y _{A1B4}	Y _{A2B4}	Y _{A3B4}	Y _{A4B4}
B5	Y _{A1B5}	Y _{A2B5}	Y _{A3B5}	Y _{A4B5}
C1	Y _{A1C1}	Y _{A2C1}	Y _{A3C1}	Y _{A4C1}
C2	Y _{A1C2}	Y _{A2C2}	Y _{A3C2}	Y _{A4C2}
C3	Y _{A1C3}	Y _{A2C3}	Y _{A3C3}	Y _{A4C3}
C4	Y _{A1C4}	Y _{A2C4}	Y _{A3C4}	Y _{A4C4}
C5	Y _{A1C5}	Y _{A2C5}	Y _{A3C5}	Y _{A4C5}

Nota: A representa las concentraciones de Nitrato de Plata A1: 0,001M AgNO₃; A2: 0,0015 M AgNO₃; A3: 0,002M AgNO₃; A4: 0,0025 M AgNO₃; B representa las concentraciones del extracto acuoso de cáscara de mandarina variedad común; B1: 5%; B2: 4%; B3:3%; B4 2%; B5: 1%; C representa las concentraciones del extracto acuoso de cáscara de mandarina variedad King; C1: 5%; C2: 4%; C3:3%; C4 2%; C5:1%. Y representa la variable respuesta de cada combinación: longitud de onda y absorbancia. Logroño M, 2022. (20).

El diseño factorial 2² como se indica en la tabla 2, se aplicó considerando el parámetro óptimo de concentración de nitrato de plata que proporcionó mejor absorbancia y fue 0,0025M y extractos de cáscara de mandarina al 5% para cada variedad en dos tiempos de 30 y 60 minutos a la temperatura de 40 °C. para verificar la actividad antimicrobiana de las membranas de cabuya (*Furcraea andina*) soportadas con nanopartículas de plata conseguidas con agente reductor orgánico (extractos de cáscaras de mandarina) calculando por triplicado la sensibilidad en función del tiempo con respecto a un agente bacteriano como el *Staphylococcus aureus*, mediante el análisis de varianza con el uso del Software estadístico InfoStat 2020 de versión libre.(20)

Tabla 2. Diseño factorial 2².

Bionanocompuesto con extracto Variedad común

Número de experimentos	Tiempo de inmersión con AgNO ₃ 0,0025M (min)	Tiempo de inmersión 5 % Extracto acuoso B1 (min)	Respuesta Experimental
E1	30	30	Y1
E2	30	60	Y2
E3	60	30	Y3
E4	60	60	Y4

Bionanocompuesto con extracto Variedad King

Numero de experimentos	Tiempo de inmersión con AgNO ₃ 0,0025M (min)	Tiempo de inmersión 5 % Extracto acuoso C1 (min)	Respuesta Experimental
F1	30	30	Z1
F2	30	60	Z2
F3	60	30	Z3
F4	60	60	Z4

Nota: Y: Representa la Variable respuesta actividad antimicrobiana del nanomaterial sobre *Staphylococcus aureus* y *pyogenes*.

Z representa Variable respuesta la actividad antimicrobiana del nanomaterial sobre *Staphylococcus aureus* y *pyogenes*

2.3 Materiales

Muestras:

Las cáscaras de mandarina (*Citrus reticulata*): Variedad común y King se adquirió en un mercado local: Plaza Barriga de la ciudad de Riobamba, con grado de madurez adecuado evidenciado por la firmeza, color y sin presencia de daños físicos ni biológicos. Las muestras de cáscaras de mandarina parten de 500 g de material fresco,

posterior secado y triturado se obtuvo 60 g de variedad King y 50 gramos de variedad común.

La Fibra de cabuya (*Furcraea andina*) cruda se obtuvo de pequeños distribuidores que comercializan en el mercado local Plaza Barriga de la ciudad de Riobamba. La fibra presentó vestigios de material vegetal y se adquirió en porciones con peso aproximado de 500 g; seguidamente se eliminó de forma manual las impurezas, además de una limpieza asistida por baño ultrasónico proporcionando submuestras de 7 cm de largo y 2 de ancho con pesos de 8 gramos totalmente secas y limpias.(20)

Reactivos:

Nitrato de Plata de grado Analítico, EMSURE® ACS, ISO. Fórmula química: AgNO_3 Peso molecular: 169,87 g/mol.

Medio de cultivo Agar – Muller: Merck ISO 17025 de composición típica 2 gramos de extracto de carne, 18 g de hidrolizado de caseína, 1,5 g de alimón y 18 g de agar. Medio de cultivo Agar-Sangre (Base): Merck KGaA.64271Germany de composición típica sustrato nutritivo que contiene extracto de levadura, peptona de caseína, cloruro de sodio y agar con un pH 6,8 ± 0,2 a 25 °C. (20)

Equipos:

Espectrofotómetro: Modelo EVOLUTION 220 ESPECTROFOTOMETRO DE UV –VISIBLE con resolución mayor a 1.6; longitud de onda de rango entre 190 -1100 nm.

Cámara de clima constante HPP: Modelo HPP 110, módulo con iluminación LED opcional, Software Atmósfera CONTROL, Temperatura de 0°C a +70°C, humedad de 10 a 90 % fh. (20)

pH-metro: Medidor de pH sobre mesa accumet® XL 150 pH/mV Fisher Scientific, porta electrodos, cables RS232 y USB Voltaje 120/240 V, rango de temperatura -5°C a + 105°C, precisión pH +/- 0,0022.

Microscopio electrónico de barrido SEM: Modelo JOEL JSM_IT 100, el equipo cuenta con una resolución de modo HV: 3 nm (30 KV) hasta 15 nm (1 KV); acoplado a archivos de imagen JPEG, además contiene funciones de EDX con análisis de espectro cualitativo y cuantitativo con un sistema de evacuación automático.(23)(17)

Espectrómetro FT-IR infrarrojo por transformada de Fourier: Modelo JASCO FT/IR 4100, es autolineable con diferentes rangos de trabajo en rango de IR Medio de 7800 a 350 cm^{-1} .(24)

Balanza Analítica: Modelo OHAUS Explore. Presenta una capacidad de 1100 g, con lecturas mínima de 0,001 g; el tamaño del plato 190 mm x 200 mm, cuenta con calibración interna automática Autocal. (20)

2.4 Procedimiento

2.4.1 Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata usando como agente reductor

Cáscara de *Citrus reticulata*

Las cáscaras de mandarina en buen estado de variedad común y King se secaron a 40 °C por un tiempo de 24 horas. A continuación se molieron y pesaron diferentes cantidades y se agregó agua destilada para calentar a 90° C por 10 minutos, previa filtración y clarificación se almacenaron a 4°C(25) (20)

Las AgNPs se adquirieron por método de química húmeda (25)(26) mediante un proceso de reducción utilizando como agentes naturales los extractos de cáscaras de mandarina *Citrus reticulata* de variedad común y King; se evaluaron varios niveles de concentración. Los coloides se obtuvieron mediante el diseño experimental reportado en la tabla 1, con baño ultrasónico, a temperaturas de 20 °C y 40°C y tiempos entre 30 a 60 minutos; las suspensiones de nanopartículas se analizaron por el método de resonancia de plasmón de superficie (SPR) mediante un barrido en el rango de longitud de onda de 400 a 700 nm mediante espectroscopia de UV- visible. Todos los análisis se efectuaron por triplicado para correlacionar variables mediante un análisis de varianza multivariado (Lawley-Hotelling) (20)(27) (28) (29)

2.4.2 Identificación de las condiciones para cubrir con nanopartículas de plata la fibra natural (*Furcraea andina*) y obtener el apósito antiséptico.

Las fibras de cabuya limpias entrecruzadas se colocaron en una caja Pétri con 5 ml de solución de AgNO_3 0.0025 M como precursor a 40° C en baño ultrasónico; posteriormente se adicionó el extracto de las cáscaras de mandarina al 5% de variedad común y 3% de variedad King por

2.3 Materiales

Muestras:

Las cáscaras de mandarina (*Citrus reticulata*): Variedad común y King se adquirió en un mercado local: Plaza Barriga de la ciudad de Riobamba, con grado de madurez adecuado evidenciado por la firmeza, color y sin presencia de daños físicos ni biológicos. Las muestras de cáscaras de mandarina parten de 500 g de material fresco, posterior secado y triturado se obtuvo 60 g de variedad King y 50 gramos de variedad común.

La Fibra de cabuya (*Furcraea andina*) cruda se obtuvo de pequeños distribuidores que comercializan en el mercado local Plaza Barriga de la ciudad de Riobamba. La fibra presentó vestigios de material vegetal y se adquirió en porciones con peso aproximado de 500 g; seguidamente se eliminó de forma manual las impurezas, además de una limpieza asistida por baño ultrasónico proporcionando submuestras de 7 cm de largo y 2 de ancho con pesos de 8 gramos totalmente secas y limpias. (20)

Reactivos:

Nitrato de Plata de grado Analítico, EMSURE® ACS, ISO. Fórmula química: AgNO_3 Peso molecular: 169,87 g/mol.

Medio de cultivo Agar – Muller: Merck ISO 17025 de composición típica 2 gramos de extracto de carne, 18 g de hidrolizado de caseína, 1,5 g de almidón y 18 g de agar. Medio de cultivo Agar-Sangre (Base): Merck KGaA.64271Germany de composición típica sustrato nutritivo que contiene extracto de levadura, peptona de caseína, cloruro de sodio y agar con un pH 6,8 \pm 0,2 a 25 °C. (20)

Equipos:

Espectrofotómetro: Modelo EVOLUTION 220 ESPECTROFOTOMETRO DE UV –VISIBLE con resolución mayor a 1.6; longitud de onda de rango entre 190 -1100 nm.

3. Resultados

3.1 Análisis de la longitud de onda

En la tabla 3 de matriz de covarianzas se indica el compartimiento de la longitud de onda (λ) de forma general para todos los experimentos

con respecto al nitrato de plata comparando los diferentes porcentajes de dos extractos de variedades de mandarina, señala que la variable respuesta longitud de onda no presentan diferencias estadísticas significativas para un valor $p = 0.310$ con un nivel de significancia de 0.05. Por lo contrario, al comparar los extractos se evidencia 3 rangos de variabilidad donde C5 (1% de extracto de la variedad King) no difiere de C3 (3 % de extracto variedad king); tampoco difieren B1 (5% extracto variedad común) B2 (4% extracto variedad común) y los porcentajes C2, C4, B3, B4, B5, C1 no presentan diferencias entre sí. Por el rango promedio de longitud de onda el color absorbido es el azul entre 430 nm a 450 nm de absorción de los coloides, comparando con la literatura, posiblemente las nanopartículas que se originan tienen la forma de esferas. Además se indica en otras investigaciones que la emisión de un pico a 400 nm es indicativo de nanopartículas de plata de menos de 5 nm de diámetro y los tamaños predominantes con absorciones desplazadas a 430 son alrededor de 20 nm. (20)(32)

Tabla 3 Análisis de varianza multivariado (Lawley-Hotelling) para longitud de onda (nm) entre todos los tratamientos (30 min, 20°C) y (60 min, 40°C) con respecto a la concentración de nitrato de plata y concentración de extracto de mandarina variedad común y King (20)

Cuadro de Análisis de la Varianza (Lawley-Hotelling)

F.V.	Estadístico	F	gl(num)	gl (den)	p
CONCENTRACIÓN AgNO_3	0,07	1,20	6	210	0,3100
PORCENTAJE EXTRACTOS	1,27	7,38	18	210	<0,0001

Prueba Hotelling Alfa=0,05

Error: Matriz de covarianzas común gl: 107

Concentración de AgNO_3	λ (30 min, 20°C)	λ (60 min, 40°C)	n	Rango
A4	447,67	436,98	30	A
A3	448,12	436,40	30	A
A2	446,46	432,68	30	A
A1	453,63	437,02	30	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Prueba Hotelling Alfa=0,05

Error: Matriz de covarianzas común gl: 107

% EXTRACTOS	λ (30 min, 20°C)	λ (60 min, 40°C)	n	Rango
C3	449,39	450,02	12	A
C5	459,32	453,08	12	A
B2	433,33	426,30	12	B
B1	438,29	420,89	12	B
C2	457,04	434,59	12	C
C4	454,15	433,92	12	C
B3	448,10	434,91	12	C
B4	450,61	432,13	12	C
B5	449,56	433,71	12	C
C1	449,88	438,14	12	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**3.2 Análisis de la absorbancia**

Del análisis de covarianza expresado en la tabla 4 se reporta que existe un efecto de todas las concentraciones de nitrato de plata sobre los valores de absorbancia, a mayor concentración de nitrato de plata, mayor valor de absorbancia para el caso de A4(0,0025M) con un promedio de 0.66 de absorbancia para la condición de 20°C por un tiempo de 30 min y al duplicar las condiciones se agranda el valor de la absorbancia. Con respecto al porcentaje y tipo de variedad de cáscara de mandarina, B1 con 5% de extracto de variedad común presenta un aumento de la absorbancia, lo que implica que la tendencia es incrementar la obtención de nanopartículas de plata al aumentar la temperatura y el tiempo. (20)

Tabla 4 Análisis de varianza multivariado (Lawley-Hotelling) para la absorbancia entre todos los tratamientos (30 min, 20°C) y (60 min, 40°C) con respecto a la concentración de nitrato de plata y concentración de extracto de mandarina variedad común y King

Cuadro de Análisis de la Varianza (Lawley-Hotelling)

F.V.	Estadístico	F	gl(num)	gl(den)	p
[AgNO ₃]	1,50	26,33	6	210	<0,0001
% Extractos	6,47	37,73	18	210	<0,0001

Prueba Hotelling Alfa=0,05

Error: Matriz de covarianzas común gl: 107

[AgNO ₃]	Absorbancia (30min,20°C)	Absorbancia (60min,40°C)	n	Rangos
A4	0,66	1,50	30	A
A3	0,46	1,17	30	B
A2	0,41	0,85	30	C
A1	0,38	0,64	30	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Prueba Hotelling Alfa=0,05**

Error: Matriz de covarianzas común gl: 107

%Extracto	Absorbancia (30min,20°C)	Absorbancia (60min,40°C)	n	Rangos
C2	0,17	0,64	12	A
B4	0,93	1,00	12	B
B5	0,74	1,05	12	C
C1	0,54	1,08	12	C
C3	0,19	0,20	12	D
C4	0,16	0,23	12	D
C5	0,07	0,17	12	D
B3	0,68	1,62	12	E
B2	0,70	1,74	12	E
B1	0,64	1,77	12	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**3.3 Condiciones de recubrimiento de las fibras de cabuya con nano partículas de plata y caracterización.**

Para las condiciones de recubrimiento se prefirió de acuerdo al análisis de covarianza expuesto en las Tablas 3 y 4, la concentración de nitrato de plata de A4: 0.0025 N (mayor valor de absorbancia) y con respecto a la concentración de extracto de mandarina variedad común se trabajó con B1(5 % de extracto) y para la variedad King C3 con el 3% de extracto de cáscara de mandarina con un pH natural de los extractos de 5,6 y 5,25 respectivamente. (20) Las fibras previamente limpias, se colorearon por el método de química húmeda por un proceso de inmersión en volúmenes iguales de 5 ml para cada solución dentro de un baño ultrasónico con frecuencia de 30 KHz lo que permitió una distribución uniforme de las partículas. (20) En la figura 1 se observan las fibras coloreadas con los dos extractos a la temperatura de 40°C por dos tiempos de inmersión 30 y 60 min. La síntesis in situ al depositar las nanopartículas de plata sobre la matriz de fibra de cabuya se caracterizó por la aparición de la coloración dorada para el

extracto de mandarina variedad común y color café claro para la variedad King, de acuerdo a la literatura la particularidad mencionada es distintivo de la presencia de nanopartículas de plata esféricas.(10) (20) (33)

Figura 1. Membranas de cabuya recubiertas con nanopartículas de plata.

Fibra de cabuya limpias (Blanco)



Recubrimiento con extracto al 5% de cáscara de mandarina variedad común con 0.0025M AgNO₃ (40°C)

E1(30min:30min)



E2(30min:60min)



E3 (60min:30min)



E4 (60min:60min)



Recubrimiento con extracto al 3% de cáscara de mandarina variedad King con 0.0025M AgNO₃ (40°C)

F1(30min:30min)



F2 (30min:60min)



F3 (60min:30min)



F4 (60min:60min)



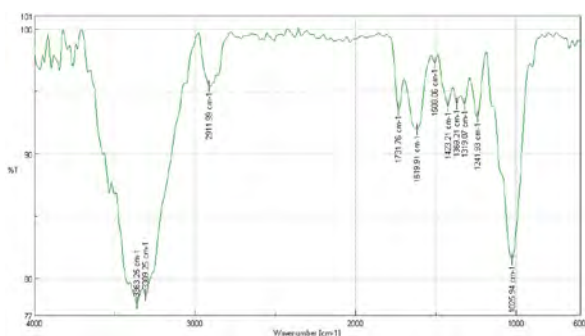
La Caracterización de las membranas de cabuya con AgNps se efectuó primeramente con el análisis del porcentaje de reflectancia; afirman diferentes autores (10) que a menor porcentaje de reflectancia, existe mayor cantidad de nanopartículas sobre las superficies y se busca sean de menor tamaño y de distribución uniforme; de este modo del análisis anova para un $p < 0,0001$ del recubrimiento de la membrana con AgNPs con respecto a la concentración de nitrato de plata de 0.0025 M y el extracto de cáscara de mandarina variedad King, exhibe menor porcentaje de reflectancia (9.97 ± 0.76) con un tiempo de inmersión de 30 minutos y difiere estadísticamente de todos los

tratamientos.(20)

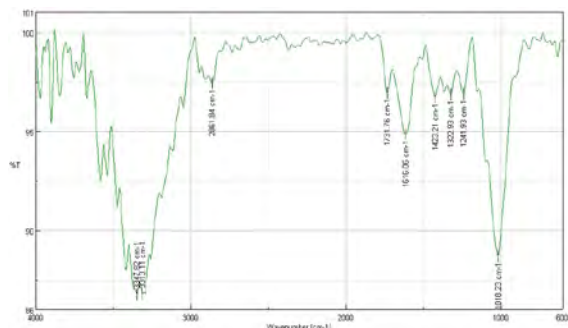
Seguidamente la técnica de Espectroscopia de Infrarrojo de transformada de Fourier (FT-IR) proporciona información aproximada de la estructura molecular y su principal uso es detectar posibles cambios de absorbancia que ayuden a la caracterización de las nanopartículas de plata revelando las especies químicas enlazadas a las superficies con desplazamientos

Figura 2. Comparación de Espectros IR de fibras de cabuya.

Fibra de cabuya limpia (blanco)



Fibra E1(30min:30min) (Recubrimiento con extracto al 5% de cáscara de mandarina variedad común con 0.0025M AgNO3 (40°C))



Se caracterizaron analogías en todos los espectros de fibras con Ag NPs comparadas con el blanco en las zonas de 4000 a 3000 cm^{-1} y de 2000 a 1000 cm^{-1} , existiendo cambios leves de desplazamientos de bandas específicas según el tiempo y variedad del extracto usado para soportar las fibras. Las fibras recubiertas presentan ligeros cambios en la zona de 2800 a 3000 cm^{-1} , se visualiza un desplazamiento del pico 2911.99 cm^{-1} del blanco hacia 2861.84 cm^{-1} (E1), 2.881.13 cm^{-1} (E3); 2857.99 cm^{-1} (E4) 2923.56 cm^{-1} (F2), 2908.13 cm^{-1} 2896 cm^{-1} (F3), 2896.56 cm^{-1} (F4) propio de estiramiento asimétrico de enlaces simples - CH2. (20)

Además, se observó un tenue cambio de desplazamiento de las bandas correspondientes

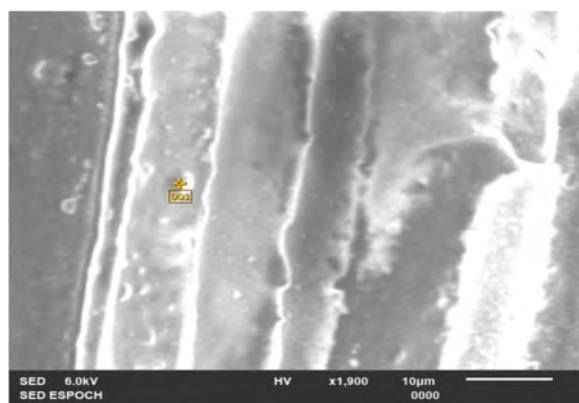
al grupo - OH en 3363.25 cm^{-1} y -CO en 1025.94 cm^{-1} de alcoholes poliméricos y cíclicos respectivamente, que proviene posiblemente de la celulosa, y la presencia de bandas sobre los 3400 cm^{-1} , característico de aminas.

El recubrimiento de las fibras con las AgNPs no afecta la estructura básica de la fibra de cabuya, se evidencia por ligeros desplazamientos de grupos importantes que funcionarían como protectores y estabilizan los clústeres captados en las moléculas de la fibra de cabuya.(20)

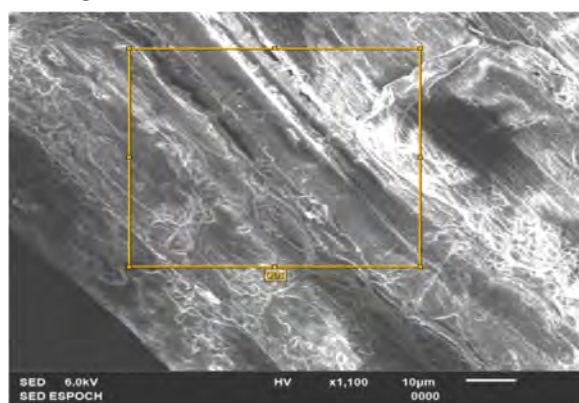
La evaluación del tamaño y distribución de las nanopartículas de plata soportadas en la fibra de cabuya se verificó por microscopia electrónica de barrido (SEM) con el equipo Modelo JOEL JSM_IT 100, las micrografías de las muestras se indican en la Figura 3; se puede acotar por revisión bibliográfica que el tamaño promedio de las nanopartículas soportadas en fibra de cabuya por el color dorado y café en promedio de tamaño de 20 a 50 nm con forma circular. (20)(35)

Figura 3. Micrografías SEM, membranas de cabuya soportadas con nanopartículas de plata

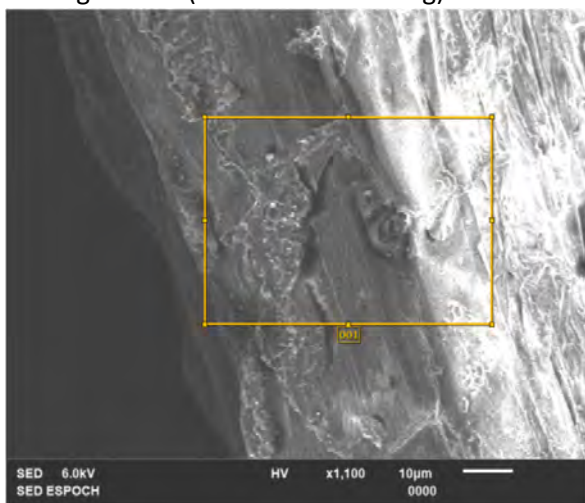
Micrografía E1(30:30 variedad común)



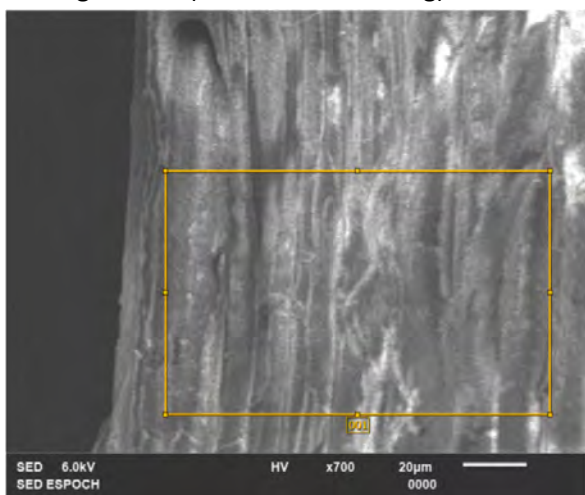
Micrografía E4(30:30 variedad común)



Micrografía F1 (30:30 variedad King)



Micrografía F4 (30:30 variedad King)



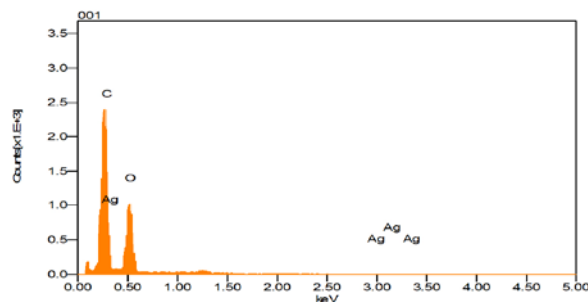
Sánchez, M. (2017) revela que de forma general los tamaños de las nanopartículas aumentan con respecto al tiempo de reacción entre un precursor y el agente reductor con fibras, de modo que cuanto más alta es la temperatura el crecimiento de las nanopartículas será mayor. (20)(32)

El análisis semicuantitativo importante que revela la composición química de las muestras se ejecutó por espectroscopia de dispersión de energía de rayos X (EDX) mediante el sistema acoplado al equipo SEM Modelo JOEL JSM_ IT 100 en condiciones de vacío y permitió corroborar la presencia de nanopartículas de plata sobre la superficie de las fibras de cabuya. (32) Se evidenció en los espectros señales de carbono y oxígeno, (figura 4) se atribuyen a la matriz de celulosa característico de la fibra de cabuya y señales de plata con escaso porcentaje

de recubrimiento sobre la fibra, el mismo acrecienta con las condiciones de inmersión por el tiempo y agente reductor de extracto de cáscara variedad común. (20)

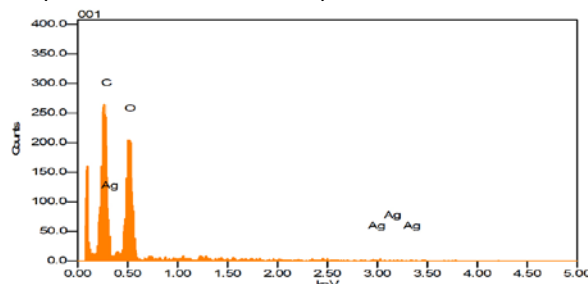
Figura 4. Figura 4 Espectros EDX de fibras de cabuya E1 (30min) y E4 (60 min) soportadas con nanopartículas de plata adquiridas con extracto de cáscara de mandarina variedad común.

E1(30:30 variedad común)



Fórmula	mass%	Atom%	Sigma	Net	K ratio	Line
C	10.78	69.05	0.06	11110	0.0557526	K
O	6.41	30.81	0.06	5217	0.0249401	K
Ag	0.20	0.14	0.04	40	0.0002962	L
Total	17.38	100.00				

E4(60:60 variedad común)



Fórmula	mass%	Atom%	Sigma	Net	K ratio	Line
C	1.34	58.04	0.02	1337	0.0067089	K
O	1.28	41.65	0.02	1148	0.0054860	K
Ag	0.06	0.31	0.03	13	0.0000961	L
Total	2.68	100.00				

3.4 Actividad Antibacteriana de las membranas de cabuya con Ag Nps

La actividad antibacterial de las fibras de cabuya soportadas con Ag NPs fueron evaluadas frente a *Staphylococcus aureus* en medio de cultivo selectivo, se utilizó las fibras de cabuya limpias y soluciones coloidales obtenida con cada extracto de solución reductora como control; posterior a las 24 y 48 horas se realizó la comprobación de formación de halos, es decir cuando no existe crecimiento alrededor de las fibras. Según el Anova acerca de la lectura de mm de formación o no de halos, para el tiempo de 24 horas, se evidenció con un p-valor

<0,0001 4 rangos de diferencias estadísticas significativas, donde la cabuya (blanco), fibras con código E1(30:30 min variedad común) , F1(30:30 min variedad King) y E3(60:30 min variedad común) presentan resistencia; por lo contrario los tratamientos E2, E4, (variedad común) F2,F3,F4 (variedad kink) tienen poca sensibilidad, los coloides de nanopartículas de plata reducidas por extractos de cáscara de mandarina variedad King presentaron mediana sensibilidad y son diferentes estadísticamente de todos los tratamientos los coloides de AgNPs resultante de reducción con el extracto de cáscara de mandarina variedad común. (20)

A partir de las 48 horas se reportaron en el Anova de la tabla 5 las lecturas de mm de formación o no de halos y se evidenció que la cabuya (blanco), fibras con código E1(30:30 min variedad común), F1(30:30 min variedad King) continuaron con resistencia; la fibra E3 (60:30 min variedad común) presentó poca sensibilidad; los tratamientos E2, E4, (variedad común) F2,F3,F4 (variedad King) cambiaron a mediana sensibilidad y los coloides de las dos variedades poseen alta sensibilidad con respecto a inactivar el crecimiento de microorganismo; por tanto el valor de $p < 0,0001$ de la prueba Anova determinó que los tratamientos son estadísticamente diferentes y para un nivel de significancia del 5% es factible obtener una membrana de *Furcraea andina*, estructurada con nanopartículas de plata utilizando como agente reductor cáscara de *Citrus reticulata* que presente actividad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*. (20)

Tabla 5. Anova de resultado de sensibilidad de fibra de cabuya con AgNO3 (48horas).

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	610,35	12	50,86	37,44	<0,0001
Reporte	584,90	3	194,97	143,53	<0,0001
Error	27,17	20	1,36		
Total	637,52	32			

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 1,3583 gl: 20

Reporte	Medias	n	E.E.	Rango
RESISTENCIA	0,13	11	0,36	A
POCA SENSIBILIDAD	1,67	5	0,59	B
MEDIANA SENSIBILIDAD	4,92	11	0,36	C
ALTA SENSIBILIDAD	12,00	6	0,48	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 1,3583 gl: 20

Código	Medias	n	E.E.	Rango
E1	0,00	3	0,67	A
F1	0,00	3	0,67	A
Cabuya	0,00	3	0,67	A
E3	0,75	3	0,71	A
E4	2,00	3	0,67	AB
E2	3,50	3	0,71	BC
F4	4,67	3	0,67	C
F2	5,00	3	0,67	C
F3	5,00	3	0,67	C
Coloides F	10,00	3	0,67	D
Coloides E	14,00	3	0,67	E

➤ **4. Discusión**

Esta investigación cumple con el Eje 1 del Objetivo 3 SALUD Y BIENESTAR dentro de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS)(36) proporcionando una nueva alternativa que ha surgido en los últimos años con respecto a la nanomedicina donde hace uso de nanopartículas de diferentes tipos con diversas aplicaciones, dentro de estas las nanopartículas de plata. (37) y efectuó la síntesis de un nuevo material nanofuncional que combinó las ventajas de una matriz celulósica polimérica biodegradable, económica y con alta resistencia mecánica, con la actividad de las AgNPs. (7).

Los principales métodos para la producción de nanopartículas son enfoques químicos y físicos que a menudo son costosos y potencialmente perjudiciales para el ambiente (38) algunas rutas han sido investigadas por reducción de hidruros y citratos de sodio, incluso en medio de radiación de microondas y fotoreducción. (29) En esta investigación se da énfasis a la síntesis de nanopartículas con extractos de plantas que es un método alternativo, eficiente, económico y seguro para el ambiente, además origina nanopartículas con propiedades determinadas. (38)

Por lo general los extractos de plantas que se manipulan como agentes reductores para formar nanopartículas se caracterizan por poseer polifenoles, taninos y antioxidantes, los cuales se encuentran en desechos de cáscaras de cítricos, plátanos, tuna y especias como el ajo y la cebolla proporcionando resultados óptimos de reducción del nitrato de plata (39)

Anna Zielinzka & Col. (2009) experimentaron el efecto del precursor de nitrato de plata y su concentración en la formación de coloides

estables para ser caracterizados en UV-VIS en una banda de plasmón fuerte cerca de 430 nm, que ratifican la reducción de iones de plata a Ag^0 en fase acuosa, valores similares a los obtenidos en esta investigación donde el rango de longitud de onda promedio fue entre 420 a 450 nm; así como también confirmaron mediante observación de difracción de rayos X en polvo (DRX). Los tamaños de las nanopartículas de plata se localizaron en el rango de 5 nm a 100 nm. (40)

Ledesma A, & col (2014), sintetizaron AgNPs mediante una alternativa ambiental, manipulando como agente reductor extracto acuoso de nopal (*Opuntia sp.*) en presencia de polímeros biocompatibles solubles en agua poli (vinil alcohol) (PVA) como agente estabilizador. (41)

Kokila T, Ramesh P y Geetha, sintetizaron AgNPs a partir de un extracto de cáscara de plátano previamente seco de lo cual 25 g de polvo se calentó a 80°C, el extracto posteriormente se usó como agente reductor y estabilizante, para optimizar la ruta de producción se efectuaron diversas concentraciones entre 1 a 5 ml de extracto y a continuación se adicionó a AgNO_3 1M, la reacción dio lugar a los 30 minutos a temperatura ambiente, donde la formación de un color parduzco anaranjado indicó la formación de AgNPs (37) al contrastar con esta investigación solamente se utilizó 0.0025 M de concentración de AgNO_3 , siendo una ventaja económica por el costo elevado del reactivo.

La incorporación de nanopartículas de plata en matrices poliméricas sobre la formación in-situ de nanopartículas de plata AgNPs sobre fibras de cabuya constituyen 3 pasos fundamentales, así reportan varias investigaciones, donde la nucleación se inicia con la agregación del agente reductor para transformar los iones de plata que están unidos electrostáticamente en la superficie de la fibra de cabuya. Posteriormente el crecimiento de los átomos de plata neutros comienzan a agregarse y la nanoestructura crece en la superficie hasta alcanzar un volumen estable de acuerdo a las condiciones de síntesis; reacción que se observa con el cambio de coloración en las superficie de la fibra de cabuya y finalmente la estabilización, donde la estructura porosa de la celulosa de la fibra de cabuya estabiliza las AgNPs mediante un efecto

denominado “éter corona” posiblemente a la elevada densidad de átomos de oxígeno que rodean las nanopartículas.(42)(43)

Ortega D, (2020) reitera que un campo de amplio interés de las nanopartículas de plata es la aplicación como agente antimicrobiano, pero el mecanismo de acción aún no es clarificado; sin embargo, las AgNPs pueden actuar de las siguientes formas:(44) a.- Anclaje a la pared bacteriana que en el interior produce daños estructurales como la permeabilidad, y eso le causaría la muerte. b.- Interacción de las AgNPs con proteínas que contienen azufre, lo que ocasiona muerte celular(45)

J.M. Sahuquillo Arce y otros investigadores (2020) analizaron las propiedades antimicrobianas de una espuma de poliuretano que libera iones de plata sobre algunos microorganismos, cuyos estudios experimentales se realizaron in vitro para la capacidad bactericida mediante curvas de letalidad sobre *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *S. aureus* resistente a metilicina, *E. faecium*, *S. pyogenes* y *C. minutissimum*, los resultados indicaron que en 3 horas se alcanzó una disminución superior al 99,9% en todos los microorganismos gramnegativos exceptuado el *E. coli* que fue del 92,5%, asimismo, la reducción fue superior al 99% a las 2 horas en *S. pyogenes* y *C. minutissimum*; a las 6 horas en *S. aureus* y a las 14 horas en *E. faecium*. En estudios in vivo estas reducciones se adquirieron en 6 horas en los gramnegativos y en 24 horas en los grampositivos. (46)

Kokila T, Ramesh P & Geetha (2015) identificaron el potencial antibacteriano de los AgNPs biosintetizados probando contra Gram-positivos (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*) y bacterias Gram-negativas (*Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*) usando agar por el método de difusión de disco. Las placas se dejaron durante la noche a temperatura ambiente para permitir que apareciera cualquier contaminación. Luego los discos se colocaron en placas de agar Muller Hinton inoculados a 37 °C por 24 horas (37). La actividad antibacteriana y anti fúngica de las AgNPs y de AgNPs/nanofibras, se han evaluado utilizando cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus Níger* (41)

El mecanismo de acción de inactivación se atribuye según diferentes autores que por el tamaño de las nanopartículas, pueden penetrar dentro de las membranas celulares interactuando con compuestos que tienen azufre, fósforo, como las proteínas del ADN y logra inhibir la viabilidad de réplica celular lo que conduce a la muerte celular.(33)

A futuro se consideraría realizar estudios de estabilidad de la estructura nano porosa del nano material; con ensayos de acción de las AgNPs sobre diferentes tipos de pared celular de origen microbiano, identificando la desnaturalización de proteínas a nivel de ribosomas y como se unen al ADN para perder la capacidad de réplica, de la misma forma efectuar pruebas de toxicidad tanto para microorganismo como humanos.

» 5. Conclusiones

El estudio de propiedades de nanopartículas de plata soportadas en fibras naturales presentan un gran interés para la investigación química por la amplia variedad de nuevas propiedades y potenciales aplicaciones que se pueden explotar en el campo de la nanomedicina, (7). Constituyen la alternativa de prácticas respetuosas con el ambiente, proporcionando una variante promisoría para resolución de problemas en la búsqueda de nuevas sustancias de alto valor biológico que dilucide las incógnitas relacionadas con la seguridad del hombre y su entorno.(47)

Los extractos acuosos de cáscara de mandarina variedad común y King en concentraciones entre 1 a 5 % al adicionar sobre soluciones de nitrato de plata de concentración entre 0.001M a 0.0025 M posee efectos de reducción con la producción de nanopartículas de plata en estado de coloidal diferenciados por el rango promedio de longitud de onda entre 420 a 450 nm de absorción de los coloides probablemente de forma esférica. (20) Las condiciones de recubrimiento de fibra de cabuya se atribuyen al uso de nitrato de plata con concentración 0.0025M con inmersión de 60 minutos, y como agente reductor se pueden usar soluciones al 5% de extracto acuoso de cáscara de mandarina variedad común y 3% de variedad King con tiempos de inmersión de 60 minutos. Secado por 12 horas a 60°C, dan tonalidades doradas y café. (20) Los análisis realizados mediante SEM,

EDX y FT-IR permitieron corroborar la presencia de nanopartículas de plata sobre la superficie de las fibras de cabuya. (20)

» 6. Agradecimientos

Especial agradecimiento a las Instituciones de Educación Superior: Facultad de Ciencias y Salud Pública de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y la Universidad Técnica de Ambato.

» 7. Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses en la realización del presente trabajo.

» 8. Limitación de responsabilidad

Se declara que el manuscrito es de entera responsabilidad de los autores.

» 9. Fuentes de apoyo

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Laboratorio de investigación de la Facultad de

» 10. Referencias bibliográficas

1. Salem W, Leitner DR, Zingl FG, Schratte G, Prassl R, Goessler W, et al. Antibacterial activity of silver and zinc nanoparticles against *Vibrio cholerae* and enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol* [Internet]. 2015;305(1):85–95. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25466205>
2. Bruna T, Maldonado-Bravo F, Jara P CN. Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021;22(13):7202. Available from: doi:<https://doi.org/10.3390/ijms22137202>
3. Alghoraibi, I., & Zein R. SILVER NANOPARTICLES: ADVANCES IN RESEARCH AND APPLICATIONS IS APPROACHING. *Nanotechnol Res J* [Internet]. 2017;10(1):83–114. Available from: <https://www.proquest.com/scholarly-journals/silver-nanoparticles-advances-research/docview/2439638545/se-2?accountid=14558>
4. Crisan, C. M., Mocan, T., Manolea, M., Lasca, L. I., Tăbăran, F.-A., & Mocan L. Review on Silver Nanoparticles as a Novel Class of Antibacterial Solutions. *Appl Sci* [Internet].

- 2021;11(3):1120. Available from: <https://doi.org/10.3390/app11031120>
5. Dakal, T. C., Kumar, A., Majumdar, R., & Yadav V. Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *Front Microbiol* [Internet]. 2016;7(1831). Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01831>
 6. Cardeño Calle L, Londoño ME. Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo (*Allium sativum*). *Rev Soluciones Postgrado*. 2014 Jun 30;6(12):129–40.
 7. Oroz MM. Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas - Dialnet. *An la Real Soc Española Química* [Internet]. 2009 [cited 2020 Feb 21];(1):33–41. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2931286>
 8. Patricia Betancur Henao C, Hernández Montes V, Buitrago Sierra R. Nanopartículas para materiales antibacterianos y aplicaciones del dióxido de titanio Nanoparticles for antibacterial materials and titanium dioxide applications. *Rev Cuba Investig Biomédicas* [Internet]. 2016 [cited 2020 Feb 21];35(4):387–402. Available from: <http://scielo.sld.cu>
 9. Oksman K, Mathew AP, Bondeson D, Kvien I. Manufacturing process of cellulose whiskers/poly(lactic acid) nanocomposites. *Composites Sci Technol*. 2006;66:2776–2784.
 10. Ovalle SA, Blanco-Tirado C, Combariza MY. In situ synthesis of silver nanoparticles on fique fibers | Síntese in situ de nanopartículas de prata em fibras de fique | Síntesis in situ de nanopartículas de plata sobre fibras de fique. *Rev Colomb Quim* [Internet]. 2013;42(1):30–7. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84914171590&partnerID=MN8TOARS>
 11. UTN-FICA-EITEX. Cabuya una visión del futuro textil [Internet]. [cited 2020 Feb 21]. Available from: [http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/2658/2/04 IT 006 TESIS.pdf](http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/2658/2/04%20IT%2006%20TESIS.pdf)
 12. Cervantes Meneses LG, Inga SC. Elaboración De Miel Del Cabuya Y Estudio De Prefactibilidad De Una Planta En El Distrito De Huanca Huanca, Provincia De Angaraes, Departamento De Huancavelica. 2015;185. Available from: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/4227/1/Cervantes_ml.pdf
 13. Villacrés P. “CUANTIFICACIÓN DE LA BIOMASA RESIDUAL Y CARACTERIZACIÓN DEL CHAGUARMISHQUI” [Internet]. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO; 2018 [cited 2021 Nov 7]. Available from: [https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/28507/1/Tesis-205 Ingeniería Agronómica -CD 596.pdf](https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/28507/1/Tesis-205%20Ingeniería%20Agronómica%20-CD%20596.pdf)
 14. Criollo Figueroa OH. Establecimiento de un protocolo para la propagación masiva in vitro DE CABUYA AZUL (*Agave americana* L.) Y CABUYA BLANCA (*Furcraea andina* Trel.) [Internet]. SANGOLQUÍ / ESPE / 2011; 2011 [cited 2020 Feb 21]. Available from: <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/4656>
 15. Yañez MB. Facultad de Ingeniería Facultad de Ingeniería. Ucv. 2017;358.
 16. Hora L. La mandarina, fruta de mayor producción. [Internet]. 2013 [cited 2021 Jan 7]. Available from: <https://lahora.com.ec/noticia/1101372417/la-mandarina-fruta-de-mayor->
 17. Rincón AM, Vásquez A, Padilla M, C F. Composición química y compuestos bioactivos de las harinas de cascara de naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*) cultivadas en Venezuela. *Arch Latinoam Nutr* [Internet]. 2005 [cited 2022 Jan 7];55(3):305–10. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222005000300013&lng=es&nrm=iso&tln g=es
 18. Nevárez MB. "Estudio comparativo de la calidad físico-química y cromatográfica del fruto de la mandarina (*Citrus nobilis* Lour.) [Internet]. [Quevedo]: Universidad Técnica Estatal de Quevedo Facultad de Ciencias Pecuarias Carrera de Ingeniería en Alimentos; 2013 [cited 2022 Jan 7]. Available from: <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/239/1/T-UTEQ-0004.pdf>
 19. Castro K. Elaboración de nanopartículas de plata vía síntesis y compuestos orgánicos de púncica granatum y catálisis bacteriana de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger* [Internet]. Universidad de

- Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química.; 2018. Available from: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/33323/1/401-1332%2520-%2520Elaborac%2520nanopartículas%2520plata%2520via%2520síntesis%2520y%2520compuest%25>
20. Logroño M. Desarrollo de una membrana a base de fibra de cabuya (*Furcraea andina*) recubierta con nanopartículas de plata y evaluación de su actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *pyogenes* [Internet]. Universidad Técnica de Ambato; 2022. Available from: <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/34202>
 21. Chouhan S, Guleria S. Green synthesis of AgNPs using *Cannabis sativa* leaf extract: Characterization, antibacterial, anti-yeast and α -amylase inhibitory activity. *Mater Sci Energy Technol* [Internet]. 2020;3:536–44. Available from: doi: 10.1016/j.mset.2020.05.004
 22. Lim JK, Liu T, Jeong J, Shin H, Jang HJ, Cho S-P, et al. In situ syntheses of silver nanoparticles inside silver citrate nanorods via catalytic nanoconfinement effect. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp* [Internet]. 2020 Nov 20 [cited 2020 Sep 1];605:125343. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775720309365>
 23. Productos | JEOL Ltda. Microscopio electrónico de barrido InTouchScope™ JSM-IT100 [Internet]. [cited 2022 Jan 8]. Available from: <https://www.jeol.co.jp/en/products/detail/JSM-IT100.html>
 24. Espectrofotómetros - FT/IR Jasco FTIR-4000 [Internet]. [cited 2022 Jan 8]. Available from: <https://www.biriden.com/es/espectrofotometros/ftir-4000>
 25. Chouhan S, Guleria S. Green synthesis of AgNPs using *Cannabis sativa* leaf extract: Characterization, antibacterial, anti-yeast and α -amylase inhibitory activity. *Mater Sci Energy Technol* [Internet]. 2020 [cited 2020 Sep 2];3:536–44. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mset.2020.05.004>
 26. Kambale EK, Nkanga CI, Mutookole BPI, Bapolisi AM, Tassa DO, Liesse JMI, et al. Green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles using aqueous leaf extracts from three Congolese plant species (*Brillantaisia patula*, *Crossopteryx febrifuga* and *Senna siamea*). *Heliyon* [Internet]. 2020 Aug 1 [cited 2020 Sep 2];6(8). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04493>
 27. Al. NH et. Green mode synthesis of silver nanoparticles using *Vitis vinifera*'s tannin and screening its antimicrobial activity / apoptotic potential versus cancer cells. *Mater Today Commun* [Internet]. 2020;25(101511). Available from: doi: 10.1016/j.mtcomm.2020.101511.
 28. Katta VKM, Dubey RS. Green synthesis of silver nanoparticles using *Tagetes erecta* plant and investigation of their structural, optical, chemical and morphological properties. *Mater Today Proc* [Internet]. 2020 Mar [cited 2020 Sep 2]; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214785320315996>
 29. AJKL. "In situ syntheses of silver nanoparticles inside silver citrate nanorods via catalytic nanoconfinement effect. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp*. 2020;605:125343.
 30. Kumar Panda M, Kumar Dhal N, Kumar M, Manjari Mishra P, Kumar Behera R. Green synthesis of silver nanoparticles and its potential effect on phytopathogens. *Mater Today Proc* [Internet]. 2020 Jun [cited 2020 Sep 2]; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214785320337494>
 31. Maity GN, Maity P, Choudhuri I, Sahoo GC, Maity N, Ghosh K, et al. Green synthesis, characterization, antimicrobial and cytotoxic effect of silver nanoparticles using arabinoxylan isolated from *Kalmegh*. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2020 Sep 3];162:1025–34. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813020336680>
 32. Sánchez M, Tutor M, Álvarez J, Facultad R, Ciencias DE. Trabajo de fin de máster módulo de Química Inorgánica e Ingeniería Química nanopartículas de plata: Preparación, caracterización y propiedades con aplicación en inocuidad de los alimentos. *J Chromatogr* [Internet]. 2017 [cited 2022 Jan 12];1040(2):15–7. Available from: http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Msanchez/Sanchez_Moreno_Minerva_TFM.pdf

33. Jyoti K, Baunthiyal M, Singh A. Characterization of silver nanoparticles synthesized using *Urtica dioica* Linn. leaves and their synergistic effects with antibiotics. *J Radiat Res Appl Sci* [Internet]. 2016;9(3):217–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jrras.2015.10.002>
34. Mendez MA. “Síntesis y Caracterización De Nanopartículas De Plata: Efecto Sobre *Colletotrichum Gloesporioides*. 2009;90(17).
35. Tang B, Wang J, Xu S, Afrin T, Xu W, Sun L, et al. Application of anisotropic silver nanoparticles: Multifunctionalization of wool fabric. *J Colloid Interface Sci* [Internet]. 2011;356(2):513–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2011.01.054>
36. Naciones Unidas. Objetivos de desarrollo sostenible [Internet]. 2015. p. 2. Available from: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>
37. Kokila T, Ramesh • P S, Geetha • D. Biosynthesis of silver nanoparticles from Cavendish banana peel extract and its antibacterial and free radical scavenging assay: a novel biological approach. *Appl Nanosci* [Internet]. 2015 [cited 2020 Feb 21];5:911–8. Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s13204-015-0401-2.pdf>
38. Liu Y, Liu Y, Liao N, Cui F, Park M, Kim H-Y. Fabrication and durable antibacterial properties of electrospun chitosan nanofibers with silver nanoparticles. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2015 Aug 1 [cited 2020 Feb 21];79:638–43. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813015003992>
39. KA, J V. Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using *Vitex negundo* (Karu Nochchi) Leaf Extract and its Antibacterial Activity. *Med Chem (Los Angeles)*. 2017;07(07).
40. Zielińska A, Skwarek E, Zaleska A, Gazda M, Hupka J. Preparation of silver nanoparticles with controlled particle size. In: *Procedia Chemistry* [Internet]. 2009 [cited 2020 Feb 21]. p. 1560–6. Available from: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1876619609003933?token=A3F-2B1C650047F52C7CC3CBDDDB-690B0909E10AD9A7A9A2D0588024BB-2B20AC0ED51E2353EF0D56801E0BE-D6836133A45>
41. Ledezma A, Romero J, Hernández M, Moggio I, Arias E, Padrón G, et al. Síntesis biomimética de nanopartículas de plata utilizando extracto acuoso de nopal (*Opuntia* sp.) y su electrohilado polimérico. *Superf y Vacío* [Internet]. 2014 [cited 2020 Feb 21];27(4):133–40. Available from: <http://www.scielo.org.mx/pdf/sv/v27n4/1665-3521-sv-27-04-00133.pdf>
42. Tan Y, Dai X, Li Y, Zhu D. Preparation of gold, platinum, palladium and silver nanoparticles by the reduction of their salts with a weak reductant–potassium bitartrate. *J Mater Chem* [Internet]. 2003 Apr 16 [cited 2022 Jan 5];13(5):1069–75. Available from: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2003/jm/b211386d>
43. Bjorge D, Daels N, De Vrieze S, Dejans P, Van Camp T, Audenaert W, et al. Performance assessment of electrospun nanofibers for filter applications. *Desalination*. 2009 Dec 25;249(3):942–8.
44. Ortega D. Aplicaciones biomédicas de las nanopartículas de plata [Internet]. FACULTAD DE FARMACIA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE TRABAJO; 2020 [cited 2021 Dec 27]. Available from: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/DAVID ORTEGO CASADO.pdf>
45. Mathur P, S J, S R, NK J. Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. *Artif Cells. Nanomedicine Biotechnol*. 2018;46(sup1):115–26.
46. Sahuquillo Arce JM, Iranzo Tatay A, Llácer Luna M, Sanchis Boix Y, Guitán Deltell J, González Barberá E, et al. Estudio in vitro de las propiedades antimicrobianas de una espuma de poliuretano que libera iones de plata - Dialnet. *Cirugía española Organo Of la Asoc Española Cir* [Internet]. 2011 [cited 2020 Feb 21];89(8):532–8. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3727131>
47. Travieso Novelles M, Rubio Ortega A, Pino Pérez O. Las nanopartículas a partir de plantas como base para el diseño de nuevos antimicrobianos. *Rev Cuba Farm* [Internet]. 2019 [cited 2020 Feb 21];51(4). Available from: <http://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/263/178>