



DOI: <http://dx.doi.org/10.23857/dc.v8i3>

Ciencias Técnicas y Aplicadas
Artículo de Investigación

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

Green synthesis of silver nanoparticles as a bactericidal agent for domestic wastewater treatment

Síntese verde de nanopartículas de prata como agente bactericida para tratamento de efluentes domésticos

Mishell Carolina Moreno Samaniego ^I
mishell.moreno@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-5679-5485>

Erika Pamela Yanchapanta Tamaquiza ^{II}
erika.yanchapanta@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-2030-850X>

Dayana Mishell Alvarez Cosntante ^{III}
dayanaalvarezc@outlook.com
<https://orcid.org/0000-0001-6500-932X>

Raúl Leandro Dávalos Monteiro ^{IV}
rdavalos@yachaytech.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0003-3058-5145>

Correspondencia: mishell.moreno@esPOCH.edu.ec

***Recibido:** 29 de mayo del 2022 ***Aceptado:** 02 de junio de 2022 * **Publicado:** 25 de julio de 2022

- I. Mgs. en Biología Celular y Molecular, Advanced Materials Research Group (GIMA), Docente investigador, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- II. Investigador independiente, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- III. Ingeniera en Biotecnología Ambiental, Investigador independiente, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- IV. PhD Materials Science, Advanced Materials Research Group (GIMA), Docente investigador, Escuela de Ciencias Biológicas e Ingeniería, Universidad Yachay Tech, Urcuquí, Ecuador.

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

Resumen

Las aguas residuales presentan un peligro potencial para la salud, debido a que contiene gran cantidad de microorganismos patógenos. Dichas aguas son arrojadas a los ríos sin tratamiento previo de desinfección y posterior a esto, son reusadas para la agricultura. En esta investigación se evaluó la actividad bactericida de nanopartículas de plata en aguas residuales de tipo doméstico. Para la síntesis de las nanopartículas de plata se utilizó metodología verde donde la sal precursora fue el nitrato de plata (AgNO_3) y el agente reductor fue extracto de *Physalis Peruviana L* (uvilla). La caracterización de dichas nanopartículas se realizó por Espectrofotometría de Uv-vis, Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopia de Rayos X de energía dispersa. Se obtuvieron lecturas de 412-414 nm con un tamaño promedio de 7-30 nm, además se identificó la presencia de plata en mayor porcentaje, en el producto final. Se concluyó que las nanopartículas de plata obtenidas por una síntesis verde actúan como agente bactericida frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Pseudomona oryzihabitans*, *Edwardsiella tarda* y *Shigella flexnery*, mostrando su eficacia al momento de usarlas en aguas biológicamente contaminadas.

Palabras Claves: Nanopartículas; plata; síntesis verde; aguas residuales; bactericida.

Abstract

Wastewater presents a potential health hazard because it contains a large number of pathogenic microorganisms. These waters are thrown into the rivers without prior disinfection treatment and after this, they are reused for agriculture. In this research, the bactericidal activity of silver nanoparticles in domestic wastewater was evaluated. For the synthesis of silver nanoparticles, a green methodology was used where the precursor salt was silver nitrate (AgNO_3) and the reducing agent was extract of *Physalis Peruviana L* (uvilla). The characterization of these nanoparticles was carried out by UV-vis Spectrophotometry, Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy Dispersed X-Ray Spectroscopy. Readings of 412-414 nm were obtained with an average size of 7-30 nm, in addition, the presence of silver in a higher percentage was identified in the final product. It was concluded that the silver nanoparticles obtained by a green synthesis act as a bactericidal agent against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Pseudomona oryzihabitans*, *Edwardsiella tarda* and *Shigella flexnery*, showing their effectiveness when used in biologically contaminated water.

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

Keywords: Nanoparticles; silver; green synthesis; sewage water; bactericide.

Resumo

As águas residuais apresentam um potencial perigo para a saúde porque contêm um grande número de microrganismos patogénicos. Essas águas são lançadas nos rios sem tratamento prévio de desinfecção e após isso são reaproveitadas para a agricultura. Nesta pesquisa, foi avaliada a atividade bactericida de nanopartículas de prata em efluentes domésticos. Para a síntese das nanopartículas de prata, foi utilizada uma metodologia verde onde o sal precursor foi o nitrato de prata (AgNO_3) e o agente redutor foi o extrato de *Physalis Peruviana L* (úvilla). A caracterização dessas nanopartículas foi realizada por Espectrofotometria UV-vis, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Raios-X Dispersos de Energia. Foram obtidas leituras de 412-414 nm com tamanho médio de 7-30 nm, além disso, foi identificada a presença de prata em maior porcentagem no produto final. Concluiu-se que as nanopartículas de prata obtidas por síntese verde atuam como agente bactericida contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Pseudomonas oryzae*, *Edwardsiella tarda* e *Shigella flexneri*, mostrando sua eficácia quando utilizadas em água biologicamente contaminada.

Palavras-chave: Nanopartículas; prata; síntese verde; águas residuais; bactericida.

Introducción

El agua es un recurso en el cual intervienen en la mayoría de los procesos biológicos para la subsistencia en la tierra (García, 2016). En la actualidad, se sufre una escasez de este recurso hídrico por las actividades desarrolladas por el hombre, el incremento de la población y la contaminación ambiental, es por ello que uno de los objetivos globales es su uso sustentable (Auge, 2007). Una de las alternativas prometedoras es el reúso de las aguas residuales. Las aguas residuales son aquellas que, por el uso del hombre son desechadas dado que contienen gran cantidad de sustancias bio peligrosas y microorganismos. Dichas aguas, pueden ser causa y vehículo de contaminación, dado a que son llevadas a los ríos y la mayoría de estas aguas son utilizadas para el riego de cultivos (Espigares; Pérez, 2008). Según la ONU, el 80% de las aguas residuales de tipo doméstico son llevadas a los ríos sin tratamiento previo, afectando a la población con enfermedades gastrointestinales (INEC, 2016).

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

Ecuador cuenta con 421 plantas de tratamiento de aguas servidas, de las cuales el 39% realiza un pre-filtrado y el 61% no realiza ningún tipo de tratamiento. En una investigación realizada por INEC, se informó que el 20,7% de la población ecuatoriana consume aguas con bacterias, con la presencia principalmente de *Escherichia coli* (INEC, 2019). Hoy en día, los tratamientos de aguas residuales utilizan químicos que impactan negativamente al medio ambiente (Días, 2012), mismos que aumentan la resistencia a los antibióticos de ciertas bacterias, por lo cual se busca mecanismos eficientes para el tratamiento este recurso.

La nanotecnología (NT) es la ciencia que permite la manipulación de estructuras biológicas y no biológicas a tamaños entre 1 a 100 nm (Cerón, 2015). La NT es una opción viable para el tratamiento de aguas residuales por las propiedades bactericidas que presentan algunos metales, entre estos se encuentra la plata que desde la antigüedad ha sido utilizada para conserva del agua, la plata iónica fue utilizada para tratar ulcera y quemaduras (Vergara & Toledo, 2017).

Las nanopartículas de plata (AgNPs) han despertado un gran interés en la comunidad científica por sus propiedades bactericidas y fúngicas, por esta razón se han implementado en varias áreas como la industria farmacéutica, alimenticia y textil (Rafique et al., 2017). Estudios recientes han demostrado que las AgNPs actúan además como agente antimicrobiano contra virus y bacterias (Morales et al., 2009).

Las nanopartículas de plata ostentan gran capacidad bactericida dado a la relación superficie-volumen, misma que está directamente relacionada por su morfología y tamaño. Estudios han demostrado que el grado de inhibición bacteriana es superior cuando las partículas son más pequeñas y tienen un forma triangular, dado que mejora la permeabilidad de los iones de plata en las células microbianas facilitando la muerte celular (Torres, 2016), (Ortiz, 2019). Varias investigaciones proponen que las AgNPs presentan buen rendimiento in vitro frente a bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* y *Bacillus subtilis* y Gram negativas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhi* (Echeverry-Chica et al., 2020).

La síntesis de nanopartículas de plata se basa en dos enfoques top-down y bottom-up. En la actualidad se busca obtener nanopartículas mediante metodologías amigables con el ambiente como la síntesis verde, la cual se basa en utilizar microorganismos como bacterias, plantas y hongos (Torres, 2016) (Magalhães-Ghiotto et al., 2021). Mediante una metodología verde se obtiene NPs libres de

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

contaminantes con tamaños y morfologías bien definida (Magalhães-Ghiotto et al., 2021) e incluso con reducción de costos.

Ecuador cuenta con una variada gama de flora, por ello se facilita la utilización de plantas para la biosíntesis de nanopartículas. Las plantas usan los metabolitos secundarios como estrategia de supervivencia y respuestas fisiológicas a agentes estresantes. Estos metabolitos pueden actuar sinérgicamente en la reducción de iones metálicos y la estabilización de la superficie de metales a nano escala (Ijaz et al., 2020). El presente trabajo de investigación plantea la síntesis de nanopartículas de plata a partir de extractos de las hojas de uvilla de la especie *Physalis peruviana L.*, que a través de los metabolitos secundarios que presentan como flavonoides, alcaloides y ceramidas, permiten una correcta síntesis de AgNPs (Pumacota, 2018).

Materiales y métodos

Este estudio se desarrolló en 3 etapas: síntesis, caracterización y evaluación de la actividad bactericida de las nanopartículas de plata.

Síntesis de nanopartículas de plata

Se utilizó una metodología verde, usando como agente reductor un extracto de las hojas de uvilla. Para esto se realizó una revisión bibliográfica sobre la capacidad reductora de *Physalis peruviana L.* y el nivel de eficacia (Pumacota, 2018).

Para la obtención del extracto acuoso de *Physalis peruviana L.*, se recolectaron hojas de uvillas, mismas que fueron lavadas con agua destilada. Posteriormente, se secó a una temperatura de 40°C por 24 horas para ser trituradas. Se realizó una solución hidroalcohólica para extraer los principales principios activos con ayuda de un sonicador y finalmente se procedió a destilar el etanol al 96% en un rotavapor hasta obtener un extracto acuoso. El producto final se mantiene en refrigeración hasta su uso.

Para la síntesis de prepararon 3 soluciones de nitrato de plata a diferentes concentraciones (0.5 M, 1 M y 1.5 M), se tomó 50 ml de las soluciones y se llevaron a un agitador magnético hasta alcanzar una temperatura de 60°C, agregando 10 ml del extracto de *Physalis peruviana L.* Se mantuvo dicha temperatura a una agitación constante de 700 rpm por 30 min.

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

Para obtener nanopartículas en estado sólido se procede a centrifugar por 1 hora a 1500 rpm, se lava precipitado 3 veces con etanol al 96% con ayuda de una centrifuga a la misma velocidad, durante 10 minutos. Finalmente son secadas a 50°C por 24 horas.

Caracterización

La caracterización se realizó aplicando técnicas de Espectroscopía Ultravioleta Visible (Uv-vis), Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopia de Rayos X de energía dispersa (EDS).

Evaluación de la actividad bactericida de las nanopartículas de plata

En primer lugar, se realizó la toma de muestras de las aguas residuales de tipo doméstico de los tanques de recepción de San Vicente de Lacas de la provincia de Chimborazo. Luego, se realizaron diluciones de la muestras hasta llegar a los 10⁻⁶ ml (inóculo).

Se preparó un medio de cultivo mixto (Agar nutritivo) y para la muestra control se tomó 100 µl del inóculo y se realizó la siembra con ayuda de la espátula de Drigalsky. La actividad bactericida de las AgNPs se llevó a cabo mediante un diseño factorial 3² como se detalla en la Tabla 1.

Así mismo, se tomó una alícuota del inóculo y se le agregó 0,3 gr de las nanopartículas sintetizadas 0.5 M, 1 M y 1.5 M; se expuso a la luz solar por diferentes horas y una vez transcurrido el tiempo se tomó 100 µl se procedió a su siembra y homogenización en toda la superficie del agar con la espátula de Drigalsky. En total se obtuvieron 9 tratamientos, cada uno por triplicado.

Tabla 1. Factores y niveles del efecto bactericida de las nanopartículas de plata

Factores				
Factor A: Concentración de las AgNPs	Nivel	Factor B: Tiempo de exposición a la luz solar		
		b0 = 1h	b1 = 2h	b2 = 3h
	a0 = 0.5M	3 réplicas	3 réplicas	3 réplicas
	a1 = 1M	3 réplicas	3 réplicas	3 réplicas
a2 = 1.5M	3 réplicas	3 réplicas	3 réplicas	

Realizado por: Yanchapanta Erika, 2022

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

Una vez efectuado los tratamientos, se incuban las cajas Petri a 37°C por 48 horas hasta observar el crecimiento de las bacterias. Para cálculo de número de unidades formadoras de colonia por mililitro de muestra, se empleó la siguiente fórmula:

UFC/ml= Promedio del # de colonias x factor de dilución x factores de alícuota

Resultados

Síntesis de nanopartículas de plata

Una vez obtenido el extracto acuoso de las hojas de uvilla, se determinó la presencia de fenoles con la adición de cloruro férrico (FeCl_3) a una alícuota del extracto. Al reaccionar con un fenol da como resultado un complejo con el Fe^{+3} de colores intensos como violeta, verde y negro según la cantidad de compuestos fenólicos presentes. En la Figura 1 se observa el cambio de color de verde claro a negro dando positivo a la presencia de fenoles. Los fenoles son los responsables de la reducción de plata iónica a plata metálica.

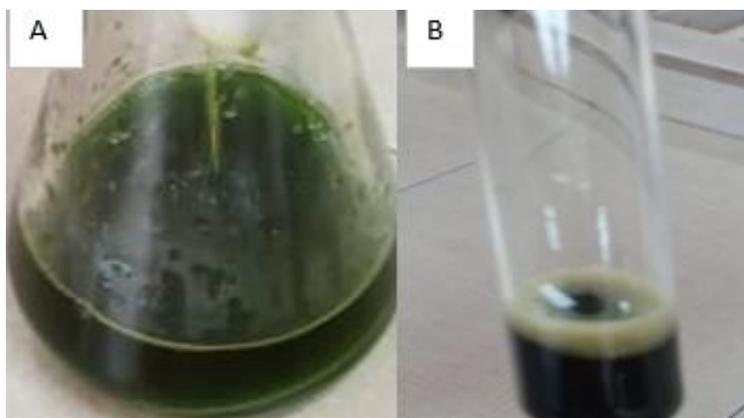


Figura 1. Presencia de fenoles (A) Extracto puro; (B) Extracto con FeCl_3 .

La síntesis de nanopartículas de plata se evidenció por un cambio de color a marrón oscuro como se observa en la Figura 2. Las propiedades ópticas de los metales cambian a escala nanométrica dada por el plasmon de superficie, esto quiere decir que cuando se irradia una determinada longitud de onda el metal emite un color característico.

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

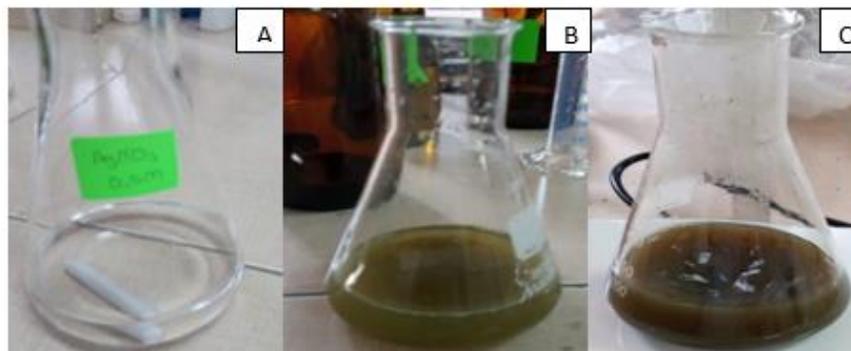


Figura 2. Síntesis de nanopartículas de plata. (A) Solución de nitrato de plata, (B) Nitrato de plata con extracto de uvilla (C) Nanopartículas de plata.

Caracterización

La espectroscopia Uv-vis es el primer análisis que se realiza para saber que se han formado nanopartículas, si existe nanopartículas de plata en una solución aparecerán picos de longitudes de onda máximos entre 380 y 480 nm, dichos picos se desplazan hacia la derecha o izquierda dependiendo del tamaño y forma de las nanopartículas (Castro, 2018).

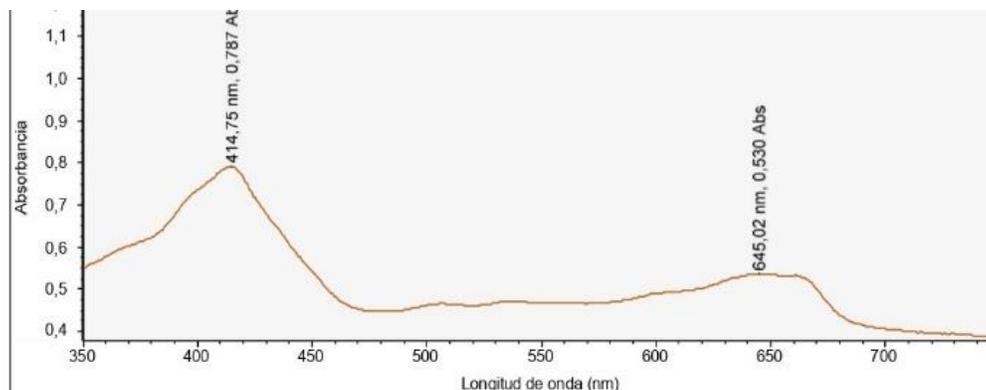


Figura 3. Banda UV-visible de plasmón de nanopartículas de plata sintetizadas a 0,5 M

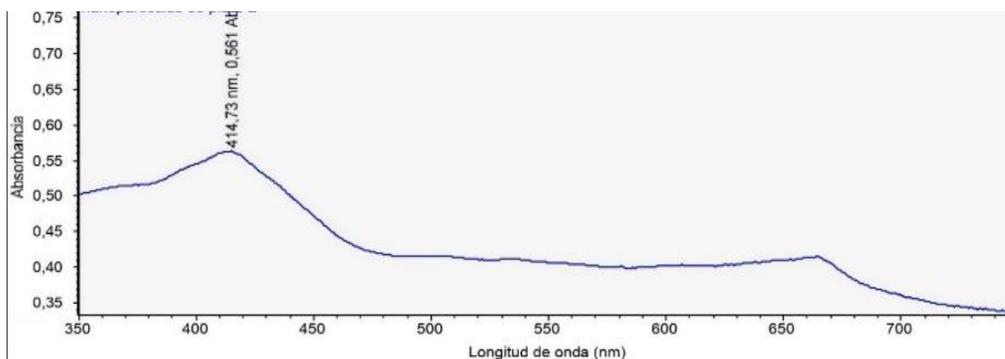


Figura 4. Banda UV-visible de plasmón de nanopartículas de plata sintetizadas a 1 M.

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

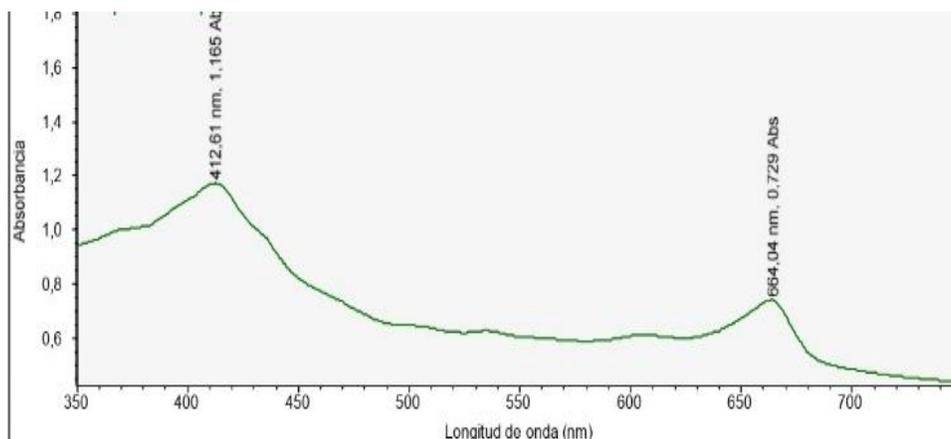
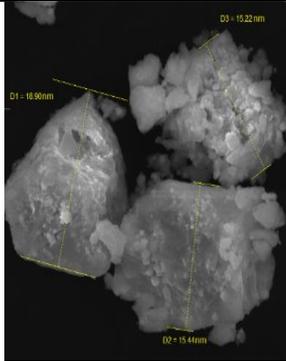
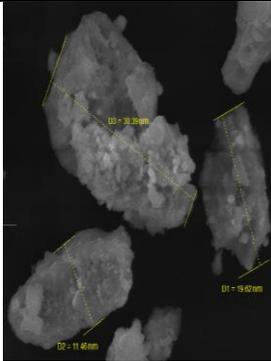


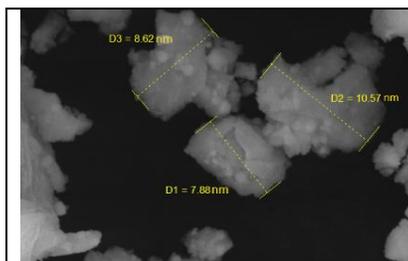
Figura 5. Banda UV-visible de plasmón de nanopartículas de plata sintetizadas a 1.5 M

En las figuras (Figura 3, Figura 4, Figura 5) se observa los valores de longitud máxima de 412 y 415 nm, dichos valores están dentro de los establecidos y, además nos permite establecer que las nanopartículas que se han formado tienen tamaños relativos entre de 15 y 35 nm, respectivamente. Por microscopía electrónica de barrido se identificó la morfología y tamaño de las AgNPs, teniendo una idea más clara de la estructura.

Tabla 2. Microscopía electrónica de barrido de nanopartículas de plata

Nanopartículas de Ag sintetizadas a 0.5 M	Nanopartículas de Ag sintetizadas a 1 M
	
<p>Nanopartículas de Ag sintetizadas a 1.5 M</p>	

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico



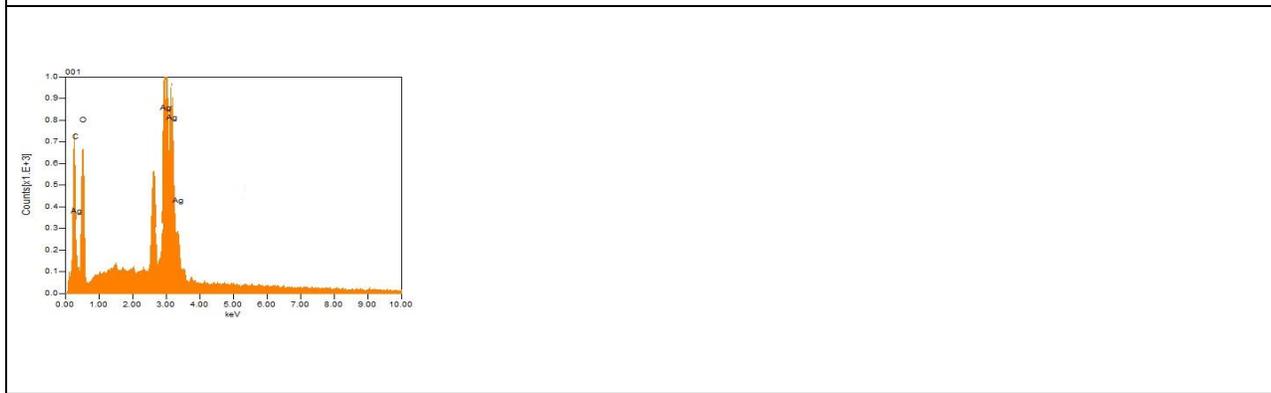
Fuente: Yanchapanta, Erika, 2022.

En la Tabla 2 se observa que la morfología de las nanopartículas de plata es ovalada e irregular, y en cuanto al tamaño se tuvieron los siguientes datos:

Las nanopartículas de plata sintetizadas a 0.5 M tienen un tamaño promedio de 17-40 nm. Las nanopartículas de plata sintetizadas a 1 M tienen un tamaño promedio de 11-30 nm. Las nanopartículas de plata sintetizadas a 1.5 M tienen un tamaño promedio de 7-33 nm. Estos datos respaldan lo analizado por Espectroscopia UV-vis, donde se esperaba tener nanopartículas de 10-35 nm.

La espectroscopia de Rayos X de energía dispersa (EDS) nos brinda información cualitativa y cuantitativa sobre la distribución de los elementos en una muestra. En la Tabla 3 se muestra el espectro EDS donde se confirma la presencia de plata. En la tabla 4 se identificó a la plata como elemento mayoritario.

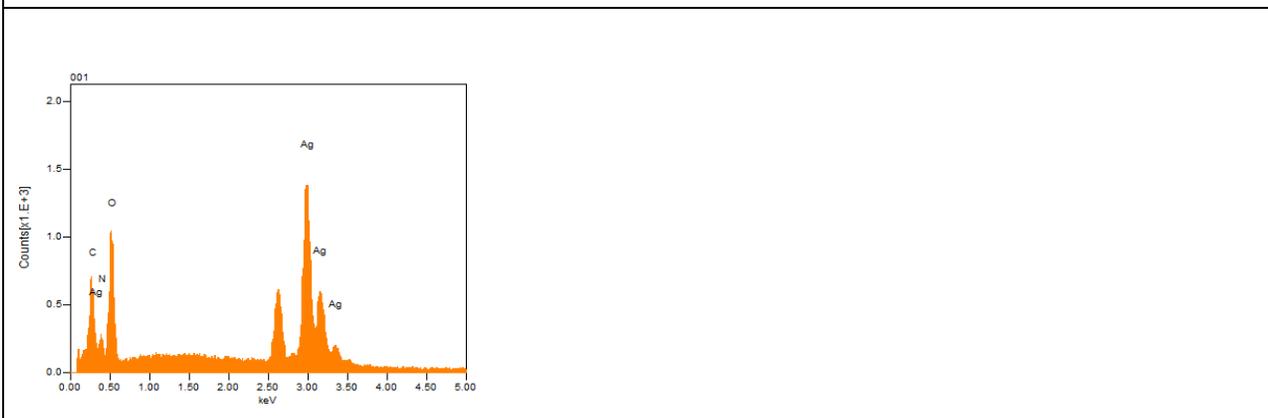
Tabla 3. Espectroscopia de rayos X de energía dispersa de las nanopartículas de plata

Nanopartículas de Ag sintetizadas a 0.5 M

Nanopartículas de Ag sintetizadas a 1 M

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico



Nanopartículas de Ag sintetizadas a 1.5 M



Fuente: Yanchapanta, Erika, 2022.

Tabla 4. Espectro EDS de las nanopartículas de plata

			AgNPs sintetizadas a 0.5M.	AgNPs sintetizadas a 1M.	AgNPs sintetizadas a 1.5M.
Número	Elemento	Símbolo	% masa	% masa	% masa
47	Plata	Ag	44.96	41.60	40.89
8	Oxígeno	O	24.78	17.69	4.83
7	Nitrógeno	N	4.74	6.03	25.79
6	Carbono	C	25.52	34.68	28.49

Fuente: Yanchapanta, Erika, 2022.

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

Actividad bactericida de las nanopartículas de plata

La actividad bactericida de las nanopartículas de plata se probó utilizando muestras pre filtradas de las aguas residuales de la comunidad san Vicente de Lacas, estas aguas contienen un sin número de bacterias por lo que se optó por trabajar con medios de cultivos mixtos como el agar nutritivo, que permite el crecimiento de varios tipos de bacterias. Una vez obtenido el inoculo (dilución a la 10^{-6} ml) se procede a realizar la siembra de la muestra control, además de los tratamientos. En la Tabla 5, se muestra el promedio de colonias formadas en función del tratamiento.

Tabla 5. Promedio de colonias formadas en función de los tratamientos empleados

Concentración de la síntesis de AgNPs	Tiempo de exposición a la luz solar	Tratamientos	Colonias formadas	Media de colonias formadas
Muestra control		0	26	26
0.5 M	1 h	1	18, 20, 15	17,66
	2 h	2	12, 13,9	11,33
	3 h	3	10, 10, 11	10,33
1 M	1 h	4	5, 6, 7	6
	2 h	5	5, 7, 5	5,66
	3 h	6	4, 3,3	3,33
1.5 m	1 h	7	2, 3, 3	2,66
	2 h	8	1, 0, 1	0,66
	3 h	9	0, 0,0	0

Fuente: Yanchapanta, Erika, 2022.

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

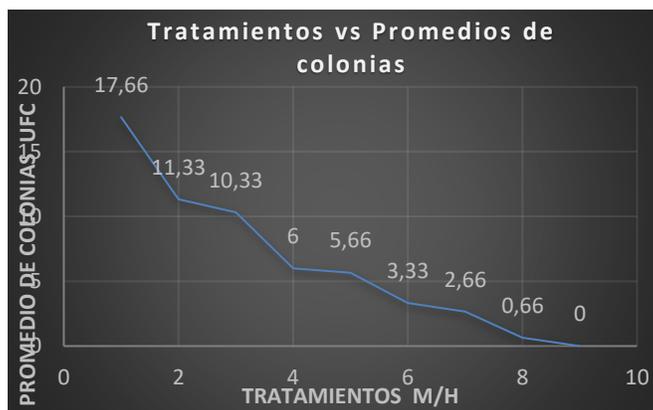


Gráfico 1. Resultados experimentales tratamiento vs promedio de colonias

En el Gráfico 1 se evidencia que el crecimiento de colonias desciende a medida que avanza los tratamientos.

Tabla 6. Número de colonias con y sin nanopartículas de plata

Sin nanopartículas de plata	Con nanopartículas de plata
	

Fuente: Yanchapanta, Erika, 2022.

En la Tabla 6, se puede evidenciar claramente el crecimiento de colonias cuando la muestra de aguas residuales no es tratada con AgNPs, el crecimiento de las colonias es mayor a simple vista. Por otro lado, tenemos a las aguas que se han tratado con AgNPs, las colonias que se forman no se observan a simple vista y su diámetro es menor.

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

Análisis del diseño experimental

El efecto de las AgNPs como agente bactericida, se evaluó mediante un análisis de varianza utilizando un diseño factorial 3². Se eligió este diseño ya que se tiene dos factores o variables independientes: concentración de AgNPs y tiempo de exposición a la luz solar. Cada efecto cuenta con tres niveles como se visualiza en la Tabla 7.

Tabla 7. Resultados obtenidos del recuento de células viables en Unidades Formadoras de colonias por mililitros

Factores					
	Niveles	Factor B: Tiempo de exposición a la luz solar			
		b0 = 1h	b1 = 2h	b2 = 3h	Total Y _{i..}
Factor A: concentración de las AgNPs	a0 = 0.5M	18x10 ⁷	12x10 ⁷	10x10 ⁷	39.32 x10 ⁷ UFC/ml
		20x10 ⁷	13x10 ⁷	10x10 ⁷	
		15x10 ⁷	9x10 ⁷	11x10 ⁷	
		17.66x10⁷ UFC/ml	11.33x10⁷ UFC/ml	10.33x10⁷ UFC/ml	
	a1 = 1M	5x10 ⁷	5x10 ⁷	4x10 ⁷	14.99 x10 ⁷ UFC/ml
		6x10 ⁷	7x10 ⁷	3 x10 ⁷	
		7x10 ⁷	5x10 ⁷	3x10 ⁷	
		6x10⁷ UFC/ml	5.66x10⁷ UFC/ml	3.33x10⁷ UFC/ml	
	a2 = 1.5M	2x10 ⁷	1x10 ⁷	0	9.26 x10 ⁷ UFC/ml
		3x10 ⁷	0x10 ⁷	0	
		3x10 ⁷	1x10 ⁷	0	
	Total Y_j	26.32 x10 ⁷ 2.66x10⁷ UFC/ml	23.59 x10 ⁷ 6.6x10⁶ UFC/ml	13.63 x10 ⁷ 0 UFC/ml	Y...173 x10 ⁷

Fuente: Yanchapanta, Erika, 2022.

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

Análisis ANOVA

Tabla 8. ANOVA para el diseño factorial 3²

FV	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F0	Valor-p
A	8,385x10 ¹⁵	2	4,1925x10 ¹⁵	26,33	0,000
B	6,747x10 ¹⁶	2	3,3737x10 ¹⁶	211,84	0,000
AB	3,525x10 ¹⁵	4	8,8148x10 ¹⁵	5,53	0,004
Error	2,866x10 ¹⁵	18	1,5925x10 ¹⁴		
Total	8,225x10 ¹⁶	26			

Fuente: Yanchapanta, Erika, 2022.

El valor de p calculado (Tabla 8) tanto para la concentración a la que fueron sintetizadas las nanopartículas de plata (A) como el tiempo de exposición a la luz solar (B) y la interacción de los dos factores es menor al valor de significancia 0.005 y por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, es decir que estos factores afectan significativamente la inhibición de las bacterias.

Efectos principales en la inhibición del crecimiento bacteriano

En el Gráfico 2, se observa que al exponer el inóculo por varias horas a luz solar, la inhibición es mayor, a diferencia de solo administrar las nanopartículas. Esto se debe a que, mientras más tiempo este en contacto las nanopartículas con las aguas residuales en presencia de luz solar, la inhibición aumenta.

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

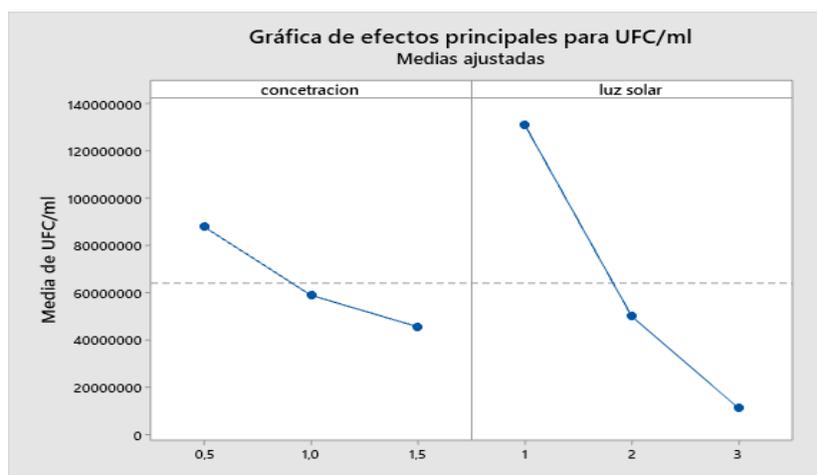


Gráfico 2. Efectos principales en la inhibición del crecimiento bacteriano (UFC/ml)

El mejor tratamiento se evidencio al exponer el inoculo por 3 horas a la luz solar en contacto con las nanopartículas sintetizadas a 1.5 M como se observa en el Gráfico 3.

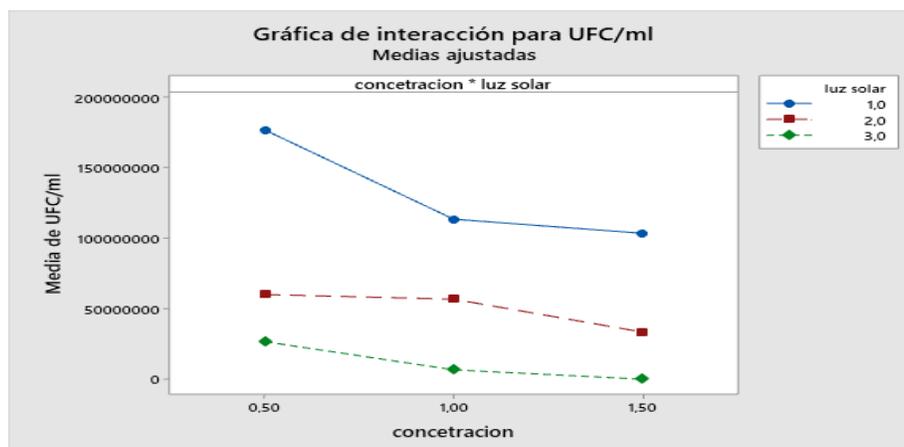


Gráfico 3. Interacción de factores para el crecimiento de bacterias (UFC/ml)

Discusión

A partir de los resultados encontrados se sostiene que se puede sintetizar nanopartículas de plata fácilmente con el uso de un extracto acuoso de hojas de uvilla de la especie *Physalis Peruviana L*, ya que finalizada la síntesis la solución presento un cambio de color a marrón oscuro característico. Este resultado guarda relación con los estudios realizados por Jalab et al (2021) el cual utilizó un extracto de *Acacia cyanophylla* que luego de la síntesis se visualizó un color amarillo oscuro (Jalab et al.,

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

2021), Rodríguez et al (2021), obtuvo nanopartículas de plata mediante un extracto de cártamo y tuvo como resultado luego de la síntesis un color marrón oscuro (Rodríguez et al., 2021). En un estudio realizado en Ecuador por Escobar en (2017), se produjeron nanopartículas de plata utilizando como agente reductor extracto de ajo el cual presento suspensiones coloidales de color café (Escobar, 2015). Estos autores expresan que luego de la síntesis las soluciones de nitrato de plata con los agentes reductores presentan un cambio, principalmente por las propiedades ópticas que presentan los metales a escala nanométrica.

En lo que respecta a la caracterización que se realizó a las nanopartículas, mediante espectroscopia UV-Vis presentaron picos de absorción máximos de 412-415 nm que concuerdan con las investigaciones realizadas por (Castro, 2018), (Márquez & Cortez, 2019), (Gallo & Ossa, 2019) y (Jalab et al., 2021); estos autores reportan que cuando se evidencia longitudes máximas de 380 a 480 nm existe la presencia de nanopartículas de plata en una solución. Además, según la revisión bibliográfica, Castro en el 2018 se tiene una idea clara del tamaño de las nanopartículas según los rangos de longitud de onda, estos datos fueron tomados del libro *Textbook of Nanoscience and Nanotechnology* de Thalappil Pradeep, donde se expresa que si existen picos menores a 400 nm el tamaño estimado es de 10–14 nm, mientras si existen picos mayores a 470 nm el tamaño estimado es de 80-100 nm. Estos datos concuerdan con lo analizado por microscopia electrónica de barrido donde se obtuvo tamaños entre 10 y 35 nm.

En cuanto a la actividad bactericida de las nanopartículas de plata sintetizadas mediante una metodología verde se tiene que son capaces de inhibir el crecimiento de bacterias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Pseudomona oryzihabitans*, *Edwardsiella tarda* y *Shigella flexneri*. Dichas bacterias fueron encontradas en un estudio de caracterización microbiológica de las agua en estudio, realizado por Guashpa y Ochoa en el 2021 (Moreno et al., 2021). En la actualidad no se encuentran estudios que reporten el uso del extracto de uvilla para la síntesis de nanopartículas de plata que actúen como agente bactericida, pero si existen investigaciones que utilizan la síntesis verde para obtener dichas partículas con propiedades bactericidas, así se tiene un estudio realizado por Echeverry et al en el 2020 que concluyó que las AgNPs sintetizadas con d-limoneno actúan como bactericidas contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus casseliflavus*, *Pseudomona aeruginosa* (Echeverry et al., 2020). La biosíntesis realizada por Melkamu & Bitew en el 2021 demuestra que

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

las nanopartículas tienen actividad bactericida contra bacterias *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi* y *Staphylococcus pneumoniae* (Melkamu & Bitew, 2021). Según los estudios realizados por Sukwenadhi et al en el 2021, Vishwanatha & Negi en el 202126, (Sukweenadhi et al., 2021), reportan que las nanopartículas biosintetizadas tiene propiedades bactericidas contra bacterias Gram positivas y negativas.

Conclusiones

Se llevo a cabo un método de síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el extracto acuoso de hojas de uvilla, teniendo un nuevo método para obtener nanopartículas dado que el extracto contiene compuestos fenólicos. Mediante la espectroscopia de UV- vis se confirmó la presencia de plata por sus picos máximos de longitud de onda de 412 y 415 nm, por microscopia electrónica de barrido se evidenció la presencia de plata por el espectro EDS además que efectivamente se trataba de nanopartículas con tamaños de 10-40 nm. Finalmente se determinó que las nanopartículas sintetizadas mediante una metodología verde es una alternativa sostenible para el tratamiento de aguas residuales de tipos doméstico, ya que presentan una inhibición hasta cero en el crecimiento de bacterias patógenas más comunes.

Referencias

1. García, M. El medio ambiente en Colombia. (2016).
2. Auge, M. Agua fuente de vida. Salud Mundial 31 (2007).
3. Espigares; Pérez. Aguas Residuales. Composición. (Universidad de Granada, 2008).
4. INEC. ESTADÍSTICA DE INFORMACIÓN AMBIENTAL ECONÓMICA EN GOBIERNOS AUTÓNOMOS DESCENTRALIZADOS MUNICIPALES 2015 (AGUA Y ALCANTARILLADO) OCTUBRE. (2016).
5. INEC. Medición de los indicadores de Agua, Saneamiento e Higiene (ASH), en Ecuador: (2019).
6. Días, E. El tratamiento de agua residual doméstica para el desarrollo local sostenible: el caso de la técnica del sistema unitario de tratamiento de aguas, nutrientes y energía (SUTRANE) en San Miguel Almaya, México. Redalyc.org 14, 78–79 (2012).

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

7. Cerón, A. El comportamiento de nanopartículas de plata en procesos de floculación en tratamientos de aguas. vol. 36 36 Preprint at (2015).
8. Vergara, A. & Toledo, E. Acción Bactericida de Nanopartículas de Plata Utilizando extractos de Aloe Vera, para una posterior Aplicación en vendajes y parches. Revista de Simulación y Laboratorio vol. 4 53–58 (2017).
9. Rafique, M., Sadaf, I., Rafique, M. S. & Tahir, M. B. A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology 0, 1272–1291 (2017).
10. Morales, J., Morán, J., Quintana, M. & Estrada, W. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA POR LA RUTA Sol-Gel A PARTIR DE NITRATO DE PLATA. Revista de la Sociedad Química de Perú 74, 177–184 (2009).
11. Torres, A. “SÍNTESIS VERDE Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO Y PLATA MEDIANTE EL USO DE ALGUNAS PLANTAS ENDÉMICAS DEL ECUADOR.” (Escuela Politécnica Nacional, 2016).
12. Ortiz, G. Evaluación del efecto bactericida in vitro de las nanopartículas de plata en cepas de *Moraxella* spp. multirresistentes aisladas en ovinos en el Estado de México. (UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO, 2019).
13. Echeverry-Chica, J., Naranjo-Díaz, A. & Araque-Marín, P. Nanopartículas de plata funcionalizadas in situ con D-limoneno: efecto en la actividad antibacteriana. Revista ION 33, 79–92 (2020).
14. Magalhães-Ghiotto, G. A. V., Oliveira, A. M. de, Natal, J. P. S., Bergamasco, R. & Gomes, R. G. Green nanoparticles in water treatment: A review of research trends, applications, environmental aspects and large-scale production. Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management 16, 100526 (2021).
15. Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A. & Bukhari, A. Green Chemistry Letters and Reviews Detail review on chemical , physical and green synthesis , classification , characterizations and applications of nanoparticles. Green Chemistry Letters and Reviews ISSN: 13, (2020).
16. Pumacota, N. “ Evaluación de los parámetros Físico-químicos fundamentales para la obtención de nanopartículas de óxido de cobre utilizando *Physalis peruviana* (Aguaymanto), vía química verde .” (UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN, 2018).

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

17. Castro, K. ELABORACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA VÍA SÍNTESIS Y COMPUESTOS ORGÁNICOS DE PÚNICA GRANATUM Y CATÁLISIS BACTERIANA DE ESCHERICHIA COLI, STAPHYLOCOCCUS AUREUS Y ASPERGILLUS NIGER. (Universidad de Guayaquil, 2018).
18. Jalab, J., Abdelwahed, W., Kitaz, A. & Al-kayali, R. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of Acacia cyanophylla and its antibacterial activity. *Heliyon* 7, 1–9 (2021).
19. Rodríguez, F., López, A., Moreno, M., Graciano, A. & Quintero, I. Sustainable-green synthesis of silver nanoparticles using safflower (*Carthamus tinctorius* L.) waste extract and its antibacterial activity. *Heliyon* 7, (2021).
20. Escobar, V. E. Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por espectroscopia de infrarrojos (FT-IR), UV-Vis, absorción atómica de llama (FAAS) y microscopía de barrido electrónico (SEM) Disertación. vol. 151 10–17 Preprint at <https://doi.org/10.1145/3132847.3132886> (2015).
21. Márquez, R. O. & Cortez, B. A. “PRODUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA MEDIANTE SÍNTESIS VERDE USANDO EXTRACTO DE SEMILLAS DE APIO (*APIUM GRAVEOLENS*) Y EXPLORAR SU ACTIVIDAD LARVICIDA EN MOSQUITOS”. (UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL, 2019).
22. Gallo, J. & Ossa, C. Fabricación y caracterización de nanopartículas de plata con potencial uso en el tratamiento del cáncer de piel. *Grupo de Investigación en Biomateriales Avanzados y Medicina Regenerativa* vol. 37 92 (2019).
23. Moreno, M., Guashpa, Y. & Ochoa, J. Caracterización microbiológica de muestras de aguas servidas pre filtradas de la comunidad de San Vicente de las de la provincia de Chimborazo (Microbiological characterization of pre-filtered served water samples from San Vicente de las de las community in. *Polo del conocimiento* 6, 112–130 (2021).
24. Echeverry, J., Naranjo, A. & Araque, P. Nanopartículas de plata funcionalizadas in situ con D-limoneno: efecto en la actividad antibacteriana Silver nanoparticles functionalized in situ with D-Limonene : effect on antibacterial activity Nanopartículas de plata funcionalizadas in situ com D-Lim. *Revista ION* 1, 79–92 (2020).

Síntesis verde de nanopartículas de plata como agente bactericida para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico

25. Melkamu, W. & Bitew, L. Green synthesis of silver nanoparticles using *Hagenia abyssinica* (Bruce) J . F . Gmel plant leaf extract and their antibacterial and anti-oxidant activities. *Heliyon* 7, e08459 (2021).
26. Vishwanath, R. & Negi, B. Conventional and green methods of synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial properties. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry* 4, 100205 (2021).
27. Sukweenadhi, J. et al. Scale-up of green synthesis and characterization of silver nanoparticles using ethanol extract of *Plantago major* L. leaf and its antibacterial potential. *South African Journal of Chemical Engineering* 38, 1–8 (2021).

©2022 por los autores. Este artículo es de acceso abierto y distribuido según los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).