



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA



## Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño

**“Síntesis de Nanopartículas de plata AgNPs como potencial agente antibacteriano y antioxidante”**

### TESIS

PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS  
PARA OBTENER EL GRADO DE

**Ingeniera en Nanotecnología**

#### **Presenta:**

Josselin Sugeiry Felix Campos

#### **Director:**

Dr. Jorge Octavio Mata Ramírez

#### **Codirectora:**

Dra. Haydeé López Rodríguez

Ensenada Baja California, mayo de 2024



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE INGENIERIA, ARQUITECTURA Y DISEÑO



**"Síntesis de Nanopartículas de plata AgNPs como potencial agente  
antibacteriano y antioxidante"**

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**Ingeniero en Nanotecnología**

PRESENTA

**Josselin Sugeiry Felix Campos**  
**361536**

A quien el Comité de Tesis autoriza el trabajo terminal, después de haber efectuado una  
revisión minuciosa del mismo y de acuerdo con el Art. 19 del R.G.E.P.E.P, las y los  
señores profesores emiten los siguientes votos aprobatorios mediante rubrica:

Dr. Jorge Octavio Mata  
Ramírez  
**DIRECTOR**

Dra. Haydee López  
Rodríguez  
**CODIRECTOR**

Dr. Hugo Alejandro Borbón  
Núñez  
**SINODAL**

Dra. Anny Berenisse  
Sánchez Garayzar  
**SINODAL**

Dr. Guillermo Amaya Parra  
**SINODAL**

**"Por la Realización Plena del Ser"**

## RESUMEN

En este trabajo se exploró el potencial agente terapéutico de las nanopartículas de plata (AgNPs) en el contexto antibacteriano y antioxidante, la síntesis de AgNPs mediante el método de Turkevich se logró con éxito. Las nanopartículas se caracterizaron mediante técnicas de dispersión de luz dinámica DLS, espectroscopia UV-Vis, microscopía electrónica de transmisión TEM y potencial Z, lo que permitió conocer que se obtuvo partículas con un tamaño nanométrico, estables coloidalmente y de forma esférica.

Además, se evaluó la capacidad antioxidante de las AgNPs empleando el radical libre DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil). Mostrando que las nanopartículas a concentraciones de 50, 100 y 200 µg/ml exhibieron porcentajes de inhibición contra los radicales que variaron en función del tiempo de reacción, destacando una mayor capacidad antioxidante a mayor tiempo de reacción.

En cuanto a las propiedades antibacterianas, se encontró que las AgNPs sintetizadas no mostraron actividad inhibitoria en el método de difusión de disco tras 48 horas de incubación; esto sugiere que las nanopartículas sintetizadas no presentan actividad antibacteriana en las condiciones evaluadas.

### Palabras clave

*AgNPs, Turkevich, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), actividad antibacteriana.*

## **ABSTRACT**

In this study, the therapeutic potential of silver nanoparticles (AgNPs) in antibacterial and antioxidant contexts was explored. The synthesis of AgNPs using the Turkevich method was successfully achieved. The nanoparticles were characterized using dynamic light scattering (DLS), UV-Vis spectroscopy, transmission electron microscopy (TEM), and Zeta potential analysis, which revealed the production of nanoscale particles that were colloiddally stable and spherical in shape.

Furthermore, the antioxidant capacity of the AgNPs was evaluated by employing the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay. It was observed that the nanoparticles at concentrations of 50, 100, and 200 µg/ml exhibited varying percentages of inhibition against the radicals, with greater antioxidant capacity observed at longer reaction times.

Regarding their antibacterial properties, it was found that the synthesized AgNPs did not demonstrate inhibitory activity in the disk diffusion method after 48 hours of incubation. This suggests that the synthesized nanoparticles do not possess antibacterial activity under the evaluated conditions.

## **Keywords**

*AgNPs, Turkevich, antibacterial activity, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).*

## **DEDICATORIA**

A mis padres, por su apoyo incondicional, sabiduría y amor, que han sido mi guía en cada paso de mi vida.

A mi hermana, quien desde niña sembró en mi la semilla del conocimiento y la superación, cada experiencia juntas fue un regalo que moldeó mi camino académico.

A mi hermano, cuya curiosidad e ingenio despertó mi pasión por la ingeniería. Su influencia ha sido fundamental en mi elección y desarrollo profesional.

A mi pareja, por su constante apoyo, comprensión y templanza en cada desafío, su presencia ha sido una gran fortaleza.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la FIAD-UABC, mi alma máter, por la aportación al desarrollo de mi formación profesional, sus recursos y conocimientos impartidos por los grandes académicos que la conforman.

A mi directora, profesora y mentora, la Dra. Haydee López Rodríguez; por su apoyo a lo largo de la carrera, por las clases impartidas que siempre fueron de las mejores y más desafiantes y por supuesto por su apoyo a lo largo de la realización de este proyecto, por su confianza, tiempo y dedicación.

A mi director, profesor, mentor y amigo, el Dr. Jorge Octavio Mata Ramírez; por su apoyo a lo largo de la carrera, por siempre compartir su conocimiento en las clases y fuera de ellas, gracias por el apoyo a lo largo del desarrollo de esta investigación, por sus ideas, tiempo, confianza y todos los consejos.

A cada uno de los integrantes del comité evaluador, el Dr. Hugo Alejandro Borbón Núñez, la Dra. Anny Berenisse Sánchez Garayzar y el Dr. Guillermo Amaya Parra por su tiempo, disposición y consejos.

A todos los académicos que me impartieron clases, gracias por desafiarme cada día para aprender y mejorar no solo en el conocimiento de la carrera, si no también a crecer como persona; especialmente al Dr. Ulises Jesús Tamayo Pérez, el Dr. Guillermo Amaya Parra, el Dr. Hugo Alejandro Borbón Núñez y el Dr. Oscar González Davis, por motivarme y aconsejarme en este proyecto.

A Andrea y Renee, mis compañeras de laboratorio, gracias por apoyarme en el desarrollo de esta tesis.

A Dios por permitirme llegar a la finalización de este trabajo, por acompañarme y guiarme en el camino.

A mi padre por siempre mostrarme con su ejemplo que el trabajo con dedicación y esfuerzo siempre lleva al éxito, gracias por con tanto cariño trabajar día con día para que cada uno de tus hijos saliéramos adelante, eres mi motivación para ser grande.

A mi madre por siempre enseñarme que todo sale adelante con una buena actitud, gracias por todo el amor en cada abrazo que me brindabas cada que me veías cansada a lo largo de mi carrera profesional, gracias por inspirarme a ser feliz, ante todo, me motivas diario con tu trabajo y esfuerzo a ser mejor.

A mis hermanos por apoyarme en cada uno de mis pasos desde que tengo memoria, gracias por inspirarme a seguir creciendo y llegar a ser un poquito de lo grandes que son ustedes.

A mi pareja, compañero y colega ingeniero, Sergio Martínez, gracias por siempre acompañarme, por tu paciencia inquebrantable y tu amor incondicional durante todo este proceso, gracias por creer en mí y apoyarme a superar cada obstáculo con determinación y confianza.

A mis mejores amigos, Danna, Luis Omar, Mayela, Melany y Nayeli por su constante apoyo, aliento y comprensión, su presencia en mi vida y en lo académico ha sido una fuente inagotable de alegría y motivación en los momentos más desafiantes.

A mí misma, gracias por mi constante esfuerzo, que a través de perseverancia y determinación he aprendido y crecido, reconozco el valor de mi propio trabajo y pasión que puse en cada paso de esta investigación.

***“Por la realización plena del ser”***

# CONTENIDO

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| I. INTRODUCCIÓN.....                                                               | 1  |
| I.I Nanotecnología y Nanomateriales .....                                          | 1  |
| I.II Nanopartículas de plata (AgNPs) .....                                         | 2  |
| I.III Métodos de síntesis de nanopartículas de plata.....                          | 4  |
| I.IV Técnicas de caracterización de las AgNPs .....                                | 5  |
| I.IV.1 Microscopía electrónica de transmisión (TEM) .....                          | 5  |
| I.IV.2 Dispersión de luz dinámica DLS .....                                        | 6  |
| I.IV.3 Potencial Z .....                                                           | 6  |
| I.IV.4 Espectroscopía UV-Vis .....                                                 | 6  |
| I.V Aplicaciones de las nanopartículas de plata .....                              | 7  |
| I.V.1 AgNPs: aplicación antioxidante.....                                          | 7  |
| I.V.2 AgNPs: aplicación antibacteriana.....                                        | 8  |
| II. ANTECEDENTES .....                                                             | 11 |
| II.I AgNPs con actividad antioxidante .....                                        | 11 |
| II.II AgNPs con actividad antimicrobiana.....                                      | 12 |
| III. JUSTIFICACIÓN .....                                                           | 14 |
| III.I Planteamiento del problema .....                                             | 14 |
| III.II Justificación .....                                                         | 14 |
| IV. HIPÓTESIS.....                                                                 | 17 |
| V. OBJETIVOS .....                                                                 | 17 |
| V.I Objetivo general .....                                                         | 17 |
| V.II Objetivos específicos.....                                                    | 17 |
| VI. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....                                                  | 18 |
| VI.I. Síntesis de AgNPs .....                                                      | 18 |
| VI.II. Caracterización de AgNPs .....                                              | 19 |
| VI.III. Ensayo de actividad antioxidante: DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)..... | 19 |
| VI.IV. Ensayo de actividad antibacteriana: Difusión por disco .....                | 20 |
| VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....                                                   | 21 |
| VII.I. Caracterización de nanopartículas de plata AgNPs .....                      | 21 |
| VII.II. Ensayo de actividad antioxidante: DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)..... | 28 |



|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| VII.III. Ensayo de actividad antibacteriana: Difusión por disco ..... | 32 |
| VIII.CONCLUSIONES.....                                                | 34 |
| IX. REFERENCIAS .....                                                 | 35 |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> <i>Copa de Lycurgus siglo IV, compuesta de bronce y vidrio que contiene nanopartículas de plata y oro. Vista con a) luz transmitida b) luz reflejada (Wing, C., 2006).</i> .....                                                                                                                                                                                                     | 3  |
| <b>Figura 2.</b> Proceso de evolución vertical y horizontal en bacterias (Lirola, L. et al, 2022). .....                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 9  |
| <b>Figura 3.</b> Ilustración del procedimiento implicado en la ejecución del método Turkevich utilizado en la síntesis de nanopartículas de plata AgNPs. ....                                                                                                                                                                                                                                         | 18 |
| <b>Figura 4.</b> Cambio de color de incoloro a amarillo tenue que denota la formación de nanopartículas de plata AgNPs. ....                                                                                                                                                                                                                                                                          | 18 |
| <b>Figura 5.</b> Solución de nanopartículas de plata AgNPs tras ser sintetizadas, estas manifiestan un color amarillo tenue atribuido a la formación de estas. ....                                                                                                                                                                                                                                   | 21 |
| <b>Figura 6.</b> Espectro de absorción UV-Vis de nanopartículas de plata AgNPs obtenidas mediante el método Turkevich. ....                                                                                                                                                                                                                                                                           | 22 |
| <b>Figura 7.</b> Imágenes de las AgNPs sintetizadas con el método de Turkevich a través de un microscopio electrónico de transmisión TEM a diferentes aumentos a) AgNPs aumento 120kx, b) AgNPs aumento 100kx, c) AgNPs aumento 100kx, d) AgNPs aumento 100kx.....                                                                                                                                    | 23 |
| <b>Figura 8.</b> Imágenes de las AgNPs sintetizadas con el método de Turkevich a través de un microscopio electrónico de transmisión TEM a diferentes aumentos a) AgNPs aumento 100kx, b) AgNPs aumento 40kx, c) AgNPs aumento 70kx, d) AgNPs aumento 40kx.....                                                                                                                                       | 24 |
| <b>Figura 9.</b> Espectro de dispersión de luz dinámica DLS de nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método Turkevich; Tamaño por intensidad, en donde el eje X representa el tamaño de las nanopartículas y el eje Y representa la intensidad de la luz dispersada.....                                                                                                                  | 25 |
| <b>Figura 10.</b> Espectro de dispersión de luz dinámica DLS de nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método Turkevich; Tamaño promedio por intensidad. Se muestra un pico agudo en el valor ~200 nm lo cual indica que es el tamaño predominante de las nanopartículas analizadas, los picos secundarios en ~50 y ~800 nm sugieren la presencia de subpoblaciones de otros tamaños. .... | 25 |
| <b>Figura 11.</b> Espectro de dispersión de luz dinámica DLS de nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método Turkevich; Tamaño por número. En donde el eje X representa el tamaño de las nanopartículas y el eje Y representa el número de partículas que tienen un tamaño específico en la muestra. ....                                                                                 | 26 |
| <b>Figura 12.</b> Espectro de dispersión de luz dinámica DLS de nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método Turkevich; Tamaño promedio por número. Se muestra un pico agudo en ~50 nm, sugiriendo que el tamaño promedio de las nanopartículas se encuentra en ese valor mayormente.....                                                                                                 | 26 |
| <b>Figura 13.</b> Espectro de dispersión de luz dinámica DLS de nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método Turkevich; Tamaño por volumen. En donde el eje X                                                                                                                                                                                                                             |    |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| representa el tamaño de las nanopartículas y el eje Y representa el volumen relativo de partículas que tienen un tamaño específico en la muestra. ....                                                                                                                                                                                                                                                                      | 27 |
| <b>Figura 14.</b> Espectro de dispersión de luz dinámica DLS de nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método Turkevich; Tamaño promedio por volumen. El pico máximo en el valor de 50 nm sugiere que es el tamaño más común en la muestra, mientras que los picos secundarios de forma ancha proponen que en menor volumen existen subpoblaciones de nanopartículas con una distribución de tamaño variada. ... | 27 |
| <b>Figura 15.</b> Análisis potencial zeta (ZP) para nanopartículas de plata AgNPs.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 28 |
| <b>Figura 16.</b> Análisis potencial zeta (ZP) promedio para nanopartículas de plata AgNPs. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 28 |
| <b>Figura 17.</b> Actividad de inhibición en la eliminación de radicales libres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) en porcentaje frente a diferentes tratamientos de nanopartículas de plata AgNPs. ....                                                                                                                                                                                                                   | 31 |
| <b>Figura 18.</b> Cambio de color en los tratamientos de nanopartículas de plata sintetizadas por el método Turkevich frente al radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). tratamientos en diferentes concentraciones, a) 50 µg/ml, b) 100 µg/ml, c) 200 µg/ml. .                                                                                                                                                   | 32 |
| <b>Figura 19.</b> Actividad antibacteriana de las nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por Turkevich evaluada por el método de difusión de disco frente a <i>E. coli</i> .....                                                                                                                                                                                                                                        | 33 |

## INDICE DE TABLAS

|                                                                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla I.</b> Desglose de % de inhibición en tratamientos de nanopartículas de plata con DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) a diferentes 50, 100 y 200 µg/ml, en lapsos de tiempo de 1, 2 y 48 horas..... | 29 |
| <b>Tabla II.</b> Resultados análisis estadísticos ANOVA para el ensayo de eliminación de radical DPPH con AgNPs sintetizadas por Turkevich con respecto a las concentraciones 50, 100 y 200 µg/ml.....       | 30 |
| <b>Tabla III.</b> Resultados análisis estadísticos ANOVA para el ensayo de eliminación de radical DPPH con AgNPs sintetizadas por Turkevich con respecto al tiempo de reacción 1, 2 y 48 horas. ....         | 31 |

# **I. INTRODUCCIÓN**

A lo largo de este apartado se abordarán los principios básicos y fundamentales para la realización del presente trabajo de investigación. Se explorarán conceptos clave como nanotecnología, nanomateriales, nanopartículas de plata (AgNPs), métodos de síntesis y caracterización, así como la resistencia bacteriana y estrés oxidativo.

## **I.I Nanotecnología y Nanomateriales**

Aunque la nanotecnología ha sido empleada desde tiempos ancestrales, el término nanociencia no fue estudiado ni fue motivo de interés hasta 1959, tras una charla visionaria impartida por Richard Feynman. En la cual el destacó “Los principios de la física, hasta donde puedo ver, no se oponen a la posibilidad de manipular átomos individuales”. Por su parte, el término nanotecnología fue introducido hasta 1974 por Norio Taniguchi (Schaming, D., & Remita, H., 2015).

Los nanomateriales son reconocidos como materiales cuyas dimensiones se encuentran normalmente en un rango de 1 a 100 nanómetros, estos representan un tipo de materiales que exhiben propiedades únicas y excepcionales en comparación con sus contrapartes.

Estas magnificas propiedades observadas en los nanomateriales se atribuyen en gran medida al efecto cuántico de tamaño, el cual surge cuando el material se reduce en dimensiones nanométricas, induciendo un confinamiento cuántico que altera significativamente sus propiedades electrónicas. Entre los cambios destacables se incluyen la modificación de la densidad de estados electrónicos, la aparición de bandas de energía discretas y la alteración de los límites entre las bandas de conducción y valencia. El efecto cuántico de tamaño implica que los electrones y otros portadores de carga en el material están restringidos espacialmente, lo que resulta en un comportamiento electrónico y óptico característico a escala nanométrica (Husain, M., & Khan, Z., 2016).

Estos materiales se pueden clasificar de diferentes formas, en donde una de las más comunes es según el número de dimensiones que no estén confinadas a la escala nano.

- 0D: En el caso de estos nanomateriales todas sus dimensiones tienen lugar en la escala nano, como los átomos, un ejemplo de ellos son los puntos cuánticos, los cuales no son átomos, pero pueden llegar a ser considerados un átomo artificial por el hecho de que ninguna de sus dimensiones se sale de lo nanométrico (Roduner, E., 2006).
- 2D: Tienen una estructura en la que la longitud es larga mientras que la anchura y largo se encuentra confinada en la nanoescala, ejemplo de ellos son los nano cables, nanotubos y nano rodillos (Baig, N., 2023).
- 1D: Los materiales considerados 1D tienen restringida solo una dimensión en el área nano, lo que resulta en un pozo cuántico o plano. En estos casos la longitud y ancho pueden tener mayor tamaño, mientras que la altura no, esta tiene el tamaño aproximado al radio de excitón de Bohr (Garnett, E., *et al.*, 2019).

## **I.II Nanopartículas de plata (AgNPs)**

Una constante a lo largo de la vida humana ha sido la plata, tanto su presencia como su aplicación, esta ha abarcado una amplia gama de sectores en los cuales se ha aplicado. Uno de los aspectos más significativos de su uso fue su empleo como agente desinfectante, esto con propósito higiénico y médico, siendo esta una práctica que se remonta a la antigüedad. Inclusive Hipócrates describió el uso de la plata en polvo en la curación de heridas, destacando su eficacia. A pesar de ser una práctica lo bastante común, esta perdió relevancia cuando los antibióticos llegaron, haciendo el uso de estos algo más habitual. (Oroz, M., 2009).

No obstante, los vestigios de la humanidad utilizando la plata a escala nanométrica, también marcan los primeros indicios del empleo de nanomateriales; un ejemplo notable es la copa de *Lycurgus* (fig. 1), la cual posee un vidrio capaz de dispersar luz verde y transmitir luz roja, esto debido a que se compone de una aleación de metales a escala nanométrica (Drozдов, A., *et al.*, 2021).



**Figura 1.** Copa de Lycurgus siglo IV, compuesta de bronce y vidrio que contiene nanopartículas de plata y oro. Vista con a) luz transmitida b) luz reflejada (Wing, C., 2006).

Las nanopartículas de plata (AgNPs) han sido objeto de una investigación exhaustiva y continua a lo largo de los años, esto debido a su versatilidad, éstas ha generado un mayor interés en virtud a sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Entre estas características notables se incluyen una capacidad antibacteriana, alta conductividad eléctrica y térmica, dispersión de Raman en superficie, estabilidad química, actividad catalítica y comportamiento óptico no lineal. Es gracias a esta combinación de propiedades destacables es que las nanopartículas de plata se encuentran en una gran gama de procesos de fabricación y productos finales (Tran, Q., et al., 2013).

El amplio y variado espectro de posibles aplicaciones, se debe a la variación de sus propiedades dependiendo de su tamaño, forma, composición, carga superficial y aglomeración, de igual forma estas son de suma importancia para determinar las interacciones biológicas, así como el impacto toxico que estas puedan tener en el ser humano; siendo las AgNPs de un tamaño menor a los 10nm siendo las más altas en toxicidad debido a la liberación de iones de plata (Wei, L., et al., 2015). Esto subraya la importancia de mantener un control preciso en los métodos de obtención de este nanomaterial.

Para la obtención de nanopartículas de plata, se identifican tres vías distintas para su síntesis, métodos físicos, químicos y verdes. La elección del método más adecuado para la síntesis dependerá de las características deseadas, como la forma, el tamaño y las propiedades particulares que se esperan obtener de las nanopartículas.

### **I.III Métodos de síntesis de nanopartículas de plata**

Existen distintos métodos para la síntesis de nanopartículas de plata, los cuales se dividen en métodos físicos, métodos verdes y métodos químicos. Dentro de los métodos físicos tenemos la técnica de ablación laser, la cual se distingue por permitir obtener cantidades significativas de AgNPs con una alta pureza notable, Sin embargo, a este método de síntesis se le asocia una complicación, la cual indica que las nanopartículas sintetizadas tienden a aglomerarse, es decir, a agruparse o unirse entre sí, lo que puede llevar a afectar tanto sus propiedades como sus potenciales aplicaciones (Lee *et al.*, 2019).

Los métodos de química verde para la síntesis de AgNPs han sido explorados debido a que presentan características beneficios ambientales. Los estudios de síntesis verde para la elaboración de nanopartículas de plata mediante el uso de plantas han recibido una atención considerable, esto motivado por el eficiente proceso de biosíntesis que ofrece esta metodología. En este proceso, los metabolitos presentes en las plantas, como compuestos fenólicos, polifenoles, enzimas, alcaloides, terpenoides, saponinas, taninos, proteínas, entre otros, actúan como agentes reductores y estabilizadores durante el proceso de síntesis de AgNPs, facilitando la producción de nanopartículas estables y reduciendo la formación de aglomerados (Vadakkan *et al.*, 2024). Sin embargo, estos procesos deben de ser estandarizados para cada especie que se utiliza. A pesar de la innovación de estos métodos, los métodos químicos mantienen una posición dominante en la síntesis de AgNPs. Los métodos químicos para llevar a cabo nanopartículas de plata parten principalmente de un precursor metálico, un agente reductor, agentes estabilizadores y un disolvente, normalmente las síntesis químicas se llevan mediante cuatro reacciones químicas, una de ellas es mediante el empleo de citrato, conocido como método Turkevich, aunque este fue uno de los primeros que se plantearon para la síntesis de AgNPs se sigue utilizando día a día debido a que es rentable y no requiere de muchas manipulaciones (Pryshchepa, O., *et al.*, 2020). El método de síntesis Turkevich viene a partir del método coloidal, es decir, la preparación de partículas individuales capaces de exhibir movimiento browniano no fue hasta principios de los años cincuenta que fue Turkevich quien reportó el primer método



estandarizado y reproducible para llevar a cabo coloides. Este método implica la reducción química de sales metálicas, por lo cual consiste en disolver una sal del precursor metálico o del óxido a preparar, esto para proporcionar los iones metálicos necesarios para la formación de las nanopartículas; con un reductor el cual es uno de los más cruciales debido a que este se encarga de reducir los iones metálicos a su forma metálica, iniciando así el proceso de formación y finalmente un agente estabilizante, el cual se encarga de evitar la agregación, ayudando a controlar la forma y el tamaño de las nanopartículas, siendo este muchas veces el mismo que el agente reductor. La formación de AgNPs es corroborada por un cambio de color de incoloro a amarillo tenue (Zanella, R., 2012).

## **I.IV Técnicas de caracterización de las AgNPs**

### **I.IV.1 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)**

Después de la síntesis de AgNPs es necesario caracterizar sus propiedades físicas y químicas. Para esto se emplean distintas técnicas, una de ellas es la microscopía electrónica de transmisión TEM. En esta técnica se emplean haces de electrones dirigidos hacia la muestra con la finalidad de obtener imágenes de alta resolución de muestras a niveles micro y nanoestructuradas, esta técnica destaca por su capacidad para alcanzar una resolución excepcionalmente elevada, dando la posibilidad de observar estructuras de forma detallada dando así información morfológica (Grimley, E., *et al.*, 2019). Esta resolución se debe a que se emite un haz de electrones acelerados mediante un campo eléctrico, haciendo que estos sean impulsados a velocidades cercanas a las de la luz, estos electrones se alinean para que viajen en paralelo para después atravesar una muestra delgada, interactuando con los átomos de la muestra, generando dispersión, absorción y difracción; después de esto los electrones se enfocan mediante un conjunto de lentes magnéticas hacia un plano de observación, los electrones dispersados son recogidos por un detector de electrones, convirtiéndolos en una imagen electrónica amplificada (Egerton, R., 2005).

### **I.IV.2 Dispersión de luz dinámica DLS**

La dispersión de luz dinámica o por sus siglas DLS es una técnica óptica que se emplea para medir el tamaño de partículas en suspensión, esto mediante una fuente de luz que se dirige hacia la muestra, dispersándose en todas las direcciones. Cuando se separa una dirección, los haces de luz dispersados por diferentes partículas se entrecruzan, produciendo una intensidad de dispersión específica. Debido al movimiento browniano, las posiciones relativas de las partículas están en constante cambio, lo que afecta tanto a las condiciones de interferencia como a la intensidad de dispersión en sí misma. Si las partículas se desplazan rápidamente (siendo pequeñas), la variación en la intensidad de dispersión se acelera. Por el contrario, las partículas que se mueven lentamente (siendo grandes) generan variaciones más pausadas, es decir, esta es una técnica que se basa en el análisis de la dispersión de la luz para inferir tamaños (Cuadros, A., *et al.*, 2014).

### **I.IV.3 Potencial Z**

El potencial z (ZP) es una técnica en la cual se refleja la diferencia de potencial entre la doble capa eléctrica (EDL) de las partículas móviles por electroforesis y la capa de dispersante que las rodea en el plano de deslizamiento. Este se emplea para evaluar la estabilidad coloidal de las nanopartículas ya que nos brinda información sobre la carga superficial efectiva de las partículas coloidales, lo cual lo convierte en una herramienta valiosa para conocer y comprender las propiedades de las partículas coloidales y suspensiones. Uno de los usos más comunes de esta técnica es para conocer la estabilidad coloidal en soluciones, donde dispersiones con valores de ZP de  $\pm 0-10$  mV,  $\pm 10-20$  mV y  $\pm 20-30$  mV y  $> \pm 30$  mV como altamente inestables, relativamente estables, moderadamente estables y altamente estables (Bhattacharjee, S., 2016).

### **I.IV.4 Espectroscopía UV-Vis**

La espectroscopía UV-visible es una técnica analítica rápida, la cual se basa en la medición de absorbancia o transmitancia de la luz. Los espectrofotómetros UV-Vis dirigen una fuente de luz ultravioleta hacia la muestra, en donde un detector se encargará

de registrar la luz que transmite la misma. Esta técnica es crucial para comprender las propiedades ópticas de las nanopartículas. El fundamento teórico de esta espectroscopia se fundamenta en las transiciones electrónicas de moléculas orgánicas que absorben luz, con esto provocando que los electrones se exciten desde un orbital con una menor energía llamado HOMO, hacia un orbital desocupado de mayor energía, llamado LUMO. En donde la energía de la longitud de onda absorbida debe tener coincidencia con la diferencia de energía HOMO-LUMO (Rocha, F., *et al.*, 2018).

## **I.V Aplicaciones de las nanopartículas de plata**

Las AgNPs son uno de los nanomateriales más atractivos para aplicaciones comerciales, esto debido a sus aplicaciones variadas que van desde la actividad antibacteriana, su actividad antioxidante, hasta la impresión por inyección de tinta para producir circuitos electrónicos flexibles a bajo costo (Natsuki, J., *et al.*, 2015); sin embargo, este estudio se centrará en sus aplicaciones antioxidantes y antibacterianas.

### **I.V.1 AgNPs: aplicación antioxidante**

Las nanopartículas de plata muestran su potencial antioxidante al neutralizar los radicales libres y reduciendo el daño oxidativo en las células (Bustos, P.S. 2017). Un radical libre (RL) es una especie química que contiene uno o más electrones que realizan el recorrido orbital de manera impar, es decir que poseen un electrón desapareado en el orbital externo, lo que lo convierte en una especie química totalmente inestable y muy reactiva, a pesar de tener una vida muy efímera, el daño que realizan en cuestión de momentos es sumamente alto (Rodríguez, J., *et al.*, 2001). La formación de RL inicia cuando el oxígeno molecular se reduce, generando la producción del anión superóxido  $O_2^-$ , mismo que se convierte en el peróxido de hidrógeno  $H_2O_2$ , para posteriormente convertirse en el radical hidroxilo  $OH^\cdot$ , las principales fuentes de especies reactivas del oxígeno (ERO) se pueden encontrar en los componentes celulares como la cadena de transporte de electrones. (Martínez, J., *et al.*, 2010).

Es importante neutralizar a los radicales libres debido a que al existir una acumulación excesiva generan estrés oxidativo (EO), este se define como un estado bioquímico en el

cual existe un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO), así como en las especies reactivas del nitrógeno y en los mecanismos de defensa antioxidantes (Viñas, G., & Porta, R., 2012).

El EO es relacionado a distintas patologías, tales como el envejecimiento, este es principalmente causado por el estrés oxidativo, debido a que genera una disminución en la cantidad de telómeros, esto debido a que son altamente sensibles y difícilmente se recuperan a diferencia de otras partes del cromosoma, realizando que se acelere el proceso de envejecimiento junto con otros padecimientos que se relacionan con la edad (Luo, J., *et al.*, 2020).

La actividad antioxidante de las nanopartículas de plata se puede evaluar por medio de un ensayo de eliminación y neutralización de radicales libres, tal como lo es el DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), este es reconocido como uno de los métodos colorimétricos estándar y simples para poder evaluar las propiedades antioxidantes de algunos compuestos puros. El fundamento teórico de este ensayo se basa en que el 2,2-difenil-1-picrilhidrazil al recibir un átomo de hidrogeno de la molécula captadora o la antioxidante llega a reducirse a DPPH2, lo que ocasiona un cambio de color de purpura a amarillo y de igual manera una disminución de absorbancia a 515 nm; la evaluación de esta propiedad tiene una alta importancia debido a sus posibles aplicaciones tanto en el campo médico, cosmético y alimenticio (Mishra, *et al.*, 2012). Para analizar los resultados obtenidos se requiere del empleo de la formula del porcentaje de inhibición.

$$\%Inhibición = \left( \frac{Abs_0 - Abs_f}{Abs_0} \right) 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

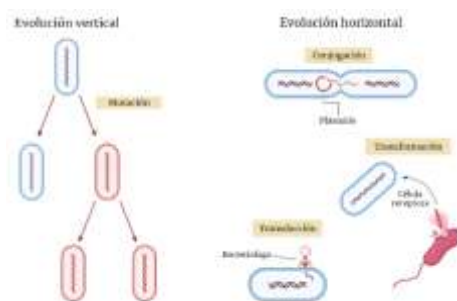
En donde:  $Abs_0$  = Absorbancia inicial del DPPH a 517 nm,  $Abs_f$  = Absorbancia final de la concentración final de DPPH a 517 nm (Burboa, E., *et al.*, 2014).

### **I.V.2 AgNPs: aplicación antibacteriana**

Las nanopartículas de plata han estado en exhaustiva investigación para su potencial aplicación como agentes antibacterianos. Esto debido a que se ha demostrado a lo largo de numerosos estudios que estas exhiben actividad antibacteriana frente a una variedad de bacterias, siendo esta actividad altamente dependiente de diversos factores como lo son la temperatura, pH, tipo de bacteria, tamaño y concentraciones. Se destaca que las

nanopartículas de plata de menor tamaño tienden a poseer una mayor actividad antibacteriana, lo que subraya la importancia de su tamaño en esta capacidad. (Rajeshkumar, S., & Bharath, L., 2017)

Esta potencial aplicación representa el foco de atención en respuesta a la problemática de la resistencia bacteriana. La resistencia bacteriana a los antibióticos, comúnmente conocida como RBA es un fenómeno biológico que se refiere a la capacidad que una bacteria posee para resistir pese de estar bajo concentraciones de antibióticos con actividades inhibitorias o bactericidas de su especie, esta sea capaz de sobrevivir (Valerga, D. & Trombetta, L., 2022). Existen dos tipos de resistencia bacteriana, la innata y la adquirida, la resistencia innata o también llamada natural se refiere a la capacidad genética inherente de algunas bacterias para ser resistente a los antibióticos, sin necesidad de exposición con estos mismos. Esta peculiaridad puede deberse a algún factor presente en la bacteria como lo es su composición (Acosta, R. & Vargas, C., 2018). Mientras que la RBA adquirida puede manifestarse a través de dos mecanismos principales, la evolución vertical y horizontal. La evolución vertical se genera cuando las bacterias experimentan mutaciones genéticas, ya sean puntuales como estructurales, mismas que les confieren resistencia a los antibióticos, estas mutaciones pueden ocurrir de forma natural y aleatoria. La evolución horizontal ocurre cuando una bacteria adquiere nuevo material genético de otros microorganismos ya resistentes (fig. 2) (Lirola, L. *et al.*, 2022), esto puede ocurrir de 3 diferentes formas, conjugación (transferencia de material genético directamente entre bacterias), transformación (las bacterias captan ADN de su entorno y mediante la recombinación homóloga lo incorporan a su sistema) y transducción (incorporación de fragmentos de ADN por medio de bacteriófagos). (Martínez, L., & Calvo, J., 2010).



**Figura 2.** Proceso de evolución vertical y horizontal en bacterias (Lirola, L. *et al.*, 2022).

A pesar de conocer que la RBA es parte del proceso de adaptación biológica de las bacterias, se conoce que existen ciertos factores que pueden contribuir a que esta incremente de manera exorbitante como se ha visto a lo largo de los años, situaciones como la automedicación, el tratamiento de aguas residuales ineficiente, el uso inadecuado en la alimentación y sanidad animal y la producción agroalimentaria, son puntos clave para el aumento de la resistencia bacteriana (Valerga, D. & Trombetta, L., 2022).

La actividad antibacteriana de las nanopartículas de plata puede ser evaluada por medio del método de difusión de disco, el cual mide la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano y los resultados se expresan en zonas de inhibición. Este ensayo requiere de una solución preparada de la bacteria específica a estudiar, así como de la solución a probar como agente antimicrobiano, teniendo dichas soluciones listas con sus concentraciones conocidas se procede a agregar la bacteria a un agar nutritivo mediante la técnica de frotis tridimensional, siguiendo de cuatro discos de papel previamente impregnados con la solución de prueba en una placa de ensayo y estas placas se incuban a 37°C durante 24 horas (Ngamsurach, P., *et al.*, 2022).

## II. ANTECEDENTES

### II.I AgNPs con actividad antioxidante

En el trabajo titulado “*Biosynthesis, in-vitro antioxidant and cytotoxic potential of silver nanoparticles of Abutilon hirtum (Lamp) Sweet*”, elaborado por Arul, B., *et al.*, se analizaron las propiedades antioxidantes y citotóxicas de las nanopartículas de plata previamente sintetizadas por una biosíntesis basada en la química verde a partir de la planta *Abutilon hirtum (Lamp) Sweet*, estas fueron caracterizadas por espectroscopia FTIR-ATR, microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopia de energía dispersiva (EDAX) y microscopía de transmisión de alta resolución (HR-TEM), dando como resultado que las nanopartículas de plata exhibieron una forma esférica con un diámetro que oscila entre 15 a 30 nanómetros.

Las propiedades antioxidantes se evaluaron por medio del ensayo DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil), evidenciando un valor IC<sub>50</sub> para DPPH de  $29.14 \pm 4.28 \mu\text{g}$ , demostrando una eficacia considerablemente alta (Arul, B., *et al.*, 2023).

Krishnamoorthy, K., *et al.*, en 2023 analizó un nuevo método de síntesis verde para nanopartículas de plata que fuese respetuoso con el medio ambiente, por ello como agente estabilizante utilizó hojas de la planta *Argyreia nervosa*, esto para analizar y evaluar propiedades antibacterianas, antiinflamatorias, antioxidantes y antidiabéticas. En la metodología de esta síntesis verde se realizó el extracto y a partir de este se llevó a cabo las nanopartículas de plata añadiendo nitrato de plata AgNO<sub>3</sub>; para analizar las AgNPs aisladas, se emplearon diferentes técnicas como la espectroscopia UV, difracción de rayos X (XRD), microscopía electrónica de barrido (SEM), Dispersión de energía de rayos X (EDX), espectroscopia FTIR y medición del potencial Z, dando como resultado que las nanopartículas de plata sintetizadas efectivamente corresponden químicamente a la plata, con una morfología esférica con un tamaño de entre 1 a 10 nanómetros. La actividad antioxidante fue evaluada con el ensayo DPPH en concentraciones de 100, 200, 300, 400 y 500  $\mu\text{g/ml}$  obteniendo un porcentaje de inhibición de 55.33%, 62.81%, 69.8%, 78.33% y 85.43% respectivamente, demostrando una alta capacidad antioxidante, colocando a la síntesis verde por medio de la planta *Argyreia nervosa* como

un protocolo viable para fines de exploración de las nanopartículas de plata como un fármaco viable (Krishnamoorthy, K., et al, 2023).

En el estudio titulado “*Green synthesis of silver nanoparticles using Solanum sisymbriifolium leaf extract: Characterization and evaluation of antioxidant, antibacterial and photocatalytic degradation activities*” se evaluaron las propiedades antioxidantes, antibacterianas y fotocatalíticas; dichas nanopartículas de plata (AgNPs) fueron sintetizadas por un método verde empleando un extracto acuoso de hojas de *Solanum sisymbriifolium* (SsLE), siendo este extracto empleado para evaluar propiedades biológicas por primera vez. Por medio de un análisis de espectroscopia UV-Vis, en el cual mostró un pico de resonancia plasmónica superficial a aproximadamente 430 nm se demostró que los resultados obtenidos son Ss-AgNPs, estas con un tamaño promedio de 29.87 nm y una forma esférica, analizada por medio de FE-SEM y HR-TEM.

Las Ss-AgNPs fueron analizadas para su capacidad antioxidante por medio del estudio DPPH, en el cual se observó que para lograr un índice de inhibición antioxidante de 50% se requiere de una concentración de 59.62 µg/ml de Ss-AgNPs; además de mostrar una actividad antibacteriana significativa frente a bacterias *gram-negativas* y *gram-positivas* (Singh, R., et al., 2024).

## **II.II AgNPs con actividad antimicrobiana**

En el contexto de este estudio llevado a cabo por Zhang et al., se exploraron diversas investigaciones que evaluaron las propiedades de las nanopartículas de plata como agentes antimicrobianos centrándose particularmente en su eficacia contra la *Escherichia coli*. Los resultados de sus estudios resaltaron la importancia crucial de la forma y el tamaño de las nanopartículas de plata para así poder lograr una eficacia antimicrobiana óptima específicamente, las nanopartículas de plata producidas mediante la síntesis con cuatro tipos diferentes de azúcares y presentando un tamaño promedio de 25nm mostraron una significativa eficacia antimicrobiana. Este impacto se observó en una variedad de bacterias tanto *gram positivas* como *gram negativas* lo que incluye cepas altamente resistentes como el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina estos hallazgos surgieron un potencial prometedor para las nanopartículas de plata como



agentes antimicrobianos en la lucha contra diversas cepas bacterianas ofreciendo así una alternativa valiosa frente a la creciente resistencia a los antibióticos (Zhang, X., et al., 2016).

En el trabajo llevado a cabo por Mohan, & Kabiriyel se sintetizaron nanopartículas de plata y cobre por el método de reducción química, empleando una solución de quitosano a 1% p/v para estabilizar la síntesis, para analizar los resultados se emplearon diferentes caracterizaciones, demostrando que las nanopartículas de plata poseían un tamaño promedio de 20.95 nm con una morfología ligeramente esférica. La actividad antibacteriana fue evaluada a partir del método de difusión en disco, esto con patógenos que afectan directamente a los humanos, entre ellos *Streptococcus pyogenes* y *Klebsiella pneumoniae*, así como un patógeno fúngico, *Candida albicans*. En donde a comparación con las nanopartículas de cobre, las de plata exhibieron una actividad antibacteriana significativa para estas dos cepas bacterianas y una de hongo (Mohan, C., & Kabiriyel, J., 2024).

En el estudio “*Silver nanoparticles synthesized from seed of Myristica fragrans extract: Optimization, characterization and antibacterial activity*” se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas de plata mediante un método verde, empleando un extracto derivado de la planta de la nuez moscada; los resultados obtenidos tras la síntesis fueron evaluados por una microscopía electrónica de barrido en la cual se conoció que las nanopartículas de plata obtenidas tienen un tamaño que oscila entre los 20 y los 300 nanómetros. Para conocer su actividad antibacteriana se llevó a cabo el ensayo de difusión de disco, esto contra las cepas bacterianas *E. coli* y *Bacillus subtilis*, detonando como resultado que las AgNPs exhiben un diámetro de inhibición de  $1.08 \pm 0.073$  cm contra *E. coli* y  $1.23 \pm 0.039$  cm contra *B. subtilis*. En comparación, el control positivo Gentamicina mostró un diámetro de inhibición de  $2.12 \pm 0.047$  cm. Estos hallazgos sugieren que las nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto de semilla de nuez moscada demostraron una eficacia antibacteriana considerable, incluso superando al control positivo utilizado en el estudio (Prakash, D., et al., 2024).

### **III. JUSTIFICACIÓN**

#### **III.I Planteamiento del problema**

El propósito fundamental de este estudio consiste en llevar a cabo una investigación exhaustiva de las propiedades antibacterianas y antioxidantes de las nanopartículas de plata (AgNPs), esto con el objetivo de evaluar su eficacia en diferentes contextos y sus posibles aplicaciones terapéuticas. Esto con proyección a futuro de abordar eficazmente padecimientos relacionadas con procesos infecciosos o preventivos, así como el estrés oxidativo y abordar a la creciente resistencia bacteriana a los antibióticos.

#### **III.II Justificación**

Hoy en día la resistencia bacteriana representa una creciente amenaza para la salud pública a nivel mundial. Esto debido a que en medida en que las bacterias se vuelven resistentes a los antibióticos ya existentes debido a diferentes causas como lo son la automedicación, contaminación y el seguimiento incorrecto o discontinuo de los tratamientos médicos, surge la necesidad urgente de investigar y desarrollar diferentes estrategias terapéuticas que posean mayor eficacia (Valerga, D., & Trombetta, L., 2022). En este sentido, se han explorado nuevas soluciones, como lo han sido el aumentar el tiempo y cantidad de dosis de antibióticos para mitigar las infecciones bacterianas, solución que a largo plazo está convirtiéndose en un nuevo potenciador de la resistencia bacteriana (Lázaro & Oteo, 2006).

El presente trabajo de investigación surge como respuesta a la imperante necesidad del ser humano de encontrar una solución innovadora ante la problemática de la resistencia bacteriana. En este sentido dándole foco de atención a nuevas tecnologías e investigaciones como lo es la nanotecnología, como una vía prometedora ante este desafío. Dejado atrás el tabú de la aplicación de la nanotecnología en ámbitos médicos por ser una ciencia emergente, reconociendo a esta área de investigación como un potencial transformador y promisorio de desarrollo de terapias antibacterianas efectivas

y sostenibles a largo plazo, dando pie a que este proyecto no solo ofrezca perspectivas valiosas para la optimización de intervenciones terapéuticas actuales, sino que también sirva como plataforma sólida para la formulación de futuras investigaciones en este campo de estudio.

En particular, este estudio se centrará en investigar las nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas mediante el método químico Turkevich como un potencial agente terapéutico viable en el campo de la nanomedicina, ya que estas han demostrado poseer propiedades antibacterianas, como lo fue en el caso del estudio de Sabzevar, A., *et al.*, en el cual analizaron la propiedad antibacteriana de las nanopartículas de plata sintetizadas por un método de química verde, mostrando una actividad antibacteriana contra bacterias tanto *Gram- negativas* como *Gram-positivas* (Sabzevar, A., *et al.*, 2024).

Una propiedad adicional que hace sobresalientes e interesantes en este estudio a las nanopartículas de plata, es su capacidad antioxidante (Krishnamoorthy, K., *et al.*, 2023), lo cual brinda oportunidad de colocar a las AgNPs como un posible agente contra los radicales libres y las diferentes afecciones que estos pueden ocasionar, como lo es el envejecimiento temprano y el estrés oxidativo en células humanas, un fenómeno que puede surgir como efecto secundario de ciertos medicamentos del tipo antibiótico. El llamado estrés oxidativo, se caracteriza por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y la capacidad antioxidante del organismo, esto desencadenando daño celular y dando paso a la contribución de diversas enfermedades. En este contexto, las nanopartículas de plata muestran su potencial al actuar como agentes antioxidantes, neutralizando los radicales libres y reduciendo el daño oxidativo en las células. Esta propiedad sugiere una mejora en la salud y bienestar del paciente. (Bustos, P., 2017)

Se destaca que el estrés oxidativo puede desencadenar una serie de consecuencias adversas, que van desde el envejecimiento celular temprano hasta el desarrollo de enfermedades más graves, como lo son el Alzheimer y el cáncer (Escarza, J., & López, M., 2020). Por consiguiente, la capacidad de las AgNPs para mitigar el estrés oxidativo adquiere una relevancia significativa en el ámbito de la salud, ofreciendo una perspectiva distinta para la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

Las AgNPs se sintetizarán por el método Turkevich debido a que este tiene una eficacia y reproducibilidad alta con un tamaño uniforme y controlado, esto debido a que al ser un método desarrollado desde hace muchos años atrás ha sido estudiado y mejorado con variantes que lo vuelven tan preciso y reproducible, destacando que para una aplicación terapéutica el hecho de que sea reproducible es un factor de gran importancia. Para evaluar la eficacia antibacteriana y antioxidante de las nanopartículas sintetizadas se llevarán a cabo ensayos de difusión de disco y ensayos DPPH.

## **IV. HIPÓTESIS**

Las nanopartículas de plata sintetizadas exhiben actividad antibacteriana frente al microorganismo *Escherichia coli* corroborado por medio del análisis de difusión por disco, así mismo se evidencia su eficacia en sus propiedades de contención de radicales libres mismas que serán evaluadas mediante el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).

## **V. OBJETIVOS**

### **V.I Objetivo general**

Sintetizar nanopartículas de plata (AgNPs) mediante el método Turkevich y evaluar su eficacia como agente terapéutico, probando sus propiedades antibacterianas con ensayos de difusión de disco con *Escherichia coli* y sus propiedades antioxidantes mediante ensayos de captura de radicales libres DPPH (2,2 Difenil-1-picrilhidracil).

### **V.II Objetivos específicos**

- Sintetizar las nanopartículas de plata AgNPs por medio del método de Turkevich.
- Caracterizar químicamente las nanopartículas para verificar que se obtuvo el material esperado, esto por medio de la espectroscopía UV-Vis.
- Caracterizar morfológicamente las AgNPs para corroborar su forma y tamaño por medio de la Dispersión de luz dinámica DLS.
- Caracterizar las AgNPs por medio de potencial Z para evaluar su estabilidad coloidal.
- Caracterizar morfológicamente las AgNPs para corroborar su forma y tamaño por medio de la microscopía electrónica de transmisión TEM.
- Realizar la prueba de difusión por disco con *Escherichia coli* para medir la capacidad antimicrobiana de las AgNPs.
- Realizar la prueba DPPH para medir la eficacia de las AgNPs en la captura y contención de radicales libres, evaluando su potencial antioxidante.

## VI. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

### VI.I. Síntesis de AgNPs

La síntesis de nanopartículas de plata se llevó a cabo mediante una adaptación del método Turkevich reportado en el trabajo de Peralta, *et al.*, (Fig. 3). Inicialmente se prepararon dos soluciones, siendo 50 ml de nitrato de plata  $\text{AgNO}_3$  al 4mM y 6 ml de solución de citrato de sodio  $\text{Na}_2\text{H}(\text{C}_3\text{H}_5(\text{COO})_3)$  al 10mM. Posteriormente, la solución de  $\text{AgNO}_3$  se llevó a ebullición durante 15 min, tras lo cual se retiró el calor y se agitó vigorosamente utilizando una plancha de agitación magnética. Se añadieron 6 ml de citrato de sodio gota a gota, y después de 2 minutos se observó un cambio de color de incoloro a un ligero subtono amarillo (fig. 4), la agitación magnética se interrumpió y la solución se dejó enfriar a temperatura ambiente.



**Figura 3.** Ilustración del procedimiento implicado en la ejecución del método Turkevich utilizado en la síntesis de nanopartículas de plata AgNPs.



**Figura 4.** Cambio de color de incoloro a amarillo tenue que denota la formación de nanopartículas de plata AgNPs.

## **VI.II. Caracterización de AgNPs**

Para detectar la formación de nanopartículas de plata AgNPs, primero se ultrasonicó la muestra por 1 hora y 30 min, en un sistema ultrasonido Hielscher ultrasound technology UP200S en 70% de amplitud y 0.5 ciclos, seguido se realizó el espectro de absorción UV-Vis, utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Thermo scientific Genesys 10S UV-Vis a una longitud de onda de 300 a 800 nm con una celda de cuarzo llena con 3 ml.

Para el análisis morfológico de AgNPs se empleó la microscopía electrónica de transmisión TEM HITACHI HT7800 a diferentes magnificaciones, se depositó 1µl de la muestra previamente ultrasonificada en el sistema Hielscher ultrasound technology UP200S a 70% de amplitud en 0.5 ciclos durante 30 min sobre una rejilla de cobre recubierta de carbono dejando caer con ayuda de una micropipeta la muestra en la rejilla, retirando el exceso con papel secante solamente rompiendo la tensión superficial de la gota de muestra, para finalmente permitir que la rejilla de TEM se secase.

El tamaño y potencial Z de las nanopartículas fue recopilado por medio de dispersión dinámica de luz DLS, utilizando Malvern Panalytical, Malvern DTS 1070, cargando en una celda capilar 1ml de la muestra de AgNPs, la cual fue previamente ultrasonificada en un sistema Hielscher ultrasound technology UP200S en 70% de amplitud y 0.5 ciclos.

## **VI.III. Ensayo de actividad antioxidante: DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)**

Para examinar la actividad de eliminación de radicales se empleó un ensayo de eliminación del radical DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil), se le realizaron adaptaciones a la metodología de Singh, R., *et al.*, Se preparó 50 ml de una solución DPPH a 300 µM con metanol en un matraz aforado cubierto con papel aluminio para evitar el paso de la luz. Se preparó un conjunto de soluciones a concentraciones de 50, 100 y 200 µg/ml de AgNPs, se colocaron 1 ml de cada una de las concentraciones en diferentes tubos y se les agregó 1 ml de la solución DPPH, se agitaron vigorosamente y se incubaron por 1 hora en ausencia de luz; para el control se realizó el mismo procedimiento con una muestra de solo solución metanólica DPPH sin ninguna muestra de AgNPs. Se registró

la absorbancia para cada muestra a 520 nm al paso de 1, 2 y 48 horas. El porcentaje de inhibición de los radicales libres de DPPH se calculó con la ecuación 1.

#### **VI.IV. Ensayo de actividad antibacteriana: Difusión por disco**

El efecto de la actividad antibacteriana de las AgNPs sintetizadas se determinó mediante el método de difusión en disco. Se probó utilizando la cepa bacteriana *E. coli*. Las cepas se cultivaron en medio Luria-Bertani (LB) a 37°C en una incubadora con agitación a 200 rpm. Después de 16 horas de crecimiento, se analizó la densidad óptica del cultivo a 600 nm. Posteriormente, se diluyó el cultivo hasta alcanzar una  $OD_{600nm}=0.1(1.5 \times 10^8$  células /ml) lo que equivale al 0.5 del estándar de McFarland. La inoculación se llevó a cabo mediante la técnica de siembra por estría en placa utilizando un hisopo estéril, el cual se sumergió en el cultivo, se removió el exceso de líquido y se dispersó en placas de agar nutritivo Mueller-Hinton (2g/l de extracto de carne, 17.5 g/l de caseína hidrolizada, 1.5 g/l de almidón y 17 g/l de agar). Una vez llevada a cabo la siembra se dejó secar por 15 minutos. Seguido se colocaron discos de papel filtro, los cuales fueron previamente cortados, marcados, esterilizados en autoclave por 15 min a 17 psi e incubados durante 24 hrs a 40° C para su secado y cargados con 10 µl de concentraciones de 15, 50, 100, 150, 200 µg/ml de AgNPs, 50 µg/ml de Kanamicina y uno de agua desionizada, estos dos últimos como control positivo y negativo respectivamente. Las placas se incubaron durante 72 horas a 37 °C. Se revisaron las placas cada 24 hrs y se analizaron los resultados obtenidos.



## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

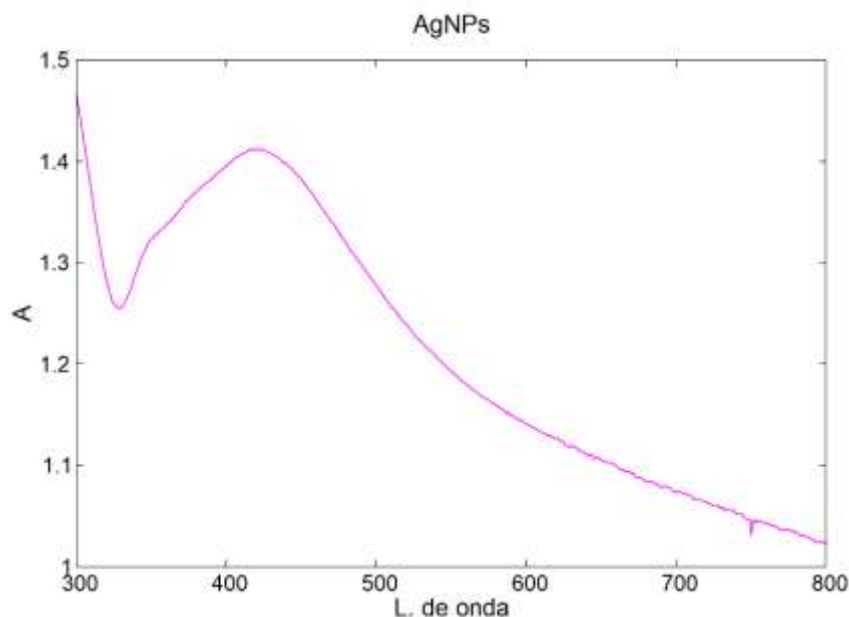
### VII.I. Caracterización de nanopartículas de plata AgNPs

La formación de AgNPs fue corroborada en primera instancia por el cambio en la coloración de la solución en la síntesis, la cual pasó de incolora a un ligero tono amarillo (Fig. 5), tal cual lo reportado en las síntesis por el método de Turkevich (Zanella, R., 2012).



**Figura 5.** Solución de nanopartículas de plata AgNPs tras ser sintetizadas, estas manifiestan un color amarillo tenue atribuido a la formación de estas.

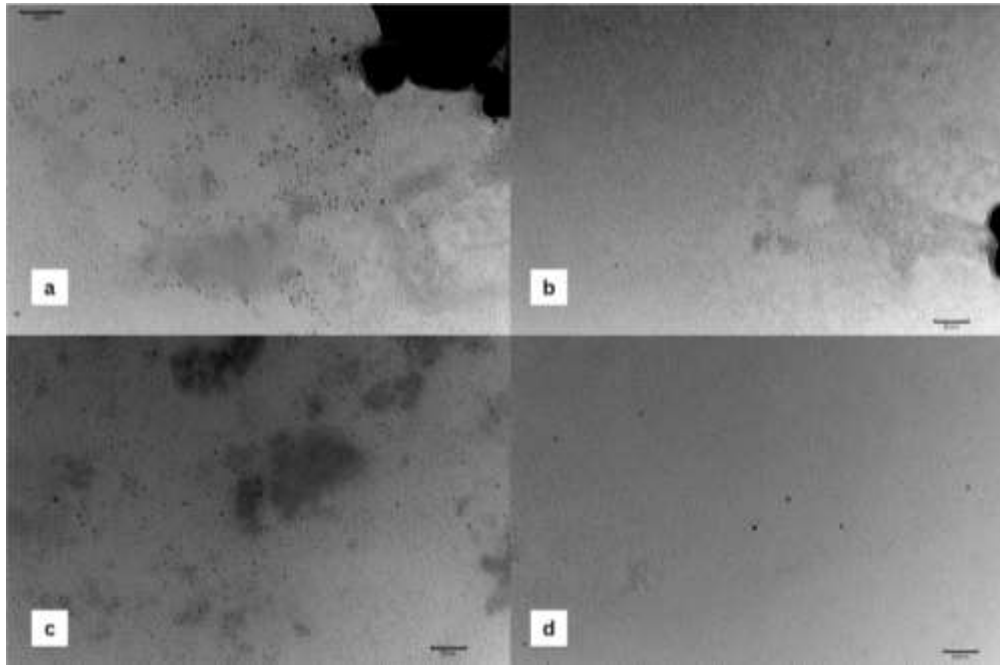
La evaluación de las nanopartículas de plata, junto con la apreciación del cambio de color resultante, fue llevada a cabo mediante el empleo de una espectroscopia UV-Vis en un rango de longitud de onda de 300 a 800 nm, revelando un pico característico en la región de ~430 nm (fig. 6), lo cual brinda evidencia sólida, confirmando así que el resultado obtenido tras la síntesis fue efectivamente de AgNPs. Este hallazgo es consistente con la literatura donde se ha reportado que la banda de absorción de las nanopartículas de plata se encuentra en un rango de 350-450 nm, como es el caso de Susanto, H., *et al.*, 2024 que reportan un pico en la longitud de onda 440 nm.



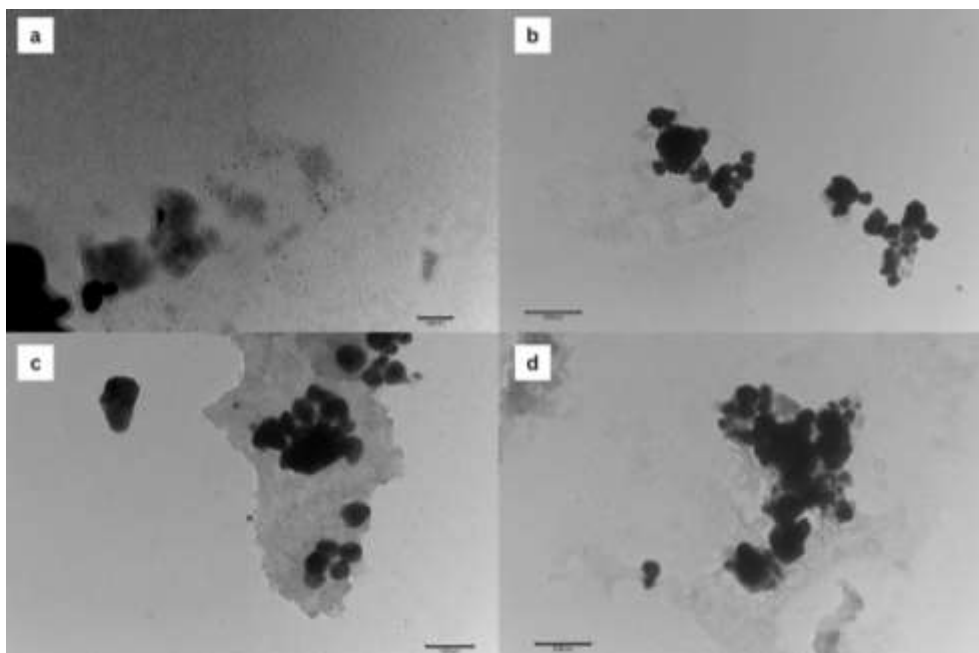
**Figura 6.** Espectro de absorción UV-Vis de nanopartículas de plata AgNPs obtenidas mediante el método Turkevich.

La morfología y tamaño de las nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método Turkevich se estudiaron mediante el análisis de microscopía electrónica de transmisión TEM, a diferentes aumentos, mismos en que sugirieron que las nanopartículas formadas tienen dos variaciones, siendo la mayoría de menor tamaño, bien dispersas y de forma esférica con bordes lisos (fig. 7 (a-d)) teniendo un rango de tamaño menor a ~10 nm. En la fig. 7(d) se encuentran las nanopartículas de plata altamente dispersas, lo que permite observar que estas poseen una forma uniforme esférica, esto se atribuye al método de síntesis, debido a que el protocolo planteado por Turkevich al ser un método de reducción química de sales metálicas, requiere de un agente reductor y estabilizador, en este caso el citrato de sodio, mismo que se adhiere a la superficie de las AgNPs recién formadas, este forma una capa alrededor de las nanopartículas, proporcionando una barrera electrostática que repele las nanopartículas unas de otras, evitando que estas se agrupen o aglomeren entre sí, manteniendo así la dispersión y estabilidad de las AgNPs. Por otro lado, se encuentra un grupo de nanopartículas semiesféricas con un tamaño que oscila entre 50 y 150 nm, como se muestra en la fig. 8 (a-d), estas se observan aglomeradas, esto sugiere una falta de dispersión uniforme de las nanopartículas de la muestra, lo cual puede estar relacionado con diversos factores, tales como la temperatura que se llevó hasta punto de ebullición, que la adsorción del citrato de sodio

no fuera suficiente, de igual forma pudo afectar la velocidad en la que se añadió el agente reductor gota a gota, debido a que si este no fue añadido de forma precisa y controlada puede afectar a la cinética de la reacción generando que esta sea excesivamente rápida lo cual conduce a la formación de aglomeraciones o a un tamaño de nanopartícula no deseado.



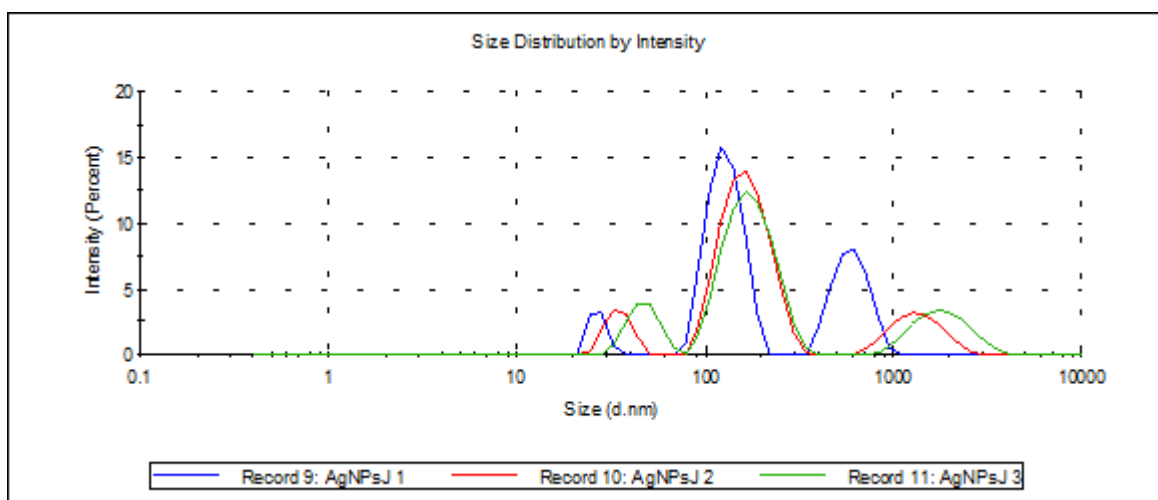
**Figura 7.** Imágenes de las AgNPs sintetizadas con el método de Turkevich a través de un microscopio electrónico de transmisión TEM a diferentes aumentos a) AgNPs aumento 120kx, b) AgNPs aumento 100kx, c) AgNPs aumento 100kx, d) AgNPs aumento 100kx.



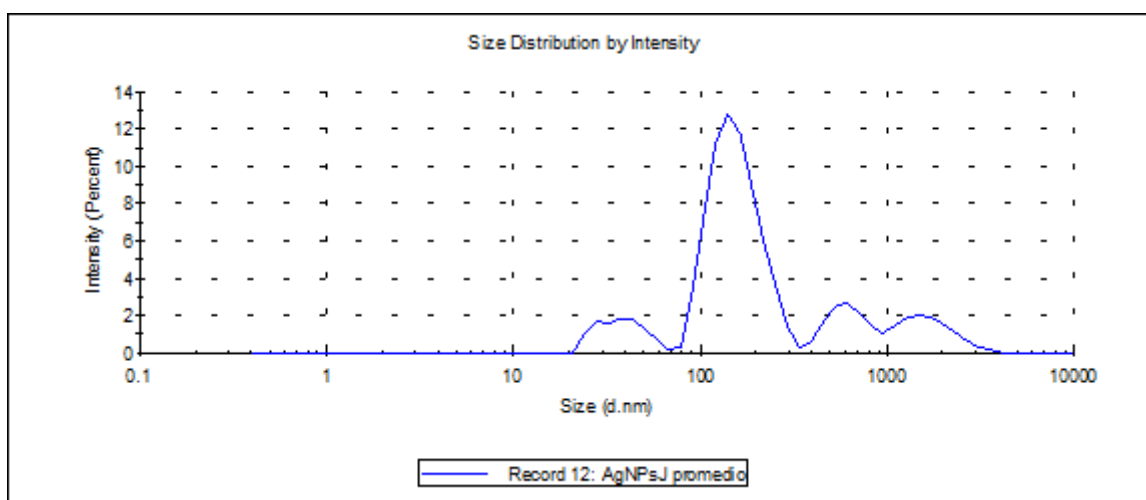
**Figura 8.** Imágenes de las AgNPs sintetizadas con el método de Turkevich a través de un microscopio electrónico de transmisión TEM a diferentes aumentos a) AgNPs aumento 100kx, b) AgNPs aumento 40kx, c) AgNPs aumento 70kx, d) AgNPs aumento 40kx.

El tamaño de las nanopartículas se corroboró por medio del análisis de dispersión de luz dinámica DLS, en este se analizó el tamaño medido por intensidad, por número y por volumen; en la fig. 9 se observa el análisis de tamaño por intensidad de la luz dispersada por las partículas en función del tamaño, en este se pueden observar diferentes picos en  $\sim 50$ ,  $100$ ,  $200$  y  $800$  nm, siendo corroborado por el análisis promedio mostrado en la fig. 10 donde muestra que hay un 12% de intensidad en el pico de  $200$ nm. El análisis de tamaño por número se refiere al número de nanopartículas que poseen un tamaño específico. (fig. 11) Se observan picos en  $\sim 30$ ,  $40$  y  $50$  nm con una apariencia aguda en comparación con los picos en la distribución por intensidad en la fig. 9, esto sugiere que se encuentran en mayor número nanopartículas de un tamaño más cercano a los valores  $\sim 30$ ,  $40$  y  $50$  nm; en la fig. 12 se muestra el promedio de este como  $\sim 50$  nm con una intensidad de  $\sim 24\%$ ; mientras que en la fig. 13 se muestra la distribución según el volumen de estas, identificando picos en  $\sim 30$  y  $50$  nm, mostrando en la fig. 14 un promedio de  $\sim 50$ nm con  $\sim 12\%$  de volumen. Estos resultados sugieren que la medición de DLS puede no ser precisa para muestras poli dispersas, esto debido a su tendencia a responder hacia nanopartículas más grandes, ya que las nanopartículas más pequeñas

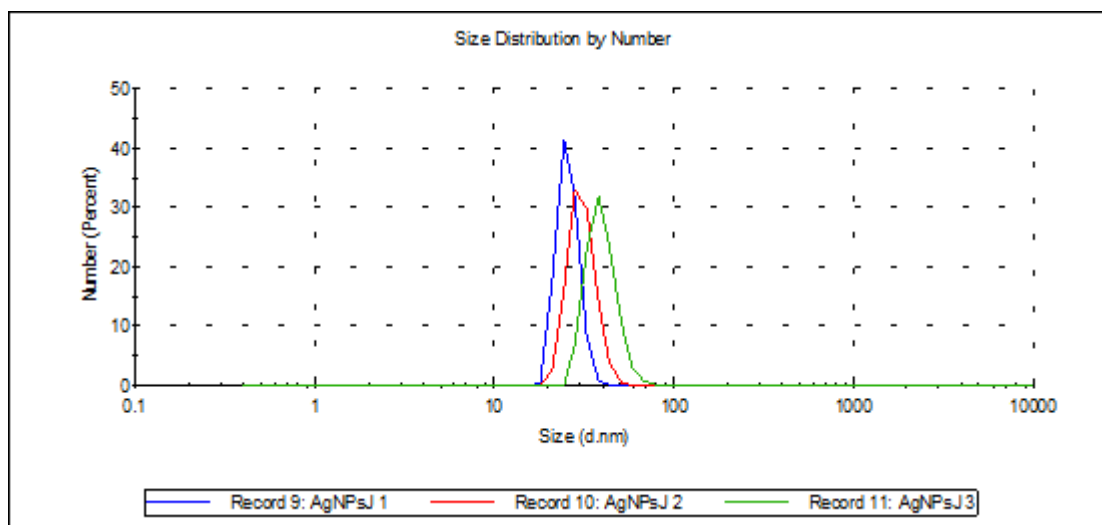
interactúan de forma débil con la luz y pueden no producir cambios detectables en el patrón de dispersión de la luz.



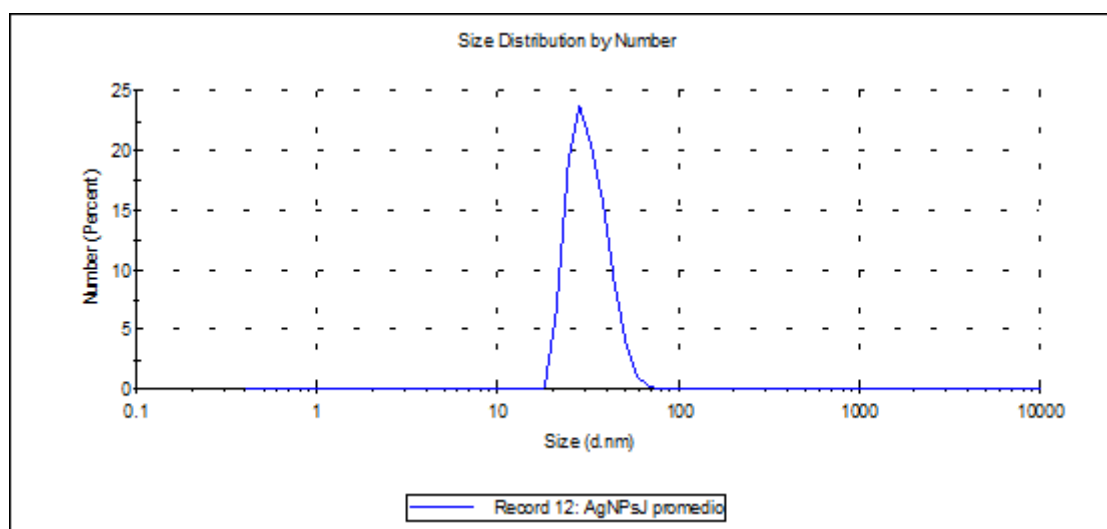
**Figura 9.** Espectro de dispersión de luz dinámica DLS de nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método Turkevich; Tamaño por intensidad, en donde el eje X representa el tamaño de las nanopartículas y el eje Y representa la intensidad de la luz dispersada



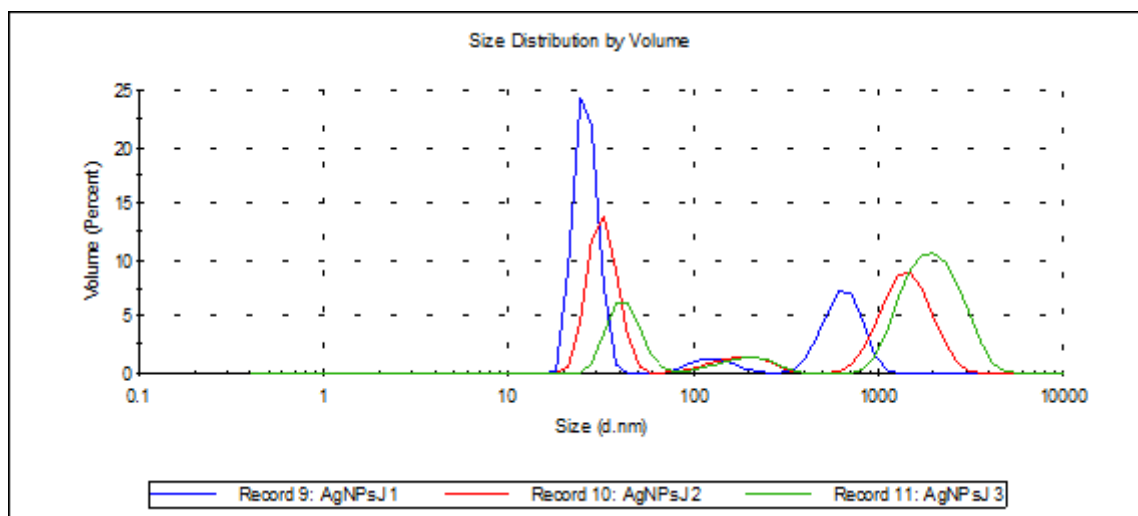
**Figura 10.** Espectro de dispersión de luz dinámica DLS de nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método Turkevich; Tamaño promedio por intensidad. Se muestra un pico agudo en el valor ~200 nm lo cual indica que es el tamaño predominante de las nanopartículas analizadas, los picos secundarios en ~50 y ~800 nm sugieren la presencia de subpoblaciones de otros tamaños.



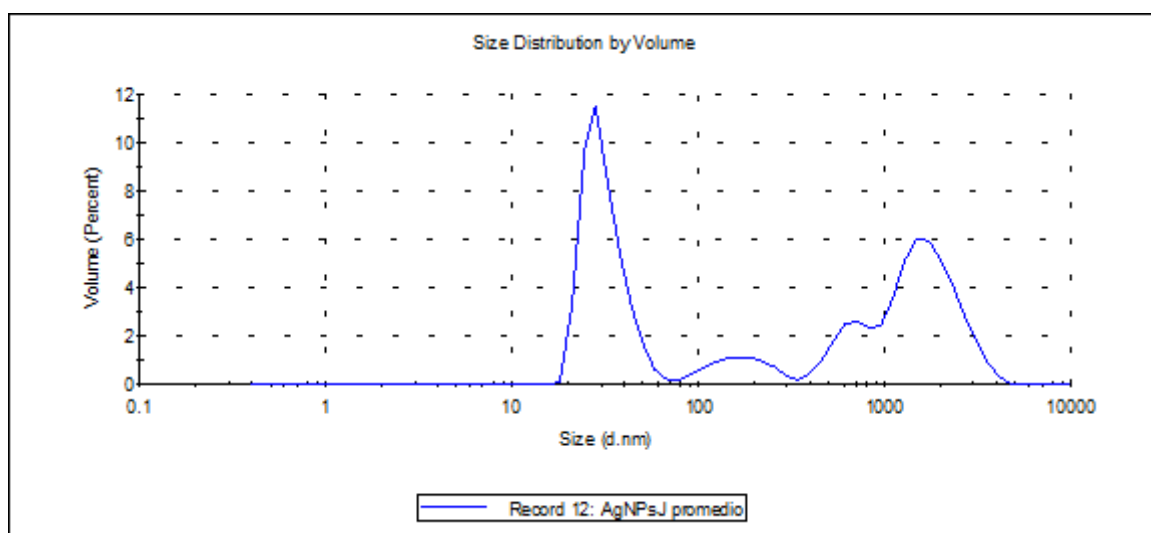
**Figura 11.** Espectro de dispersión de luz dinámica DLS de nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método Turkevich; Tamaño por número. En donde el eje X representa el tamaño de las nanopartículas y el eje Y representa el número de partículas que tienen un tamaño específico en la muestra.



**Figura 12.** Espectro de dispersión de luz dinámica DLS de nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método Turkevich; Tamaño promedio por número. Se muestra un pico agudo en ~50 nm, sugiriendo que el tamaño promedio de las nanopartículas se encuentra en ese valor mayormente.



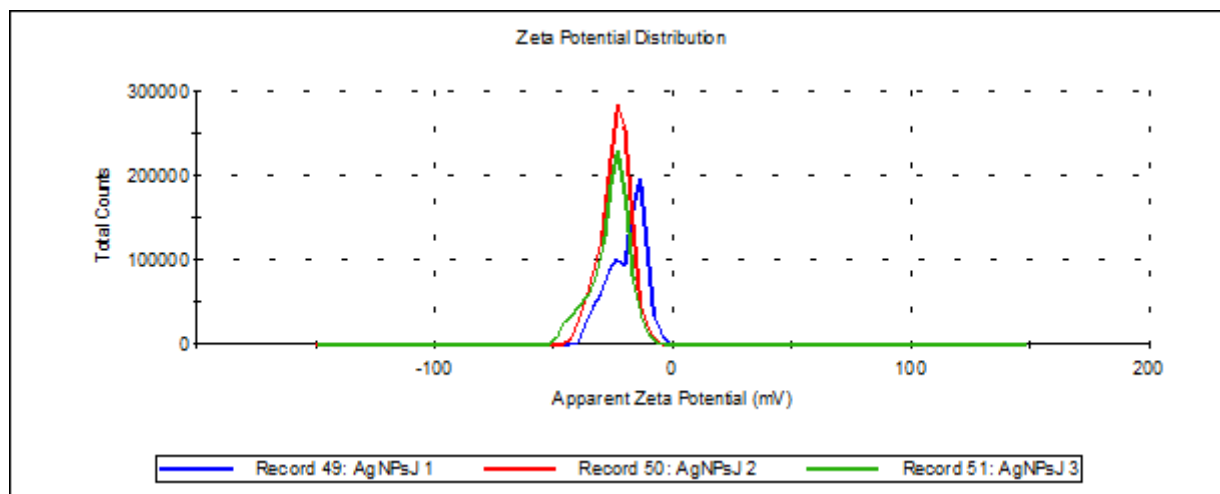
**Figura 13.** Espectro de dispersión de luz dinámica DLS de nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método Turkevich; Tamaño por volumen. En donde el eje X representa el tamaño de las nanopartículas y el eje Y representa el volumen relativo de partículas que tienen un tamaño específico en la muestra.



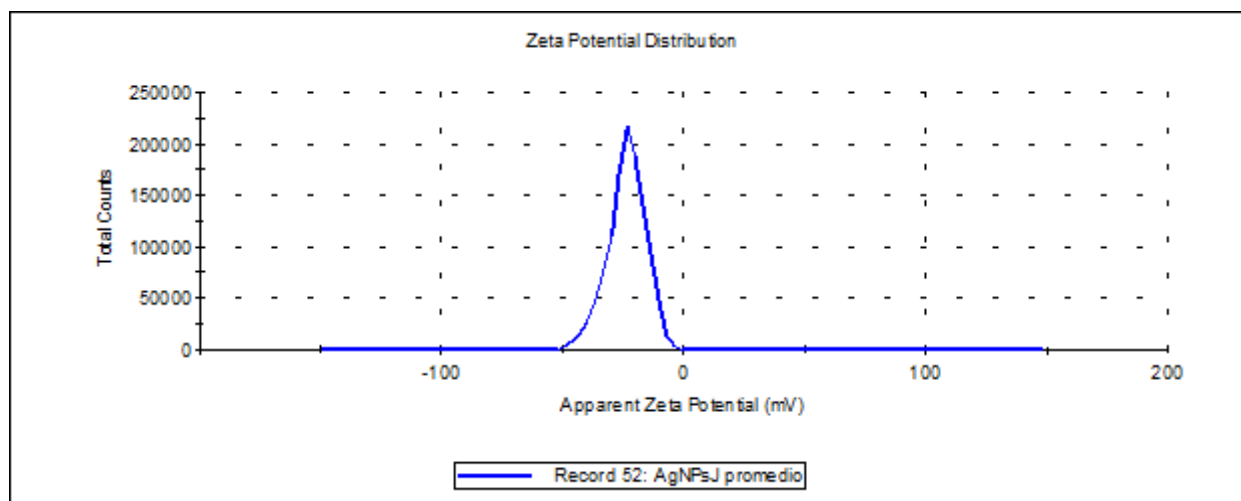
**Figura 14.** Espectro de dispersión de luz dinámica DLS de nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método Turkevich; Tamaño promedio por volumen. El pico máximo en el valor de 50 nm sugiere que es el tamaño más común en la muestra, mientras que los picos secundarios de forma ancha proponen que en menor volumen existen subpoblaciones de nanopartículas con una distribución de tamaño variada.

La estabilidad de las AgNPs fue analizada por medio del potencial Z, este mide la magnitud de la carga electrostática de atracción o repulsión entre las partículas, misma que es proporcionada por el agente estabilizante y reductor en la síntesis por el método Turkevich, se muestran diferentes picos (fig.15) en el valor de ZP con valores aproximados de 20, 30 y 40 mV, mientras que en la fig. 16 se encuentra un análisis

promedio del ZP mostrando un valor promedio de -23.3mV, dato que según la literatura sugiere que las AgNPs son moderadamente estables.



**Figura 15.** Análisis potencial zeta (ZP) para nanopartículas de plata AgNPs.



**Figura 16.** Análisis potencial zeta (ZP) promedio para nanopartículas de plata AgNPs.

## VII.II. Ensayo de actividad antioxidante: DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

La actividad de eliminación de radicales libres para las nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por el método de Turkevich, fue evaluada por medio del ensayo DPPH (2,2-difanil-1-picrilhidrazil). Después de procesar los datos con la ecuación 1 se encontró que él % de inhibición de radicales libres no cambia significativamente con respecto a si se



aumenta la concentración de AgNPs en el tratamiento, esto pudiéndose observar en la tabla 1, en donde se exhibe que los porcentajes de inhibición poseen una ligera disminución en su capacidad de inhibición al aumentarse las concentraciones, como se sugiere en la literatura de Xie, J., & Schaich, K., 2014 esto se puede atribuir a que al aumentar la concentración de AgNPs el tratamiento se satura.

**Tabla 1.** Desglose de % de inhibición en tratamientos de nanopartículas de plata con DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) a diferentes 50, 100 y 200 µg/ml, en lapsos de tiempo de 1, 2 y 48 horas.

| Tratamiento          | % a 1 hora | % a 2 horas | % a 48 horas |
|----------------------|------------|-------------|--------------|
| DPPH                 | 0          | 0           | 0            |
| DPPH+AgNPs 50 µg/ml  | 50.337     | 50.697      | 83.035       |
| DPPH+AgNPs 100 µg/ml | 49.356     | 49.454      | 82.206       |
| DPPH+AgNPs 200 µg/ml | 49.444     | 49.694      | 84.038       |

Estos resultados se analizaron estadísticamente mediante el análisis ANOVA presente en la tabla 2, en donde se observa que el valor F es pequeño, lo que sugiere que las medias entre las diferentes concentraciones de nanopartículas son similares y que no se exhibe diferencia significativa entre estas; esto se corrobora con el resultado del valor P, el cual delimita el nivel de significancia, siendo este mayor 0.05 sugiere que no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula del análisis, la cual dicta que no hay diferencia significativa entre los porcentajes de inhibición de radicales libres a diferentes concentraciones de nanopartículas de plata AgNPs.

Por otro lado, el % de inhibición con respecto al tiempo mostró diferencias significativas, como se observa en la gráfica (fig. 17) siendo que el % en una hora de tratamiento tiene un promedio de 49.712%, mientras que con el transcurso de 48 horas este cambia a 83.093%, esto se puede corroborar con un cambio en la coloración de la muestra (fig. 18(a-c)), el color inicial de los tratamientos independientemente de la concentración de AgNPs mostraba un color violeta intenso, mientras que al transcurso de 48 horas, este color cambio a rosado tenue.

**Tabla II.** Resultados análisis estadísticos ANOVA para el ensayo de eliminación de radical DPPH con AgNPs sintetizadas por Turkevich con respecto a las concentraciones 50, 100 y 200 µg/ml.

| RESUMEN                   |                   |                    |                           | Alpha 0.05  |             |                      |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-------------|-------------|----------------------|
| Grupos                    | Cuenta            | Suma               | Promedio                  | Varianza    |             |                      |
| Columna 1                 | 3                 | 184.069            | 61.35633333               | 352.5058413 |             |                      |
| Columna 2                 | 3                 | 181.016            | 60.33866667               | 358.6376013 |             |                      |
| Columna 3                 | 3                 | 183.176            | 61.05866667               | 396.0529453 |             |                      |
| ANOVA                     |                   |                    |                           |             |             |                      |
| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F           | Valor P     | Valor crítico para F |
| Entre grupos              | 1.642650889       | 2                  | 0.821325444               | 0.002225419 | 0.997777878 | 5.14325285           |
| Dentro de los grupos      | 2214.392776       | 6                  | 369.0654627               |             |             |                      |
| Total                     | 2216.035427       | 8                  |                           |             |             |                      |

Esto cambio destacable en comparación con los tratamientos a 1 y 2 horas se puede atribuir a que las nanopartículas de plata requieran de un tiempo de reacción prolongado para ejercer completamente su efecto antioxidante, este tiempo prolongado se podría explicar en que una mayor cantidad de tiempo permite una interacción más eficaz entre las AgNPs y los radicales libres. Estos resultados se analizaron estadísticamente mediante ANOVA (tabla 3), sugiriendo que efectivamente existen diferencias significativas en los resultados de % de inhibición de acuerdo al tiempo de reacción que se les dé a las nanopartículas de plata frente al radical libre DPPH, esto demostrado por el valor F grande que sugiere una mayor diferencia entre las medias de los grupos y el valor P menor a 0.05 rechazando la hipótesis nula, la cual dicta que no hay diferencias significativas.

Estos resultados sugieren que la efectividad de contención de radicales libres de las nanopartículas de plata no depende estrechamente de la concentración de estas, si no, del tiempo de reacción que se le permita, notándose un disparo creciente en el % de inhibición al paso de 48 horas con respecto a los porcentajes en el transcurso de 1 y 2 horas de reacción.

**Tabla III.** Resultados análisis estadísticos ANOVA para el ensayo de eliminación de radical DPPH con AgNPs sintetizadas por Turkevich con respecto al tiempo de reacción 1, 2 y 48 horas.

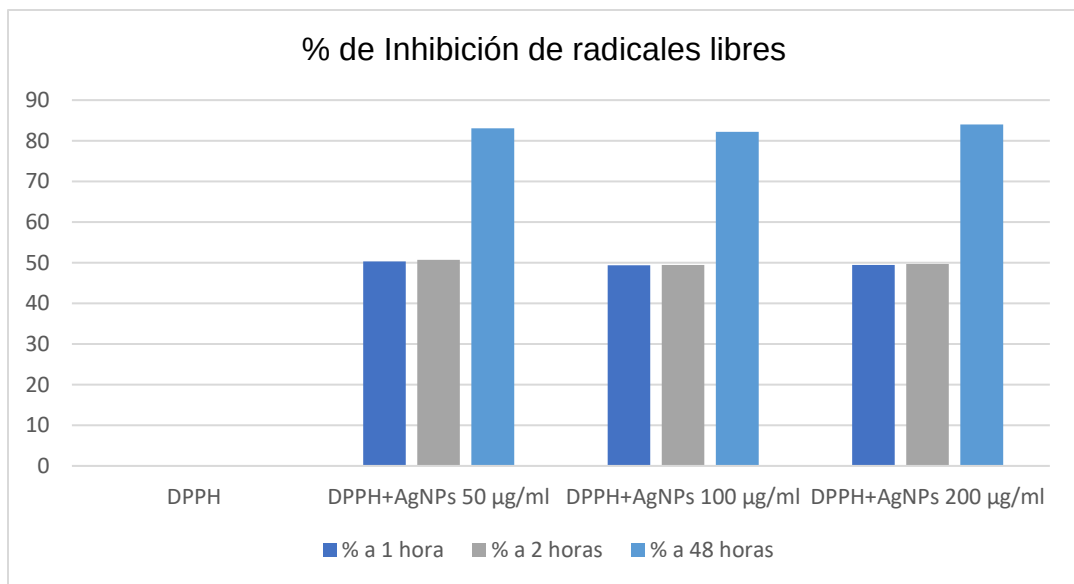
RESUMEN

Alpha 0.05

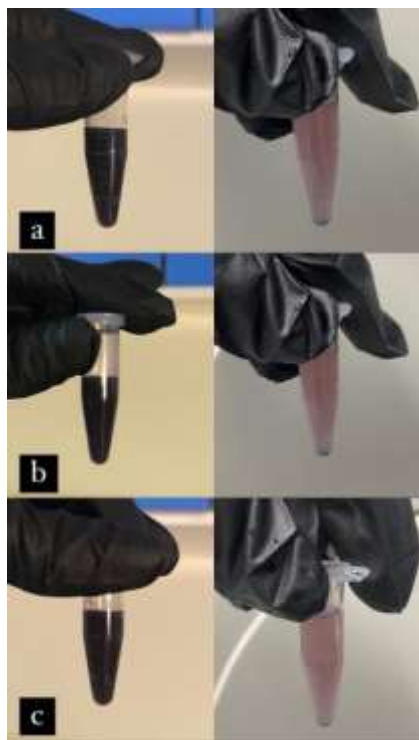
| Grupos    | Cuenta | Suma    | Promedio  | Varianza    |
|-----------|--------|---------|-----------|-------------|
| Columna 1 | 3      | 149.137 | 49.712333 | 0.294592333 |
| Columna 2 | 3      | 149.845 | 49.948333 | 0.434776333 |
| Columna 3 | 3      | 249.279 | 83.093    | 0.841579    |

ANOVA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Valor P  | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|----------|----------------------|
| Entre grupos              | 2212.893532       | 2                  | 1106.4468                 | 2112.95409 | 2.85E-09 | 5.1432528            |
| Dentro de los grupos      | 3.141895333       | 6                  | 0.5236492                 |            |          |                      |
| Total                     | 2216.035427       | 8                  |                           |            |          |                      |



**Figura 17.** Actividad de inhibición en la eliminación de radicales libres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) en porcentaje frente a diferentes tratamientos de nanopartículas de plata AgNPs.

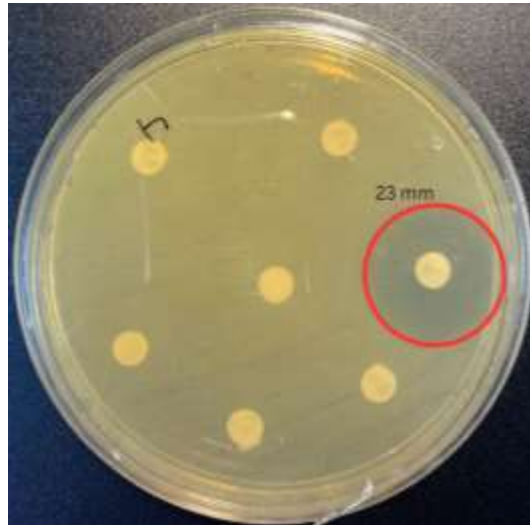


**Figura 18.** Cambio de color en los tratamientos de nanopartículas de plata sintetizadas por el método Turkevich frente al radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). tratamientos en diferentes concentraciones, a) 50 µg/ml, b) 100 µg/ml, c) 200 µg/ml.

### VII.III. Ensayo de actividad antibacteriana: Difusión por disco

Las nanopartículas de plata sintetizadas por el método de Turkevich fueron sometidas a análisis contra la cepa bacteriana *E. coli* mediante la técnica de difusión de disco. Se emplearon concentraciones de AgNPs de 15, 50, 100, 150 y 200 µg/ml, con un control positivo de kanamicina a 50 µg/ml y un control negativo de agua desionizada. Tras un periodo de incubación de 48 horas después de la inoculación bacteriana (fig. 19), solamente el control positivo de kanamicina exhibió un halo de inhibición de 23 mm, lo cual sugiere que las condiciones del ensayo fueron apropiadas para detectar actividad antibacteriana, no obstante, es crucial considerar si las condiciones del ensayo podrían haber afectado la capacidad de las nanopartículas de plata para manifestar su actividad. Se plantea la posibilidad de que la falta de halos de inhibición en las pruebas a diferentes concentraciones de AgNPs se deba al posible aglomeramiento de las nanopartículas durante el proceso de secado, necesario para mantener un control efectivo sobre las concentraciones. Este fenómeno podría haber afectado tanto al tamaño como alas

propiedades de las AgNPs, tal como lo menciona Ivask, A., *et al.*, donde se encuentra que el tamaño de las nanopartículas de plata está estrechamente relacionado con su capacidad antibacteriana, demostrando que las AgNPs de 10 nm exhibieron una actividad más eficiente contra *E. coli* que aquellas de 20-80 nm (Ivask, A., *et al.*, 2014).



**Figura 19.** Actividad antibacteriana de las nanopartículas de plata AgNPs sintetizadas por Turkevich evaluada por el método de difusión de disco frente a *E. coli*.

## VIII. CONCLUSIONES

- Se logró de manera exitosa la síntesis de nanopartículas de plata AgNPs por el método de Turkevich, demostrando que el método de síntesis es ideal para la elaboración de nanopartículas con un tamaño dentro del rango nanométrico (5-100 nm), estables y con forma esférica.
- Las nanopartículas de plata AgNPs fueron caracterizadas por DLS, Potencial Z, TEM y UV-Vis, permitiendo conocer su tamaño, estabilidad coloidal, morfología y presencia de plata.
- La eliminación de radicales libres fue evaluada con el radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), dando como resultado que las nanopartículas de plata en concentraciones 50, 100 y 200 µg/ml tienen un porcentaje de inhibición contra radicales de 50.337%, 49.356% y 49.444% respectivamente a la hora 1 de reacción, mientras que a las dos horas presentan 50.697%, 49.454% y 49.694% y finalmente en un lapso de 48 horas presentan 83.035%, 82.206% y 84.038%, concluyendo en que la capacidad antioxidante de las nanopartículas de plata radica en el tiempo de reacción con los radicales.
- Las propiedades antibacterianas de las nanopartículas de plata fueron evaluadas mediante el método de difusión de disco, en el cual no se presentó actividad inhibitoria al paso de 72 horas de incubación, lo que sugiere que las nanopartículas sintetizadas no exhiben actividad antibacteriana.

## IX. REFERENCIAS

- Acosta, R. G., & Vargas, C. M. (2018). Mecanismos de resistencia bacteriana. *Diagnóstico*, 57(2), 82-86.
- Arul, B., & Kothai, R. (2023). Biosynthesis, in-vitro antioxidant and cytotoxic potential of silver nanoparticles of *Abutilon hirtum* (Lamp) Sweet. *Materials Today: Proceedings*.
- Baig, N. (2023). Two-dimensional nanomaterials: A critical review of recent progress, properties, applications, and future directions. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 165, 107362.
- Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential—what they are and what they are not?. *Journal of controlled release*, 235, 337-351.
- Burboa, E. A., Ascacio-Valdés, J. A., Zugasti-Cruz, A., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2014). Capacidad antioxidante y antibacteriana de extractos de residuos de candelilla. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 45(1), 51-56.
- Bustos, P. S. (2017). Efecto de flavonoides frente al estrés oxidativo inducido por antibióticos.
- Cuadros-Moreno, A., Pimentel, R. G. C., Martínez, E. S. M., & Fernandez, J. Y. (2014). Dispersión de luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas poliméricas. *Latin-American Journal of Physics Education*, 8(4), 14.
- Drozдов, A., Andreev, M., Kozlov, M., Petukhov, D., Klimonsky, S., & Pettinari, C. (2021). *Lycurus cup*: the nature of dichroism in a replica glass having similar composition. *Journal of Cultural Heritage*, 51, 71-78.
- Egerton, R. F. (2005). *Physical principles of electron microscopy* (Vol. 56). New York: Springer.
- Escarza, J. M. O., & López, M. E. M. (2020). Estrés oxidativo un asesino silencioso?. *Educación química*, 31(1), 2-11.
- Garnett, E., Mai, L., & Yang, P. (2019). Introduction: 1D nanomaterials/nanowires. *Chemical reviews*, 119(15), 8955-8957.
- Grimley, E. D., & LeBeau, J. M. (2019). Transmission Electron Microscopy (STEM and TEM). *Ferroelectricity in Doped Hafnium Oxide: Materials, Properties and Devices*, 317-340.

- Husain, M., & Khan, Z. H. (Eds.). (2016). *Advances in nanomaterials* (Vol. 79). Springer.
- Ivask, A., ElBadawy, A., Kaweeteerawat, C., Boren, D., Fischer, H., Ji, Z., ... & Godwin, H. A. (2014). Toxicity mechanisms in *Escherichia coli* vary for silver nanoparticles and differ from ionic silver. *ACS nano*, 8(1), 374-386.
- Krishnamoorthy, K., Jayaraman, S., Krishnamoorthy, R., Manoharadas, S., Alshuniaber, M. A., Vikas, B., & Veeraraghavan, V. P. (2023). Green synthesis and evaluation of anti-microbial, antioxidant, anti-inflammatory, and anti-diabetic activities of silver nanoparticles from *Argyrea nervosa* leaf extract: an invitro study. *Journal of King Saud University-Science*, 35(10), 102955.
- Lázaro, E., & Oteo, J. (2006). Evolución del consumo y de la resistencia a antibióticos en España. *Sistema*, 549, 562.
- Lee, S. H., & Jun, B. H. (2019). Silver nanoparticles: synthesis and application for nanomedicine. *International journal of molecular sciences*, 20(4), 865.
- Lirola Andreu, L., Ávila Jiménez, Á. F., Fernández Mariscal, M. A., Reinoso Espín, Á., & Martínez Martínez, S. (2022). La resistencia bacteriana. Generalidades, carbapenemasas y actualidad: una revisión narrativa.
- Luo, J., Mills, K., le Cessie, S., Noordam, R., & van Heemst, D. (2020). Ageing, age-related diseases and oxidative stress: What to do next?. *Ageing research reviews*, 57, 100982.
- Martínez-Lazcano, J. C., Boll-Woehrlen, M. C., Hernández-Melesio, M. A., Rubio-Osornio, M., Sánchez-Mendoza, M. A., & Ríos, C. (2010). Radicales libres y estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas. *Mensaje Bioquim*, 34, 43-59.
- Martínez-Martínez, L., & Calvo, J. (2010). Desarrollo de las resistencias a los antibióticos: causas, consecuencias y su importancia para la salud pública. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28, 4-9.
- Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food chemistry*, 130(4), 1036-1043.
- Mohan, C. R., Ruckmani, K., & Kabiriyel, J. (2024). Correlation between electrical conductivity and Antibacterial activity of Chitosan-Stabilized Copper and Silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 100503.



- Ngamsurach, P., & Praipipat, P. (2022). Antibacterial activities against *Staphylococcus* and *Escherichia coli* of extracted Piper betle leaf materials by disc diffusion assay and batch experiments. *RSC advances*, 12(40), 26435-26454.
- Oroz, M. M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de Química de la RSEQ*, (1), 33-41.
- Peralta, L. C. F., Almeida, N. L. M., Pontes, F. M. L., Rinaldo, D., Carneiro, C. A., Neppelenbroek, K. H., ... & Porto, V. C. (2023). Silver nanoparticles in denture adhesive: An antimicrobial approach against *Candida albicans*. *Journal of Dentistry*, 131, 104445.
- Prakash, D. S., Pal, D., Andanamala, V. R., Nelapati, A. K., Thummaneni, C., & Meena, V. (2024). Silver nanoparticles synthesized from seed of *Myristica fragrans* extract: Optimization, characterization and antibacterial activity. *Materials Today: Proceedings*.
- Pryshchepa, O., Pomastowski, P., & Buszewski, B. (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, investigation techniques, and properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, 284, 102246.
- Roduner, E. (2006). Size matters: why nanomaterials are different. *Chemical society reviews*, 35(7), 583-592.
- Rocha, F. S., Gomes, A. J., Lunardi, C. N., Kaliaguine, S., & Patience, G. S. (2018). Experimental methods in chemical engineering: Ultraviolet visible spectroscopy—UV-Vis. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 96(12), 2512-2517.
- Sabzevar, A. H., Aflakian, F., & Hashemitabar, G. (2024). Characterization and evaluation of antibacterial, antioxidant and cytotoxic activities of green synthesized silver nanoparticles using *Haloxylon persicum*. *Journal of Molecular Structure*, 1304, 137615.
- Schaming, D., & Remita, H. (2015). Nanotechnology: from the ancient time to nowadays. *Foundations of Chemistry*, 17, 187-205.
- Singh, R., Singh, R., Parihar, P., & Mani, J. V. (2024). Green synthesis of silver nanoparticles using *Solanum sisymbriifolium* leaf extract: Characterization and evaluation of antioxidant, antibacterial and photocatalytic degradation activities. *Process Biochemistry*.

- Susanto, H., Sholeh, M., Endharti, A. T., Taufiq, A., Malek, N. A. N. N., & Permatasari, H. K. (2024). Moringa oleifera leaf powder–Silver nanoparticles (MOLP-AgNP) efficiently inhibit metastasis and proliferative signaling in HT-29 human colorectal cancer cells. *Journal of Agriculture and Food Research*, 101149.
- Tran, Q. H., & Le, A. T. (2013). Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Advances in natural sciences: nanoscience and nanotechnology*, 4(3), 033001.
- Vadakkan, K., Rumjit, N. P., Ngangbam, A. K., Vijayanand, S., & Nedumpillil, N. K. (2024). Novel advancements in the sustainable green synthesis approach of silver nanoparticles (AgNPs) for antibacterial therapeutic applications. *Coordination Chemistry Reviews*, 499, 215528.
- Valerga, D. M., & Trombetta, L. (2022). Automedicación con antibióticos y resistencia bacteriana. *Revista de la Asociación Médica Argentina*, 135(3).
- Viñas, G., Puig, T., & Porta, R. (2012). Estrés oxidativo en pacientes con cáncer: dos caras de una misma moneda. *Medicina clínica*, 139(4), 171-175.
- Wei, L., Lu, J., Xu, H., Patel, A., Chen, Z. S., & Chen, G. (2015). Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug discovery today*, 20(5), 595-601.
- Wing, C. E. G. (2006). Las NANOPARTÍCULAS: pequeñas estructuras con gran potencial. *El Inin Hoy, Contacto Nuclear*, 24-29.
- Xie, J., & Schaich, K. M. (2014). Re-evaluation of the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) assay for antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(19), 4251-4260.
- Zanella, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 5(1), 69-81.
- Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016). Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1534.