



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE ATENCIÓN A LA SALUD

LICENCIATURA EN MEDICINA

“Síntesis verde de nanopartículas de plata (*AgNPs*) con
actividad antimicrobiana”

M.P.S.S Diana Manjari Zermeño Mateus. 2162031327

Asesores:

Doc. Aida Hamdan Partida. 26343

Doc. Jaime Amadeo Bustos Martínez. 8758

Julio 2023

Índice

Introducción	4
Capítulo I: Investigación	4
Síntesis verde de nanopartículas de plata (<i>AgNPs</i>) con actividad antimicrobiana.	
1.1 Planteamiento del problema y justificación	5
1.2 Marco teórico	6
1.3 Objetivo general	10
1.4 Objetivos específicos	10
1.5 Hipótesis	10
1.6 Metodología	10
1.6.1 Tipo de estudio	10
1.6.2 Materiales y métodos	10
1.6.2.1 Síntesis verde de nanopartículas de plata	10
1.6.2.2 Caracterización Físicoquímica de Nanocompuestos de Plata.	12
1.6.2.3 Medición de pH de las nanopartículas.	14
1.6.2.4 Tamaño de partícula	15
1.6.2.5 Prueba de las nanopartículas sobre agentes infecciosos	17
1.6.2.6 Concentración mínima inhibitoria	17
1.7 Análisis de resultados	19
1.7.1 Estabilidad de partícula	25
1.8 Conclusiones de la investigación	30
1.9 Referencias	32
Capitulo II: Descripción de la infraestructura y comunidad donde se hizo la investigación	34
Capitulo III: Actividades realizadas en el servicio social	35
3.1 Docencia	35
3.2 Logística congreso estudiantil	35
3.3 Acreditación de la carrera	35
3.4 Investigación	36
Capitulo IV: Conclusiones del pasante sobre su servicio social	37
4.1 En relación con su formación como persona	37
4.2 En relación con su formación profesional	37

4.3 En relación con su aportación a la comunidad	37
4.4 En relación con su institución educativa	38

Capítulo I: Investigación

Síntesis verde de nanopartículas de plata (*AgNPs*) con actividad antimicrobiana

Introducción

El campo de la nanotecnología ha avanzado exponencialmente en la última década y muchos productos que contienen nanopartículas ahora se utilizan en diversas aplicaciones, como la ciencia de los alimentos, los cosméticos y los productos farmacéuticos. (Najahi-Missaoui et al., 2020)

Al definir el término de nanotecnología, se entiende como el estudio de estructuras y moléculas de tamaño nanométrico que oscila entre 1 y 100 nm ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$), la cual es multidisciplinaria y nos otorga nuevas propiedades fisicoquímicas diferentes a las moléculas individuales o sólidos de la misma composición. (Bayda et al., 2019) (Savage et al., 2007).

Las nanopartículas (NP) tienen un comportamiento diferente al compararlo con materiales con un tamaño micrométrico. La base de esta consideración es que cada propiedad de un material dado tiene una longitud característica o crítica asociada a ella. Los materiales utilizados para formar estas estructuras generalmente presentan propiedades que se pueden modificar cuando sus tamaños se reducen (Savage et al., 2007).

En recientes décadas la utilización de nanopartículas ha tenido un gran auge en aplicaciones biomédicas relacionadas con la catálisis de reacciones enzimáticas, detección de ADN, e ingeniería de biomateriales. (Diaz Acosta, 2018)

Entre las NP que han demostrado tener propiedades microbicidas, las más importantes son las de plata, óxido de zinc, cobre u óxidos de hierro. Los primeros tres compuestos presentan esta propiedad en su forma macroscópica, mientras que los óxidos de hierro únicamente resultan ser microbicidas en forma nanoestructurada (Seil y Webster, 2012).

Las NP representan una de las herramientas más prometedoras, debido a que se han incorporado como agentes antibacterianos y antifúngicos en dispositivos médicos, ingeniería textil, tratamiento de agua y otras aplicaciones, con excelentes resultados (Lin et al., 2012).

El presente proyecto se va a realizar por alumnos de la licenciatura de medicina para otorgar un panorama general sobre los antecedentes de la utilización de la plata y así demostrar la expresión de actividad antimicrobiana al utilizar la síntesis de las nanopartículas y compuestos, determinar su actividad sobre microorganismos multirresistentes y bacterias sensibles.

1.1 Planteamiento del problema y justificación

Las enfermedades infecciosas constituyen actualmente una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial. En el año del 2017 la OMS emitió una alerta a nivel mundial en la cual expone las bacterias que de manera urgente necesitaban de nuevos compuestos antibióticos, ya que éstas tienen la capacidad innata de encontrar nuevas formas de resistir a los tratamientos y pueden transmitir material genético que permite a otras bacterias hacerse farmacorresistentes.

El listado de la OMS se divide en tres categorías con arreglo a la urgencia en que se necesitan los nuevos antibióticos: prioridad crítica, alta o media.

Prioridad 1 - Crítica: *Acinetobacter baumannii*, resistente a los carbapenémicos; *Pseudomonas aeruginosa*, resistente a los carbapenémicos y *Enterobacteriaceae*, resistentes a los carbapenémicos, productoras de ESBL.

Prioridad 2 - Elevada: *Enterococcus faecium*, resistente a la vancomicina, *Staphylococcus aureus*, resistente a la meticilina, con sensibilidad intermedia y resistencia a la vancomicina, *Helicobacter pylori*, resistente a la claritromicina, *Campylobacter* spp., resistente a las fluoroquinolonas, *Salmonellae*, resistentes a las fluoroquinolonas y *Neisseria gonorrhoeae*, resistente a la cefalosporina, resistente a las fluoroquinolonas.

Prioridad 3 - Media: *Streptococcus pneumoniae*, sin sensibilidad a la penicilina, *Haemophilus influenzae*, resistente a la ampicilina y *Shigella* spp., resistente a las fluoroquinolonas.

Debido a esta alerta mundial, se han realizado diferentes protocolos de estudio con la finalidad de encontrar nuevas opciones terapéuticas contra dichas bacterias.

La plata a lo largo de los años ha mostrado características remarcables, posee buena conductividad, estabilidad química y su actividad catalítica y antibacteriana (Firdhouse y Lalitha, 2015), de la mano con la nanotecnología presentan mecanismos de acción totalmente diferente a los antibióticos tradicionales. Sin embargo, el aumento en la utilización de AgNPs ha generado preocupación con respecto a los efectos en la salud humana después de su administración, debido a que genera citotoxicidad y genotoxicidad es por ello que se han empleado nuevas técnicas para síntesis y caracterización de nanopartículas metálicas, debido a que se espera mejorar la eficiencia de los ya existentes, así como disminuir los niveles de toxicidad de las nanopartículas (Zhang *et. al.* 2016).

El presente protocolo de estudio tiene como fin crear una opción eficaz, de bajo costo y con disminución de huella ecológica, disminuir la citotoxicidad y genocidad del compuesto para con las células y sea totalmente viable para el tratamiento de estas bacterias multirresistentes.

1.2 Marco teórico

1.2.1 Plata como agente antimicrobiano.

La plata ha sido utilizada por sus propiedades antimicrobianas desde la antigüedad. La plata es un metal suave, que posee alta conductividad eléctrica y térmica. Los beneficios de la plata son muchos, además que presentan bajos riesgos de toxicidad (*Alexander, 2009*). Este elemento tiene un fuerte efecto inhibitorio contra un gran número de microorganismos (*Mohanta y Behera, 2014*).

Se ha utilizado en diferentes aplicaciones, tales como quemaduras y heridas; en partes electrónicas, ropa, pinturas, cosméticos, bactericidas, biofungicidas, aplicaciones biomédicas, en la industria médico-farmacéutica y alimentaria. Sin embargo, su consumo se vio afectado desde la década de los años cuarenta del siglo XX, con la producción de la penicilina como antibiótico. (*Diaz Acosta, 2018*) (*Chen y Schluesener, 2008*).

La historia de la plata en la medicina puede dividirse convenientemente en las eras de la historia antigua; el siglo XIX y la teoría de los gérmenes de la enfermedad; el renacimiento plateado de la década de 1960; la segunda generación de apósitos de plata a finales del siglo XX; y usos actuales. Antes del establecimiento de la teoría de los gérmenes de la enfermedad, el uso de la plata con fines medicinales se basaba en el folclore o la tradición. Probablemente el primer uso médico de la plata fue para la desinfección y el almacenamiento de agua. (*Barillo & Marx, 2014*) Se utilizaba en utensilios contruidos con este metal para preservar el agua y se ha documentado la aplicación de compuestos de plata con propuesta médica desde 750 D.C. El primer estudio utilizando plata fue en infecciones oculares de neonatos en 1881 y como antiséptico en 1901. Sus propiedades antimicrobianas se explotaban antiguamente en la medicina tradicional. (*Behera y Debata, 2011*)

Dichos antecedentes no solo demuestran el uso a través de los años de los compuestos de plata, sino la efectividad que demostraron en cada una de las épocas y como es que ha trascendido a pesar del avance de la de farmacología, específicamente de los antibióticos.

1.2.2 Síntesis verde de nanopartículas.

Hoy en día, los enfoques con respecto a la síntesis se clasifican en síntesis verdes físicas, químicas y biológicas. Tenemos por ejemplo, el método Top Down y Bottom Up, método físico, método químico y proquímico, y química verde. Las síntesis físicas y químicas tienden a ser más laboriosas y peligrosas, en comparación con la síntesis biológica de AgNP, que exhibe propiedades atractivas, como alto rendimiento, solubilidad y estabilidad. (*Lee & Jun, 2019*)

Existe un incremento en la variedad de métodos para la producción y aplicación de las nanopartículas de plata (*AgNPs*). La variedad en los procesos de manufactura también puede resultar en la variación de composición, tamaño y propiedades fisicoquímicas de las formas de Ag usadas en los productos. Las diferentes rutas de síntesis de las NP conducen a diferencias en tamaños, morfología, e incluso estabilidad de estas. (*Khanna et al., 2007*)

En la actualidad se ha introducido el término de la química verde, la cual se puede utilizar en el caso de metodologías que reducen u omiten el uso o la producción de materias primas, productos, subproductos, disolventes, reactivos, etc., que pueden deteriorar significativamente la salud humana y el medio ambiente, por lo que se convierte en un método alternativo y ecológico para la producción de nanopartículas. (Nayak *et al.*, 2016) (Mousavi *et al.*, 2018)

Para las síntesis verde, se usan y seleccionan cierto tipo de hojas verdes como la *Ephedra* o bien especies fungicas como *Verticillium* para sintetizar nanopartículas de plata más que otras plantas debido a su origen para la fotosíntesis y la disponibilidad de más iones H⁺ para reducir la creación de nitrato de plata dentro de las nanopartículas de plata. Por lo tanto, el uso de procedimientos químicos para sintetizar AgNP tiene algunas desventajas, como ser tóxico para el medio ambiente, la salud humana y, lo que es más grave, son dañinos para diferentes células normales que pueden causar grandes problemas. Sin embargo, se descubrió que la plata tiene efectos agudos en varias células cultivadas. (Mousavi *et al.*, 2018)

La síntesis verde es un método muy respetuoso con el medio ambiente, más biocompatible, rentable, mayor capacidad de síntesis y una menor cantidad de desechos tóxicos (Sulaiman *et al.*, 2013).

La síntesis y el estudio de las propiedades de las nanopartículas de plata presentan un gran interés, uno de los tipos de trabajo más importantes en este campo es la preparación de nuevos nanomateriales basados en este metal. Para ello se han empleado multitud de matrices que estabilizan las nanopartículas de plata, extractos de plantas, polímeros obtenidos de orígenes naturales o metabolitos secundarios obtenidos de microorganismos, que se han empleado ampliamente en la síntesis de nanopartículas de plata utilizadas en la industria alimentaria y en la industria farmacéutica entre otras. La incorporación del agente terapéutico en una matriz polimérica, particularmente de origen natural, podría potenciar la protección del compuesto activo en este caso la plata, de la degradación, controlar la liberación del fármaco, mejorar la absorción, potenciar el efecto terapéutico y conducir a la consiguiente disminución de la frecuencia de administración (Ahmed *et al.*, 2016).

La reducción química es el método más frecuente de síntesis de *AgNP*, utilizando sales de plata, reductores y un estabilizante o agentes de terminación para controlar su crecimiento, el nitrato de plata es frecuentemente utilizado para las *AgNPs*, debido a su bajo costo y estabilidad química comparada con otras sales disponibles. (Khan *et al.*, 2011). La principal ventaja del método de reducción química es su reproducibilidad y la posibilidad de obtener coloides monodispersos con una distribución estrecha en el tamaño de las partículas. Después de la síntesis, la caracterización de las *AgNPs* es necesario, porque las propiedades fisicoquímicas de una partícula podrían tener un impacto significativo en sus aplicaciones biológicas (Sifontes *et al.*, 2010).

Los diferentes compuestos químicos y los metabolitos secundarios tienen distintas características fisicoquímicas, que a su vez permiten agregar moléculas como proteínas y polisacáridos menos tóxicos, biocompatibles y biodegradables (Ahmed y Aljaeid, 2016), que pueden actuar como agentes reductores y encapsuladores formando nanopartículas de Ag estables. Además de que se puede controlar la forma para que estas mantengan o modifiquen sus propiedades químicas (Sifontes *et al.*, 2010).

1.2.3 Mecanismos de citotoxicidad.

Para valorar el efecto citotóxico potencial de las AgNP, se necesita indagar en la transformación química que ocurre cuando las AgNP viajan a través del entorno intracelular. El uso de AgNP basado en su propiedad química citotóxica ha recibido mucha atención como potentes agentes anticancerígenos o antibacterianos. A pesar de varias hipótesis disponibles, los mecanismos de las propiedades antibacterianas de las AgNP hasta el momento no se han establecido con claridad.

Los mecanismos citotóxicos propuestos se pueden resumir de la siguiente manera: (I) adhesión de AgNP a la superficie de la membrana de las células microbianas, modificando la bicapa lipídica o aumentando la permeabilidad de la membrana; (II) penetración intracelular de AgNP; (III) toxicidad celular inducida por AgNP desencadenada por la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y radicales libres, que dañan los microorgánulos intracelulares (es decir, mitocondrias, ribosomas y vacuolas) y biomoléculas que incluyen ADN, proteínas y lípidos; y (IV) modulación de vías de transducción de señales intracelulares hacia la apoptosis.

Los parámetros críticos, como la liberación de iones, el área superficial, la carga superficial, la concentración y el estado coloidal, pueden influir en las propiedades citotóxicas de las AgNP. (Lee & Jun, 2019)

Uno de los mecanismos de daño a las células que se ha propuesto es el mecanismo de toxicidad por la presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS), hay una alteración de las enzimas producidas en la cadena respiratoria a través de interacciones directas con grupos tiol en estas enzimas o la compactación del radical superóxido de las enzimas como el superóxido dismutasa. El nivel de ROS puede ser controlado por las defensas antioxidantes de las células y el exceso de la producción de ROS puede producir estrés oxidativo. La generación de radicales libres adicionales pueden atacar lípidos de membrana y conducir a una ruptura de la membrana y la función mitocondrial o provocar daños en el ADN (Kim y Ryu, 2013).

La toxicidad de las NP depende de sus propiedades biofísicas, incluido el tamaño, el área superficial, la carga superficial y el estado de agregación. Se ha demostrado que estas propiedades afectan la distribución y el depósito de NP en diferentes sistemas de órganos y alteran sus interacciones moleculares con diversas proteínas y otras macromoléculas. (Najahi-Missaoui *et al.*, 2020)

1.2.4 Mecanismos de acción de las AgNP sobre las bacterias.

Las Ag NP sintetizadas tienen ventajas antibacterianas, cuando los patógenos bacterianos clínicos fueron expuestos a AgNP, se observó que las nanopartículas han prohibido la función replicativa de las células al afectar la permeabilidad de la membrana y, finalmente, causar la muerte de las células al deteriorar el comportamiento de crecimiento celular. Las propiedades biológicas de las nanopartículas de plata dependen de sus recubrimientos; al respecto, se han propuesto varios mecanismos para ilustrar la actividad del ion plata o Ag NP sobre bacterias, mientras que entre ellos podemos referirnos a:

- I. Inhabilitando el respiratorio de cadenas.
- II. Alteración de la membrana celular y fuga de su contenido celular.
- III. Unión al grupo funcional de proteínas que causa la desnaturalización de proteínas y la muerte celular.
- IV. Bloqueo del ADN de la replicación.
- V. Desnaturalización de proteínas y muerte celular mediante unión a grupos funcionales de proteínas.

Debido a estas propiedades, se sabe que las Ag NP son un agente eficaz para matar una amplia gama de cepas resistentes a los antibióticos, incluidas las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. (Mousavi et al., 2018b). Inclusive en bacterias que presentan multiresistencia a diferentes antibióticos, se estudiaron bacterias Gram positivas como *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y Gram negativas como *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* y *Pseudomonas aeruginosa* (Paredes et al., 2014).

Uno de los mecanismos de acción de las AgNPs sobre bacterias, sugieren que el efecto bactericida es debido a una atracción electrostática entre la carga negativa de las células bacterianas y la carga positiva de las nanopartículas de plata. El primer punto de ataque de las AgNPs es interactuar con la pared celular bacteriana ya que pueden internalizarse las NPs generando daños por estrés oxidativo. Se cree que su alta afinidad por los grupos sulfuros o fosfóricos de la membrana celular es la clave para la propiedad bactericida, seguido además de la liberación de iones de plata que contribuye a la actividad antimicrobiana (Jung et al. 2008). Las nanopartículas se unen a la superficie de la membrana celular, interfiriendo en sus funciones principales como respiración, cambio de permeabilidad provocando un desequilibrio en la bomba de ATP y en el gradiente de protones, generando una disipación de la fuerza protón-motriz, además de desacoplar la cadena de transporte de electrones por inhibición de las enzimas involucradas en la cadena respiratoria, que finalmente conduce a la muerte celular (Lok, 2006).

Una vez que las AgNPs ingresan a la célula pueden interactuar con el ADN, proteínas y enzimas. La bacteria pierde la capacidad de replicación de su ADN y las proteínas celulares se inactivan. Al respecto se ha encontrado la presencia de ADN condensado en el citoplasma de *S. aureus* luego de la exposición a AgNPs. El ADN bacteriano se encuentra condensado formando un nucleóide; sin embargo, para llevarse a cabo la replicación del ADN de una

bacteria y su posterior división celular, el ADN debe relajarse, para permitir la síntesis de este. Ante una situación desfavorable o de estrés, como la presencia de las NP, el ADN se protege plegándose sobre sí mismo y no permite su replicación ni la posterior división celular (Ge *et al.*, 2014).

1.3 Objetivo general

Obtención de nanopartículas de plata (*AgNPs*) por medio de síntesis verde utilizando extractos de *Dysphania ambrosioides* (epazote), y *Justicia spicigera* (muicle) que presenten actividad antimicrobiana.

1.4 Objetivos específicos

1. Biosintetizar nanopartículas de plata con diferentes extractos de *Dysphania ambrosioides*, y *Justicia spicigera*.
2. Caracterizar fisicoquímicamente las *AgNPs*.
3. Determinar la actividad antimicrobiana de *AgNPs* sobre bacterias sensibles y multirresistentes a los antibióticos.

1.5 Hipótesis

Las nanopartículas de plata (*AgNPs*) por medio de síntesis verde utilizando extractos de *Dysphania ambrosioides* y *Justicia spicigera* (*muicle*) presentarán una eficiente actividad antimicrobiana.

1.6 Metodología

1.6.1 Tipo de estudio

Estudio experimental con el fin de sintetizar nanopartículas metálicas de plata además de añadir un medio reductor natural como los extractos de *J. spicigera* y *Dysphania ambrosioides*.

1.6.2 Material y métodos

1.6.2.1 Síntesis verde de las nanopartículas de plata.

Preparación de extractos

1.6.2.1.1 Obtención del extracto de muicle crudo

Para preparar *AgNPs* a partir de *J. spicigera*, se recolectaron hojas de esta planta, se lavaron con agua del grifo y luego con agua destilada para eliminar el polvo. Las hojas se cortaron en trozos pequeños, 20g de hojas de *J. spicigera* se mezclaron con 200ml de agua desionizada y calentada a 60°C durante 30 mín. Se filtraron en papel Whatman No.1 alrededor de 50 ml

de extracto acuoso de hojas de *J. spicigera* para eliminar el material particulado y obtener soluciones claras que luego se refrigeraron a 4°C durante 24 hrs para uso posterior.

1.6.2.1.2 Obtención del extracto de muicle deshidratado

Para preparar AgNPs a partir de *J. spicigera*, se recolectaron hojas de esta planta, se lavaron con agua del grifo y luego con agua destilada para eliminar el polvo. Las hojas se cortaron en trozos pequeños y se secaron en un horno eléctrico durante 24 h a los 50°C, 20g de hojas secas de *J. spicigera* se mezclaron con 200ml de agua desionizada y calentada a 60°C durante 30 min. Se filtraron en papel Whatman No.1 alrededor de 50 ml de extracto acuoso de hojas de *J. spicigera* para eliminar el material particulado y obtener soluciones claras que luego se refrigeraron a 4°C durante 24 hrs para uso posterior.

1.6.2.1.3 Obtención del extracto de epazote

Para la obtención del extracto de epazote, se recolectaron hojas de epazote fresco y se lavaron con agua del grifo y luego con agua destilada para eliminar el polvo. Después se dejaron secar en horno eléctrico durante 24 horas. De esta manera se obtuvieron 25 gramos de hojas deshidratadas las cuales se maceraron, posteriormente se añadieron en 125 ml de alcohol al 96% durante 72 hrs reposo a temperatura ambiente. Luego el extracto fue filtrado a través de papel Whatman No.1 y se obtuvieron 125 ml que fueron almacenados durante 24 hrs en refrigeración para su uso posterior.

1.6.2.1.4 Síntesis de nanopartículas

- a) Para las nanopartículas se utilizó AgNO₃ 0.01M, se agregaron bajo agitación magnética 0.0169 gr en 80 ml de agua desionizada y esta solución se colocó en un recipiente de 250 ml a una temperatura de 60°C durante 20 min. Posterior a eso fueron retiradas del agitador y placa caliente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y fueron almacenadas en refrigeración para su posterior aplicación.
- b) Nanopartículas de plata con muicle deshidratado 0,0169 g de AgNO₃ se disolvió en 80 ml de agua desionizada y esta solución se colocó en un recipiente de 250 ml bajo agitación magnética a 60°C durante 15 min y posteriormente se agregó 20 ml de extracto de muicle deshidratado y bajo agitación magnética se dejó durante 15 min más. Posterior a eso fueron retiradas del agitador y placa caliente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y fueron almacenadas en refrigeración para su posterior aplicación
- c) Nanopartículas de plata con muicle crudo 0,0169 g de AgNO₃ se disolvió en 80 ml de agua desionizada y esta solución se colocó en un recipiente de 250 ml bajo agitación magnética a 60°C durante 15 min y posteriormente se agregó 20 ml de extracto de muicle crudo y bajo agitación magnética se dejó durante 15 min más. Posterior a eso fueron

retiradas del agitador y placa caliente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y fueron almacenadas en refrigeración para su posterior aplicación

- d) Nanopartículas de plata con epazote 0,0169 g de AgNO_3 se disolvió en 80 ml de agua desionizada y esta solución se colocó en un recipiente de 250 ml bajo agitación magnética a 60°C durante 15 min y posteriormente se agregó 20 ml de extracto de epazote y bajo agitación magnética se dejó durante 15 min más. Posterior a eso fueron retiradas del agitador y placa caliente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y fueron almacenadas en refrigeración para su posterior aplicación
- e) Nanopartículas de plata con citrato de sodio al 1% 0,0169 g de AgNO_3 se disolvió en 80 ml de agua desionizada y esta solución se colocó en un recipiente de 250 ml bajo agitación magnética a 60°C durante 15 min y posteriormente se agregó 20 ml de citrato de sodio y bajo agitación magnética se dejó durante 15 min más. Posterior a eso fueron retiradas del agitador y placa caliente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y fueron almacenadas en refrigeración para su posterior aplicación

1.6.2.2 Caracterización Físicoquímica de Nanocompuestos de Plata.

Análisis de Espectro UV.

Se realizará un barrido espectrofotométrico UV de la solución de nanopartículas de plata de 200nm a 800nm en un espectrofotómetro marca Beckman Couter, realizando una dilución de la solución de nanopartículas de plata de 10 ml, más 90 ml de agua destilada. A partir de esta solución se tomarán 3 ml y se llevará a 100 ml con agua destilada. Se utilizará soluciones de referencia de los precursores de plata (nitrato o acetato) y se utilizará agua destilada como blanco.

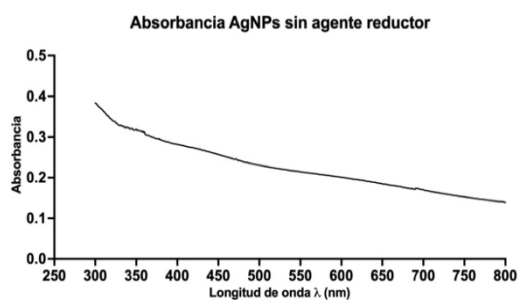


Figura 1. Espectro de absorción de AgNPs sin agente reductor a 2 meses desde su síntesis.

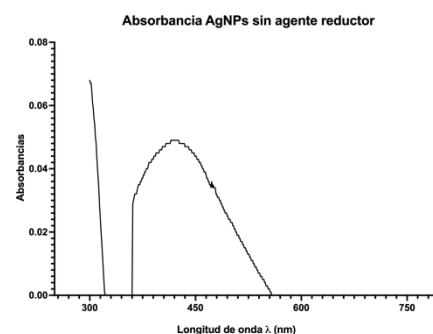


Figura 2. Espectro de absorción de AgNPs sin agente reductor a 7 meses desde su síntesis.

En las gráficas previas podemos diferenciar las diferentes longitudes de onda que nos arroja por medio de la espectrometría en nanopartículas de plata sin agente reductor, en la figura 1 la absorbancia máxima es de 0.315 y en la figura 2 la absorbancia máxima es de 0.067.

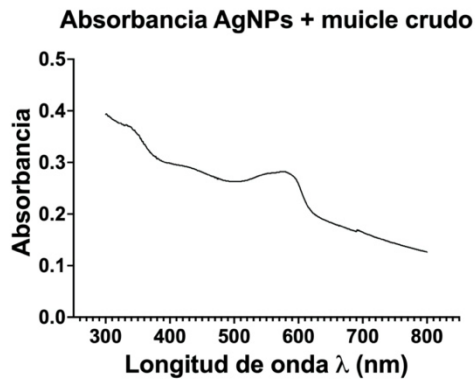


Figura 3. Espectro de absorción de AgNPs con muicle crudo como agente reductor a 2 meses desde su síntesis.

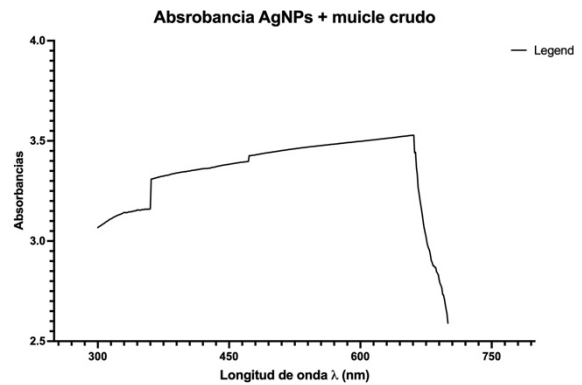


Figura 4. Espectro de absorción de AgNPs con muicle crudo como agente reductor a 7 meses desde su síntesis.

En la figura 3 nos muestra una longitud de onda que llega hasta los 800 nm con respecto a la figura 4 que tiene 7 meses desde su síntesis solo llegan hasta los 700 nm de longitud de la onda, en la figura 3 la absorbancia máxima que nos muestra es de 0.277 y en la figura 4 la absorbancia máxima es de 3.519.

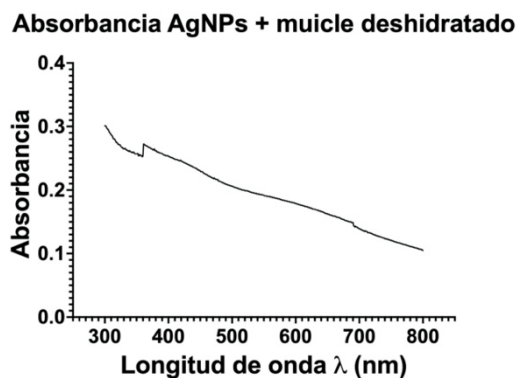


Figura 5. Espectro de absorción de AgNPs con muicle deshidratado como agente reductor a 2 meses desde su síntesis.

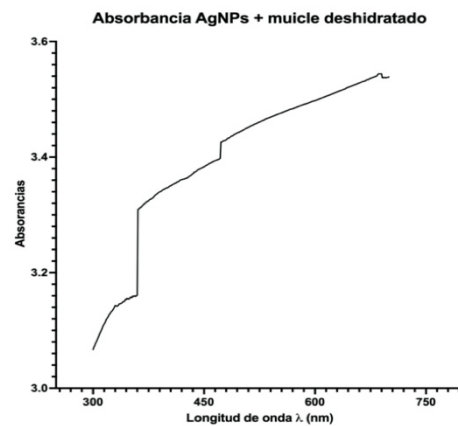


Figura 6. Espectro de absorción de AgNPs con muicle deshidratado como agente reductor a 7 meses desde su síntesis.

En las siguientes figuras se muestra nuevamente una diferencia en las longitudes de onda conforme más tiempo pasa respecto al día de la síntesis de las nanopartículas, la absorbancia máxima en la figura 5 es de 0.267 y la absorbancia máxima de la figura 6 es de 3.538.

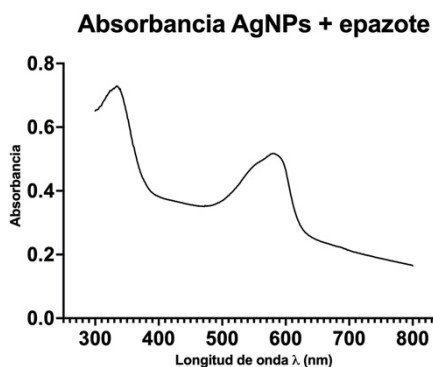


Figura 7. Espectro de absorción de AgNPs con epazote como agente reductor a 2 meses desde su síntesis.

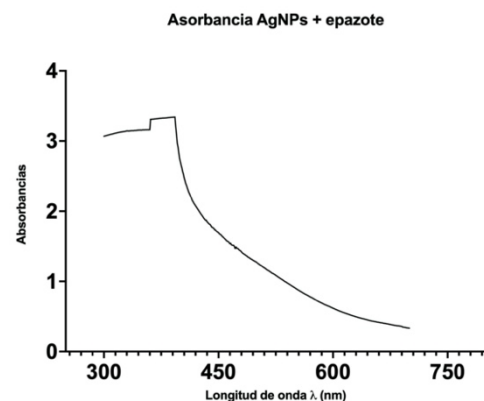


Figura 8. Espectro de absorción de AgNPs con epazote como agente reductor a 7 meses desde su síntesis.

Se observa en la *figura 7* una absorbancia máxima de 0.722 y en la *figura 8* se observa una absorbancia máxima de 3.342. Así mismo se reitera que la longitud de onda es más corta con respecto a la espectrometría que se realizó meses previos.

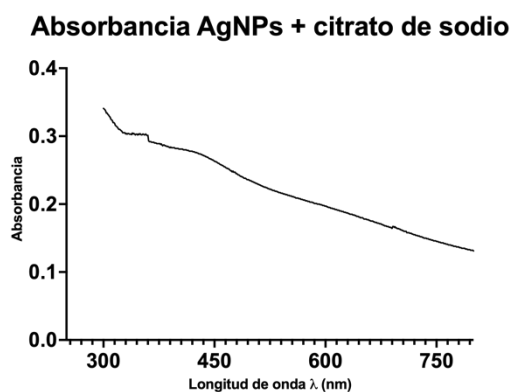


Figura 9. Espectro de absorción de AgNPs con citrato de sodio como agente reductor a 2 meses desde su síntesis.

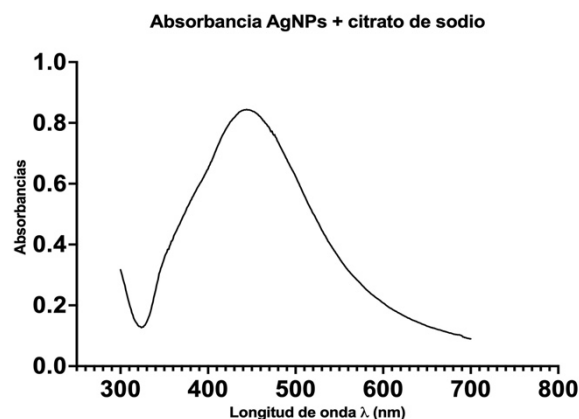


Figura 10. Espectro de absorción de AgNPs con citrato de sodio como agente reductor a 7 meses desde su síntesis.

La *figura 9* y *figura 10* claramente presentan diferentes morfologías y de igual manera un poco de diferencia en la longitud de onda, la absorbancia máxima de las nanopartículas de *la figura 9* es de 0.331 y la de *la figura 10* es de 0.841.

1.6.2.3 Medición de pH de las nanopartículas.

Soluciones	pH
Solución de AgNO ₃	6.19
Solución de AgNPs con extracto de muicle crudo	7.46
Solución de AgNPs con extracto de muicle deshidratado	7.74
Solución de AgNPs con extracto de epazote	6.34
Solución de AgNPs con citrato de sodio	6.93

1.6.2.4 Tamaño de partícula

Se realizó tamaño de partícula con equipo HORIBA (Laser Scattering Particle Size Distribution Analyzer LA-950) y se obtuvieron los siguientes resultados con nanopartículas de 7 meses de antigüedad desde su síntesis, así mismo se contraponen resultados de tamaño de partícula de nanopartículas recién sintetizadas.

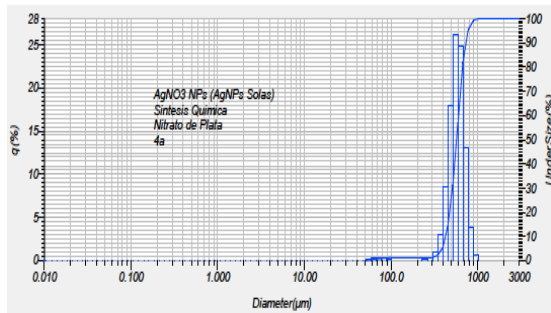


Figura 11. Tamaño de partícula de AgNO₃ de 7 meses de edad.

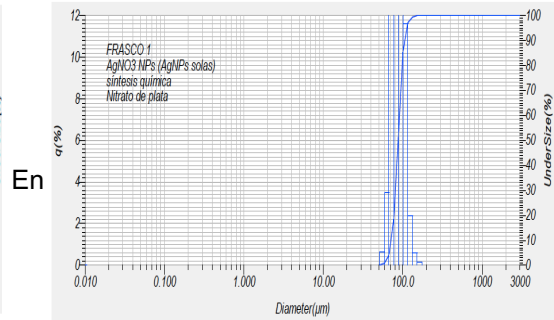


Figura 16. Tamaño de partícula de AgNO₃ de 3 días de edad.

En la *figura 11* el tamaño de partícula que se muestra es de 569.14 μm en comparación contra las que se pueden observar en la *figura 16* las cuales son de síntesis reciente con un tamaño de 87.70 μm .

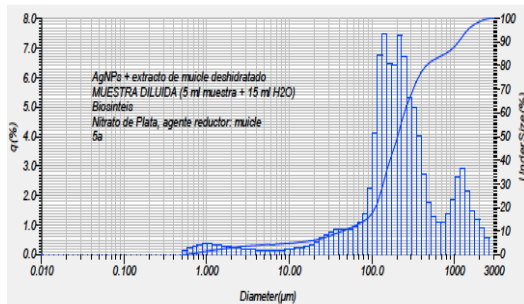


Figura 12. Tamaño de partícula de AgNP's + extracto de muicle deshidratado de 7 meses de edad.

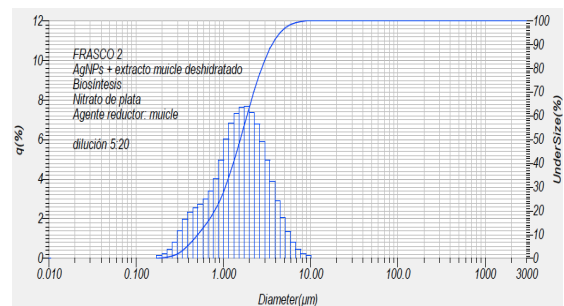


Figura 17. Tamaño de partícula de AgNP's + extracto de muicle deshidratado, de 3 días de edad.

En la *figura 12* el tamaño de partícula que se muestra es de 205.03 μm en comparación contra las que se pueden observar en la *figura 7* las cuales son de síntesis reciente con un tamaño de 1.56 μm .

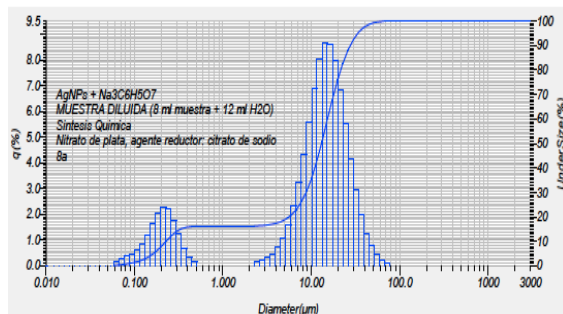


Figura 13. Tamaño de partícula de AgNP's + Na₃C₆H₅O₇, de 7 meses de edad.

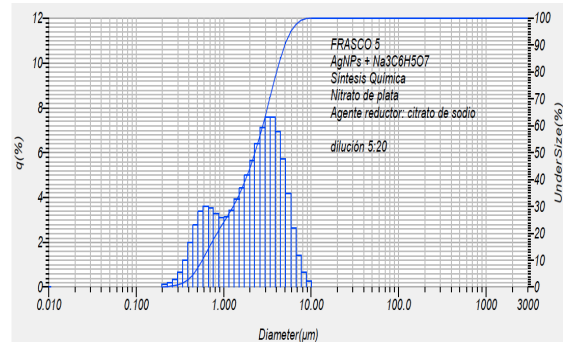


Figura 18. Tamaño de partícula de AgNP's + Na₃C₆H₅O₇, de 3 días de edad.

En la *figura 13* el tamaño de partícula que se muestra es de 13.085 μm en comparación contra las que se pueden observar en la *figura 18* las cuales son de síntesis reciente con un tamaño de 2.28 μm .

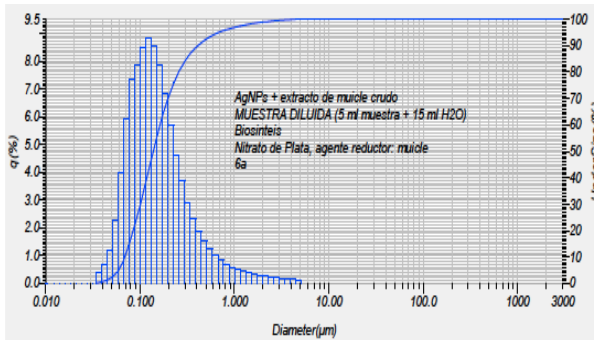


Figura 14. Tamaño de partícula de AgNP's + extracto de muicle crudo, de 7 meses de edad.

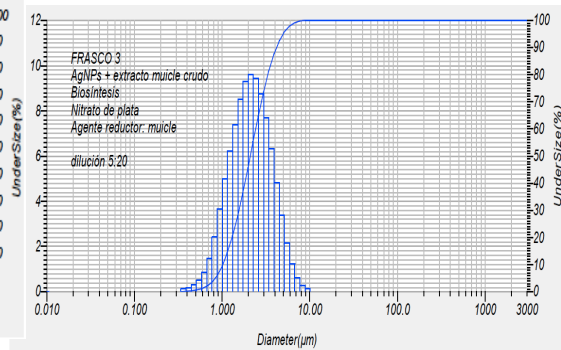


Figura 19. Tamaño de partícula de AgNP's + extracto de muicle crudo, de 3 días de edad.

En la *figura 14* el tamaño de partícula que se muestra es de 0.1382 μm en comparación contra las que se pueden observar en la *figura 19* las cuales son de síntesis reciente con un tamaño 2.10 μm .

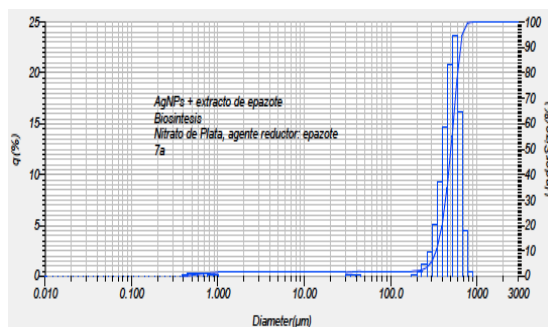


Figura 15. Tamaño de partícula de AgNP's + extracto de epazote de 7 meses de edad,

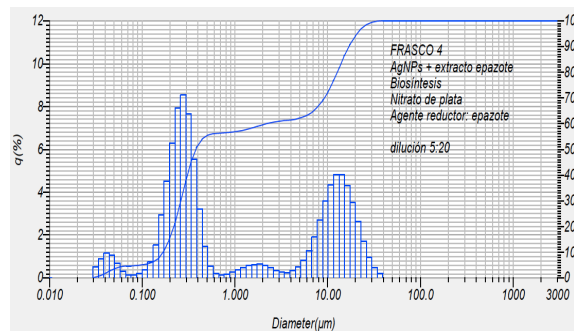


Figura 20. Tamaño de partícula de AgNP's + extracto de epazote, de 3 días de edad.

En la *figura 15* el tamaño de partícula que se muestra es de 499.18 μm en comparación contra las que se pueden observar en la *figura 20* las cuales son de síntesis reciente con un tamaño de 0.38 μm .

En la parte superior se muestran diferentes graficas en comparativa con tamaño de partícula de la síntesis de los compuestos propuestos en dicho trabajo, no se reportan tamaños nanométricos en ninguna de las dos lecturas ya sea en síntesis de partículas viejas o en síntesis de partículas de días previos a su evaluación. Si bien estas partículas son de pequeño tamaño, para que se consideren nanopartículas deben medir menos de 0.100 μm , lo cual no se ve reflejado en dichos resultados.

1.6.2.5 Prueba de las nanopartículas sobre agentes infecciosos

Los compuestos sintetizados se probaron para la inhibición contra bacterias patógenas humanas de importancia patológica para la OMS. Los ensayos microbianos se llevan a cabo por el método de Ramesh M et al. modificado. Se seleccionaron varias cepas de agentes infecciosos, tanto gram negativos como gram positivos como *Pseudomonas aeruginosa M1*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa M2*, y agentes fúngicos como *Candida albicans*. Todas las cepas bacterianas se enriquecieron en caldo soya nutritivo a 37 C durante 18–24 h. Después se ajustó la turbidez a 5 McFarland. Posteriormente se extendieron sobre la superficie de Agar Muller Hinton previamente ajustados mediante el uso de hisopos de algodón estériles. Luego se pipeteó 30 mcg en una fosa de aproximadamente 6 mm, y se permitió que el solvente se diseminara. Las

placas se incubaron durante 24 h a 37°C. Los crecimientos bacterianos y fúngicos inhibidos fueron observados como halos claros (zonas) alrededor de la fosa. La actividad antimicrobiana se midió como el diámetro de la zona de inhibición excluyendo el diámetro de la fosa. La zona de inhibición se observó después de 24 h.

1.6.2.6 Concentración mínima inhibitoria

Para determinar la concentración mínima inhibitoria de los compuestos frente a las diferentes bacterias se prepararon una serie de tubos con medio de cultivo líquido, en este caso Müller–Hinton, el cual contenían diferentes diluciones seriadas al doble del antibiótico a ensayar. Para ello, se toman 7 tubos por cada bacteria y variables de los diferentes compuestos que se sintetizaron de nanopartículas a ensayar y se marcó cada uno con el nombre de la bacteria, el compuesto y la concentración final de antibiótico, que va a oscilar entre 0,5 y 64 µg/ml. Asimismo, un tubo se marcará como cero, ya que no contendrá ningún compuesto. Al tubo marcado como 0,5 se le adicionaron 100 µl de la solución que contiene 10 µg/ml de compuesto antibacteriano; al tubo marcado como 1 se le adicionaron 100 µl de la solución de cada compuesto antibacteriano que contiene 20 µg/ml, y así sucesivamente hasta obtener cada dilución. Al tubo marcado como 0 se le adicionaron 100 µl de agua estéril. Una vez preparados todos y cada uno de los tubos, se adicionaron 100 µl de la bacteria a ensayar, y se incubaron a 37°C durante 24 h obteniendo los siguientes resultados presentados en la *tabla 1*.

Tabla 1. Concentración mínima inhibitoria de los diferentes compuestos frente a diferentes bacterias.

Nanoparticulas AgNO ₃	
Bacterias	Concentración mínima inhibitoria
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4.22X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Candida albicans</i>	4.22X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Escherichia coli</i>	4.22X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	8.45X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	4.22X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.22X10 ⁻⁴ gr/ml
AgNPs con muicle crudo como agente reductor	
Bacterias	Concentración mínima inhibitoria
<i>Acinetobacter baumannii</i>	8.45X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Candida albicans</i>	4.22X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Escherichia coli</i>	5.63X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	4.22X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	8.45X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.22X10 ⁻⁴ gr/ml
AgNPs con muicle deshidrtado como agente reductor	
Bacterias	Concentración mínima inhibitoria
<i>Acinetobacter baumannii</i>	8.45X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Candida albicans</i>	8.45X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Escherichia coli</i>	8.45X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	2.64x10 ⁻⁵ gr/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	8.45X10 ⁻⁴ gr/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8.45X10 ⁻⁴ gr/ml
AgNPs con epazote como agente reductor	
Bacterias	Concentración mínima inhibitoria
<i>Acinetobacter baumannii</i>	< 2.64x10 ⁻⁵ gr/ml
<i>Candida albicans</i>	< 2.64x10 ⁻⁵ gr/ml
<i>Escherichia coli</i>	< 2.64x10 ⁻⁵ gr/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	< 2.64x10 ⁻⁵ gr/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	< 2.64x10 ⁻⁵ gr/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	< 2.64x10 ⁻⁵ gr/ml

1.7 Análisis de resultados

A partir de la síntesis de las nanopartículas se probó su actividad antimicrobiana obteniendo los siguientes resultados.

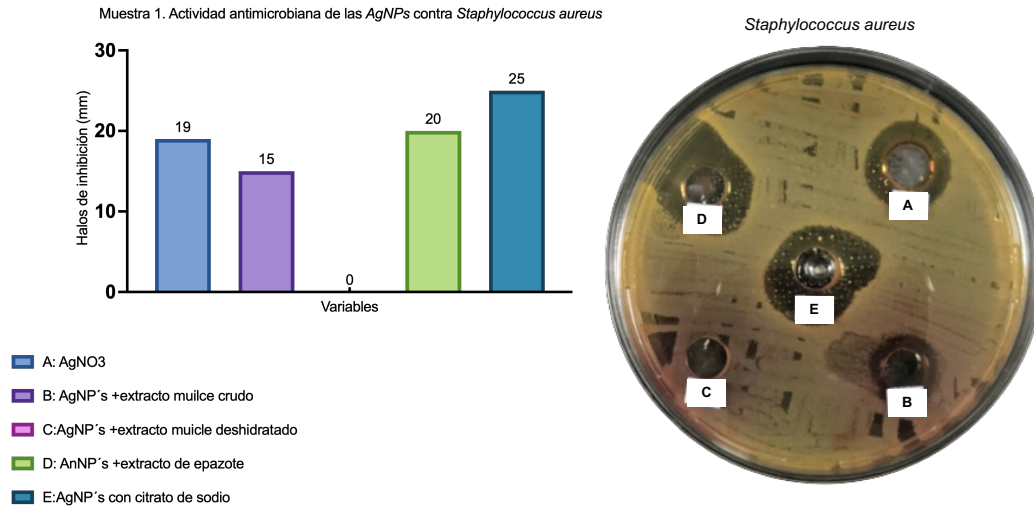


Figura 21: Actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*.

En la figura 21 podemos apreciar la actividad que tienen los diferentes compuestos contra *Staphylococcus aureus*, se aprecia de primera instancia muy buenos halos de inhibición con cuatro de las 5 muestras. Las nanopartículas de plata con agente reductor de muilce crudo no presentan ningún efecto de inhibición bacteriana, al contrario de las nanoparticuas de plata con citrato de sodio como agente reductor es quien presenta mayor actividad al inhibir hasta 25 mm, en segundo lugar la plata con el epazote con halo de 20 mm y en tercer lugar el nitrato de plata con 19 mm de halo inhibitorio.

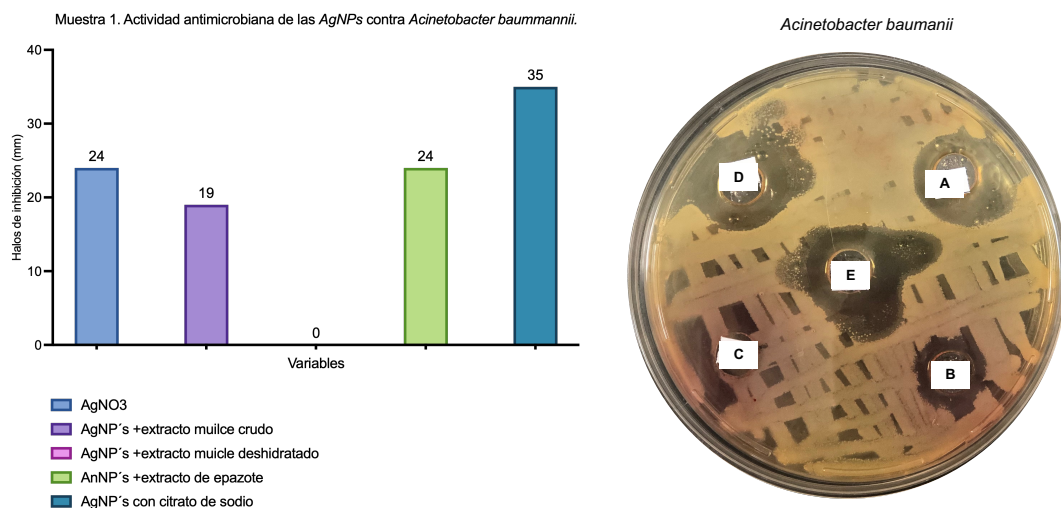


Figura 22: Actividad antibacteriana contra *Acinetobacter baumannii*.

En la figura 22 podemos apreciar la actividad de los diferentes compuestos contra *Acinetobacter baumannii*, en los cuales obtuvimos excelentes resultados siendo la plata con el citrato de sodio

como agente reductor quien inhibe de manera mas satisfactoria a dicha bacteria con 35 mm de halo de inhibición, en segundo lugar la plata con epazote como agente reductor presenta un halo de inhibición de 24 mm y por ultimo el nitrato de plata presenta 24 mm de halo de inhibición, en el caso de la plata con el muicle crudo como agente reductor no presenta ninguna acción antibacteriana.

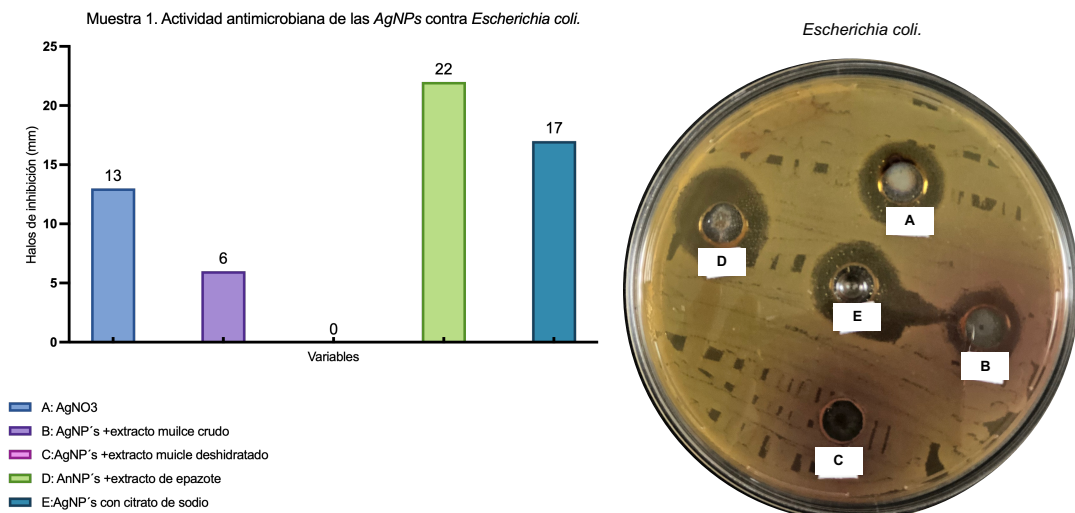


Figura 23: Actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*.

En la figura 23 encontramos la actividad de los diferentes compuestos contra *Escherichia coli*, donde podemos resaltar que a diferencia de la figura 21 y 22 quien presenta mayor actividad antibacteriana contra esta bacteria es la plata con epazote como agente reductor dando así un halo de inhibición significativo de 22 mm, en segundo lugar está la plata con citrato de sodio como agente reductor con 17 mm de halo y en tercer lugar el nitrato de plata con 13 mm de halo. La plata con muicle crudo como agente reductor, no presenta actividad alguna.

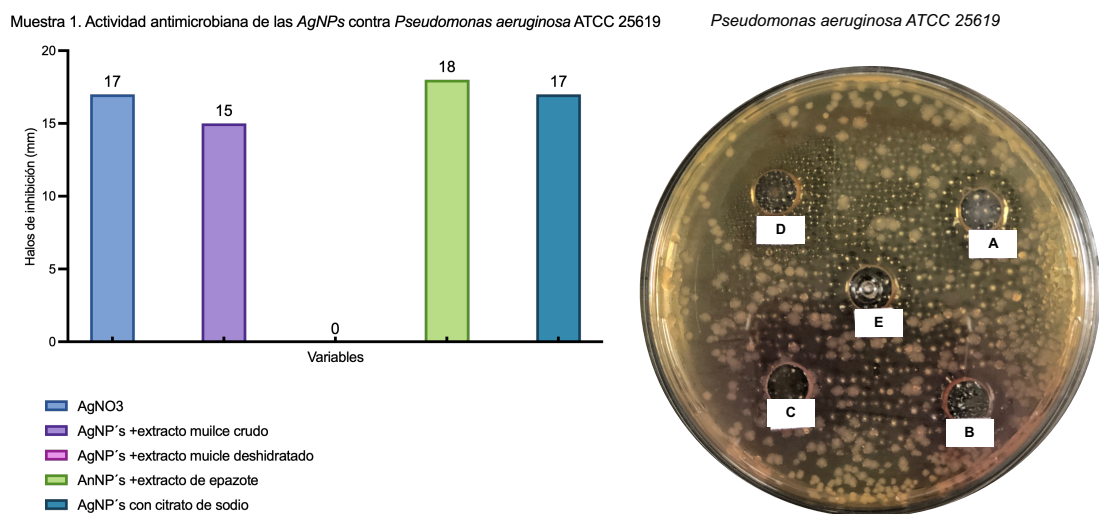


Figura 24: Actividad antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619.

En la *figura 24* se aprecia nuevamente la actividad antibacteriana de los diferentes compuestos contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619, siendo nuevamente relevante la actividad de la palta con el epazote como agente reductor ya que presenta un halo de inhibición de 18 mm, en comparación de la plata con citrato de sodio como agente reductor y el nitrato de plata ya que ambos presentan halo de inhibición de 17 mm. Nuevamente la plata con muicle crudo como agente reductor no presenta actividad antibacteriana.

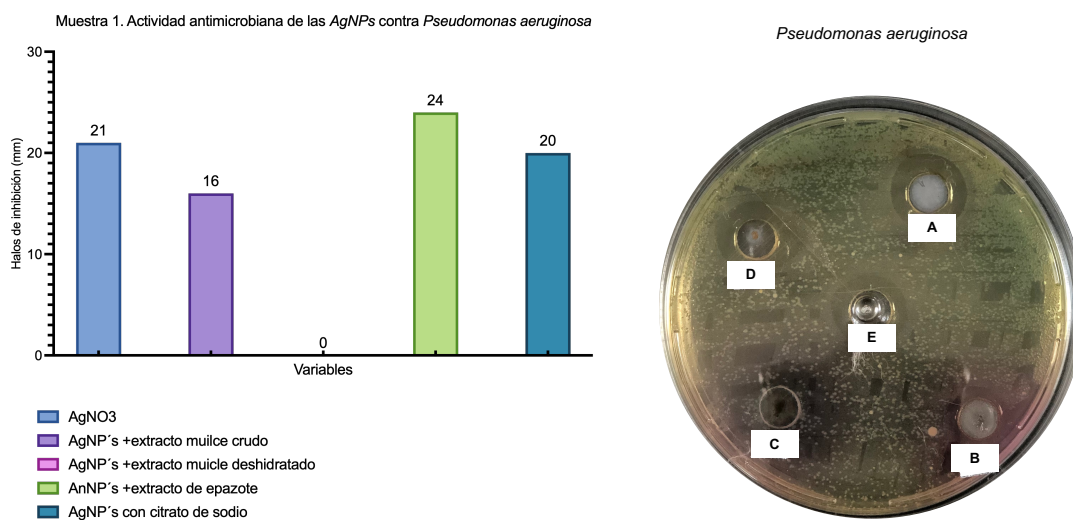


Figura 25: Actividad antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa*.

En la *figura 25* podemos observar la actividad de los compuestos contra otra cepa de *Pseudomonas aeruginosa* donde encontramos que la mayor inhibición es dada por la plata con epazote como agente reductor reportando un halo de 24 mm, en segundo lugar, el nitrato de plata con un halo de 21 mm y en tercer lugar la plata con citrato de sodio como agente reductor con 20 mm. La plata con muicle crudo no reporta ningún halo de inhibición.

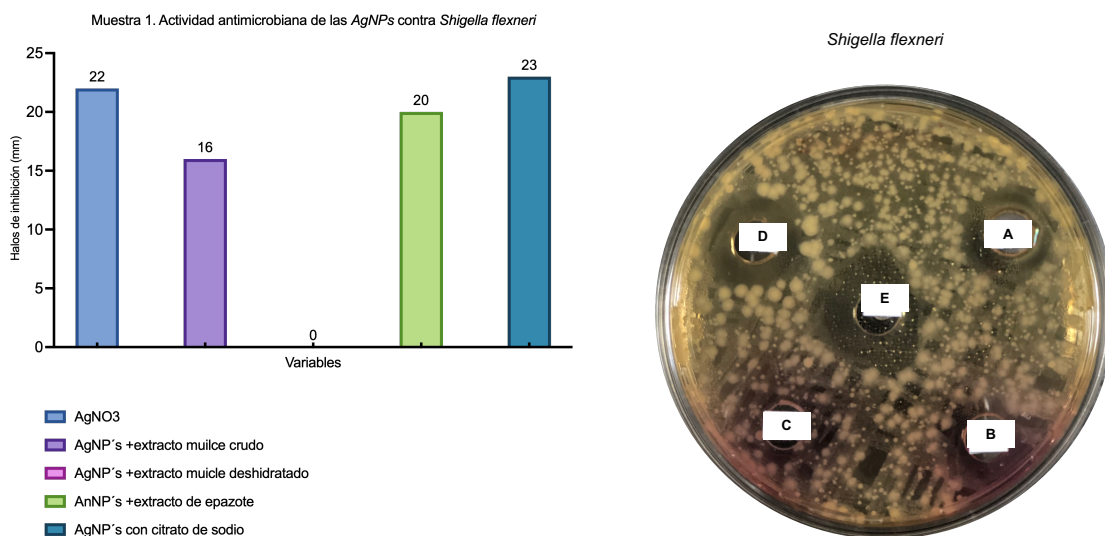


Figura 26: Actividad antimicrobiana contra *Shigella flexneri*.

La figura 26 nos muestra la actividad antibacteriana contra *Shigella flexneri*, a diferencia de las 2 figuras previas, aquí resalta la actividad de la plata con citrato de sodio como agente reductor y el nitrato de plata por sobre la plata con epazote como agente reductor ya que el primero posee un halo de 23 mm, nitrato de plata 22 mm y la plata con el epazote como agente reductor un halo de 20 mm.

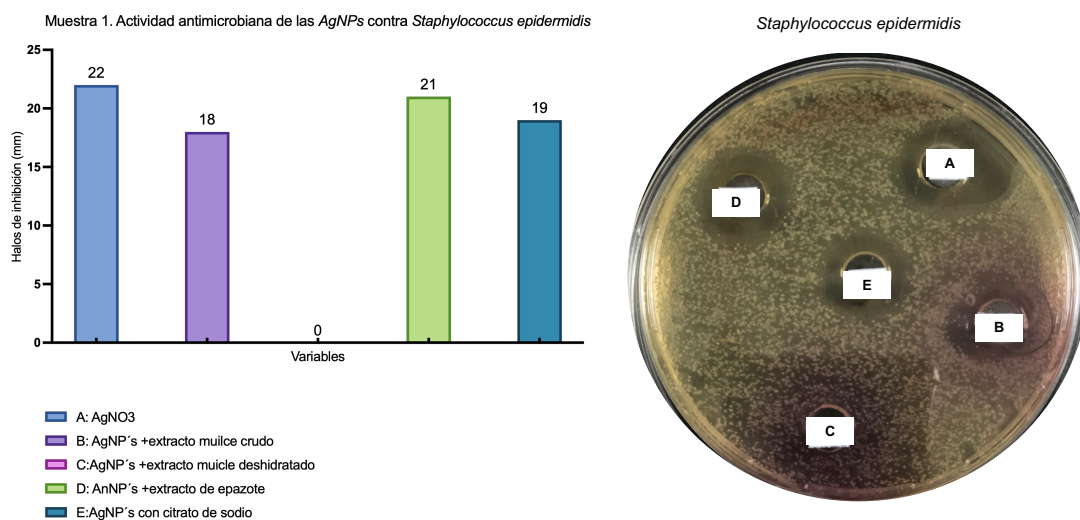


Figura 27: Actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus epidermidis*

La figura 27 nos muestra la actividad de los diferentes compuestos contra *Staphylococcus epidermidis* donde resalta el nitrato de plata como el agente que mayor actividad inhibitoria presentó con un halo de 22 mm, en segundo lugar la plata con el epazote como agente reductor con 21 mm de halo inhibitorio así como plata con citrato de sodio presentó un halo de 19 mm. Se reitera que el muilce crudo como agente reductor no tiene ninguna actividad antibacteriana.

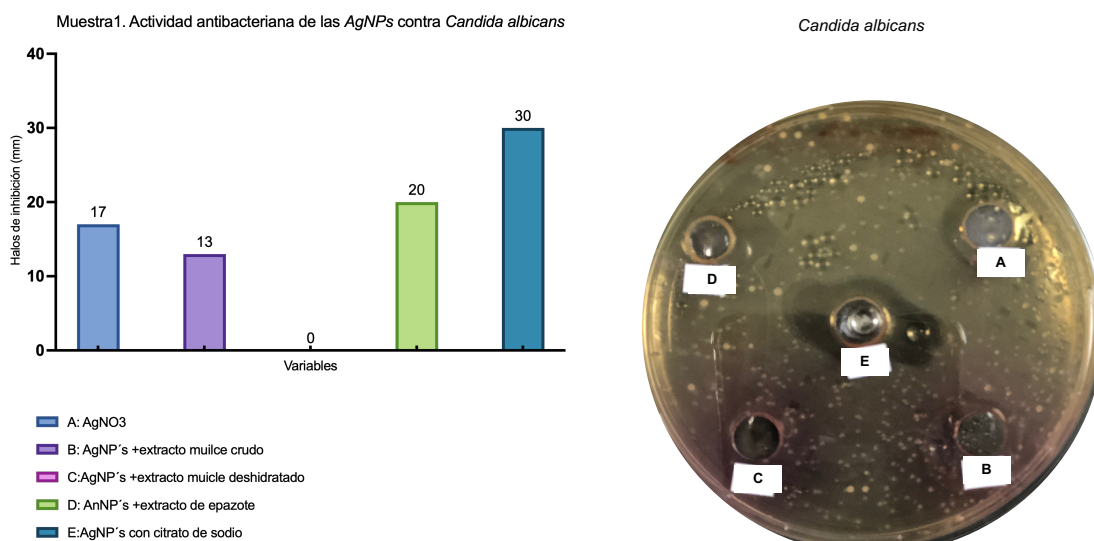
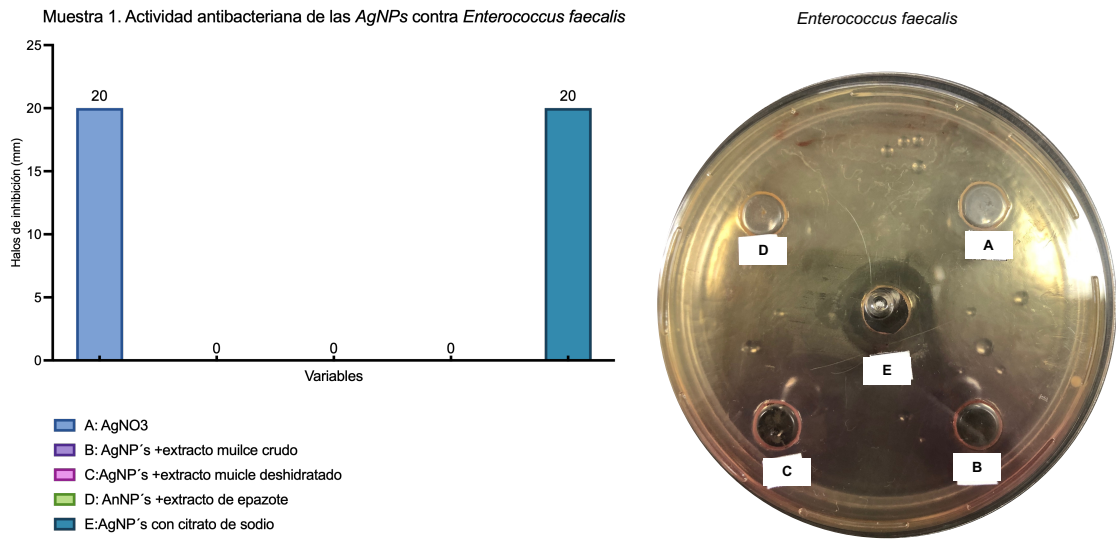


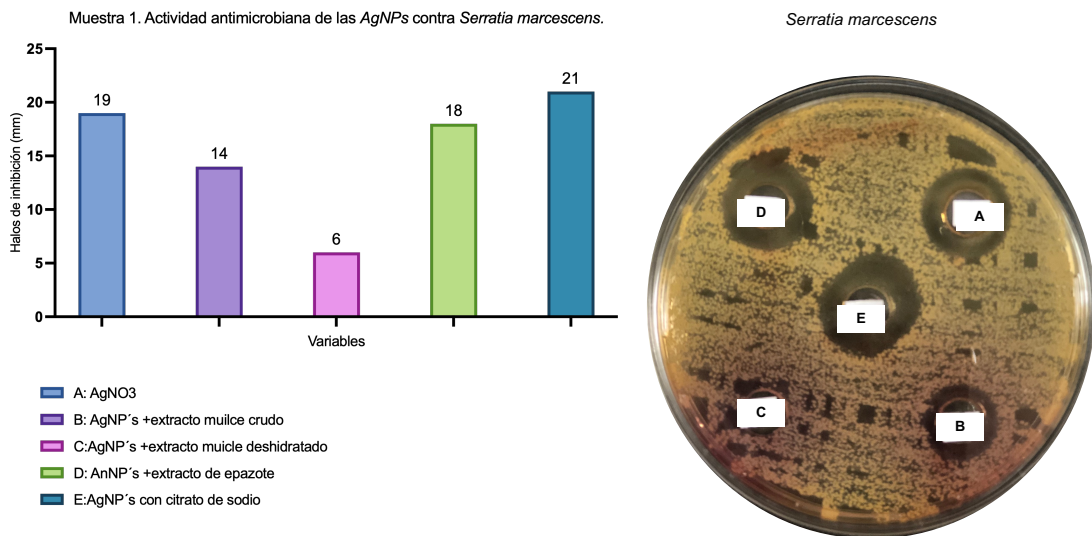
Figura 28: Actividad antimicrobiana contra *Candida albicans*

En el caso de la figura 28 podemos ver el efecto que tienen las variables sobre la *Candida albicans*, siendo la plata con citrato de sodio como agente reductor el que muestra una notoria

actividad antimicrobiana, en este caso de 30 mm de halo de inhibición, en segundo lugar la plata con el epazote como agente reductor con 20 mm y en tercer lugar el nitrato de plata con 17 mm de halo inhibitorio.

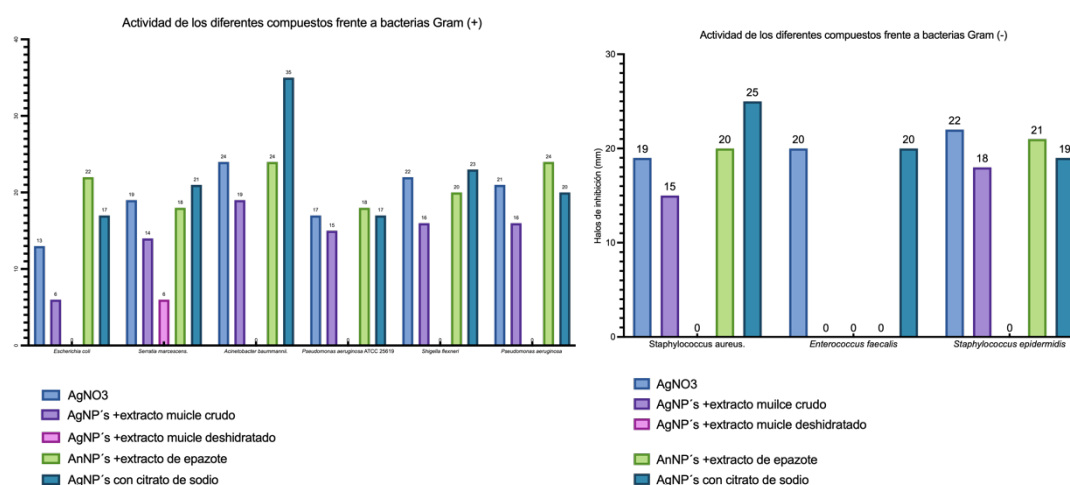


En la figura 29 podemos observar notoriamente que los diferentes compuestos que se sintetizaron solo dos de ellos tuvieron actividad antibacteriana contra *Enterococcus faecalis* como es el caso y con mismo halo de inhibición en este caso de 20 mm tanto nitrato de plata como la plata con el citrato de sodio como agente reductor.



En la figura 30 podemos apreciar a diferencia de las previas que todas y cada una de las variables presentaron actividad antibacteriana contra *Serratia mrcescens* de los cuales la variable que muestra mayor actividad es la plata con el citrato de sodio con 21 mm de halo de inhibición, en

segundo lugar en nitrato de plata presento un halo de 19 mm de inhibición, y en tercer lugar la plata con epazote como agente reductor presento un halo de 18 mm de inhibición.



Gráfica 1. Actividad antimicrobiana de los diferentes compuestos sobre bacterias gram positivas y gram negativas.

En la *gráfica 1* se muestra en resumen la actividad antimicrobiana de los diferentes compuestos por sobre todas las bacterias que se utilizaron separándose tanto en gram positivas como en gram negativas.

A partir de los resultados que se muestran se puede concluir que las *AgNPs* en combinación con el extracto de muicle (*J. spicigera*) deshidratado muestran actividad antibacteriana nula. El resto de las muestras presentan actividad antibacteriana siendo la combinación de las *AgNPs* con el citrato de sodio la que es más significativa con respecto a las otras cuatro.

En cuanto a las *AgNPs* con el extracto de epazote (*Dysphania ambrosioides*) presenta mayor actividad antibacteriana respecto a las *AgNPs* con extracto de muicle (*J. spicigera*) crudo.

El que presentó mayor halo inhibitorio fueron las *AgNPs* + citrato de sodio contra *Acinetobacter*, *C. Albicans* y *S. aureus*. En segundo lugar quien presentó halos de inhibición significativos fueron las *AgNPs* + extracto de epazote (*Dysphania ambrosioides*) contra *Acinetobacter*, *Campylobacter* y *E.Coli*. En tercer lugar, los halos de inhibición que presentó la solución de *AgNPs* sola fue mayor su efecto respecto a la solución de *AgNPs* + extracto de muicle (*J. spicigera*) deshidratado; siendo su efecto más eficaz contra *Acinetobacter*, *S. epidermidis*, *S. flexneri*.

Como se observa el extracto de muicle tanto crudo como deshidratado representa poca actividad antimicrobiana con respecto a los otros compuestos.

1.7.1 Estabilidad de partícula

Para comprobar si aún se tenía actividad antimicrobiana los diferentes compuestos biosintetizados se probaron posterior a 7 meses y se obtuvieron los siguientes resultados.

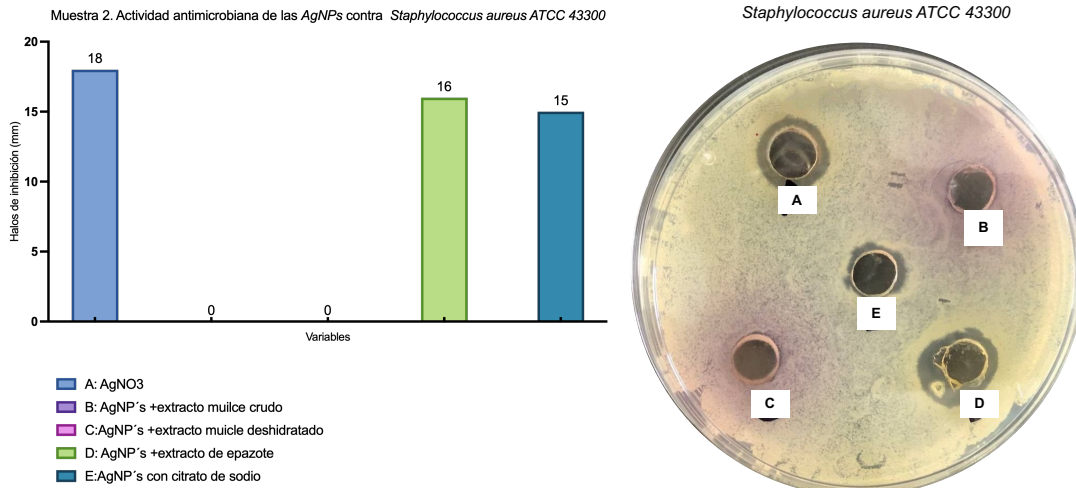


Figura 31: Actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

En la figura 31 podemos observar que los halos de inhibición contra *S. aureus* ATCC 43300 predomina el AgNO₃ con 18 mm de inhibición en segundo lugar la palta con el epazote como agente reductor con 16 mm y en tercer lugar la plata con el citrato de sodio como agente reductor con 15 mm de halo de inhibición.

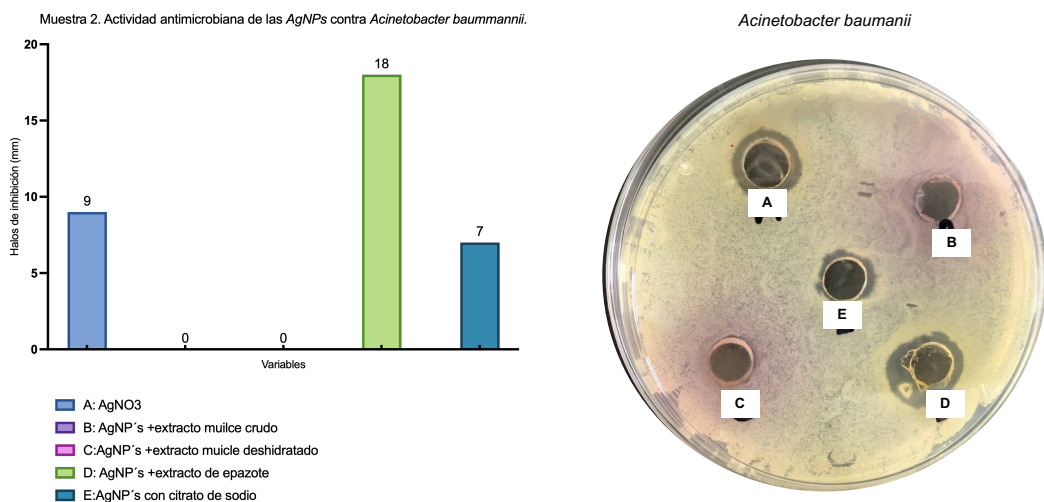


Figura 32: Actividad antimicrobiana contra *Acinetobacter baumannii*.

En la figura 32 podemos observar que la actividad antimicrobiana contra *Acinetobacter baumannii* es notoria con la plata con epazote con epazote como agente reductor con 18 mm de

halo de inhibición, en segundo lugar, está el AgNO₃ con 9 mm de halo y en tercer lugar la plata con el citrato de sodio como agente reductor con 7 mm de halo.

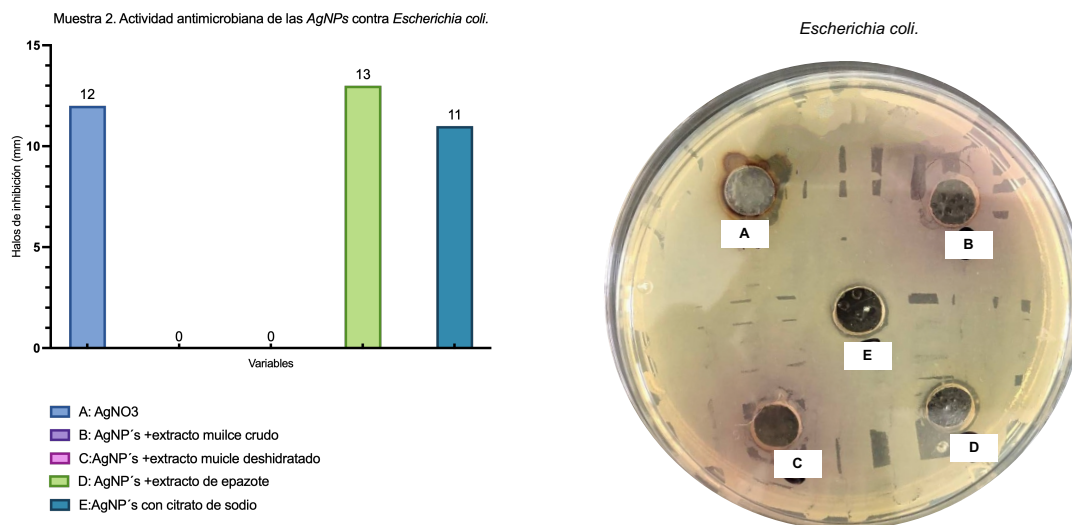


Figura 33: Actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*.

En la figura 33 podemos observar la actividad antibacteriana de los diferentes compuestos contra *Escherichia coli* donde resalta a la actividad que tiene la plata con epazote como agente reductor con 13 mm de halo, así como AgNO₃ con 12 mm de halo y en tercer lugar la plata con citrato de sodio como agente reductor con 11 mm de halo de inhibición.

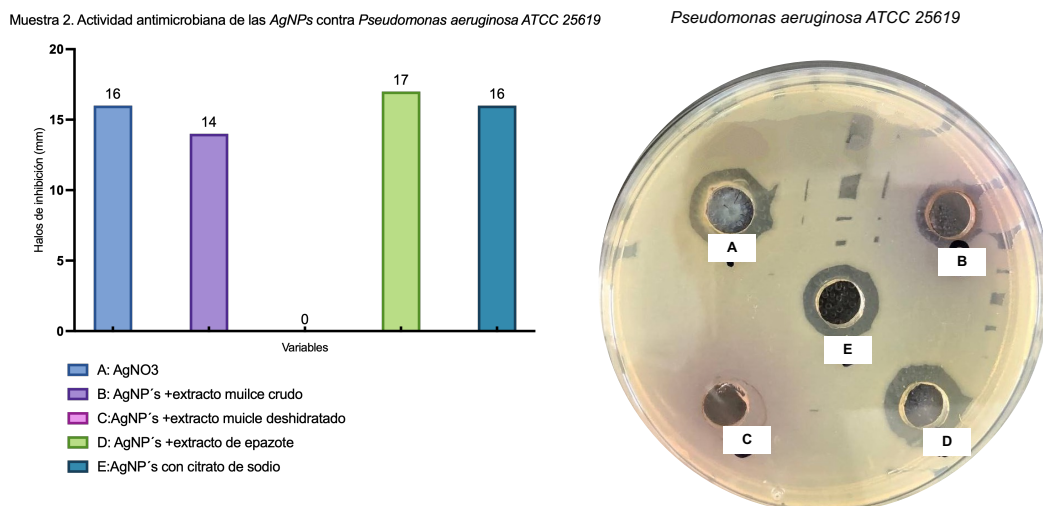


Figura 34: Actividad antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619.

En la figura 34 podemos observar la actividad que presentan los compuestos sobre la *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619, donde todos presentan actividad a excepción de la plata con muilce deshidratado como agente reductor. La plata con el epazote como agente reductor es quien muestra mayor actividad con 17 mm de halo de inhibición, en segundo y tercer lugar tanto la AgNO₃ y la plata con el citrato de sodio como agente reductor presentan 16 mm de halo de inhibición.

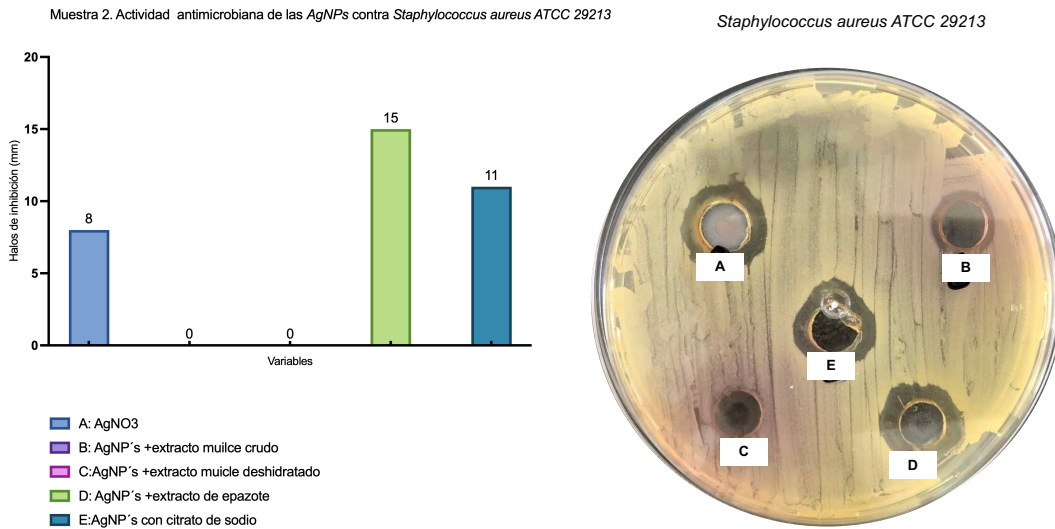


Figura 35: Actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

En la figura 35 se aprecia la actividad antimicrobiana de los diferentes compuestos sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, donde la plata con epazote como agente reductor presenta un halo de inhibición de 15 mm, en segundo lugar, se encuentra la plata con citrato de sodio como agente reductor con 11 mm de halo de inhibición y en tercer lugar AgNO₃ con 8 mm de halo inhibitorio.

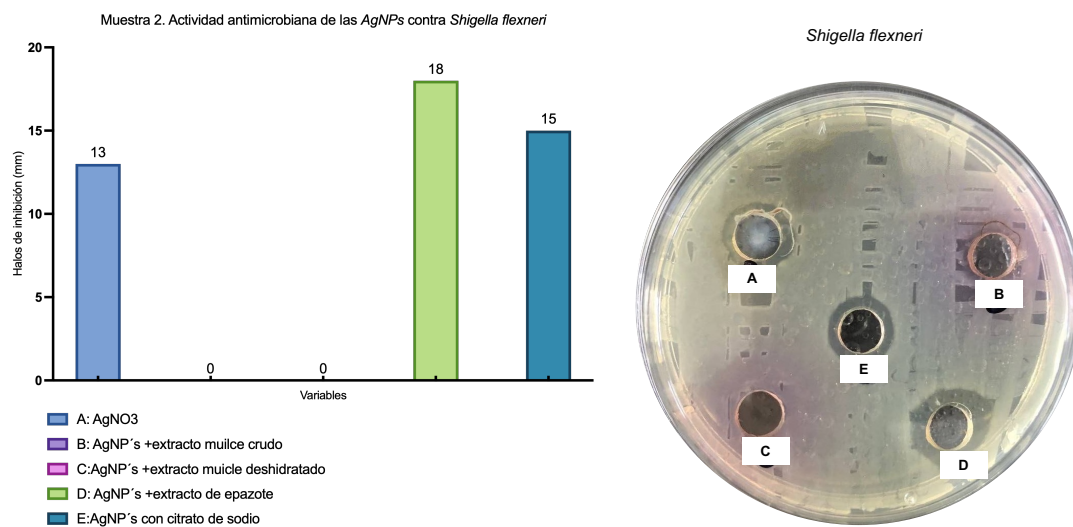


Figura 36: Actividad antimicrobiana contra *Shigella flexneri*.

La figura 36 nos muestra a actividad antimicrobiana contra *Shigella flexneri* donde el compuesto que presenta mayor actividad es la plata con epazote como agente reductor con 18 mm, así como la plata con citrato de sodio como agente reductor con 15 mm y en tercer lugar AgNO₃ con 13 mm de halo de inhibición.

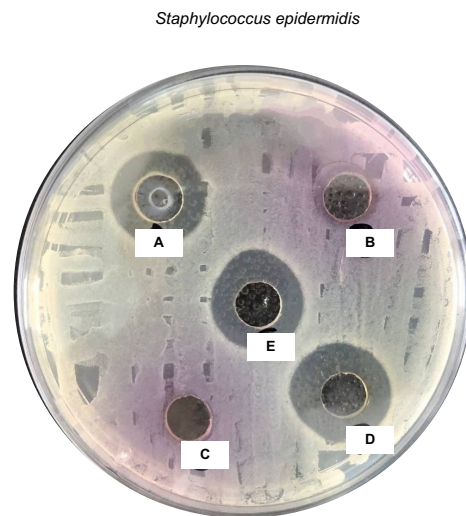
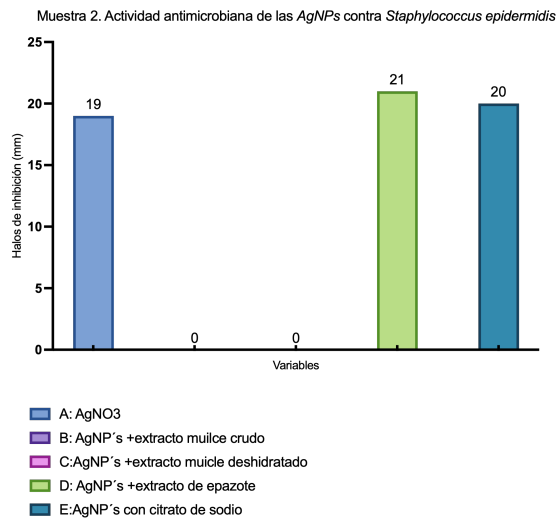


Figura 37: Actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus epidermidis*

En el caso de la *figura 37* podemos observar la actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus epidermidis* donde el compuesto que mayor actividad tiene es la plata con el epazote como agente reductor presentando un halo de 21 mm de inhibición, en segundo lugar, la plata con citrato de sodio como agente reductor con 20 mm y en tercer lugar AgNO₃ con 19 mm de halo de inhibición.

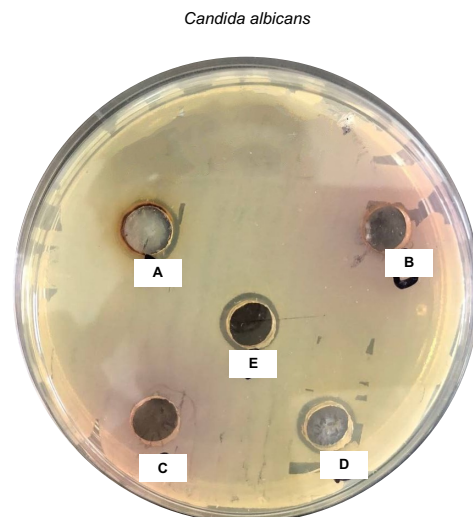
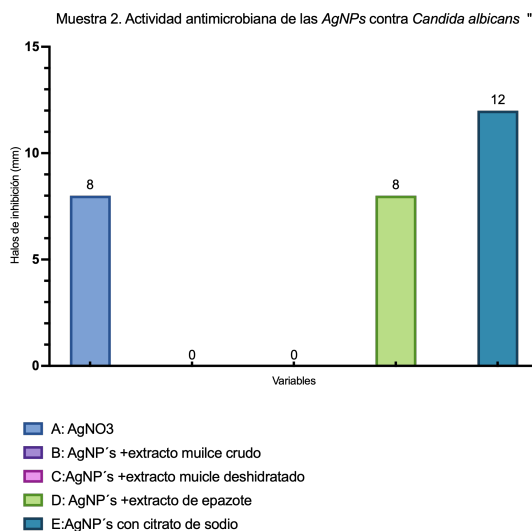
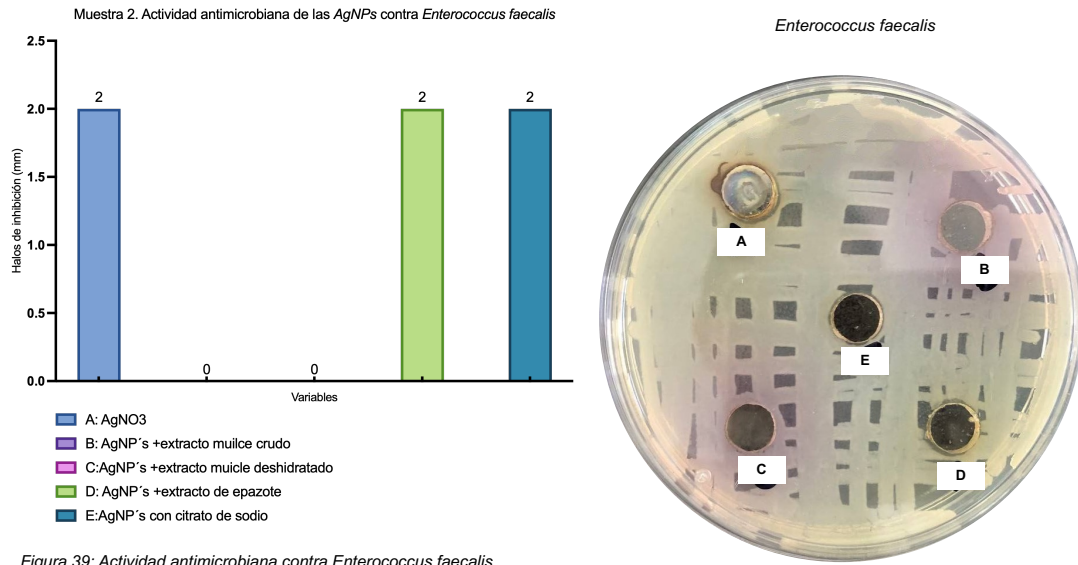


Figura 38: Actividad antimicrobiana contra *Candida albicans*

La *figura 38* nos muestra la actividad antimicrobiana de los compuestos contra *Candida albicans* donde la plata con el citrato de sodio como agente reductor es quien muestra mayor actividad inhibitoria con 12 mm de halo e inhibición, en segundo lugar, la plata con epazote como agente reductor y AgNO₃ presentan a la par el mismo halo de inhibición siendo este de 8 mm respectivamente.



Por último, la *figura 39* nos muestra la actividad antimicrobiana de los diferentes compuestos sobre *Enterococcus faecalis*, donde la actividad antimicrobiana de los compuestos es mínima respecto a la actividad de los mismos compuestos frente a otras bacterias, ya que el halo de inhibición que se muestra es de 2 mm.

Como bien se pudo apreciar, es notoria la actividad que presentan los diferentes nanocompuestos frente a las bacterias descritas ya que dichos compuestos tienen 7 meses de antigüedad desde sus síntesis, por lo que se puede concluir que la actividad antimicrobiana es buena aun por lo menos medio año.

Cabe resaltar que a diferenciar que las nanopartículas recién sintetizadas quien presentaba mayor efecto sobre las diferentes bacterias era la plata con citrato de sodio como agente reductor y se encontró que pasados los 6 meses desde la síntesis de dichas nanopartículas quien sigue presentando buena actividad antimicrobiana es la plata con el epazote como agente reductor ya que la AgNO₃ y la plata con citrato de sodio si reducen su actividad con el paso del tiempo mientras que las nanopartículas con epazote se mantienen estables y con actividad significativa.

Los compuestos que menos actividad presentan son los que utilizan muilce ya sea crudo o deshidratado como agente reductor.

Por lo tanto, podemos mencionar que las nanopartículas tienen una adecuada estabilidad y que varían dependiendo de su agente reductor, pero si presentan actividad antibacteriana.

1.8 Conclusiones de la investigación

Se logró sintetizar diferentes nanopartículas de plata utilizando diferentes compuestos naturales como agentes reductores, en este caso el epazote (*Dysphania ambrosioides*) y el muicle (*Justicia spicigera*) de los cuales quien mayor actividad antimicrobiana lo presentaron las nanopartículas de plata con epazote como agente reductor.

Al realizar la caracterización de los diferentes compuestos, se realizó medición de la absorbancia, medición de pH, así como el tamaño de partícula por diferentes métodos previamente descritos.

Con respecto a la absorbancia, se realizó una comparativa entre la absorbancia de nanopartículas jóvenes (de reciente síntesis) comparándola contra los mismos compuestos, pero posterior a siete meses desde su síntesis, lo que arrojó resultados tales como que la longitud de onda tanto las de reciente síntesis como las de siete meses posterior a la síntesis oscilan de los 250 nm hasta los 750 nm siendo más corta la longitud de onda de los compuestos más viejos.

En cuanto a la absorbancia, se registró que de los compuestos más jóvenes van desde 0.267 abs hasta los 0.337 abs los cuales presentan gran diferencia con respecto a los que llevan siete meses posterior a la síntesis que va de 0.062 hasta 3.538 de abs.

En cuanto al pH de los diferentes compuestos podemos concluir que en general las sustancias son acidas siendo el compuesto más ácido las nanopartículas de nitrato plata con un pH de 6.19 y la más alcalina las nanopartículas de plata con muicle deshidratado como agente reductor con un pH de 7.74 por lo que al utilizar los diferentes compuestos para diversas aplicaciones serían muy versátiles y seguros sobre todo en tejidos sensibles.

También se realizó la medición del tamaño de partícula, sin embargo, no se reportan tamaños nanométricos en ninguna de las dos lecturas ya sea en síntesis de partículas viejas o en síntesis de partículas de días previos a su lectura. Si bien estas partículas son de pequeño tamaño, para que se consideren nanopartículas deben medir menos de 0.100 μm , lo cual no se ve reflejado en dichos resultados.

Así mismo se realizaron diferentes pruebas para evaluar la actividad antimicrobiana de los diferentes compuestos encontrando que los compuestos que presentan mayor actividad antimicrobiana son la solución de AgNO_3 , la solución de plata con epazote como agente reductor y la plata con citrato de sodio como agente reductor, de las cuales las que mayor actividad tuvieron fue la plata con citrato de sodio como agente reductor, sin embargo al hacer las pruebas con diferentes bacterias para probar la estabilidad de partícula de las mismas soluciones pero posterior a siete meses desde su síntesis se encontró que la solución de plata con citrato de sodio reducía su actividad antimicrobiana a diferencia de la solución de partículas de plata con epazote como agente reductor, este mantuvo actividad inhibitoria importante ya que mostro actividad sobre bacterias tales como *S. aureus* ATCC 43300, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619, por mencionar algunas.

A pesar de que las nanopartículas que se sintetizarían a inicio de esta investigación no cumplen con el tamaño requerido para considerarse nanopartículas, cabe resaltar que tienen muy buena actividad antimicrobiana, sobre todo la solución de plata con epazote como agente reductor, ya que si bien se compara contra la solución de plata con citrato de sodio, en un inicio la solución de plata con citrato de sodio puede presentar mayor actividad pero al paso del tiempo ésta pierde efecto cosa contraria con la solución de plata con epazote como agente reductor, por lo vale la pena seguir sobre la misma línea de estudio con respecto a la síntesis verde de dichas partículas para posteriores aplicaciones.

1.9 Referencias

1. Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., Ikram, S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. *Journal of Advanced Research*, 7(1): 17-28.
2. Barillo, D. J., & Marx, D. E. (2014). Silver in medicine: A brief history BC 335 to present. *Burns*, 40, S3-S8. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2014.09.009>
3. Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2019). The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>
4. Behera, S., Debata, A. (2011). Biomedical applications of silver nanoparticles. *Journal of Asian Scientific Research*, 1(1): 27.
5. Chen, X., Schluesener, H. J. (2008). Nanosilver: a nanoproduct in medical application. *Toxicology Letters*, 176(1): 1-12.
6. Diaz Acosta, E. M. (2018). Nanopartículas de plata: un enfoque en aplicaciones biológicas. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, 12(22), 1. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2019.22.60758>
7. Ge, L., Li, Q., Wang, M., Ouyang, J., Li, X., Xing, M. M. (2014). Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. *International Journal of Nanomedicine*, (9): 2399-2407. <http://doi.org/10.2147/IJN.S55015>.
8. Khanna, P. K., Singh, N., Kulkarni, D., Deshmukh, S., Charan, S., Adhyapak, P. V. (2007). Water based simple synthesis of re-dispersible silver nano-particles. *Materials Letters*, 61(16): 3366-3370.
9. Kim, S., Ryu, D. Y. (2013). Silver nanoparticle-induced oxidative stress, genotoxicity and apoptosis in cultured cells and animal tissues. *Journal of Applied Toxicology*, 33(2): 78-89
10. Lee, S., & Jun, B. H. (2019). Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 865. <https://doi.org/10.3390/ijms20040865>
11. Lee, S., & Jun, B. H. (2019b). Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 865. <https://doi.org/10.3390/ijms20040865>
12. Lin, J. J., Lin, W. C., Dong, R. X., Hsu, S. H. (2012). The cellular responses and antibacterial activities of silver nanoparticles stabilized by different polymers. *Nanotechnology*, 23(6): 65102.
13. Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Ghasemi, Y., Atapour, A., Amani, A. M., Savar Dashtaki, A., Babapoor, A., & Arjmand, O. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles toward bio and medical applications: review study. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(sup3), S855-S872. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1517769>

14. Najahi-Missaoui, W., Arnold, R. D., & Cummings, B. S. (2020). Safe Nanoparticles: Are We There Yet? *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 385. <https://doi.org/10.3390/ijms22010385>
15. Nayak, D., Ashe, S., Rauta, P. R., Kumari, M., Nayak, B. (2016). Bark extract mediated green synthesis of silver nanoparticles: evaluation of antimicrobial activity and antiproliferative response against osteosarcoma. *Materials Science and Engineering: C*, 58: 44-52.
16. Paredes, D., Ortiz, C., Torres, R. (2014). Synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial effect of Ag nanoparticles against Escherichia coli O157: H7 and methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA), *International Journal of Nanomedicine*, 9: 1717
17. Pederzoli, F., Tosi, G., Vandelli, M. A., Belletti, D., Forni, F., Ruozi, B. (2017). Protein corona and nanoparticles: how can we investigate on?. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 9(6). doi: 10.1002/wnan.1467.
18. Savage, N., Thomas, T. A., Duncan, J. S. (2007). Nanotechnology applications and implications research supported by the US Environmental Protection Agency STAR grants program. *Journal of Environmental Monitoring*, 9(10): 1046-1054.
19. Shannahan, J. H., Lai, X., Ke, P. C., Podila, R., Brown, J. M., Witzmann, F. A. (2013). Silver nanoparticle protein corona composition in cell culture media. *PloS one*, 8(9), e74001.
20. Sifontes, Á. B., Melo, L., Maza, C., Mendes, J. J., Mediavilla, M., Brito, J. L., Albornoz, A. (2010). Preparación de nanopartículas de plata en ausencia de polímeros estabilizantes. *Química Nova*, 33(6): 1266-1269.
21. Sulaiman, G. M., Mohammed, W. H., Marzoog, T. R., Al-Amiery, A. A. A., Kadhum, A. A. H., Mohamad, A. B. (2013). Green synthesis, antimicrobial and cytotoxic effects of silver nanoparticles using Eucalyptus chapmaniana leaves extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(1): 58-63.
22. Zhao, Z., Li, G., Liu, Q. S., Liu, W., Qu, G., Hu, L., Long, Y., Cai, Z., Zhao, X., & Jiang, G. (2021). Identification and interaction mechanism of protein corona on silver nanoparticles with different sizes and the cellular responses. *Journal of Hazardous Materials*, 414, 125582. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125582>

Capítulo II: Descripción de la infraestructura y comunidad donde se hizo la investigación

Una vez concluido el histórico movimiento estudiantil de 1968 en México, y tras otros subsecuentes movimientos en favor de la educación y de reclamo de mejoras sociales, se hizo evidente la necesidad de una reforma integral de la educación en México.

En 1973, durante el sexenio del presidente Luis Echeverría Álvarez, la Asociación Nacional de Universidades e Institutos de Enseñanza Superior (ANUIES), hizo entrega de un documento al Presidente de la República señalando la necesidad de establecer una nueva universidad en el área metropolitana de la Ciudad de México, teniendo en consideración puntos tales como el incremento de la demanda estudiantil y la cada vez mayor insuficiencia de las instituciones universitarias existentes para admitir a más alumnos. Se propuso entonces que el naciente proyecto de universidad constituyera asimismo una oportunidad para modernizar la educación superior del país y el 11 de noviembre de 1974 la Unidad Xochimilco inicia sus actividades.

La institución tiene como propósito estar profundamente ligada al entorno social y humano, conservándose a la vanguardia, en constante investigación y reinención de la educación superior. Cuenta actualmente con campus Xochimilco, Iztapalapa, Lerma, Cuajimalpa, Azcapotzalco y rectoría. Es la única universidad mexicana posicionada entre las 100 universidades con mayor impacto social en el mundo, así como, en 2019 la más alta entre las mejores universidades del mundo.

La UAM Xochimilco actualmente posee 5 unidades académicas más de 18 planes diferentes de estudio, la población total hasta el 2020 reportada 13,857 alumnos, donde predominan mujeres siendo un total de 7,806 y hombres 6,051 a nivel licenciatura, a nivel posgrado es un total de 912 son alumnos, de los cuales predominan las mujeres con 507 y 405 hombres. En cuanto personal académico se cuenta con un total de 928 docentes; 771 tiempo completo, 153 asociados y 4 asistentes.

El presente trabajo de servicio social se realizó en el laboratorio de Microbiología y biología molecular de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco bajo supervisión y asesoramiento de la Dra. Aida Hamdan Partida y el Dr. Jaime Bustos. Dicho laboratorio es reconocido tanto a nivel nacional como internacional por su dedicación y especialización en el estudio de *Staphylococcus aureus* y el estudio de las nanopartículas con actividad antimicrobiana en el cual se ñleban a cabo diferentes protocolos a nivel licenciatura, maestría y doctorado teniendo alumnos e investigadores que pertenecen a diferentes disciplinas como QFB, medicina, veterinaria y zootecnia, estomatología, biología, entre otros.

Capítulo III: Actividades realizadas en el servicio social

3.1 Docencia

Durante el año de servicio social una de las actividades que se realizaron en colaboración con mi compañera de servicio social fue la docencia con alumnos de tercer trimestre de la licenciatura de medicina apoyando con las clases y prácticas del laboratorio de farmacología.

Se realizaron diferentes estrategias pedagógicas tales como asignación de ensayos donde el estudiante sea capaz de manifestar su punto de vista sobre un tema de estudio, trabajos de investigación sistemática sobre diferentes tópicos.

Así mismo se llevaron a cabo diferentes actividades donde se llevaba a práctica diferentes temas vistos en clase y de esta manera que los alumnos reforzaran conocimiento adquirido previamente durante clases.

Se evaluó a los alumnos de forma integral tomando en cuenta evaluaciones departamentales, evaluación oral, evaluación escrita, exposiciones de los alumnos, controles de lectura, trabajos escritos y ejercicios que involucraban resolución de casos clínicos con integración de conocimiento adquirido los dos trimestres previos.

3.2 Logística congreso estudiantil

En septiembre de 2022 se dio a conocer la UAM Xochimilco como sede del XXVII Congreso Estudiantil de Farmacología y X Congreso Estudiantil de Ciencias sin Fronteras en colaboración con la Escuela Superior de medicina y homeopatía del Instituto Politécnico Nacional.

Las actividades que se llevaron a cabo como elemento que formó parte de la logística fue la creación diseño de carteles, coordinación de programa y ponentes, así como elaboración de constancias, recepción y evaluación de carteles siendo exitosa la participación de la universidad como sede.

3.3 Acreditación de la carrera

A partir de enero del 2002 se constituyó el Consejo Mexicano para la Acreditación de la Educación Médica A. C. (COMAEM), organismo que está avalado por el Consejo para la Acreditación de Educación Superior (COPAES), Red Iberoamericana para el Aseguramiento de la Calidad en la Educación Superior (RIACES) la World Federation for Medical Education y The National Committee on Foreign Medical Education and Accreditation (NCFMEA) lo que lo hace un organismo de carácter mundial.

El objetivo de COMAEM consiste en evaluar los programas educativos nacionales e internacionales de la formación médica por medio de un conjunto de lineamientos académicos, técnicos y administrativos para impulsar la calidad de la educación médica a través de la acreditación así como, promover, la evaluación institucional continua de escuelas y facultades públicas y particulares para consolidar su excelencia educativa.

La Licenciatura en medicina en la UAM Xochimilco se rige bajo los lineamientos estipulados por dicho consejo para asegurar la excelencia académica por lo que se inició el proceso de reacreditación a mediados del año 2021 dado que la vigencia de la certificación fue hasta el 27 de junio del 2022.

Para cumplir con todos los lineamientos es necesario la colaboración de todo el personal docente, administrativo e incluso alumnado.

3.4 Investigación

Uno de los objetivos principales del servicio social era el desarrollo de un trabajo de investigación. Este trabajo fue desarrollado, coordinado, guiado y dirigido por la Dra Aida Hamdan Partida en el laboratorio de microbiología y biología molecular. El tema asignado fue “Síntesis de nanopartículas metálicas con actividad antimicrobiana y su efecto citotóxico en líneas celulares” Para su desarrollo se llevó a cabo una revisión bibliográfica exhaustiva para determinar cómo se llevaría a cabo y cuál sería la metodología a seguir.

Se realizó el protocolo ya descrito previamente y se llevaron a cabo los diferentes experimentos para poder obtener los resultados ya presentados.

Para la realización en cuanto a redacción y estructura de dicha investigación, la Dra. Hamdan nos instruyó en el desarrollo de la misma, ya que nos brindó herramientas como artículos y fuentes de información para obtener la información necesaria, además de instruirnos sobre cómo realizar algunos procedimientos en el laboratorio.

Capítulo IV: Conclusiones del pasante sobre su servicio social

4.1 En relación con su formación como persona

Durante este año, a través de lo que es el servicio social en investigación de manera personal he aprendido, así como reforzado diferentes puntos desde conocimientos hasta crecimiento emocional. He tenido la oportunidad de aprender y reforzar mejor el trabajo en equipo, noté aún más la importancia de este y que cada persona con la que uno interacciona tiene su función. Aprendí a que se me delegaran tareas, así como a delegarlas para una maximización del trabajo y del tiempo.

Gracias a que estuve involucrada en organización de congresos y la acreditación de la carrera, pude observar los esfuerzos que hace la universidad por la mejora de la calidad de enseñanza y tratar de llegar a la excelencia académica.

Así mismo, por medio de la docencia, pude desarrollar la empatía hacia estudiantes que están emprendiendo este camino para llegar a ser profesionistas y de manera remarcable identifiqué mi gusto por la docencia y el transmitir conocimiento y experiencias adquiridas a lo largo de estos años.

Dicho esto, me hizo recordar el tipo de persona que era al ingresar a la carrera en el año de 2016 en comparación con el tipo de persona que soy en el presente. Sin duda la esencia no cambió, pero el conocimiento, las relaciones interpersonales, las experiencias ya mencionadas formaron una profesionista que actualmente puedo mencionar más empática, con valores, con nuevas metas a nivel personal y profesional, nuevas habilidades y destrezas pero sobre todo me reiteró que debo ser mejor persona y profesionista día con día.

4.2 En relación con su formación profesional

Académicamente me es grato reconocer mi crecimiento y es necesario remarcar diferentes puntos. Por medio de la docencia corrobore que los conocimientos que adquirí durante la carrera son lo suficientemente buenos para poder transmitirlos a nuevas generaciones así como poder compartir experiencias durante los rotatorios que son parte fundamental ya que el sistema de salud mexicano es particular. Fue grato poder evaluar, corregir y fomentar en los estudiantes que esta carrera tiene pilares éticos y pilares científicos por lo que es necesario que así se ejerza la práctica médica en un futuro.

En cuanto a investigación, siempre le he tenido un gusto inigualable, sin embargo, lo he reforzado gracias a mi asesora la cual es una persona que admiro ya que siempre se encuentra en la mejor disposición de compartir sus conocimientos y ha llegado a ser fuente de inspiración y ejemplo para mi desarrollo como profesionista y persona.

He podido trabajar en el laboratorio de microbiología y de biología molecular y esto ha ocasionado un conocimiento acerca de utilizar diferentes elementos, materiales, conocimiento

sobre protocolos de higiene y sanitización, procedimientos y técnicas para trabajar específicamente con diferentes microorganismos.

La medicina es un campo muy amplio que va de la mano de muchas otras disciplinas que tienen como finalidad las mejoras de los tratamientos, intervenciones y cuidados de las distintas patologías que los pacientes puedan llegar a presentar y tratando de reducir todo efecto adverso que puedan llegar a tener.

Sin duda, el servicio social, de manera académica ha dejado en mí una huella e incentivo para seguir adquiriendo más conocimiento, seguir haciendo y promoviendo la investigación y sobre todo el transmitir y aplicar nuevos conocimientos.

4.3 En relación con su aportación a la comunidad e institución educativa

En cuanto a mi aportación a la comunidad considero que fue la docencia. El poder ayudar a la formación académica de los alumnos ha sido gratificante en cuanto a la resolución de dudas en diferentes temas, procedimientos, metodología de la investigación, oratoria y como mejorar sus ponencias, inclusive alumnos que se acercan y comentan que quieren desistir, es importante el brindarles el apoyo emocional para que recuerden sus objetivos y lleguen a ser los profesionistas que desean.

En cuanto a la casa de estudios, no puedo estar más agradecida ya que me ha brindado muchas herramientas para llegar a ser la persona que actualmente soy. Nos ha brindado instalaciones, diferentes herramientas académicas tales como libros o plataformas donde tenemos acceso a varios softwares y journals reconocidos, así como libros electrónicos, materiales didácticos, modelos anatómicos, sin mencionar los excelentes profesores. Si bien también tiene deficiencias en cuanto a infraestructura y programa académico de cual pueda aportar en un futuro diversas sugerencias para que generaciones futuras tengan una universidad sin deficiencia alguna. Me llena de orgullo pertenecer a esta casa de estudios ya que es una de las mejores a nivel nacional y me ha dado herramientas para poder estar a la par de cualquier profesionista.