

**Uso de Micelas Inversas en la Síntesis de Nanopartículas de Plata con Alto Efecto
Antibacterial y Antifúngico**

Silvia Juliana Caballero Angarita

Trabajo de Grado para Optar el Título de Química

Director:

John Jairo Castillo León

Doctor en Química

Co-director:

Jorge Andrés Gutiérrez Cifuentes

Doctor en Ciencias Químicas

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2019

Dedicatoria

A mi madre por el amor, el apoyo y la fuerza.

Al arte y a la ciencia.

Agradecimientos

A mi madre Lilia Consuelo Angarita por el amor y apoyo incondicional, por darme la vida y guiarme día a día. A mi padre Ramiro Caballero por ser ese norte y por todo el apoyo y la paciencia. A los dos, por tantos sacrificios y porque son la más grande motivación de cumplir todas mis metas.

Al grupo de investigación en Bioquímica y Microbiología (GIBIM) por brindarme la oportunidad de ser parte y permitirme elaborar mi proyecto de grado en su laboratorio, a cada uno de los profesores, estudiantes de posgrado y pregrado por todo el apoyo y alegrías vividas.

A mi director John Jairo Castillo por la guía y los aportes brindados en la realización de mi proyecto de grado.

A mi co-director Jorge Gutiérrez por todas las enseñanzas, apoyo y paciencia en la realización de este proyecto, por ser siempre fuente de motivación.

Al profesor Sergio Blanco por el apoyo y enseñanzas compartidas durante la realización de mi proyecto de grado.

A mis queridas Alejandra Guerrero, Laura Díaz, Lady Quintero y Dayana Rojas por tantas horas, días, semanas y meses compartidos, llenos de ciencia y sonrisas.

A mi hermoso y amado Música & Danzas UIS y mi director Néstor Sánchez por todas las experiencias vividas, por todas las enseñanzas, por los momentos, escenarios y viajes compartidos. Por regalarme tantos años de amor, arte y cultura en mi vida.

A la mejor selección de la universidad, mi Selección de Karate UIS y mi entrenador Juan José Landinez por su incondicional enseñanza y apoyo. Por brindarme la fuerza y coraje para alcanzar todas las metas y sueños propuestos.

A los dos seres humanos grandiosos que me regaló la vida universitaria, Damian Antonio Pedraza Daza y Deysi Juliana Arias Giraldo, por tantos años de amistad, amor, risas, ciencia y café. Por todo el apoyo incondicional brindado, por tantos años de compromiso para conmigo, por ser fuente de motivación.

A mí, por la perseverancia y la pasión que me mueven e impulsan a cumplir todo lo que me propongo.

¡A todos, muchas Gracias!

Tabla de contenido

	Página
Introducción	17
1. Objetivos	20
1.1 General	20
1.2 Específicos	20
2. Marco teórico	21
2.1 Nanociencia y nanotecnología	21
2.3 Nanomateriales	22
2.4 Bionanotecnología	26
2.5 Nanopartículas de plata.....	28
2.6 Métodos de síntesis	29
2.6.1 Micelas Inversas.....	30
2.7 Técnicas Instrumentales.....	31
3. Estado del arte.....	34
4. Metodología.....	37
Diseño metodológico	37
4.1 Síntesis de AgNPs.....	37
4.2 Caracterización fisicoquímica de nanopartículas de plata	38
4.3 Transferencia de fase de las AgNPs.....	39
4.4 Actividad antimicrobiana.....	40
4.4.1 Evaluación de actividad antimicrobiana	40
4.5 Telas con actividad antimicrobiana	41
4.5.1 Evaluación cualitativa de la inhibición del crecimiento planctónico y la adhesión a superficie.	41
4.5.2 Evaluación cuantitativa de la actividad antimicrobiana de telas.	42

5. Análisis de resultados	44
5.1 Síntesis y caracterización de AgNPs.....	44
5.1.1 AgNPs en Tolueno	46
5.1.2 AgNPs en Isooctano.....	50
5.1.3 Determinación del Potencial Zeta.....	54
5.2 Estudios Antimicrobianos de las AgNPs sintetizadas	57
5.2.1 Actividad antimicrobiana.....	57
5.2.2 Evaluación de la inhibición del crecimiento planctónico y la adhesión a superficie en cepas bacterianas.	59
5.2.3 Evaluación de la inhibición del crecimiento planctónico y la adhesión a superficie en cepas fúngicas.	60
6. Conclusiones	62
7. Recomendaciones	64
Referencias bibliográficas.....	65
Apéndices.....	72

Lista de Figuras

Figura 1. Diferentes objetos con su tamaño característico (Imagen editada de https://www.sothis.tech/el-internet-de-las-nano-cosas-iont-internet-of-nanothings/ Autores: María Gabriela Passaretti, Luciana Andrea Castillo y Andrés Eduardo Ciolino).	22
Figura 2. Cambio en los niveles de energía de un metal cuando el número de átomos del material es reducido. (a) Banda de valencia de un metal; (b) Band gap de un nanomaterial de 100 átomos; (c) Band gap de un nanomaterial de 10 átomos (Imagen adaptada de Charles P. Poole, Frank J. Owens, 2007).	24
Figura 3. Representación de nanoestructuras (a) orgánicas e (b) inorgánicas para el transporte y liberación de fármacos (FECYT, 2009).	27
Figura 4. a) Imagen del surfactante aniónico bis-(2-etilhexil)-sulfosuccinato de sodio (AOT). b) Representación micela inversa de AOT.	31
Figura 5. Diagrama de la interacción micelar para la formación de las AgNPs.	38
Figura 6. Imagen de las dos fases resultantes del lavado con etanol/agua.	39
Figura 7. Montaje para llevar a sequedad con nitrógeno.	39
Figura 8. Impregnación de telas con las nanopartículas de plata obtenidas.	41
Figura 9. Nanopartículas de plata sintetizadas en micelas inversas utilizando como solvente orgánico A) Tolueno y B) Isooctano, con dos agentes reductores i) N_2H_4 y ii) $NaBH_4$, marcadas respectivamente como AgNPs1, AgNPs2, AgNPs3 y AgNPs4.	45
Figura 10. Espectro IR del AOT.	46
Figura 11. Espectro UV-vis de las AgNPs1 (-) y AgNPs2 (-).	46
Figura 12. Espectros FTIR de las AgNPs1 y AgNPs2 A) espectro de $1350cm^{-1}$ a $950cm^{-1}$ y B) espectro de $1800cm^{-1}$ a $1650cm^{-1}$	47
Figura 13. Histograma de distribución de tamaño de partícula y micrografía TEM A) AgNPs1 y B) AgNPs2.	49

Figura 14. Espectro UV-Vis AgNPs3 y AgNPs4.	51
Figura 15. Espectro FTIR de las AgNPs 3 y AgNPs4 A) espectro de 1350cm ⁻¹ a 950cm ⁻¹ y B) espectro de 1800cm ⁻¹ a 1650cm ⁻¹	52
Figura 16. Histograma de distribución de tamaño de partícula y micrografía TEM A) AgNPs3 y B) AgNPs4.	54

Lista de Tablas

Tabla 1. Estudios recientes de la evaluación de la actividad antimicrobiana de las AgNPs soportadas en textiles.	36
Tabla 2. Procedimiento del análisis del crecimiento de los microorganismos.	42
Tabla 3. Rotulación de las diferentes nanopartículas obtenidas según la naturaleza de los sistemas organizados estudiados.	44
Tabla 4. Datos obtenidos por DLS de las A) AgNPs1 y B) AgNPs2, a una relación molar $W_s=7$	50
Tabla 5. Datos obtenidos por DLS de las A) AgNPs3 y B) AgNPs4 a una relación molar $W_s=7$	54
Tabla 6. Valores de potencial zeta de las AgNPs obtenidas en cada uno de los sistemas micelaes estudiados.	55
Tabla 7. Resultados de la actividad antibacteriana de las AgNPs1 y AgNPs3 a una concentración de 100ppm.	57
Tabla 8. Resultados CMI_{50} y CMI_{90} para las nanopartículas sintetizadas frente a <i>S. aureus</i> ATCC 29213 y SARM.	58
Tabla 9. Evaluación cualitativa de la actividad antibacteriana de recubrimientos de AgNPs frente a cepas de bacterianas.	59
Tabla 10. Reducción logarítmica del crecimiento de las cepas bacterianas adheridas a las telas con recubrimiento de AgNPs.	60
Tabla 11. Evaluación cualitativa de la actividad antifúngica de recubrimientos de AgNPS frente a cepas de <i>Candida</i>	60
Tabla 12. Reducción logarítmica del crecimiento de las cepas de <i>Candida</i> adheridas a las telas con recubrimiento de AgNPs.	61

Lista de Apéndices

Apéndice A. Espectros UV-Vis de las AgNPs1 para una concentración molar $W_s=3$ (-) y $W_s=10$ (-).....	72
Apéndice B. Espectros UV-Vis de las AgNPs3 para una concentración molar $W_s=3$ (-) y $W_s=10$ (-).....	72
Apéndice C. (a)Cinética de crecimiento de <i>S. aureus</i> ATCC 29213 tratado con AgNPs1, (b) Porcentaje de inhibición de AgNPs1 sobre el crecimiento de <i>S. aureus</i> ATCC 29213 y (c) Porcentaje de inhibición y viabilidad de las AgNPs a diferentes concentraciones.....	74
Apéndice D. (a)Cinética de crecimiento de <i>S. aureus</i> ATCC 29213 tratado con AgNPs2, (b) Porcentaje de inhibición de AgNPs2 sobre el crecimiento de <i>S. aureus</i> ATCC 29213 y (c) Porcentaje de inhibición y viabilidad de las AgNPs2 a diferentes concentraciones.....	75
Apéndice E. (a)Cinética de crecimiento de <i>S. aureus</i> ATCC 29213 tratado con AgNPs3, (b) Porcentaje de inhibición de AgNPs3 sobre el crecimiento de <i>S. aureus</i> ATCC 29213 y (c) Porcentaje de inhibición y viabilidad de las AgNPs3 a diferentes concentraciones.....	76
Apéndice F. (a)Cinética de crecimiento de <i>S. aureus</i> ATCC 29213 tratado con AgNPs4, (b) Porcentaje de inhibición de AgNPs4 sobre el crecimiento de <i>S. aureus</i> ATCC 29213 y (c) Porcentaje de inhibición y viabilidad de las AgNPs4 a diferentes concentraciones.....	77
Apéndice G. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos Frente a SARM	77
Apéndice H. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a <i>S. aureus</i> ATCC	77
Apéndice I. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a <i>S. epidermidis</i>	78

Apéndice J. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a <i>P. aeruginosa</i>	78
Apéndice K. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a <i>C. albicans</i> .ATCC 10231.	78
Apéndice L. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a <i>C. krusei</i> .ATCC 6258.	79
Apéndice M. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a <i>C. tropicalis</i>	79
Apéndice N. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a <i>C. glabrata</i>	79
Apéndice O. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a <i>C. albicans</i> A1.	80
Apéndice P. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a <i>C. parapsolosis</i> ATCC 20101.	80

Resumen

TÍTULO: USO DE MICELAS INVERSAS EN LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON ALTO EFECTO ANTIBACTERIAL Y ANTIFÚNGICO*

AUTOR: Silvia Juliana Caballero Angarita**

Palabras clave: Nanotecnología, nanopartículas de plata, micelas inversas, actividad antimicrobiana.

DESCRIPCIÓN:

El estudio de sistemas a escala nanométrica y sus aplicaciones constituyen uno de los mayores retos de la nanociencia y nanotecnología. En medicina, la nanociencia ha tenido grandes aportes mediante el uso de nanopartículas (NPs) metálicas como agentes antimicrobianos, llevando al desarrollo de nuevas tecnologías. Por esto, resulta interesante abordar uno de los entornos más vulnerables a la contaminación por microorganismos: los ambientes hospitalarios. Materiales como los textiles pueden representar sustratos para la proliferación microbiana, por lo tanto pueden ser una fuente importante de bacterias, virus y hongos que pueden contaminar a los pacientes y al personal clínico. De esta manera, y con el fin de impartir propiedades antibacterianas y antifúngicas a los materiales textiles de uso biomédico, se estudió la inhibición del crecimiento de cepas patógenas en telas impregnadas con nanopartículas de plata (AgNPs). Estas fueron sintetizadas mediante micelas inversas (MIs), las cuales se forman por la disolución de un surfactante en un solvente orgánico no polar, ubicando los grupos hidrofílicos en el corazón polar, y las colas hidrocarbonadas al exterior, permitiendo el confinamiento de los precursores para la formación de metales a escala nanométrica. Las AgNPs formadas fueron caracterizadas por técnicas espectroscópicas y de dispersión y depositadas en telas. Finalmente, se realizaron los estudios cualitativos y cuantitativos de la actividad antimicrobiana de las AgNPs soportadas en telas convencionales, obteniendo resultados de inhibición significativos para las diferentes cepas microbianas estudiadas, principalmente para las cepas *C. albicans* ATCC, *C. krusei* ATCC 6258, *C. tropicalis* A1, *C. glabrata* A2 y *C. albicans* A1, postulándolas como alternativa para el desarrollo de telas y superficies antifúngicas que limiten la adhesión y el crecimiento de microorganismos en ambientes específicos.

* Proyecto de grado

** Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Director: John Jairo Castillo León, Químico, Doctor en Química. Co-directores: Jorge Gutiérrez, Doctor en Ciencias Químicas

Abstract

TITLE: USE OF REVERSE MICELLES IN THE SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES WITH HIGH ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGICAL EFFECT*

AUTHOR: Silvia Juliana Caballero Angarita**

Keywords: Nanotechnology, silver nanoparticles, reverse micelles, antimicrobial activity.

DESCRIPTION:

The study of nanometric scale systems and their applications constitute one of the greatest challenges of nanoscience and nanotechnology. In medicine, nanoscience has had great contributions through the use of metallic nanoparticles (NPs) as antimicrobial agents, leading to the development of new technologies. For this reason, it is interesting to address one of the most vulnerable environments to contamination by microorganisms: hospital environments. Materials such as textiles can represent substrates for microbial proliferation, therefore they can be an important source of bacteria, viruses and fungi that can contaminate patients and clinical staff. In this way, and in order to impart antibacterial and antifungal properties to textile materials for biomedical use, the growth inhibition of pathogenic strains in fabrics impregnated with silver nanoparticles (AgNPs) was studied. These were synthesized by reverse micelles (MIs), which are formed by the dissolution of a surfactant in a non-polar organic solvent, placing the hydrophilic groups in the polar heart, and the hydrocarbon tails to the outside, allowing the confinement of the precursors for the formation of metals on a nanometric scale. The AgNPs formed were characterized by spectroscopic and dispersion techniques and deposited in fabrics. Finally, qualitative and quantitative studies of the antimicrobial activity of AgNPs supported in conventional fabrics were performed, obtaining significant inhibition results for the different microbial strains studied, mainly for strains *C. albicans* ATCC, *C. krusei* ATCC 6258, *C. tropicalis* A1, *C. glabrata* A2 and *C. albicans* A1, applying them as an alternative for the development of fabrics and antifungal surfaces that limit the adhesion and growth of microorganisms in specific environments.

* Bachelor Thesis

** Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Director: John Jairo Castillo León, Químico, Doctor en Química. Co-director: Jorge Gutiérrez, Doctor en Ciencias Químicas

Introducción

En los últimos años ha aumentado el interés y la necesidad por desarrollar agentes antimicrobianos alternativos, rentables y eficaces que hagan frente a los microorganismos con mayor repercusión en la salud pública como virus, parásitos, hongos y bacterias, debido principalmente, a la resistencia generada por los mismos. Esto ha incrementado el número de enfermedades infecciosas, aumentando además los costos de la atención sanitaria por la necesidad de una atención más intensiva (OMS). Dentro de las bacterias con mayor impacto denominadas las “súper bacterias”, son las cepas patógenas de *Staphylococcus* (Morgenstern et al., 2016). *Staphylococcus epidermidis*, *aureus* ATCC y *aureus* resistente a meticilina (SARM) son algunas de las principales clases de esta súper bacteria que están asociadas a infecciones en todo el mundo. Se calcula que las infecciones por SARM afectan a más de 150.000 pacientes anualmente en la Unión Europea (UE), lo que da lugar a altos costos hospitalarios adicionales de alrededor de 380 millones de euros para los sistemas sanitarios de la UE (Morgenstern et al., 2016). Se calcula que los pacientes con infecciones por SARM tienen una probabilidad de muerte 64% mayor que los pacientes con infecciones no resistentes (Morgenstern et al., 2016). Adicionalmente, las nuevas cepas de SARM han surgido recientemente como patógenos humanos asociados a la comunidad y a la ganadería en la mayoría de los estados miembros de la UE (Köck et al., 2010).

Sin embargo, las bacterias no son los únicos microorganismos que presentan dicha resistencia, otros de los cuales cuya resistencia es más preocupante desde el punto de vista de la salud pública son los hongos patógenos presentes en el ambiente (OMS). Candidiasis es el nombre que se le da a la infección por hongos causada por especies del hongo *Candida*, específicamente por la levadura *Candida albicans* (*C. albicans*); se estima que ésta levadura es la causante del 44% de los episodios de candidemia generales 2006-2010 en instituciones

médicas de Brasil (Dzul-rosado & Regionales, 2016). La candidiasis se ha incrementado recientemente de manera significativa, afectando principalmente a los pacientes inmunodeprimidos. Sin embargo, el número de medicamentos antifúngicos en el mercado es limitado en comparación con el número de medicamentos antibacterianos disponibles. Este hecho, junto con el aumento de la frecuencia de hongos resistentes, hace que sea necesario el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas (Peron, Reichert-lima, & Busso-lopes, 2016) Los antifúngicos más utilizados contra la levadura *Candida albicans* son los derivados imidazólicos (fluconazol, itraconazol, ketoconazol, miconazol etc.), sin embargo, en la actualidad se observa una disminución en la efectividad de estos medicamentos, es decir, un fenómeno de resistencia por parte del microorganismo a estos fármacos. Esto debido principalmente a la aparición de nuevas especies patógenas, a la prescripción irracional de antimicóticos como profilaxis y al aumento de las dosis terapéuticas (Zaidi, Mani, Thawani, & Mehra, 2016).

La nanotecnología ha aportado en el tratamiento de enfermedades infecciones con el uso de nanopartículas como agentes antimicrobianos, así como sistemas de transporte de medicamentos, ya que presentan ventajas relacionadas con la estabilidad del fármaco, la reducción de efectos secundarios, toxicidad de los medicamentos, entre otros (Harris, 2010; Lucía Iguña López, 2016; Villafuerte-Robles Leopoldo, 2010). Particularmente, las nanopartículas de plata (AgNPs) han sido ampliamente utilizadas en diversas aplicaciones como agentes antimicrobianos, anticancerosos, diagnósticos, biomarcadores, y sistemas de administración de fármacos para el tratamiento de diversas enfermedades como cáncer, AH1N1 y por supuesto, infecciones causadas por microorganismos patógenos como las súper bacterias y cepas *Candida* mencionadas anteriormente, debido a su alta capacidad microbicida (Yohan & Chithrani, 2015).

Para cada una de las posibles aplicaciones de las AgNPs, se requieren de características y propiedades específicas como el tamaño, forma, distribución, carga superficial, entre otras,

para hacer más efectiva su actividad, sin embargo, se ha dificultado la obtención de AgNPs homogéneas que permitan dicho direccionamiento, generando así complicaciones en los distintos sectores. Como antimicrobianos, se ha evidenciado un alto grado de citotoxicidad en células humanas (Liu, 2010; Yen, Hsu, & Tsai, 2009) que sugiere el desarrollo de nuevos protocolos de síntesis de nanopartículas de plata que permitan controlar de manera precisa la forma y el tamaño de las nanopartículas, además con alta capacidad de solubilización y estabilidad termodinámica. Esto es posible mediante el uso de sistemas coloidales o medios de reacción confinados como micelas inversas (Lopez-quintela, 2003), diseñando y estableciendo protocolos de síntesis de AgNPs de un tamaño considerable con el fin de aumentar la reactividad de dichas partículas contra los microorganismos, evitando la citotoxicidad que puedan presentar gracias a las bajas concentraciones necesarias para sus respectivas aplicaciones antimicrobianas.

Asimismo, los textiles recubiertos con agentes antimicrobianos pueden tener aplicaciones potenciales en apósitos para heridas, el revestimiento de la cama y como vendajes medicinales (Perelshtein, Ilana & Applerot, Guy & Perkas, Nina & Guibert, Geoffroy & Mikhailov, Serguei & Gedanken, 2008) también se pueden recomendar para la purificación de equipos médicos y de alimentos, limpieza doméstica, etc. Por esto, la modificación en los parámetros involucrados en la síntesis química de nanopartículas son factores claves en la generación de diferentes productos, ya que influye en el tamaño, la forma, la monodispersidad y la reactividad superficial de las mismas, y como consecuencia en las diferentes aplicaciones biomédicas que puedan tener.

Teniendo en cuenta lo anterior, este trabajo se orientó al uso y estudio de micelas inversas de diferente naturaleza, como nanorreactores moleculares capaces de controlar el tamaño y a su vez estudiar las propiedades antimicrobianas de las AgNPs para el desarrollo de nuevas terapias alternativas.

1. Objetivos

1.1 General

Sintetizar nanopartículas de plata con potencial actividad antibacteriana y antifúngica mediante el uso de micelas inversas como nanoreactores moleculares.

1.2 Específicos

Diseñar protocolos de síntesis de nanopartículas de plata mediante micelas inversas de diferente composición.

Determinar las propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales obtenidos.

Determinar la actividad antibacteriana de las nanopartículas obtenidas en solución frente a *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ATCC 9213 y *Staphylococcus epidermidis*.

Modificar la superficie de telas con nanopartículas de plata y evaluar sus propiedades antibacteriales y antifúngicas sobre *aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ATCC 9213, *Staphylococcus epidermidis* y *Candida* spp., como potencial tratamiento alternativo frente a infecciones.

2. Marco teórico

2.1 Nanociencia y nanotecnología

La nanociencia se puede definir como el estudio de los fenómenos y propiedades de la materia a escala nanométrica aplicada a diferentes áreas de estudio como la química, física, ingeniería, biología, etc., mediante la nanotecnología, la cual está encargada de la manipulación de átomos y moléculas para la fabricación y producción de materiales, y estructuras que generan beneficios en múltiples campos (Briones, Casero, Martín, J, & Serena, 2009). Según un estudio publicado en 1999, desde la National Science Foundation (E.E. U.U.), “La nanotecnología es la habilidad de controlar y reestructurar la materia a niveles atómicos y moleculares en el rango de 1-100 nm” (Roco, 1999). El objetivo de esta ciencia es innovar y desarrollar nuevos dispositivos y sistemas de impacto en diferentes áreas, como, por ejemplo, en la conversión de energía, almacenamiento de información, administración de fármacos, mejoramiento de los materiales de uso médico, etc. (Constanza Florez, 2014), así como la aplicación de nuevos conceptos y propiedades que surgen como consecuencia de la reducción del tamaño, con el fin de promover el desarrollo humano y mejorar la calidad de vida, teniendo en cuenta el cuidado del medio ambiente.

A pesar de ser una ciencia relativamente joven, se tiene el conocimiento necesario para usarse en una amplia variedad de campos así se habla de disciplinas como nanoquímica, nanoelectrónica, nanomedicina o nanobiotecnología; o de objetos denominados nanomateriales tales como nanopartículas, nanotubos, nanoimanes, entre otros (Briones et al., 2009).

El prefijo “nano” proviene del vocablo griego νᾶνος que significa diminuto, enano, pequeño y equivale a una mil millonésima parte de un metro, es decir, 10^{-9} (Briones et al.,

2009) una longitud 80000 veces más pequeña que el diámetro de un cabello humano. En la Figura 1 se muestra algunos objetos con su tamaño característico.

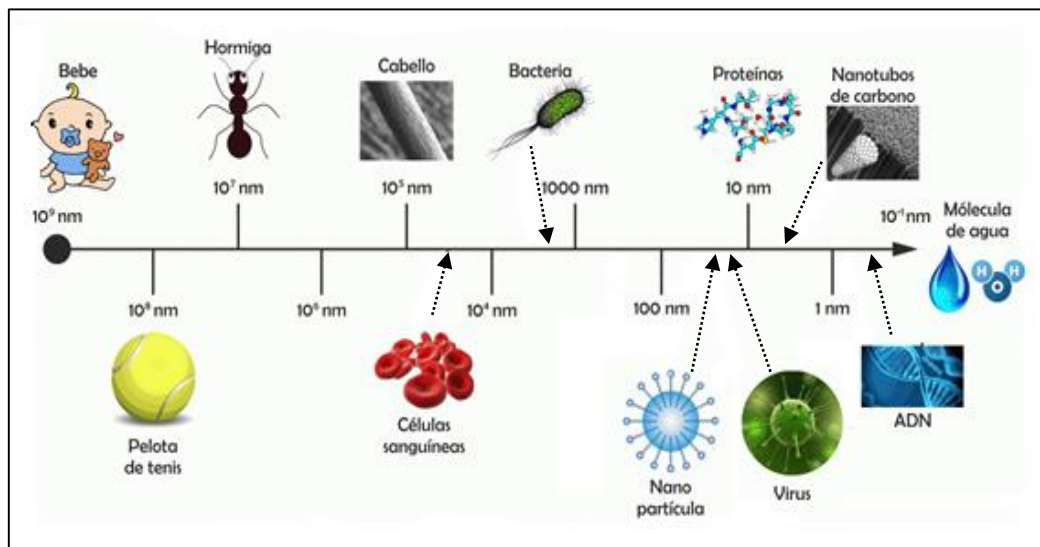


Figura 1. Diferentes objetos con su tamaño característico (Imagen editada de <https://www.sothis.tech/el-internet-de-las-nano-cosas-ient-internet-of-nanothings/> Autores: María Gabriela Passaretti, Luciana Andrea Castillo y Andrés Eduardo Ciolino).

2.3 Nanomateriales

Se consideran nanomateriales a aquellos que tienen componentes estructurados con al menos una dimensión menor que 100 nm, dentro de los cuales se encuentran los recubrimientos o películas delgadas como nanomateriales bidimensionales, por el número de dimensiones fuera de la nanoescala, entre los nanomateriales de una dimensión se encuentran el grafeno, los nanotubos, las nanofibras y los biopolímeros, por su parte, los nanomateriales con sus tres dimensiones nanométricas o cero dimensionales son las nanopartículas, así como los precipitados, los coloides y los puntos cuánticos (Andrada, 2012). Los nanomateriales presentan un cambio en las propiedades intrínsecas con respecto a su material a granel, como

lo son, por ejemplo, el color, la fluorescencia, el punto de fusión, la dureza etc. (Soler Illia, 2009).

El interés que presentan los nanomateriales se basa en estas nuevas propiedades que dependen y son función del tamaño y pueden diferir significativamente de otros materiales debido a dos factores (Ouahid Hessissen, 2016).

1. Mayor relación área/superficie, es decir hay mayor cantidad de átomos o moléculas superficiales por unidad de volumen; proporcionándole así, mayor reactividad.

2. Los efectos cuánticos como consecuencia de la reducción del tamaño y su composición baja de átomos y moléculas. Dichos efectos dominan el comportamiento de las nanopartículas y los compuestos nanoestructurados, afectando sus propiedades ópticas, electrónicas y magnéticas.

Esta alta relación área/volumen significa un mayor empaquetamiento de átomos, es decir, se caracterizan por su alta densidad de átomos lo que proporciona complejas interacciones electrónicas y magnéticas entre estructuras adyacentes (Alivisatos & California, 2000). En un material conductor, los electrones se desplazan por bandas o niveles de energía en donde el movimiento electrónico está permitido (Serena, 2010), cuando el tamaño del material disminuye, los electrones libres comienzan a experimentar los efectos del confinamiento, lo que significa que sus movimientos quedan limitados por el tamaño físico de la región (Charles P. Poole, 2007). Las bandas de valencia y de conducción de los nanomateriales son más angostas que las de los materiales convencionales, esto hace que el band gap de un nanomaterial sea mayor y, por ende, que las energías necesarias para pasar electrones de la banda de conducción a la de valencia sean mayores (Figura 2). Esto repercute en las propiedades de conducción electrónica y en las propiedades ópticas de estos nanomateriales.

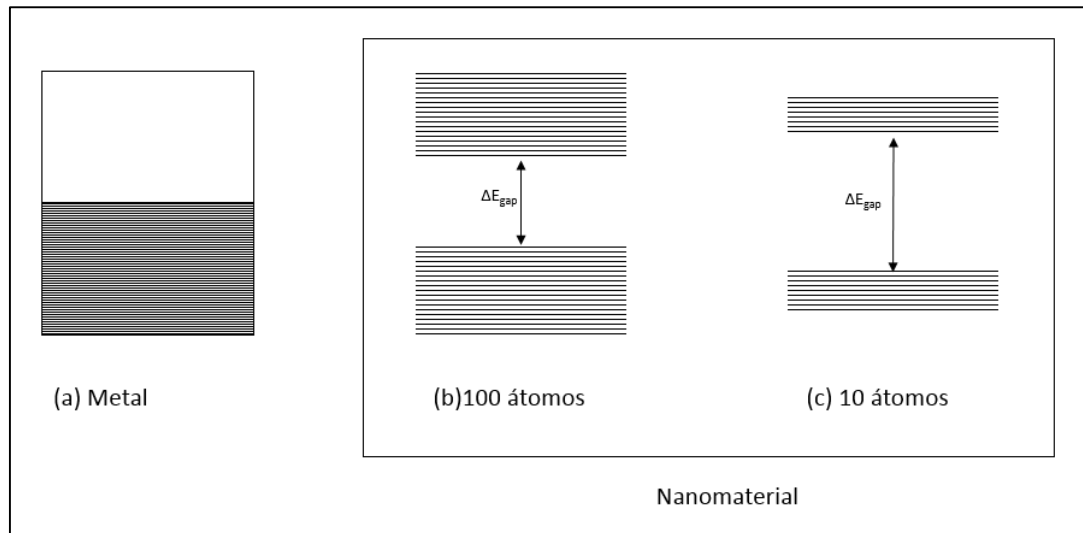


Figura 2. Cambio en los niveles de energía de un metal cuando el número de átomos del material es reducido. (a) Banda de valencia de un metal; (b) Band gap de un nanomaterial de 100 átomos; (c) Band gap de un nanomaterial de 10 átomos (Imagen adaptada de (Charles P. Poole, 2007)).

Comprender los efectos de confinamiento es fundamental para el desarrollo de nanotecnologías y sus aplicaciones en los diferentes campos de interés, puesto que dichos efectos son los responsables de los cambios y ventajas de las propiedades de los nanomateriales, con respecto a materiales con tamaños superiores a la escala nanométrica. Por ejemplo, algunas de las aplicaciones importantes basadas en las propiedades mecánicas de los nanomateriales como resistencia, dureza, deformación, etc., y en las propiedades eléctricas es la producción de nanopulvos de cerámica (C. N. R. Rao, Achim Müller, 2004) debido al aumento de átomos/iones interfaciales (Puriniah, 2001). Las aplicaciones basadas en las propiedades ópticas de los nanomateriales incluyen detectores ópticos, celdas solares, sensores, colorantes, fotocatalisis, entre otros, gracias a los fenómenos físicos de reflexión y refracción, absorción y dispersión, y difracción resultantes de su interacción con la luz (Parameswaranpillai, Hameed, Kurian, & Yu, n.d.).

Por último, en la nanoescala, los materiales magnéticos muestran efectos físicos novedosos como el superparamagnetismo que resulta de la influencia de la energía térmica en una nanopartícula ferromagnética y sus principales áreas de aplicación son en biomedicina, catálisis y purificación ambiental (Zhu et al., 2018). El desarrollo de sistemas nanoelectroquímicos, chips de ADN, moléculas orgánicas incorporadas a dispositivos electrónicos como sensores, nanodispositivos de almacenamiento y otros fines, son algunas de las aplicaciones en las cuales se introducen nuevos materiales y nuevas propiedades (Guozhong, 2004), se podría concluir que los nanomateriales están “diseñados deliberadamente” y orientados en la mejora de las propiedades especiales en la nanoescala (Dargo, Ayaliew, & Kassa, 2017).

Dentro de los nanomateriales de mayor interés se encuentran las nanopartículas (NPs) debido a la gran variedad de propiedades y aplicaciones que presentan según su naturaleza. Sus propiedades y características específicas como el tamaño, la forma, la morfología y la estructura cristalina, las hacen adecuadas para muchas aplicaciones (Sayed, Saad, & Hagagy, 2018). Entre las más relevantes se encuentran las NPs a base de carbono, de cerámica, poliméricas, semiconductoras, metálicas, entre otras. (Khan, Saeed, & Khan, 2017). Los fullerenos y los nanotubos de carbono (NTC) representan las principales NPs a base de carbono, los NTC exhiben una variedad de propiedades mecánicas, ópticas, eléctricas únicas y alta estabilidad química, debido a esto son utilizados en la industria como material de refuerzo en materiales compuestos, almacenamiento de hidrógeno, sensores etc., (Khan et al., 2017; Saeed & Khan, 2013) y como medio de soporte para diferentes catalizadores inorgánicos y orgánicos (Khan et al., 2017). Por su parte las NPs de cerámica son sistemas inorgánicos compuestos principalmente por óxidos, carburos, fosfatos y carbonatos de metales y metaloides como el calcio, silicio, titanio, etc., los cuales tienen una amplia gama de aplicaciones en la ciencia e los materiales, farmacéutica e ingeniería biomédica, debido a una serie de propiedades favorables como su alta resistencia al calor y sustancias químicas, como su fácil diseño en

tamaño y porosidad deseada (Thomas, Mishra, & Talegaonkar, 2015). Las NPs semiconductoras son materiales con aplicaciones importantes en fotocatalisis, fotosensibilizadores en la preparación de celdas solares y dispositivos optoelectrónicos (Galoppini, 2004) gracias a sus propiedades características de resonancias plasmónicas altamente ajustables, bajas pérdidas óhmicas y mayor estabilidad termoquímica. (Thakore, Tang, Conley, Ala-nissila, & Karttunen, 2019). Las NPs poliméricas pueden ser nanoesferas o nanocápsulas y son ampliamente utilizadas como portadoras para la liberación controlada y sostenida en sistemas de administración de fármacos (Krishnaswamy & Orsat, 2019). Finalmente, las NPs metálicas además de poseer propiedades optoelectricas únicas debido a las características de resonancia de plasmón superficial, estas NPs presentan propiedades dependientes de la forma y el tamaño que son de interés para aplicaciones desde la catálisis, dispositivos electrónicos y detección óptica, hasta el medio ambiente, productos cosméticos y la biomedicina (El-nour, Al-warthan, & Ammar, 2010).

2.4 Bionanotecnología

El control de la nanoescala implica la posibilidad de enfrentar y combatir enfermedades en el campo molecular (Soler Illia, 2009) la bionanotecnología es la encargada de la producción de nanobiomateriales y nuevos nanosistemas que tienen como propósito el mejoramiento de la calidad de vida. Los principales enfoques de la bionanotecnología son el diseño de medicamentos, la administración de biomoléculas, la mejora en la calidad de los materiales de uso médico, entre otros (Constanza Florez, 2014). Dentro de los dispositivos diseñados para el transporte de medicamentos se encuentran los nano-complejos biocompatibles que van desde las nanopartículas formadas por metales, semiconductores y nanotubos de carbono, hasta las

nano-cápsulas, los sistemas micelares y los dendrímeros, entre otros (Figura 3) (Chen & Schluesener, 2008).

La liberación controlada de estos dispositivos al sitio de acción y la regulación de la dosis son las principales preocupaciones en el diseño de tales dispositivos. Dentro de las Nps biodegradables utilizadas en la administración de fármacos se encuentran los polímeros, los liposomas y las NPs poliméricas, éstas últimas prometen algunas ventajas sobre las anteriores, aumentando la capacidad de almacenamiento y control en la liberación de fármacos (Khan et al., 2017).

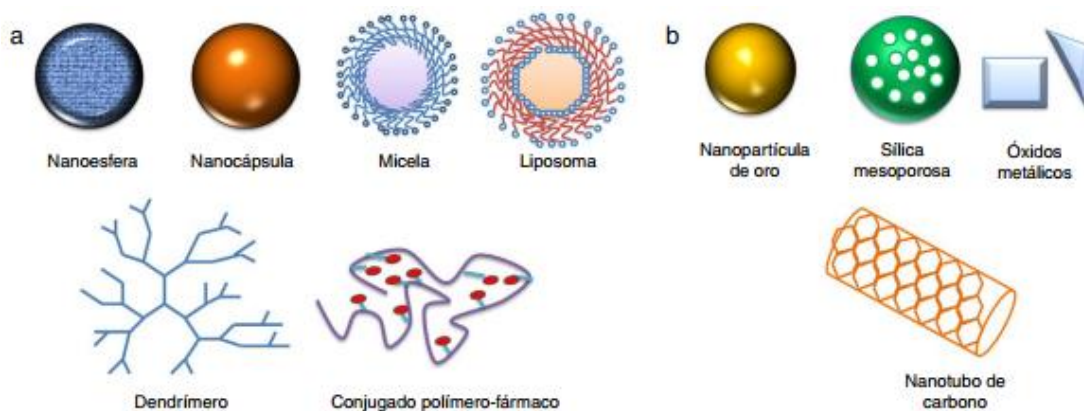


Figura 3. Representación de nanoestructuras (a) orgánicas e (b) inorgánicas para el transporte y liberación de fármacos (Briones et al., 2009).

Por su parte, las partículas inorgánicas de tamaño nanométrico presentan propiedades únicas que las llevan a un marcado efecto antimicrobiano sobre una amplia variedad de microorganismos tales como virus, bacterias y hongos (Constanza Florez, 2014). Entre estos se encuentran las NPs metálicas que poseen propiedades ópticas, catalíticas y eléctricas que las hacen adecuadas para una variedad de aplicaciones (Briones et al., 2009), la mayoría presentan un potencial inmenso en el diagnóstico y tratamiento del cáncer debido a su resonancia de plasmon superficial (SPR), una mayor dispersión y adsorción de la luz (Khan et al., 2017). Su capacidad microbicida está vinculada a la naturaleza del material y a ciertas características

intrínsecas de las mismas como sus dimensiones nanométricas, lo cual les permite ser internalizadas con mayor facilidad en microorganismos, asimismo a la alta relación área/volumen que permite un mayor contacto e interacción con dichos microorganismos (Ag, Gong, Li, He, & Wang, 2007). Debido a su alta actividad antimicrobiana, las nanopartículas de plata (AgNPs) son principalmente utilizadas en la industria biomédica como apósitos, catéteres, ungüentos, entre otros (Khan et al., 2017).

2.5 Nanopartículas de plata

Las AgNPs presentan propiedades únicas, normalmente relacionadas con los metales nobles como excelente conductividad, estabilidad química, actividad catalítica, además de otras específicas que pueden ser controladas dependiendo del tamaño de las partículas, la distribución del tamaño y forma como comportamiento óptico no lineal y actividad antimicrobiana, entre otras (Cebada, n.d.). En la actualidad, son ampliamente utilizadas en aplicaciones en plásticos, textiles, tratamiento de agua, industria de pintura y biosensores, y en la fabricación de electrodomésticos como refrigeradores, lavadoras y aires acondicionados (Yin & Alivisatos, 2005). Por su parte, en el sector de la salud, las AgNPs son compuestos antimicrobianos muy prometedores ya que han demostrado mediante una gran variedad de estudios su alta actividad bactericida (Sayed et al., 2018) ya sea actuando por sí solos como agentes bactericidas en la instrumentación médica, por ejemplo en implantes, vendajes, cremas y geles etc., asimismo, en la fabricación de textiles con propiedades que reducen la proliferación de hongos y bacterias (Briones et al., 2009) o como complementarios a los antibióticos comúnmente usados.

Las aplicaciones específicas de las nanopartículas dependen de las propiedades de las mismas, y éstas a su vez, pueden ser moduladas gracias a la manipulación de las condiciones

de síntesis ya que permite el control en la morfología de las nanopartículas (Zanella, 2012). Se han desarrollado diversas técnicas físicas y químicas tales como fotorreducción, microemulsión, reducción química, biosíntesis, ablación láser, entre otras, teniendo en cuenta, que cada método tiene sus propias ventajas y limitaciones (Artunduaga John, 2014).

2.6 Métodos de síntesis

Como se mencionó anteriormente, se pueden emplear varios métodos para la síntesis de NPs teniendo en cuenta que el método de síntesis afecta el tamaño y el diámetro promedio, así también la distribución de tamaño, la forma, la carga superficial y el rendimiento de la reacción de las NPs, entre otras. Los métodos de síntesis de nanopartículas suelen agruparse en dos categorías, las aproximaciones de arriba hacia abajo o *top down* y las de abajo hacia arriba o *bottom up*. La primera involucra principalmente métodos físicos y consiste en la división de sólidos máscicos en proporciones más pequeñas, la trituración mecánica de metales a granel y la subsiguiente estabilización de las partículas metálicas nanosizadas resultantes mediante la adición de agentes protectores coloidales, la evaporación-condensación y la ablación con láser son algunos de los ejemplos más importantes de esta metodología (Dargo et al., 2017). Por otro lado, la estrategia de síntesis de abajo hacia arriba o *bottom up*, involucra principalmente métodos químicos, consiste en la fabricación de nanomateriales a través de la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en solución (Zanella, 2012), se destacan la reducción de metales, agregación coloidal, métodos electroquímicos, irradiación con microondas, síntesis solvotermal, método sol-gel entre otros.

La reducción química es el enfoque más común para la síntesis de AgNPs, se aplican agentes reductores orgánicos e inorgánicos como citrato de sodio, borohidruro de sodio, ácido ascórbico, hidracina y ascorbato para la reducción de iones plata (Ag^+) en solución, obteniendo

una solución de plata coloreada debido a los electrones libres de carga en la banda de conducción y núcleos cargados positivamente (Dargo et al., 2017)

Si bien los nanomateriales se pueden obtener por diferentes rutas, las técnicas *bottom up* a través de nanoreactores moleculares resultan bastante interesantes debido a su versatilidad, entre estas se destacan los procesos que utilizan microemulsiones estabilizadas como micelas inversas (Vidal-abarca et al., 2010).

2.6.1 Micelas Inversas. Las micelas inversas son "dispersiones" coloidales de agua en aceite (o aceite en agua) estabilizadas por un surfactante en donde las moléculas surfactantes se orientan con los grupos hidrofílicos hacia el interior, controlando así, el crecimiento, la dispersión del tamaño y la forma de las partículas resultantes que tienen lugar dentro de la fase acuosa (Cushing, Kolesnichenko, & Connor, 2004) evitando procesos de aglomeración indeseables, mientras que los grupos no polares se orientan hacia el exterior donde se encuentra el solvente orgánico como se muestra en la Figura 4; estas dispersiones termodinámicamente estables se pueden considerar como verdaderos nanoreactores que pueden usarse para llevar a cabo reacciones químicas, y en particular, para sintetizar nanomateriales (Lopez-quintela, 2003) lo cual las distingue de las macroemulsiones tradicionales que son, por definición, termodinámicamente inestables (Cushing et al., 2004). Además, las microemulsiones presentan propiedades excepcionales, tales como, tensión interfacial ultra-baja, gran área interfacial, constancia termodinámica y la capacidad de solubilizar líquidos inmiscibles (Dargo et al., 2017). Por todo esto, esta técnica se ha extendido rápidamente para una amplia variedad de aplicaciones industriales (Yin & Alivisatos, 2005).

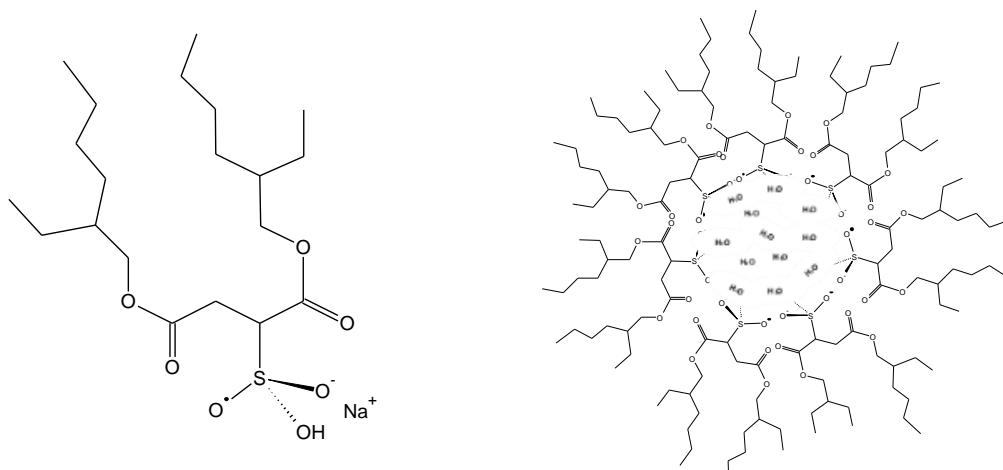


Figura 4. a) Imagen del surfactante aniónico bis-(2-etilhexil)-sulfosuccinato de sodio (AOT).
b) Representación micela inversa de AOT.

2.7 Técnicas Instrumentales

Una de las razones por las cuales la nanociencia y la nanotecnología adquieren relevancia es la capacidad para observar fenómenos en esta escala. Para ello se hace uso de diferentes técnicas, que permitan obtener información precisa para comprender y luego diseñar nanocompuestos. Estos nanocompuestos se presentan bajo una enorme variedad de formulaciones, tamaños y formas: nanopartículas, nanotubos, nanoredes, nanocircuitos, moléculas, biomoléculas, polímeros, etc (Rojas-aguirre & González-méndez, 2016).

En la nanotecnología no solamente importa cómo es y qué tamaño tiene el nano-objeto, sino dónde está ubicado, quiénes lo rodean, cómo acceder a él, cómo modificarlo, entre otras. Por esto, surge la necesidad de diseñar métodos para acceder a los materiales a diferentes escalas:

- Atómico/molecular (composición, entorno atómico y posiciones relativas de los átomos).
- Nanométrica (escala del nano-objeto: forma, tamaño, simetría).

- Orientación/Posición en un dispositivo o sistema (conectividad, superposición, contacto entre objetos, en la escala de las decenas de nm).
- Agregación e interacción (escala de decenas de nm).
- Estructura y propiedades de la superficie (naturaleza, regularidad, propiedades de tamaño, conectividad, cómo cambian sus propiedades con el tamaño, con la conectividad, etc).

Hoy en día se cuenta con un gran número de herramientas que ayudan a comprender el nanomundo entre las que se destacan técnicas espectroscópicas como Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR), Ultravioleta visible (UV-vis), Emisión en estado estacionario, Energía Dispersiva (EDS), Fluorescencia de Rayos X (XRF) y Dispersión Dinámica de Luz (DLS); y las técnicas microscópicas como Microscopía electrónica de barrido (SEM), Electrónica de Transmisión (TEM), de Fuerza Atómica (AFM) y efecto túnel (STM), entre muchas otras (Soler Illia, 2009). Sin embargo, debido al limitado acceso a muchas de estas técnicas instrumentales, en el presente trabajo se realizarán los estudios usando las técnicas espectroscópicas FTIR, UV-vis, Fluorescencia y DLS, en conjunto con microscopía TEM.

En general, la espectroscopia se puede definir como el estudio de la interacción entre la radiación electromagnética y la materia (Takeuchi Naboru, 2009). Los átomos de cada molécula o material vibran con frecuencias que dependen principalmente de la magnitud del enlace entre los átomos, por eso, cada combinación de átomos tiene una frecuencia particular, la cual se puede usar para identificar la composición del material, al someter la muestra a radiación infrarroja de diferentes frecuencias se puede observar la absorción de la radiación en algunas de estas frecuencias en particular (Takeuchi Naboru, 2009), lo cual significa que la energía es transferida al material, cambiando el modo de vibración de las moléculas, sugiriendo así, qué tipo de interacciones se tiene en la muestra. También se puede usar luz ultravioleta, o luz visible, para estudiar materiales. En este caso, la frecuencia de la luz incidente no coincide

con la frecuencia de vibración de las moléculas, sin embargo, la radiación puede excitar electrones hacia altos niveles de energía y a partir de la diferencia entre las frecuencias inicial y final se puede obtener información acerca del material en estudio. La fluorescencia por su parte, es un proceso de emisión en el cual las moléculas son excitadas por la absorción de radiación electromagnética y al relajarse al estado basal liberan el exceso de energía en forma de fotones. Existen muchos tipos de espectroscopias que al igual que las que se han mencionado anteriormente, permiten conocer distintos aspectos del nanomundo (Takeuchi Naboru, 2009).

La forma, el tamaño y poli-dispersidad de los nanocompuestos se examina por medio de las técnicas de microscopía SEM y TEM principalmente; la primera consiste en un haz de electrones altamente energéticos que incide sobre la muestra, provocando el choque y penetración de en la superficie de la misma, esto produce una serie de interacciones que conducen a la dispersión de los electrones incidentes, o bien, provocan la emisión de electrones secundarios por la muestra; los electrones dispersados y secundarios son recolectados en detectores específicos y transformados en una imagen de la superficie del material. Por su parte TEM, consiste en un haz de electrones acelerados y proyectados sobre una muestra (previamente depositada en una rejilla de cobre), mediante un sistema de lentes magnéticas condensadoras y objetivo. Una parte de los electrones son dispersados selectivamente por la muestra, otros transmitidos, y todos ellos son conducidos y modulados por unas lentes proyectoras sobre una pantalla fluorescente para formar una imagen final aumentada de la muestra. De manera similar, el tamaño y polidispersidad de partículas en esta escala, se puede realizar por medio de DLS, la información que se obtiene corresponde a la cantidad de luz dispersada en 90° por las partículas suspendidas en un líquido en constante movimiento browniano.

3. Estado del Arte

El estudio de las NPs está en constante avance debido a sus diversas aplicaciones en múltiples sectores de la industria y la academia. Entre ellos, la medicina, específicamente en salud pública, es un sector que combate grandes problemáticas que impactan a toda la sociedad, en donde uno de los problemas más importantes está relacionado con las enfermedades infecciosas causadas por microorganismos patógenos. En este sentido, la nanotecnología ha sido una buena alternativa mediante estudios antimicrobianos con nanopartículas, dentro de las cuales, las AgNPs han demostrado alta actividad bactericida, produciendo una mortandad del 99,9% con sólo pequeñas dosis de estas (Constanza Florez, 2014), siendo esto de gran relevancia teniendo en cuenta que hoy en día, el mal uso y el abuso de antibióticos convencionales ha generado microorganismos resistentes, suponiendo una amenaza cada vez mayor.

El número de enfermedades ocasionadas por estos microorganismos multirresistentes ha incrementado considerablemente en la última década, según la Organización Mundial de la Salud cada año 480000 personas presentan tuberculosis multirresistente. Esta farmacorresistencia empieza a comprometer los tratamientos contra importantes patologías como el VIH y el paludismo (OMS). Entre los microorganismos multirresistentes se encuentran bacterias, virus y algunos parásitos, que generan mutaciones y adquisición de genes, que trae como consecuencia la resistencia a fármacos. Estudios recientes han demostrado el poder bactericida de AgNPs frente a cepas patógenas de *Escherichia coli* O157:H7 y *Staphylococcus Aureus* Resistente a la Meticilina (SARM) con AgNPs de 55 nm, obteniendo valores de CMI y CMB de alrededor de 0,25 g/mL y 1 mg/mL, respectivamente (Paredes, Ortiz, & Torres, 2014). Sin embargo, la nanociencia sugiere la reducción de tamaño de los materiales para una mayor eficacia, lo que ha desembocado en estudios de AgNPs en el rango de 10-15 nm con

mayor estabilidad y actividad antibacteriana siendo más eficiente contra bacterias gram-negativas (Shrivastava et al., 2007). Yu-Guo y colaboradores sintetizaron AgNPs esféricas de 11 nm de diámetro y evaluaron su actividad frente dos bacterias patógenas multirresistentes, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, que se aislaron a partir de muestras de leche producidas por cabras infectadas con mastitis, obteniendo concentraciones mínimas inhibitorias (CMIs) de AgNPs de 1 y 2 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Yuan, Peng, & Gurunathan, 2017).

Por otra parte, una de las principales cepas fúngicas con mayor resistencia antibiótica es la *C. albicans*, presentando resistencia del 50% para fluconazol y resistencia a itraconazol a los 32 $\mu\text{g/mL}$ con valores de CMI_{50} y CMI_{90} a los 34 y 47 y 36 y 49 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Marie B. Coyle, 2015). Diferentes autores han sintetizado AgNPs esféricas con tamaños medios de 19 nm y carga superficial positiva por métodos amigables con el medio ambiente, y cisteína como agente reductor. Estos investigadores evaluaron la actividad antifúngica frente a especies de *Candida* resistentes a fluconazol, cepas de *Candida krusei* y *Candida glabrata*, y determinaron la concentración inhibitoria mínima (CIM_{50}) y la concentración mínima fungicida (CMF) de 0,1 $\mu\text{g/mL}$ AgNPs para todas las especies, y CMF de 0,25 y 0,5 $\mu\text{g/mL}$ para *C. glabrata* y *C. krusei*, respectivamente (Artunduaga John, 2014).

Diferentes metodologías se han desarrollado para la síntesis de NPs con el fin de estudiar su efecto y encontrar la mayor eficacia de las mismas en las respectivas aplicaciones; D.K. Bozanic *et al.*, sintetizaron AgNPs estudiando dos metodologías diferentes que incluían calentamiento rápido (usando radiación por microondas) y lento (convencional) de las mezclas de reacción, en donde los resultados revelaron que las propiedades ópticas de los nanocompuestos dependen fuertemente del método de preparación, además de exhibir propiedades antimicrobianas ligeramente diferentes (Dimitrijevi, Bibi, Luyt, & Djokovi, 2011). No obstante, la evolución de la técnica de microemulsión en los últimos años se ha evidenciado

gracias a los mecanismos de control del tamaño de partícula, a saber, el control mediante microemulsiones apropiadas y el control mediante la adsorción de surfactante (Lopez-quintela, 2003).

Uno de los entornos más vulnerables a la contaminación por microorganismos es el ambiente hospitalario, en el cual el agua, el aire, la comida y las superficies de materiales como los textiles pueden representar sustratos para la proliferación microbiana y por lo tanto ser fuente importante de bacterias, virus y hongos que pueden contaminar a los pacientes y al personal clínico (López-cerero, 2014). Debido a esto, ha surgido la necesidad de formular textiles con capacidades antimicrobianas, H. J. LEE y colaboradores investigaron el efecto antibacteriano de la solución coloidal de plata nanométrica contra *S. aureus* y *K. pneumoniae* depositando la solución en telas textiles por el proceso de relleno logrando que todas las telas de algodón, teñidas o impresas, tuviesen una excelente bacteriostasis contra *S. aureus* y *K. pneumoniae* y una buena durabilidad de lavado (Lee, Yeo, & Jeong, 2003). Por su parte, Ilana Perelshtein *et al.*, depositaron AgNPs mediante irradiación con ultrasonidos en la superficie de diferentes tejidos (nylon, poliéster y algodón) investigando el rendimiento de las telas recubiertas con nanoplata como agente antibacteriano, y se demostró el excelente efecto bactericida, además de presentar bajos costos y nula toxicidad en los materiales involucrados (Perelshtein, Ilana & Applerot, Guy & Perkas, Nina & Guibert, Geoffroy & Mikhailov, Serguei & Gedanken, 2008). Algunos estudios recientes de AgNPs soportadas en textiles se presentan en la Tabla 1.

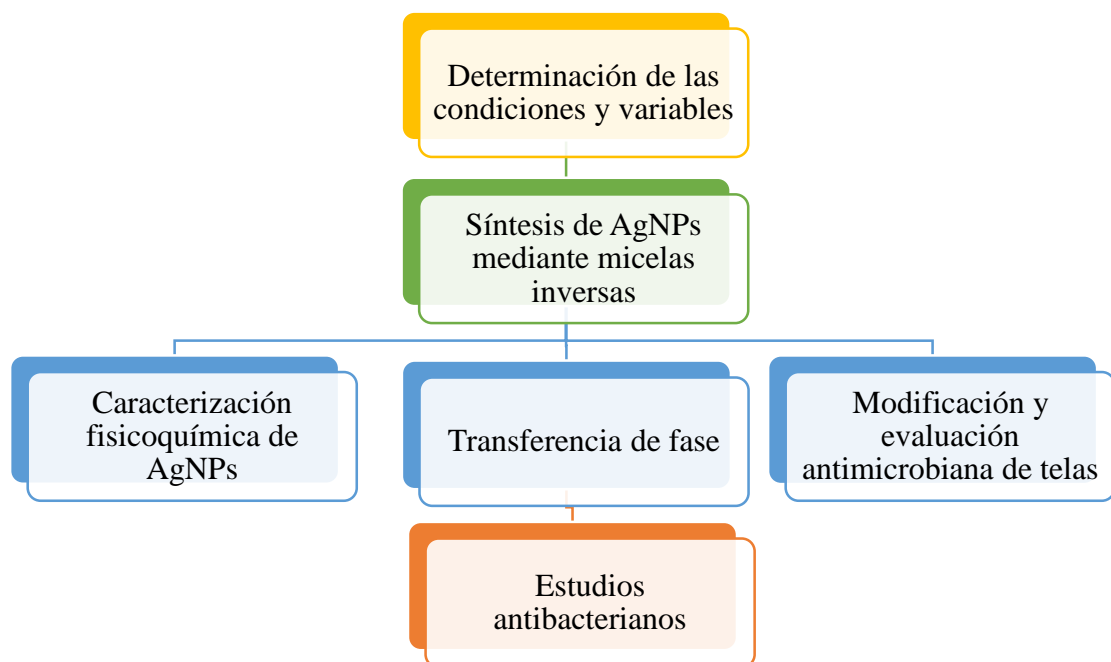
Tabla 1. Estudios recientes de la evaluación de la actividad antimicrobiana de las AgNPs soportadas en textiles.

Estudios publicados	Cita
Advances in Nanotechnology Based Functional, Smart and Intelligent Textiles: A Review	(Joshi & Adak, 2018)
Applications of Nanomaterials	(Al, 2013)

Inorganic Nanowires for Sensing Applications	(Rahamim, Aliev, Zitoun, & Gan, 2018)
Antibacterial Nanoparticles	(Lagesse & Parke, 2018)

4. Metodología

Diseño metodológico



4.1 Síntesis de AgNPs

Se sintetizaron nanopartículas de plata en micelas inversas de diferente composición, utilizando como surfactante el 4-etilhexil-sulfosuccinato de sodio (AOT) disuelto en tolueno e isooctano como medio externo a una concentración 0.1M, concentración para la formación de los nanorreactores. Se encapsularon 31,6 μL nitrato de plata 0.05M e hidracina y borohidruro de sodio 0.3M como agentes reductores en los sistemas micelares número uno y dos respectivamente (RMs, por sus siglas en inglés *Reverse Micelles*), a una relación molar $W_s = [\text{Reductor}]/[\text{Surfactante}] = 7$. Los sistemas RMs1 y RMs2 se mezclaron bajo agitación

magnética constante, permitiendo una efectiva interacción micela-micela y la formación de las AgNPs, como se muestra en la Figura 5.

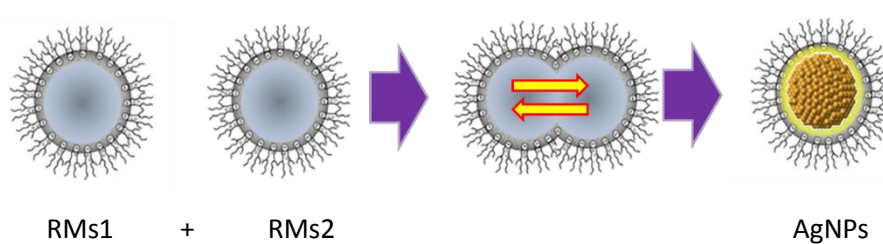


Figura 5. Diagrama de la interacción micelar para la formación de las AgNPs.

4.2 Caracterización fisicoquímica de nanopartículas de plata

Las nanopartículas se caracterizaron por espectroscopia Ultravioleta-visible (UV-vis) (Espectrofotómetro UV-Vis modelo UV-1800) con celdas de cuarzo a una longitud de onda $\lambda = 250 - 900$ nm, depositando en dos celdas de cuarzo 3 mL de nanopartículas en solución y 3 mL de blanco (respectivamente) para realizar la búsqueda de la banda característica de resonancia de plasmón superficial de las mismas. Mediante espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) se analizaron las interacciones de las nanopartículas con el surfactante empleado en el Espectrofotómetro FTIR BRUKER Tensor 27 con celda ATR a un número de onda $\nu = 1800 - 900$ cm^{-1} , usando como blanco el solvente orgánico respectivo. Para conocer el tamaño y morfología de las nanopartículas de plata, se realizó un análisis por dispersión dinámica de luz (DLS) (Zeta-sizer z 90) con láser Helio: Neón a 633nm, depositando 1 mL de la muestra sobre una celda de vidrio. Se realizaron un total de 6 medidas donde cada una de ellas consistía en 10 *scans*, para un total de 60 *scans*. Por último, se realizaron medidas de microscopía electrónica de transmisión (TEM) (PHILIPS CM10) depositando 50 μL de la solución coloidal de nanopartículas en una rejilla de cobre recubierta con FORMVAR (carbono amorfo y un polímero resistente a solventes orgánicos) hasta su

evaporación. Por último, se realizaron mediciones de potencial Z en un equipo Zetasizer Nano, para cada una de las soluciones preparadas luego de realizar la transferencia de fase.

4.3 Transferencia de fase de las AgNPs

Las nanopartículas fueron llevadas a medio acuoso realizándoles dos lavados adicionando $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{4}$ del volumen de nanopartículas sintetizadas de etanol y agua respectivamente, este último por goteo. Se obtienen dos fases, como lo indica la Figura 6, en donde la superior corresponde a las AgNPs suspendidas en fase orgánica y la fase acuosa con el exceso de surfactante. Se procede a la extracción de la fase orgánica, la cual fue llevada a sequedad con nitrógeno (Figura 7) y por último, el sólido resultante se resuspendió en agua tipo I.

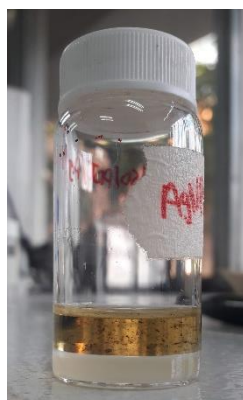


Figura 6. Imagen de las dos fases resultantes del lavado con etanol/agua.

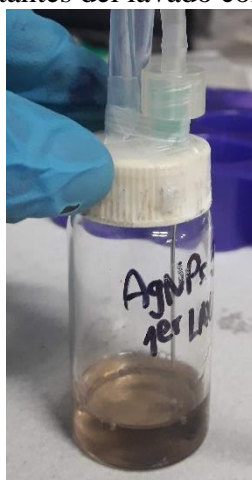


Figura 7. Montaje para llevar a sequedad con nitrógeno.

4.4 Actividad antimicrobiana

La determinación de actividad antimicrobiana se llevó a cabo mediante pruebas de inhibición de crecimiento bacteriano, determinación de concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de cada agente, utilizando SARM, *S. aureus* ATCC 29213 (de acuerdo con el protocolo del *Clinical and Laboratory Standards*). Se realizó previamente un screening de actividad antimicrobiana el cual consistió en el análisis y evaluación del crecimiento de 8 distintas cepas bacterianas en un tiempo de 18 horas, frente a las NPs sintetizadas a una concentración de 100ppm.

4.4.1 Evaluación de actividad antimicrobiana. La concentración mínima inhibitoria (CMI) fue determinada utilizando el ensayo de microdilución en caldo (Espinel-ingroff, 2004; Paredes et al., 2014). Se preparó un preinóculo (10% del volumen total requerido para el ensayo) de *S. aureus* ATCC 29213 y SARM en caldo Mueller-Hinton diluido a la mitad; se incubó durante 12h a 37°C y agitación orbital de 200 rpm. Los preinóculos fueron incubados hasta alcanzar una concentración bacteriana de 4.6×10^8 unidades formadoras de colonia/mL (UFC/mL) de acuerdo a la escala de Mcfarland. El inóculo se preparó a partir del preinóculo llevándolo al volumen final con medio estéril, obteniendo una absorbancia entre 0,07 y 0,1 equivalente a $\sim 5 \times 10^5$ UFC. Posteriormente se realizó el seguimiento de la cinética de crecimiento empleando 100 μ L de este inóculo bacteriano durante 9h, en microplacas de Elisa que previamente contenían diluciones seriadas del Nps (100, 50, 25, 10, 5, 2.5 y 1.125 ppm) manteniendo una agitación orbital de 200 rpm. Las medidas de absorbancia se realizaron en un espectrofotómetro lector de microplaca ELISA (Biorad, Imarck) a 595 nm. La CMI fue definida como la menor concentración de las Nps que produce una inhibición en el crecimiento

de bacteriano. Los valores de CMI₅₀ y CMI₉₀ corresponden a las dosis capaces de inhibir el 50 y 90% del crecimiento bacteriano, respectivamente (Cruz et al., 2013).

4.5 Telas con actividad antimicrobiana

Se impregnaron telas (80% algodón y 20% poliéster) sumergiéndolas completamente y en agitación constante por 20 horas en las nanopartículas generadas (Figura 8), se evaluó su adherencia mediante espectroscopia ultravioleta-visible después de dos lavados convencionales con detergentes comerciales. Finalmente se evaluó su actividad antimicrobiana sumergiéndolas por 2 horas en el inóculo microbiano y soportándolas en una placa de Agar por 24 h.

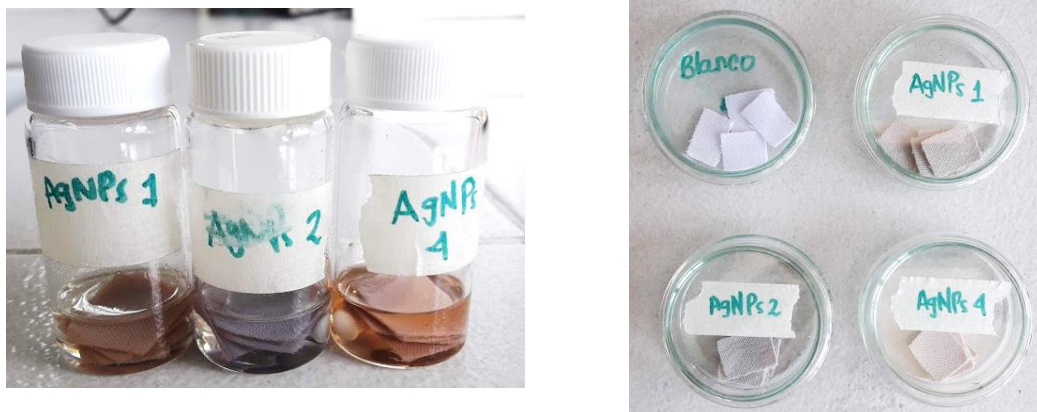









Figura 8. Impregnación de telas con las nanopartículas de plata obtenidas.

4.5.1 Evaluación cualitativa de la inhibición del crecimiento planctónico y la adhesión a superficie. Se realizó la evaluación cualitativa de la capacidad de las telas con AgNps de inhibir el crecimiento de *S. aureus* ATCC 29213, SARM, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* y *Candida sp* en medio líquido, así como la capacidad de disminuir la adhesión de microorganismos a la superficie. Brevemente, se utilizaron muestras con recubrimiento de AgNps y sin AgNps (control de crecimiento microbiano). Cada tela se colocó en un vial de

vidrio de 10mL con 1mL de caldo bacteriano a una concentración de 10^5 UFC/mL en medio Mueller Hinton o RPMI 1640 y se incubaron a 37°C por 12 - 16 horas. Una vez finalizado el tiempo de incubación se registró el crecimiento microbiano de acuerdo a la turbidez del medio de cultivo.

Posteriormente, cada una de las telas fue lavada con agua peptonada 1%, se colocó sobre una placa de agar BHI y se incubo a 37°C por 12 horas. Finalmente se registró el crecimiento de los microorganismos en el medio de acuerdo a la Tabla 2.

Tabla 2. Procedimiento del análisis del crecimiento de los microorganismos.

Inhibiciones planctónicas				
Resultado	-	+	++	
Visualización				
Descripción	No se evidencia crecimiento bacteriano en el medio de cultivo, medio traslucido.	Se observa crecimiento bacteriano, incremento en la turbidez del medio.	Se observa crecimiento abundante bacteriano, medio de cultivo muy turbio.	
Adhesión				
Resultado	-	+	++	+++
Visualización				
Descripción	No se evidencia crecimiento bacteriano en la placa de Agar.	Se observan algunas colonias bacterianas.	Se observa crecimiento moderado en la tela.	Crecimiento abundante de bacterias adheridas a la tela.

4.5.2 Evaluación cuantitativa de la actividad antimicrobiana de telas. Se realizó la evaluación cuantitativa de actividad antimicrobiana de las telas con AgNPs frente a *S. aureus* ATCC 29213, SARM, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* y *Candida spp.*, siguiendo la metodología

de ISO 20743 con algunas modificaciones. Brevemente, se utilizaron muestras con recubrimiento de AgNps y sin AgNps (control de crecimiento microbiano). Cada tela se colocó en un vial de vidrio de 10mL con 1mL de caldo bacteriano a una concentración de 10^5 UFC/mL en medio Mueller Hinton (bacterias) o RPMI 1640 (*hongos*) y se incubaron a 37°C por 18 horas. Una vez finalizado el tiempo de incubación, las muestras fueron sonicadas por 5 min en 1mL de PBS para recuperar las células bacterianas adheridas a la tela. Se realizó el conteo de colonias en placas de agar BHI para determinar las UFC/mL en la solución, la cual permite determinar el porcentaje de células viables después del procedimiento experimental. Adicionalmente, se realizó el conteo de la UFC/mL en el medio de cultivo para observar si hubo inhibición del crecimiento general o inhibición de la adherencia a la superficie de la tela. Los valores de actividad antimicrobiana A fueron determinados usando la siguiente formula:

$$A = (\lg C_t - \lg C_0) - (\lg T_t - \lg T_0) = F - G$$

Donde F ($\lg C_t - \lg C_0$) representa el crecimiento de la muestra control (libre de AgNPs), $\lg C_t$ es el promedio del logaritmo decimal del número de bacterias encontradas en la muestra control incubada por 18 horas, mientras $\lg C_0$ es el logaritmo decimal número promedio de bacterias encontradas en la muestra control en el tiempo 0. G ($\lg T_t - \lg T_0$) es el crecimiento en la muestra con el recubrimiento antimicrobiano de nanopartículas, donde $\lg T_t$ es el promedio del logaritmo decimal del número de bacterias encontradas en la muestra control incubada por 18 horas, mientras $\lg T_0$ es el logaritmo decimal número promedio de bacterias encontradas en la muestra control en el tiempo 0.

5. Análisis de Resultados

5.1 Síntesis y caracterización de AgNPs

Se realizaron los ensayos preliminares respectivos para determinar la concentración de los precursores, nitrato de plata (AgNO_3) y agentes reductores, de 0.05M y 0.3M. Se estudiaron tres concentraciones molares (3,7 y 10) siendo $W_s=7$ la concentración en la cual se daba la formación de nanopartículas con los tamaños deseados y alta estabilidad, evitando con ello su aglomeración y posterior precipitación. Los gráficos UV-Vis de las nanopartículas sintetizadas con $W_s=3$ y 10 se encuentran en el Apéndice A y Apéndice B para las nanopartículas AgNPs1 y AgNPs3 respectivamente.

Como se observa en la Figura 9, se obtuvieron 4 tipos de nanopartículas gracias a la naturaleza de los sistemas micelares estudiados, las nanopartículas resultantes presentaron una coloración e intensidad representativa de las AgNPs. Se puede observar que las nanopartículas exhibieron una coloración amarilla utilizando hidracina (N_2H_4) como agente reductor, y una coloración naranja utilizando borohidruro de sodio (NaBH_4) como agente reductor. Así mismo se evidencia un cambio en la intensidad de este según el solvente orgánico utilizado. Las nanopartículas sintetizadas se rotularon según la Tabla 3.

Tabla 3. Rotulación de las diferentes nanopartículas obtenidas según la naturaleza de los sistemas organizados estudiados.

AGENTE REDUCTOR	SOLVENTE ORGÁNICO	
	Tolueno	Isooctano
Hidracina	AgNPs1	AgNPs3
Borohidruro de sodio	AgNPs2	AgNPs4

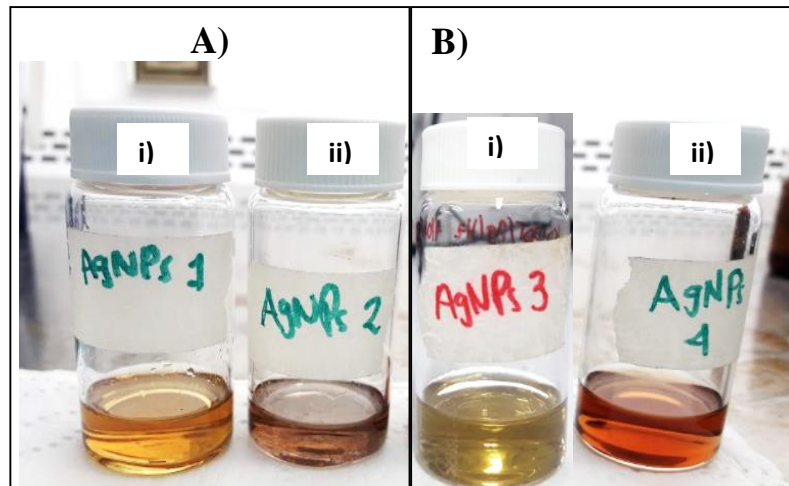


Figura 9. Nanopartículas de plata sintetizadas en micelas inversas utilizando como solvente orgánico A) Tolueno y B) Isooctano, con dos agentes reductores i) N_2H_4 y ii) $NaBH_4$, marcadas respectivamente como AgNPs1, AgNPs2, AgNPs3 y AgNPs4.

Las nanopartículas obtenidas fueron analizadas por espectroscopia UV-Vis con el fin de determinar su banda de plasmón superficial característica, espectroscopia IR para evaluar su interacción con el surfactante, el cual presenta 3 bandas características mostradas en la Figura 10, microscopia de transmisión electrónica (TEM) y dispersión dinámica de luz (DLS) para determinar la forma y distribución del tamaño de partícula. Finalmente, se determinó la carga superficial de las AgNPs mediante mediciones del potencial zeta.

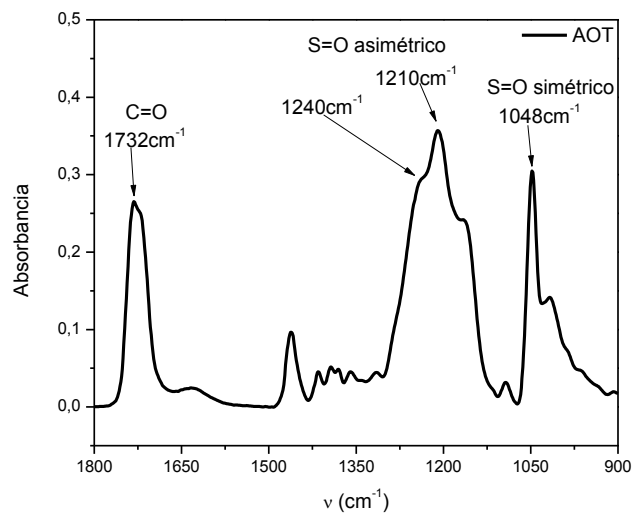


Figura 10. Espectro IR del AOT.

5.1.1 AgNPs en Tolueno. Se presentan los resultados obtenidos en la caracterización de las AgNPs sintetizadas en el sistema Tolueno/AOT.

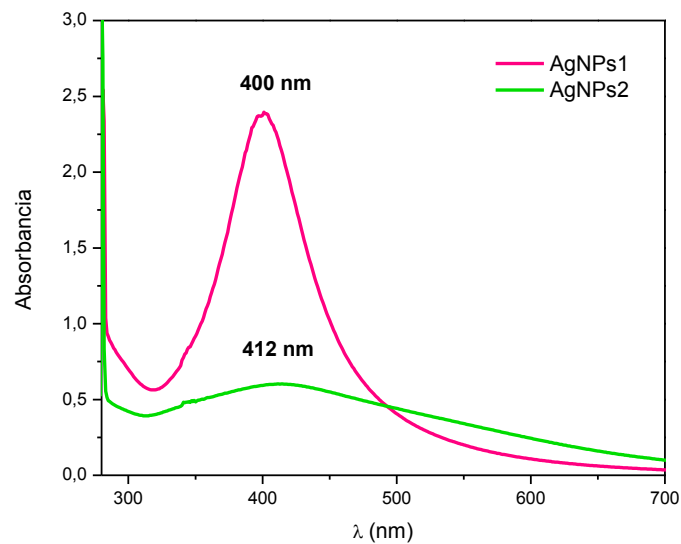
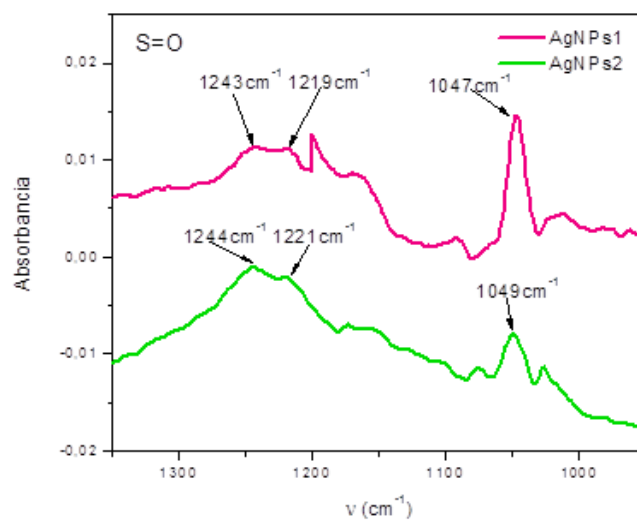


Figura 11. Espectro UV-vis de las AgNPs1 (—) y AgNPs2 (—).

En la Figura 11 se aprecia el espectro ultravioleta visible de las AgNPs1 y AgNPs2 a una relación molar $W_s=7$, usando como blanco el sistema micelar Tolueno/AOT encapsulando agua a la misma relación molar. Como lo indica el espectro, las AgNPs1 presentan una banda de resonancia del plasmón superficial alrededor de los 400 nm representativa de las AgNPs, su forma gaussiana y perfilada sugiere la formación de nanopartículas monodispersas y esféricas. Por otra parte, las AgNPs2 presentan una banda ancha de baja intensidad, además de un corrimiento a los 412nm; lo anterior sugiere la formación de nanopartículas de un tamaño mayor y/o altamente polidispersas.

A)



B)

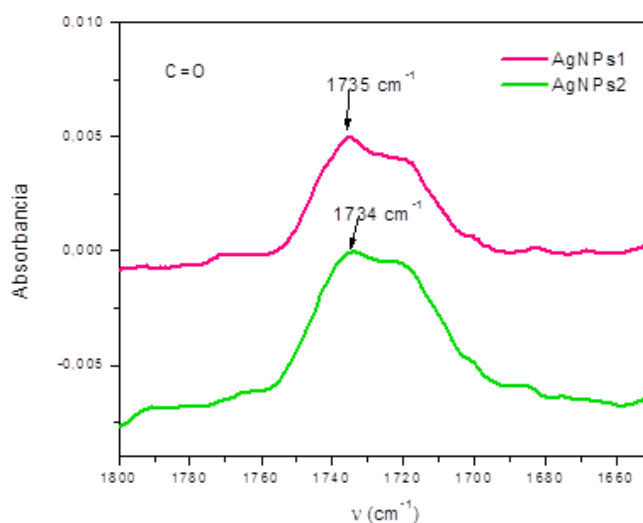
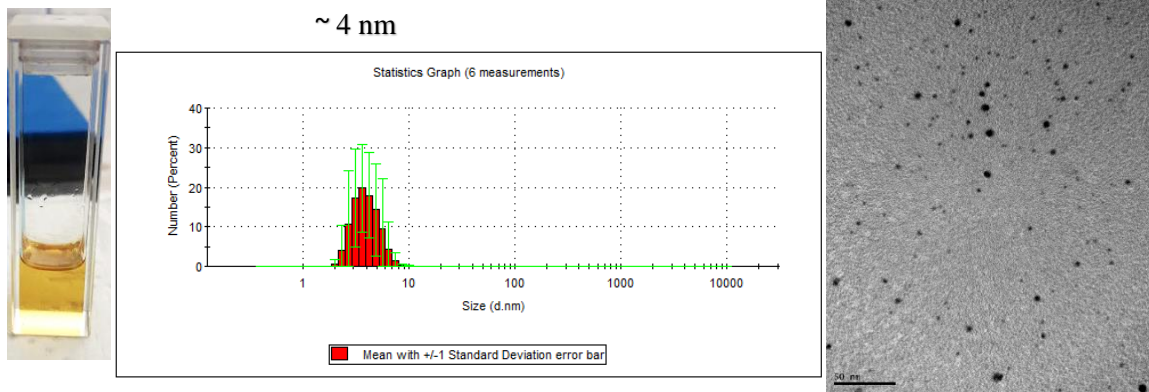


Figura 12. Espectros FTIR de las AgNPs1 y AgNPs2 A) espectro de 1350cm-1 a 950cm-1 y B) espectro de 1800cm-1 a 1650cm-1.

La Figura 12 muestra el espectro IR de las nanopartículas encapsuladas en los nanorreactores moleculares. Las bandas en 1243cm^{-1} , 1220cm^{-1} y 1048cm^{-1} (aprox) pertenecen a la absorción del grupo sulfonato (SO_3^-) de estiramiento asimétrico y simétrico, respectivamente. Se puede observar un cambio en la señal asimétrica del SO_3^- del AOT con respecto a la Figura 10; teniendo en cuenta que la relación asimétrica de esta banda corresponde a la distancia entre el catión sodio y los grupos polares del surfactante, la disminución de la asimetría de estas señales sugieren un aumento en dicha distancia debido a la adsorción de los iones sulfonato en la superficie de las AgNPs, ofreciendo estabilidad a la nanopartícula a través de interacciones electrostáticas (Bartlett John R. & Woolfrey James L., 1995).

Así mismo, la banda en los 1735 cm^{-1} corresponde a la señal del grupo carbonilo del surfactante AOT modificada a causa de las interacciones electrostáticas entre otras moléculas de AOT en la interfase y las nanopartículas formadas.

A)



B)

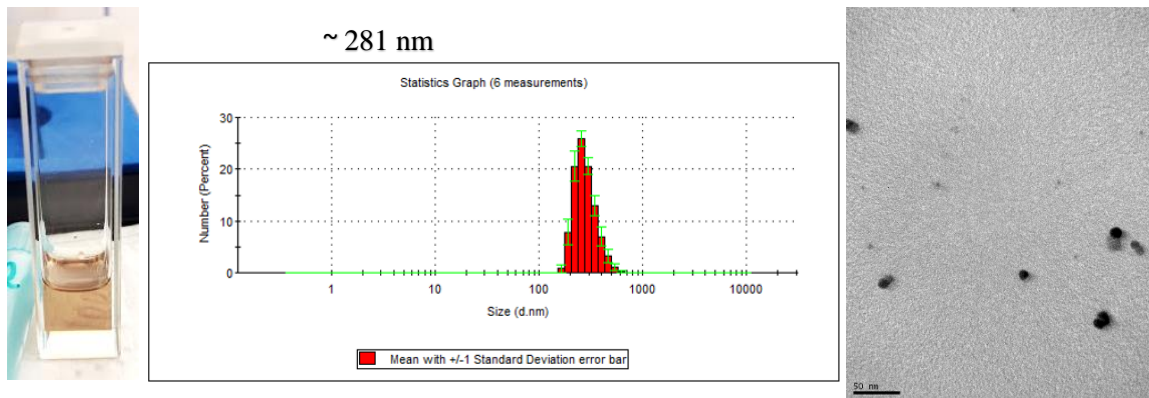


Figura 13. Histograma de distribución de tamaño de partícula y micrografía TEM A) AgNPs1 y B) AgNPs2.

Con el fin de evaluar el tamaño de las nanopartículas obtenidas se realizó un análisis por DLS, en la Tabla 4 y la Figura 13, se muestran los valores de tamaño y distribución promedio de los diámetros hidrodinámicos, junto con la imagen TEM de las AgNPs1 y AgNPs2.

Tabla 4. Datos obtenidos por DLS de las A) AgNPs1 y B) AgNPs2, a una relación molar $W_s=7$.

A)

No. Medición	PdI	Tamaño (nm)	σ
1	0,4	5,5	$\pm 0,8$
2	0,3	3,1	$\pm 0,6$
3	0,4	4,0	$\pm 1,0$
4	0,4	3,1	$\pm 0,5$
5	0,4	4,4	$\pm 0,8$
6	0,4	4,0	$\pm 0,9$
Promedio	4,0		

B)

No. Medición	PdI	Tamaño (nm)	σ
1	0,3	269,0	$\pm 59,7$
2	0,4	269,0	$\pm 66,4$
3	0,4	275,9	$\pm 71,0$
4	0,4	285,0	$\pm 66,1$
5	0,4	289,2	$\pm 76,3$
6	0,3	301,0	$\pm 78,9$
Promedio	281,5		

Según los datos obtenidos, se obtuvieron nanopartículas de un tamaño promedio de 4,0 nm, altamente monodispersas y una morfología esférica. Lo anterior sugiere que las AgNPs1 son nanopartículas independientes unas de otras y altamente monodispersas. En el caso de las AgNPs2, se puede observar que presentan un tamaño promedio de 281,5 nm, sin embargo, la imagen TEM sugiere tamaños menores alrededor de 20 y 30nm, esta diferencia puede deberse a una aglomeración de las nanopartículas en solución al momento de tomar el DLS ya que se encuentran en constante movimiento browniano por lo que al momento de la incidencia del láser puede estar captando más de una nanopartícula a la vez.

5.1.2 AgNPs en Isooctano. Se presentan los resultados obtenidos en la caracterización de las AgNPs sintetizadas en el sistema Isooctano/AOT.

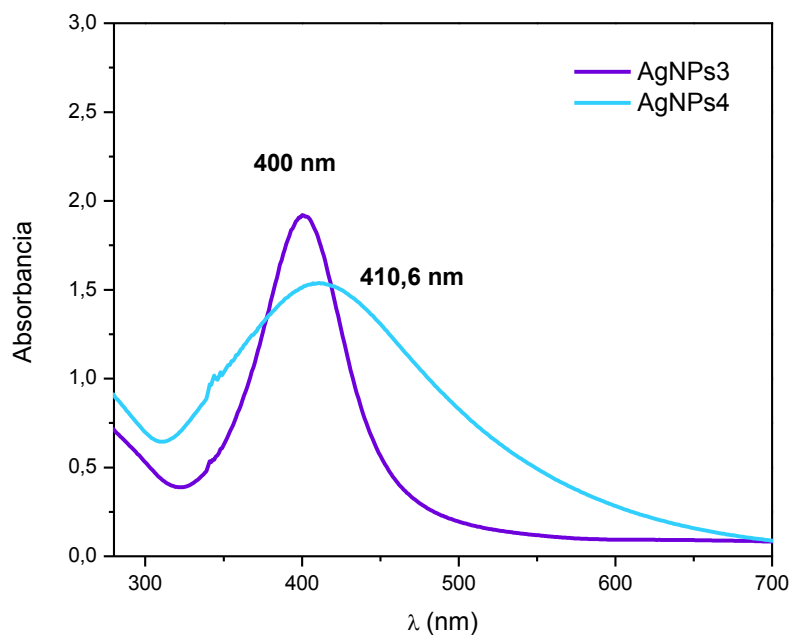
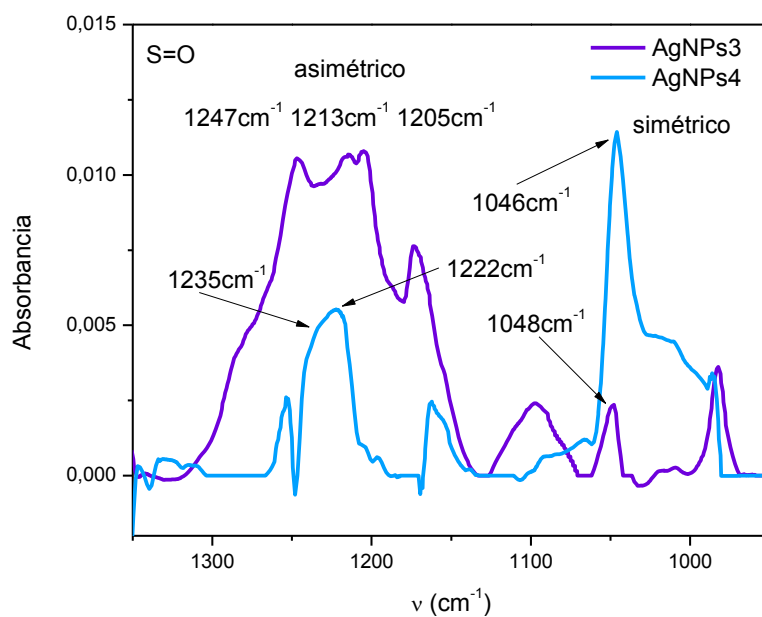


Figura 14. Espectro UV-Vis AgNPs3 y AgNPs4.

En la Figura 14 se aprecia el espectro ultravioleta visible de las AgNPs3 y AgNPs4 a una relación molar $W_s=7$, usando como blanco el sistema micelar Isooctano/AOT encapsulando agua a la misma relación molar. Como lo indica el espectro, las AgNPs3 presentan una banda gaussiana de resonancia del plasmón superficial alrededor de los 400 nm representativa de las AgNPs, su forma sugiere la formación de nanopartículas monodispersas y esféricas. A diferencia de la banda para las AgNPs4, la cual presenta un ancho de banda considerable y baja intensidad, además de un corrimiento a los 410nm; lo anterior sugiere la formación de nanopartículas de un tamaño mayor.

A)



B)

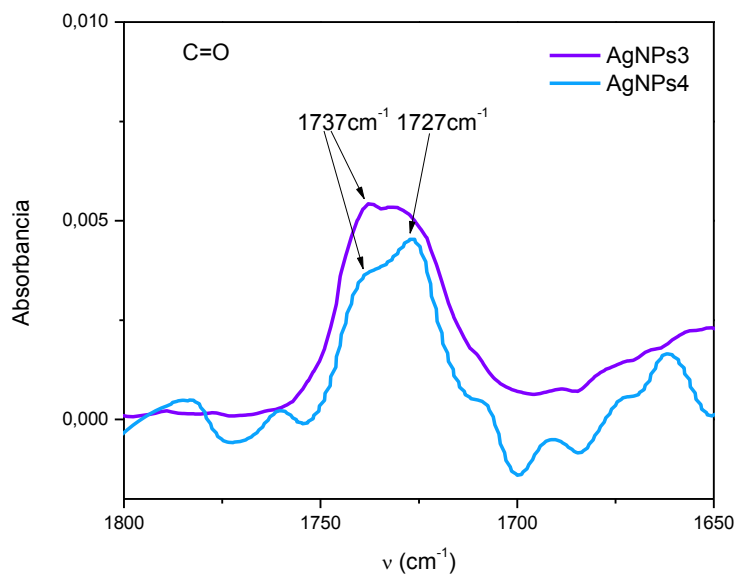


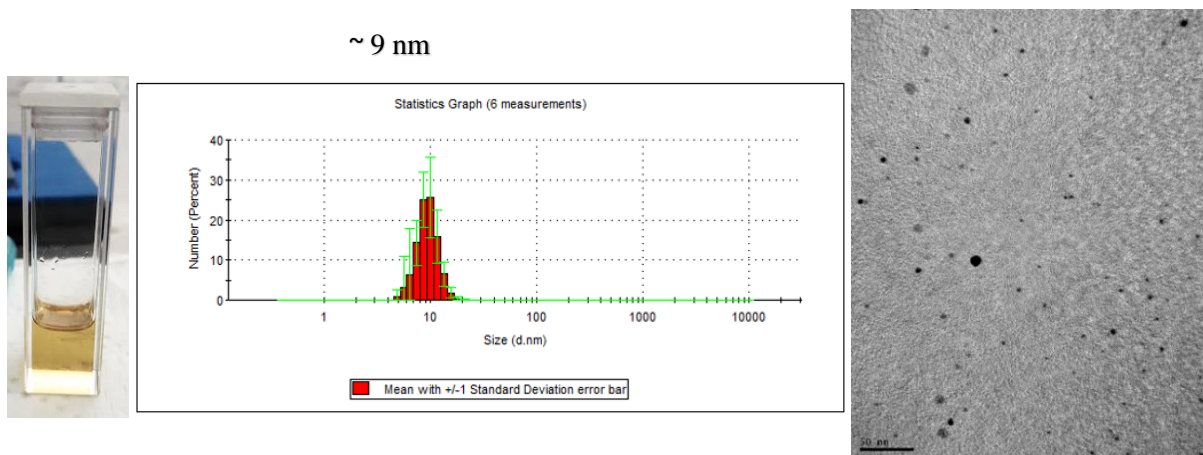
Figura 15. Espectro FTIR de las AgNPs 3 y AgNPs4 A) espectro de 1350 cm^{-1} a 950 cm^{-1} y B) espectro de 1800 cm^{-1} a 1650 cm^{-1} .

Por su parte, la Figura 15 muestra el espectro IR de las nanopartículas encapsuladas en los nanorreactores moleculares. Las bandas entre 1250 cm^{-1} y 1220 cm^{-1} pertenecen a la absorción asimétrica del grupo sulfonato (SO_3^-) y la banda en 1047 cm^{-1} (aprox) a la tensión simétrica del

mismo. Se puede observar un cambio en la señal asimétrica del SO_3 del surfactante Figura 10; teniendo en cuenta que la relación asimétrica de esta banda corresponde a la distancia entre el catión sodio y los grupos polares del surfactante, la disminución de la asimetría de estas señales sugieren un aumento en dicha distancia debido a la adsorción de los iones sulfonato en la superficie de las AgNPs, ofreciendo estabilidad a la nanopartícula a través de interacciones electrostáticas (Novaki & Seoud, 1998). Finalmente, en la zona de los 1735 cm^{-1} correspondiente al $\text{C}=\text{O}$, lo que sugiere que las nanopartículas están interactuando con todas las partes de la zona polar del tensoactivo

De manera general, se puede observar un corrimiento de las señales hacia mayores números de onda cuando se encapsulan las nanopartículas de plata en las micelas inversas, lo que sugiere la existencia de interacciones superficiales específicas entre el grupo polar del surfactante y la nanopartícula (Calandra et al., 2006).

A)



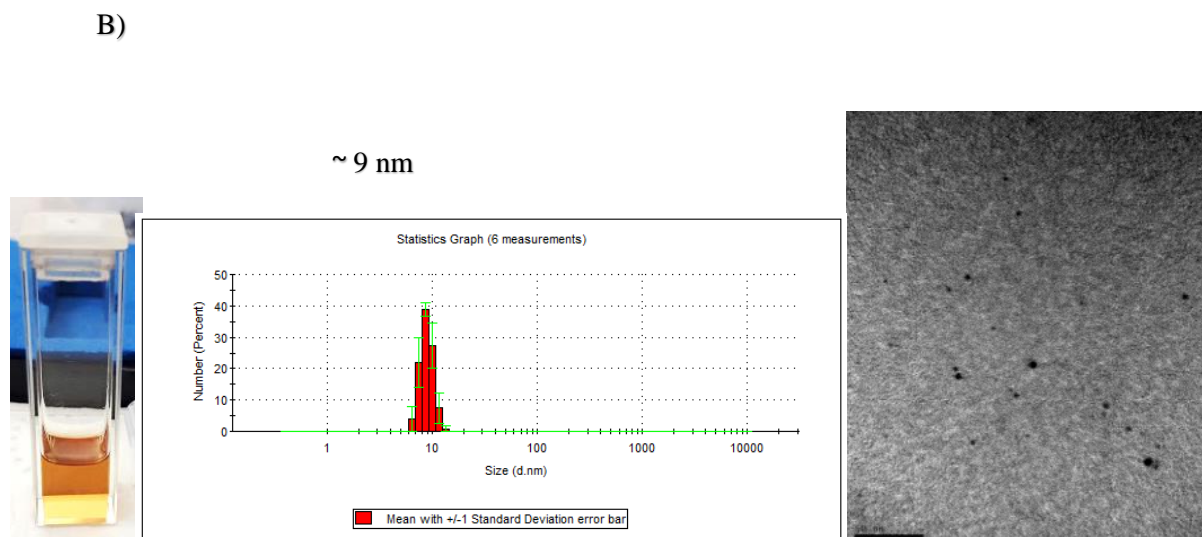


Figura 16. Histograma de distribución de tamaño de partícula y micrografía TEM A) AgNPs3 y B) AgNPs4.

Tabla 5. Datos obtenidos por DLS de las A) AgNPs3 y B) AgNPs4 a una relación molar $W_s=7$

A)

No. Medición	PdI	Tamaño (nm)	σ
1	0,3	10,0	$\pm 1,8$
2	0,3	9,7	$\pm 1,9$
3	0,4	6,6	$\pm 1,4$
4	0,3	9,7	$\pm 2,4$
5	0,3	9,8	$\pm 1,9$
6	0,2	9,7	$\pm 1,6$
Promedio	9,3		

B)

No. Medición	PdI	Tamaño (nm)	σ
1	0,3	9,2	$\pm 1,1$
2	0,3	9,7	$\pm 1,7$
3	0,4	9,5	$\pm 1,4$
4	0,4	9,5	$\pm 1,3$
5	0,4	9,8	$\pm 1,9$
6	0,3	8,7	$\pm 1,2$
Promedio	9,4		

Como se puede observar en las Tabla 5 y los histogramas en la Figura 16, las AgNPs 3 y 4 tiene un tamaño promedio cercano a los 9nm, con alta monodispersidad y morfología esférica según las micrografías TEM.

5.1.3 Derterminación del Potencial Zeta. Por último en la Tabla 6 se pueden observar los valores de potencial zeta obtenidos para las nanopartículas sintetizadas.

Tabla 6. *Valores de potencial zeta de las AgNPs obtenidas en cada uno de los sistemas micelaes estudiados.*

Sistema micelar	Potencial Zeta	σ
Tolueno/Hidracina	-73,5	$\pm 8,5$
Tolueno/Borohidruro de sodio	-57,8	$\pm 7,99$
Isooctano/Hidracina	-95,4	$\pm 7,3$
Isooctano/Borohidruro de sodio	-68,9	$\pm 8,4$

En la Tabla 6 se observa que los valores de potencial zeta de todas las nanopartículas sintetizadas corresponden a valores negativos, los cuales están asociados a la carga que proporcionan las moléculas de AOT residuales en la superficie de la nanopartícula.

De manera general, se puede observar la importancia de la naturaleza de las micelas como nanorreactor en la síntesis de nanopartículas, en primero lugar es importante destacar la importancia del surfactante, ya que es el principal causante de la forma de las nanopartículas debido a su estructura química y con ello su factor de empaquetamiento, el AOT forma micela inversas esféricas en solventes aromáticos e hidrocarburos alifáticos sin la adición de un cosurfactante por lo tanto la morfología esférica de las AgNPs es debida en gran medida al AOT (Gutierrez, Luna, Correa, & Silber, 2014).

Por otro lado, el agente reductor juega un papel importante en la formación de las nanopartículas según su potencial y velocidad de reducción y su relación en concentración con el precursor (A. JadaJ. LangR. ZanaR. MakhloufiE. HirschS. J. Candau, 1990). El NaBH₄ tiene potencial de reducción más alto que la N₂H₄ y esto se evidenció en el proceso de síntesis, en el cual la coloración amarilla con hidracina demoraba en aparecer alrededor de 10 minutos, contrario de los sistemas usando borohidruro de sodio que ocurría de manera inmediata, lo que significa que la reacción de reducción de los iones Ag⁺ con el NaBH₄ ocurren de manera inmediata y espontánea. Adicionalmente, se conoce que la presencia del AOT además de jugar un papel importante en la estabilidad de las AgNPs, también, influye en los procesos de crecimiento de estas en presencia de iones plata, afectando así, la velocidad de reacción de los

agentes reductores, así como la forma y el tamaño final de las partículas obtenidas (Pinilla Torres Ana María, 2018).

Finalmente, los resultados sugieren que el solvente orgánico externo tiene gran importancia en estos sistemas organizados y en la formación de las nanopartículas, debido a la diferencia de resultados obtenidos con los mismos agentes reductores en las nanopartículas “AgNPs2 y AgNPs4”. Esto se debe, a una diferencia en el intercambio del material tras la colisión de las micelas y la rigidez de la capa del surfactante, los cuales, a su vez, dependen en gran medida de la naturaleza del solvente orgánico externo a través de su penetración en la capa del surfactante y el efecto resultante sobre las propiedades de esta capa. Un aumento en la longitud de la cadena del surfactante disminuye el tamaño de las gotas de agua, un aumento en la longitud de la cadena del solvente (alcano) resulta en una variación opuesta en las microemulsiones w/o cuya estabilidad está determinada por interacciones entre gotas (D. Langevin, 1992). Por lo tanto, la extensión del tamaño de las micelas depende de la longitud de la cadena de hidrocarburos, el tamaño es mayor para los alcanos más cortos. Esto puede entenderse en términos de penetración del solvente en el surfactante, los alcanos de cadenas cortas penetran en la capa, aumentan el volumen de la cola de los hidrocarburos y disminuyen el valor del parámetro de empaquetamiento. El comportamiento de los aceites aromáticos es similar al de los alcanos de cadena corta (D. Langevin, 1992), por lo que los sistemas con tolueno como solvente orgánico presentan mayor rigidez y una interacción micelar mayor en un solo plano, generando asimismo, canales intermicelares más estrechos e inestables. Caso contrario, los sistemas usando isooctano como solvente orgánico presentan resultados similares en las nanopartículas sintetizadas con los dos agentes reductores estudiados debido a la estabilidad proporcionada en la interacción entre micelas proporcionado. Se puede concluir que las micelas inversas de AOT / isooctano proporcionan no solo un método ideal para la preparación de nanopartículas metálicas, sino también un estabilizador favorable para las

partículas metálicas, para evitar un mayor crecimiento y precipitación del núcleo de nanopartículas (Sun, Qiu, Liu, & Miao, 2009).

5.2 Estudios Antimicrobianos de las AgNPs sintetizadas

5.2.1 Actividad antimicrobiana. La Tabla 7 muestra los resultados del screening antibacteriano de las nanopartículas sintetizadas en los sistemas de Tolueno e Isooctano usando hidracina como agente reductor frente a 8 cepas bacterianas.

Tabla 7. Resultados de la actividad antibacteriana de las AgNPs1 y AgNPs3 a una concentración de 100ppm.

Bacterias	Porcentaje de inhibición	
	AgNPs1	AgNPs3
<i>E. coli</i> O157:H7	6%	2%
<i>S. enteritidis</i>	1%	1%
<i>S. typhimurium</i>	6%	1%
<i>P. aeruginosa</i>	99%	93%
<i>E. coli</i> ATCC 25922	7%	1%
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	99%	99%
SARM	22%	19%
<i>S. epidermidis</i>	99%	99%

En la Tabla 7 se presentan los resultados del screening antibacteriano de las nanopartículas AgNPs1 y AgNPs3 frente a *E. coli* O157:H7, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213 y *S. epidermidis*. Se puede observar que las AgNPs presentan una alta inhibición del crecimiento frente a *S. epidermidis*, *S. aureus* ATCC 29213 y *P. aeruginosa*, lo cual sugiere un mecanismo inespecífico de acción por parte de las nanopartículas, puesto que presentaron una inhibición del crecimiento a dos bacterias gram positivas (+) y una bacteria gram negativa (-), por lo tanto, las AgNPs pueden estar interactuando con la pared celular o incluso directamente con la superficie de la membrana

plasmática, lo que podría generar alteraciones en las funciones primarias como la permeabilidad y respiración (Panacek Ales, Kvitek Libor, Pucek Robert, Kolar Milan, 2006).

La Tabla 8 muestra los resultados de la actividad de concentración mínima inhibitoria de las nanopartículas de plata sintetizadas frente a *S. aureus* ATCC 29213 y *SARM*.

Tabla 8. Resultados CMI_{50} y CMI_{90} para las nanopartículas sintetizadas frente a *S. aureus* ATCC 29213 y *SARM*.

	<i>S.aureus</i> ATCC 29213		<i>SARM</i>	
	MIC50	MIC90	MIC50	MIC90
AgNPs1	50ppm	100ppm	25ppm	100ppm
AgNPs2	50ppm	100ppm	50ppm	100ppm
AgNPs3	2.5ppm	5ppm	2.5ppm	5ppm
AgNPs4	1.12ppm	2.5ppm	1.25ppm	2.5ppm
AOT	>100ppm	>100ppm	>100ppm	>100ppm

En la Tabla 8 se muestran los resultados de los estudios de la concentración mínima inhibitoria de las AgNPs frente a dos diferentes cepas bacterianas de *S. aureus*. Se evidencia actividad antimicrobiana de las nanopartículas evaluadas, observándose una inhibición significativa del crecimiento de las AgNPs3 y AgNPs4 contra ambas cepas de *S. aureus*. No se evidencia diferencia significativa entre las concentraciones mínimas inhibitorias en *SARM* y *S. aureus* ATCC 29213 de las AgNPs3 lo cual puede indicar que posee un mecanismo de acción o blanco común a ambas cepas del microorganismo. Las nanopartículas 3 y 4 poseen actividad antimicrobiana significativa comparada con la reportada en la literatura la cual se encuentra entre 25ppm y 100ppm (Du et al., 2019). Los resultados antibacterianos de las nanopartículas pueden ser influenciados por la estabilidad inicial proporcionada por la composición de los nanoreactores, sin embargo, en fase acuosa las nanopartículas presentan propiedades fisicoquímicas diferentes las cuales podrían estar siendo la causa de dicha actividad. Las gráficas de cinética de crecimiento de *S. aureus* ATCC 29213 y porcentaje de

inhibición y viabilidad de las AgNPs frente a ella pueden observarse en los Apéndice C al Apéndice F.

5.2.2 Evaluación de la inhibición del crecimiento planctónico y la adhesión a superficie en cepas bacterianas. A continuación se presentan los resultados de los ensayos cualitativos y cuantitativos de la inhibición del crecimiento bacteriano de las cepas *SARM*, *Staphylococcus aureus* ATCC29213, *P. aeruginosa* y *S. epidermidis* en telas dopadas con nanopartículas de plata.

Tabla 9. *Evaluación cualitativa de la actividad antibacteriana de recubrimientos de AgNPs frente a cepas de bacterianas.*

Microorganismo	Muestra	AgNPs1	AgNPs2	AgNPs3	AgNPs4	Blanco
SARM	Crecimiento planctónico	++	+	++	++	++
	Adhesión	+++	+++	+++	++	+++
<i>S. aureus</i>	Crecimiento planctónico	++	++	++	++	++
	Adhesión	+++	+++	+++	+++	+++
<i>P. aeruginosa</i>	Crecimiento planctónico	-	-	++	++	++
	Adhesión	+	+	+++	+++	+++
<i>S. epidermidis</i>	Crecimiento planctónico	+	+	++	++	++
	Adhesión	+	+++	+++	++	+++

++ o +++: Crecimiento cualitativo de la cepa estudiada

+: Crecimiento cualitativo leve de la cepa estudiada

-: No crecimiento de la cepa estudiada (Inhibición)

En la Tabla 9 se muestran los resultados obtenidos en la inhibición cualitativa del crecimiento bacteriano de las nanopartículas de plata frente a las 4 cepas bacterianas que presentaron una mayor inhibición en solución. Es importante destacar la nula inhibición del blanco en el crecimiento de las bacterias, esto indica que las inhibiciones presentadas por las nanopartículas frente a las bacterias, podrían deberse a la acción propia de las NPs.

Tabla 10. Reducción logarítmica del crecimiento de las cepas bacterianas adheridas a las telas con recubrimiento de AgNPs.

Muestra		AgNPs1	AgNPs2	AgNPs3	AgNPs4
Reducción logarítmica	SARM	-0,013	0,006	-0,496	-0,468
	<i>S. aureus</i>	0,906	0,903	0,758	1,053
	<i>P. aeruginosa</i>	2,734	3,122*	1,543	-0,327
	<i>S. epidermidis</i>	2,283	-0,041	0,799	2,666

*Se considera significativa una RL si es >3.

5.2.3 Evaluación de la inhibición del crecimiento planctónico y la adhesión a superficie en cepas fúngicas. A continuación se presentan los resultados de los ensayos cualitativos y cuantitativos de la inhibición del crecimiento fúngico de las cepas *Candida albicans* ATCC, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida parapsilosis* ATCC, *Candida tropicalis* A1, *Candida glabrata* A2 y *Candida albicans* A1 en telas dopadas con nanopartículas de plata.

Tabla 11. Evaluación cualitativa de la actividad antifúngica de recubrimientos de AgNPs frente a cepas de *Candida*.

Microorganismo	Muestra	AgNPs1	AgNPs2	AgNPs3	AgNPs4	Blanco
<i>C. albicans</i> ATCC	Crecimiento planctónico	+	++	+	++	++
	Adhesión	+	++	+++	+++	+++
<i>C. krusei</i> ATCC 6258	Crecimiento planctónico	++	+	++	-	++
	Adhesión	++	++	++	+	+++
<i>C. parapsilosis</i> ATCC	Crecimiento planctónico	++	++	++	++	++
	Adhesión	+++	++	+++	-	+++
<i>C. tropicalis</i> A1	Crecimiento planctónico	+	-	++	++	++
	Adhesión	++	+	+	+	+++
<i>C. glabrata</i> A2	Crecimiento planctónico	++	-	-	-	++
	Adhesión	+	-	-	+	+++

C. albicans A1	Crecimiento planctónico	++	++	++	++	++
	Adhesión	++	++	+++	+++	+++

++ o +++: Crecimiento cualitativo de la cepa estudiada

+ : Crecimiento cualitativo leve de la cepa estudiada

- : No crecimiento de la cepa estudiada (Inhibición)

Tabla 12. Reducción logarítmica del crecimiento de las cepas de candida adheridas a las telas con recubrimiento de AgNPs.

Muestra		AgNPs1	AgNPs2	AgNPs3	AgNPs4
Reducción logarítmica	C. albicans ATCC	2,982	0,279	0,006	0,329
	C. krusei ATCC 6258	0,358	0,071	0,153	4,744*
	C. parapsilosis ATCC	0,040	2,331	-0,677	2,382
	C. tropicalis A1	0,680	0,247	6,233*	1,983
	C. glabrata A2	-0,029	5,690*	4,380*	5,548*
	C. albicans A1	2,855	0,186	-0,100	3,862*

*Se considera significativa una RL si es >3.

Las imágenes de los resultados de las pruebas cualitativas en telas se muestran en los Apéndice G, Apéndice H, Apéndice I, Apéndice J, Apéndice K, Apéndice L, Apéndice M, Apéndice N, Apéndice O y Apéndice P para las distintas cepas bacterianas y fúngicas.

La actividad antimicrobiana de las telas fue evaluada frente a 4 cepas bacterianas, 3 Gram positivas y una Gram negativa, de forma cualitativa y cuantitativa. Todos los recubrimientos a excepción de AgNPs 1 tuvieron actividad antimicrobiana significativa frente al menos 2 de las cepas de estudio. El sistema AgNPs1 inhibió el crecimiento en las pruebas cualitativas de crecimiento planctónicos y de adhesión en las cepas de *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* y *C. albicans* ATCC. Sin embargo, esta inhibición no fue mayor a 3 reducciones logarítmicas (2,73; 2,28 y 2,98) lo cual puede indicar que se requiera recubrimiento con una concentración más alta para alcanzar un RL >3. La inhibición del crecimiento en el medio de cultivo puede ser atribuida a la liberación de nanopartículas al medio, por lo cual para estudios posteriores se recomiendan ensayos que determinen el deterioro del recubrimiento con el tiempo y el lavado del material.

Las AgNPs 2 presentaron actividad frente a *P. aeruginosa* en todas las pruebas realizadas a nivel cualitativo y cuantitativo, indicando una actividad antimicrobiana constante que se permea incluso al medio de cultivo. Este microorganismo es un patógeno nosocomial de importancia clínica, por lo cual el sistema puede analizarse para aplicaciones en otras superficies como material quirúrgico. Así mismo, presentó una actividad antifúngica significativa (RL >5) contra el aislado clínico *C. glabrata* A1. A pesar de no presentar resultados concluyentes en la prueba cuantitativa para los de más microorganismos evaluados, el sistema 2 presenta actividad en las pruebas cualitativas frente *S. epidermidis*, *C. krusei* ATCC 6258 y *C. tropicalis*, lo cual indica que concentraciones más altas de AgNPs en el recubrimiento puede aumentar el espectro de acción antimicrobiano.

El sistema AgNPs3 obtuvo únicamente actividad antifúngica contra *C. tropicalis* y *C. glabrata* en las pruebas cualitativas como cuantitativas, indicando un posible uso como antimicótico. Finalmente el sistema AgNps 4 presentó actividad antimicrobiana con un RL >3 contra 3 de las 6 especies de candida (*C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. krusei*) y una actividad fungistática evidenciada en la evaluación cualitativa contra *C. parapsilosis* ATCC.

6 Conclusiones

Se sintetizaron nanopartículas de plata altamente monodispersas, esféricas con diámetros menores a 10 nm mediante micelas inversas en los sistemas Tolueno/AOT/Hidracina – Isooctano/AOT/Hidracina – Isooctano/AOT/Borohidruro de sodio y menores a 30 nm en el sistema Tolueno/AOT/Borohidruro de sodio.

Las nanopartículas obtenidas fueron caracterizadas a través de técnicas espectroscópicas, microscópicas y de dispersión, dando información sumamente interesante respecto a sus propiedades fisicoquímicas.

Se evaluó la actividad antibacteriana de las nanopartículas AgNPs1 y AgNPs3, mediante la inhibición del crecimiento de 8 cepas diferentes de bacterias obteniendo un porcentaje de inhibición >90% frente a *P. aeruginosa*, *S. aureus* ATCC 29213 y *S. epidermidis* a una concentración de 100ppm.

De acuerdo a los resultados de MIC50 y MIC90, se determinó que el efecto de las AgNPs sintetizadas es bacteriostático debido a que no producen muerte celular pero si generan una inhibición del crecimiento. Las AgNPs4 presentaron los resultados más significativos, presentando un MIC50 y MIC90 de 1,12ppm y 2,5ppm para *S. aureus* ATCC29213 y 1,25ppm y 2,5ppm para *SARM* respectivamente.

Finalmente, se realizaron los estudios cualitativos y cuantitativos de la actividad antimicrobiana de las AgNPs soportadas en telas convencionales, obteniendo resultados de inhibición significativos para las diferentes cepas microbianas estudiadas, principalmente para las cepas *C. albicans* ATCC, *C. krusei* ATCC 6258, *C. tropicalis* A1, *C. glabrata* A2 y *C. albicans* A1, postulándolas como alternativa para el desarrollo de telas y superficies antifúngicas que limiten la adhesión y el crecimiento de microorganismos en ambientes específicos.

7. Recomendaciones

Realizar la caracterización fisicoquímica de las nanopartículas de plata en fase acuosa, con el fin de estudiar el cambio en las propiedades de las sintetizadas inicialmente y poder así, atribuir su actividad antibacteriana.

Se recomienda el análisis de la actividad citotóxica de las nanopartículas sintetizadas para determinar las concentraciones óptimas en futuras aplicaciones clínicas como ropa médica o utensilios quirúrgicos.

Realizar micrografías SEM a las telas tratadas con las nanopartículas y evaluadas frente a los microorganismos, para observar el efecto bacteriostático de las AgNPs frente a los microorganismos estudiados.

Referencias Bibliográficas

- A. JadaJ. LangR. ZanaR. MakhloufiE. HirschS. J. Candau. (1990). Ternary water in oil microemulsions made of cationic surfactants, water, and aromatic solvents. 2. Droplet sizes and interactions and exchange of material between droplets.
- Ag, F. O., Gong, P., Li, H., He, X., & Wang, K. (2007). Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄@Ag nanoparticles. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/18/28/285604>
- Al, B. S. M. et. (2013). *Applications of Nanomaterials*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-28030-6>
- Alivisatos, P., & California, U. (2000). F s i n, 1–16.
- Andrada, A. M. (2012). *Nanotecnología: descubriendo lo invisible* (1st ed.). Retrieved from <http://ezproxy.uis.edu.co:2051/lib/bibliouissp/detail.action?docID=10576595&p00=nan>
o
- Artunduaga John. (2014). Estudio del efecto antifúngico de nanopartículas de plata frente a especies patógenas de.
- Briones, C., Casero, E., Martín, J. A., & Serena, P. (2009). *NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA. Entre la ciencia ficción del presente y la tecnología del futuro*.
- C. N. R. Rao, Achim Müller, A. K. C. (2004). *The Chemistry of Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications*.
- Cebada, T. T. (n.d.). Nanoquímica y nanotecnología: nuevos materiales, polímeros y máquinas moleculares, 16–21.
- Charles P. Poole, F. J. O. (2007). *Introducción a la nanotecnología*.
- Chen, X., & Schluesener, H. J. (2008). Nanosilver : A nanoproduct in medical application, 176, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.10.004>
- Constanza Florez. (2014). “ Nanopartículas de plata con potenciales aplicaciones en materiales

implantables : síntesis , caracterización fisicoquímica y actividad bactericida .”

Cruz, J., Ortiz, C., Guzmán, F., Cárdenas, C., Fernandez-Lafuente, R., & Torres, R. (2013).

Design and activity of novel lactoferrampin analogues against O157:H7 enterohemorrhagic escherichia coli. *Biopolymers*, *101*(4), 319–328. <https://doi.org/10.1002/bip.22360>

Cushing, B. L., Kolesnichenko, V. L., & Connor, C. J. O. (2004). Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles, *1385*(504).

D. Langevin. (1992). MICELLES AND MICROEMULSIONS, *43*.

Dargo, H., Ayaliew, A., & Kassa, H. (2017). Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. *Sustainable Materials and Technologies*, *13*(August), 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2017.08.001>

Dimitrijevi, S., Bibi, N., Luyt, A. S., & Djokovi, V. (2011). Silver nanoparticles encapsulated in glycogen biopolymer : Morphology , optical and antimicrobial properties, *83*, 883–890. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.08.070>

Du, J., Hu, Z., Yu, Z., Li, H., Pan, J., Zhao, D., & Bai, Y. (2019). Materials Science & Engineering C Antibacterial activity of a novel Forsythia suspensa fruit mediated green silver nanoparticles against food-borne pathogens and mechanisms investigation. *Materials Science & Engineering C*, *102*(136), 247–253. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.04.031>

Dzul-rosado, K. R., & Regionales, C. D. I. (2016). Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en Candida albicans . Una revisión, *27*(490), 127–136.

El-nour, K. M. M. A., Al-warthan, A., & Ammar, R. A. A. (2010). Synthesis and applications of silver nanoparticles, 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.04.008>

Espinel-ingroff, A. (2004). *Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A)*.

- Galoppini, E. (2004). Linkers for anchoring sensitizers to semiconductor nanoparticles, 248, 1283–1297. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2004.03.016>
- Guozhong, C. (2004). *Nanostructures And Nanomaterials: Synthesis, Properties And Applications*.
- Gutierrez, J., Luna, M. A., Correa, N. M., & Silber, J. J. (2014). Efecto del corazón polar y de la fase orgánica externa sobre la concentración y morfología de nanopartículas de oro sintetizadas en micelas inversas catiónicas, 2208.
- Harris, R. E. (2010). *Universidad complutense de madrid*.
- Joshi, M., & Adak, B. (2018). *Advances in Nanotechnology Based Functional , Smart and Intelligent Textiles : A Review. Comprehensive Nanoscience and Nanotechnology, 2nd edition*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.10471-0>
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2017). Nanoparticles : Properties , applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
- Köck, R., Becker, K., Cookson, B., Harbarth, S., Kluytmans, J., Mielke, M., ... Skov, R. L. (2010). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Eurosurveillance*, 15(41), 1–9.
- Krishnaswamy, K., & Orsat, V. (2019). *Sustainable Delivery Systems Through Green Nanotechnology. Nano- and Microscale Drug Delivery Systems*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-52727-9/00002-9>
- Lagesse, N. R., & Parke, L. (2018). *Antibacterial Nanoparticles. Comprehensive Nanoscience and Nanotechnology, 2nd edition*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.10409-6>
- Lee, H. J., Yeo, S. Y., & Jeong, S. H. (2003). Antibacterial effect of nanosized silver colloidal solution on textile fabrics, 8, 2199–2204.
- Liu, H. (2010). Antibacterial properties of silver nanoparticles in three different sizes and their

nanocomposites with a new waterborne polyurethane, 1017–1028.

<https://doi.org/10.2147/IJN.S14572>

López-cerero, L. (2014). Papel del ambiente hospitalario y los equipamientos en la transmisión de las infecciones nosocomiales &, 32(7), 459–464.

Lopez-quintela, M. A. (2003). Synthesis of nanomaterials in microemulsions : formation mechanisms and growth control □, 8, 137–144. <https://doi.org/10.1016/S1359-0294>

Lucía Iguña López. (2016). TRABAJO BIBLIOGRÁFICO DE FIN DE GRADO SISTEMAS NANO-DISPERSOS PARA LIBERACIÓN.

Marie B. Coyle. (2015). Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing, American Society for Microbiology.

Morgenstern, M., Erichsen, C., Hackl, S., Mily, J., Miltz, M., Friederichs, J., ... Post, V. (2016). Antibiotic Resistance of Commensal Staphylococcus aureus and Coagulase-Negative Staphylococci in an International Cohort of Surgeons : A Prospective Point-Prevalence Study, 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148437>

Ouahid Hessissen, A. (2016). Nanotecnología y sus potenciales aplicaciones en microbiología.

Panacek Ales, Kvitek Libor, Pucek Robert, Kolar Milan, V. R. (2006). Silver Colloid Nanoparticles : Synthesis , Characterization , and Their Antibacterial Activity, 16248–16253. <https://doi.org/10.1021/jp063826h>

Parameswaranpillai, J., Hameed, N., Kurian, T., & Yu, Y. (n.d.). *Synthesis , Properties and Applications*.

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, 1717–29. <https://doi.org/10.2147/IJN.S57156>

Perelshtein, Ilana & Applerot, Guy & Perkas, Nina & Guibert, Geoffroy & Mikhailov, Serguei

- & Gedanken, A. (2008). Sonochemical coating of silver nanoparticles on textile fabrics (nylon , polyester and cotton) and their antibacterial activity, (June). <https://doi.org/10.1088/0957-4484/19/24/245705>
- Peron, I. H., Reichert-lima, F., & Busso-lobes, A. F. (2016). Resistance Surveillance in *Candida albicans*: A Five-Year Antifungal Susceptibility Evaluation in a Brazilian University Hospital, 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158126>
- Pinilla Torres Ana María. (2018). Uso de micelas como nanoreactores para la preparación de nanopartículas de plata funcionalizadas con ácido fólico y estudio in vitro de la actividad fototérmica en células HeLa, 1–121.
- Purinia, S. R. and. (2001). Electrical properties of nanostructured materials.
- Rahamim, G., Aliev, S. B., Zitoun, D., & Gan, R. (2018). Inorganic Nanowires for Sensing Applications ☆, (June), 1–20. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.11402-X>
- Roco, M. C. (1999). Roco. Et al. Nanotechnology Research Directions, 1999.pdf.
- Rojas-aguirre, Y., & González-méndez, K. A. I. (2016). Química educación. *Educación Química*, 27(4), 286–291. <https://doi.org/10.1016/j.eq.2016.07.002>
- Saeed, K., & Khan, I. (2013). terephthalate) nanocomposites Preparation and properties of single-walled carbon nanotubes / poly (butylene terephthalate) nanocomposites, (January 2016). <https://doi.org/10.1007/s13726-013-0199-2>
- Sayed, R., Saad, H., & Hagagy, N. (2018). Silver nanoparticles: characterization and antibacterial properties. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche E Naturali*, 29(1), 81–86. <https://doi.org/10.1007/s12210-017-0663-6>
- Serena, P. (2010). *La nanotecnología*.
- Shrivastava, S., Bera, T., Roy, A., Singh, G., Ramachandrarao, P., & Dash, D. (2007). Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles, 18. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/18/22/225103>

Soler Illia, G. (2009). *Nanotecnología: el desafío del siglo XXI*.

Sun, K., Qiu, A. J., Liu, A. J., & Miao, A. Y. (2009). Preparation and characterization of gold nanoparticles using ascorbic acid as reducing agent in reverse micelles, 754–758. <https://doi.org/10.1007/s10853-008-3162-4>

Takeuchi Naboru. (2009). Nanociencia y nanotecnología: La construcción de un nuevo mundo átomo por átomo.

Thakore, V., Tang, J., Conley, K., Ala-nissila, T., & Karttunen, M. (2019). Thermoplasmonic Response of Semiconductor Nanoparticles : A Comparison with Metals, *1800100*, 1–17. <https://doi.org/10.1002/adts.201800100>

Thomas, S. C., Mishra, P. K., & Talegaonkar, S. (2015). Ceramic Nanoparticles : Fabrication Methods and Applications in Drug Delivery Ceramic Nanoparticles : Fabrication Methods and Applications in Drug Delivery, (October). <https://doi.org/10.2174/1381612821666151027153246>

Vidal-abarca, C., Serrano, T., Aragón, M. J., León, B., Vicente, C. P., Lavela, P., & Tirado, J. L. (2010). O-5, 5–6.

Villafuerte-Robles Leopoldo. (2010). Nanotecnología Farmacéutica, 1–20.

Yen, H., Hsu, S., & Tsai, C. (2009). Cytotoxicity and Immunological Response of Gold and Silver Nanoparticles of Different Sizes, 1553–1561. <https://doi.org/10.1002/sml.200900126>

Yin, Y., & Alivisatos, A. P. (2005). Colloidal nanocrystal synthesis and the organic – inorganic interface, *437*(September). <https://doi.org/10.1038/nature04165>

Yohan, D., & Chithrani, B. D. (2015). Applications of Nanoparticles in Nanomedicine Applications of Nanoparticles in Nanomedicine, (September). <https://doi.org/10.1166/jbn.2014.2015>

Yuan, Y., Peng, Q., & Gurunathan, S. (2017). Effects of Silver Nanoparticles on Multiple

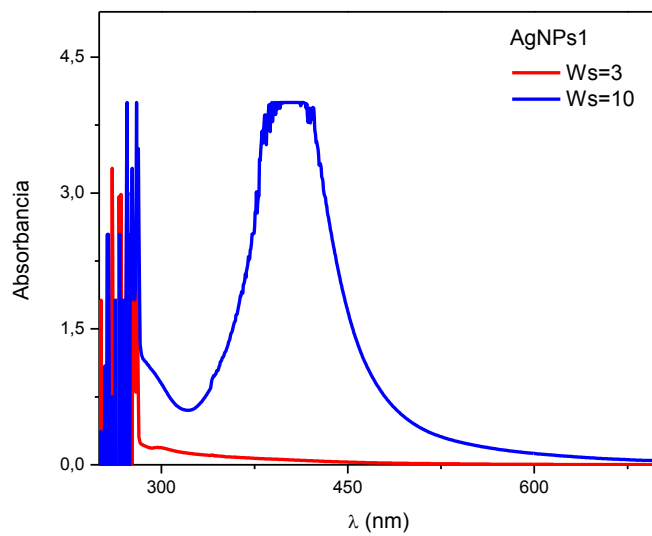
Drug-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* from Mastitis-Infected Goats: An Alternative Approach for Antimicrobial Therapy.
<https://doi.org/10.3390/ijms18030569>

Zaidi, K. U., Mani, A., Thawani, V., & Mehra, A. (2016). Total Protein Profile and Drug Resistance in *Candida albicans* Isolated from Clinical Samples, *2016*.

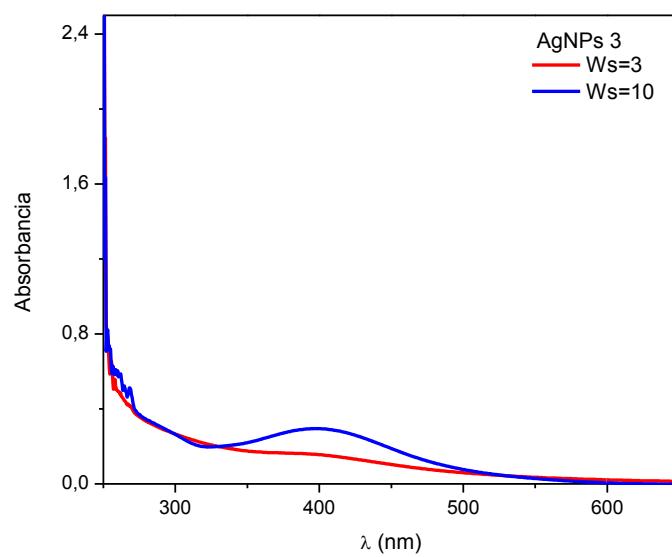
Zanella, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño, *5*(1), 69–81.

Zhu, K., Ju, Y., Xu, J., Yang, Z., Gao, S., & Hou, Y. (2018). Magnetic Nanomaterials: Chemical Design, Synthesis, and Potential Applications.
<https://doi.org/10.1021/acs.accounts.7b00407>

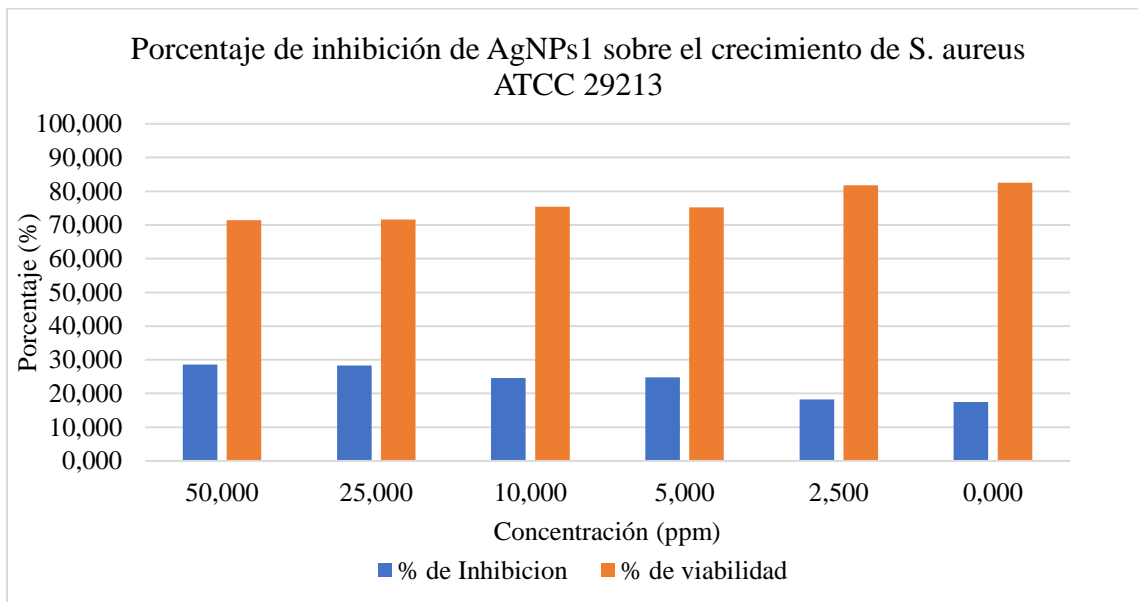
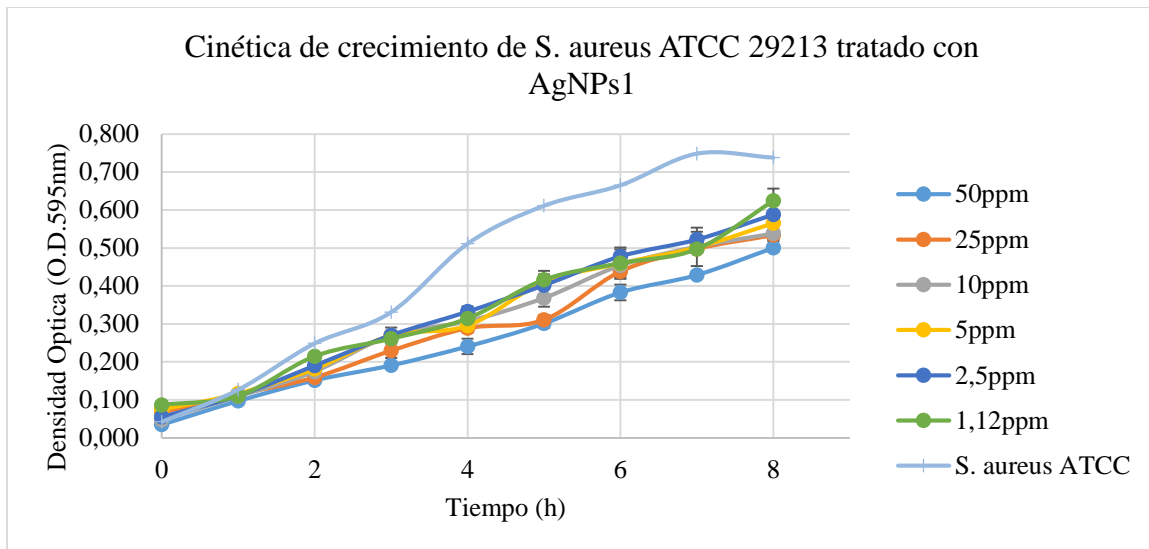
Apéndices



Apéndice A. Espectros UV-Vis de las AgNPs1 para una concentración molar $W_s=3$ (—) y $W_s=10$ (—)



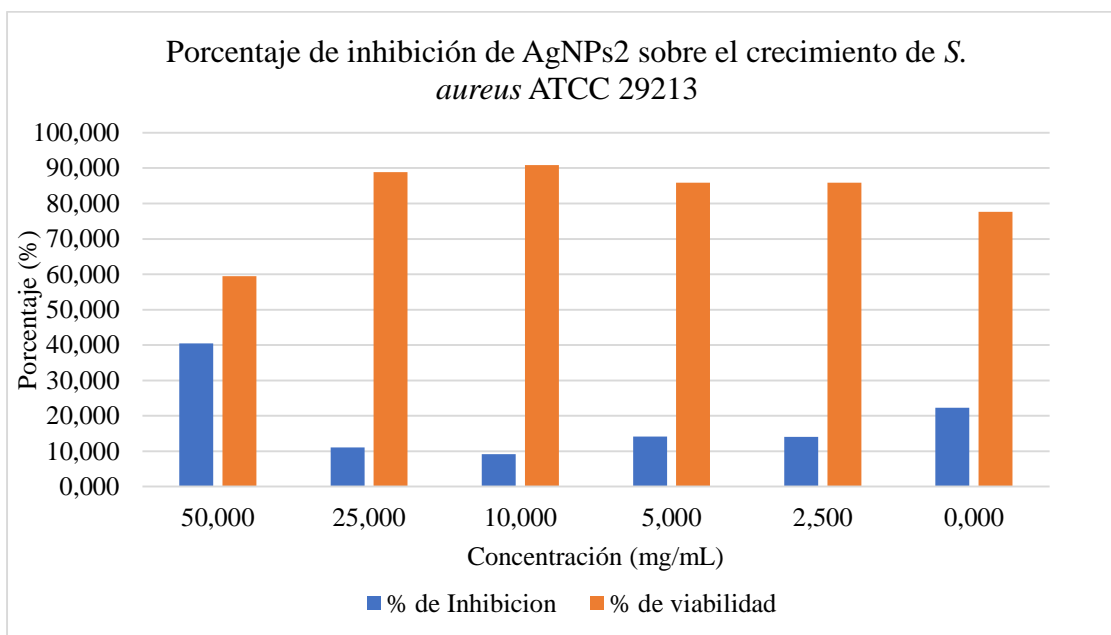
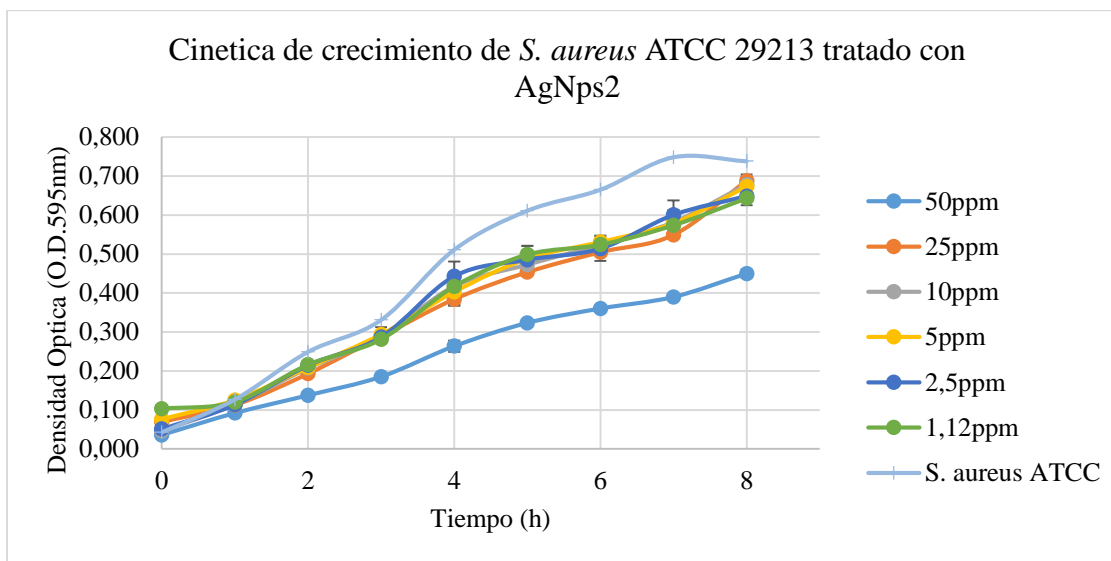
Apéndice B. Espectros UV-Vis de las AgNPs3 para una concentración molar $W_s=3$ (—) y $W_s=10$ (—)



Concentración	% de Inhibición	% de viabilidad
50ppm	28,593	71,407
25ppm	28,338	71,662
10ppm	24,604	75,396
5ppm	24,757	75,243
2,5ppm	18,21	81,79
1,12ppm	17,494	82,506

MIC₅₀: 100ppm

Apéndice C. (a) Cinética de crecimiento de *S. aureus* ATCC 29213 tratado con AgNPs1, (b) Porcentaje de inhibición de AgNPs1 sobre el crecimiento de *S. aureus* ATCC 29213 y (c) Porcentaje de inhibición y viabilidad de las AgNPs a diferentes concentraciones.

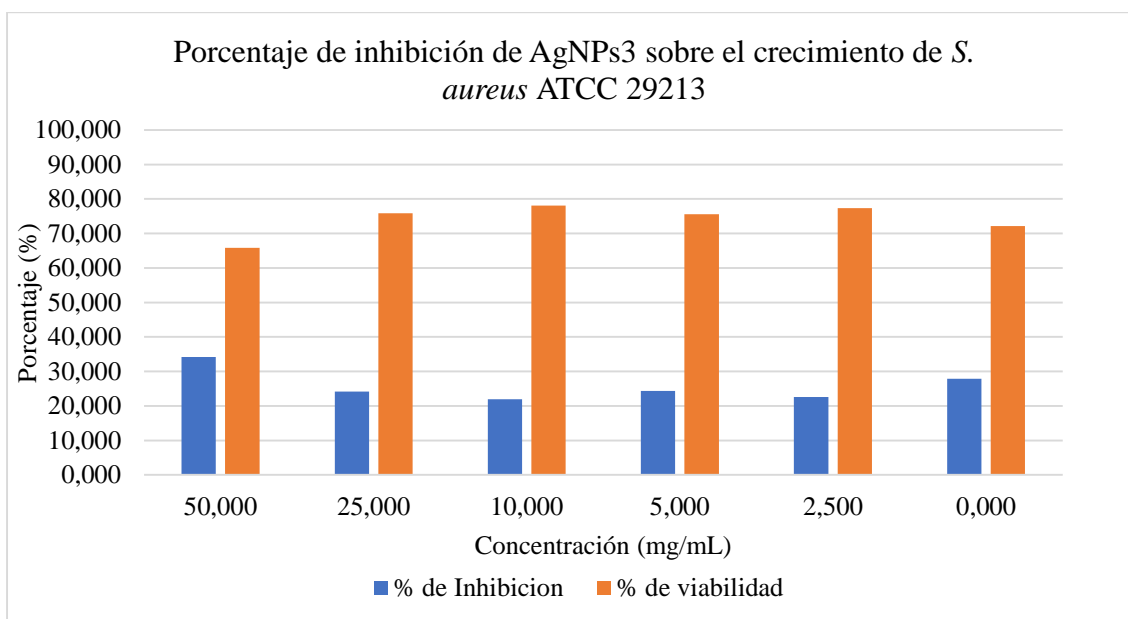
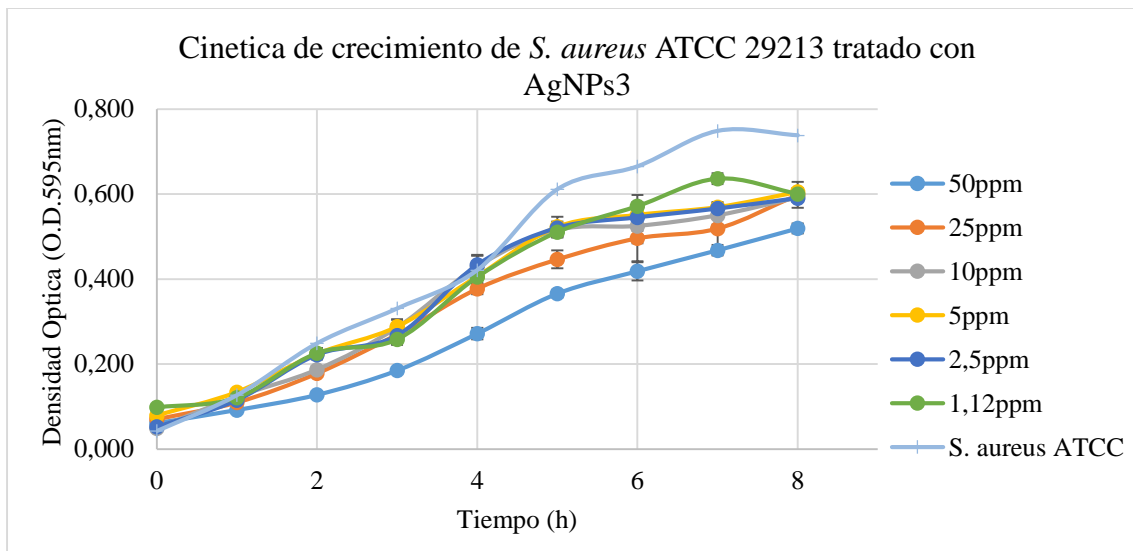


Concentración	% de Inhibición	% de viabilidad
50ppm	40,489	59,511
25ppm	11,116	88,884
10ppm	9,152	90,848
5ppm	14,135	85,865

2,5ppm	14,087	85,913
1,12ppm	22,329	77,671

MIC₅₀: 50ppm

Apéndice D. (a) Cinética de crecimiento de *S. aureus* ATCC 29213 tratado con AgNPs2, (b) Porcentaje de inhibición de AgNPs2 sobre el crecimiento de *S. aureus* ATCC 29213 y (c) Porcentaje de inhibición y viabilidad de las AgNPs2 a diferentes concentraciones.

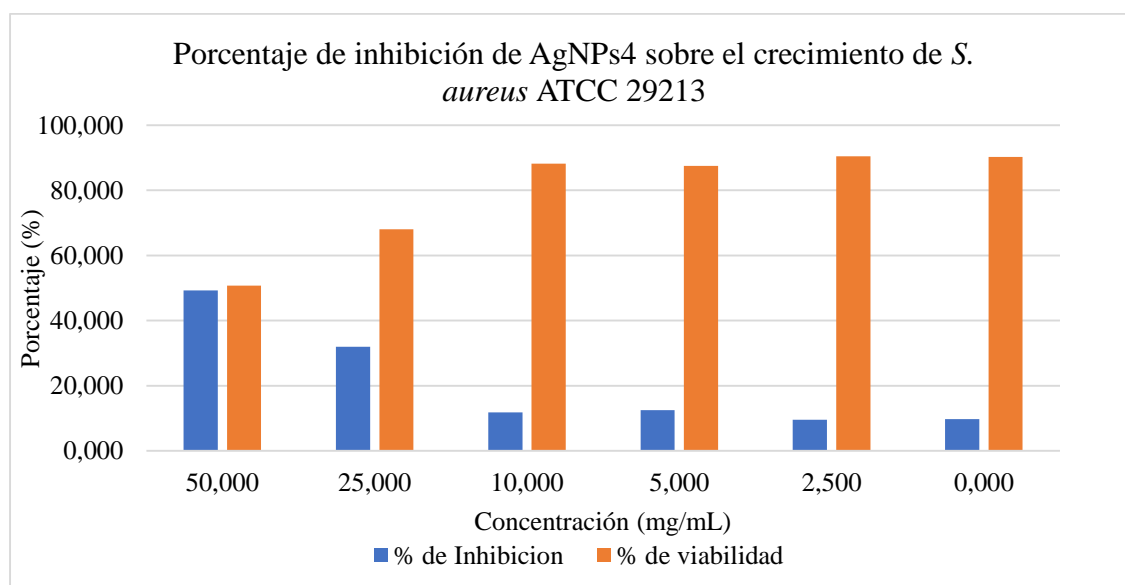
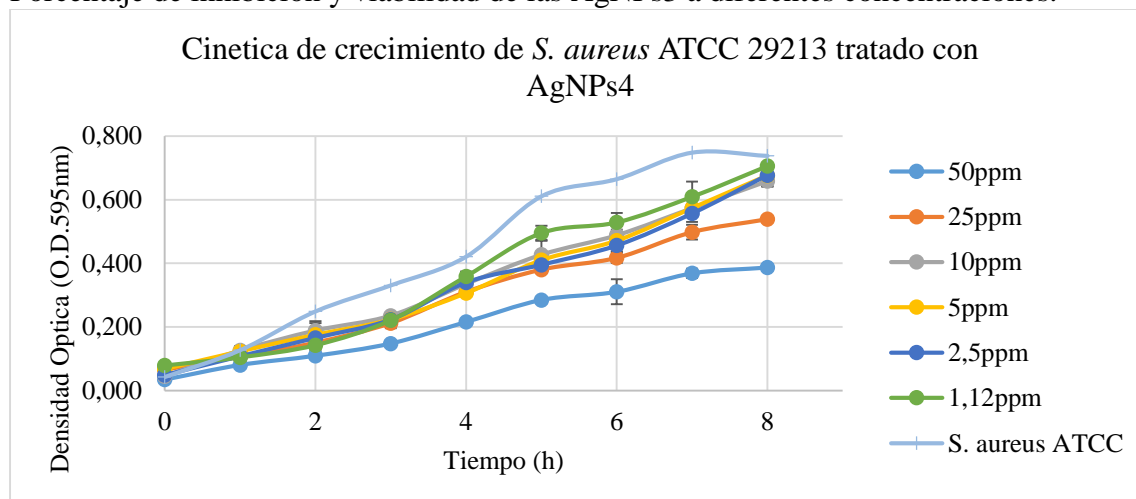


Concentración	% de Inhibición	% de viabilidad
50ppm	34,164	65,836
25ppm	24,149	75,851
10ppm	21,945	78,055

5ppm	24,389	75,611
2,5ppm	22,616	77,384
1,12ppm	27,839	72,161

MIC₅₀: 100 ppm.

Apéndice E. (a) Cinética de crecimiento de *S. aureus* ATCC 29213 tratado con AgNPs3, (b) Porcentaje de inhibición de AgNPs3 sobre el crecimiento de *S. aureus* ATCC 29213 y (c) Porcentaje de inhibición y viabilidad de las AgNPs3 a diferentes concentraciones.



Concentración	% de Inhibición	% de viabilidad
50ppm	49,305	50,695
25ppm	31,984	68,016
10ppm	11,787	88,213

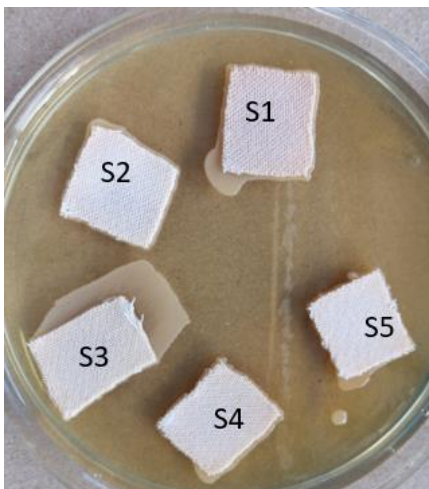
5ppm	12,506	87,494
2,5ppm	9,583	90,417
1,12ppm	9,775	90,225

MIC50: 50ppm

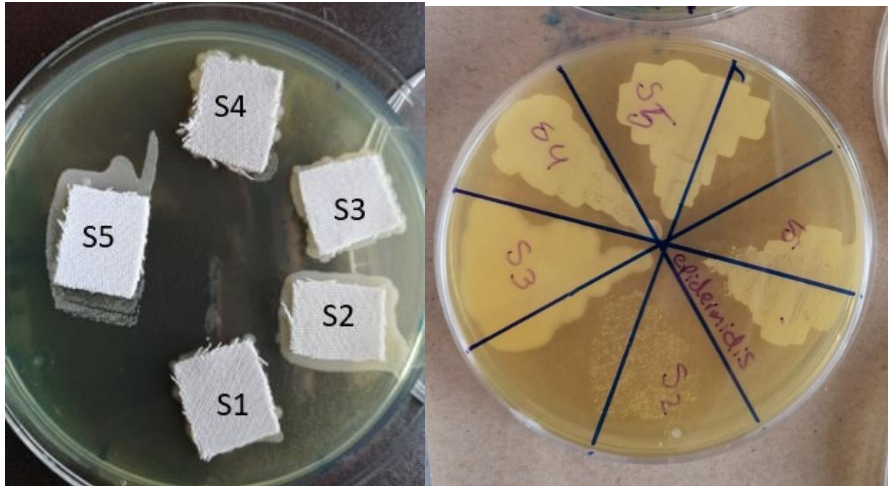
Apéndice F. (a) Cinética de crecimiento de *S. aureus* ATCC 29213 tratado con AgNPs4, (b) Porcentaje de inhibición de AgNPs4 sobre el crecimiento de *S. aureus* ATCC 29213 y (c) Porcentaje de inhibición y viabilidad de las AgNPs4 a diferentes concentraciones.



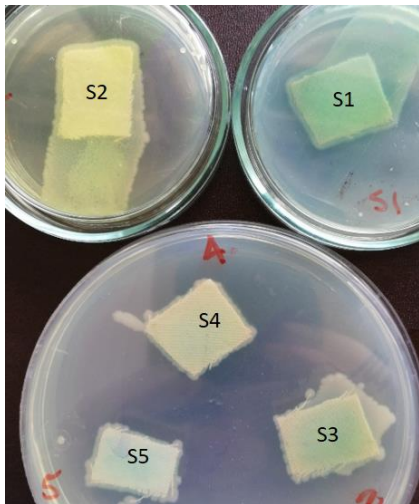
Apéndice G. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos Frente a SARM



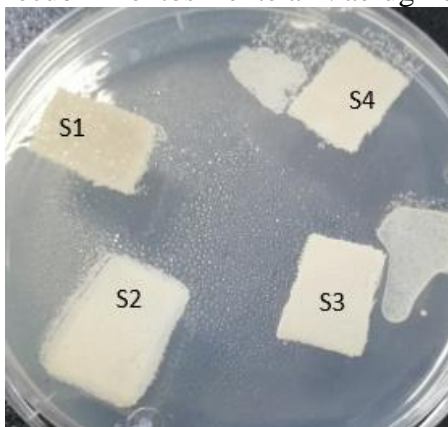
Apéndice H. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a *S. aureus* ATCC



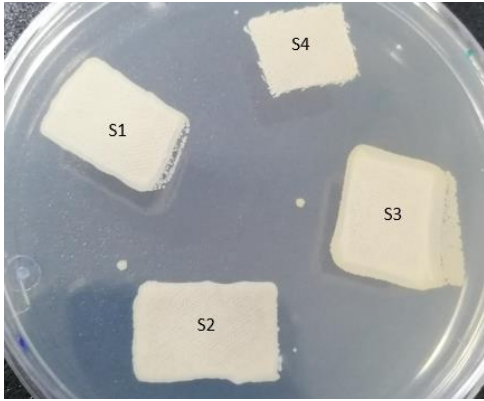
Apéndice I. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a *S. epidermidis*.



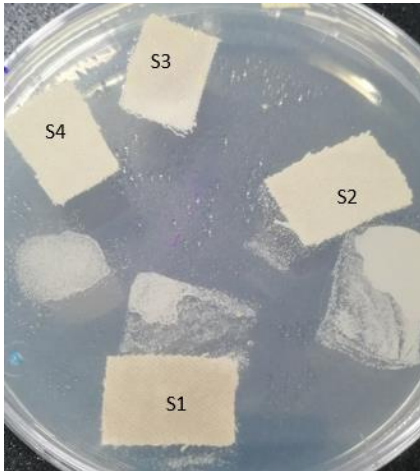
Apéndice J. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a *P. aeruginosa*.



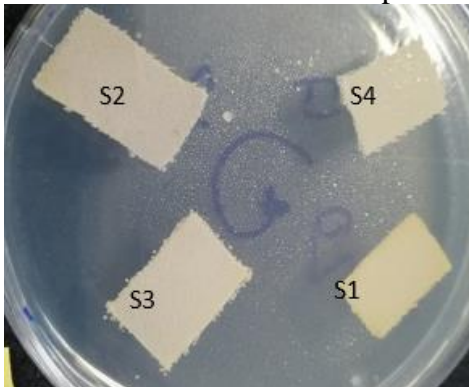
Apéndice K. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a *C. albicans*.ATCC 10231.



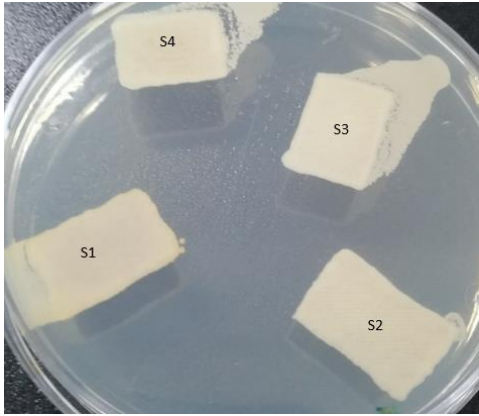
Apéndice L. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a *C. krusei*.ATCC 6258.



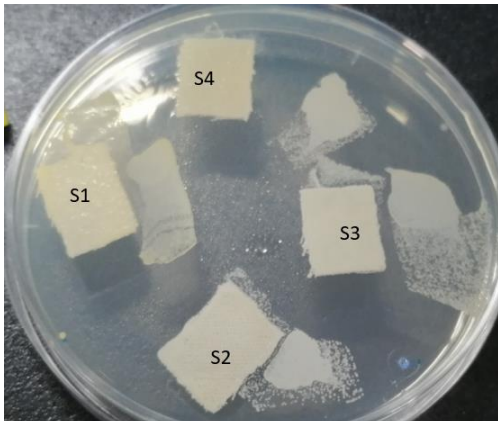
Apéndice M. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a *C. tropicalis*.



Apéndice N. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a *C. glabrata*.



Apéndice O. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a *C. albicans* A1.



Apéndice P. Resultados de actividad antimicrobiana cualitativa en telas de los diferentes recubrimientos frente a *C. parapsolosis* ATCC 20101.