

## Síntesis verde de nanopartículas de Plata (AgNPs) utilizando ajo (*Allium Sativum L*) explorando su actividad antimicrobial y catalíticas

Fabiola Elena Villa Sánchez<sup>1\*</sup>; Wilson Edwin Moncayo Molina<sup>2</sup>;  
Marina Chanena Alvarado Aguilar<sup>3</sup>; Alfredo Antonio Leal Chantong<sup>4</sup>; Deillys Dayanna Daza Barcia<sup>5</sup>

(Recibido: marzo 9, Aceptado: mayo 25, 2021)

<https://doi.org/10.29076/issn.2602-8360vol5iss8.2021pp39-50p>

### Resumen

La fabricación de nanopartículas mediante el uso de síntesis verde se realiza debido a sus amplias aplicaciones en diferentes campos, como la ingeniería biomédica, la agricultura y la alimentación. En este trabajo se utilizó el extracto de bulbo de ajo andino *Allium sativum*, que contiene compuestos organosulfurados siendo los de mayor importancia la alicina, alixina, dialil sulfuro y dialil disulfuros, aminoácidos sulfurados, lípidos, alcaloides, diterpenos, carbohidratos, saponinas, como agente reductor y estabilizantes. La presencia de nanopartículas de plata AgNPs en solución se identificó por un espectrofotómetro de UV-VIS 4802 double beam spectrophotometer. El tamaño de las nanopartículas está en el rango de 40 a 60 nm. La forma esférica y la naturaleza cristalina de los AgNPs fueron confirmadas por DSL-ISO 13321. La optimización del proceso se realizó variando el volumen del extracto del bulbo de *Allium sativum L.*, las concentraciones de nitrato de plata, el pH, la temperatura y el tiempo de reacción. Los AgNPs biosintetizados exhibieron actividad antibacteriana contra las cepas bacterianas *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger*. Tiene propiedades desinflamatorias y antitumorales.

**Palabras Clave:** agente reductor; alicina; alixina; antiinflamatorio; nanopartículas de plata; síntesis verde.

## Green synthesis of Silver nanoparticles (AgNPs) using garlic (*Allium Sativum*) exploring their antimicrobial and catalytic activity

### Abstract

The manufacture of nanoparticles through the use of green synthesis is done due to its wide range of applications in different fields, such as biomedical engineering, agriculture and food. In this work, the Andean *Allium sativum* garlic bulb extract was used, which contains organosulfur compounds, the most important being allicin, alixin, diallyl sulfide and diallyl disulfides, sulfur amino acids, lipids, alkaloids, diterpenes, carbohydrates, saponins, as reducing agent and stabilizers. The presence of silver AgNPs nanoparticles in solution was identified by a UV-VIS 4802 double beam spectrophotometer. The size of the nanoparticles ranges from 40 to 60 nm. The spherical shape and crystalline nature of the AgNPs were confirmed by DSL-ISO 13321. The optimization of the process was carried out by varying the volume of the *Allium sativum* bulb extract, the concentrations of silver nitrate, the pH, the temperature and the reaction time. The biosynthesized AgNPs exhibited antibacterial activity against the bacterial strains *E. coli*, *Staphylococcus aureus* and *Aspergillus niger*. It has anti-inflammatory and anti-tumor properties.

**Keywords:** reducing agent; allicin; alixin; anti-inflammatory; silver nanoparticles; green synthesis.

<sup>1</sup> Universidad Estatal de Guayaquil, Ecuador. Email: fabiola.villas@ug.edu.ec. <https://orcid.org/0000-0002-9260-5810>

<sup>2</sup> Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador. Email: wilsonmoncayom@hotmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-2584-1861>

<sup>3</sup> Universidad Estatal de Guayaquil, Ecuador. Email: marina.alvaradoag@ug.edu.ec. <https://orcid.org/0000-0002-1714-2801>

<sup>4</sup> Universidad Estatal de Guayaquil, Ecuador. Email: alfredo.lealc@ug.edu.ec. <https://orcid.org/0000-0003-4545-3049>

<sup>5</sup> Estudiante de la Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador. Email: deyday3d2@gmail.com.

\* Autor de correspondencia: Fabiola Elena Villa Sánchez. Email: fabiola.villas@ug.edu.ec

## INTRODUCCIÓN

La nanobiotecnología está creciendo rápidamente a nivel mundial como una interdisciplinaria área de investigación ecológica, utilizada en una amplia sección de investigación como biología, química, física, biomedicina e ingeniería de materiales [1]. En las últimas dos décadas, los enfoques se utilizan para producir nanopartículas de metal con diferentes morfologías, composiciones y estructuras con varias formas y tamaños de partículas en el rango de 1 a 100 nm [2].

Es conocido por sus actividades antimicrobianas, antiinflamatorias y antitumorales distintas de las que se usan en baterías eléctricas, un receptor óptico en baterías solares, bio-etiquetado y en el tratamiento del cáncer con medicamentos que contengan nanopartículas [3]. La comunidad científica ha deducido a través de estudios de manera efectiva que la plata puede ser considerado como uno de los principales ingredientes de antibióticos en la futura generación [4].

La síntesis biogénica o también llamada síntesis verde posee grandes aportes siendo ambientalmente amigable, libre de contaminación y factible económicamente. El extracto vegetal actúa como agente reductor y estabilizador en la síntesis de nanopartículas tiene tamaño, forma, y morfología fisicoquímica. La actividad del extracto de la planta varía con la fuente variable debido a su cambiada composición y concentración del componente orgánico particular en el extracto reductor. En vista de la cantidad de químicos diferentes involucrados en el proceso de biorreducción es relativamente complejo [5].

En Ecuador, el cultivo tradicional del ajo (*Allium sativum* L.) se cosecha de 4 a 6 meses, debido a que posee características adecuadas climáticas y geográficas garantizando una buena siembra, en especial en las provincias de Chimborazo 1°50'S, 78°45'W, Tungurahua 01°05'S; 78°42'W y Cotopaxi 00°40'S, 78°30'W [6].

Sin embargo, no fue hasta la década de 1950 que se demostró que las propiedades del ajo tenían efectos antioxidantes, antibacterianos y anticarcinogénico; este último fue descubierto

en 1958 por Weisberger y Pensky donde demostraron que los tiosulfatos extraídos de la especie poseían propiedades antitumorales. Por esta razón, ha incrementado el interés de muchos grupos de investigación en aprovechar este potencial y con la ayuda de distintas técnicas analíticas modernas alrededor de todo el mundo; aquellas investigaciones proporcionaron indicios científicos donde indican que el aumento en el consumo de ajo puede reducir el riesgo de cáncer pancreático [7] [8].

Por otra parte, los trabajos investigativos de Werthein dieron lugar al interés científico sobre los componentes del ajo, mismos que sirvieron en la identificación del disulfuro de alilo, responsable de su olor característico [9]. Esta planta contiene la mayor concentración de compuestos azufrados, cuyos principales son: aliína, alicina, ajoeno, trisulfuro de dialilo, salilcisteína, disulfuro de alilpropilo, entre otros. Y entre las enzimas importantes de la actividad antimicrobiana se encuentran la alinasa, peroxidasa y mirosinasa. [10]

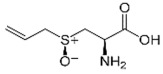
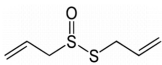
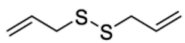
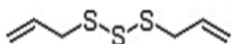
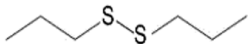
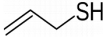
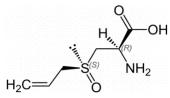

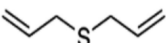
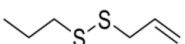
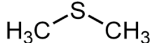
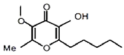
Además, se demostró, in vitro, que el ajo fresco picado en forma pura presenta una amplia variedad antimicrobiana, la alicina es activa contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, incluyendo cepas resistentes a múltiples fármacos enterotóxicos de *Escherichia coli*, aunque en esta acción parece que también contribuyen los ajoenos y el trisulfuro de dialilo. También es antifúngico, ya que ha demostrado su actividad frente a *Cándida*, *Staphylococcus*, *Streptococos*, bacterias intestinales y otros hongos, con una eficacia similar al clotrimazol en la eliminación de los síntomas clínicos de la candidiasis oral, dispepsia pútrida e infecciones intestinales agudas. [9]

Los productos obtenidos de esta planta, como la pasta de ajo con tratamiento térmico o el ajo en polvo contienen aliína como el compuesto azufrado mayoritario y son carentes de alicina, ya que la enzima alinasa se inactiva por calentamiento [7].

La acción antiséptica del ajo se manifiesta sobre los pulmones (se ha aplicado en algunos casos de tuberculosis) y la piel (tratamiento de ántrax) y se considera un agente profiláctico de

la gripe. También actúa como hipoglucemiante suave sobre el sistema endocrino y como antihelmíntico.[11]

**Tabla 1.** Principales compuestos azufrados con propiedades anticancerígenas contenidos en el *Allium Sativum*.

Sustancia	Propiedades y usos
<p><b>Aliina</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Componentes bioactivos refuerzan los macrófagos y los linfocitos T.</li> <li>- Desactivación de infecciones microbianas en el estómago y el colon.</li> </ul>
<p><b>Alicina</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Combate el crecimiento de células tumorales.</li> <li>- Propiedades antibacterianas, anti fúngicas.</li> </ul>
<p><b>Dialil disulfuro</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Reduce tumores de estómago hasta un 96%.</li> <li>- Bloquean la carcinogénesis en diversos órganos, como el colon, páncreas, y el hígado.</li> </ul>
<p><b>Dialil trisulfuro</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Enzimas depurativas inhiben el crecimiento de bacterias pulmonares.</li> <li>- Disminución de la bioactivación de carcinógenos, de actividades antimicrobianas y una modificación redox.</li> </ul>
<p><b>Disopropil disulfuro</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contiene flavonoides son sustancias muy activas contra los tumores de colon, cerebro, leucemia, estómago, próstata, ovario, cáncer de cuello de útero, cáncer de pecho, etc.</li> <li>- El flavonoides el más activo contra el cáncer es la quercetina.</li> </ul>
<p><b>Alil mercaptano</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Se utiliza principalmente para producir metionina, que a su vez se usa como un suplemento dietético para la alimentación de aves de corral y otros animales.</li> </ul>
<p><b>S-Alil cisteína</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Normalización de los factores de riesgo cardiovascular, de los lípidos plasmáticos, frenar la peroxidación lipídica, estimular la actividad fibrinolítica, inhibir la agregación plaquetaria, atenuar los cambios morfo estructurales.</li> </ul>
<p><b>Alil propil disulfuro</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Reducción del colesterol y los triglicéridos del suero sanguíneo.</li> <li>- Propiedades de inhibición de toxinas, anti oxidativas y antimicóticas.</li> </ul>
<p><b>Dialil sulfuro</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Disminución de la presión arterial máxima (sistólica) y de la mínima (diastólica).</li> <li>- Propiedades antisépticas, balsámicas y expectorantes.</li> </ul>
<p><b>Ajoene</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Antidiarreico, antiséptico de la flora bacteriana patógena, antidispéptico (digestivo), colagogo y colerético (estimula la producción y omisión de bilis) y la flatulencia.</li> </ul>
<p><b>Dimetil sulfuro</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inhibe la carcinogénesis química del colon, esófago, pulmones,</li> </ul>
<p><b>Alixina</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Propiedades antitumorales</li> <li>- Anticoagulante, por lo que reduciría el riesgo de ataques al corazón.</li> </ul>

Fuente: [12][7]

### Síntesis de nanopartículas

Considerando las ventajas de la síntesis verde sobre otros métodos, es un campo emergente debido a sus diversas ventajas sobre el otro proceso como no tóxico, respetuoso del medio ambiente y bajo costo [13]. AgNPs mostraron aplicaciones prometedoras en diferentes campos de ingeniería tales como electricidad, propiedades catalíticas, agua, administración de fármacos e ingeniería biomédica debido a su alta relación de superficie a volumen [14][15] [16]. El enfoque verde también involucró muchos microorganismos como bacterias, hongos y levaduras para la síntesis de nano partículas [17][18]. Algunos de los microorganismos han usado para producir nanopartículas como magnetita por magnetotactic, siliceous material por radiolarios y diatomeas, puntos cuánticos CdS utilizando hongos El estudio anterior confirma que las nanopartículas de plata biogénicas producidos por microorganismos son persistentes con excelente (20-50 veces) mayor que las propiedades antimicrobianas sintetizadas químicamente. La principal desventaja de la síntesis de nanopartículas microbianas es asépticamente mantenimiento de microorganismos y el proceso de síntesis es comparativamente largo. A pesar de que todas las propiedades de AgNP mostraron muchas propiedades importantes como la cicatrización de heridas antiinflamatorias y aplicación en antibióticos, diagnósticos, terapéuticos etc. [17] AgNPs no es tóxico por lo que se utiliza para curar diferentes tipos de enfermedades que causan contaminación debido a bacterias. Las nanopartículas de plata mostraron propiedades antibacterianas unirse reactivas de la pared bacteriana e inhibir su metabolismo y otras funciones principales [16]. Las partículas de plata actúan directamente en el citoplasma de la pared celular de la membrana apareciendo como unos gránulos una notable región de luz de electrones apareció en el centro de las células que contenía condensando de desoxirribonucleico ADN [19].

El estudio fitoquímico del ajo muestra un peso entre 3 y 6 g, contiene un promedio de 1 g de hidratos de carbono (el 90% del cual está en

una forma amilácea llamada sinistrina), 0,2 g de proteínas, 0,05 g de fibra, 0,01 g de grasas y vitaminas A, B1, B2, B3 y C. Cuando la vitamina B1 (tiamina) se combina con la alicina, se llama alitiamina y esta se absorbe fácilmente en el intestino. El ajo contiene alrededor de un cuarto del total de sus sustancias; azúcares incluyen fructosa, glucosa, inulina y arabinosa [7].

Varios extractos de plantas se han utilizado para la síntesis de AgNPs como la síntesis de AgNPs utilizando extracto de ajo andino acuoso (hervido y crudo), que se evaluaron parámetros de proceso que contiene biomoléculas como vitaminas, polisacáridos, proteínas, aminoácidos, las enzimas, di terpenos (giberehna A-3 y A-7), lípidos (cerebrosilos, prostaglandina), flavonoides, compuestos sulfurados ajoenes, alicina, alil metil trisulfuro, dialil sulfuros y compuestos fenólicos [7] y los ácidos orgánicos, dimetil sulfuro, que pueden actuar tanto reduciendo como limitando agente en el bioprocesamiento de nanopartículas de plata [20].

En esta investigación, el método de síntesis verde a temperatura ambiente fue desarrollado para la síntesis de AgNP usando extracto de ajo *Allium sativum*, que no es tóxico, respetuoso del medio ambiente, fácil de adquirir y de bajo costo.

Se evaluó el efecto antimicrobiano de las nanopartículas de plata (AgNPs) usando patógenos humanos como *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger* y también las propiedades catalíticas de los AgNP verdes sintetizados.

### MATERIALES Y MÉTODOS

**Materiales.** El nitrato de plata se obtiene de Laboratorio Luque C.A. Guayaquil, Ecuador. Agar bacteriológico Macconkey, agar Manitol salt, y agar Sabouraud para la identificación de Cepas bacterianas *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y *Aspergillus niger* se obtuvo del laboratorio Acoprom C.A, Guayaquil. El extracto de ajo (*Allium sativum*), se obtuvo del jardín botánico del Campus de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

**Métodos.** El extracto de *Allium sativum* fue

preparado a una temperatura ambiente de: 23 °C, con una humedad relativa de 83 % almacenado a 10 °C para controlar el componente Alicina. Se sintetizaron (AgNPs) nanopartículas de plata utilizando 3 concentraciones en diferente volumen de nitrato de plata (1 ml, 2ml, 3ml) al de 0.1 N, extracto acuoso de *Allium sativum* (hervido y crudo) (1ml, 1,5ml y 2 ml) agua destilada en concentraciones 1ml, 1,5 ml y 2ml. La separación de AgNPs de la dispersión se llevó a cabo por centrifugación.

**Caracterización de nanopartículas de plata.** La caracterización de la solución de las nanopartículas de plata se realizó con espectrofotómetro UV-vis 4802 double beam spectrophotometer en el rango de longitud de onda ( $\lambda$ ) 200-1000 nm. La identificación y verificación de las nanopartículas se realizó mediante DSL-ISO 13321, para establecer el tamaño de 40-60 nm se llevaron a cabo mediante varias técnicas y observación visual, como cambio en el color de la solución.

Difractómetro de rayos X, con Cu Radiación  $K\alpha$  ( $\lambda = 0.1546$  nm), con un ángulo de difracción entre 10 y 90 ° se usó para encontrar la estructura cristalina de nanopartículas, caracterización de la química de superficie de AgNPs y biomoléculas en *Allium sativum*.

**Método de Lee-Meisel:** reducción de la plata iónica tiene como agente reductor el citrato de sodio ( $C_6H_7NaO_7$ ). La desventaja de este método es que produce una gran distribución en el tamaño de las nanopartículas obtenidas [21].

**Método Creighton:** es el más utilizado para la reducción de  $AgNO_3$  consiste en usar como agente reductor borohidruro de sodio ( $NaBH_4$ ). Al emplear esta síntesis se obtienen nanopartículas con un tamaño de alrededor de 10 nm con una buena homogeneidad [21].

**Actividad antibacteriana:** el método de difusión de agar estándar se utiliza para probar la actividad antibacteriana de AgNPs biosintetizados contra tres patógenos humanos tales como *E. coli*, *Staphylococcus* y *Aspergillum*. La actividad antibacteriana se realizó contra todas las tres cepas bacterianas según las pautas de Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (ISO 15189:2012). Estas se cultivaron durante

la noche y se diluyeron en caldo Mueller-Hinton (MHB) para una densidad celular de 115 Unidad de formación de colonias (UFC)/ml. 100  $\mu$ l de esto de cultivo se extendió en la placa Macconkey MCA Agar y permitido secar en una condición estéril. Otros AgNPs (100ul) fueron agregados en la placa MHA realizando un círculo de diámetro (1.8 mm de ancho). Las placas con bacterias fueron incubadas a 37° C durante 24h y para hongo 72 h se observó actividad antibacteriana de AgNPs basado en la zona de inhibición alrededor del diámetro respectivamente [22].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la síntesis de nanopartículas de plata se usó el método sugerido por [20] con ligeras modificaciones, observando un pH que se mantiene cuando es hervido y machacado, no así cuando es crudo ya que se trata de mantener activa la alicina (Tabla 2).

Los cambios de color de la solución de amarillo claro a blanquecino fueron observados y luego se volvió amarillo cuando la sal de plata ( $AgNO_3$ ) estaba añadido al extracto acuoso de *Allium sativum* (Tabla 3 y Figura 1). Cambios de color de las soluciones se deben a algún compuesto químico como alcaloides, flavonoides, los esteroides y compuestos sulfurados el color presente en el extracto del bulbo de *Allium sativum* actúan como un agente que redujo los iones de plata ( $Ag^+$ ) a un átomo de plata ( $Ag^0$ ). El mismo color en los cambios fueron observados por muchos investigadores mediante el uso de diferentes extractos de plantas [13].

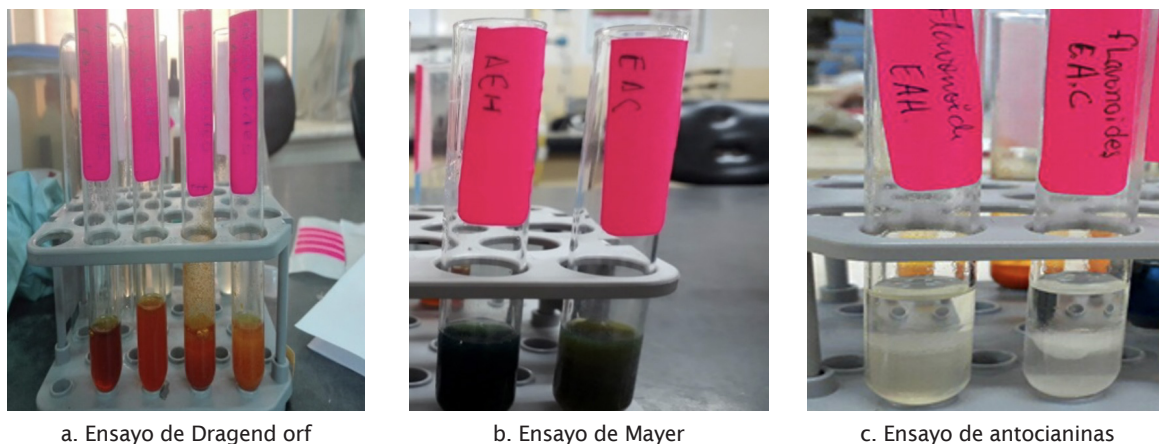
**Tabla 2.** Determinación de pH de los extractos de ajo a 23°C

Días	Hervido y machacado (E.A.H)	Crudo y machacado (E.A.C)
0-3	pH5	pH6
0-5	pH5	pH5
0-8	pH5	pH4

**Tabla 3.** Pruebas fitoquímicas de los extractos

Extracto	Ensayo de Dragendorf (Alcaloides)	Ensayo de Antocianinas (flavonoides)	Ensayo de Mayer
E.A.H	++	Negativo	Negativo
E.A.C	+++	Negativo	Negativo





a. Ensayo de Dragend orf

b. Ensayo de Mayer

c. Ensayo de antocianinas

**Figura 1.** Pruebas Fitoquímicas en los extractos

La presencia de nanopartículas de plata en la solución fue observada por UV-Visible Espectrofotómetro (Figuras 2 y 3) con presencia de picos entre 260 a 290 nm, dando una concentración de 4.9 ppm la muestra con picos de 280 nm.

Debido a cambios estructurales y moleculares, se producen transiciones de color en los cables de sustancias de prueba a los cambios

correspondientes en la capacidad de absorber la luz en la visible región del espectro electromagnético. La reducción de iones de plata a un átomo de plata en la solución se observó mediante espectrofotómetro UV-Visible. Detección de nanopartículas de plata se observaron tres efectos diferentes en diferentes días los que están descritos en las Tablas 4, 5 y 6.

**Tabla 4.** Elaboración de AgNPs con extracto de ajo (*Allium sativum*), 0-3 días

Conc.	Agua dest. ml	AgNO <sub>3</sub>	E.A.C* ml	Abs. nm	Trans %	Con. ppm	pH	E.A.H ** ml	Trans%	Conc. ppm
1	1	1	0.5	0.16	82	4.98	5	0.5	87.1	2.92
2	2	2	1.5	0.10	90	2.57	5	1.5	84.4	2.70
3	3	3	1.5	0.28	60	7.39	6	1.5	74.1	4.91

\*Extracto de *Allium sativum* crudo (E.A.C). \*\*Extracto de *Allium sativum* hervido (E.A.H).

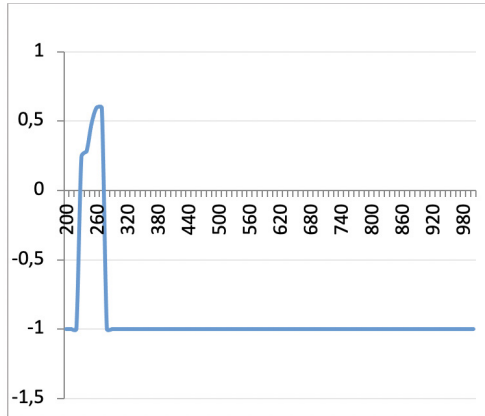
**Tabla 5.** Elaboración de AgNPs con extracto de ajo (*Allium sativum*), 0-5 días

Conc.	Agua dest. ml	AgNO <sub>3</sub>	E.A.C* ml	Abs. nm	Trans %	Con. ppm	pH	E.A.H ** ml	Trans%	Conc. ppm
1	1	1	1	0.38	21.1	1.85	5	1	0.60	22.6
2	1,5	2	1.5	0.42	23.9	1.56	5	1.5	0.42	34
3	2	3	2	1,4	4.1	3.72	4	2	0.39	38.3

**Tabla 6.** Elaboración de AgNPs con extracto de ajo (*Allium sativum*), 0-8 días

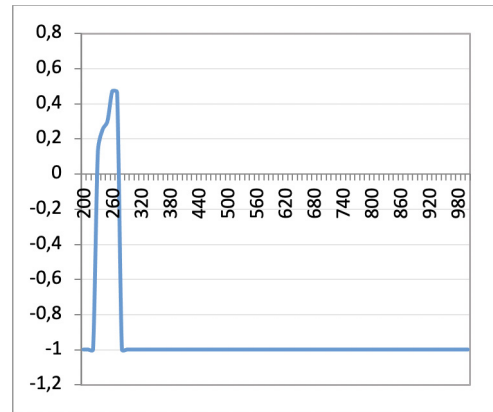
Conc.	Agua dest. ml	AgNO <sub>3</sub>	E.A.C* ml	Abs. nm	Trans %	Con. ppm	pH	E.A.H ** ml	Trans%	Conc. ppm
1	1	1	1	0.59	58.3	0.68	5	1	31.6	2.6
2	1,5	2	1.5	1.35	5.1	3.31	5	1.5	1.37	4.3
3	2	3	2	1.42	4.1	3.77	4	2	1.4	4

**Espectro E.A.H1  $\lambda$  270nm**



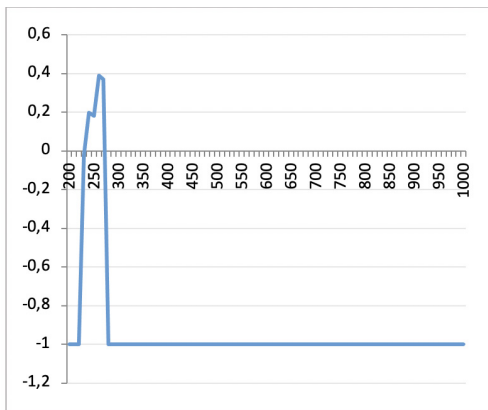
Intensidad de alicina a alta concentración del metabolito en el pico 270, concentración utilizada en pruebas de inhibición bacteriana.

**Espectro E.A.H2  $\lambda$  260nm**



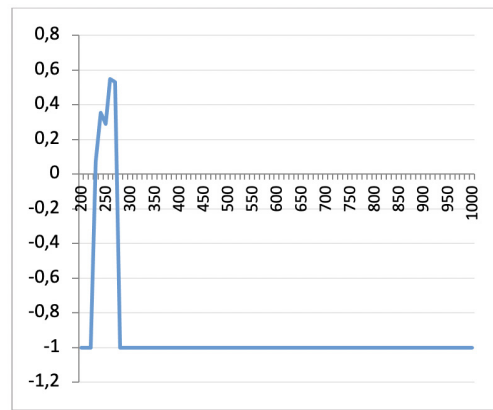
Intensidad de alicina a alta concentración del metabolito en el pico 260, concentración utilizada en pruebas de inhibición bacteriana.

**Espectro E.A.H3  $\lambda$  260nm**



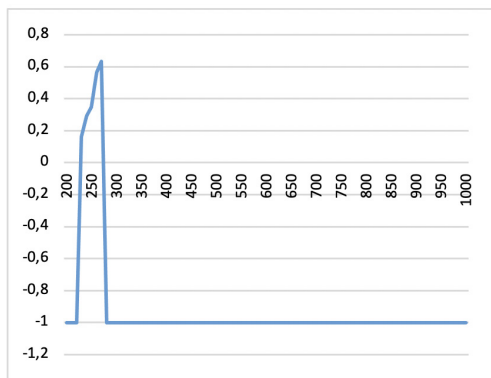
Intensidad de alicina indica que la muestra representa una alta concentración del metabolito en el pico 260

**Espectro E.A.C1  $\lambda$  260nm**



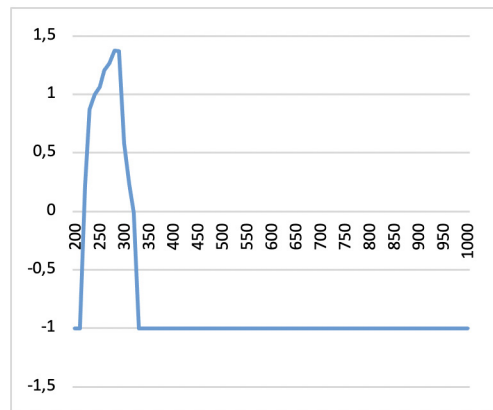
Intensidad de alicina indica que la muestra representa una alta concentración del metabolito en el pico 260, concentración utilizada en pruebas de inhibición bacteriana.

**Espectro E.A.C2  $\lambda$  270nm**



Intensidad de alicina indica que la muestra representa una alta concentración del metabolito en el pico 270

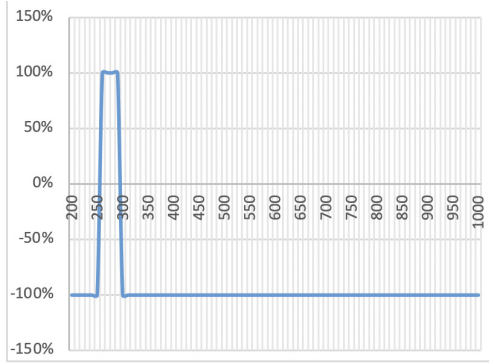
**Espectro E.A.C3  $\lambda$  290nm**



Intensidad alicina indica que la muestra representa una alta concentración del metabolito en el pico 290, concentración utilizada en pruebas de inhibición bacteriana.

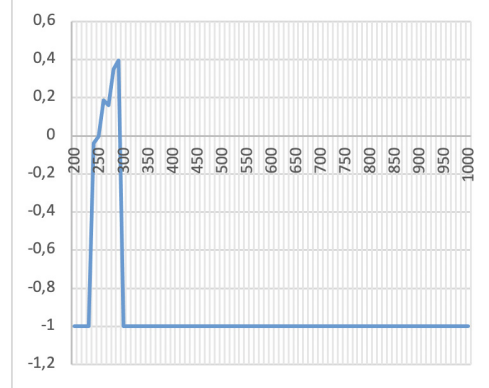
**Figura 2.** Absorbancia vs longitud de onda de las muestras de 0-5 días

**Espectro E.A.C1  $\lambda$  280nm**



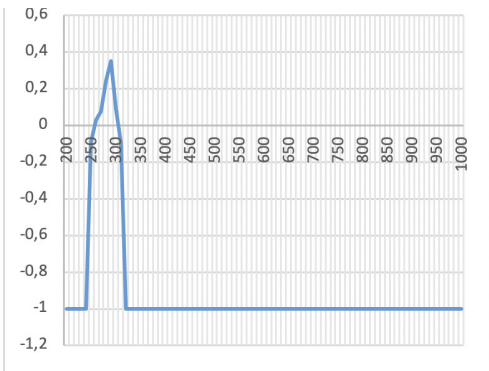
La intensidad de la señal alicina indica que la muestra representa una alta concentración del metabolito en el pico 280

**Espectro E.A.C2  $\lambda$  290nm**



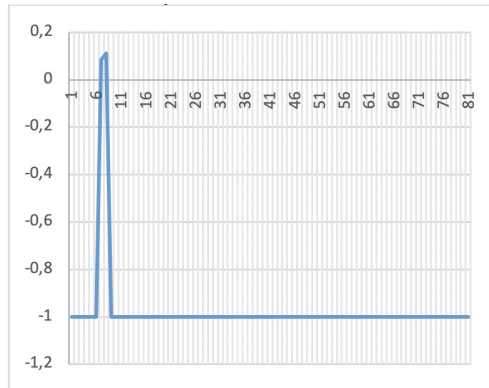
La intensidad de la señal alicina indica que la muestra representa una alta concentración del metabolito en el pico 290, concentración utilizada en pruebas de inhibición bacteriana

**Espectro E.A.C3  $\lambda$  290nm**



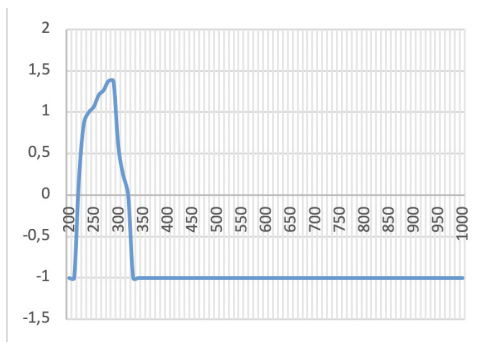
Intensidad de alicina indica alta concentración del metabolito pico 290, concentración utilizada en pruebas de inhibición bacteriana

**Espectro E.A.H1  $\lambda$  280nm**



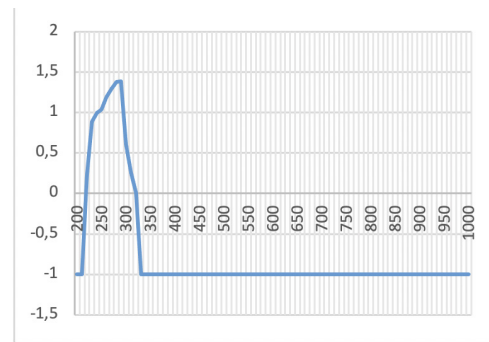
Intensidad de alicina indica alta concentración del metabolito en el pico 280, concentración utilizada en pruebas de inhibición bacteriana

**Espectro E.A.H2  $\lambda$  290nm**



Intensidad de alicina indica alta concentración del metabolito en el pico 290

**Espectro E.A.H3  $\lambda$  290nm**



Intensidad de alicina indica alta concentración del metabolito en el pico 290, concentración utilizada en pruebas de inhibición bacteriana.

**Figura 3.** Absorbancia vs longitud de onda de las muestras de 0-8 días.

El efecto antibacteriano de AgNPs a diferentes extractos se evaluó cuantitativamente sobre

la base de la zona de inhibición (Tabla 7). Se demostró la actividad antibacteriana de AgNPs



bio-sintetizados contra tres patógenos humanos tales como *Escherichia coli*, *Staphylococcus Aureus* y *Aspergillum Níger*. Para comprobar sus efectos inhibidores en medio alcalino se

neutralizaron cada una de las muestras de AgNPs con hidróxido de sodio al 0.1% en diferentes cantidades alcanzando lecturas de pH entre 7 y 10.

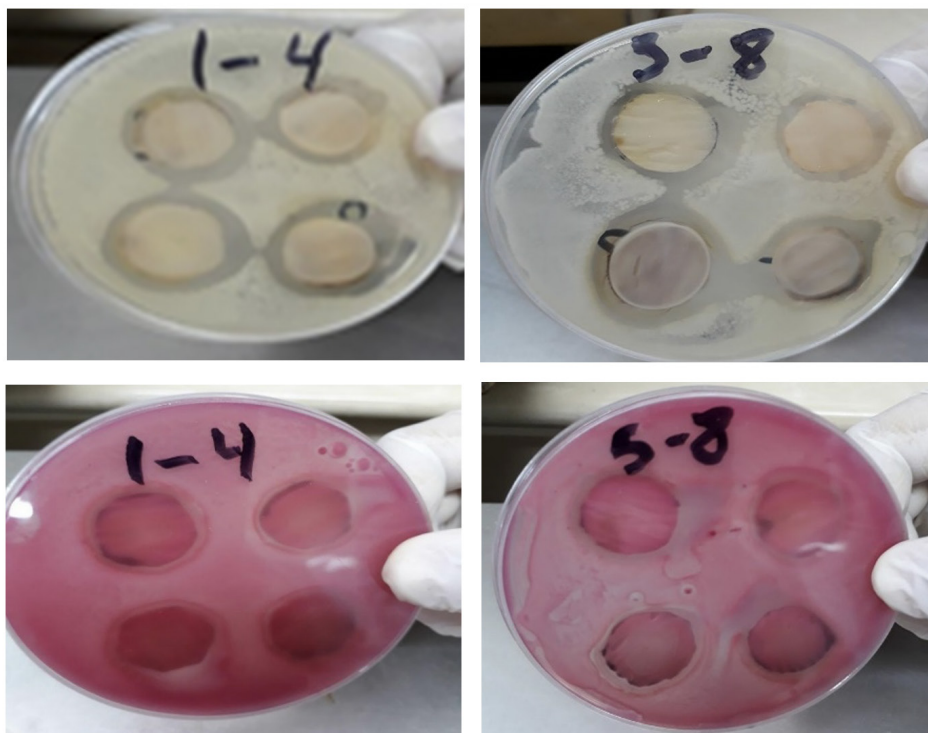
**Tabla 7.** Detección antibacteriana

Muestra	pH	S. aureus (cm)	E.coli (cm)	Aspergillus niger	NaOH al 0.1%	pH	S. Aureus (cm)	E.coli (cm)	Aspergillus niger
1	5	2,850	2,250	-	1.5ml	8	3.925	2.585	N.U.
2	5	2,455	2,375	-	2.3ml	8	3.8	3.335	N.U.
3	5	3,3	2,375	2.825	1.5ml	9	3.8	3.720	2.8
4	5	2,8	2,250	-	1.5ml	10	2.850	3.545	2.6**
5	5	2,6	2,530	3	2ml	10	3.6*	3.345	2.760
6	4	2,725	2,375	3.2	2ml	7	4.2*	2.050	N.U.
7	4	2,725	2,225	-	1.5	9	3.6*	3.425	N.U.
8	4	2,950	2,350	-	1.5	8	4.2*	2.2	2.2**

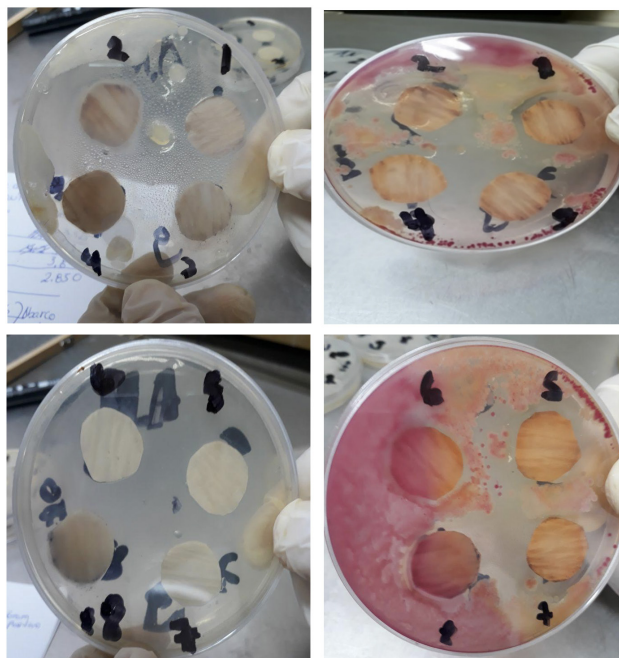
N.U.: muestras no utilizadas. \*muestras con inhibición total. \*\*muestras que al neutralizarlas desarrollaron acción inhibitoria.

En las Figuras 4 se muestra la inhibición de los patógenos con las diferentes muestras, y en la

Figura 5 la inhibición con muestras neutralizadas con hidróxido de sodio al 0.1%; pH entre 7 y 10; tal como se detalla en la Tabla 7.



**Figura 4.** Inhibición de los patógenos con los diferentes extractos



**Figura 5.** Inhibición de patógenos con muestras neutralizadas

## CONCLUSIONES

Hay una serie de informes que describen métodos que hacen uso de extracto de plantas para la síntesis de nanopartículas siendo estos más económicos y amigables con el medio ambiente reduciendo el impacto ecológico en comparación de los métodos tradicionales o síntesis química, a esta se le llama química verde o síntesis verde para la fabricación de AgNPs, en este trabajo fue utilizado extracto de bulbo de *Allium sativium* (ajo).

Este método para la síntesis de AgNPs parece ser de bajo costo, no tóxica. Algunos biocompuestos naturales que se encuentran en el extracto de bulbo que se confirman por picos FTIR entre ellos el principal es la Alicina la cual es responsable de reducir y estabilizar.

Las nanopartículas obtenidas con enfoque verde fueron más pequeñas en tamaño que otros métodos químicos y físicos, pero de tamaño uniforme mono dispersado en la naturaleza y fue sintetizado muy rápidamente.

Este método no requiere un procesamiento posterior tedioso y puede ser estudiado hasta desarrollar una tecnología viable para la síntesis de nanopartículas de plata.

La forma esférica de los AgNPs bio sintetizados

estaba bien dispersa, se identificó y verifico las nanopartículas mediante DSL-ISO 13321 para establecer el tamaño de 40-60 nm.

Se demostró la actividad antibacteriana de AgNPs bio-sintetizados contra tres patógenos humanos tales como *E. coli*, *Staphylococcus* y *Aspergillum niger*. La actividad antibacteriana se realizó contra todas las tres cepas bacterianas. Se descubrió que los AgNP biosintetizados tienen una mayor acción inhibitoria contra cada una de las cepas al ser neutralizadas con hidróxido de sodio al 0.1%

## REFERENCIAS

1. Niraimathi K. L., Sudha V., Lavanya R. & Brindha P. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Alternanthera sessilis* (Linn.) extract and their antimicrobial, antioxidant activities. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*. 2013; 102: 288–291. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.08.041.
2. Ouahid A. Nanotecnología y sus potenciales aplicaciones en microbiología. (Trabajo de Grado). Universidad de Sevilla. 2016.
3. Mosquera E., Rosas N., Debut A., Guerrero V. H. & L. D. N. Síntesis y Caracterización

- de Nanopartículas de Dióxido de Titanio obtenidas por el Método de Sol-Gel. *Materiales*. 2015; 36(3): 7.
4. Fernández T. Estudio de las aplicaciones biomédicas de las nanopartículas de plata. (Trabajo de Grado). Universidad de Sevilla, 2017.
  5. Perales T., Juan V., Neyra T., & Marsia E. Caracterización de nanopartículas de plata obtenidas mediante síntesis biogénica usando extracto de *Coffea arabica* procedente de Satipo - Junín para uso antimicrobiano. (Trabajo de Grado). Universidad Nacional del Centro de Perú. 2019.
  6. Guapulema M. Proceso y Elaboración de Cápsulas de Ajo. (Trabajo de Grado). Ecuador: Universidad de Guayaquil, 2013.
  7. Rivas V. *Allium Sativum* como fuente potencial de moléculas anticancerígenas. (Trabajo de Grado). Perú: Universidad Peruana de los Andes. 2016.
  8. Nouroz F., Mehboob M., Noreen S., Zaidi F. & Mobin T. A Review on Anticancer Activities of Garlic (*Allium sativum* L.). *Middle-East Journal of Scientific Research*. 2015; 23 (6): 1145-1151. doi: 10.5829/idosi.mejsr.2015.23.06.9381
  9. Corrales Reyes I. E. & Reyes Pérez J. J. Actividad antimicrobiana y antifúngica de *Allium Sativum* en Estomatología. *Medigraphic*. 2014; 53(254): 59–68.
  10. Bender D. & Bárcenas M. El ajo y sus aplicaciones en la conservación de alimentos. *Técnicas sobre Ingeniería de Alimentos*. 2013; 7: 25–36
  11. Ramírez H., Castro L. & Martínez E. Efectos Terapéuticos del Ajo (*Allium Sativum*). *Salud y Adm*. 2016; 3(8): 39–47
  12. Garzon Vallejo J. F. Uso del ajo y/o sus compuestos activos como agente antimicrobiano en la industria de alimentos. Colombia: Universidad Nacional Abierta y de Estudios a Distancia. 2018.
  13. Cardeño L. & Londoño M. E. Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo (*Allium sativum*). *Revista Soluciones postgrado EIA*. 2014; 101(2): 129–140. doi: <http://dx.doi.org/10.14508/sdp.2014.6.12.129-140>.
  14. Ayala Nuñez N. Nanopartículas de Plata como microbicidas: Actividad mecanismos de acción contra la infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y diferentes bacterias resistentes a antibióticos. Tesis de doctorado. Mexico: Universidad Autónoma de Nuevo León. 2010.
  15. Sobre C., Mutans S., Casei Y. L., Carmina S. & Reyes G. Efecto antibacteriano de las nanopartículas de plata versus clorhexidina sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus casei*. Mexico: Universidad Autónoma del Estado Mexicano. 2013.
  16. Ávalos, Haza A., & Morales P. Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. *Revista Complut. Ciencias Vet*. 2013; 7(2): 1–23. doi: 10.5209/rev\_RCCV.2013.v7.n2.43408.
  17. Ortiz J. Actividad antimicrobiana de nanopartículas cerámicas sintetizadas por un método verde para uso en aplicaciones biomédicas. Trabajo de Grado. Colombia: Universidad Autónoma de Occidente.
  18. Silva L. P., C. C. Bonatto, F. D. E. S. Pereira, L. D. Silva, V. L. Albernaz, and V. L. P. Polez, "Nanotecnología Verde Para Síntesis De Nanopartículas Metálicas," *Biotechnol. Apl. à Agro&Indústria*, pp. 967–1011, 2017, doi: 10.5151/9788521211150-26.
  19. Feng Q., Wu J., Chen G., Cui F., Kim T., Kim J. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res*. 2000; 52(4): 662-8. doi: 10.1002/1097-4636(20001215)52:4<662::aid-jbm10>3.0.co;2-3.
  20. Marambio-Jones C. & Hoek E. M. V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *J. Nanoparticle Journal of Nanoparticle Research*. 2010; 12(5): 1531–1551. doi:

- 10.1007/s11051-010-9900-y.
21. Monge M. Nanopartículas de plata : métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de Química*. 2009; (1): 33–41
22. Bernal R. & Guzmán M. El Antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-bauer. *Biomédica*. 1984; 4(3–4): 112-121. doi: 10.7705/biomedica.v4i3-4.1891.