



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA QUÍMICA

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE
PLATA COMO AGENTE BACTERICIDA EN AGUAS
RESIDUALES**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

QUÍMICA

AUTORA: ERIKA PAMELA YANCHAPANTA TAMAQUIZA

DIRECTORA: Bioq.Cl. MISHHELL CAROLINA MORENO SAMANIEGO MSc.

Riobamba – Ecuador

2022

© 2022, Erika Pamela Yanchapanta Tamaquiza

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, ERIKA PAMELA YANCHAPANTA TAMAQUIZA, declaro que el presente trabajo de integración curricular es de mi autoría y los resultados de este son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de integración curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 24 de marzo del 2022



Erika Pamela Yanchapanta Tamaquiza

CI:180492199-5

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA QUÍMICA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Proyecto de Investigación, **SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA COMO AGENTE BACTERICIDA EN AGUAS RESIDUALES**, realizado por la señorita: **ERIKA PAMELA YANCHAPANTA TAMAQUIZA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de integración curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Linda Mariuxi Flores Fiallos, MsC PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	_____	2022-03-24
Bioq. Cl. Mishell Moreno Samaniego MSc. DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	_____	2022-03-24
Dr. Jorge Efrén Silva Yumi Dr. MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	2022-03-24

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación se lo dedicó primero a Dios por todos favores y bendiciones recibidas a lo largo de mi formación académica y de mi vida. Con todo mi amor y cariño a mi madre María Tamaquiza y mi hermano Bryan Yanchapanta, que han sido mi motor para cumplir esta meta, por siempre estar presente en los momentos buenos y malos que se me han presentado.

Erika

AGRADECIMIENTO

A mi querida tutora, Mishell Moreno por haberme guiado en el presente trabajo de investigación por sus consejos, sus conocimientos para culminar con éxito el trabajo y al Grupo de Investigación en Materiales Avanzados (GIMA).

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por abrirme sus puertas para formarme como profesional, a los docentes de la Escuela de Química por su vocación para trasmitirme su conocimiento.

Al Ing. Teobaldo Patiño, técnico del Laboratorio de Química General e Inorgánica, por su ayuda y apoyo en el desarrollo de la parte experimental del presente trabajo, por facilitarme equipos y materiales para el mismo, gracias por sus consejos enseñanzas que me ayudaran a crecer como persona y futura profesional.

A mis padres por que han sido un pilar fundamental en mi educación a pesar de las diversas circunstancias que hemos atravesado.

A Yadira Ugenio, por su ayuda desinteresada, por su generosidad y amabilidad al acompañarme durante largas horas en los laboratorios, por estar ahí cuando necesitaba una mano amiga.

A Alexis Manobanda, por brindado su apoyo incondicional, por sus consejos, palabras de aliento para culminar mis estudios y ser un pilar fundamental en mi vida.

Erika

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1	MARCO REFERENCIAL.....	6
1.1.	Antecedentes de la investigación.....	6
1.2.	Bases teóricas.....	7
1.2.1.	Agua.....	7
1.2.1.1.	<i>Agua en el mundo.....</i>	<i>7</i>
1.2.1.2.	<i>Distribución del recurso hídrico.....</i>	<i>8</i>
1.2.2.	Aguas residuales.....	8
1.2.2.1.	<i>Tratamientos de aguas residuales.....</i>	<i>9</i>
1.2.3.	Bacterias.....	9
1.2.3.1.	<i>Morfología.....</i>	<i>9</i>
1.2.3.2.	<i>Crecimiento bacteriano.....</i>	<i>10</i>
1.2.3.3.	<i>Curva del crecimiento bacteriano.....</i>	<i>10</i>
1.2.3.4.	<i>Métodos de medición del crecimiento.....</i>	<i>11</i>
1.2.3.5.	<i>Bacterias en aguas residuales.....</i>	<i>12</i>
1.2.4.	Nanotecnología.....	12
1.2.5.	Nanopartículas.....	13
1.2.5.1.	<i>Clasificación de nanopartículas.....</i>	<i>13</i>
1.2.6.	Nanopartículas de plata.....	14
1.2.6.1.	<i>Nanopartículas de plata como bactericida.....</i>	<i>14</i>
1.2.6.2.	<i>Mecanismo de acción de las nanopartículas de plata.....</i>	<i>15</i>
1.2.7.	Síntesis de nanopartículas.....	16
1.2.7.1.	<i>Síntesis verde.....</i>	<i>17</i>
1.2.7.2.	<i>Síntesis de nanopartículas con plantas.....</i>	<i>18</i>
1.2.8.	Uvilla (<i>Physalis peruviana L.</i>).....	18

1.2.9.	<i>Propiedades de las nanopartículas de plata</i>	19
1.2.9.1.	<i>Área superficial</i>	19
1.2.9.2.	<i>Propiedades ópticas</i>	19
1.2.10.	<i>Métodos de caracterización de las nanopartículas</i>	20
1.2.10.1.	<i>Espectroscopía ultravioleta visible (UV-Vis)</i>	20
1.2.10.2.	<i>Microscopía electrónica de barrido</i>	21
1.3.	Bases conceptuales	21
1.3.1.	<i>Nanotecnología</i>	21
1.3.2.	<i>Nanopartículas</i>	21
1.3.3.	<i>Síntesis</i>	21
1.3.4.	<i>Aguas residuales</i>	21
1.3.5.	<i>Agente Bactericida</i>	22
1.3.6.	<i>Bacterias</i>	22

CAPÍTULO II

2	MARCO METODOLÓGICO	23
2.1.	Área de estudio	23
2.2.	Tipo y diseño de la investigación	23
2.2.1.	<i>Por el método de investigación</i>	23
2.2.2.	<i>Según el objetivo</i>	23
2.2.3.	<i>Según el nivel de profundización en el objeto de estudio</i>	24
2.2.4.	<i>Según la manipulación de variables</i>	24
2.2.7.	<i>Por la condición de estudio</i>	24
2.3.	Población de estudio	24
2.4.	Tamaño de la muestra	25
2.5.	Diseño experimental	25
2.5.1.	<i>Modelo estadístico e hipótesis de interés</i>	25
2.5.2.	<i>ANOVA del diseño factorial 3²</i>	26
2.7.	Parte experimental	27
2.7.1.	<i>Materiales, reactivos y equipos</i>	27
2.7.1.1.	<i>Materiales</i>	27
2.7.1.2.	<i>Reactivos y sustancias</i>	27
2.7.1.3.	<i>Equipos</i>	28
2.8.	Método	28
2.8.1.	<i>Síntesis de nanopartículas de plata</i>	28
2.8.1.1.	<i>Obtención del extracto acuoso de Physalis Peruviana L.(uvilla)</i>	28

2.8.1.2.	<i>Síntesis verde de nanopartículas de plata</i>	29
2.8.2.	<i>Caracterización de nanopartículas de plata.</i>	29
2.8.2.1.	<i>Espectroscopia UV- vis.</i>	29
2.8.2.2.	<i>Microscopia electrónica de barrido (MEB).</i>	30
2.8.3.	<i>Evaluación de la actividad bactericida de las nanopartículas de plata.</i>	30
2.8.3.1.	<i>Preparación del medio cultivo (Agar Nutritivo).</i>	30
2.8.3.2.	<i>Simbra con espátula de Drigalsky</i>	30

CAPÍTULO III

3	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	32
3.1.	Resultados de síntesis de nanopartículas de plata	32
3.1.1.	<i>Obtención del extracto acuoso de Physalis Peruviana L.(uvilla).</i>	32
3.1.2.	<i>Síntesis verde de las nanopartículas de plata</i>	33
3.2.	Resultados de la caracterización de las nanopartículas.	35
3.2.1.	<i>Espectroscopia Uv-vis.</i>	35
3.2.2.	<i>Microscopia electrónica de barrido.</i>	37
3.3.	Resultados de la actividad bactericida de las nanopartículas de plata.	41
3.3.1.	<i>Recuento de poblaciones bacterianas presentes en muestras de aguas residuales domésticas</i>	43
3.3.2.	<i>Efecto de nanopartículas de plata como agente bactericida.</i>	44
3.3.2.1.	<i>Interacción de los factores</i>	48
	CONCLUSIONES	49
	RECOMENDACIONES	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Clasificación de nanopartículas	13
Tabla 1-2: Factores y niveles del efecto bactericida de las nanopartículas de plata	25
Tabla 2-2: Análisis de varianza (ANOVA) para el diseño factorial 3^2	27
Tabla 1-3: Rendimiento experimental en la síntesis de nanopartículas de plata	34
Tabla 2-3: Resultados del análisis por espectroscopia UV-vis y tamaños estimados según la longitud de onda.	35
Tabla 3-3: Análisis elemental de las nanopartículas de plata sintetizadas a 0.5, 1 y 1.5 M.	41
Tabla 4-3: Promedio de colonias formadas en función de los tratamientos	42
Tabla 5-3: Recuento de células viables en las muestras de aguas residuales domésticas.....	43
Tabla 6-3: Resultados obtenidos del recuento de células viables en Unidades Formadoras de colonias por mililitros.	45
Tabla 7-3: ANOVA para el diseño factorial 3^2	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1.	Disponibilidad de agua dulce en el mundo.....	8
Figura 2-1.	Morfología de las bacterias.....	10
Figura 3-1.	Curva del crecimiento bacteriano.	11
Figura 4-1.	Mecanismo de acción de las AgNPs en las bacterias.	16
Figura 5-1.	Métodos de nanopartículas.	16
Figura 6-1.	Proceso de síntesis de las nanopartículas de plata.	17
Figura 7-1.	Planta de Uvilla.	18
Figura 8-1.	Colores de nano partículas de oro y plata en vidriera según su tamaño y forma..	19
Figura 9-1.	Rangos de longitud de onda UV-Vis dependiendo el tamaño y la forma.....	20
Figura 1-2.	Localización de la Facultad de Ciencias-ESPOCH.	23
Figura 2-2.	Localización de la población de estudio.....	24
Figura 1-3.	Obtención del extracto acuoso de <i>Physalis Peruviana L.</i> (uvilla). (A) sonicado de las hojas; (B) Filtrado al vacío; (C) Rota vapor.....	32
Figura 2-3.	Presencia de fenoles: cambio de color de verde claro a negro. (A) extracto puro; (B) extracto con FeCl ₃	33
Figura 3-3.	Síntesis de nanopartículas de plata. (A) solución de nitrato de plata , (B) nitrato de plata con extracto de uvilla (C) nanopartículas de plata.....	33
Figura 4-3.	Microscopía electrónica de barrido de nanopartículas de plata a 121X(izq.) y 5000X (der.).	38
Figura 5-3.	Microscopia electrónica de barrido de nanopartículas de plata 121X(izq.) y 5000X (der.).	38
Figura 6-3.	Microscopia electrónica de barrido de nanopartículas de plata 121X(izq.) y 5000X (der.).	38
Figura 7-3.	(A) Crecimiento de bacterias a 10 ⁻⁴ (B) Crecimiento de bacterias a 10 ⁻⁶	41

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3. Banda UV-visible de plasmón de nanopartículas de plata sintetizadas a 0,5 M...	36
Gráfico 2-3. Banda UV-visible de plasmón de nanopartículas de plata sintetizadas a 1 M.....	36
Gráfico 3-3. Banda UV-visible de plasmón de nanopartículas de plata sintetizadas a 1.5 M...	36
Gráfico 4-3. Espectroscopía de Rayos X de energía dispersa de las de plata nanopartículas sintetizadas a 0.5 M.	39
Gráfico 5-3. Espectroscopia de Rayos X de energía dispersa de las nanopartículas de plata sintetizadas a 1 M.	40
Gráfico 6-3. Espectroscopia de Rayos X de energía dispersa de las nanopartículas de plata sintetizadas a 1.5 M.	40
Gráfico 7-3. Resultados del experimento tratamiento vs promedio de colonias.....	43
Gráfico 8-3. Efectos principales en la inhibición del crecimiento bacteriano (UFC/ml).....	47
Gráfico 9-3. Interacción de factores para el crecimiento de bacterias (UFC/ml).....	48

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: FOTOGRAFÍA TOMA DE MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES DE SAN VICENTE DE LACAS

ANEXO B: ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS UFC/ML EN SOFTWARE MINITAB

ANEXO C: REPORTE URKUND

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

NT:	Nanotecnología
NP:	Nanopartículas
AgNPs:	Nanopartículas de plata
Ag⁺:	Plata catiónica
Ag⁰:	Plata metálica
MEB:	Microscopio electrónica de barrido
UV:	Ultravioleta
Nm:	Nanómetros
UFC:	Unidad formadora de colonia
λ:	Longitud de onda
FeCl₃:	Cloruro férrico
ESPOCH:	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
GIMA:	Grupo de Investigación en Materiales Avanzados

RESUMEN

El agua es la esencia de la vida, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo obtener nanopartículas de plata (AgNPs) mediante síntesis verde para que estas sean evaluadas como agentes bactericidas en el tratamiento de aguas residuales. Para la síntesis de las nanopartículas de plata se utilizó metodología verde mediante reducción, donde la sal precursora fue el nitrato de plata (AgNO_3) y el agente reductor fue un extracto acuoso de las hojas de *Physalis Peruviana L* (uvilla). La caracterización se realizó por espectroscopía de Uv-vis y microscopía electrónica de barrido (MEB). La evaluación de la actividad bactericida de las nanopartículas se llevó a cabo in vitro en medios de cultivos sólidos (agar nutritivo), determinándose el crecimiento de las bacterias en UFC/ml. Para el análisis estadístico se utilizó un diseño factorial 3^2 contando con dos factores, la concentración de las AgNPs y el tiempo de exposición a la luz solar (1, 2 y 3 horas); siendo la variable estudiada el crecimiento bacteriano en el medio. La presencia de AgNPs se evidenció con el análisis del espectro Uv-vis, presentando lecturas de 412-415 nm. Mediante el análisis SEM se observó la morfología de las AgNPs, identificando formas ovaladas e irregulares y con un tamaño variable en el rango de 7,88– 30,47 nm. El mejor resultado como agente bactericida se obtuvo al utilizar AgNPs sintetizadas a una concentración de 1,5 M y con una exposición de 3 horas a la luz solar. Se concluyó que las nanopartículas de plata obtenidas por una síntesis verde actúan como agente bactericida frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Pseudomona oryzihabitans*, *Edwardsiella tarda* y *Shigella flexnery*. Se recomienda realizar pruebas fitoquímicas a los extractos de las plantas para conocer que metabolitos permiten la reducción de los metales a nanopartículas.

Palabras clave: <AGUAS RESIDUALES>, <NANOTECNOLOGÍA>, <NANOPARTÍCULAS DE PLATA >, <SÍNTESIS VERDE>, <AGENTE BACTERICIDA >.

LEONARDO
FABIO MEDINA
NUSTE

Firmado digitalmente por LEONARDO
FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC,
o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR,
ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE
INFORMACION-ECIBCE, l=QUITO,
serialNumber=0000621485,
cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2022.04.05 15:46:28 -05'00'



0601-DBRA-UTP-2022

SUMMARY

Water is the essence of life, the present research work aimed to obtain silver nanoparticles (AgNPs) through green synthesis so that they are evaluated as bactericidal agents in wastewater treatment. For the synthesis of silver nanoparticles, green methodology was used by reduction, where the precursor salt was silver nitrate (AgNO₃) and the reducing agent was an aqueous extract of the leaves of *Physalis Peruviana* L (uvilla). Characterization was performed by Uv-vis spectroscopy and scanning electron microscopy (SEM). The evaluation of the bactericidal activity of the nanoparticles was carried out in vitro in solid culture media (nutritive agar), determining the growth of bacteria in CFU/ml. For the statistical analysis, a 3² factorial design was used with two factors, the concentration of AgNPs and the time of exposure to sunlight (1, 2 and 3 hours); being the variable studied the bacterial growth in the medium. The presence of AgNPs was evidenced with the analysis of the Uv-vis spectrum, presenting readings of 412-415 nm. Through the SEM analysis, the morphology of the AgNPs was observed, identifying oval and irregular shapes with a variable size in the range of 7.88—30.47 nm. The best result as a bactericidal agent was obtained by using AgNPs synthesized at a concentration of 1.5 M and with an exposure of 3 hours to sunlight. It was concluded that the silver nanoparticles obtained by a green synthesis act as a bactericidal agent against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Pseudomonas oryzae*, *Edwardsiella tarda* and *Shigella flexneri*. It is recommended to perform phytochemical tests on the extracts of the silvers to know which metabolites allow the reduction of metals to nanoparticles.

Keywords: <WASTEWATER>, <NANOTECHNOLOGY>, <SILVER NANOPARTICLES>, <GREEN SYNTHESIS>, <BACTERICIDAL AGENT>.

EDISON
RENATO
RUIZ LOPEZ



Firmado digitalmente por
EDISON RENATO RUIZ LOPEZ
Fecha: 2022.04.11 11:02:53
-05'00'

INTRODUCCIÓN

El agua juega un papel importante en el desarrollo de la vida, sin ella nada existiría. A pesar de ello, la escasez de este recursos hídrico ha ido aumentando progresivamente por las diversas actividades realizadas por el hombre, tales como: desarrollo industrial, avances tecnológicos, explotación de los recursos naturales, contaminación ambiental, etc (Bolaños-benítez et al., 2020). Las aguas residuales provienen principalmente de la actividad doméstica e industrial. Según la ONU, más del 80% de las aguas residuales de tipo doméstico son llevadas a los ríos sin tratamiento previo. Esta contaminación afecta a toda la población, principalmente a niños menores de 5 años causándoles graves enfermedades, llevándolos incluso a la muerte (ONU, 2016).

Ecuador está conformado por 24 provincias, cuenta con 421 plantas de tratamiento de agua, de las cuales el 39 % realiza un tratamiento parcial (tratamiento físico) y el 61% no realiza ningún tipo de tratamiento. Finalmente, estas aguas terminan en los ríos (INEC, 2016). Un estudio realizado por el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), informa que el 20,7% de la población ecuatoriana consume agua contaminada con la bacteria *Escherichia coli*. La mitad de esta agua contaminada proviene de la red pública y el porcentaje restante, de agua embotellada (Pozo et al, 2016).

Desde el último estudio realizado por el INEC en el año 2016, Guayaquil tomó medidas para mejorar su infraestructura para el manejo aguas residuales con apoyo del Banco Mundial esta labor comenzó desde el año 2016, esta plata cuenta con generación de energía en los procesos de las plantas de tratamiento y planificación de cuencas hidrográficas (Brault y Marmanillo, 2020, p. 7).

En la actualidad, los tratamientos de aguas residuales disponibles utilizan principalmente químicos que impactan negativamente al medio ambiente, además de ser costosos para la mayoría de países (Magalhães, 2021). Por ello, se busca nuevas alternativas eficientes y eficaces para el tratamiento de aguas residuales. La nanotecnología es una opción viable para enfrentar esta problemática, ya que ofrece la capacidad de controlar la materia a escala nanométrica (1-100 nm), creando materiales con propiedades específicas (Yunus et al., 2012, p. 23).

La nanotecnología a puesto su mirada en las nanopartículas de plata para el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico por sus propiedades bactericidas (Vergara y Roledo, 2017). La plata ha sido utilizada desde la antigüedad para la desinfección de aguas y también en la medicina. Varios estudios han demostrado que las nanopartículas de plata son capaces de inhibir el crecimientos de casi 200 especies bacterianas gram positivas y gram negativas, incluso contra aquellas que han desarrollado resistencia (Rojas et al., 2020, p. 60).

La síntesis de AgNPs actualmente se ha enfocado en la metodología verde por ser amigable con el ambiente, rentable y darse en un solo paso (Ahmed et al., 2016). Considerando la biodiversidad de plantas que existe en el Ecuador, la presente investigación propone la síntesis de nanopartículas de plata a partir de extractos de las hojas de *Physalis peruviana L* (uvilla). Las hojas de uvilla

son antioxidantes por los compuestos fenólicos que presentan, estos ayudan al extracto a actuar como agente reductor natural (López y Yanchaliquin, 2017).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El agua es el líquido vital más importante para todos los seres vivos. Dado a los avances realizados por el hombre como el desarrollo industrial, este recurso se ha ido contaminando por químicos, metales y bacterias potencialmente peligrosas. Además, la escasez de agua está incrementando rápidamente por el crecimiento de la población, contaminación y cambio climático. Por ello, se ha visto la necesidad de realizar investigaciones en aguas residuales provenientes de uso doméstico para su reúso. Riobamba, con 225 000 habitantes, es la ciudad que más contamina de la región, allí se vierten 350 litros por segundo de aguas contaminadas a los ríos (Cerón et al., 2015, p. 36). En la actualidad, existen pocas acciones de los municipios para la desinfección de los líquidos residuales, principalmente en las comunidades. El 80% de los 4 a 500 litros por segundo que corren por ese afluyente está contaminado con coliformes fecales y metales pesados, los mismos que son usados sin tratamiento por comunidades rurales para el regadío de cultivos (Puente, 2015). El objetivo es evaluar la actividad bactericida de nanopartículas de plata en muestras de agua residual tomadas de la comunidad San Vicente de Lacas, ayudando así a futuras investigaciones con el fin de que se implemente una solución eco amigable a gran escala.

JUSTIFICACIÓN

El agua es vital para todas las formas de vida, por lo que debemos buscar mecanismos para su uso sustentable; la reutilización de aguas residuales de tipo doméstico es una opción viable para la sostenibilidad de este recurso hídrico, generando cambios productivos y una gran contribución al medio ambiente. Entre los beneficios del tratamiento de aguas residuales tenemos el hecho de que se podría cubrir hasta un 100% de las necesidades de agua en el ramo agrícola, agua que es usada por la comunidad de San Vicente de Lacas para riego (Marcor, 2011).

La nanotecnología tiene múltiples aplicaciones que van desde la medicina hasta la aeronáutica. De ahí que, durante los últimos años, la nanotecnología se ha convertido en una alternativa prometedora y amigable para mejorar el tratamiento de agua (Peñate, 2016). En este sentido, son varios los estudios que demuestran que la nanotecnología, en concreto los nanomateriales, pueden ayudar a resolver los inconvenientes que presentan los sistemas actuales de tratamiento de agua y aguas residuales: potabilización, desalinización, desinfección, depuración, etc. (Cerón et al., 2015). Los nanomateriales gracias a su área y reactividad de superficie, retienen más contaminantes que los absorbentes naturales. Un ejemplo son las nanopartículas de plata que muestran actividad bactericida superior que los desinfectantes comunes (Peñate, 2016). Por lo ya expuesto, esta investigación se basa en la biosíntesis de nanopartículas de plata como agente bactericida para ser usado en aguas residuales domésticas. Dicha investigación se llevó a cabo en el laboratorio de investigación de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo con la ayuda técnica del grupo de investigación GIMA. La síntesis de las nanopartículas se realizó mediante una síntesis verde utilizando como sal precursora el AgNO_3 y como agente reductor un extracto de uvilla (*Physalis Peruviana L*) que se obtuvo través de una técnica de extracción líquida en el laboratorio de Productos Naturales de la misma Facultad. La caracterización se realizó por espectroscopía de UV- vis y microscopía electrónica. Para determinar la actividad bactericida de las nanopartículas de plata se realizó pruebas in vitro, con las muestras de agua tomadas de los tanques de recepción de San Vicente de Lacas, en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Este estudio contribuirá al conocimiento técnico en procesos de biorremediación ya que será realizado a pequeña escala, tomando muestras de los tanques de recepción de San Vicente de Lacas de la ciudad de Riobamba. Además, se investigó una nueva metodología ya que se pretende sintetizar nanopartículas de plata aplicando síntesis verde utilizando materia orgánica de extracto de uvilla (*Physalis Peruviana L.*) como agente reductor, que de acuerdo con la investigación realizada en la Universidad Estatal de Bolívar, posee actividad antimicrobiana (López y Yanchaliquin, 2017, p. 9).

OBJETIVOS

Objetivo General

Obtener nanopartículas de plata mediante síntesis verde para ser analizadas como agentes bactericidas en el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico.

Objetivos Específicos

- Sintetizar nanopartículas de plata usando como agente reductor extracto acuoso de *Physalis peruviana L* (uvilla)
- Caracterizar nanopartículas de plata obtenidas mediante una síntesis verde aplicando técnicas de espectroscopía ultravioleta visible (Uv-vis), Microscopía electrónica de barrido (SEM) y Espectroscopia de rayos X de energía dispersa (EDS).
- Determinar la actividad bactericida de las nanopartículas de plata mediante pruebas in vitro con bacterias presentes en muestras de aguas residuales tomadas de los tanques de recepción de San Vicente de Lacas.

HIPÓTESIS

Hipótesis nula

H₀: Las nanopartículas de plata obtenidas mediante una síntesis verde no actúan como agente bactericida en el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico.

Hipótesis alternativa

H_a: Las nanopartículas de plata obtenidas mediante una síntesis verde actúan como agente bactericida en el tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico.

CAPÍTULO I

1. MARCO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes de la investigación

Desde la antigüedad la plata se ha utilizado como desinfectante de agua y también ha tenido múltiples usos en medicina. En 1992, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) aprobó la solución de plata iónica como agente antibacteriano, pero con la síntesis de antibióticos su uso disminuyó. Sin embargo, en los últimos años se ha visto una gran resistencia de las bacterias hacia los antibióticos, por lo que en la actualidad los investigadores han puesto su mirada en la plata pero esta vez aplicando la nanotecnología como nanopartículas de plata (Cardosa, 2016). En una investigación realizada en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas de plata utilizando AgNO_3 como sal precursora y tres agentes reductores: borohidruro de sodio, citrato de sodio y además se realizó una síntesis verde utilizando extracto de ajo. En la caracterización obtuvieron longitudes de ondas máximas entre 394,4 a 427,6 nm y tamaños que oscilan 12 a 100 nm. Esta investigación tuvo como fin evaluar qué agente reductor presenta mejor rendimiento en la síntesis de AgNPs dando como resultado, que al usar citrato de sodio como agente reductor, presenta un rendimiento de reacción en un 93,36%. Sin embargo, se sugiere el método que tiende a la química verde utilizando extracto de ajo, que presenta un rendimiento de reacción de 88,54% (Escobar, 2015, p. 5).

La producción de nanopartículas mediante síntesis verde es de gran interés investigativo por su menor impacto ambiental, esto se puede evidenciar en la investigación realizada en la Universidad de Guayaquil donde sintetizaron nanopartículas de plata usando extracto de semilla de apio como agente reductor y AgNO_3 como sal precursora. El objetivo de este estudio fue investigar si las nanopartículas de plata actúan como larvicidas. El resultado fue un índice de mortalidad de 80-90 % en las muestras donde utilizaron las nanopartículas puras. Además, se obtuvieron nanopartículas con un tamaño que oscilan entre 10 a 20 nm y presentaron una longitud de onda de 400 nm (René y Márquez, 2019, p. 70-80).

En la Universidad de Guayaquil, se llevó a cabo una investigación donde se sintetizaron nanopartículas de plata para evaluar su inhibición bacteriana. Se utilizó como agente reductor una serie de compuestos orgánicos de la *Púnica granatum* y como sal precursora nitrato de plata, la presencia de las AgNPs se evidenció por espectroscopia Uv-vis, su tamaño fue de 10-20 nm y con forma esférica. Las AgNPs biosintetizadas demostraron actividad bactericida contra las especies *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger* (Castro, 2018, p. 90).

La biosíntesis de nanopartículas de plata no solamente se da a partir de plantas, sino también a partir de bacterias, levaduras y hongos; esto lo podemos evidenciar en la investigación realizada en la Universidad Veracruzana donde obtuvieron AgNPs por vía fúngica utilizando el hongo *Penicillium purpurogenum*. En la caracterización, las AgNPs presentaron un tamaño de 10,5 nm. La finalidad de esta investigación fue estudiar la actividad antimicrobiana presente en 12 bacterias aisladas de frutos en deterioro, presentando una inhibición del crecimiento en un 93 a 99%, utilizando la dilución con una relación 1:5 de AgNPs/caldo nutritivo (Rojas et al., 2020, p. 10).

Por otro lado, en la Universidad EIA de Colombia, se investigó la actividad antibacteriana de las nanopartículas de plata que fueron obtenidas por síntesis verde utilizando como agente reductor d-limoneno y como sal precursora nitrato de plata. El análisis de la actividad antibacteriana se realizó en *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Klebsiella oxytoca* ATCC 700324, *Enterococcus casseliflavus* ATCC 700327, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, donde las AgNPs presentaron una concentración mínima inhibitoria (CMI) y una concentración mínima bactericida (CMB) de 28 µg mL⁻¹ contra todas las bacterias (Echeverry et al., 2020).

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Agua

El agua es un compuesto que está formado por hidrógeno y oxígeno. Es uno de los recursos que interviene en varios procesos biológicos indispensables para la vida del planeta. El hombre depende de su disponibilidad no sólo para el consumo doméstico sino también para la continuidad de las actividades agrícolas e industriales (García et al., 2016).

1.2.1.1. Agua en el mundo

Alrededor de 1.000 millones de personas actualmente sufren de la escasez de agua en el mundo. La UNESCO considera que para el 2025 dicha cantidad va a incrementar hasta 3.000 millones de habitantes. La carencia de este recurso hídrico es exclusivamente crítica en el Norte de China, Norte de África y Este de Asia. En la figura 1 se representa la disponibilidad de agua dulce y la población, en porcentajes y por continente (Auge, 2007).

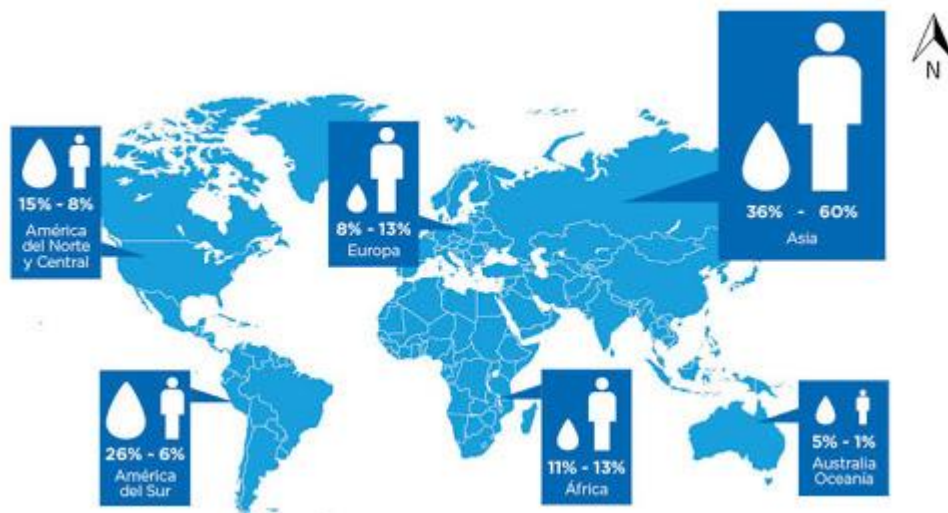


Figura 1-1. Disponibilidad de agua dulce en el mundo.

Fuente: Auge, 2007.

1.2.1.2. Distribución del recurso hídrico.

La tercera parte del planeta tierra está compuesta por agua, el 97% es agua salada y el 3% es agua dulce. De este 3 %, el 70% de agua dulce se encuentra congelada y bloqueada en los glaciares, aproximadamente el 30% se encuentran en zonas montañosas de difícil acceso. Por lo tanto, la humanidad depende de menos del 1 % del agua existente para todas sus necesidades y las de los ecosistemas de agua dulce (Torre, 2015, p. 21).

De este 1%, en los países de Suramérica entre ellos Ecuador, aproximadamente dos tercios se usan para la agricultura y sector industrial, mientras que el 10% es usado en el sector municipal.

1.2.2. Aguas residuales

Las aguas residuales son aquellas que, por el uso del hombre, deben ser desechadas ya que, contienen gran cantidad de sustancias bio peligrosas y microorganismos. Dichas aguas, pueden ser causa y vehículo de contaminación, particularmente en aquellos lugares donde son evacuadas sin un tratamiento previo o con un tratamiento mínimo, como por ejemplo río abajo, donde son utilizadas para la agricultura. Los cultivos procedentes de este tipo de riego son consumidos en los pueblos y grandes ciudades (Espigares y Pérez, 2008, p. 2-3).

Las aguas residuales se pueden clasificar según su origen en:

Aguas residuales domésticas o aguas negras: provienen de las heces y orina humanas, como también del uso cotidiano del hombre. Estas aguas contienen materia orgánica y microorganismos.

Aguas blancas: Se originan en la atmósfera (lluvia, nieve o hielo) o del riego y limpieza de calles, parques y lugares públicos.

Aguas residuales industriales: Descienden de los procesamientos realizados en fábricas y establecimientos industriales (Espigares y Pérez, 2008, p. 3).

1.2.2.1. Tratamientos de aguas residuales

Los países con ingresos económicos altos cuentan con un tratamiento eficiente de aguas residuales, gozando de fuentes alternativas para el reúso de agua. Los países con bajos recursos económicos, tratan sus aguas en un 8% dado que no cuentan con la infraestructura, capacidad técnica, institucional y/o financiera necesaria. Por lo ya mencionado, en Ecuador más del 85% de sus aguas residuales son desembocados en río llegando finalmente a los océanos (Díaz et al., 2012, p. 80-82).

1.2.3. Bacterias

Las bacterias son microorganismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria. La mayor parte son de vida libre, excepto algunas especies que son de vida intracelular obligada. Su tamaño oscila entre las 0.5 y 3 μm , pudiendo llegar en algunos casos a 10 μm (Macías et al, 2019, p.11).

1.2.3.1. Morfología

La forma de las bacterias está determinada por la rigidez de su pared celular. Entre ellas se pueden encontrar cocos, bacilos y espirilos.

Las bacterias, dado a su tamaño, deben ser observadas con el microscopio óptico o electrónico. En los laboratorios el más usado es el microscopio óptico. Los microorganismos se pueden observar sin tinción colocando la muestra en glicerol para que esta aumente el índice refractario; o con tinción, usando distintas coloraciones que mejoran su visualización (Macías et al., 2019).

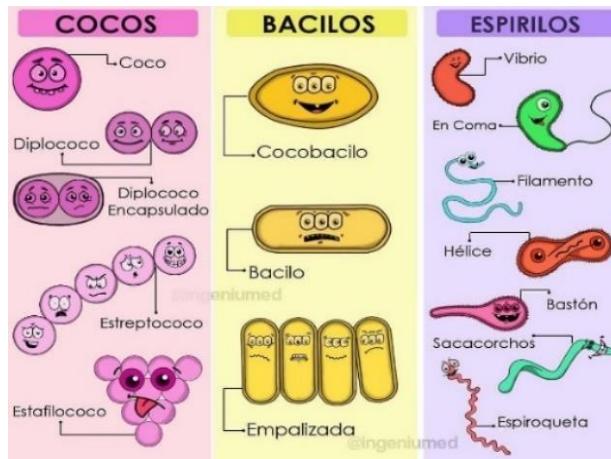


Figura 2-1. Morfología de las bacterias.

Fuente: Sanjuan,2019.

1.2.3.2. Crecimiento bacteriano

Se puede definir como el incremento en la cantidad de sus constituyentes y estructuras celulares, este incremento puede ser individual y poblacional. El primero se da en ausencia de la división celular donde; se presenta un aumento de tamaño y peso de las células, por otra parte, el crecimiento poblacional se basa en el aumento del número de células.

Puede definirse como un aumento en el número de sus componentes y estructuras celulares, aumento que puede ocurrir tanto de manera individual como en poblaciones. El primero ocurre en ausencia de división celular, donde hay un aumento en el tamaño y peso de la célula; y por otro lado, el incremento de la población depende de la agregación en el número de células (Sanchez & Silva , s.f.).

1.2.3.3. Curva del crecimiento bacteriano

La curva se divide en 4 fases: fase de latencia, fase de crecimiento exponencial, fase estacionaria y fase de muerte.

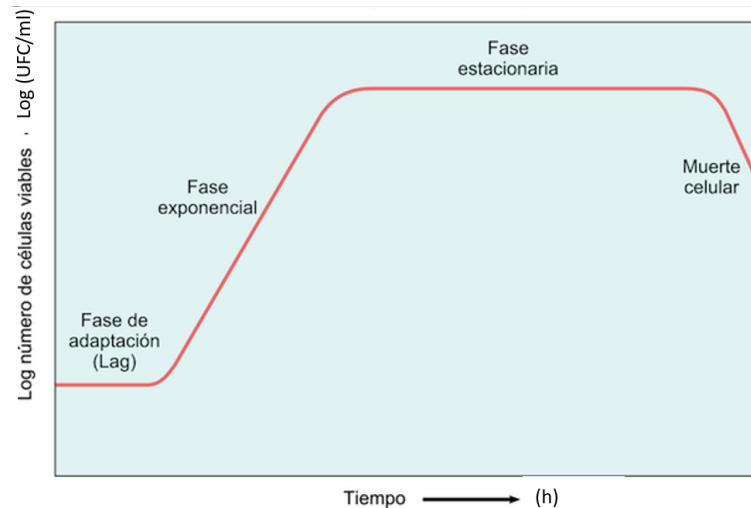


Figura 3-1. Curva del crecimiento bacteriano.

Fuente: Sanjuan, 2019.

Fase de latencia: Es la fase primordial del crecimiento bacteriano, donde se da la adaptación al medio de cultivo. Además, se presenta el aumento de la masa celular pero no el aumento del número de células. En esta fase también se forman enzimas, metabolitos intermedios hasta alcanzar la concentración necesaria para dar lugar a la siguiente fase (Pérez del Angel, 2009, p. 71).

Fase de crecimiento exponencial: Se sintetiza nuevas material a una tasa constante, puede prolongarse de manera indefinida si las células se transfieren a un nuevo medio.

Fase estacionaria: Se agota la fuente de energía por ende las células comienzan a morir, pero también ciertas células se multiplican dando lugar al recambio celular.

Fase de muertes: Disminución exponencial de las células (Pérez del Angel, 2009, p. 23).

1.2.3.4. Métodos de medición del crecimiento

Conteo microscópico directo: Esta es una técnica utilizada en los laboratorios de microbiología, siendo la más común, rápida y económica. Este método se basa en contar bajo un microscopio el número de células en un volumen determinado, en cámaras de conteo. El recuento microscópico proporciona información adicional sobre el tamaño y la forma de los objetos contados. Las muestras se pueden utilizar íntegro o preparar diluciones (Sanjuan, 2019, p.15).

Conteo de células viables: Esta técnica se puede utilizar tanto en medios sólidos como líquidos. El recuento se usa generalmente en placas en las que se han formado colonias, por lo tanto, la técnica identifica solo células microbianas viables. El procedimiento se basa en la inoculación de una cantidad conocida de suspensión bacteriana. En el medio sólido, cada bacteria se multiplica, formando una colonia que es visible al ojo humano y se puede contar. Dado que las colonias pueden provenir de una célula o de un grupo de células, se aplica el término “Unidad formadora

de colonias” (UFC). Las condiciones óptimas de conteo ocurren cuando crecen entre 25 y 250 colonias (Reynoso et al., 2015).

Medición de la densidad bacteriana: Es una técnica en la que se mide la masa de microorganismos en una suspensión. Para ello, se utiliza un espectrofotómetro y se mide la cantidad de luz que atraviesa una dispersión de microorganismos, en comparación con un blanco (medio esterilizado y sin sembrar) (Sanjuan, 2019).

1.2.3.5. Bacterias en aguas residuales

Las bacterias en aguas residuales son principalmente de origen fecal o provenientes de procesos de biodegradación, tanto en la naturaleza como en las plantas de tratamiento. En las aguas residuales, prevalecen las especies pertenecientes a los siguientes grupos: *Escherichia*, *Salmonella*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Zoogloea*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Mycobacterium*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* (Espigares y Pérez, 2008, p. 18).

1.2.4. Nanotecnología

La nanotecnología se enfoca en la síntesis, caracterización y empleo de estructuras biológicas y no biológicas más pequeñas que 100 nm. Las estructuras en esta escala han mostrado tener propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales como un medio para controlar su tamaño, superficie y forma. De hecho, se encuentran aplicadas en múltiples aspectos de la investigación como la electrónica y diseño de nuevos materiales (Celorrio et al., 2007: p.125-126).

En los últimos años desde el auge de la nanotecnología, las principales ciencias de aplicación que predominan son la informática, la medicina, la biología y la construcción. En la actualidad, existen cerca de tres mil productos generados con nanomateriales, la mayoría para usos industriales. A pesar de esto las investigaciones más destacadas se registran en el campo de la medicina y la biología. Por lo ya mencionado, las investigaciones se centran en cómo aplicar la nanotecnología en la medicina para mejorar la capacidad de prevenir, diagnosticar, comprender y tratar las enfermedades (Cuadrado et al., 2017, p. 20).

La comunidad científica señala que la nanotecnología debe considerarse como una prioridad en el futuro (Confederación de consumidores y usuarios, 2015, p. 1).

1.2.5. Nanopartículas

La palabra nanopartícula se refiere a todo material o elemento donde al menos una de sus dimensiones se encuentra en el rango de 1 a 100 nanómetros. Por su tamaño, estos materiales pueden interactuar de forma concreta con las células y tejidos humanos (European Commission, 2014).

1.2.5.1. Clasificación de nanopartículas

Las nanopartículas se pueden clasificar de diversas formas según su tamaño, forma, origen, etc. A continuación, se presentará una de las clasificaciones más sobresalientes.

Tabla 1-1: Clasificación de nanopartículas

Nanopartículas (NPs)	Concepto	
NPs Orgánicas	Estas NPs son biodegradables. Debido a sus características de sensibilidad al calor y a la luz, se les ha utilizado para la administración de fármacos. Las principales NPs orgánicas son: ferritina, micelas, dendrímeros y liposomas.	
NPs Inorgánicas	Se caracterizan por ser biocompatibles e hidrófilas, además de ser más estables que las orgánicas.	<u>Metálicas:</u> Poseen propiedades optoelectricas únicas debido a las características de resonancia del plasma. Las principales NPs de metal que se han sintetizado son: aluminio, oro, hierro, plomo, plata, cobalto, zinc, cadmio y cobre.
		<u>Óxidos metálicos:</u> El objetivo es modificar las propiedades del metal respectivo, por ejemplo, aumentar la reactividad y la eficiencia. Entre estas NPs están óxido de zinc, dióxido de silicio, óxido de hierro, óxido de aluminio, óxido de cerio u óxido de titanio.
NPs de cerámica	Conocidas como sólidos no metálicos, pueden ser policristalinas, amorfas, porosas, densas o huecas. Son investigadas como foto catalíticas	
NPs biológicas	Son de origen natural, se sintetizan en el sistema biológico. Por ejemplo: magnetosomas, exomas, lipoproteínas o virus.	

Fuente: Gilani et al, 2020.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

1.2.6. Nanopartículas de plata

La plata ha sido aprovechada por sus propiedades bactericidas durante cientos de años; antiguamente se empleaba en conductos construidos de metal para preservar el agua y fue aplicada como propuesta médica (González et al., 2014). En los siglos XVII y XVIII se empleó el nitrato de plata en el tratamiento de úlceras. Más tarde, en 1960 se empleó en el tratamiento de las quemaduras. La introducción de los antibióticos determinó un descenso en su uso. Sin embargo, en los últimos años como consecuencia de la resistencia bacteriana y mejora tecnológica aplicada al uso de nanopartículas, la plata la podemos encontrar en productos médicos y de consumo dado a su versatilidad y menor toxicidad en comparación con otros bactericidas (Cardosa, 2016, p. 78).

Las nanopartículas de plata son objeto de estudio debido a sus propiedades únicas. Entre ellas la absorción que se da al interaccionar los electrones de la superficie y el campo electromagnético de las NPs, dando como resultado la resonancia de plasmón superficial (SPR) en rangos de longitudes de onda UV-visible. Esto ha creado un gran interés para un amplio rango de aplicaciones ópticas y fotónicas. Investigaciones recientes han mostrado que en su forma de NPs, son efectivas como agentes antimicrobianos contra bacterias y virus (Morales et al., 2009, p. 5).

Las nanopartículas de plata presentan un fuerte potencial bactericida dado a su mayor relación superficie-volumen, presentando en promedio un tamaño de 10-100 nm. Al ser partículas altamente reactivas se pueden integrar como principio activo a desinfectantes y medicamentos, ofreciendo ventajas específicas como el descenso de la toxicidad, la superación de la resistencia y la reducción del costo (en comparación con los antibióticos convencionales) (Torres, 2016).

1.2.6.1. Nanopartículas de plata como bactericida

Las AgNPs son de gran interés investigativo ya que tiene numerosas aplicaciones bactericidas y antifúngicas. Estas NPs se han implementado como recubrimiento bacterianos en implantes cardiovasculares, catéteres, componentes dentales en cuanto al área médica (Rafique et al., 2017, p. 89).

La actividad bactericida de las AgNPs se relaciona directamente con las características morfológicas y fisicoquímicas que influyen en el éxito de estos compuestos como agentes antimicrobianos. Estudios han demostrado una acción antibacteriana mayor de las AgNPs cuando las partículas son más pequeñas, mejora la permeabilidad de los iones de Ag^+ en las células microbianas facilitando la muerte celular (Ortiz, 2019, p. 76).

Las AgNPs pueden actuar como agente bactericida contra casi 650 especies, incluso contra bacterias que han desarrollado resistencia a antibióticos. Algunos estudios han demostrado que estas NPs presentan un buen rendimiento in vitro frente a bacterias Gram positivas como

Staphylococcus aureus, *Streptococcus pyogenes* y *Bacillus subtilis* y Gram negativas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhi* (Echeverry et al., 2020, p.9).

1.2.6.2. Mecanismo de acción de las nanopartículas de plata

Varias investigaciones desarrolladas en varios países han demostrado la actividad bactericida de las AgNPs contra bacterias, incluso, contra hongos y virus. Se ha reconocido un mecanismo de acción que cuenta con 4 pasos bien definidos (Ortiz G, 2019, p. 4) que son:

- **Adhesión de las AgNPs a la superficie de la pared celular y la membrana:** Esta acción se debe a la carga positiva presentada por las AgNPs, que facilita la unión a la membrana celular cargada negativamente y, en última instancia, altera la pared celular para aumentar la permeabilidad bacteriana (Fernández, 2017, p. 8).
- **Penetración de AgNPs dentro de la célula y núcleos:** En este caso las AgNPs ingresan a la célula microbiana donde pueden interactuar con estructuras celulares y biomoléculas, provocando efectos dañinos sobre los microorganismos. En particular, la interacción de las AgNPs con los ribosomas causa su desnaturalización, lo que conduce a la inhibición de la traducción y síntesis de proteínas (Rodríguez, 2017, p. 12).
- **Inducción de toxicidad celular y estrés oxidativo:** Un aumento del estrés oxidativo celular en las bacterias es indicativo de los efectos tóxicos inducidos por los iones metálicos (Ag^+). La fuerte actividad antibacteriana de las AgNPs se debe a su capacidad para generar especies reactivas de oxígeno (ERO) y radicales libres, provocando la muerte celular (Fernández, 2017).
- **Modulación de las vías de transducción de señales:** Se cree que el ciclo de fosforilación y la cascada de desfosforilación, es un mecanismo de señalización en los microorganismos para el crecimiento microbiano y la actividad celular. Lo cual provocaría la inhibición del crecimiento bacteriano (Ortiz, 2019, p. 124).

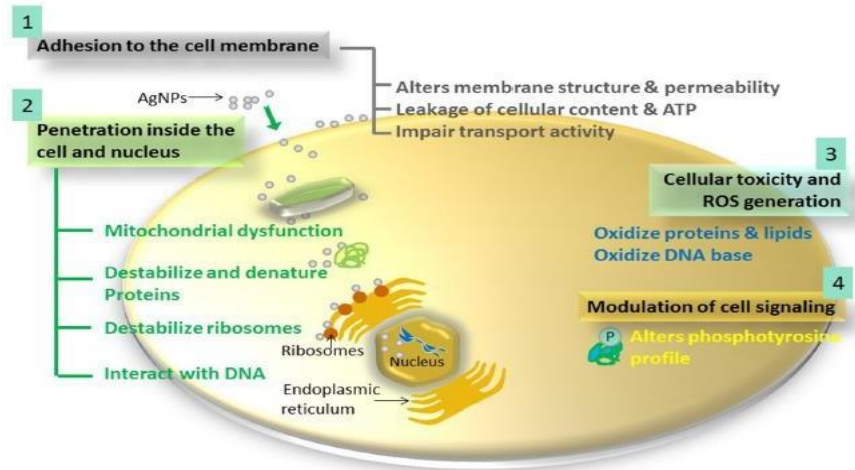


Figura 4-1. Mecanismo de acción de las AgNPs en las bacterias.

Fuente: Ortiz, 2019.

1.2.7. Síntesis de nanopartículas

Existen dos enfoques principales para la síntesis de nanopartículas: top-down y bottom-up. El primero, conocido como método descendente, reduce su tamaño de agregación hasta llegar a un tamaño nanométrico. El segundo, se denomina método ascendente donde las nanopartículas se forman a partir de sustancias más pequeñas aprovechando su estado de agregación y autoorganización (Pérez, 2014).

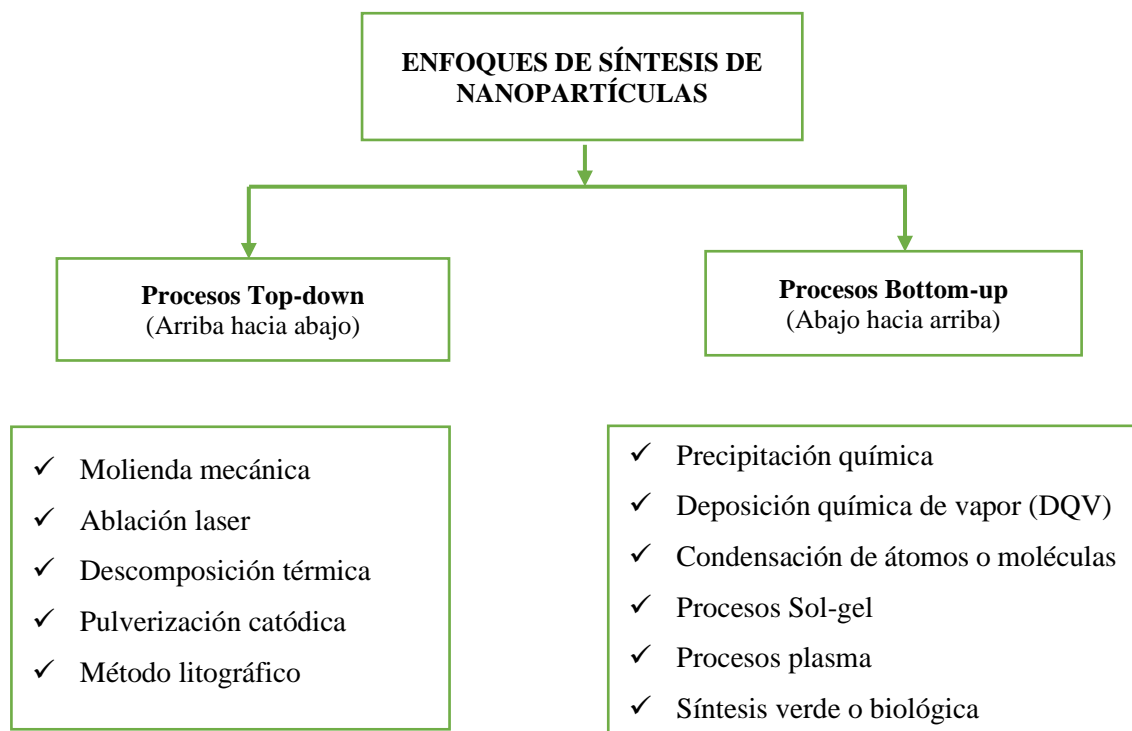


Figura 5-1. Métodos de nanopartículas.

Fuente: Pérez, 2014.

1.2.7.1. Síntesis verde

La síntesis verde está siendo utilizada en los últimos años debido a que tiene un menor impacto ambiental en comparación con algunos de los métodos físico químicos, pero también porque pueden usarse para producir grandes cantidades de NPs libres de contaminantes, con tamaño y morfología bien definida. Hay una gran fuente de recursos naturales para la síntesis de NPs como plantas, hongos, levaduras y bacterias (Torres, 2016, p. 20).

El proceso de la biosíntesis se basa en utilizar bacterias, plantas y hongos para degradar contaminantes orgánicos peligrosos y convertir contaminantes inorgánicos en compuestos con menor toxicidad para el medio ambiente. De la biorremediación se deriva la fitorremediación, en la cual las plantas realizan funciones naturales para extraer y recuperar metales de suelos previamente contaminados por los mismos. Las plantas no solo acumulan metales, sino que también son depositados como nanopartículas. La primera investigación con síntesis verde se dio en base a la utilización de alfalfa para producir nanopartículas de plata. El análisis de los tejidos reveló que las nanopartículas de plata, que medían entre 2 a 20 nm de diámetro, se habían acumulado en las raíces y brotes de las plantas (Gómez, 2018, p. 54).

En general esta síntesis se da en tres etapas:

- **Nucleación:** Donde un metal en estado catiónico por un proceso de reducción pasa a metal cero valente
- **Crecimiento:** Donde se determina el tamaño de la nanopartícula
- **Estabilización:** Es necesario un agente estabilizador dado que las NPs están en escala nano y tienden a aglomerarse hasta encontrar su estabilidad (Pérez, 2014, p. 20).

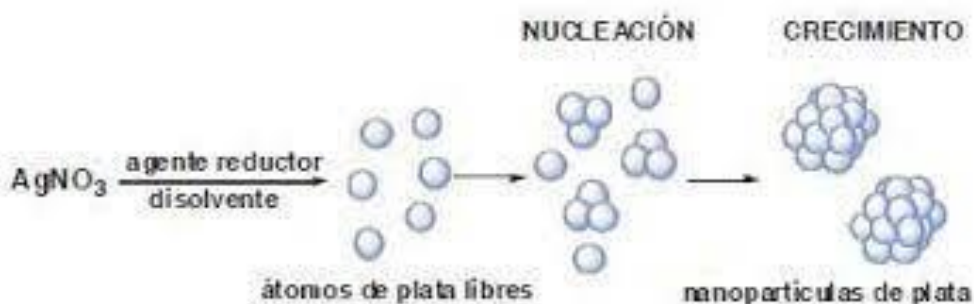


Figura 6-1. Proceso de síntesis de las nanopartículas de plata.

Fuente: Escobar, 2015.

1.2.7.2. Síntesis de nanopartículas con plantas

Desde 1900, se ha conocido la capacidad de los extractos de plantas para reducir los iones metálicos. Las plantas suelen ser la primera opción de los investigadores debido a su abundancia en biomasa, diversidad de especies y repertorios moleculares (Ljaz et al., 2020). Las plantas usan metabolitos primarios y secundarios como estrategia de supervivencia y respuestas fisiológicas a agentes estresantes. Estos metabolitos pueden actuar sinérgicamente en la reducción de iones metálicos y la estabilización de la superficie de nanopartículas metálicas (Pérez, 2014, p.27).

Los principales responsables de la reducción de los iones metálicos según la investigación realizada por (Meléndez, 2020) son metabolitos con propiedades antioxidantes como aminoácidos, taninos fenoles, flavonoides, enzimas, péptidos, etc.

1.2.8. Uvilla (*Physalis peruviana* L.)

Pertenece a la familia de las Solanáceas y al género *Physalis*, en el Ecuador se encuentra en estado silvestre y también en grandes cultivos.

Los principales metabolitos secundarios presentes en esta planta son flavonoides, alcaloides y ceramidas. Los extractos etanólicos de raíces, ramas, hojas y cáliz poseen actividad antimicrobiana in vitro usando la prueba de difusión en agar contra las bacterias; *Bacillus subtilis*, *Sarcinia lutea*, *Neisseria* sp., *Mycobacterium phlei*. El extracto etanólico de hojas posee además actividad contra *Escherichia coli* y *Candida albicans* (Pumacota, 2018).



Figura 7-1. Planta de Uvilla.

Fuente: Yanchapanta, Erika, 2021.

1.2.9. Propiedades de las nanopartículas de plata

1.2.9.1. Área superficial

Las nanopartículas de plata al encontrarse a nano escala presentan mayor área superficial específica comparada con la plata a granel, lo que les provee más sitios activos y energía superficial superior. Esto significa que las NPs son más sensibles al oxígeno y pueden recibir electrones fácilmente, esto presenta un aumento en la capacidad antimicrobiana (Escobar, 2015).

1.2.9.2. Propiedades ópticas

Los seres humanos estamos familiarizados con el color de los metales como el oro, la plata y el cobre, pero los colores de estos metales son muy diferentes cuando están a nano escala, así se puede visualizar en el Figura 8-1. Las nanopartículas en disolución coloidal o soportadas en sólidos absorben longitudes de onda visible, dando lugar a los colores que abarcan el espectro visible. Los colores y las propiedades de absorción se deben a la interacción entre los electrones de la superficie de las nanopartículas de plata y el campo electromagnético, de lo que resulta la resonancia de plasmón superficial (RPS) en el rango de longitud de onda UV-visible. El ancho y la posición de los picos de RPS se ven afectados por el tamaño, la forma y el estado de dispersión de las nanopartículas. Estas propiedades facilitan su uso en la detección y etiquetado biomolecular, también en el área de sensores electrónicos (Escobar, 2015).

nP. Oro (nm)		nP. Plata (nm)	
	- $\varnothing = 25$ - Esfera - Rojo	- $\varnothing = 100$ - Esfera - Amarillo	
	- $\varnothing = 50$ - Esfera - Verde	- $\varnothing = 40$ - Esfera - Azul	
	- $\varnothing = 100$ - Esfera - Naranja	- $\varnothing = 100$ - Prisma - Rojo	
Oro en masa	amarillo	Color plata	Plata en masa

nP: Nanopartículas

Figura 8-1. Colores de nano partículas de oro y plata en vidriera según su tamaño y forma.

Fuente: Cornejo, 2015.

1.2.10. Métodos de caracterización de las nanopartículas

Se pueden describir varios fundamentos de las técnicas fisicoquímicas utilizadas para caracterizar y estudiar las propiedades de los sistemas nanoestructurados entre los cuales tenemos:

- Espectroscopía de infrarrojos
- Microscopía de barrido electrónico
- Dispersión de luz dinámica
- Espectroscopía ultravioleta visible

1.2.10.1. Espectroscopía ultravioleta visible (UV-Vis)

Esta técnica analítica se basa en la absorción de radiación electromagnética por parte del analito en los espectros ultravioleta y visible, si la radiación en esta región incide en el compuesto, será absorbida por el compuesto y la molécula pasa en un estado excitado de mayor energía. Es una técnica utilizada para la caracterización de nanomateriales, es importante mencionar que la longitud de onda que está entre el rango visible y el ultravioleta, tiene una extensa gama de aplicación con la que se obtiene diversa información cualitativa y cuantitativa (René y Márquez, 2019, p. 28-29).

Las nanopartículas de plata presentan dispersiones coloidales de colores intensos cuyas frecuencias de resonancia de plasmón aparecen en el rango de longitud de onda UV-Visible, y que dependen del tamaño y la forma de las partículas, como podemos observar en la Figura 9-1 (Sánchez, 2017, p. 7).



Figura 9-1. Rangos de longitud de onda UV-Vis dependiendo el tamaño y la forma de las nanopartículas de plata.

Fuente: Sánchez, 2017.

1.2.10.2. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

El microscopio electrónico de barrido se utiliza para determinar la forma, tamaño y la composición elemental de nanopartículas mediante el detector de rayos X (EDS). Este instrumento puede identificar partículas con tamaños desde 10 nm en adelante, se obtienen imágenes en 3D debido a su gran profundidad de campo. Esta técnica aprovecha la emisión de electrones de una muestra para formar una imagen. Luego, la señal es vista en un monitor y los átomos de la partícula producen rayos X que también son detectados, mediante EDS se obtiene información cualitativa y semicuantitativa sobre la composición de una muestra (Cortez y Márquez, 2019).

1.3. Bases conceptuales

1.3.1. Nanotecnología

Es una disciplina que permite crear y manipular nuevos materiales mediante el control de la materia a escala nanométrica (Quintili, 2012, p. 125-126).

1.3.2. Nanopartículas

Las nanopartículas se refieren a todo material o elemento con al menos una de sus dimensiones en un rango de tamaño de 1 a 100 nanómetros. Por su dimensión, estos materiales pueden interactuar de forma directa con las células y tejidos humanos (European Commission, 2014).

1.3.3. Síntesis

La síntesis es aquella que se basa en un procedimiento llevado a cabo para obtener un compuesto a partir de otras sustancias más simples. Su objetivo es producir nuevas sustancias a partir de otras ya conocidas (Meléndez, 2020, p. 1).

1.3.4. Aguas residuales

Las aguas residuales también conocidas como aguas negras, son provenientes de fuentes domésticas industriales o institucionales arrastradas por la red de alcantarillado (Espigares, 2008, p. 2-3).

1.3.5. *Agente Bactericida*

Es aquel que provoca la muerte de las bacterias por alguna sustancia bactericida (Paredes, 2004).

1.3.6. *Bacterias*

Las bacterias son microorganismos procariotas que presentan un tamaño de unos pocos micrómetros y diversas formas, incluyendo esferas, barras, filamentos curvados y helicoidales (Punte, 2015, p. 30).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Área de estudio

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios de productos naturales, de investigación y microbiológico de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior de Chimborazo, ubicada en la Panamericana Sur km 1 1/2 del Cantón Riobamba, provincia de Chimborazo.



Figura 1-2. Localización de la Facultad de Ciencias-ESPOCH.

Fuente: Google Earth, 2021.

2.2. Tipo y diseño de la investigación

2.2.1. *Por el método de investigación*

El proyecto de investigación se desarrolló dentro de la modalidad de investigación cuantitativa ya que las variables a evaluar pueden ser medibles, como son la cantidad de AgNPs obtenidas mediante una balanza analítica, la longitud de onda que presenta a diferentes concentraciones en el espectrofotómetro de Uv- Vis, además de la actividad como agente bactericida.

2.2.2. *Según el objetivo*

La investigación es de tipo aplicada porque se puso en práctica los conocimientos adquiridos en la formación académica, con un fin aplicativo, desarrollando una síntesis para obtener nanopartículas de plata como bactericida en aguas residuales de tipo doméstico.

2.2.3. Según el nivel de profundización en el objeto de estudio

Es de tipo explicativo, donde se ampliará el conocimiento sobre las AgNPs como agente bactericida, principalmente en aguas residuales de tipo doméstico, usando una síntesis verde eco amigable.

2.2.4. Según la manipulación de variables

Es una investigación de tipo experimental, dado que se manipulan variables en condiciones controladas para sustentar que las AgNPs actúen como agentes bactericidas en aguas residuales de tipo doméstico.

2.2.5. Por la condición de estudio

La investigación se llevó a nivel de laboratorio, puesto que se controló las variables de estudio como la concentración en la síntesis de nanopartículas y para comprobar su efectividad como agente bactericida se realizaron pruebas in vitro con muestras de aguas residuales.

2.3. Población de estudio

En la investigación, se consideró a la población bacteriana presente en las aguas residuales de tipo doméstico provenientes de los tanques de captación de la comunidad San Vicente de Lacas.

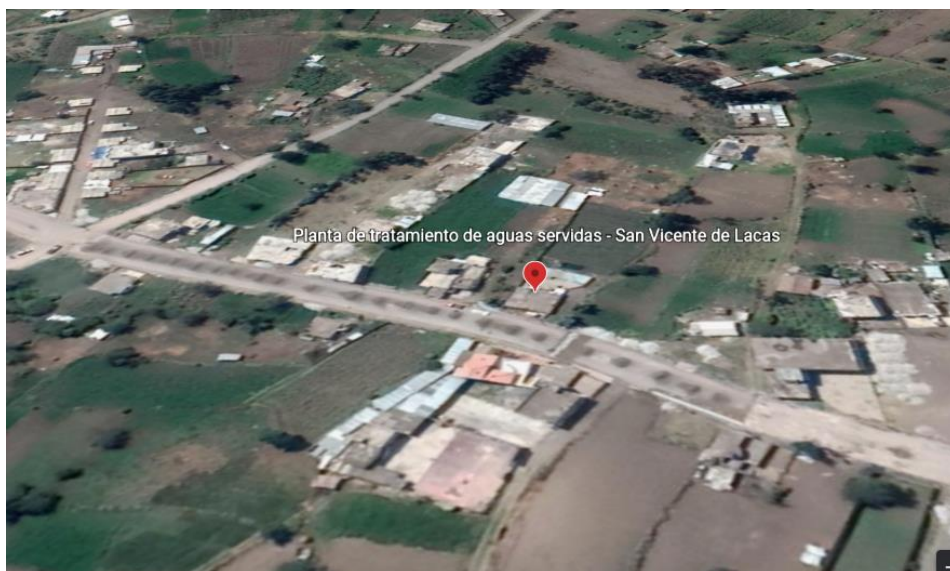


Figura 2-2. Localización de la población de estudio.

Fuente: Google Earth, 2021.

2.4. Tamaño de la muestra

El tamaño fue el presente en 200 ml de la muestra de las aguas residuales recogida por duplicado en dos fechas diferentes.

2.5. Diseño experimental

Existen varios diseños experimentales para estudiar la gran variedad de problemas o situaciones que ocurren en una investigación, dependerá de los factores y niveles a estudiar. Por esto, en la presenta investigación se aplicará el diseño factorial A x B o 3², dado que se tiene dos factores; cada uno con tres niveles detallados a continuación en la Tabla 1. El diseño factorial ayudará a identificar qué factores influyen directamente en el crecimiento bacteriano.

Tabla 1-2: Factores y niveles del efecto bactericida de las nanopartículas de plata

Factores				
Factor A: concentración de las AgNPs	Niveles	Factor B: Tiempo de exposición a la luz solar		
		b0 = 1h	b1 = 2h	b2 = 3h
	a0 = 0.5M	3 réplicas	3 réplicas	3 réplicas
	a1 = 1M	3 réplicas	3 réplicas	3 réplicas
	A2 = 1.5M	3 réplicas	3 réplicas	3 réplicas

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

2.5.1. Modelo estadístico e hipótesis de interés

$$Y_{ijk} = \mu + \gamma_i + \delta_j + (\gamma\delta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} Y_{ijk}$$

Y_{ijk} = La respuesta para la K-ésima u.e. del nivel i de A y j de B

μ = es el efecto medio global.

γ_i = es el efecto del factor A en su nivel i,

δ_j = representa el efecto del factor B en su nivel j

$(\gamma\delta)_{ij}$ = es el efecto de interacción de ambos en los niveles ij

ε_{ijk} = el término de error

n es el número de repeticiones de cada tratamiento

- Las hipótesis de interés para los tres efectos en el modelo anterior son:

Nanopartículas de plata como agente bactericida

H_0 : Efecto de la concentración de nanopartículas de plata (A)=0

HA: Efecto de la concentración de nanopartículas de plata (A)≠0

H_0 : Efecto del tiempo de exposición a la luz solar (B)=0

HA : Efecto del tiempo de exposición a la luz solar (B)≠0

H_0 : Concentración de nanopartículas de plata x tiempo de exposición a la luz solar =0

HA: Concentración de nanopartículas de plata x tiempo de exposición a la luz solar ≠0

2.5.2. ANOVA del diseño factorial 3^2

- Suma de cuadrados

Ecuación 2

$$SC_A = \sum_{i=1}^3 \frac{Y_{i..}^2}{3n} - \frac{Y_{...}^2}{n3^2}$$
$$SC_B = \sum_{j=1}^3 \frac{Y_{.j.}^2}{3n} - \frac{Y_{...}^2}{n3^2}$$
$$SC_{AB} = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \frac{Y_{ij.}^2}{n} - \frac{Y_{...}^2}{n3^2} - SC_A - SC_B$$

- La suma de cuadrados totales se obtiene con:

Ecuación 3

$$SC_T = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \sum_{k=1}^n Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{n3^2}$$

- El error aleatorio se calcula:

Ecuación 4

$$SC_E = SC_T - SC_{AB} - SC_A - SC_B$$

Los grados de libertad asociados con cada suma de cuadrados de esta última relación son, respectivamente:

Ecuación 5

$$3^2(n-1) = (n3^2 - 1) - (3-1)(3-1) - (3-1) - (3-1)$$

Tabla 2-2: Análisis de varianza (ANOVA) para el diseño factorial 3^2

FV	SC	GL	CM	F ₀	Valor-p
A	SC _A	2	CM _A	CM _A / CM _E	P(F > F ₀)
B	SC _B	2	CM _B	CM _B / CM _E	P(F > F ₀)
AB	SC _{AB}	2	CM _{AB}	CM _{AB} / CM _E	P(F > F ₀)
Error	SC _E	3 ² (n-1)	CM _E		
Total	SC _T	n3 ^k -1			

FV: Fuente de variabilidad; SC: Suma de cuadrados; GL: Grados de libertad; CM: Cuadrados medios; F₀: Estadístico de prueba; Valor-p: Significancia observada; A y B: Factores; K: número de tratamientos; n: Niveles.

Fuente: Gutiérrez y de la Vara, 2008.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

2.6. Parte experimental

2.6.1. Materiales, reactivos y equipos

2.6.1.1. Materiales

- Balones de aforo
- Erlenmeyer
- Vasos de precipitación
- Pipetas graduadas
- Pro pipeteadores
- Kitasato
- Embudo Büchner
- Probetas
- Botellas ámbar
- Tubos de centrifugas
- Cajas Petri
- Espátulas
- Puntas de micropipetas

2.6.1.2. Reactivos y sustancias

- Etanol

- Nitrato de plata
- Agar nutritivo
- Extracto de uvilla
- Agua destilada

2.6.1.3. Equipos

- Centrifuga
- Rota vapor
- Agitador magnético
- Espectrofotómetro Uv-vis
- Microscopio electrónico de barrido
- Balanza analítica
- Estufa
- Auto clave

2.7. Método

2.7.1. Síntesis de nanopartículas de plata

La metodología empleada para obtener nanopartículas de plata se basa en la síntesis verde mediante el uso de extractos de plantas, esta técnica se encuentra dentro de la clasificación de procesos bottom up. Consiste básicamente en utilizar dichos extractos como agente reductor y agente estabilizante, dando como resultado una reducción fitoquímica de la sal del metal produciendo así las nanopartículas de plata. Para esto se realizó una revisión bibliográfica sobre la capacidad reductora de *Physalis peruviana L* (Pumacota, 2018).

La síntesis de nanopartículas de plata se dividió en dos partes: la primera, extracción del extracto acuoso de *Physalis Peruviana L.* y la segunda, obtención de las nanopartículas.

2.7.1.1. Obtención del extracto acuoso de *Physalis Peruviana L.*(uvilla)

- Selección y lavado de las hojas de uvilla: Se recolectaron las mejores hojas en fundas plásticas de cierre hermético. Para eliminar impurezas e insectos, se lavó con agua destilada.
- Secado: Se realizó en una bandeja de secado a 40°C por 24 horas, y posteriormente se molieron hasta obtener un polvo fino.

- Solución hidroalcohólica: Se preparó 200 ml de una solución hidroalcohólica en proporciones 1:1.
- Extracción de componentes reductores: A una botella ámbar con la solución hidroalcohólica se le agregó 20 gr de las hojas pulverizadas, se colocó en el sonicador por 30 min, transcurrido el tiempo se filtró al vacío.
- El extracto hidroalcohólico se lleva al rotavapor hasta recuperar el etanol, de esta manera se obtuvo el extracto acuoso.
- Al extracto acuoso se le realizó un filtrado simple con un embudo.
- Se llevó a refrigeración a 4°C hasta su posterior uso.

2.7.1.2. Síntesis verde de nanopartículas de plata

- Solución de nitrato de plata: Se realizó los cálculos respectivos para preparar soluciones a 0.5 M, 1 M y 1.5 M en 100 ml. Las soluciones preparadas se conservaron en botellas ámbar para evitar la foto reducción del nitrato de plata.
- Síntesis: Se colocó 50 ml de solución de nitrato de plata en un Erlenmeyer, posteriormente se llevó a un agitador magnético con calentamiento hasta llegar a 60°C, una vez alcanzado la temperatura se agregó 10 ml del extracto de *Physalis Peruviana L.* previamente preparado, se mantuvo la temperatura y agitación constante de 700 rpm por 30 min. Finalmente se dejó enfriar.
- Finalizada la síntesis, se centrifugó 1500 rpm durante 1 hora. Posteriormente, se lavó el precipitado 3 veces con etanol al 96% con ayuda de una centrifuga al mismo rpm durante 10 min, evitando la pérdida del precipitado.
- Se secó el precipitado en los tubos falcón (para evitar la pérdida del precipitado) a 50 °C por 12 horas y se pesó las nanopartículas sintetizadas.

2.7.2. Caracterización de nanopartículas de plata

2.7.2.1. Espectroscopia UV- vis

- Las nanopartículas de plata perfectamente lavadas y secadas se molieron en un mortero para disminuir su tamaño hasta obtener un polvo fino
- Se tomó 0,002 gr de muestra y se agregaron 20 ml de etanol, se llevó al sonicador para que sus agregados se dispersen.
- Para realizar la medición, se colocó la muestra diluida en la celda de cuarzo y se llevó al espectrofotómetro ultravioleta – visible para efectuar la medición.

2.7.2.2. *Microscopia electrónica de barrido (SEM)*

- Una vez lavadas y molidas correctamente las nanopartículas de plata se tomó una pequeña cantidad con la cinta de carbono y se depositó en el portamuestras del microscopio electrónico de barrido, se observó los resultados en la pantalla.

2.7.3. *Evaluación de la actividad bactericida de las nanopartículas de plata*

La actividad de las nanopartículas de plata se evaluó en las bacterias presentes en las aguas residuales de tipo doméstico de los tanques de recepción de San Vicente de Lacas, mediante un método in vitro.

2.7.3.1. *Preparación del medio cultivo (Agar Nutritivo)*

- Se pesó la cantidad del agar nutritivo óptimo y se rehidrató con agua destilada en un matraz Erlenmeyer.
- Se colocó en el autoclave el matraz tapado previamente durante 30 min a 121°C.
- Transcurrido el tiempo se retiró del autoclave hasta que adquiriera la temperatura adecuada, aproximadamente 40°C.
- Se distribuyó el medio de cultivo en las cajas Petri, previamente esterilizadas dentro de una campana de flujo laminar y se esperó que se solidifique para su posterior sembrado.

2.7.3.2. *Siembra con espátula de Drigalsky*

- Se realizaron diluciones hasta 10^{-6} de las muestras de aguas residuales (inóculo) previamente recolectadas.
- Prueba control: Se tomó 100 µl del inóculo y se depositó en la superficie del agar solidificado, con ayuda de la espátula de Drigalsky se diseminó por toda la superficie de la caja Petri.
- Se etiquetó 3 tubos de ensayo con 0.5 M, 1 M y 1.5 M a los cuales se agregaron 0,4 gr de AgNPs sintetizadas a dichas concentraciones respectivamente, a cada uno se le adicionó 4 ml del inóculo y se expuso por 1 hora a la luz solar.
- Transcurrido el tiempo, se tomó una alícuota de 100 µl de uno de los tubos de ensayo, se procedió a su siembra y se homogenizó en toda la superficie del agar con la espátula de Drigalsky, se repitió el procedimiento con el resto de los tubos por triplicado. Teniendo 9 cajas Petri sembradas.

- Los tubos de ensayo anteriores se expusieron por 1 hora más a la luz solar, se realizó el procedimiento anterior, por último, se colocó otra hora más a la luz solar teniendo al final 3 horas de exposición a la luz. Repitiendo así el anterior procedimiento.
- Incubar las cajas Petri a 37°C por 48 horas hasta observar el crecimiento de las bacterias.
- Pasado las 48 horas se observó claramente el crecimiento de las bacterias.
- Actividad bactericida de las AgNPs: se recuenta las células viables formadas en cada caja Petri.
- Para calcular el número de unidades formadoras de colonia por mililitro de muestra, se procedió a emplear la siguiente fórmula:

$$\text{UFC/ml} = \text{Promedio del \# de colonias} \times \text{factor de dilución} \times \text{factores de alícuota}$$

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

3.1. Resultados de síntesis de nanopartículas de plata

3.1.1. Obtención del extracto acuoso de *Physalis Peruviana L.* (uvilla)

El extracto acuoso de *Physalis Peruviana L.* se obtuvo después de que se realizó una extracción sólida- líquida, como primer producto se tuvo un extracto hidroalcohólico. Se utilizó una solución hidroalcohólica principalmente para que la sustancia pueda durar por varios días. Para obtener el extracto acuoso, se procedió a destilar el etanol en rotavapor. Figura 1-3.

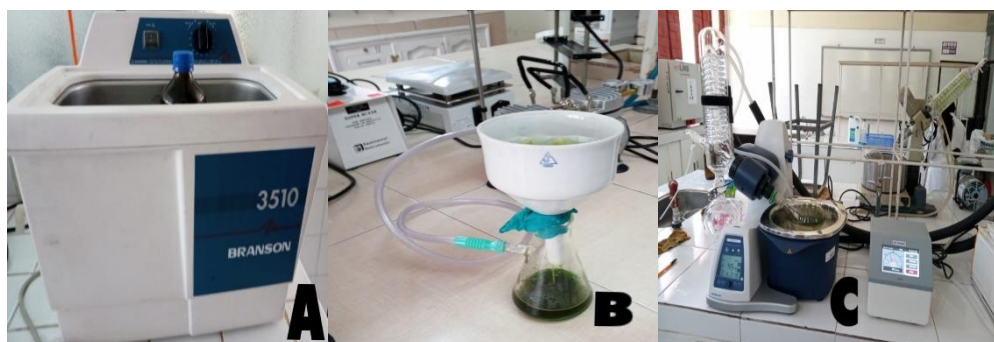


Figura 1-3. Obtención del extracto acuoso de *Physalis Peruviana L.* (uvilla). (A) sonicado de las hojas; (B) Filtrado al vacío; (C) Rota vapor.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

En la figura 1-3, en el apartado (A) se observa la extracción sólida - líquida que se da con ayuda del sonicador que mediante vibraciones llega a romper las paredes celulares, obteniendo así los principios activos de las hojas de uvilla.

Una vez obtenido el extracto, se procedió a realizar un ensayo con cloruro férrico (FeCl_3) para identificar la presencia de compuestos fenólicos, importante en la síntesis de nanopartículas de plata. Este análisis es cualitativo, el FeCl_3 al reaccionar con un fenol da como resultado un complejo con el Fe^{+3} de colores intensos como violeta, verde y negro según la cantidad de compuestos fenólicos presentes, de acuerdo con Kuklinski (2003). En la Figura 2-3, se observa un cambio de color verde oscuro dando positivo a la presencia de fenoles en el extracto.

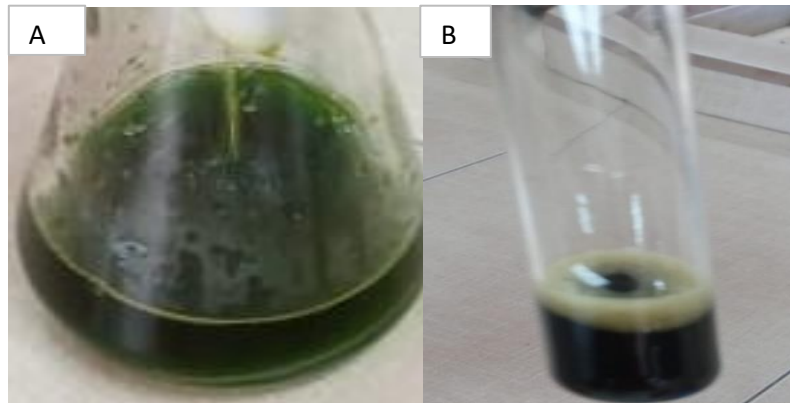


Figura 2-3. Presencia de fenoles: cambio de color de verde claro a negro. (A) extracto puro; (B) extracto con FeCl_3 .

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

3.1.2. Síntesis verde de las nanopartículas de plata

Las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de las hojas de uvilla se analizaron en primera instancia cualitativamente, observando un cambio de color en la solución de verde claro a marrón oscuro como se observa en la Figura 3-3. Afirmando de esta manera la formación de suspensiones coloidales de nanopartículas de plata, tal como se evidenció en las investigaciones realizadas por Jalab et al (2021), Rodríguez et al (2021) y Escobar (2015).

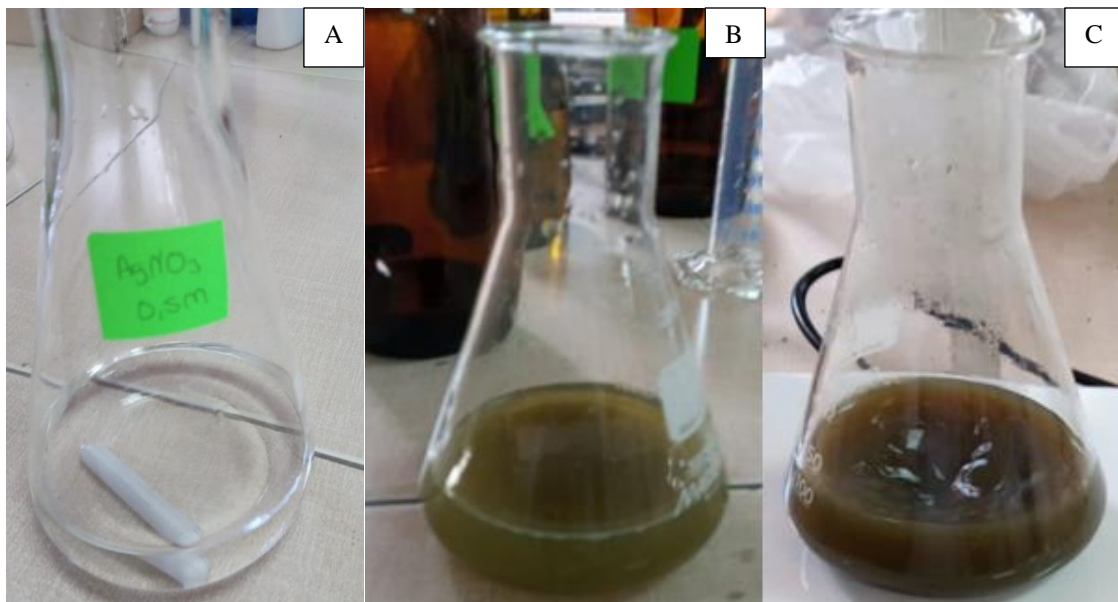
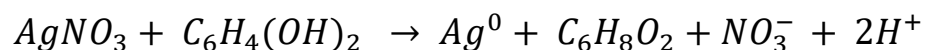


Figura 3-3. Síntesis de nanopartículas de plata. (A) solución de nitrato de plata, (B) nitrato de plata con extracto de uvilla (C) nanopartículas de plata.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

La síntesis de las nanopartículas de plata se da por una reacción de óxido-reducción, a continuación, se presenta la posible reacción (Ecuación 1-3). No se puede saber con certeza como se produce la reacción dado que el extracto de uvilla presenta varios metabolitos secundarios.



Ecuación 1-3. Posible reacción de síntesis de nanopartículas de plata.

La reacción de oxido – reducción para obtener las AgNPs (Ecuación 1-3) se da por los potenciales de reducción, según el estudio realizado por Pumacota (2018) el extracto de uvilla registra un potencial bajo de 43 mV actuado como sustancia reductora, mientras que la plata presenta un potencial alto de 0.80 V siendo la sustancia oxidante. Para metales como la plata, el nitrato de plata en solución se ioniza en iones Ag^+ y iones NO_3^- , las moléculas reductoras de *Physalis Peruviana* producen la bio-reducción de los iones Ag^+ a Ag^0 mediante la donación de electrones que producen a su vez la oxidación de las biomoléculas reductoras, produciendo el fenómeno de nucleación donde átomos de plata comienzan a agregarse formando núcleos de nanopartículas de plata llegando al fin de la reacción. En la tabla 1-3 se presenta el rendimiento experimental de AgNPs.

Tabla 1-3: Rendimiento experimental en la síntesis de nanopartículas de plata

Concentración	Masa obtenida
0.5 M	0.6783 gr
0.5 M	0.5190 gr
1 M	0.7707 gr
1 M	0.7647 gr
1.5 M	0.8182 gr
1.5 M	0.8020 gr

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

3.2. Resultados de la caracterización de las nanopartículas

3.2.1. Espectroscopia Uv-vis

Una de las técnicas para identificar la presencia de AgNPs es la espectroscopía de Uv-vis, que se emplea como primer análisis para saber que se han formado nanopartículas. Para esto, se realizó un barrido de la muestra a 10 ppm con rangos de longitudes de onda (λ) 350 -700 nm, las nanopartículas de plata en solución pueden presentar picos característicos de 380 – 480 nm, dichos picos se pueden desplazar hacia la derecha o izquierda dependiendo del tamaño y forma de las AgNPs. Si los picos se desplazan hacia la derecha, se estima que el tamaño de las NPs aumenta, según Castro (2018). En la presente investigación se obtuvo como resultado picos de 412 – 415 nm que nos da una idea del tamaño de las nanopartículas de 15 – 35 nm que posteriormente se corroboró con el análisis realizado en el microscopio electrónico de barrido (Figura 9-3). Además, se puede observar que las NPs sintetizadas a una mayor concentración presentan menor longitud de onda, aunque la diferencia es mínima. Tabla 2-3.

Tabla 2-3: Resultados del análisis por espectroscopia UV-vis y tamaños estimas según la longitud de onda.

[] de las AgNPs	Longitud de onda (nm)	Tamaño estimado
0.5 M	414.75 nm	15-35 nm
0.5 M	414.76 nm	
1 M	414.73 nm	
1 M	412.72 nm	
1.5 M	412.61 nm	
1.5 M	412.608 nm	

[]: Concentración.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

Los valores de longitud máxima se encuentran dentro de los rangos establecidos de la Resonancia de Plasmón Superficial característica para nanopartículas de plata, estos resultados concuerdan con lo estudiado por Rodríguez et al (2021), donde obtuvieron AgNPs mediante un extracto de cártamo. En los Gráficos 1-3, 2-3 y 3-3 se pueden diferenciar claramente los picos formados al realizar el análisis.

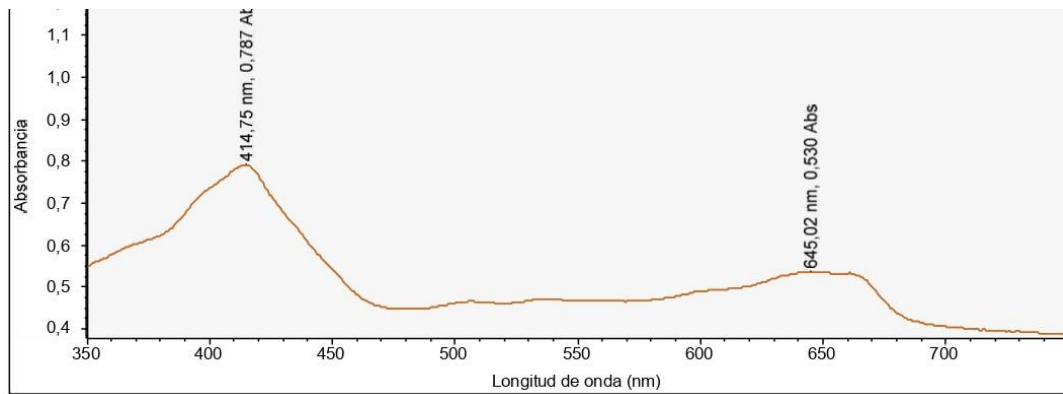


Gráfico 1-3. Banda UV-visible de plasmón de nanopartículas de plata sintetizadas a 0,5 M.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

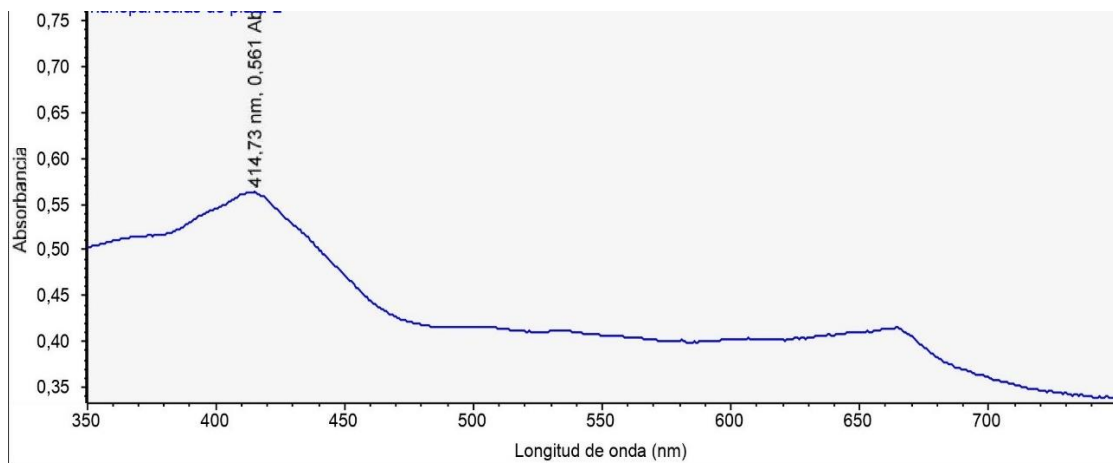


Gráfico 2-3. Banda UV-visible de plasmón de nanopartículas de plata sintetizadas a 1 M.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

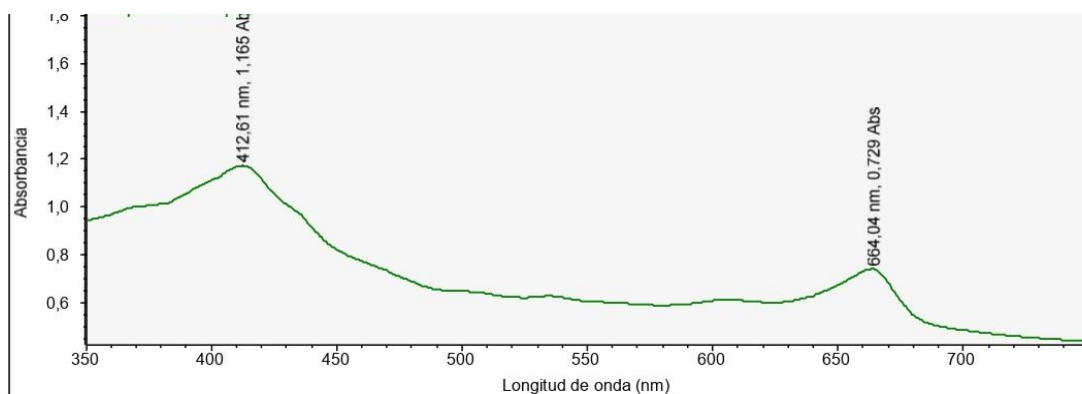


Gráfico 3-3. Banda UV-visible de plasmón de nanopartículas de plata sintetizadas a 1.5 M.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

3.2.2. *Microscopia electrónica de barrido*

La morfología y el tamaño de las AgNPs se identificaron mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido. Al lado izquierdo de las siguientes figuras (Figura 4-3, 5-3, y 6-3), a una resolución de 121X, se puede observar que las nanopartículas presentan formas esféricas e irregulares, además que estas no se encuentran aglomeradas. Por otro lado, en la parte derecha se presenta el tamaño de las nanopartículas a una resolución de 5000X donde se obtuvieron los siguientes datos:

Las nanopartículas de plata sintetizadas a 0.5 M tienen un tamaño promedio de 17-40 nm.

Las nanopartículas de plata sintetizadas a 1 M tienen un tamaño promedio de 11-30 nm.

Las nanopartículas de plata sintetizadas a 1.5 M tienen un tamaño promedio de 7-33 nm.

Estos datos sustentaron lo analizado por espectroscopia UV-vis, donde se esperaba tener nanopartículas de 10-35 nm.

Nanopartículas de Ag sintetizadas a 0.5 M

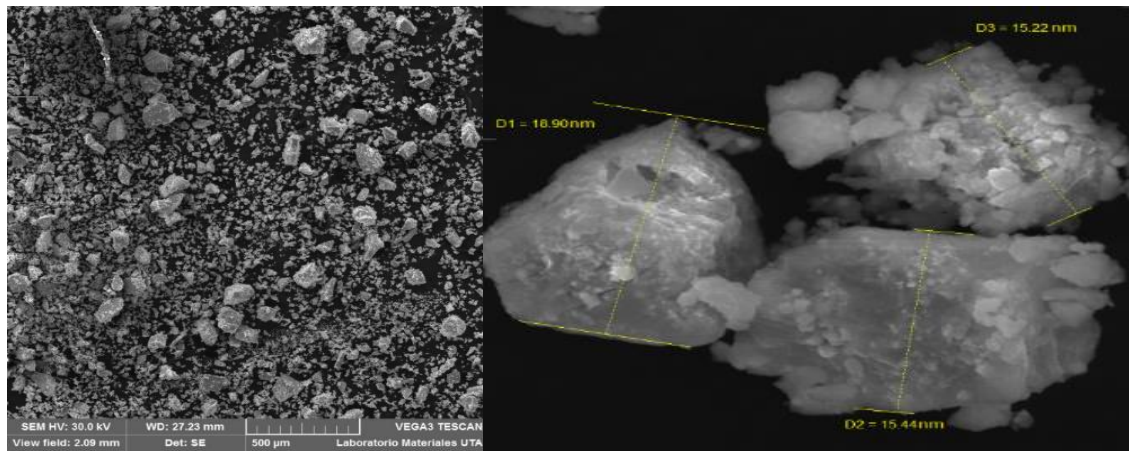


Figura 4-3. Microscopía electrónica de barrido de nanopartículas de plata a 121X(izq.) y 5000X (der.).

Nanopartículas de Ag sintetizadas a 1 M

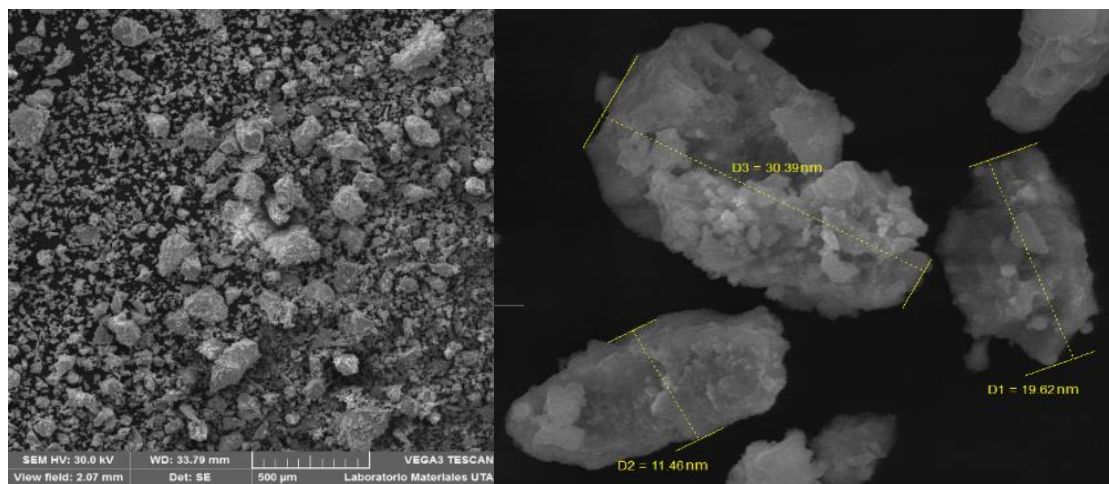


Figura 5-3. Microscopia electrónica de barrido de nanopartículas de plata 121X(izq.) y 5000X (der.).

Nanopartículas de Ag sintetizadas a 1.5M

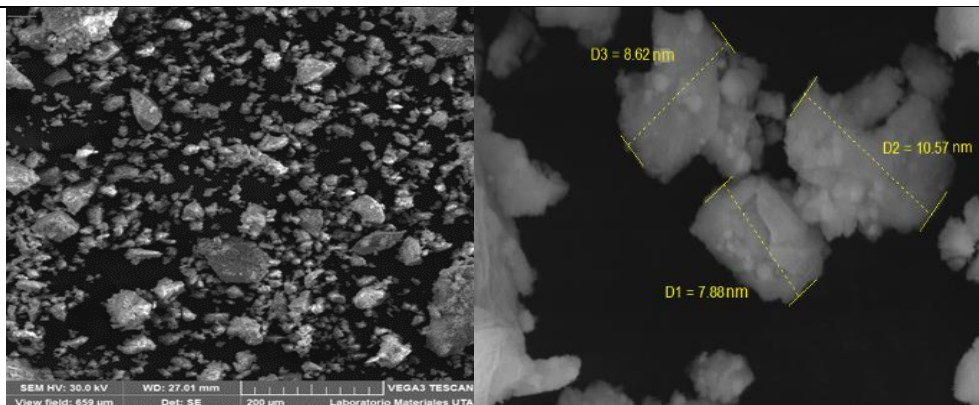


Figura 6-3. Microscopia electrónica de barrido de nanopartículas de plata 121X(izq.) y 5000X (der.).

3.3.3. Espectroscopia de Rayos X de energía dispersa (EDS)

En el microscopio electrónico de barrido también se realizó el análisis elemental de las AgNPs sintetizadas, por espectroscopia de Rayos X de energía dispersa. Para este fin, de cada muestra se seleccionó un punto correspondiente de las nanopartículas. Los gráficos (Gráficos 4-3, 5-3, 6-3) muestran el espectro EDS donde se verificó cualitativamente la presencia de plata, además se comprobó la presencia de este metal como componente mayoritario. Con un porcentaje de 44.96 % para las AgNPs sintetizadas a 0.5 M. Las AgNPs sintetizadas a 1 M presentaron un porcentaje de 41.60% de plata. Y las AgNPs sintetizadas a 1,5 reportaron un 40,89 % de plata. Según los valores reportados en la Tabla 3-3. Además de oxígeno y nitrógenos provenientes del nitrato de plata empleado como sal precursora en la biosíntesis, el carbono corresponde a los adhesivos donde se coloca la muestra para el análisis en el MEB.

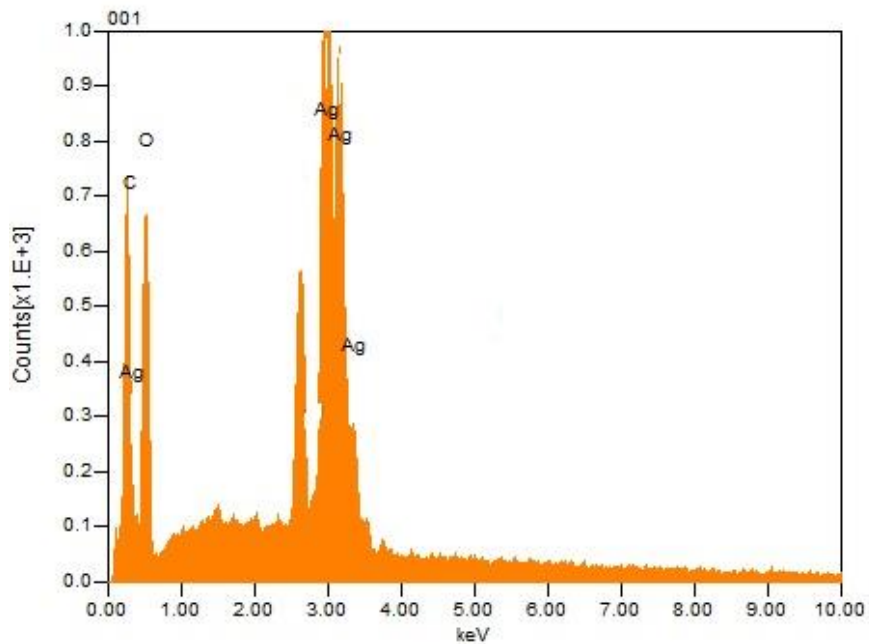


Gráfico 4-3. Espectroscopia de Rayos X de energía dispersa de las de plata nanopartículas sintetizadas a 0.5 M.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

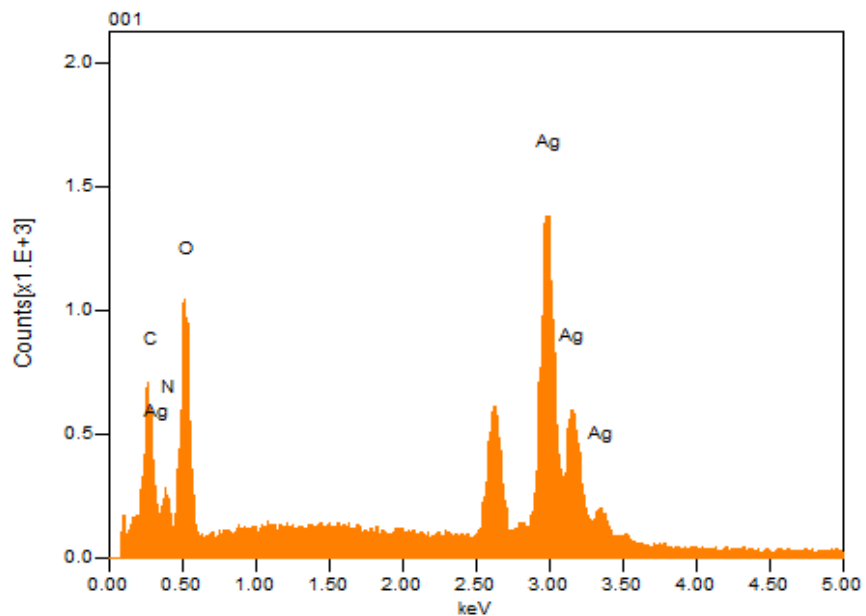


Gráfico 5-3. Espectroscopia de Rayos X de energía dispersa de las nanopartículas de plata sintetizadas a 1 M.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

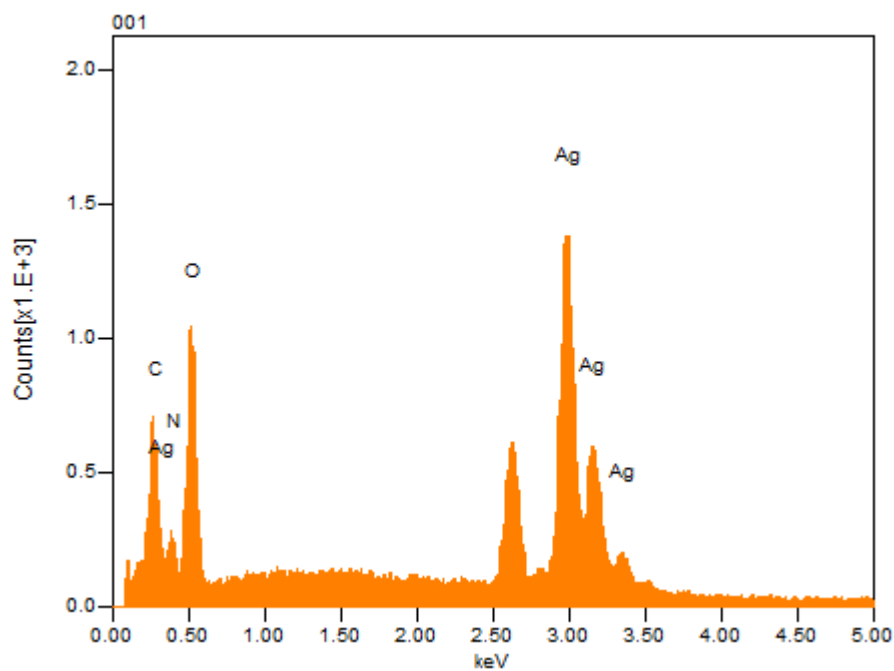


Gráfico 6-3. Espectroscopia de Rayos X de energía dispersa de las nanopartículas de plata sintetizadas a 1.5 M.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

Tabla 3-3: Análisis elemental de las nanopartículas de plata sintetizadas a 0.5, 1 y 1.5 M.

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

AgNPs: Nanopartículas de plata.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

3.3. Resultados de la actividad bactericida de las nanopartículas de plata.

Para probar la actividad bactericida de las nanopartículas de plata, se utilizó muestras pre filtradas de aguas residuales de la comunidad de San Vicente de Lacas- Riobamba, como se sabe estas aguas poseen un sin número de bacterias por lo que se trabajó con agar nutritivo, que permite el crecimiento de todo tipo de bacterias.

Para comenzar con el análisis, se realizaron disoluciones hasta 10^{-6} ml dado que a mayor concentración el crecimiento de las bacterias asciende y no se realizaría correctamente el recuento de las células viables. Figura 7-3.

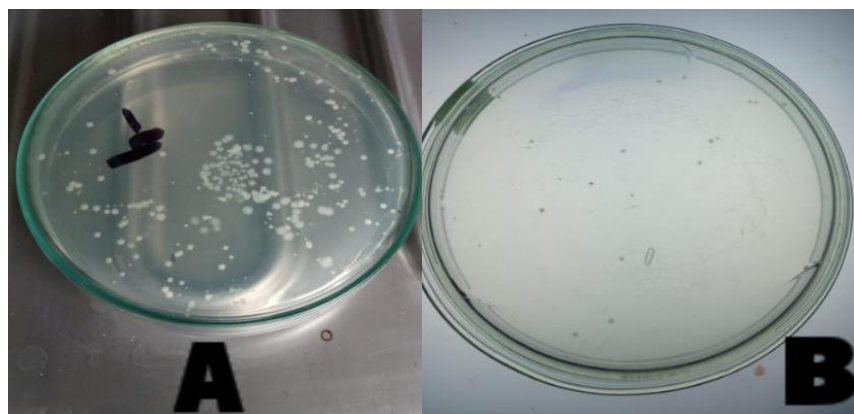


Figura 7-3. (A) Crecimiento de bacterias a 10^{-4} (B) Crecimiento de bacterias a 10^{-6} .

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

El inóculo (disolución 10^{-6}) se trató con nanopartículas de plata expuestas a la luz solar para evaluar si actúan como agente bactericida, en la Tabla 4-3 se presenta el promedio de las colonias formadas en cada tratamiento como se observa en la Tabla 1-2, estos tratamientos

fueron estipulados por las variables de estudio (concentración de AgNPs y tiempo de exposición a la luz solar) teniendo así un diseño factorial 3^2 con un total de 9 tratamientos.

Tabla 4-3: Promedio de colonias formadas en función de los tratamientos empleados

Tratamientos	Colonias formadas	Promedio de Colonias formadas
0	26	26
1	18, 20, 15	17,66
2	12, 13,9	11,33
3	10, 10, 11	10,33
4	5, 6, 7	6
5	5, 7, 5	5,66
6	4, 3,3	3,33
7	2, 3, 3	2,66
8	1, 0, 1	0,66
9	0, 0,0	0

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

En la Tabla 4-3 se tiene los 9 tratamientos empleados a las muestras de aguas residuales donde:

1= AgNPs sintetizadas a 0,5 M y 1 hora de exposición a la luz solar

2 = AgNPs sintetizadas a 0,5 M y 2 hora de exposición a la luz solar

3 = AgNPs sintetizadas a 0,5 M y 3 hora de exposición a la luz solar

4 = AgNPs sintetizadas a 1 M y 1 hora de exposición a la luz solar

5 = AgNPs sintetizadas a 1 M y 2 hora de exposición a la luz solar

6 = AgNPs sintetizadas a 1 M y 3 hora de exposición a la luz solar

7 = AgNPs sintetizadas a 1,5 M y 1 hora de exposición a la luz solar

8 = AgNPs sintetizadas a 1,5 M y 2 hora de exposición a la luz solar

9= AgNPs sintetizadas a 1,5 M y 3 hora de exposición a la luz solar

Cada uno de estos tratamientos se realizó por triplicado.

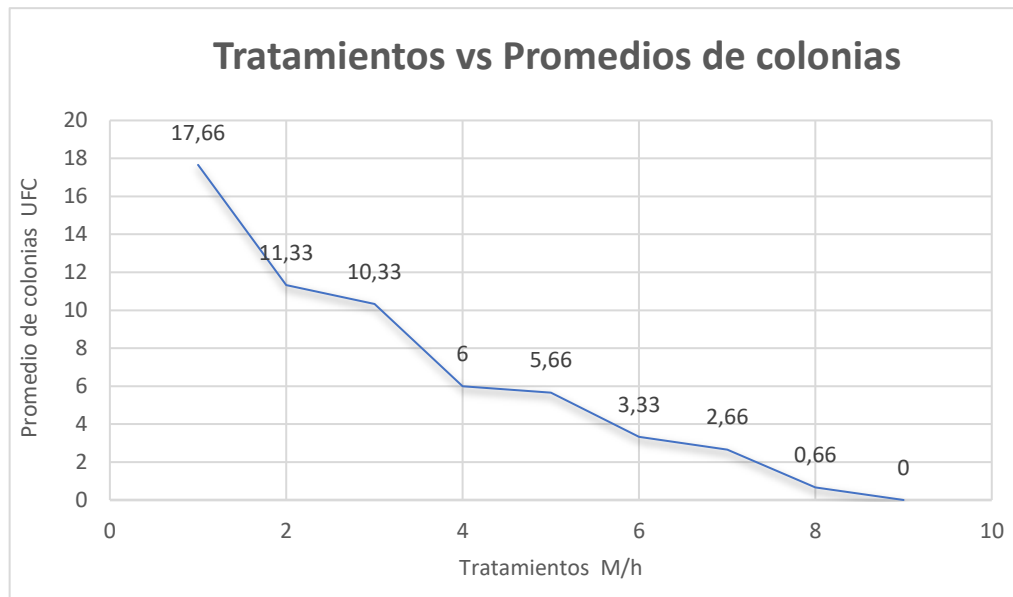


Gráfico 7-3. Resultados del experimento tratamiento vs promedio de colonias.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

En el gráfico 7-3, se puede observar como el crecimiento de las colonias bacterianas desciende a medida del avance de los tratamientos.

3.3.1. Recuento de poblaciones bacterianas presentes en muestras de aguas residuales domésticas

El recuento se realizó mediante la técnica de células viables en placas, dado que se contaron las colonias formadas visibles al ojo humano. Los resultados se obtienen en UFC/ml Tabla 5-3.

Tabla 5-3: Recuento de células viables en las muestras de aguas residuales domésticas.

Tratamientos	#de colonias formadas	UFC/ml
0	26	26×10^7
1	18	18×10^7
2	20	20×10^7
3	15	15×10^7
4	12	12×10^7
5	13	13×10^7
6	9	9×10^7
7	10	10×10^7
8	10	10×10^7
9	11	11×10^7
10	5	5×10^7
11	6	6×10^7
12	7	7×10^7

13	5	5×10^7
14	7	7×10^7
15	5	5×10^7
16	4	4×10^7
17	3	3×10^7
18	3	3×10^7
19	2	2×10^7
20	3	3×10^7
21	3	3×10^7
22	1	1×10^7
23	0	0
24	1	1×10^7
25	0	0
26	0	0
27	0	0

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

Estos resultados mostraron que las nanopartículas de plata sintetizadas a partir de un extracto de *Physalis peruviana* actúan como buen agente bactericida contra las bacterias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Pseudomonas oryzae*, *Edwardsiella tarda* y *Shigella flexneri*, bacterias que fueron encontradas en un estudio de caracterización microbiológica de estas aguas realizado por Guashpa y Ochoa (2021). Aunque no existen estudios de nanopartículas de plata sintetizadas con extractos de uvilla, varias investigaciones han demostrado que las AgNPs sintetizadas con extractos de plantas actúan como agente bactericida. Según lo reportado por Vergara y Toledo (2021), AgNPs sintetizadas a partir de extractos de Aloe Vera tienen hasta un 98% de inhibición bacteriana. Por otro lado, Jalab (2019) sintetizó AgNPs con extractos de *Acacia cyanophylla* que presentaron inhibición contra *Escherichia coli*. Hay que acotar que el extracto de la uvilla también presenta actividad bactericida contra *Escherichia coli* y *Candida albicans*, según lo reportado por Pumacota (2018), según el estudio realizado por Ortiz (2018) el extracto de la uvilla presenta un efecto inhibitorio frente a *Streptococcus mutans* y según la revisión bibliográfica realizada por López y Yanchaliquin (2017) el extracto presenta una actividad bactericida *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. La combinación de una planta y un metal con propiedades antimicrobianas, presenta buenos resultados en los tratamientos antibióticos. Así, tenemos que al combinar la *Physalis peruviana* y plata, se logró minimizar hasta 0 la presencia de colonias bacterianas.

3.3.2. Efecto de nanopartículas de plata como agente bactericida

El efecto de las nanopartículas de plata como agente bactericida, se evaluó mediante un análisis de varianza que nos permite observar el efecto de las variables independientes en la variable dependiente.

VARIABLES:

- **Independiente:** Concentración de AgNPs, tiempo de exposición a la luz solar.
- **Dependiente:** UFC/ml.

Así, nos permitirá conocer si existe un efecto significativo al sintetizar AgNPs a diferentes concentraciones y tiempos de exposición a la luz solar en la inhibición de las bacterias.

Tabla 6-3: Resultados obtenidos del recuento de células viables en Unidades Formadoras de colonias por mililitros.

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

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

- Suma de cuadrados

$$SC_A = \sum_{i=1}^a \frac{Y_{i.}^2}{bn} - \frac{Y_{...}^2}{N} = \sum_{i=1}^2 \frac{(79 \times 10^7)^2 + (53 \times 10^7)^2 + (41 \times 10^7)^2}{3 \times 3} - \frac{(173 \times 10^7)^2}{3 \times 3 \times 3} = 8,385 \times 10^{15}$$

$$SC_B = \sum_{j=1}^b \frac{Y_{.j}^2}{an} - \frac{Y_{...}^2}{N} = \sum_{j=1}^2 \frac{(118 \times 10^7)^2 + (43 \times 10^7)^2 + (10 \times 10^7)^2}{3 \times 3} - \frac{(173 \times 10^7)^2}{3 \times 3 \times 3} = 6,747 \times 10^{16}$$

$$SC_{AB} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \frac{Y_{ij}^2}{n} - \frac{Y_{...}^2}{N} - SC_A - SC_B$$

$$SC_{AB} = \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 \frac{(53 \times 10^7)^2 + (34 \times 10^7)^2 + (31 \times 10^7)^2 + (18 \times 10^7)^2 + (17 \times 10^7)^2 + (10 \times 10^7)^2 + (8 \times 10^7)^2 + (2 \times 10^7)^2 + (0)^2}{3} - \frac{(173 \times 10^7)^2}{3 \times 3 \times 3}$$

$$- 5,496 \times 10^{15} - 5,873 \times 10^{16} = 3,525 \times 10^{15}$$

- La suma de cuadrados totales

$$SC_T = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$

$$SC_T = \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 \sum_{k=1}^3 102 - \frac{(173 \times 10^7)^2}{3 \times 3 \times 3} = 8,225 \times 10^{16}$$

- Error aleatorio

$$SC_E = SC_T - SC_A - SC_B - SC_{AB}$$

$$SC_E = 8,225 \times 10^{16} - 4,484 \times 10^{15} - 5,873 \times 10^{16} - 4,484 \times 10^{15}$$

$$SC_E = 2,866 \times 10^{15}$$

Tabla 7-3: ANOVA para el diseño factorial 3²

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

F₀: Estadístico de prueba; Valor-p: Significancia observada; A: concentración de síntesis de nanopartículas de plata;

B: Tiempo de exposición a la luz solar.

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

- **Análisis del estudio estadístico**

Debido a que el valor p se encuentra en la zona de aceptación y es menor al nivel de significancia 0.05, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, razón por la cual se comprobó

que al sintetizar nanopartículas de plata a diferentes concentraciones (0.5, 1, 1.5 M) afectan significativamente el crecimiento de las bacterias.

El tiempo de exposición a luz solar afecta significativamente al crecimiento de las bacterias debido a que el valor p se encuentra en la zona de rechazo, es decir, es menor al nivel de significancia 0,05 por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

Ya que valor p se encuentra en la zona de rechazo y es menor al nivel de significancia 0.05, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, razón por la cual se comprobó que tanto la concentración de AgNPs y el tiempo de exposición a luz solar afectan significativamente el crecimiento de las bacterias.

3.1.1.1. Efectos principales en la inhibición del crecimiento bacteriano

En el Gráfico 8-3, se puede observar que al exponer el inóculo más tiempo a la luz solar, la inhibición de las bacterias presenta un efecto mayor, dado que mientras más tiempo esté en contacto el agua residual con las nanopartículas expuestas a la luz solar, se evidencia un mejor tratamiento que solo al colocar las nanopartículas de plata sin exposición solar, como se observa en el gráfico del lado izquierdo.

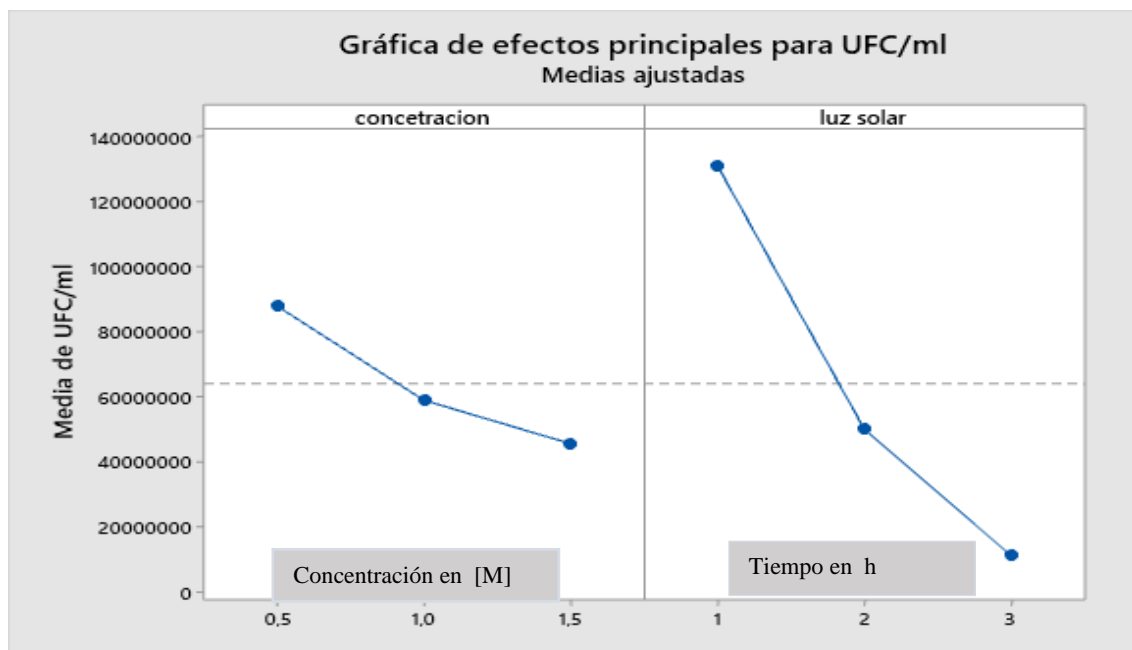


Gráfico 8-3. Efectos principales en la inhibición del crecimiento bacteriano (UFC/ml).

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

3.3.2.1. Interacción de los factores

El mejor resultado obtenido fue con el uso de nanopartículas de plata sintetizadas a 1,5 M y con una exposición de 3 horas a la luz solar como se muestra en el Gráfico 9-3.

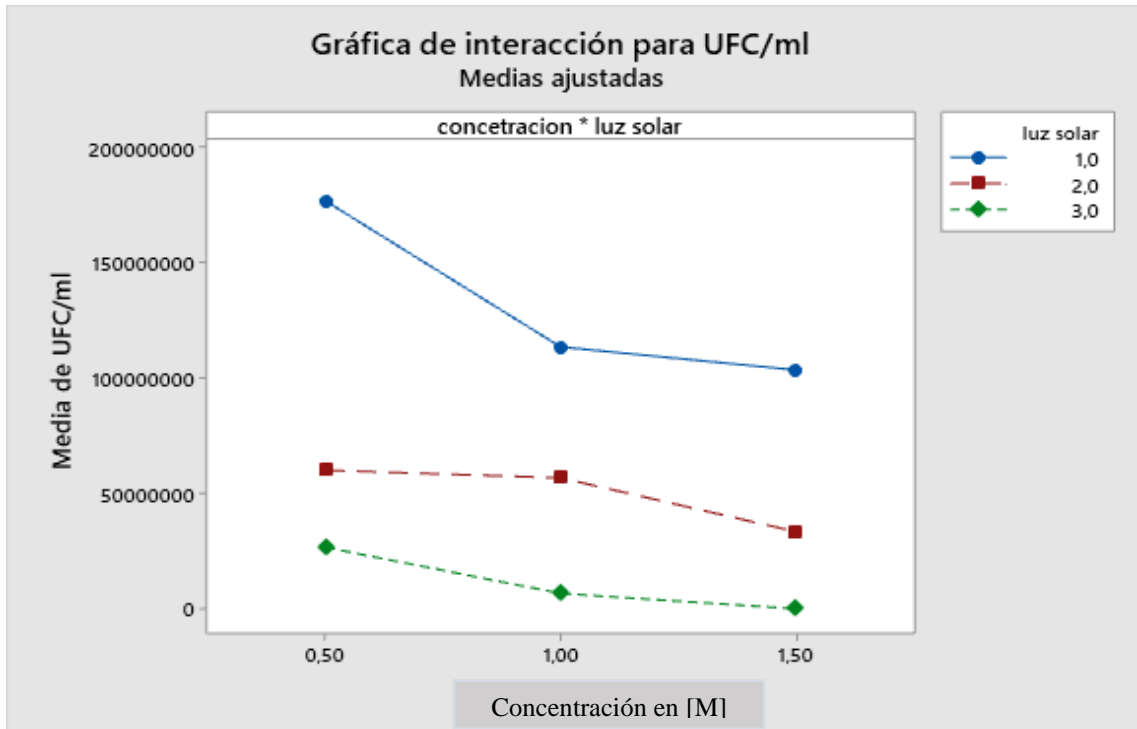


Gráfico 9-3. Interacción de factores para el crecimiento de bacterias (UFC/ml).

Realizado por: Yanchapanta, Erika, 2021.

CONCLUSIONES

- La investigación realizada determina que las nanopartículas de plata obtenidas mediante una síntesis verde es una alternativa sostenible para el tratamiento de las aguas residuales de tipo doméstico.
- Mediante el extracto de las hojas *Physalis Peruviana L* se logró sintetizar nanopartículas de plata, teniendo un nuevo método para obtener nanopartículas, principalmente dado que este extracto contiene compuestos fenólicos que se encargan de la reducción de los iones de plata a plata metálica.
- Al caracterizar las nanopartículas de plata mediante la espectroscopia Uv-vis, se confirmó que la biosíntesis fue efectiva por sus picos característicos de Resonancia de Plasmón de Superficie de 412-415 nm, además por microscopia electrónica de barrido se identificó la presencia de plata en el espectro EDS con tamaños nanométricos.
- Se determinó que las nanopartículas de plata presentan una buena actividad bactericida dado que tienen la capacidad de inhibir hasta cero el crecimiento de las bacterias patógenas más comunes.

RECOMENDACIONES

- Al momento de la síntesis de las nanopartículas de plata, se tiene dos fases una sólida y una líquida. En esta investigación, se utilizó únicamente AgNPs en fases sólido para todos los ensayos, se recomienda utilizar la fase líquida donde se encuentran nanopartículas suspendidas.
- Es muy importante seguir realizando investigaciones en cuanto a la síntesis verde, no solo para nanopartículas metálicas sino en todas las ciencias que se puedan emplear, puesto que esta síntesis es eco amigable.
- Al momento de realizar la síntesis de las nanopartículas de plata, se aconseja utilizar otros parámetros como: cambios de temperatura, pH, concentraciones de los extractos vegetales, concentración de la sal precursora e incluso buscar nuevas sales de plata de las cuales se puedan obtener un mejor rendimiento.
- Se recomienda realizar pruebas de los extractos vegetales como un análisis fitoquímico para conocer con certeza que compuestos químicos contiene y cuales ayudarían en biosíntesis de las nanopartículas.

BIBLIOGRAFÍA

AHMED, Shakeel; et al. "Green synthesis of silver nanoparticles using Azadirachta indica aqueous leaf extract". *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* [en línea], 2016, 9 (1), pp. 1-7. [Consultado: 19 de septiembre 2021]. ISSN 1687-8507. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jrras.2015.06.006>

AUGE, M. "Agua fuente de vida". En *Salud Mundial* [en línea], 2007, pp. 1-27. [Consulta:06 de julio 2021]. Disponible en: <http://tierra.rediris.es/hidrored/ebooks/miguel/AguaFuenteVida.pdf>

BOLAÑOS, Viviana; et al. "Engineered silver nanoparticle (Ag-NP) behaviour in domestic on-site wastewater treatment plants and in sewage sludge amended-soils". *Science of the Total Environment* [en línea], 2020, p. [Consultado: 05 de octubre 2021]. ISSN 0048-9697. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137794>

CARDOSA, P. "Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud". *Revista del hospital de niños de Buenos Aires* [en línea], 2016, [Consultado: 05 de octubre 2021]. Recuperado de <http://revistapediatria.com.ar/wp-content/uploads/2016/04/260-Nanopartícu>

CASTRO, Kevin Alfonso. (2018) Elaboración de nanopartículas de plata vía síntesis y compuestos orgánicos de Púnica granatum y catálisis bacteriana de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger* [En línea] (Trabajo de titulación). En Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. 2018. pp. 1-98. [Consultado: 17 de septiembre 2021]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/33323>.

CERÓN, Miguel: et al. "El comportamiento de nanopartículas de plata en procesos de floculación en tratamientos de aguas". *Journal of Nanobiotechnology*,(2015).

Confederación de consumidores y usuarios. (2015). Nanotecnología. Recuperado de: <http://cecu.es/campanas/seguridad/Nanotecnologia2.pdf>

CUADRADO, et al. "Nanotecnología en Medicina. Informe de síntesis de tecnología emergente". *Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía*, (2009). (España) pp. 48.

DÍAZ et al., "El tratamiento de agua residual doméstica para el desarrollo local sostenible: el caso de la técnica del sistema unitario de tratamiento de aguas, nutrientes y energía (SUTRANE) en San Miguel Almaya, México." *Quivera*, 15 (1), (2012) (México) pp. 79-97

ECHEVERRY et al "Nanopartículas de plata funcionalizadas in situ con D-limoneno: efecto en la actividad antibacteriana". En *Revista ION* [en línea], 2020, (Colombia) 33 (5), pp. 79-92. [Consulta: 17 de junio 2021] Disponible en: <https://doi.org/10.18273/revion.v33n1-2020008>

ESCOBAR, Vanesa Estefania. Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por espectroscopia de infrarrojos (FT-IR), UV-Vis, absorción atómica de llama (FAAS) y microscopía de barrido electrónico (SEM) Disertación (tabajo de tilutacion). [En línea] Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador. 2015. pp. 1-107. [Consulta: 201-06-08]. Disponible en <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/9933>

ESPIGARES, M. & PÉREZ , J. Aspectos sanitarios del estudio de las aguas. Universidad de Granada. Servicio de Publicaciones. Granada. 1985.

European commission (2014) ¿Son seguras las nanopartículas de plata? Consecuencias para la salud, el medio ambiente y la resistencia microbiana". Recuperado de: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/opinions/index_en.htm

FERNÁNDEZ, Teresa. Estudio de las aplicaciones biomédicas de las nanopartículas de plata [En línea] (Trabajo de fin de grado). En Universidad de Sevilla, Facultad de Farmacia, Sevilla, España. 2017. pp. 1-39. [Consultado: 04 de septiembre 2021]. Disponible en: [http://idus.us.es/bitstream/handle/11441/66375/Fernández Teresa.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://idus.us.es/bitstream/handle/11441/66375/Fernández_Teresa.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

García et al. (2016). El medio ambiente en colombia. Recuperado de: <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/000001/cap4.pdf>

GÓMEZ, Marcela. "Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde". En *Fundación univesrcitaria de ciencias de la salud* [en línea], 2018, (Colombia) 26 (2), pp. 75-80. [Consultado: 04 de septiembre 2021]. Disponible en: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

GONZÁLES, Eduardo; et al. (2014) "Síntesis de partículas de plata soportadas en membrana modificada de polipropileno utilizando reductores químicos y naturales". *Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Membranas* [en línea], 2014, pp. 1-78. [Consultado: 16 de septiembre

2021]. Disponible en: <https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/productos/6211/membranas.pdf>
INEC (2016) Estadística de información ambiental económica en gobiernos Autónomos descentralizados municipales 2015 (agua y alcantarillado). Recuperado de: https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/webinec/Encuestas_Ambientales/Municipios_2015/Documento_Tecnico-Gestion_de_Agua_y_Alcantarillado_2015.pdf.

LJAZ, Irfan; et al. "Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles". *Green Chemistry Letters and Reviews* [en línea], 2020 13 (3), pp.223- 245.[Consultado: 20 de Octubre 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/17518253.2020.1802517>

LÓPEZ, María Magdalena & YANCHALIQUIN Ángel Gregorio. Evaluación de diferentes métodos de obtención de extractos de uvilla (*Physalis peruviana L.*) y su actividad antimicrobiana sobre bacterias patógenas [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Estatal de Bolívar, Guaranda, Ecuador.2017. p. 65. [Consultado: 28 de septiembre 2021]. Disponible en: <http://www.dspace.ueb.edu.ec>.

MACÍAS, Aida; et al. *Microbiología y salud* [en línea]. Editorial Área de Innovación y Desarrollo,S.L, 2019. [Consultado: 20 de octubre 2021]. ISBN 978-84-949985-4-6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17993/Med.2019.62>

MELÉNDEZ, at al. "Antioxidantes naturales y su poder reductor frente a iones plata: alternativa en la recuperación de metales". *Revista Iberoamericana de las ciencias biológicas y agropecuarias* [en línea], 2020 10 (20). [Consultado: 20 de octubre 2021]. ISSN:2007-9990. Disponible en : <https://doi.org/10.23913/ciba.v9i17.95> Artículos

MICROBIANO, C. Reproducción y crecimiento microbiano. Recuperado de: http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_6_crecimiento.pdf

MORALES, at al. "Síntesis y caracterización de nanopartículas de platapor la ruta sol-gel apartir de nitrato de plata".*Revista de la Sociedad Química de Peru* [en línea], 2009, (Lima) 75 (2), p. 177-184. [Consultado: 20 de octubre 2021]. ISSN: 1810-634X. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371937613004>

ONU. (2016). Agua limpia y saneamiento. Recuperado de: https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/wpcontent/uploads/sites/3/2016/10/6_Spanish_

Why_it_Matters.pdf

ORTIZ, Giovany. Evaluación del efecto bactericida *in vitro* de las nanopartículas de plata en cepas de *Moraxella spp.* multirresistentes aisladas en ovinos en el Estado de México [En línea] (maestría). Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México. 2019. [Consultado: 08 de septiembre 2021]. Disponible en: http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/105338/Tesis_MAESTRIA_GIOVANY..pdf?sequence=2&isAllowed=y.

PEÑATE, Baltasar. *La Nanotecnología para el Tratamiento de las Aguas* [blog]. 2016. [Consultado: 08 de septiembre 2021]. Disponible en: <https://www.iagua.es/blogs/baltasar-penate/nanotecnologia-tratamiento-aguas>

PÉREZ, Carlos. Síntesis de nanopartículas de plata usando extractos de plantas [En línea] (Trabajo de titulación). Universidad CES. 2014. [Consultado: 09 de septiembre 2021]. Disponible en: https://repository.eia.edu.co/bitstream/handle/11190/2015/PerezCarlos_2014_SintesisNanoparticulasPlata.pdf?sequence=1&isAllowed=y

PÉREZ DEL ANGEL, Luis Alberto. Estudio del efecto bactericida y/o bacteriostático de oligosacáridos de quitosán sobre *e. Coli* y *pseudomonas aeruginosa*. (trabajo de titulación) [En línea] Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro, Saltillo Coahuila. 2009 [Consulta: 2021-07-03]. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/417/60483s.pdf?sequ>

POZO, M. (2016). Indicadores ODS de agua, saneamiento e higiene en Ecuador. Recuperado de: https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/webinec/Bibliotecas/Libros/Diagnostico_ASH_pobreza_INEC_BM.pdf

PUMACOTA PACARHUA, Noelia Lisbeth, Evaluación de los parámetros Físico-químicos fundamentales para la obtención de nanopartículas de óxido de cobre utilizando *Physalis peruviana* (Aguaymanto), vía química verde (Trabajo de titulación) [En línea]. Universidad nacional de San Agustín. Arequipa, Perú. 2018 [Consulta: 2021-07-03]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/6609>

PUNTE, María. (2015) Acción microbicida del agua de plata en muestras de agua de riego del río Pachanlica - provincia de Tungurahua [En línea] (Trabajo de titulación). Pontificia

Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador. 2015. [Consulta: 03 de septiembre 2021].
Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/12130>

QUINTILI, Mario. (2012) "Nanociencia y Nanotecnología un mundo pequeño". *Centro de Estudios de Diseño y Comunicación* [en línea], 2012, pp. 125-155. [Consulta: 11 de septiembre 2021]. ISSN 1668-5229. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5263478>

RAFIQUE, Muhammad; et al. "A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications". *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* [en línea], 2017, 45 (7), pp.1272-1291. [Consulta: 11 de septiembre 2021]. ISSN 2169-1401. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/21691401.2016.1241792>

CORTEZ, René & MÁRQUEZ, Bryan. (2019) Producción de nanopartículas de plata mediante síntesis verde usando extracto de semillas de apio (*Apium graveolens*) y explorar su actividad larvicida en mosquitos [En línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. 2019. [Consulta: 11 de septiembre 2021]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39974/1/401-1359 - Producc nanopartículas de plata mediante síntesis verde.pdf>

REYNOSO, María; et al. (2015) *Manual de microbiología general*. 2015. ISBN 978-987-688-124-1

ROJAS, Norma; et al. (2020) "Actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata contra bacterias fitopatógenas". *Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan* [en línea], 2020, 20 (7). [Consulta: 11 de septiembre 2021]. ISSN 2007-6940. Disponible en: <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v8i2.173>

SÁNCHEZ, Minerva. Nanopartículas de plata: preparación, caracterización y propiedades con aplicación en inocuidad de los alimentos [En línea] (maestría). Universidad Nacional de Educación a Distancia. 2017. [Consulta: 4 de septiembre 2021]. Disponible en: http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ/Msanchez/Sanchez_Moreno_Minerva_TFM.pdf

SANJUAN, Norberto. (2019). Introducción a la microbiología generalidades de bacteriología. Recuperado de: <https://www.fmed.uba.ar/sites/default/files/2020-03/SEMINARIO%201.pdf>

TORRE. (2015) Los recursos hídricos en el mundo: cuantificación y distribución. Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6115629>

TORRES, Abel. Síntesis verde y caracterización de nanopartículas de oro y plata mediante el uso de algunas plantas endémicas del Ecuador[En línea] (Trabajo de titulación). En Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador, 2016. [Consulta: 01 de septiembre 2021]. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/17109>

VERGARA, Andrea & TOLEDO, Erika. "Acción Bactericida de Nanopartículas de Plata Utilizando extractos de Aloe Vera , para una posterior Aplicación en vendajes y parches". En *Revista de Simulación y Laboratorio* [en línea], 2017, (México) 4 (11). [Consulta: 01 de septiembre 2021]. Disponible en: https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Simulacion_y_Laboratorio/vol4num11/Revista_de_Simulacion_y_Laboratorio_V4_N11_7.pdf

YUNUS, Ian; et al. (2012) "Nanotechnologies in water and air pollution treatment". *Environmental Technology Reviews* [en línea], 1 (1). pp. 136-148. [Consulta: 25 de octubre 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/21622515.2012.733966>

ANEXOS

ANEXO A: FOTOGRAFÍA TOMA DE MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES DE SAN VICENTE DE LACAS



ANEXO B: ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS UFC/ML EN SOFTWARE MINITAB

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	8	7,93852E+16	9,92315E+15	62,31	0,000
Lineal	4	7,58593E+16	1,89648E+16	119,08	0,000
concentración	2	8,38519E+15	4,19259E+15	26,33	0,000
luz solar	2	6,74741E+16	3,37370E+16	211,84	0,000
Interacciones de 2 términos	4	3,52593E+15	8,81481E+14	5,53	0,004
concentración*luz solar	4	3,52593E+15	8,81481E+14	5,53	0,004
Error	18	2,86667E+15	1,59259E+14		
Total	26	8,22519E+16			

ANEXO C: REPORTE URKUND



Document Information

Analyzed document	ErikaYanchapanta.pdf (D130719653)
Submitted	2022-03-18T00:05:00.0000000
Submitted by	MISHELL MORENO
Submitter email	mishell.moreno@esPOCH.edu.ec
Similarity	1%
Analysis address	mishell.moreno.esPOCH@analysis.urkund.com



epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICOS Y
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 14/04/2022

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: <i>Erika Pamela Yanchapanta Tamaquiza</i>
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: <i>Ciencias</i>
Carrera: <i>Química</i>
Título a optar: <i>Química</i>
f. Analista de Biblioteca responsable: <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.</i>

LEONARDO
FABIO
MEDINA
NUSTE

Firmado digitalmente por LEONARDO
FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC,
o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR,
ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE
INFORMACION-ECIBCE, l=QUITO,
serialNumber=9000621485,
cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2022.04.14 15:36:36 -05'00'



0601-DBRA-UTP-2022