Universidad Nacional de Ingeniería

Área del Conocimiento de Agricultura

ESTUDIO DE LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA MEDIANTE PROCESOS DE QUÍMICA VERDE PARA APLICACIONES ANTIMICROBIANAS

Trabajo Monográfico para optar al título de
Ingeniero Químico

Elaborado por:		Tutor:	Asesor:
Br. MIGUEL ÁNGEL ESPINOZA SÁNCHEZ 2020-0828U	Br. KARLA MICHELLE NARVÁEZ ABURTO 2020-0929U	Dra. JUNIET REBECA GAITÁN ARÉVALO	MSc. OSCAR ENRIQUE RUÍZ SOMARRIBA

19 de marzo de 2026

Managua, Nicaragua

OPINIÓN DE CATEDRÁTICO GUÍA

Me complace profundamente, en mi calidad de tutora del trabajo monográfico titulado “Estudio de la síntesis de nanopartículas de plata mediante procesos de química verde para aplicaciones antimicrobianas”, presentado por los bachilleres Miguel Ángel Espinoza Sánchez y Karla Michelle Narváez Aburto como requisito para optar al título de Ingenieros Químicos, emitir la siguiente opinión académica:

El presente trabajo constituye un aporte científico relevante en el área de la ingeniería química y la nanotecnología, particularmente en el desarrollo de métodos sostenibles para la obtención de nanomateriales con aplicaciones biológicas. La investigación se fundamenta en los principios de la química verde, utilizando extracto acuoso de hojas de *Eucalyptus camaldulensis* como agente reductor y estabilizante en la síntesis de nanopartículas de plata, lo que representa una alternativa ambientalmente responsable frente a los métodos convencionales.

Los bachilleres demostraron dominio en el diseño experimental, evaluando de forma sistemática la influencia de variables como volumen de extracto, temperatura y pH del medio sobre la formación y estabilidad de las nanopartículas, mediante el uso de herramientas estadísticas apropiadas. La confirmación de la síntesis de las AgNPs por espectroscopía UV-Visible y el análisis de la estabilidad coloidal evidencian un adecuado manejo de técnicas de caracterización y una correcta interpretación de los resultados.

Asimismo, la evaluación de la actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* mediante el método de difusión en agar Kirby–Bauer permitió demostrar el potencial biológico de las nanopartículas sintetizadas, respaldado por un análisis estadístico mediante ANOVA, lo que fortalece la validez científica de los resultados obtenidos.

La investigación evidencia una adecuada correspondencia entre los objetivos formulados, las estrategias metodológicas implementadas y las conclusiones derivadas del análisis experimental, lo cual refuerza la consistencia científica del estudio. De igual manera, el uso de materias primas de origen natural y local contribuye a la generación de procesos más limpios con potencial impacto en distintos sectores productivos y sanitarios.

Por tanto, considero que el trabajo cumple satisfactoriamente con los requisitos académicos exigidos por el programa de Ingeniería Química, reflejando la capacidad investigativa, el rigor técnico y el compromiso de los bachilleres con la innovación científica y la sostenibilidad. En tal sentido, recomiendo favorablemente este trabajo para su presentación y defensa pública como requisito para optar al título de Ingeniero Químico.

Dra. Juniet Rebeca Gaitán Arévalo
Tutor

Universidad Nacional de Ingeniería
Área de Conocimiento de Agricultura
Formas de Culminación de Estudios

REF.DACA.FCE.245.2025
Managua, 22 de julio del 2025

Bachilleres

MIGUEL ÁNGEL ESPINOZA SANCHEZ (2020-0828U)
KARLA MICHELLE NARVÁEZ ABURTO (2020-0929U)

Estimados Bachilleres:

Es de mi agrado informarles que el PROTOCOLO de su Tema **MONOGRÁFICO**, titulado: **"ESTUDIO DE LA SÍNTESIS DE NANOPARTICULAS DE PLATA MEDIANTE PROCESOS DE QUÍMICA VERDE PARA APLICACIONES ANTIMICROBIANAS"** Ha sido aprobado por el Director de Área de Conocimiento de Agricultura.

Asimismo, les comunico estar totalmente de acuerdo, que la **Dra. Juniet Rebeca Gaitán Arévalo** sea la tutora de su trabajo final.

La fecha límite, para que presenten concluido su documento final, debidamente revisado por el tutor guía será el **22 de enero del 2026.**

Esperando puntualidad en la entrega de la Tesis, me despido.

Atentamente,

ÁREA DE CONOCIMIENTO DE AGRICULTURA
REPÚBLICA DE NICARAGUA

MSc. José Mamerto Méndez Úbeda
Director de Área de Conocimiento de Agricultura
DACA

CC: Archivo
Tutor: Dra. Junieth Rebeca Gaitán Arévalo
MSc. Helia Vanessa Taleno Oporta / Secretaria Académica DACA

Universidad Nacional de Ingeniería
Área de Conocimiento de Agricultura
Formas de Culminación de Estudios

REF.DACA.FCE.044.2026
Managua, 27 de enero del 2026

Bachilleres

MIGUEL ANGEL ESPINOZA SÁNCHEZ (2020-0828U)
KARLA MICHELLE NARVÁEZ ABURTO (2020-0929U)

Estimados Bachilleres:

Es de mi agrado comunicarles que he constituido el Tribunal examinador para la - Pre-Defensa de su trabajo de Monografía titulado: **"ESTUDIO DE LA SÍNTESIS DE NANOPARTICULAS DE PLATA MEDIANTE PROCESOS DE QUÍMICA VERDE PARA APLICACIONES ANTIMICROBIANAS".** La que se realizará el día martes 03 de febrero 2026, en el Salón Académico Carlos Fonseca Amador de la UNI-RUPAP.

Pres: Dr. Lester Javier Espinoza Pérez **(PAIQ)**
Sec: MSc. Heysell Dodanig Delgado Silva **(PAIQ)**
Voc: MSc. Juan Manuel Alonso Santos **(PAIQ)**

Hora: 01:30 PM

Asimismo, les comunico que el tutor está en pleno derecho de asistir a la Pre-Defensa. Los Documentos después del acto de Pre-Defensa deberán ser entregados a los sustentantes para realizar correcciones.

Sin otro particular, me despido.

Atentamente,

MSc. José Mamerto Méndez Ubeda
Director de Área de Conocimiento de Agricultura
DACA

- **Dra. Juniet Rebeca Gaitán Arévalo / Tutor**
- **MSc. Helia Vanessa Taleno Oporta / Secretaria Académica DACA**
-C/c: Archivo

AGRADECIMIENTO

Agradecemos principalmente a Dios por la vida, la sabiduría, la perseverancia y la fortaleza que nos concedió para alcanzar la culminación de este trabajo de diploma, fruto de una etapa universitaria llena de retos, obstáculos y aprendizajes. Gracias por estar siempre a nuestro lado, guiando nuestros pasos, iluminando nuestro camino y sosteniéndonos en los momentos de dificultad, recordándonos que Él es nuestro ayudador y refugio constante en cada desafío.

A nuestra querida tutora, la Dra. Juniet Rebeca Gaitán Arévalo, quien nos brindó su total apoyo a lo largo de este trabajo, agradecemos su paciencia y dedicación, y reconocemos el valioso conocimiento, la orientación y la motivación que nos proporcionó, los cuales fueron fundamentales para la culminación de este proyecto y para nuestro crecimiento académico y personal.

A nuestro asesor, el Msc. Oscar Enrique Ruíz Somarriba, le agradecemos profundamente por su valioso apoyo tanto en los laboratorios como en la elaboración de este trabajo, así como por sus consejos y disposición para ayudarnos.

Agradecemos al Ing. Silvano Cruz por brindarnos la oportunidad de trabajar en las instalaciones del Laboratorio Especializado de Biotecnología Ambiental, perteneciente al Programa de Investigación, Estudios Nacionales y Servicios del Ambiente (UNI-PIENSA).

Asimismo, extendemos nuestro agradecimiento a la Universidad Nacional Héroes de San José de las Mulas (UNHSJM) por abrirnos sus puertas y permitirnos el uso del Laboratorio de Biotecnología Microbiana “Felipe y Mary Barrera”, lo que facilitó la realización de nuestro trabajo.

A la Universidad Nacional de Ingeniería, por estos largos años de estudios, por ser como una segunda casa, por brindarnos un espacio de aprendizaje, crecimiento y formación integral, y por permitirnos forjar amistades, valores y experiencias que perdurarán toda la vida.

Karla Michelle Narváez Aburto

Miguel Ángel Espinoza Sánchez

DEDICATORIA

Dedico este proyecto, en primer lugar, a Dios, quien ha sido mi constante ayudador y refugio en los momentos de debilidad y desaliento; quien me ha enseñado que con Él todo es posible y me ha sostenido firmemente con la diestra de su justicia a lo largo de este proceso.

A mi madre, Lissette Abigail Aburto, y a mi padre, Juan Carlos Narváez, quienes han sido mi motor para seguir adelante y me han enseñado que con esfuerzo y dedicación todo se puede lograr. Gracias por sus consejos, por creer siempre en mí, por cada oración y por cada abrazo que me reconfortaba cuando sentía que no podía más. Prometo algún día devolverles el triple de todo lo que me han dado.

A mis buenos amigos Ana Lezama, Miguel Espinoza, Cristhofer Pérez y Yonder Rivas, por su amistad sincera, por los momentos compartidos que siempre trajeron alegría, y por su apoyo constante que hizo más llevaderos los días difíciles.

A mi amiga Claudia Mojica, por siempre tomarse el tiempo de esperarnos y acompañarnos en las largas jornadas del laboratorio, brindándonos su apoyo, generosidad y compañía en cada momento compartido.

Karla Michelle Narváez Aburto

DEDICATORIA

Dedico este trabajo primeramente a Dios por guiarme hasta aquí y ser mi fortaleza. A mis padres, Juana Sánchez y Mario Espinoza, que han sido mi apoyo incondicional y han sacrificado muchas cosas para que yo pudiera llegar hasta aquí.

A mis compañeros y amigos de la universidad, con los que me pude acoplar a lo largo de mi carrera e hicieron de ella un lugar donde pude fabricar muchos buenos recuerdos.

A mi novia, Claudia Mojica, quien siempre está ahí para apoyarme en todo lo que debo hacer, me da su consejo y me da el ánimo que necesito para continuar.

A ellos y a todos los que se sienten felices de que yo vaya por el camino que me tocó y de alguna u otra manera, celebran mis proyectos.

Miguel Ángel Espinoza Sánchez

RESUMEN

En el presente trabajo se desarrolló la síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs) utilizando extracto de hojas de *Eucalyptus camaldulensis* como agente reductor y estabilizante, bajo principios de química verde, con el objetivo de evaluar su actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli*.

La síntesis se realizó a partir de una solución de nitrato de plata (1mM), evaluándose la influencia del volumen de extracto (1, 3 y 5 mL), la temperatura de reacción (60, 73 y 85 °C) y el pH del medio (3.5, 5 y 6.5) mediante un diseño experimental Box–Behnken con 15 tratamientos y dos réplicas. La caracterización se efectuó por espectroscopía UV–VIS, registrándose la ubicación del pico de resonancia de plasmón superficial (SPR), la absorbancia máxima y el ancho a media altura (FWHM). El ensayo #1 mostró un espectro definido con un pico en 417 nm y una absorbancia máxima de 0.951, confirmando la formación de AgNPs; sin embargo, varios tratamientos no presentaron el pico característico, por lo que el diseño inicial resultó inconcluso.

Posteriormente, se implementó un diseño factorial 2^3 variando la concentración de $AgNO_3$ (1 y 5 mM), la temperatura (60 y 80 °C) y el volumen de extracto (1 y 5 mL), obteniéndose 8 tratamientos. Dos ensayos presentaron curvas definidas entre 418 y 421 nm, indicando una síntesis más estable de las nanopartículas y un rango aproximado de tamaño de partícula de entre 30 y 40 nm.

La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en agar Kirby–Bauer empleando un diseño factorial mixto, considerando el tiempo de contacto (24 y 72 h), los ensayos seleccionados y la concentración de nanopartículas (25, 50, 75 y 100%). Los halos de inhibición alcanzaron valores máximos de 12 mm, comparables al control positivo de ampicilina (13.5 mm). El análisis de varianza (ANOVA) indicó que el modelo global fue significativo ($p = 0.026$), determinándose que la concentración de nanopartículas fue el único factor con efecto estadísticamente significativo ($p = 0.000$) sobre la inhibición de *E. coli*.

Finalmente, la concentración de AgNPs se identificó como el factor determinante en la actividad antimicrobiana observada, evidenciando que el método de síntesis verde empleado permite obtener nanopartículas con potencial aplicación como agentes antimicrobianos sostenibles.

ABSTRACT

In the present study, the green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) was carried out using *Eucalyptus camaldulensis* leaf extract as both reducing and stabilizing agent, following green chemistry principles, with the aim of evaluating their antimicrobial activity against *Escherichia coli*.

The synthesis was performed using a 1 mM silver nitrate solution, assessing the influence of extract volume (1, 3, and 5 mL), reaction temperature (60, 73, and 85 °C), and medium pH (3.5, 5, and 6.5) through a Box–Behnken experimental design with 15 treatments and two replicates. Characterization was conducted by UV–VIS spectroscopy, recording the position of the surface plasmon resonance (SPR) peak, maximum absorbance, and full width at half maximum (FWHM). Trial #1 showed a defined spectrum with a peak at 417 nm and a maximum absorbance of 0.951, confirming the formation of AgNPs; however, several treatments did not present the characteristic peak, so the initial design was considered inconclusive.

Subsequently, a 2^3 factorial design was implemented by varying $AgNO_3$ concentration (1 and 5 mM), temperature (60 and 80 °C), and extract volume (1 and 5 mL), resulting in 8 treatments. Two trials displayed defined curves between 418 and 421 nm, indicating a more stable nanoparticle synthesis and an estimated range of particle size between 30 and 40 nm.

Antimicrobial activity was evaluated using the Kirby–Bauer agar diffusion method with a mixed factorial design, considering contact time (24 and 72 h), the selected trials, and nanoparticle concentration (25, 50, 75, and 100%). Inhibition zones reached maximum values of 12 mm, comparable to the positive control ampicillin (13.5 mm). Analysis of variance (ANOVA) indicated that the overall model was significant ($p = 0.026$), and nanoparticle concentration was identified as the only factor with a statistically significant effect ($p = 0.000$) on *E. coli* inhibition.

Finally, AgNPs concentration was identified as the determining factor in the observed antimicrobial activity, demonstrating that the green synthesis method employed enables the production of nanoparticles with potential application as sustainable antimicrobial agents.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO i

DEDICATORIA ii

RESUMEN iv

ABSTRACT v

I. INTRODUCCIÓN 1

II. OBJETIVOS 2

2.1 Objetivo General 2
2.2 Objetivos Específicos 2

III. MARCO TEÓRICO 3

3.1 Nanotecnología 3
3.2 Nanopartículas 3
3.3 Plata 4
3.4 Nanopartículas de Plata 4
3.5 Métodos de síntesis de Nanopartículas 5
3.5.1 Enfoque Top- Down (de arriba hacia abajo) 5
3.5.2 Enfoque Bottom - Up (de abajo hacia arriba) 6
3.6 Síntesis verde de AgNPs 9
3.7 Extracto de Eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis*) 10
3.8 Química verde 11
3.9 Caracterización de Nanopartículas 11
3.9.1 Espectroscopia UV-Visible 11
3.9.2 Caracterización de nanopartículas de plata mediante espectroscopía UV–VIS 12
3.9.3 Valor del espectro UV–VIS en el marco experimental 13
3.10 Microorganismos patógenos 14
3.11 Escherichia coli 14
3.12 Actividad antimicrobiana 15
3.12.1 Inhibición de la síntesis de la pared celular del microorganismo 16
3.12.2 Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos 16
3.12.3 Interferencia en la síntesis proteica 16
3.13 Mecanismo de acción de las AgNPs contra las bacterias 16
3.13.1 Degradación de la membrana y la pared celular 17
3.13.2 Entrada de las AgNPs en la célula y daño intracelular 17

3.13.3 Estrés oxidativo 18
3.14 Método de difusión en Agar 19

IV. HIPÓTESIS 20

V. METODOLOGÍA 21

5.1 Síntesis de Nanopartículas 21
5.1.1 Recolección y tratamiento de Hojas 21
5.1.2 Elaboración del extracto de eucalipto 22
5.1.3 Preparación de la solución precursora de nitrato de plata 23
5.1.4 Síntesis de nanopartículas de plata 23
5.2 Caracterización de los ensayos 26
5.2.1 Diseño de experimento adicional 26
5.2.2 Caracterización de ensayos complementarios 29
5.2.3 Criterios de selección de mejores ensayos 29
5.3 Determinación de propiedades antimicrobianas 29
5.3.1 Siembra de las bacterias 30
5.3.2 Selección de la colonia 31
5.3.3 Preparación de la suspensión y estandarización del inóculo 31
5.3.4 Inoculación de las placas 32
5.3.5 Colocación de discos antimicrobianos 33
5.3.6 Incubación de las placas 34
5.3.7 Medición de las zonas de inhibición 34
5.3.8 Análisis estadísticos 34

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 37

6.1 Síntesis de Nanopartículas de Plata 37
6.2 Actividad antimicrobiana 45
6.3 Análisis estadístico de la actividad antimicrobiana 46
6.4 Análisis ANOVA 48

VII. CONCLUSIONES 51

VIII. RECOMENDACIONES 52

IX. BIBLIOGRAFÍA 53

X. ANEXOS 61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Escala comparativa de objetos a escala nanométrica 4
Figura 2 Proceso de síntesis verde de AgNPs 10
Figura 3 Espectro UV–VIS de nanopartículas de plata sintetizadas mediante extracto de cebolla (onion broth) 14
Figura 4 Estructura de la *Eschericia coli*..... 15
Figura 5 Esquema del mecanismo de interacción de las AgNPs con la bacteria 17
Figura 6 Mecanismo de penetración de las AgNPs y liberación de Ag 18
Figura 7 Mecanismo de acción de AgNPs generando ROS en la célula bacteriana 18
Figura 8 Árboles, hoja y corteza de *Eucalyptus camaldulensis* en la Universidad Nacional de Ingeniería..... 21
Figura 9 Secado, reducción y tamizado de hojas de *Eucalyptus Camaldulensis* 22
Figura 10 Cambio de color en el extracto de eucalipto producto de la filtración. 23
Figura 11 Montaje de laboratorio para la síntesis de Nanopartículas 24
Figura 12 Coloración de soluciones en el proceso de síntesis de Nanopartículas de Plata 28
Figura 13 Montaje realizado para la síntesis de nanopartículas en el laboratorio de Biotecnología Microbiana “Felipe y Mary Barrera”..... 28
Figura 14 Cepa bacteriana utilizada en la evaluación de la actividad antimicrobiana 29
Figura 15 Pasos para la siembra de bacterias por la técnica de agotamiento.... 30
Figura 16 Suspensión del inoculo comparado con el 0.5 Mc Farland 31
Figura 17 Inoculación de placas con la suspensión bacteriana estandarizada .. 32
Figura 18 Colocación de discos en placa Petri..... 34
Figura 19 Espectro UV-VIS entre 300 y 700 nm de las condiciones de síntesis #1 38
Figura 20 Espectros UV-VIS de los reactivos de la síntesis de nanopartículas de plata..... 38
Figura 21 Gráficos satisfactorios obtenidos de las distintas condiciones de síntesis 39
Figura 22 Espectro UV-VIS entre 300 y 700 nm de las condiciones de síntesis #2 40
Figura 23 Desarrollo en el tiempo del espectro UV-VIS del ensayo #1 40
Figura 24 Espectros UV-VIS de los mejores ensayos 43
Figura 25 Espectro UV-VIS de ensayos del #3 al #8 del diseño de experimentos factorial 2^3..... 44
Figura 26 Halos de inhibición producidos por nanopartículas de plata..... 45

Figura 27 Halos de inhibición producidos por nanopartículas de plata..... 45
Figura 28 Control positivo de ampicilina y control negativo de agua destilada... 47
Figura 29 Factores que influyen en la inhibición del crecimiento de la cepa *E coli.* 50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Variables y niveles para diseño de experimento Box Behnken. 24
Tabla 2 Tratamientos del diseño de experimentos Box-Behnken con dos réplicas. 25
Tabla 3 Variables y niveles usados en diseño de experimento factorial 2^3 27
Tabla 4 Tratamientos del diseño de experimento factorial 2^3 con dos réplicas... 27
Tabla 5 Preparación de las diluciones a diferentes concentraciones..... 33
Tabla 6 Variables y niveles del diseño de experimento mixto 35
Tabla 7 Tratamientos del diseño de experimento mixto para la determinación de propiedades antimicrobianas..... 35
Tabla 8 Datos promedio obtenidos de las variables respuestas de los tratamientos planteados en el diseño de experimentos Box-Behnken..... 37
Tabla 9 Características de la curva del espectro UV-VIS obtenida de los ensayos del Diseño de experimento factorial 2^3 y tamaño estimado..... 42
Tabla 10 Resultados correlacionales experimentales..... 46
Tabla 11 Control positivo de Ampicilina..... 47
Tabla 12 Análisis de Varianza (ANOVA) 48

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el auge de la nanotecnología ha cobrado gran relevancia gracias a su capacidad para manipular la materia a escala nanométrica, lo que ha permitido el desarrollo de materiales con propiedades revolucionarias. Chaparro y Quintero (2008) señalan que "el manejo de la materia en este nivel permite observar fenómenos y propiedades completamente nuevas, lo que posibilita el desarrollo de materiales, dispositivos y sistemas innovadores", impulsando su aplicación en áreas como la biomedicina, el control microbiológico y el tratamiento ambiental.

Entre ellas, las nanopartículas de plata (AgNPs) destacan por su reconocida actividad antimicrobiana frente a diversos microorganismos patógenos. Su efectividad se atribuye a la interacción directa con las células bacterianas, lo que provoca alteraciones estructurales y metabólicas que inhiben su crecimiento (Wahab et al., 2021). Sin embargo, los métodos fisicoquímicos de síntesis de nanopartículas suelen implicar el uso de reactivos químicos tóxicos y condiciones poco sostenibles, lo que ha generado la necesidad de desarrollar alternativas más seguras y amigables.

En este contexto, la síntesis verde ha emergido como un enfoque prometedor al emplear extractos de plantas como agentes reductores y estabilizantes, eliminando la necesidad de compuestos químicos agresivos (Iravani et al., 2014). Este método no solo reduce el impacto ambiental, sino que también permite aprovechar los metabolitos naturales presentes en los extractos, como flavonoides, alcaloides y fenoles, los cuales favorecen la formación y estabilidad de las nanopartículas (Singh et al., 2018). Mittal et al. (2013) expresan que "su síntesis usando métodos biológicos no tóxicos y beneficiosos ambientalmente es atractiva especialmente si son destinadas a aplicaciones invasivas en medicina".

El presente estudio se centró en la síntesis verde de AgNPs utilizando extracto de eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis*) como agente reductor. Esta especie fue seleccionada debido a su disponibilidad, contenido de metabolitos bioactivos y antecedentes en estudios fitoquímicos relacionados con la síntesis de nanopartículas, como el de Alghoraibi et al. (2020). La caracterización de las AgNPs se realizó mediante espectrofotometría UV-VIS, permitiendo analizar la estabilidad y eficiencia de la síntesis a lo largo del tiempo. Además, se evaluó su actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*, considerando el creciente interés en alternativas a los agentes de desinfección convencionales.

La importancia de este estudio radica en su contribución al desarrollo de métodos sostenibles para la síntesis de nanopartículas, promoviendo la reducción del uso de químicos sintéticos y explorando nuevas fuentes naturales para la producción de materiales funcionales con aplicaciones biomédicas y ambientales. Asimismo, la validación de estos métodos permitirá ampliar el conocimiento sobre la relación entre los compuestos fitoquímicos y la eficiencia de la síntesis de AgNPs, abriendo nuevas posibilidades para su aplicación en diversas industrias.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Sintetizar nanopartículas de plata (AgNPs) mediante procesos de química verde, evaluando su potencial en aplicaciones antimicrobianas.

2.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la influencia del volumen de solución reductora, la temperatura de reacción y el pH en la síntesis de AgNPs, determinado por su efecto en el desplazamiento del pico SPR y la intensidad de absorción en espectroscopía UV-VIS.
- Confirmar la presencia de AgNPs mediante espectroscopía UV-VIS, identificando el pico de resonancia de plasmón superficial (SPR) y su relación con las condiciones de síntesis.
- Analizar la estabilidad coloidal de las AgNPs en el tiempo, midiendo variaciones en la posición e intensidad del pico SPR a diferentes intervalos de almacenamiento.
- Examinar la actividad antimicrobiana de las AgNPs sintetizadas contra *Escherichia coli.*

III. MARCO TEÓRICO

3.1 Nanotecnología

La nanotecnología es una disciplina científica y tecnológica que se centra en el estudio, diseño, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, dispositivos y sistemas funcionales mediante el control de la materia a escala atómica y molecular. El manejo de la materia en este nivel permite observar fenómenos y propiedades completamente nuevas, lo que posibilita el desarrollo de materiales, dispositivos y sistemas innovadores, de bajo costo y con características únicas (Chaparro y Quintero, 2008).

En este contexto, el nanómetro equivalente a una milmillonésima parte de un metro constituye la unidad fundamental de esta disciplina y determina la escala de los materiales y dispositivos desarrollados (Vásquez et al., 2010). Actualmente, la nanotecnología se considera una de las áreas más dinámicas dentro de las ciencias de los materiales, destacando especialmente por el desarrollo de nanopartículas a nivel mundial (Mohammadlou et al., 2016).

3.2 Nanopartículas

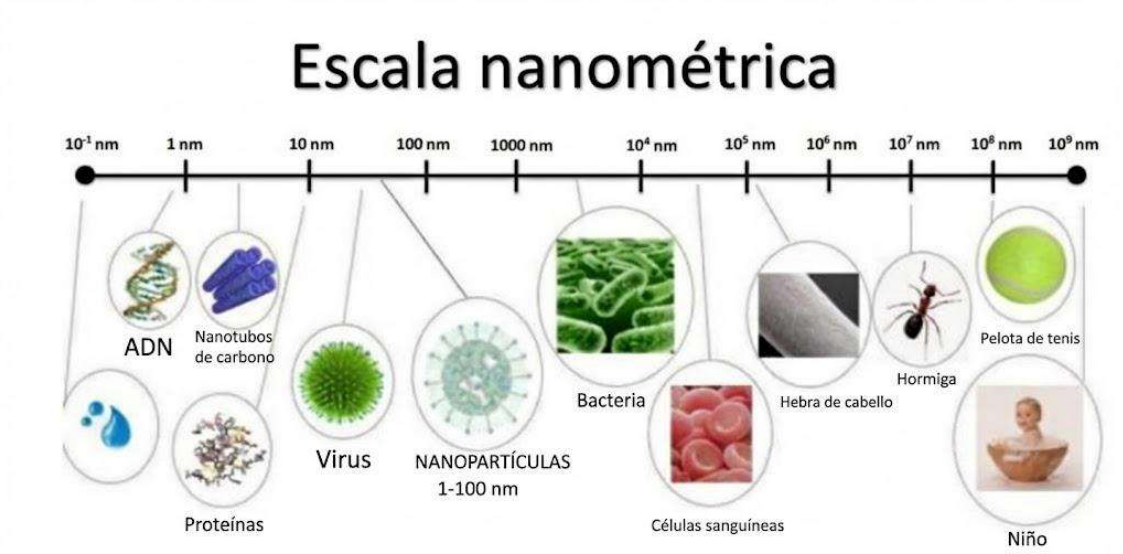
Las nanopartículas son estructuras de tamaño extremadamente pequeño, con dimensiones que oscilan entre 1 y 100 nm (Figura 1). Están constituidas por agregados de átomos o moléculas que pueden encontrarse recubiertos por una capa protectora o agente estabilizador, cuya función principal es evitar su aglomeración. Su elevada relación área superficial/volumen les otorga propiedades físicas, químicas y biológicas singulares, entre las que destacan una notable actividad catalítica, una mayor interacción con microorganismos, variaciones en los puntos de fusión y ebullición, así como fenómenos de superdifusión. Además, presentan mejoras en las características mecánicas como dureza, rigidez, flexibilidad, adherencia, resistencia a la tracción y durabilidad, propiedades magnéticas y efectos de autolimpieza (Pérez, 2018).

De manera general, las nanopartículas se clasifican en dos categorías principales:

- **Orgánicas**: Incluyen estructuras como los fullerenos y los nanotubos de carbono.
- **Inorgánicas**: Dentro de este grupo se encuentran las nanopartículas semiconductoras, como las de óxido de zinc (ZnO), sulfuro de zinc (ZnS) y sulfuro de cadmio (CdS); las nanopartículas metálicas, tales como las de oro (Au), plata (Ag), cobre (Cu) y aluminio (Al); Asimismo, las nanopartículas magnéticas, compuestas por metales como cobalto (Co), hierro (Fe) y níquel (Ni) (Mohammadlou et al., 2016). Las nanopartículas metálicas y sus óxidos presentan estructuras cristalinas definidas y poseen propiedades físicas, químicas, ópticas, electrónicas y magnéticas determinadas por la naturaleza del metal constituyente (Huang et al., 2024).

Figura 1

Escala comparativa de objetos a escala nanométrica



Nota. Adaptado de Rojo (2022).

3.3 Plata

La plata (Ag), de número atómico 47 y masa atómica 107,87 g/mol, es un metal noble de color blanco brillante, altamente maleable y dúctil, conocido por poseer la mayor conductividad eléctrica y térmica entre todos los metales (Greenwood y Earnshaw, 2012). Puede encontrarse en estado casi puro; sin embargo, por lo general se halla formando parte de minerales que contienen compuestos de plata, como la argentita (Ag_2S), proustita (Ag_3AsS_3), pirargirita (Ag_3SbS_3) y el cloruro de plata (AgCl). Su estado de oxidación más común es +1; aunque también puede presentarse como +2, por ejemplo, en el difluoruro de plata (AgF_2), y como +3 en el tetrafluoruro argentato de potasio ($KAgF_4$) (Medina y Mejía, 2015).

En disolución acuosa, la plata puede encontrarse principalmente en forma iónica (Ag^+), siendo este catión el responsable de su reconocida actividad antimicrobiana al interactuar con proteínas y ácidos nucleicos en los microorganismos (Lemire et al., 2013)). La plata tiene una larga historia como antimicrobiano natural, pero su potencial se ha incrementado notablemente en forma de nanopartículas (Hameed et al., 2025).

3.4 Nanopartículas de Plata

Se estima que, de todos los nanomateriales utilizados en productos de consumo, las nanopartículas de plata son las que presentan un mayor grado de comercialización dentro del campo de la nanotecnología, debido a su efectiva actividad antimicrobiana (Ticllacuri y Travezaño, 2019).

La principal propiedad de las AgNPs es su elevada área superficial específica en comparación con la plata a granel, lo que les proporciona una mayor cantidad de sitios activos y una energía superficial superior, incrementando así su capacidad antimicrobiana (Liu y Jiang, 2015). Otra propiedad relevante es su comportamiento óptico, ya que las nanopartículas en disolución coloidal o soportadas en sólidos pueden absorber longitudes de onda visibles, generando colores que abarcan el espectro visible (Escobar, 2015).

Las propiedades de las AgNPs dependen del tamaño, la forma y el grado de dispersión, los cuales pueden controlarse mediante el método de síntesis. Entre los parámetros que influyen en su morfología se encuentran la elección del agente reductor, las cantidades relativas y concentraciones de los reactivos, la temperatura y la duración de la reacción (Solomon et al., 2007).

3.5 Métodos de síntesis de Nanopartículas

La síntesis de nanopartículas (NPs) pueden llevarse a cabo mediante una amplia diversidad de técnicas, las cuales suelen clasificarse en dos enfoques generales según la estrategia utilizada para obtener estructuras en la escala nanométrica.

3.5.1 Enfoque Top- Down (de arriba hacia abajo)

Este enfoque se basa predominantemente en métodos físicos y consiste en la fragmentación progresiva de materiales masivos hasta alcanzar dimensiones nanométricas (Zanella, 2012). Según Márquez (2018), entre las técnicas más representativas se incluyen:

3.5.1.1 La evaporación térmica

Consiste en el calentamiento hasta la evaporación del material que se pretende depositar. Se lleva a cabo en una cámara de vacío en la que se condensa el vapor sobre una lámina fría requiriendo en todo momento un control preciso de las condiciones de crecimiento para no producir una modificación de la morfología de la capa depositada.

3.5.1.2 El depósito químico en fase vapor (CVD)

Consiste en la descomposición de uno o varios compuestos volátiles, en el interior de una cámara de vacío (reactor), cerca de la superficie de un sólido para dar lugar a la formación de un material en forma de capa delgada o de nanopartículas.

3.5.1.3 La preparación de clústeres gaseosos.

Utiliza un láser pulsado de alta potencia para producir vapores atómicos metálicos que son acarreados en un gas inerte y posteriormente son depositados en un óxido monocristalino u otro sustrato, bajo condiciones de ultra-alto vacío.

3.5.1.4 La implantación de iones

Es un método que consiste en que los iones de un material pueden ser implantados en un sólido, cambiando por tanto las propiedades físicas y químicas

de este último, ya que el ion implantado puede ser de un elemento distinto al que lo compone, también se pueden causar cambios estructurales en el sólido implantado, puesto que la estructura cristalina del objetivo puede ser dañada. El equipamiento necesario para la implantación de iones suele consistir en una fuente de iones que produce los iones del elemento deseado, un acelerador donde dichos iones son electrostáticamente acelerados hasta alcanzar una alta energía, y una cámara donde los iones impactan contra el objetivo.

3.5.1.5 La molienda de partículas de tamaño macro o micrométrico

Se realiza por medio de molinos de alta eficiencia; las partículas resultantes son clasificadas por medios físicos, recuperándose las de tamaño nanométrico. Dado que la molienda enérgica y continua de los materiales iniciales puede inferir cambios energéticos en los sólidos, debido a la acumulación de defectos en situación de no-equilibrio, lo que puede causar una disminución de las energías de activación, activando los sólidos para llevar a cabo reacciones químicas en estado sólido. La activación mecano química de sólidos cristalinos puede producir también alteraciones y cambios tanto texturales como estructurales, que pueden resultar de gran interés en el desarrollo de materiales (Boldyrev, 2006; Imamura et al., 1984).

3.5.2 Enfoque Bottom - Up (de abajo hacia arriba)

El enfoque *Bottom-up* se fundamenta principalmente en métodos químicos y comprende la formación de nanopartículas a partir de la condensación de átomos, moléculas o iones en fase gaseosa o en solución (Ortega, 2018). Este enfoque abarca técnicas ampliamente utilizadas como:

3.5.2.1 El método coloidal

Este método consiste en disolver una sal del precursor metálico o del óxido a preparar, un reductor y un estabilizante en una fase continua o dispersante (un líquido en este caso). Este último puede jugar el papel de reductor, de estabilizante o ambos. En principio el tamaño promedio, la distribución de tamaños y la forma o morfología de las nanopartículas pueden ser controlados variando la concentración de los reactantes, del reductor y del estabilizante, así como la naturaleza del medio dispersante.

Los coloides son partículas individuales, que son más grandes que las dimensiones atómicas, pero lo suficientemente pequeños como para exhibir movimiento browniano. Este rango de tamaño de partículas en una solución coloidal suele oscilar en el rango de nanómetros (De Jong, 2009; Schmid, 2004).

3.5.2.2 Reducción fotoquímica y radioquímica

La síntesis de nanopartículas por reducción fotoquímica y radioquímica es un método que modifica el sistema químico utilizando altas energías para generar activos reductores como electrones, radicales y especies excitadas. La reducción fotoquímica (fotolisis) utiliza energías inferiores a 60 eV, mientras que la radioquímica (radiólisis) emplea energías mucho mayores, entre 10^3 y 10^4 eV.

Los métodos de reducción fotoquímica y radioquímica tienen las ventajas sobre el método de reducción química. Debido a la ausencia de impurezas formadas cuando se usan reductores químicos, estos métodos producen nanopartículas de alta pureza. Además, la reducción fotoquímica y radioquímica permiten producir nanopartículas en condiciones de estado sólido y a bajas temperaturas. La reducción fotoquímica en solución se emplea frecuentemente para sinterizar partículas de metales nobles. Estas partículas se obtienen a partir de las correspondientes sales en agua, alcohol o solventes orgánicos (Patel et al., 2005).

3.5.2.3 Irradiación con microondas

La irradiación con microondas es una técnica de síntesis que permite obtener nanopartículas con baja dispersión de tamaño, aunque el control preciso de la morfología no siempre es alcanzable, como ocurre en la mayoría de los métodos de enfoque “abajo hacia arriba”. Las microondas funcionan como campos eléctricos de alta frecuencia capaces de calentar materiales que contienen cargas eléctricas, ya sea moléculas polares en un disolvente o iones conductores en un sólido.

En los disolventes polares, el calentamiento se produce porque sus moléculas se ven forzadas a alinearse y rotar con el campo oscilante, disipando energía mediante colisiones. En materiales conductores o semiconductores, el calentamiento se genera cuando los iones y electrones inducen una corriente eléctrica, cuya energía se disipa por la resistencia eléctrica del material. Nanopartículas coloidales de Pt, Ru, Ag y Pd estabilizados por polímeros han sido preparadas por calentamiento con microondas, a partir de las sales precursoras del metal disueltas en soluciones de etilenglicol (Zhu et al., 2004).

3.5.2.4 Utilización de dendrímeros

La síntesis de nanopartículas también se ha llevado a cabo usando micelas, emulsiones y dendrímeros como nanorreactores que permiten la síntesis de partículas de formas y tamaños definidos, esto se logra alterando la naturaleza de los dendrímeros. Los dendrímeros son moléculas altamente ramificadas, las que incluyen un núcleo central, unidades intermediarias repetitivas y grupos funcionales terminales (Zheng y Dickson, 2002).

Los dendrímeros representan nuevos tipos de macromoléculas que combinan el alto peso molecular y baja viscosidad de sus soluciones con su forma molecular tridimensional y la presencia de una estructura espacial. El tamaño de los

dendrímeros varía de 2 a 15 nm y representan nanorreactores naturales (Kim et al., 2004; Zheng y Dickson, 2002).

3.5.2.5 Síntesis solvotermal

Con el nombre general de síntesis solvotermal se agrupan una serie de técnicas en las que un precursor metálico disuelto en un líquido, en un recipiente cerrado, es calentado por encima de su punto de ebullición, lo que genera una presión superior a la atmosférica (normalmente moderada). El líquido habitual es el agua, y de ahí el nombre de "síntesis hidrotermal"; sin embargo, cada vez se van utilizando con mayor frecuencia otros medios líquidos: disolventes orgánicos, amoniaco líquido, hidracina, etc., y tenemos entonces la síntesis solvotermal.

En este tipo de técnicas normalmente los tiempos de reacción son largos (comparados con otros métodos químicos). La síntesis hidrotermal se refiere a reacciones heterogéneas en medio acuoso por encima de 100 °C y 1 bar. Una característica distintiva de la síntesis hidrotermal es que los reactivos que difícilmente se disuelven en agua pasan a la disolución por acción del propio disolvente o de mineralizadores. El objetivo de esta técnica es lograr una mejor disolución de los componentes de un sistema y así se logran disolver o hacer reaccionar especies muy poco solubles en condiciones habituales (Xie y Shang, 2007).

3.5.2.6 Método sol-gel

El método sol-gel es un proceso químico en fase húmeda ampliamente utilizado en la ciencia de los materiales. Este método se utiliza principalmente para la fabricación de nanomateriales (normalmente un óxido metálico). Se parte de una solución química que actúa como precursor de una red integrada ya sea de partículas discretas o de una red de polímeros. Los precursores típicos del proceso sol-gel son los alcóxidos y los cloruros metálicos, que sufren varias reacciones de hidrólisis y policondensación para formar una dispersión coloidal, que luego de una polimerización lenta forma un gel.

En general, los alcóxidos son muy sensibles a la humedad (se descomponen muy fácilmente ante la presencia de ésta), por lo que la hidrólisis para la formación del gel es llevada a cabo usando alcoholes como un solvente común para los diferentes líquidos inmiscibles. Un gel polimérico es una red macromolecular infinita, la cual está hinchada por solvente. Un gel puede ser creado cuando la concentración de la especie dispersa aumenta.

El solvente es atrapado en la red de partículas y así la red polimérica impide que el líquido se separe, mientras el líquido previene que el sólido colapse en una masa compacta. La deshidratación parcial de un gel produce un residuo sólido elástico que se conoce como xerogel. Finalmente, este material es completamente

deshidratado y eventualmente tratado térmicamente en flujo de gas para obtener el material nanoestructurado final (De Jong, 2009).

3.5.2.7 Síntesis verde o biogénica

Dentro del enfoque Bottom-up se incluyen también los métodos de origen biológico que se fundamentan en los principios de la química verde, en los cuales extractos de plantas, bacterias, hongos, algas o sus metabolitos actúan como agentes reductores y estabilizantes para la obtención de nanopartículas metálicas. Esta alternativa constituye una ruta ecológica y sostenible que ha demostrado ser eficaz para la producción de nanomateriales con propiedades funcionales específicas, (Ijaz et al., 2022).

Este proceso presenta ventajas significativas frente a los métodos químicos convencionales, ya que es más respetuoso con el medio ambiente, económicamente viable y de aplicación sencilla, además de requerir tiempos de síntesis generalmente más cortos (Jan et al., 2021).

El principal beneficio de la síntesis biológica es la seguridad asociada con el proceso y la pureza de las nanopartículas resultantes. Dado que solo se utilizan agentes limpios para facilitar la producción de nanopartículas asegurando de que el producto formado esté libre de contaminación dando como resultado un impacto mínimo en la salud humana (Vishwanath y Negi, 2021).

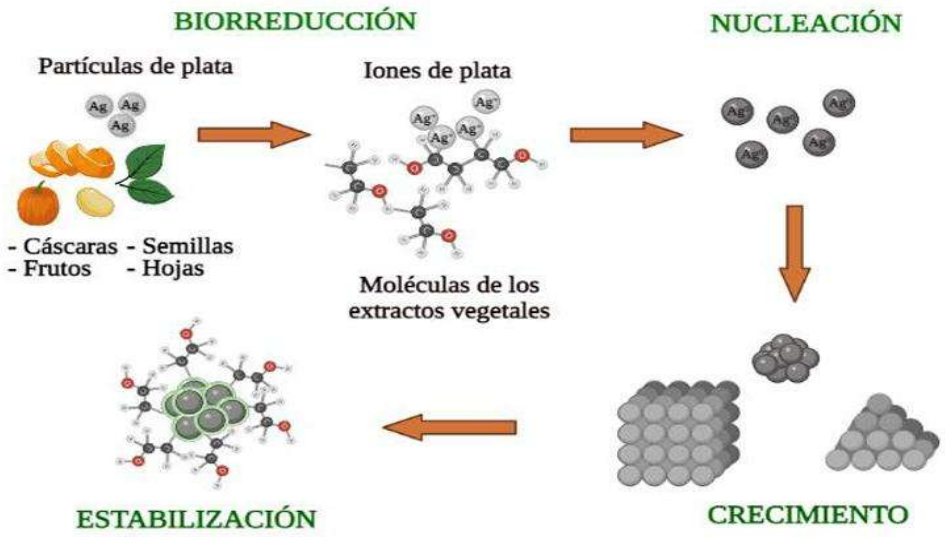
3.6 Síntesis verde de AgNPs

La síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs) utiliza extractos biológicos obtenidos de hojas, raíces, tallos u otros tejidos vegetales. Para ello, el extracto se mezcla con una solución acuosa de una sal de plata, comúnmente nitrato de plata ($AgNO_3$), lo que desencadena la reducción del ion plata (Ag^+) a plata metálica (Ag^0). Este proceso ocurre gracias a la acción de diversas biomoléculas presentes en los extractos, como metabolitos secundarios (alcaloides, polifenoles, terpenoides, flavonoides), polisacáridos y proteínas, que actúan simultáneamente como agentes reductores y estabilizantes (Mittal et al., 2013).

De acuerdo con Soto et al. (2019), la síntesis verde de AgNPs comprende tres etapas fundamentales (Figura 2): (i) nucleación, donde los átomos de Ag^0 se agrupan para formar núcleos iniciales; (ii) crecimiento, fase en la que estos núcleos aumentan de tamaño mediante coalescencia o agregación controlada; y (iii) estabilización, etapa final en la cual las biomoléculas del extracto recubren las nanopartículas formadas, evitando su aglomeración y confiriéndoles estabilidad coloidal.

Figura 2

Proceso de síntesis verde de AgNPs



Nota. Tomado de Gómez (2018).

3.7 Extracto de Eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis*)

Eucalyptus camaldulensis, conocido como eucalipto rojo del río, pertenece a la familia Myrtaceae. Es originario de Australia y se ha distribuido globalmente debido a su alta adaptabilidad, las propiedades medicinales que posee y su rápido crecimiento en condiciones ambientales adversas, como suelos pobres y sequía (Hassine et al., 2018).

Las hojas de esta especie contienen compuestos fenólicos, tales como flavonoides, taninos y terpenoides, que les otorgan propiedades antioxidantes y antimicrobianas, permitiendo la neutralización de radicales libres y la inhibición del crecimiento de microorganismos (Dogara et al., 2024).

En estudios como el de De León (2008), se ha determinado la composición fisicoquímica de las hojas de *Eucalyptus Camaldulensis*, reportando que “la especie Camaldulensis se identificaron los siguientes compuestos monoterpénicos: citronelal (0,79%), citronelol (3,22%), eucaliptol (7,89%), carvacrol (3,87%), alfa terpineol (3,3%), timol (2,19%), beta citronelol (3,22%), alfa felandreno (4,01%), terpin-4-ol (10,24%), alfa terpineno (6,93%) y otros de fracción sesquiterpénica como el beta cariofileno (1,83%)”. De los cuales, la mayoría son compuestos con propiedades antioxidantes, lo que le otorga un buen potencial como agente reductor

Los extractos de hojas de *Eucalyptus camaldulensis* han demostrado ser efectivos en la síntesis verde de nanopartículas de plata. Un estudio realizado por Alghoraibi et al. (2020) demostró que el extracto acuoso de hojas de *E. camaldulensis* puede reducir iones de plata (Ag^+) para formar nanopartículas de plata (AgNPs) de forma

esférica, con un tamaño promedio de 28 nm, mostraron una buena estabilidad y propiedades antimicrobianas.

3.8 Química verde

La química verde es una rama de la química que se enfoca en el diseño de productos y procesos destinados a reducir o eliminar el uso y la generación de sustancias peligrosas para el medio ambiente. Una de las áreas más desarrolladas dentro de esta disciplina es la utilización de disolventes “verdes”

Se trata de una filosofía que consiste en el esfuerzo colectivo para reducir al mínimo, o de ser posible eliminar por completo la contaminación desde su inicio: mediante el uso de procesos “limpios”, evitando al máximo el desperdicio o uso indiscriminado de materias primas no renovables, así como el empleo de materiales peligrosos o contaminantes en la elaboración de productos químicos, que no atenten contra la salud o el ambiente (Barrientos et al., 2009).

Los medios que utiliza la química verde se centran en la disminución o la eliminación del uso de productos químicos tóxicos y el reciclaje de los desechos producidos por el avance tecnológico, de una manera creativa de tal forma que se consiga un mínimo impacto a los seres humanos y al medio ambiente, sin sacrificar el avance científico y tecnológico (Salinas y Sánchez, 2017).

3.9 Caracterización de Nanopartículas

La caracterización de nanopartículas es fundamental debido a sus dimensiones nanométricas, que impiden su observación directa. Entre los métodos disponibles, la espectroscopía UV-Visible (UV-Vis) destaca por su importancia en la identificación y evaluación de la estabilidad de las nanopartículas, lo que la convierte en una herramienta indispensable para analizar sus propiedades fisicoquímicas y asegurar la correcta síntesis de estas estructuras (Patil y Chougale, 2021).

3.9.1 Espectroscopia UV-Visible

La espectroscopía UV-Visible es una técnica analítica que permite medir la absorbancia de luz en una muestra para determinar la concentración de sus componentes, fundamentándose en la Ley de Lambert-Beer (Rouessac y Rouessac, 2007). Esta medición depende de la interacción entre la radiación electromagnética y los electrones presentes en átomos o moléculas, generando una señal característica según la longitud de onda aplicada (Casquino, 2023).

En el caso de las nanopartículas metálicas, su pequeño tamaño hace que presenten electrones libres en la banda de conducción. Cuando estas partículas reciben un haz de luz, se induce una excitación colectiva de dichos electrones debido a su fuerte interacción con la radiación incidente. Esto provoca una oscilación coherente y deslocalizada de los electrones confinados en la superficie, ya sea en la interfaz metal-dieléctrico o metal-semiconductor. Esta excitación electromagnética se denomina polaritón del plasmón de superficie, el cual corresponde a una cuasi-partícula híbrida producto del acoplamiento entre la luz y los electrones libres de la nanopartícula (Cruz et al., 2012).

Cuando la frecuencia de la luz coincide con la frecuencia natural de esta oscilación electrónica, se produce la Resonancia del Plasmón de Superficie (RPS, por sus siglas en inglés). Este fenómeno permite a las nanopartículas absorber selectivamente ciertas frecuencias de la luz mientras transmiten otras, lo que se manifiesta en un color característico asociado al material (Cornejo, 2015).

3.9.2 Caracterización de nanopartículas de plata mediante espectroscopía UV–VIS

La obtención experimental del espectro se realiza mediante el barrido de la muestra coloidal en una celda de cuarzo, normalmente en el rango aproximado de 300–700 nm, registrándose la absorbancia en función de la longitud de onda. Este barrido genera una curva de absorbancia cuya morfología y parámetros cuantificables permiten inferir propiedades físicas del sistema nanoparticulado. La presencia de un pico RPS bien definido en la región esperada (típicamente entre ≈400 y 460 nm para AgNPs de forma aproximadamente esférica) confirma la reducción de los iones plata a nanopartículas metálicas y diferencia el señalamiento óptico de posibles interferencias por componentes orgánicos del extracto reductor (Zhang et al., 2019).

Para interpretar el espectro UV–VIS y vincularlo con características físico-químicas de las AgNPs se consideran, de manera prioritaria, los siguientes parámetros:

3.9.2.1 Posición del pico SPR

La longitud de onda del máximo de absorbancia es altamente dependiente del tamaño medio de las partículas y del entorno dieléctrico inmediato (Kelly et al., 2003). Un desplazamiento hacia longitudes mayores (red-shift) se asocia típicamente con un aumento del tamaño de partícula o con la presencia de agregación, mientras que un desplazamiento hacia menores longitudes (blue-shift) sugiere partículas más pequeñas o un medio coloidal mejor estabilizado.

Para las AgNPs, el pico de Resonancia del Pasmón Superficial (SPR) puede dar una aproximación del tamaño de la nanopartícula. Para AgNPs pequeñas (10–100 nm), la longitud de onda máxima del SPR aumenta a medida que aumenta el tamaño de la partícula. En las condiciones típicas (nanopartículas de plata esféricas y bien dispersas en agua), se pueden utilizar las siguientes estimaciones aproximadas: para nanopartículas con un pico de SPR alrededor de 400 – 420 nm, el tamaño de la partícula suele estar en el rango de 20 – 40 nm; para nanopartículas con un pico de SPR alrededor de 450 – 470 nm: el tamaño de la partícula suele ser mayor, alrededor de 50 – 70 nm, y para nanopartículas con pico de SPR en longitudes de onda más cortas (por ejemplo, 352 nm) el tamaño de la partícula es generalmente menor, posiblemente en el rango de 5–10 nm. (Dybkova et al., 2024).

3.9.2.2 Intensidad (altura) del pico

La absorbancia máxima ofrece una medida semicuantitativa de la concentración relativa de nanopartículas dispersas en la muestra; mayores alturas del pico, bajo

condiciones ópticas lineales, implican una mayor densidad de nanopartículas bien dispersas y, por ende, un mayor rendimiento de la síntesis cuando se mantienen constantes el camino óptico y las condiciones instrumentales (Paramelle et al., 2014).

3.9.2.3 Anchura a media altura (FWHM)

La anchura del pico a la mitad de su altura máxima es un indicador del grado de monodispersidad en tamaño. Un FWHM (Full Width at Half Maximum) estrecho sugiere una población de partículas con distribución de tamaños reducida; por el contrario, un FWHM amplio puede indicar una amplia dispersión de tamaños, la coexistencia de distintas morfologías o interacciones entre partículas que amplían la banda plasmónica (Jana et al., 2001).

3.9.2.4 Forma global del espectro

Además de los parámetros cuantitativos, la forma general del espectro UV-Vis aporta información cualitativa sobre la morfología de las nanopartículas. En sistemas dominados por nanopartículas aproximadamente esféricas, se observa típicamente una única banda SPR bien definida, mientras que la presencia de formas anisotrópicas puede dar lugar a la aparición de bandas adicionales asociadas a diferentes modos de resonancia plasmónica. En este sentido, se ha reportado que las nanopartículas no esféricas presentan más de una resonancia plasmónica debido a la excitación de distintos modos de oscilación electrónica (Kelly et al., 2003).

3.9.2.5 Evolución temporal (estabilidad coloidal)

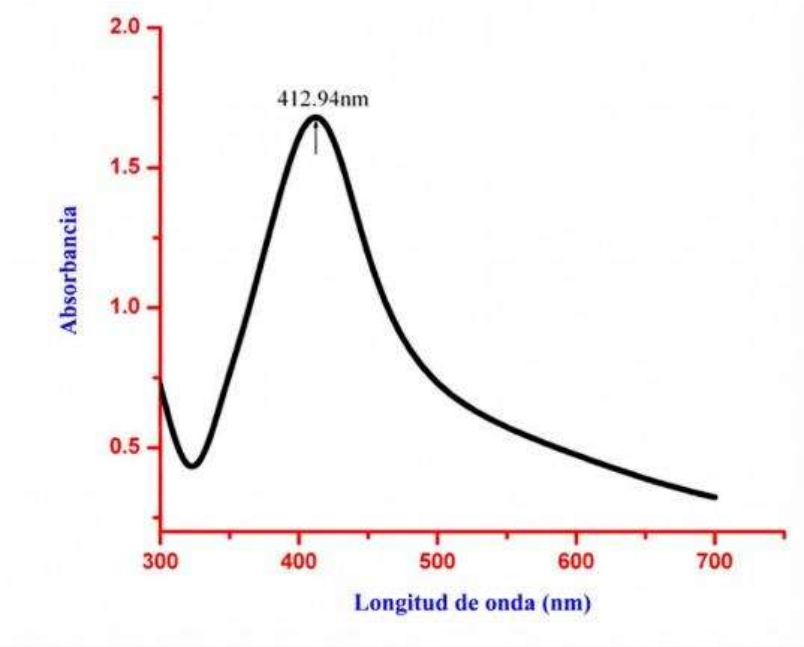
La comparación de espectros tomados en distintos momentos permite evaluar la estabilidad del coloide. Cambios en la posición, intensidad o anchura del pico SPR a lo largo del tiempo suelen reflejar procesos de agregación, oxidación superficial o pérdida de eficacia del agente estabilizante presente en el extracto vegetal; por ello, el monitoreo temporal es indispensable para estudios que consideren la aplicabilidad y almacenamiento de las AgNPs (Zhing et al., 2019).

3.9.3 Valor del espectro UV–VIS en el marco experimental

En conjunto, los parámetros extraídos del barrido UV–VIS constituyen una evidencia robusta y práctica de la formación de AgNPs y permiten realizar inferencias sobre su tamaño, dispersidad, morfología y estabilidad aun en ausencia de técnicas complementarias más avanzadas. Por lo que, la espectroscopía UV–VIS se integra como herramienta primaria en el marco teórico-experimental de la síntesis verde de nanopartículas, permitiendo comparar condiciones de reacción, optimizar variables experimentales y establecer criterios de calidad para corridas experimentales en diseños de optimización. En la Figura 3 se muestra un resultado típico de la caracterización de nanopartículas de plata usando el método de espectroscopía UV-VIS.

Figura 3

Espectro UV–VIS de nanopartículas de plata sintetizadas mediante extracto de cebolla (onion broth)



Nota. Adaptado de Saxena, et al., 2010.

3.10 Microorganismos patógenos

Los microorganismos son los seres más antiguos y abundantes en la Tierra, habitando en diversos ambientes como el suelo, agua y aire. Juegan un papel fundamental en los ecosistemas, interactuando con plantas, animales y humanos. Son esenciales para los procesos metabólicos, ecológicos y biotecnológicos, que son vitales para la supervivencia y los desafíos futuros. Se dividen en dos tipos: procarióticos, como arqueas y bacterias y eucarióticos, como hongos, algas y protozoos. Además, los virus, viroides y priones también se consideran microorganismos. Los microorganismos patógenos, que pueden afectar la salud humana, incluyen principalmente bacterias, virus y protozoos (Montaño et al., 2010).

3.11 Escherichia coli

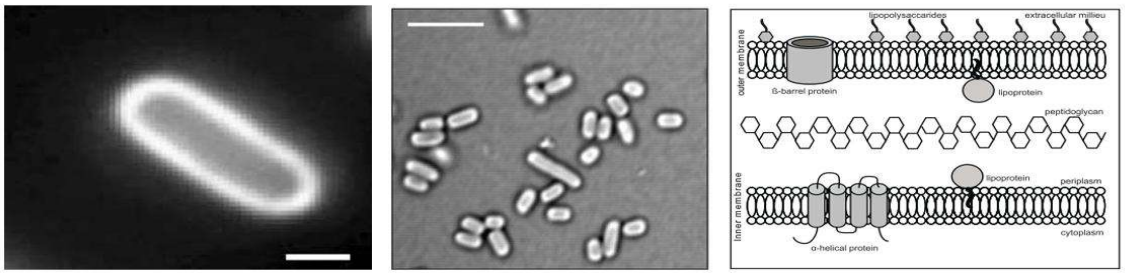
Escherichia coli es una bacteria ampliamente estudiada que continúa siendo un modelo de referencia en investigaciones sobre sistemas biológicos. El género *Escherichia* recibe su nombre en honor a Theodor Escherich, quien aisló estas bacterias a partir de residuos fecales en 1885 (Schaechter, 2009).

E. coli es una bacteria Gramnegativa (Batt, 2014), facultativamente anaeróbica y carente de la enzima oxidasa, característica de la familia Enterobacteriaceae. Morfológicamente, las células presentan la forma típica de bastoncillos rectos con

extremos redondeados, como se muestra en la Figura 4. No obstante, bajo determinadas condiciones de estrés o alteraciones en el crecimiento, pueden adoptar formas más esféricas, bastones alargados o incluso filamentos. Estas bacterias pueden ser móviles o inmóviles; cuando son móviles, presentan flagelos distribuidos lateralmente en lugar de concentrarse en los polos. Además, muchas cepas producen fimbrias o pili, estructuras proteicas que se extienden desde la superficie bacteriana y facilitan la adhesión a células o tejidos del huésped (Percival y Williams, 2013).

Figura 4

Estructura de la Eschericia coli



(a) **(b)** **(c)**

Nota. (a) Imagen obtenida mediante microscopía de fluorescencia, tomada de Reshes et al. (2008), (b) Imagen obtenida mediante microscopía óptica, y (c) Esquema de la envoltura celular, que incluye membrana interna, membrana externa y capa de peptidoglucano localizada en el periplasma, tomado de Skoog (2011).

E. coli coloniza el tracto gastrointestinal pocas horas después del nacimiento, estableciendo una relación simbiótica con el huésped (Drasar y Hill, 1974). Esta bacteria puede causar enfermedades endógenas en pacientes con sistemas debilitados o alteraciones de la pared intestinal, como peritonitis o sepsis. Sin embargo, las infecciones entéricas provocadas por *E. coli* no son originadas por las cepas comensales que normalmente habitan el intestino, sino por cepas patógenas específicas, las cuales se transmiten principalmente por vía oral-fecal o a través del agua y alimentos contaminados (Nataro y Kaper, 1998).

La mayoría de los agentes patógenos transmitidos por el agua no crecen en el agua e inician la infección en el aparato digestivo tras su ingestión, sino que entran en los sistemas de abastecimiento de agua mediante su contaminación con heces humanas o animales (Grabow et al., 2001).

3.12 Actividad antimicrobiana

Se definen como aquellas sustancias capaces de inhibir la supervivencia de microorganismos y son clasificadas según su origen en naturales y sintéticas (Pedraza y Castellanos, 2009). Las sustancias antimicrobianas poseen distintos mecanismos de acción, entre los que destacan los siguientes:

3.12.1 Inhibición de la síntesis de la pared celular del microorganismo

La pared celular protege la integridad anatomofisiológica de la bacteria y soporta su gran presión osmótica interna (mayor en las bacterias grampositivas). La ausencia de esta estructura condicionaría la destrucción del microorganismo, inducida por el elevado gradiente de osmolaridad que suele existir entre el medio y el citoplasma bacteriano. La síntesis de la pared celular se desarrolla en 3 etapas, sobre cada una de las cuales pueden actuar diferentes compuestos: la etapa citoplásmica, donde se sintetizan los precursores del péptidoglucano; el transporte a través de la membrana citoplásmica, y la organización final de la estructura del péptidoglucano, que se desarrolla en la parte más externa de la pared (Calvo y Martínez, 2009).

3.12.2 Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos

En la síntesis de bases que forman parte de los ácidos nucleicos, el ácido fólico representa la vitamina fundamental. A partir de este, y a través de una serie de pasos enzimáticos, se producen los ácidos desoxirribonucleicos (ADN) y ribonucleico (ARN). Los antimicrobianos que siguen este mecanismo de acción pueden interferir en los pasos metabólicos que conllevan a la producción del ácido fólico, inhibir la acción de enzimas y competir en la síntesis del ADN (Morales, 2018).

3.12.3 Interferencia en la síntesis proteica

La síntesis de proteínas requiere mecanismos intactos de interacción entre ribosoma, ácido ribonucleico mensajero (ARNm), de transferencia (ARNt), y aminoácidos. Los antimicrobianos que ejercen este mecanismo impiden la unión de porciones específicas de ribosomas e inhiben síntesis de péptidos (Morales, 2018).

La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas es atribuida a compuestos fenólicos presentes en sus extractos, además como reporta Davidson (1993) a compuestos alifáticos, aldehídos, cetonas, ácidos e isoflavinas. El modo de acción de estos compuestos fenólicos no ha sido determinado, éstos pueden inactivar enzimas esenciales, reaccionar con la membrana celular o alterar la función del material genético (García, 2004).

3.13 Mecanismo de acción de las AgNPs contra las bacterias

Las nanopartículas de plata (AgNPs) se han consolidado como agentes antimicrobianos efectivos debido a sus propiedades únicas a escala nanométrica, que les permiten interactuar con distintos componentes celulares de las bacterias. Wahab et al. (2021) indican que su acción bactericida involucra varios mecanismos simultáneos que comprometen la integridad celular, interfieren en los procesos metabólicos y afectan la replicación del material genético de los microorganismos. Entre los mecanismos más estudiados se encuentra:

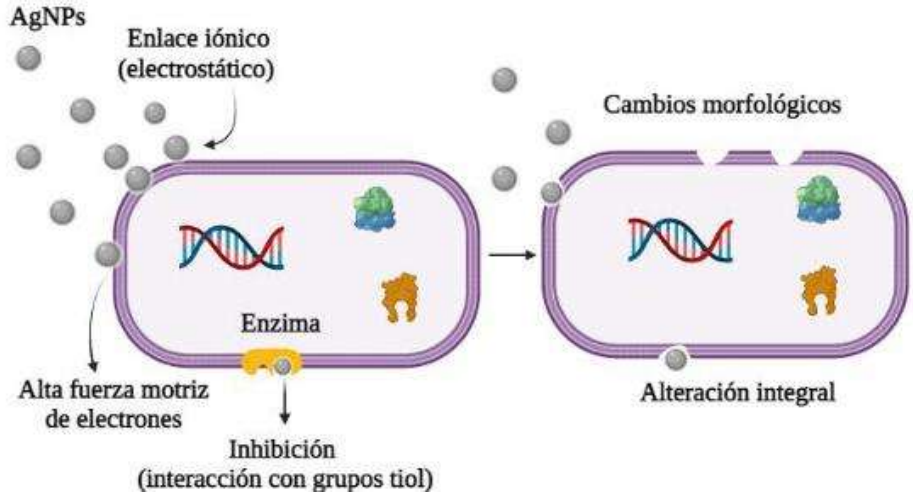
3.13.1 Degradación de la membrana y la pared celular

La función de la pared y las membranas de las células bacterianas son la de protegerlas contra microbios dañinos y diferentes tipos de estrés ambiental, como el transporte de diferentes tipos de nutrientes.

La acción de las AgNPs al contacto con las células bacterianas es la formación de un enlace iónico por interacción electrostática con las moléculas orgánicas presentes en la membrana celular generando una alta fuerza motriz de protones inhibiendo enzimas por medio de los grupos tiol que a su vez provoca cambios morfológicos e integrales en la célula provocando su posterior muerte, observado en la Figura 5.

Figura 5

Esquema del mecanismo de interacción de las AgNPs con la bacteria



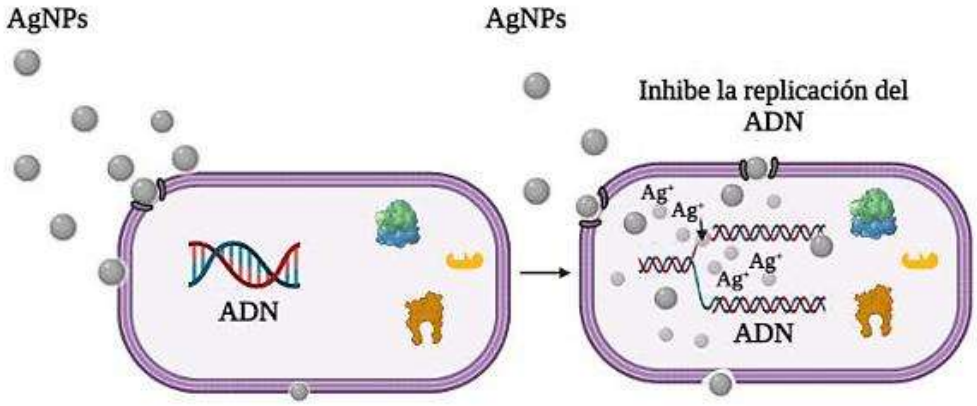
Nota. Tomado de Ccahuana (2025).

3.13.2 Entrada de las AgNPs en la célula y daño intracelular

Tras atravesar la membrana, las AgNPs interactúan con proteínas, lípidos y material genético, produciendo modificaciones estructurales que reducen su estabilidad funcional. La presencia de grupos azufrados y amino en los componentes celulares facilita la entrada de las AgNPs. Además, la liberación de iones Ag^{+} dentro de la célula permite su interacción con átomos de fósforo y azufre en el ADN, lo que inhibe los procesos de replicación y desencadena la muerte celular, tal como se ilustra en la Figura 6.

Figura 6

Mecanismo de penetración de las AgNPs y liberación de Ag



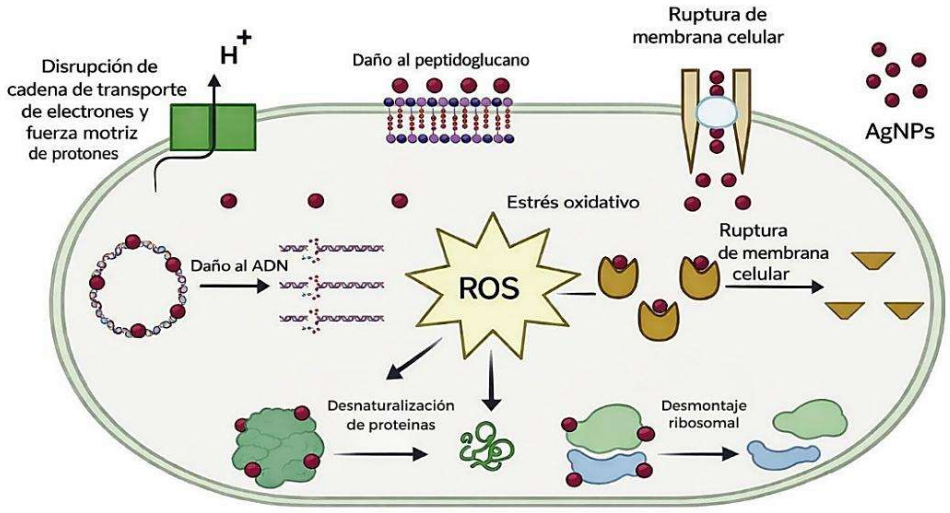
Nota. Tomado de Ccahuana (2025).

3.13.3 Estrés oxidativo

La presencia de AgNPs favorece la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), tales como superóxido, radical hidroxilo y peróxidos. El aumento de ROS provoca daño oxidativo en la membrana celular, las proteínas y el ADN bacteriano, contribuyendo de manera significativa a la inhibición del crecimiento y a la muerte del microorganismo, como se muestra en la Figura 7 (Wahab et al., 2021).

Figura 7

Mecanismo de acción de AgNPs generando ROS en la célula bacteriana



Nota. Adaptado de Wahab S. et al (2021).

3.14 Método de difusión en Agar

El método de difusión en agar, está apoyado por datos clínicos y de laboratorios; y presenta la ventaja que sus resultados son altamente reproducibles (Barry et al., 1979). La técnica está basada en el método originalmente descrito por Bauer et al. (1966) (método de Kirby-Bauer).

Este método de difusión en disco o en pozo fue estandarizado y es actualmente recomendado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS, de Estados Unidos. El fundamento de esta determinación es establecer, en forma cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias, ensayados individualmente, sobre las cepas bacterianas que se aíslan de procesos (Ramírez y Castaño, 2009).

El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar y sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro, o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia (Ramírez y Castaño, 2009).

IV. HIPÓTESIS

El uso de agentes reductores provenientes del extracto de eucalipto, conocidos como antioxidantes, es una alternativa efectiva para la síntesis de nanopartículas de plata, asegurando propiedades para uso antimicrobiano y una calidad que se ve evidenciada en el espectro UV-VIS resultante.

V. METODOLOGÍA

Esta sección presenta en detalle los procedimientos desarrollados para obtener la solución reductora basada en compuestos antioxidantes y la solución precursora de nitrato de plata. Asimismo, se detallan las condiciones experimentales empleadas en la síntesis de nanopartículas de plata, y la caracterización de las mismas mediante espectroscopía UV-VIS. Finalmente, se describe el enfoque metodológico utilizado para evaluar la actividad antimicrobiana de las nanopartículas sintetizadas.

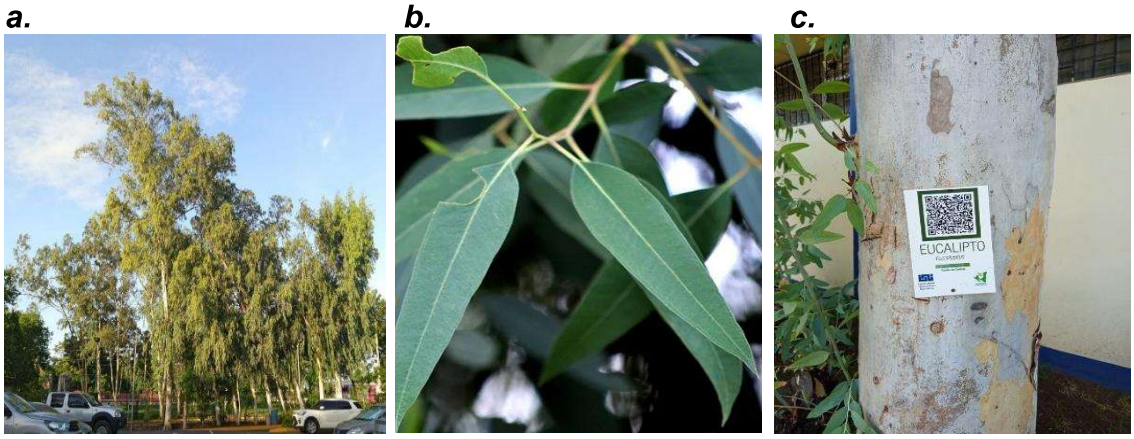
5.1 Síntesis de Nanopartículas

5.1.1 Recolección y tratamiento de Hojas

Para comenzar, se identificó que la fuente más accesible de hojas de Eucalipto fue en el costado este del Recinto Universitario Simón Bolivar de la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI-RUSB). Se identificó que la especie de árbol es *Eucalyptus camaldulensis,* por su apariencia gris que se desprende en placas de corteza y la forma de sus hojas, visualizado en la Figura 8.

Figura 8

Árboles, hoja y corteza de Eucalyptus camaldulensis en la Universidad Nacional de Ingeniería



Nota. Figura (a) correspondiente a los árboles de Eucalipto en el recinto, (b) correspondiente a las hojas de los árboles y (c) correspondiente a la corteza de la especie de árbol.

Se cortaron ramas del árbol que contenían hojas sanas y de color verde, las cuales fueron recolectadas en una bolsa y trasladadas al laboratorio. Posteriormente, las hojas se separaron de las ramas, seleccionándose únicamente aquellas en buen estado y descartándose las que presentaban imperfecciones, daños o suciedad. Las hojas seleccionadas se lavaron con agua potable para eliminar el exceso de polvo y partículas superficiales.

Siguiendo la metodología establecida por Alghoraibi et al. (2024), que usaron hojas secas de *Eucalyptus Camaldulensis*, se colocaron las hojas húmedas en una bandeja de plástico y se introdujeron en un horno Fisher Scientific Isotemp modelo 838 F (ver anexo A.1) a 55 °C como se muestra en la Figura 9. El secado de las hojas se monitoreo cada media hora hasta comprobar que las hojas estuvieran secas y tostadas para poder triturarse. Una vez tostadas, se cortaron las hojas con una tijera en forma de hojuelas pequeñas de aproximadamente 9 cm^2, luego se usó un triturador de alimentos mini chopper marca Premium modelo PMC156R (Ver Anexo A.2) para reducir su tamaño considerablemente a un polvo grueso.

Seguidamente, se continuó reduciendo el tamaño de las hojas con un mortero de ágata hasta formar un polvo fino, el cual posteriormente se tamizó en mallas de 150 µm de abertura, todo esto para garantizar la mejor extracción de componentes antioxidantes útiles para el experimento.

Figura 9

Secado, reducción y tamizado de hojas de Eucalyptus Camaldulensis

a. ***b.*** ***c.***



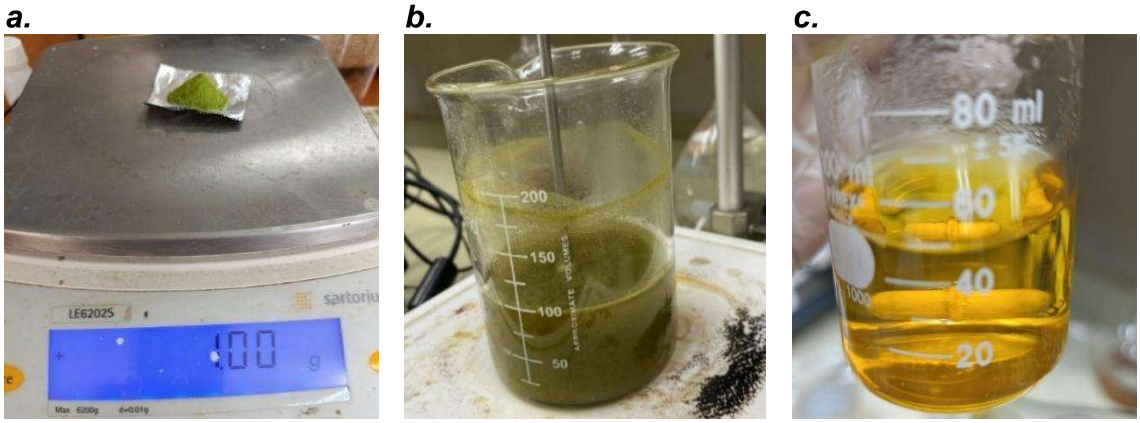
Nota. Donde **(a)** corresponde al secado en bandeja usando horno convectivo, **(b)** a la reducción de tamaño usando un mortero y **(c)** corresponde al tamizado del polvo de hojas de Eucalipto.

5.1.2 Elaboración del extracto de eucalipto

Continuando, se hirvió 100 mL de agua destilada en un vaso de precipitados de 250 mL usando un plato térmico, luego se enfrió por debajo de los 80 °C. A continuación, se pesó 1 g de polvo tamizado de Eucalipto en una balanza Satorius modelo LE6202S, como se observa en la Figura 10, y después se agregó a los 100 mL de agua hervida y se agitó con una varilla de vidrio durante 15 minutos. La preparación se llevó a cabo con agua hervida enfriada para evitar la formación de compuestos no deseados producto de la hidrólisis de los componentes del Eucalipto, siguiendo los pasos de elaboración de extracto de Alghoraibi et al. (2024). Después, se enfrió la solución y se filtró usando un filtro Whatman no. 1, con el que se observó un cambio de color de verde musgo a un color amarillo claro, evidenciado en la Figura 10.

Figura 10

Cambio de color en el extracto de eucalipto producto de la filtración



Nota. Donde **(a)** corresponde al pesaje del polvo tamizado de hojas de eucalipto, **(b)** corresponde al extracto de Eucalipto antes de filtrar y **(c)** corresponde al extracto de Eucalipto filtrado usando filtro Whatman no.1

5.1.3 Preparación de la solución precursora de nitrato de plata

Se tomó como referencia la metodología para la preparación del nitrato de plata empleada por Meléndez et al. (2018) que usaron soluciones de 1mM. Así pues, se prepararon soluciones de 1 mM y 5 mM de nitrato de plata. Para esto, se pesaron 85 mg de nitrato de plata sólido en una balanza analítica marca Mettler modelo AE200 (ver anexo A.4). El nitrato de plata se disolvió en agua destilada y se vertió en un matraz de aforo de 100 mL para obtener la solución de 5mM, ésta fue diluida con agua destilada para obtener la solución de 1mM.

5.1.4 Síntesis de nanopartículas de plata

La etapa de síntesis se inició una vez preparada la solución reductora y precursora. Para cada ensayo, se mezclaron 50 mL de la solución de $AgNO_3$ con un volumen variable de extracto vegetal. También, se usó hidróxido de sodio 1 N y ácido sulfúrico 1 N para el ajuste del pH de las soluciones. Se agitó constantemente a temperatura controlada y establecida en un plato térmico con agitador magnético, durante un tiempo fijo de 15 minutos a 300 rpm, siguiendo la metodología empleada por Meléndez et al. (2018). Para esto, se usó un montaje de laboratorio propio mostrado en la Figura 11.

Figura 11

Montaje de laboratorio para la síntesis de Nanopartículas



Se propuso la aplicación de un Diseño de Experimentos (DoE) tipo Box-Behnken, el cual permitió evaluar simultáneamente el efecto de tres factores y sus interacciones sobre las variables respuesta, utilizando un número reducido de ensayos experimentales. A su vez, se trabajó con un duplicado para mejorar la fiabilidad del experimento.

De este modo, las variables importantes y niveles definidos para este diseño de experimento se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Variables y niveles para diseño de experimento Box Behnken.

Variable	Nivel bajo (-1)	Nivel medio (0)	Nivel alto (+1)
Temperatura de reacción (°C)	60	73	85
pH de reacción	3.5	5	6.5
Volumen de la solución reductora (mL)	1	3	5

Con las variables claras, se diseñaron las corridas de los experimentos usando el software **Minitab®**, versión 19.1 (Minitab LLC, State College, PA, EE. UU.) y se obtuvo la Tabla 2, que indica un DoE Box-Behnken de 15 tratamientos, con dos réplicas para cada uno, con la finalidad de mejorar la fiabilidad de los resultados, y observar la reproducibilidad de los experimentos.

Tabla 2

Tratamientos del diseño de experimentos Box-Behnken con dos réplicas.

Orden Estadístico	Orden Corrida	Tipo Punto	Bloques	T (°C)	pH	V_red (mL)
23	1	2	1	85	5	5
5	2	2	1	60	5	1
10	3	2	1	73	6.5	1
24	4	2	1	73	3.5	1
4	5	2	1	85	6.5	3
6	6	2	1	85	5	1
16	7	2	1	60	3.5	3
30	8	0	1	73	5	3
27	9	2	1	73	6.5	5
2	10	2	1	85	3.5	3
28	11	0	1	73	5	3
9	12	2	1	73	3.5	1
11	13	2	1	73	3.5	5
21	14	2	1	85	5	1
25	15	2	1	73	6.5	1
17	16	2	1	85	3.5	3
26	17	2	1	73	3.5	5
3	18	2	1	60	6.5	3
29	19	0	1	73	3.5	3
14	20	0	1	73	3.5	3
20	21	2	1	60	5	1
7	22	2	1	60	5	5
22	23	2	1	60	5	5
19	24	2	1	85	6.5	3
18	25	2	1	60	6.5	3
1	26	2	1	60	3.5	3
12	27	2	1	73	6.5	5
15	28	0	1	73	5	5
13	29	0	1	73	5	5
8	30	2	1	85	5	5

Nota. Donde T(°C) corresponde a la temperatura alcanzada durante la síntesis, pH indica el valor de pH alcanzado en la síntesis, y V_red (mL) representa el volumen de extracto de Eucalipto utilizado como solución reductora de los iones de plata.

En cada una de las soluciones se observó un cambio de color, pasando de transparente a un color café claro, un color blanco y un color café oscuro, indicando en primera instancia la efectividad de la formación de las nanopartículas de plata.

5.2 Caracterización de los ensayos

Una vez sintetizadas, cada una de las muestras se pasó a un frasco color ámbar, o en su defecto, un tubo de ensayo con tapa envuelto en papel aluminio, esto con el fin de preservar mejor las nanopartículas. Luego, se transportaron las muestras en una bandeja hasta el laboratorio de MicroPoluentes del PIENSA.

Para continuar, se caracterizó cada una de las muestras mediante espectroscopía UV-VIS, se usó un espectrofotómetro marca HACH DR6000 (ver anexo A.6), con la ayuda de celdas de cuarzo. Se realizó una lectura de barrido de absorbancia desde los 200 hasta los 750 nm, en busca de una curva ubicada dentro de los 300 y 600 nm, como lo describe Saxena, et al. (2010).

Se usaron guantes de látex para tomar las celdas, y se limpiaron constantemente cada una con toallas húmedas Clínex. Primeramente, se midió una celda que contenía la solución blanco, que era agua destilada. Luego, con la ayuda de un gotero, se tomaron muestras del frasco con solución de nanopartículas y se realizó el barrido en el espectro disponible, se guardaron los datos en una memoria USB para su futuro análisis, y así se realizó con cada una de las 30 muestras.

Adicionalmente, se repitió la caracterización de cada una de las muestras durante tiempos de hasta 14 días en algunas muestras, en los que se observó variaciones en el espectro obtenido. Durante este tiempo, se conservó las muestras en una refrigeradora a 5 °C para evitar la exposición de las muestras a la luz y reducir la agregación de las nanopartículas.

5.2.1 Diseño de experimento adicional

Se siguió las variaciones presentadas en el diseño de experimento inicial con el fin de obtener el mejor ensayo disponible. Sin embargo, a partir de los resultados obtenidos surgió la necesidad de emplear un segundo diseño experimental. Así pues, se diseñó un experimento siguiendo los mejores resultados obtenidos en el diseño anterior, este se basó en un diseño factorial 2^3 enfocado en estudiar la concentración de la solución precursora. Al ser un diseño de tres variables y dos niveles cada una, se establecieron los parámetros presentados en la Tabla 3.

Tabla 3

Variables y niveles usados en diseño de experimento factorial 2^3

Variable	Nivel bajo (-1)	Nivel alto (+1)
Temperatura de reacción (°C)	60	80
Concentración de Nitrato de plata (mM)	1	5
Volumen de la solución reductora (mL)	1	5

Con las variables establecidas, se diseñaron las corridas experimentales usando el software **Minitab®**, versión 19.1 (Minitab LLC, State College, PA, EE. UU.) y se obtuvo la Tabla 4.

Tabla 4

Tratamientos del diseño de experimento factorial 2^3 con dos réplicas

Orden Estadístico	Orden Corrida	Punto Central	Bloques	T (°C)	[$AgNO_3$] (mMolar)	V_red (mL)
1	1	1	1	60	1	1
4	2	1	1	60	5	1
5	3	1	1	60	1	5
3	4	1	1	60	5	5
8	5	1	1	80	1	1
2	6	1	1	80	5	1
7	7	1	1	80	1	5
6	8	1	1	80	5	5
1	1	1	1	60	1	1
4	2	1	1	60	5	1
5	3	1	1	60	1	5
3	4	1	1	60	5	5
8	5	1	1	80	1	1
2	6	1	1	80	5	1
7	7	1	1	80	1	5
6	8	1	1	80	5	5

Nota. Donde T(°C) es la temperatura alcanzada en la síntesis, [$AgNO_3$] (mMolar) es la concentración inicial de la solución precursora de Nitrato de Plata y V_red (mL) es el volumen usado del extracto de eucalipto como solución reductora de los iones de plata.

Este diseño se enfocó en complementar el diseño anterior, se varió la concentración de nitrato de plata para observar su influencia directa dentro de los mejores ensayos obtenidos en los experimentos anteriores. Además, se realizaron estos ensayos en el laboratorio de Biotecnología Microbiana “Felipe y Mary Barrera” en la Universidad Nacional Héroes de San José de las Mulas (UNHSJM).

Se siguió la misma metodología descrita en la sección 5.1, con la excepción de haber usado otros equipos. Se pesaron los reactivos en una balanza analítica OHAUS Pioneer™ Plus PX (ver anexo A.7). De igual manera, se usó un montaje de laboratorio, mostrado en la Figura 13, para medir la temperatura de la reacción. Se observó cambios de color a un único color marrón claro, indicativo de la presencia de nanopartículas en suspensión. Esta vez, se evidenciaron las coloraciones de los reactivos y las nanopartículas, presentado en la Figura 12.

Figura 12

Coloración de soluciones en el proceso de síntesis de Nanopartículas de Plata



Figura 13

Montaje realizado para la síntesis de nanopartículas en el laboratorio de Biotecnología Microbiana “Felipe y Mary Barrera”



5.2.2 Caracterización de ensayos complementarios

Se caracterizaron los ensayos adicionales en celdas de cuarzo usando un espectrofotómetro VWR UV-3100PC (Ver Anexo A.8), disponible en el laboratorio de Biotecnología Microbiana “Felipe y Mary Barrera” de la UNHSJM. Se realizó un barrido entre 300 y 700 nm. Se obtuvieron curvas que fueron guardadas para procesarse a detalle antes de determinar sus propiedades antimicrobianas.

5.2.3 Criterios de selección de mejores ensayos

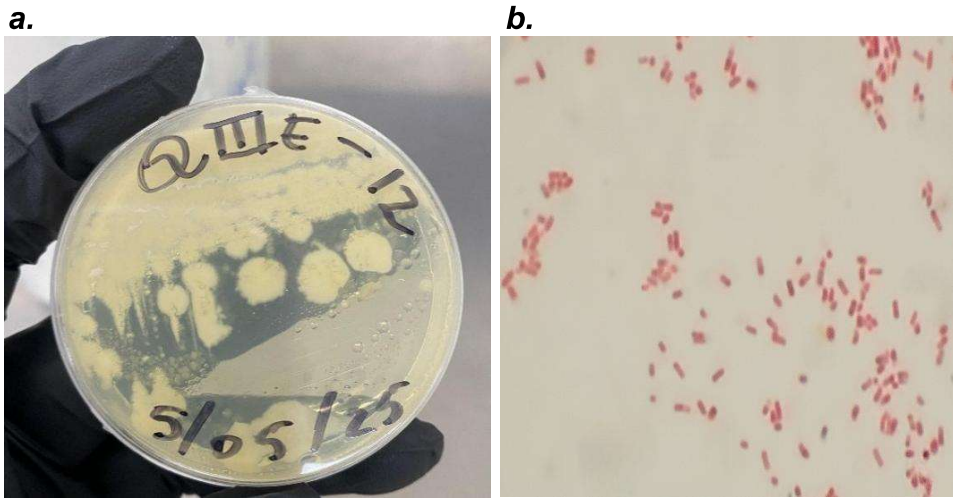
Una vez obtenidas las gráficas, se analizaron siguiendo los criterios presentados en la sección 3.8.2. Se basó principalmente en la forma del espectro UV-VIS, y se determinó dos mejores corridas experimentales, tomando también en cuenta la altura del pico, el ancho medio y el desplazamiento del pico SPR. Posteriormente, se determinaron las propiedades antimicrobianas de los ensayos 1 y 2.

5.3 Determinación de propiedades antimicrobianas

Para evaluar la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata (AgNPs), se empleó el método de difusión en agar, también conocido como método de Kirby-Bauer (Bauer et al., 1966), utilizando como organismo modelo la bacteria *Escherichia coli QIIIE-12*, bacilo Gram negativo (Véase Figura 14). Esta cepa fue proporcionada por el banco de microorganismos del Laboratorio Especializado de Biotecnología Ambiental del Programa de Investigación, Estudios Nacionales y Servicios del Ambiente (UNI-PIENSA), y fue originalmente aislada de bacterias identificadas en una quesera artesanal, conforme a lo documentado por Delgado y Fonseca (2019) en la tesis *Bioprospección microbiana dirigida a identificar microbiológica y molecularmente microorganismos de utilidad agrícola e industrial en Nicaragua.*

Figura 14

Cepa bacteriana utilizada en la evaluación de la actividad antimicrobiana



Nota: **(a)** Cultivo de *Escherichia coli QIIIE-12* en medio sólido; y **(b)** Tinción de Gram donde se observan bacilos Gram negativos.

El procedimiento experimental se desarrolló en dos etapas, realizadas en distintos laboratorios. La primera, correspondiente a la siembra de la cepa bacteriana, se efectuó en el Laboratorio Especializado de Biotecnología Ambiental UNI-PIENSA. Las etapas posteriores se llevaron a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Microbiana Felipe y Mary Barrera en la UNHSJM.

El método de difusión se basó en los pasos establecidos por el Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana descrito por Cavalieri et al., (2005), con ciertas modificaciones adaptadas a las condiciones del estudio:

5.3.1 Siembra de las bacterias

Se utilizó agar Luria-Bertani (LB), previamente preparado y conservado en tubos de ensayo refrigerados, proporcionados por el Laboratorio Especializado de Biotecnología Ambiental (UNI-PIENSA). Los tubos se descongelaron mediante baño maría en un beaker con agua colocados sobre una plancha de calentamiento a temperatura máxima, hasta obtener un medio de consistencia completamente líquida. Posteriormente, se retiraron de la fuente de calor y se dejaron enfriar durante aproximadamente 10 minutos.

Bajo condiciones estrictamente asépticas y utilizando un mechero Bunsen encendido como fuente de esterilidad, el agar fundido se distribuyó en cajas Petri de 100 × 15 mm, permitiéndose su solidificación a temperatura ambiente. Luego, se procedió a la siembra de la cepa *Escherichia coli QIIIE-12* mediante un asa bacteriológica previamente flameada y enfriada sobre una zona estéril del agar. Se seleccionaron colonias aisladas y se sembraron en las placas utilizando la técnica de estría por agotamiento como se muestra en la Figura 15. Finalmente, las placas se incubaron en posición invertida a 35 °C durante 24 horas.

Figura 15.

Pasos para la siembra de bacterias por la técnica de agotamiento.



Nota. Tomado de Rojas (2011).

5.3.2 Selección de la colonia

Después de 24 horas de incubación, se seleccionó la placa que presentó una distribución uniforme del crecimiento bacteriano. A partir de esta, se escogieron cuatro colonias aisladas, con morfologías y tamaños similares, utilizando un asa bacteriológica bajo condiciones estériles y con el mechero encendido. Esta selección permitió garantizar que el inóculo empleado en las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana fuera representativo de la cepa en estudio.

5.3.3 Preparación de la suspensión y estandarización del inóculo

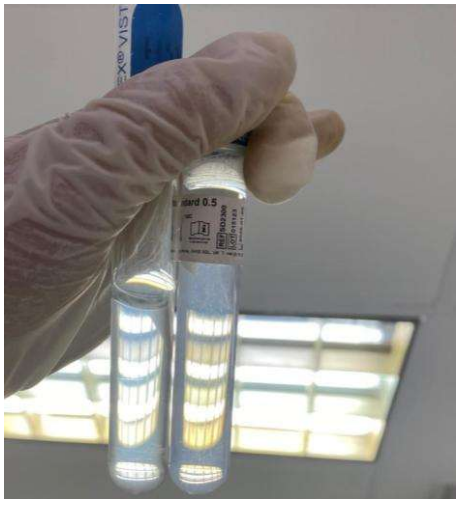
La suspensión del inóculo se preparó mediante el método de suspensión directa de colonias siguiendo lo descrito por Cavalieri et al., (2005). Las cuatro colonias seleccionadas se transfirieron a un tubo de ensayo que contenía 5 mL de cloruro de sodio (NaCl) al 0.9 %. La mezcla se homogeneizó utilizando un mezclador de vórtice Fisher Scientific (ver anexo A.9) a una velocidad de 1767 rpm, con el fin de obtener una suspensión uniforme.

La turbidez de la suspensión se ajustó cuidadosamente mediante comparaciones sucesivas con un patrón comercial previamente estandarizado, hasta alcanzar una turbidez equivalente al estándar 0.5 de McFarland como se muestra en la Figura 16, correspondiente a una concentración de 1.5×10^8 UFC/mL.

Adicionalmente, se determinó la absorbancia del inóculo a una longitud de onda de 625 nm, obteniéndose un valor de 0.094, el cual se encuentra dentro del rango de 0.08 – 0.13 establecido por Rodríguez et al. (2022). Dicho rango corresponde a una densidad celular equivalente a 1.5×10^8 UFC/mL, asociada al estándar 0.5 en la escala de McFarland.

Figura 16

Suspensión del inoculo comparado con el 0.5 Mc Farland



5.3.4 Inoculación de las placas

Durante esta etapa se empleó agar LB en sustitución del agar Mueller-Hinton (MHA) establecido en el protocolo original. Esta modificación se realizó debido a que, en dos preparaciones consecutivas, el medio MHA no presentó una solidificación adecuada (ver anexo B.1). En ambas ocasiones, el agar mostró una consistencia gelatinosa tras el vertido y enfriamiento, lo que impidió efectuar correctamente la inoculación. Ante esta situación, se realizó una revisión bibliográfica que respaldó el uso de agar LB en pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, conforme a lo reportado por Chatterjee et al. (2022), Sarli et al. (2020) y Maiti et al. (2014).

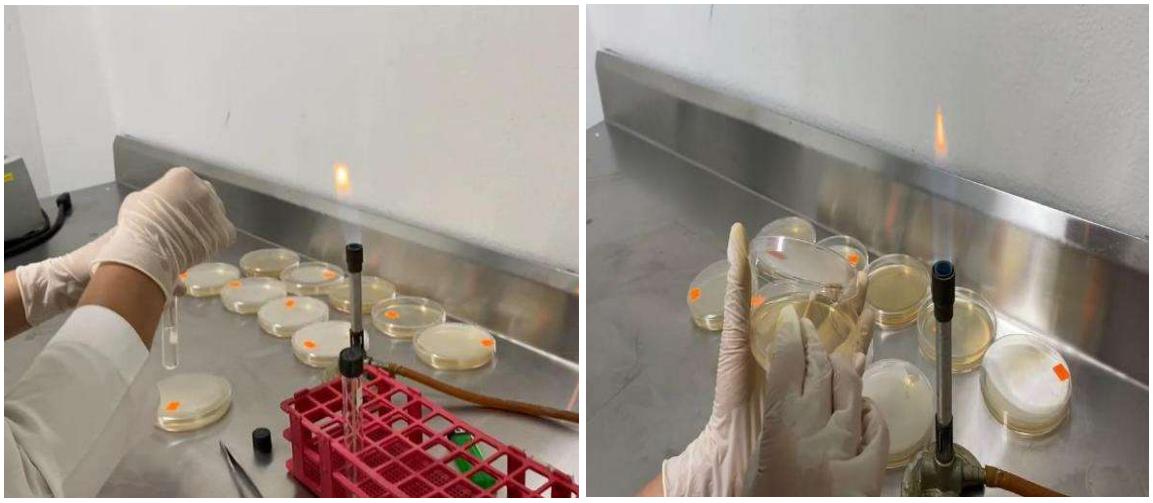
El agar LB se preparó disolviendo 16.4 g del medio en 410 mL de agua destilada, calentando la mezcla hasta su completa disolución y ebullición en una plancha calefactora. Posteriormente, la solución fue esterilizada en autoclave a 121 °C durante 15 minutos y vertida en placas Petri de 100 × 15 mm.

Teniendo ajustada la suspensión bacteriana al estándar de turbidez correspondiente, se sumergió un hisopo de algodón previamente esterilizado en autoclave (121 °C durante 15 minutos) en el tubo de ensayo que contenía la suspensión, y se procedió a realizar la siembra sobre la superficie del agar LB de cada placa como se muestra en la Figura 17. El hisopo se frotó en múltiples direcciones, desde la parte superior de cada placa, girándolas aproximadamente 60° entre cada pasada y repitiendo el proceso tres veces para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Finalmente, las placas sembradas se dejaron incubar de forma invertida durante 15 minutos.

Figura 17

Inoculación de placas con la suspensión bacteriana estandarizada

a. ***b.***



Nota. **(a)** Inmersión del hisopo estéril en la suspensión bacteriana ajustada al estándar de turbidez y **(b)** Distribución del inóculo sobre la superficie del agar LB.

5.3.5 Colocación de discos antimicrobianos

Transcurridos 15 minutos, las placas fueron retiradas de la incubadora y se procedió a la colocación de los discos antimicrobianos. Para su elaboración se empleó papel filtro Whatman No. 1, del cual se obtuvieron discos de 6 mm de diámetro mediante una perforadora. Posteriormente, los discos fueron esterilizados en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Una vez esterilizados, los discos fueron impregnados con 10 µL de las soluciones correspondientes a cada concentración (25, 50, 75 y 100 %), tal como se muestra en la Figura 18, utilizando una micropipeta. Las diluciones se prepararon a partir de la solución madre de AgNPs, empleando agua destilada estéril como diluyente, de forma que cada preparación alcanzara un volumen total de 10 mL. La composición de cada dilución se detalla en la Tabla 5.

Tabla 5

Preparación de las diluciones a diferentes concentraciones

Concentración final (%)	Volumen de la solución de AgNps(mL)	Volumen de agua destilada (mL)
25	2.5	7.5
50	5	5
75	7.5	2.5
100	10	-

Las concentraciones seleccionadas se establecieron con el propósito de evaluar el comportamiento antimicrobiano de las nanopartículas de plata en un gradiente progresivo de dosis, permitiendo determinar la relación entre la concentración del agente y la magnitud del efecto inhibitorio como lo reportado por Kumar y Kavitha (2025).

Cada concentración se aplicó por triplicado en las placas correspondientes. Posteriormente, se esperó 15 minutos para favorecer la difusión inicial del agente. Asimismo, se incluyó un control negativo (agua destilada estéril) y un control positivo de ampicilina, preparado mediante la disolución de 0.6284 g de ampicilina en 100 mL de agua destilada estéril, con una concentración de referencia de 5 g/mL.

Figura 18

Colocación de discos en placa Petri



5.3.6 Incubación de las placas

Tras el periodo de reposo, las placas se invirtieron y se incubaron a 37 °C. Los halos de inhibición se evaluaron en dos periodos de tiempo, primero a las 24 h, para determinar la respuesta inicial de la bacteria, y posteriormente a las 72 h, con el fin de evaluar la estabilidad del halo y detectar posibles cambios en el crecimiento bacteriano alrededor del disco.

5.3.7 Medición de las zonas de inhibición

Al finalizar cada periodo de incubación, se procedió a medir los halos de inhibición. Previamente, se inspeccionó visualmente cada placa para comprobar la uniformidad del crecimiento bacteriano, asegurando que las zonas de inhibición reflejaran de manera precisa la actividad antimicrobiana del agente evaluado. Los diámetros de los halos se midieron en dos direcciones perpendiculares utilizando una regla milimétrica y un contador de colonias, calculándose el promedio de ambas mediciones como valor final.

5.3.8 Análisis estadísticos

Para evaluar el efecto de las nanopartículas de plata (AgNPs) sobre *Escherichia coli QIIIE-12*, se implementó un diseño factorial mixto. Este diseño incluyó tres factores: i) el protocolo de síntesis de las AgNPs, considerado en dos niveles (corrida 1 y 2, previamente seleccionados como los más eficientes); ii) el tiempo de contacto (24 y 72 horas); y iii) la concentración de AgNPs en los discos, evaluada en cuatro proporciones (25%, 50%, 75% y 100%). La Tabla 6 presenta la matriz experimental completa del estudio.

Tabla 6

Variables y niveles del diseño de experimento mixto

Variables	Niveles			
Tiempo de contacto (horas)	24		72	
Corridas seleccionadas	1		2	
Concentración de AgNPs (%)	25	50	75	100

Con base en estas variables, se diseñaron y generaron las corridas experimentales utilizando el software Minitab®, versión 19.1 (Minitab LLC, State College, PA, EE. UU.), con el fin de asegurar una planificación estadísticamente rigurosa del experimento. La Tabla 7 muestra la matriz experimental que sirvió como guía para la ejecución de cada tratamiento y para el análisis posterior de los efectos.

Tabla 7

Tratamientos del diseño de experimento mixto para la determinación de propiedades antimicrobianas

Orden Est	Orden Corrida	Tipo Pt	Bloques	Mejores configuraciones del diseño factorial 2^3	Tiempo (h)	Concentración (%)
1	1	1	1	1	24	25
2	2	1	1	1	24	50
3	3	1	1	1	24	75
4	4	1	1	1	24	100
5	5	1	1	1	72	25
6	6	1	1	1	72	50
7	7	1	1	1	72	75
8	8	1	1	1	72	100
9	9	1	1	2	24	25
10	10	1	1	2	24	50
11	11	1	1	2	24	75
12	12	1	1	2	24	100
13	13	1	1	2	72	25
14	14	1	1	2	72	50
15	15	1	1	2	72	75
16	16	1	1	2	72	100

El objetivo principal de este diseño experimental fue determinar cuantitativamente los factores que influyeron en el diámetro de los halos de inhibición generados por las nanopartículas de plata, considerados como la variable respuesta del estudio. Este análisis permitió establecer la relación entre las condiciones de síntesis (ensayos seleccionados, concentración de AgNPs y tiempo de contacto) y la efectividad antimicrobiana de los tratamientos, proporcionando información objetiva sobre los factores que contribuyeron significativamente a la actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli*.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Síntesis de Nanopartículas de Plata

Después de ejecutar el diseño de experimentos del tipo Box-Behnken, se obtuvieron los valores para las variables respuesta, explicadas en la sección 3.9.2, derivadas de los tratamientos establecidos en dicho diseño. En primera instancia, se anotaron las características del gráfico, que son la ubicación y altura del pico y el ancho medio de la curva que tiene el pico SPR. En la tabla 8, se resumen los parámetros obtenidos a partir del primer día de síntesis de cada combinación de condiciones, establecidas como ensayos. Cabe señalar que respecto a la Tabla 2, en la Tabla 8 se presenta un promedio de réplicas, por lo que las condiciones de síntesis son 15 distintas y no los 30 distintos tratamientos.

Tabla 8

Datos promedio obtenidos de las variables respuestas de los tratamientos planteados en el diseño de experimentos Box-Behnken

#	Temperatura de reacción (°C)	pH	Volumen de Extracto de Eucalipto (mL)	Ubicación del pico SPR (nm)	Absorbancia máxima en Pico SPR (Abs)	Ancho a la altura media del pico SPR (FWHM) (nm)
1	60	5	1	418	0.951	73
2	60	3.5	3	NA	NA	NA
3	60	6.5	3	NA	NA	NA
4	60	5	5	436	2.219	69
5	73	6.5	1	433	0.754	72
6	73	3.5	1	NA	NA	NA
7	73	5	3	NA	NA	NA
8	73	3.5	5	NA	NA	NA
9	73	0.5	5	NA	NA	NA
10	73	5	3	NA	NA	NA
11	73	5	5	427	2.597	90
12	85	6.5	3	430	2.157	83
13	85	5	1	418	0.729	80
14	85	5	5	327	3.257	93
15	85	3.5	3	NA	NA	NA

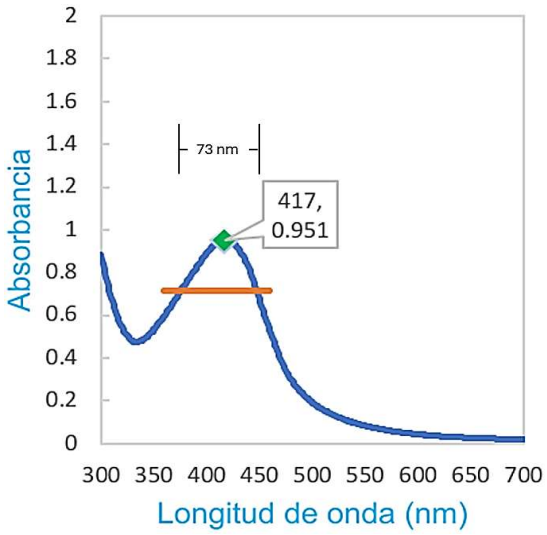
Nota. NA se refiere a No Aplica, en gráficas que no tienen definida la forma característica del espectro. Cada # se refiere al número de ensayo.

Donde: La ubicación del pico SPR es la ubicación del valor máximo que se muestra en la curva característica, la absorbancia máxima es el valor máximo que alcanza la lectura en la curva característica, mientras que el FWHM es el ancho a la altura

media de la curva característica resultante de la medida. Estos parámetros visuales se observan en la Figura 19.

Figura 19

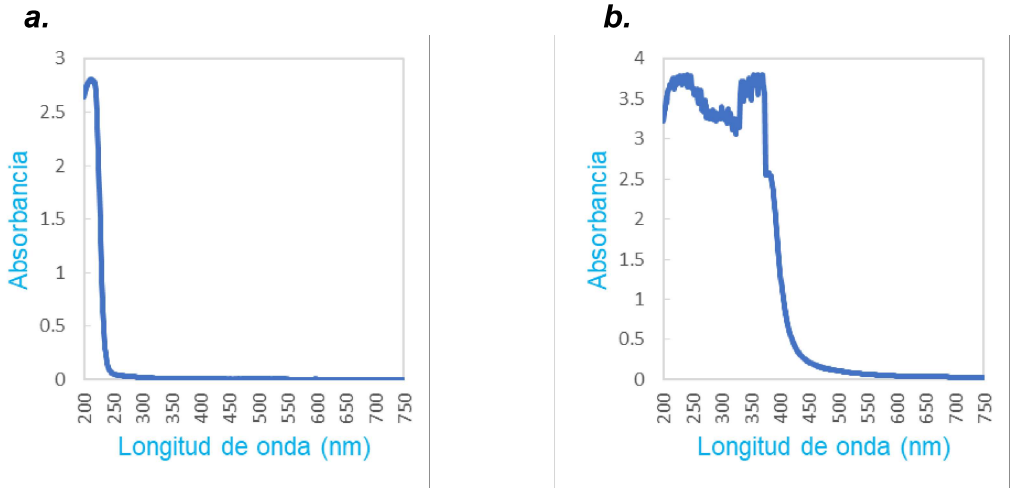
Espectro UV-VIS entre 300 y 700 nm de las condiciones de síntesis #1



También, se obtuvo el espectro UV-VIS de los reactivos de la síntesis, el Nitrato de plata y el extracto de Eucalipto, notando que la plata presente en la solución de nitrato de plata no tiene presencia en las longitudes de onda mayores a 300 nm. Mientras que, todos los compuestos del extracto de eucalipto tienen presencia alrededor de los 400 nm. Esto se evidencia en la Figura 20.

Figura 20

Espectros UV-VIS de los reactivos de la síntesis de nanopartículas de plata

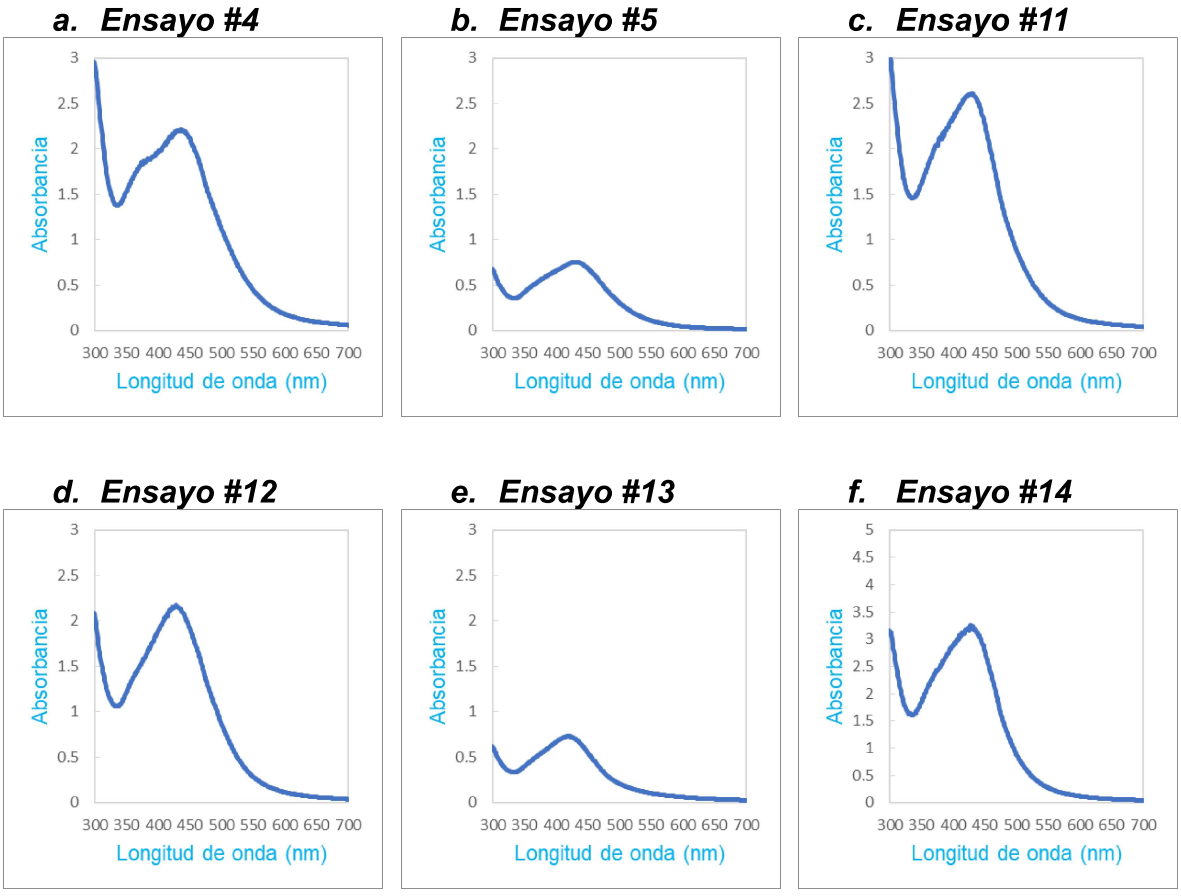


Nota. **(a)** Correspondiente al espectro UV-VIS del Nitrato de Plata y **(b)** correspondiente al espectro UV-VIS del Extracto de Eucalipto.

El ensayo #1 muestra un espectro bien definido, con una campana cuyo pico se ubica en los 417 nm, con una absorbancia máxima de 0.951, lo que indica la formación de las Nanopartículas de plata. Espectros similares se obtuvieron de los ensayos #4, #5, #11, #12, #13 y #14, los gráficos se muestran en la Figura 21.

Figura 21

Gráficos satisfactorios obtenidos de las distintas condiciones de síntesis

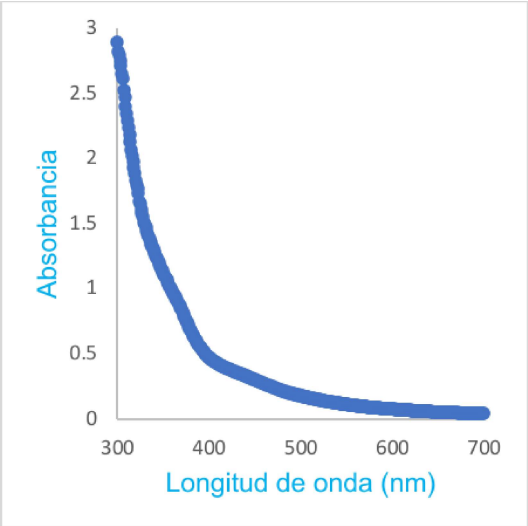


Nota: Donde las condiciones para cada uno fueron: **(a)** 60 °C, pH 3.5 y 3 mL de reductor; **(b)** 73 °C, pH 6.5 y 1 mL de reductor; **(c)** 75 °C, pH 5 y 5 mL de reductor; **(d)** 85 °C, pH 6.5 y 3 mL de reductor; **(e)** 85 °C, pH 5 y 1 mL de reductor; **(f)** 85 °C, pH 5 y 5 mL de reductor.

Por otro lado, para los ensayos #2, #3, #6, #7, #8, #9, #10 y #15 no se obtuvieron los espectros característicos que indicaran la presencia de nanopartículas de Plata. Como caso representativo, se obtuvieron gráficos como el presentado en la Figura 22, que es el ensayo #2, sin forma de campana, ni pico característico. Los demás gráficos se muestran en el Anexo C1.

Figura 22

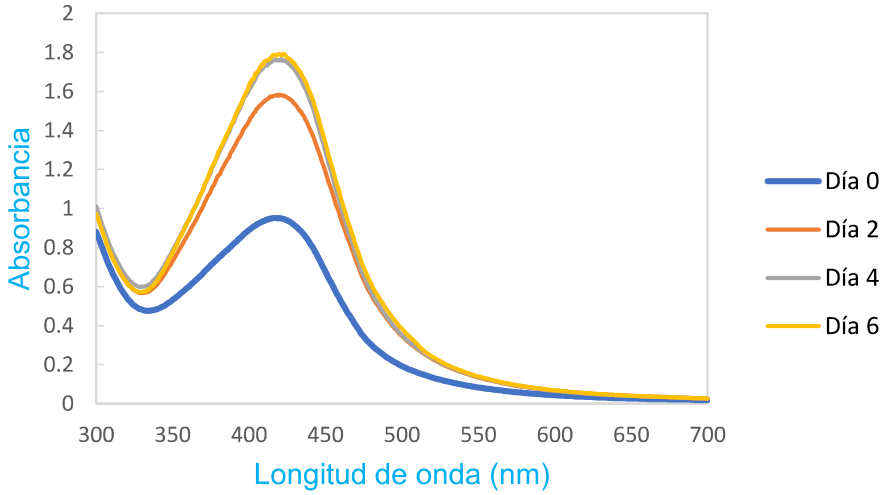
Espectro UV-VIS entre 300 y 700 nm de las condiciones de síntesis #2



Además de observar la forma principal de los gráficos el día de la síntesis, también se evaluó su estabilidad de su forma en el tiempo, midiendo sus espectros en días distintos para corroborar la evolución de la reacción de síntesis. En este sentido, se observó que las gráficas incrementaban en tamaño y tendían a generar mayor ruido, lo que se puede atribuir a una mayor agregación de las nanopartículas. Esto se muestra en la Figura 23, que corresponde al ensayo con la mayor estabilidad en el tiempo. El desarrollo de todos los gráficos se muestra en el Anexo C2.

Figura 23

Desarrollo en el tiempo del espectro UV-VIS del ensayo #1



Con base a lo observado durante la síntesis química, los valores de pH establecidos inicialmente para el diseño experimental del tipo Box-Benhken pudieron no haber sido los más adecuados para lograr la obtención de nanopartículas, lo que se evidenció por la usencia de los espectros característicos. Lo anterior, provocó que los resultados del diseño de experimento del tipo Box-Benhken fueran inconclusos.

A pesar de esto, a partir de los gráficos UV-VIS que se obtuvieron satisfactoriamente, se concluyó que un pH=5 sería una condición favorable para la formación de nanopartículas de plata.

Con los gráficos obtenidos, se estimó que hubo formación de nanopartículas de morfología aproximadamente esféricas, esto gracias a los resultados obtenidos por Dybkova et al. (2024), que declara que “para nanopartículas con un pico de SPR alrededor de 400–420 nm, el tamaño de la partícula suele estar en el rango de 20–40 nm” P. 11. Por lo que, se estima que la solución #1 obtuvo nanopartículas de entre 30 y 45 nm, tomada como referencia al ser la de menor posición.

El cambio de tonalidad no deseado, así como la síntesis fallida mostrada en los ensayos puede explicarse por la reactividad del nitrato de plata, que reacciona con los iones OH^- formando hidróxido de plata (AgOH) y con los iones SO_4^{2-} formando sulfato de plata ($AgSO_4$) dando lugar a precipitados oscuros y blancos, respectivamente, colores observados en las soluciones fallidas. Por lo que, la formación de plata precipitada por los agentes reductores del eucalipto fue casi nula en todos los casos.

Gracias a esto, surgió la necesidad de implementar un diseño de experimento complementario, usando el anterior como una aproximación inicial, el planteo del mismo se muestra en la sección 5.1.6, un diseño factorial 2^3 más sencillo, en el que se incorporó la variable concentración de nitrato de plata para poder ver su efecto directo en los resultados de síntesis.

De esta manera, se obtuvo la Tabla 9 de resultados sobre las características de las curvas obtenidas. A su vez, se estimó el tamaño de cada una de ellas basada en sus las características de su espectro, siguiendo lo establecido por Dybkova et al. (2024).

Tabla 9

Características de la curva del espectro UV-VIS obtenida de los ensayos del Diseño de experimento factorial 2^3 y tamaño estimado

#	Temperatura de reacción (°C)	Concentración de $AgNO_3$ (mM)	Volumen de Extracto de Eucalipto (mL)	Ubicación del pico SPR (nm)	Absorbancia máxima en Pico SPR (Abs)	Ancho a la altura media del pico SPR (FWHM) (nm)	Rango de tamaño estimado (nm)
1	60	1	1	418	1.33	109	30-40
2	60	5	1	421	1.33	110	35-45
3	60	1	5	456	1.69	88	50-60
4	60	5	5	515	2	106	>70
5	80	1	1	419	1.64	123	30-40
6	80	5	1	462	1.8	120	60-70
7	80	1	5	458	1.68	110	40-60
8	80	5	5	500	2	177	>70

Además de las características comunes, también se evaluó la forma de la curva del espectro UV-VIS que se obtuvo. Así pues, únicamente dos espectros indicaron una producción limpia de nanopartículas, presentando una curva definida y parámetros que concuerdan con resultados como los de Saxena et al. (2010) y Dagher et al. (2025), que obtuvieron curvas con picos entre los 400 y 450 nm, como se muestra en la Figura 24.

Además, estos ensayos se estima que obtuvieron un tamaño de partículas menor a 40 nm, efectivos contra microorganismos por su tamaño. Por otro lado, a pesar de que en ensayo #5 obtuvo resultados similares, su absorbancia y anchura a media altura nos indica una mayor presencia y posible polidispersidad de las nanopartículas obtenidas. Por esto, desde el punto de vista de la optimización del uso de energía en forma de calor, se optó por usar los ensayos a menor temperatura que presentaron mejores características.

Se evidenció que las condiciones más favorables para la síntesis de nanopartículas de plata se alcanzan a temperaturas moderadas y con proporciones equilibradas entre la concentración de nitrato de plata y el volumen del extracto de *Eucaylptus camaldulensis.*

Al comparar los distintos ensayos, se observaron variaciones en la intensidad y anchura del pico SPR, lo cual permite inferir diferencias relativas en la distribución de tamaños y estabilidad coloidal de las nanopartículas. Singh et al. (2018) señalan que un pico SPR estrecho indica una distribución de tamaño más homogénea, mientras que un ensanchamiento del pico sugiere polidispersidad en el sistema. En este sentido, los ensayos realizados a menores temperaturas

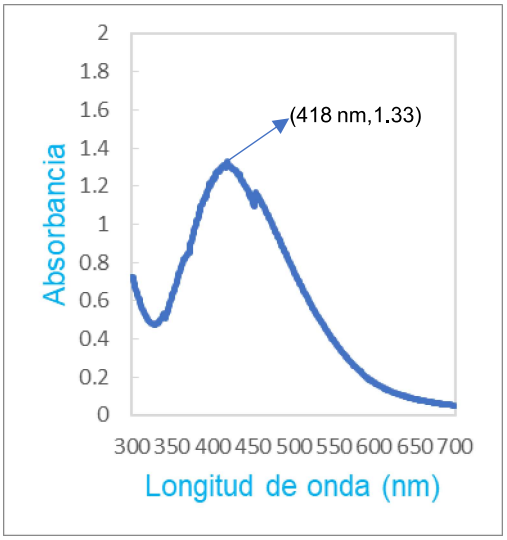
presentaron picos SPR mejor definidos y con menor ensanchamiento, lo que sugiere una síntesis más controlada bajo estas condiciones.

Asimismo, la forma y la anchura del pico SPR están influenciadas por parámetros de síntesis como la temperatura, la concentración del precursor metálico y la cantidad de agente reductor, como en los resultados mostrados por Dagher et al. (2025). Esta afirmación respalda las diferencias cualitativas observadas entre los ensayos del diseño factorial y el diseño Box-Behnken, donde este último permitió identificar condiciones que favorecieron espectros más consistentes, reflejando una mayor estabilidad relativa del sistema.

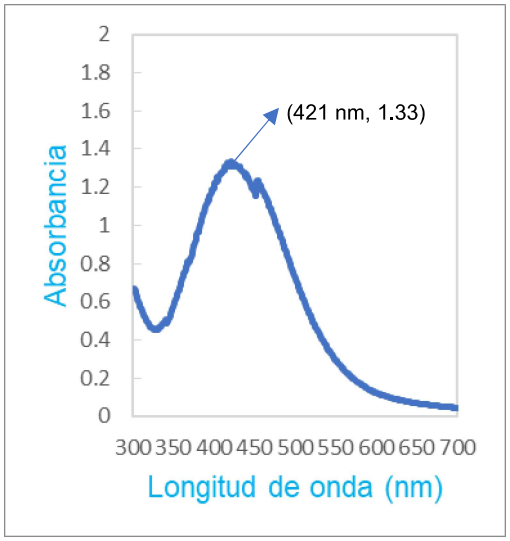
Figura 24

Espectros UV-VIS de los mejores ensayos

a. Ensayo #1



b. Ensayo #2

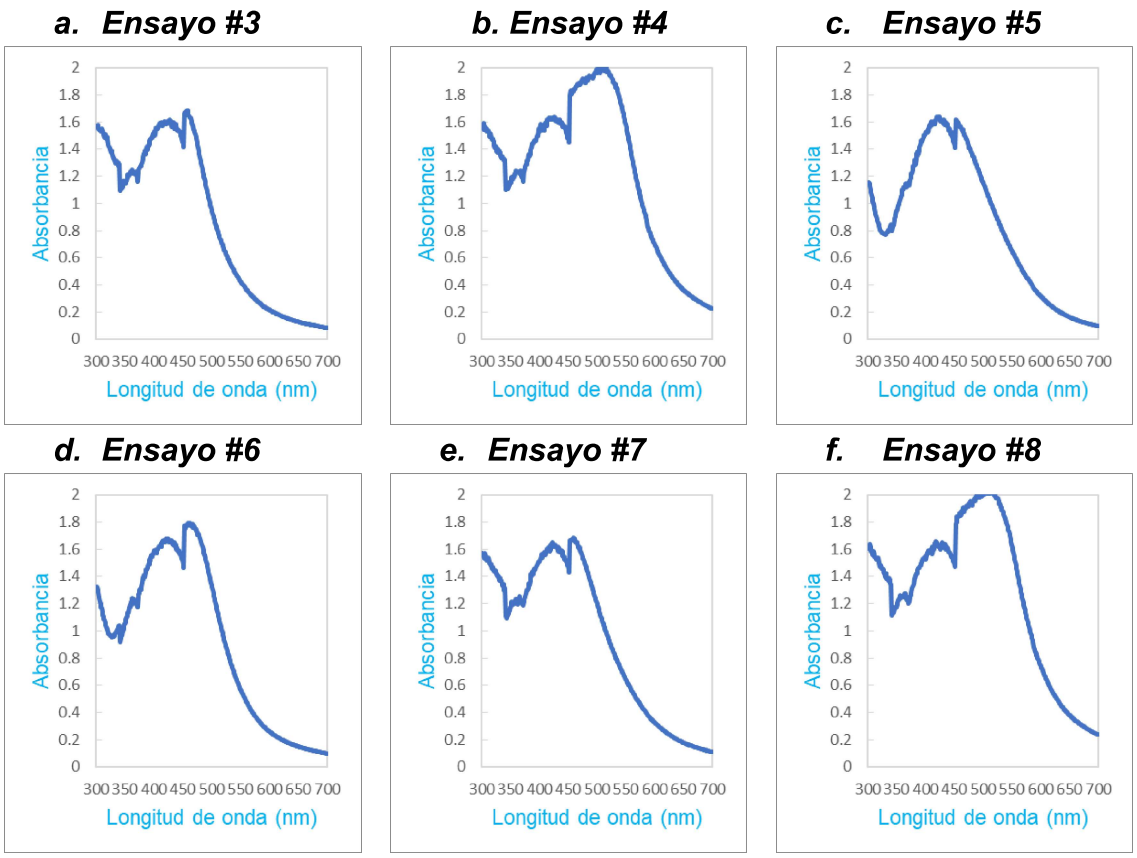


Nota: Obtenidos a 60 °C y 1 mL de extracto de eucalipto en donde **(a)** Concentración de nitrato de plata de 1mM y **(b)** Concentración de Nitrato de plata 5 mM.

Aunque para todas las muestras se obtuvo un cambio de color indicativo de la presencia de nanopartículas, los gráficos de los ensayos #3, #4, #5, #6, #7 y #8 revelaron una posible polidispersidad de las nanopartículas, al no formarse solamente una curva uniforme en su espectro y presentar unas “Jorobas” a lo largo de la misma, los espectros se muestran en la Figura 25.

Figura 25

Espectro UV-VIS de ensayos del #3 al #8 del diseño de experimentos factorial 2^3



Nota: Donde las condiciones de cada uno fueron **(a)** 60 °C, 1 mM $AgNO_3$ y 5 mL de Reductor; **(b)** 60 °C, 5 mM $AgNO_3$ y 5 mL de Reductor; **(c)** 80 °C, 1 mM $AgNO_3$ y 1 mL de Reductor; **(d)** 80 °C, 5 mM $AgNO_3$ y 1 mL de Reductor; **(e)** 80 °C, 1 mM $AgNO_3$ y 5 mL de Reductor; **(f)** 80 °C, 5 mM $AgNO_3$ y 5 mL de Reductor.

Por lo tanto, los ensayos seleccionados para analizar sus propiedades antimicrobianas más a fondo, fueron los ensayos #1 y #2, ya que presentaron condiciones favorables de síntesis y un tamaño necesario para poder actuar como agentes antimicrobianos. Gracias a esto, pasaron a ser parte del análisis para determinar si se encuentra diferencia significativa entre ambos, ya que difieren en la concentración inicial de la solución precursora de nitrato de plata.

En conjunto, el análisis de las condiciones de síntesis permite concluir que las variables experimentales influyen directamente en las propiedades inferidas de las nanopartículas, y que las condiciones de temperaturas alrededor de 60 °C favorecen la obtención de sistemas coloidales más estables, en concordancia con lo reportado en la literatura.

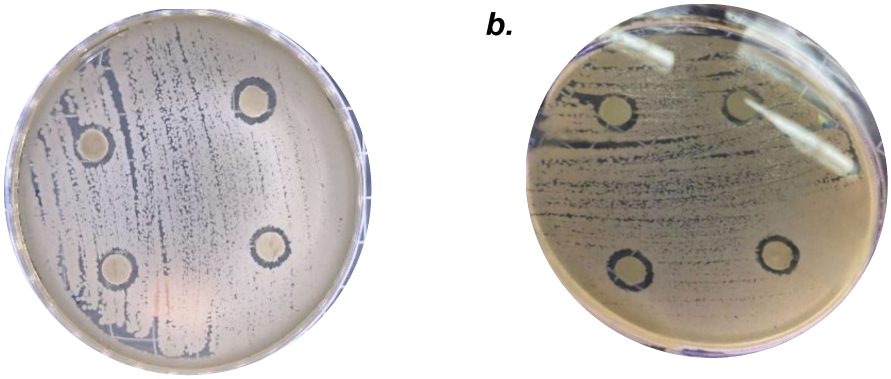
6.2 Actividad antimicrobiana

Con el objetivo de evaluar la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata (AgNPs), se analizó su comportamiento frente a la bacteria *Escherichia coli QIIIE-12*. Las Figuras 26 y 27 presentan imágenes representativas de los ensayos 1 y 2 a las 24 y 72 horas, respectivamente, seleccionadas para ilustrar el efecto inhibitorio observado. Cada ensayo fue realizado por triplicado; las variaciones en el diámetro de los halos de inhibición entre las réplicas fueron consideradas en el análisis estadístico y se reportan de forma cuantitativa en la Tabla 10, mientras que las imágenes correspondientes a las demás réplicas se incluyen en el anexo D.

Figura 26

Halos de inhibición producidos por nanopartículas de plata

a. ***b.***

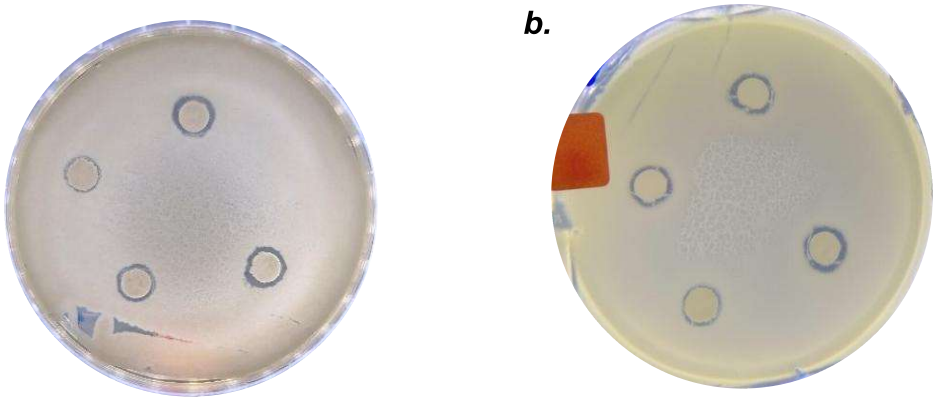


Nota. La figura **(a)** representa la réplica 1 con respecto al halo obtenido del ensayo #1 a las 24 horas; la figura **(b)** representa la réplica 1 con respecto al halo obtenido del ensayo # 1 a las 72 horas.

Figura 27

Halos de inhibición producidos por nanopartículas de plata

a. ***b.***



Nota. La figura **(a)** representa la réplica 1 con respecto al halo obtenido del ensayo #2 a las 24 horas; la figura **(b)** representa la réplica 1 con respecto al halo obtenido del ensayo # 2 a las 72 horas.

6.3 Análisis estadístico de la actividad antimicrobiana

De acuerdo con lo descrito en el apartado 5.3.8, se presenta la Tabla 10, la cual resume las mediciones de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos mediante el método de Kirby–Bauer para evaluar la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata. En esta Tabla, el factor A corresponde a los tiempos de 24 h (-) y 72 h (+), el factor B hace referencia a los ensayos #1 (-) y #2 (+) seleccionados como los mejores del diseño de experimentos factorial 2^3 y C a la concentración de AgNPs a diferentes diluciones 25% (- -), 50% (- +), 75% (+ -) y 100% (++). Para el análisis estadístico de los resultados, se realizaron tres mediciones de tamaño de cada halo correspondiente a las réplicas (M1, M2, M3).

Tabla 10

Resultados correlacionales experimentales

Número de correlación	Factor codificado			Tamaño del halo (mm)			Media	Desviación estándar
	A	B	C	M1	M2	M3		
1	-	-	- -	9	7	10	9	1.53
2	-	-	- +	10	10	11	10	0.58
3	-	-	+ -	10	10	12	11	1.15
4	-	-	+ +	11	11	12	11	0.58
5	-	+	- -	7	10	11	9	2.08
6	-	+	- +	9	11	11	10	1.15
7	-	+	+ -	10	12	12	11	1.15
8	-	+	+ +	10	12	13	12	1.53
9	+	-	- -	8	7	9	8	1.00
10	+	-	- +	9	9	10	9	0.58
11	+	-	+ -	10	10	12	11	1.15
12	+	-	+ +	11	12	12	12	0.58
13	+	+	- -	7	10	11	9	2.08
14	+	+	- +	9	10	11	10	1.00
15	+	+	+ -	9	12	12	11	1.73
16	+	+	+ +	10	12	12	11	1.15

Todos los diámetros de inhibición obtenidos a partir de los discos impregnados con nanopartículas de plata fueron comparados con el control positivo de ampicilina a una concentración de 5 µg/mL, el cual presentó un diámetro promedio de inhibición de 13.5 mm, valor registrado en la Tabla 11. Asimismo, se incluyó un control negativo con el fin de verificar la ausencia de actividad antimicrobiana en el medio sin agentes inhibidores, tal como se observa en la Figura 28. Estos controles permitieron corroborar la efectividad de las nanopartículas en el medio LB, empleado como sustituto en las pruebas de susceptibilidad.

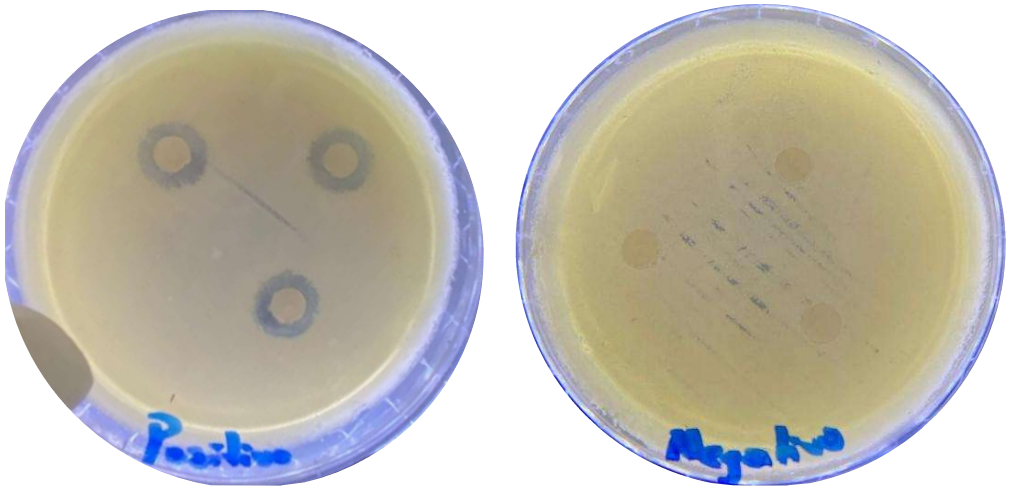
Tabla 11

Control positivo de Ampicilina

Halos del control positivo (Ampicilina)				
Discos	**Horizontal (mm)**	**Vertical (mm)**	**Promedio**	**DE**
1	13	14	13.5	0.71
2	14	14	14	0
3	13	13	13	0
Total			13.5	0.4

Figura 28

Control positivo de ampicilina y control negativo de agua destilada



Los resultados presentados en la Tabla 10 mostraron que las nanopartículas de plata generaron halos de inhibición entre 8 y 12 mm, lo cual confirmó que la síntesis empleando extracto de *Eucalyptus camaldulensis* como agente reductor fue efectiva y permitió obtener partículas con actividad antimicrobiana. Estos valores fueron comparables a los reportados por Awwad et al. (2013) y Gomathi et al. (2017), quienes describieron diámetros similares en nanopartículas obtenidas mediante síntesis biológica.

La actividad antibacteriana observada podría relacionarse con los mecanismos descritos en la literatura para las nanopartículas de plata, tales como la adhesión a la membrana bacteriana, la liberación de iones Ag^{+} y la generación de especies reactivas de oxígeno, procesos reportados por Dagher et al. (2025). En este sentido, la formación de halos de inhibición registrada en el presente estudio resulta concordante con el efecto antimicrobiano previamente documentado para las AgNPs.

El halo máximo registrado para las nanopartículas fue de 12 mm, valor cercano al promedio obtenido para la ampicilina (13.5 mm), lo que indicó que el antibiótico presentó una actividad ligeramente superior bajo las condiciones evaluadas. No obstante, la proximidad entre los diámetros sugiere que las nanopartículas mostraron un efecto antimicrobiano relevante y potencial como agente alternativo o complementario, en concordancia con lo señalado por Mares (2015), quien indicó que las nanopartículas de plata podrían alcanzar niveles de inhibición comparables a los antibióticos convencionales cuando se emplean en concentraciones adecuadas.

6.4 Análisis ANOVA

Con base en los datos de correlaciones experimentales reportados en la Tabla 10, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) con el propósito de determinar cuál de las variables evaluadas: tiempo de contacto, número de ensayos y concentración de nanopartículas de plata en los discos mostró mayor influencia sobre la inhibición del crecimiento de *E. coli*. La Tabla 12 presenta los resultados del análisis, junto con las hipótesis estadísticas formuladas. Asimismo, para evaluar la posible interacción entre los factores y su significancia respecto al diámetro del halo de inhibición, se consideraron las combinaciones A, B, C, AB, AC, BC y ABC, aplicando una prueba de significancia estadística considerando un valor de $p < 0.05$.

Tabla 12

Análisis de Varianza (ANOVA)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	15	55.646	3.7097	2.25	0.026
Lineal	5	52.271	10.4542	6.35	0.000
Ensayo	1	2.521	2.5208	1.53	0.225
Tiempo	1	1.021	1.0208	0.62	0.437
Concentración	3	48.729	16.2431	9.87	0.000
Interacciones de 2 términos	7	2.312	0.3304	0.2	0.983
Ensayo*Tiempo	1	0.021	0.0208	0.01	0.911
Ensayo*Concentración	3	1.562	0.5208	0.32	0.813
Tiempo*Concentración	3	0.729	0.2431	0.15	0.93
Interacciones de 3 términos	3	1.063	0.3542	0.22	0.885
Ensayo*Tiempo*Concentración	3	1.063	0.3542	0.22	0.885
Error	32	52.667	1.6458		
Total	47	108.312			

- Hipótesis 0: Ni el tipo de ensayo, ni el tiempo de contacto, ni la concentración de nanopartículas de plata, ni sus interacciones tienen efecto sobre el crecimiento del halo de inhibición.

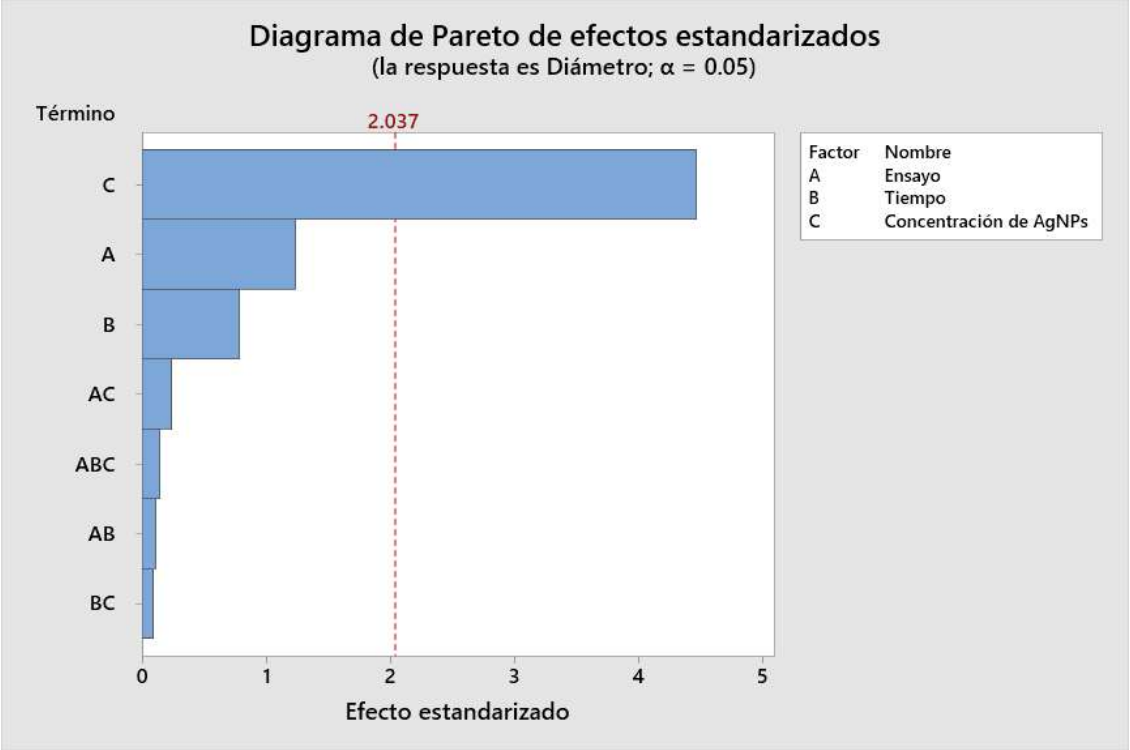
- Hipótesis 1: No hay efecto del ensayo sobre el crecimiento del halo de inhibición.
- Hipótesis 2: No hay efecto del tiempo de contacto sobre el crecimiento del halo de inhibición.
- Hipótesis 3: No hay efecto de la concentración de nanopartículas de plata sobre el crecimiento del halo de inhibición.
- Hipótesis 4: No hay interacción entre el ensayo y el tiempo de contacto sobre el crecimiento del halo de inhibición.
- Hipótesis 5: No hay interacción entre el ensayo y la concentración de nanopartículas de plata sobre el crecimiento del halo de inhibición.
- Hipótesis 6: No hay interacción entre el tiempo de contacto y la concentración de nanopartículas de plata sobre el crecimiento del halo de inhibición.
- Hipótesis 7: No hay interacción triple entre el ensayo, el tiempo de contacto y la concentración de nanopartículas de plata sobre el crecimiento del halo de inhibición.

Los resultados de la Tabla 11 evidenciaron que el modelo global del ANOVA fue estadísticamente significativo ($p = 0.026$), lo que indicó que al menos uno de los factores evaluados ejerció un efecto sobre el diámetro del halo de inhibición. El análisis de los efectos principales mostró que ni el tipo de ensayo ni el tiempo de contacto presentaron influencia significativa sobre la respuesta, lo que sugiere que estas variables no influyeron en la actividad antimicrobiana en las condiciones evaluadas. Este comportamiento coincide con lo descrito en estudios previos, donde se ha observado que variaciones en el tiempo de exposición no necesariamente generan incrementos apreciables en las zonas de inhibición bacteriana, tal como se ha reportado en investigaciones como la de Camacho y Deschamps (2013).

En contraste, la concentración de nanopartículas de plata mostró un efecto altamente significativo ($p = 0.000$), lo que indica que esta variable constituyó el principal factor determinante del tamaño del halo de inhibición. Esta tendencia sugiere un comportamiento dependiente de la dosis, patrón descrito previamente en investigaciones sobre nanopartículas de plata, donde concentraciones mayores se asocian con incrementos en la actividad antimicrobiana, como se ha documentado en trabajos como el de Fletes (2016). La ausencia de interacciones significativas entre los factores indica además que estos actuaron de manera independiente, lo cual se reflejó visualmente en el diagrama de Pareto (Figura 29), donde la concentración de AgNPs se posicionó como el efecto de mayor contribución sobre la variable respuesta.

Figura 29

Factores que influyen en la inhibición del crecimiento de la cepa E coli.



VII. CONCLUSIONES

En conclusión, el volumen de solución reductora, la temperatura de reacción y el pH influyen de manera significativa el proceso de síntesis de nanopartículas de plata. Estas variables afectan directamente las propiedades ópticas de las AgNPs, reflejadas en el desplazamiento hacia los rojos de la ubicación del pico SPR y en la intensidad de absorción observada en los espectros UV-VIS, además de ser determinantes en su formación, como lo fue la variación del pH. Particularmente, se observó que condiciones de síntesis de temperaturas alrededor de 60 °C y la relación entre el precursor metálico y la solución reductora de favorecer la formación de nanopartículas con señales SPR más definidas, al dejar que el extracto de eucalipto sea el reactivo limitante de la reacción.

También, se logró confirmar cualitativamente la presencia de nanopartículas de plata mediante espectroscopía UV-VIS, identificándose claramente el pico característico de plasmón superficial (SPR) en regiones de entre 400 y 450 nm. La aparición y definición de este pico permitió establecer una relación directa entre las condiciones de síntesis y la formación efectiva de AgNPs, validando el uso de la espectroscopía UV-VIS como una herramienta confiable para la confirmación cualitativa de nanopartículas metálicas en procesos de síntesis verde, indicando que el ensayo #1 y #2 sugieren tamaños de partículas de entre 30 y 40 nm.

El análisis de la estabilidad coloidal de las nanopartículas de plata a lo largo del tiempo evidenció que las AgNPs sintetizadas presentan una estabilidad aceptable durante los periodos de almacenamiento evaluados. El incremento gradual en la absorbancia indica que la agregación provoca una pérdida gradual de las propiedades del sistema. Los resultados vistos en el Anexo C2, muestran que las nanopartículas obtenidas mediante síntesis verde con extracto vegetal mantienen su estabilidad coloidal en el tiempo estudiado, alcanzando un máximo en tiempos de entre 4 y 5 días, lo cual es un aspecto fundamental para su potencial aplicación en procesos antimicrobianos y biotecnológicos.

Las nanopartículas de plata obtenidas mediante síntesis verde evidenciaron actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* QIIIE-12, reflejada en halos de inhibición comprendidos entre 8 y 12 mm. El análisis estadístico del modelo ANOVA mostró significancia global ($p = 0.026$), lo que indica que la concentración de AgNPs constituyó el factor determinante en la inhibición bacteriana. En contraste, ni el tiempo de contacto ni el tipo de ensayo ejercieron efectos estadísticamente significativos. Al comparar con el control positivo, la ampicilina presentó un halo promedio de 13.5 mm, ligeramente superior pero cercano a los valores obtenidos con las AgNPs, lo cual respalda el potencial de estas nanopartículas como agentes antimicrobianos alternativos.

VIII. RECOMENDACIONES

- Extender el plazo de la evaluación en el tiempo de las nanopartículas sintetizadas, almacenándolas en distintas condiciones, con el fin de determinar la vida útil y estabilidad coloidal en distintas temperaturas y concentraciones.
- Caracterizar fisicoquímicamente el extracto acuoso de *Eucalyptus Camaldulensis* con ensayos de compuestos fenólicos totales o espectroscopía FTIR, con el fin de identificar los grupos funcionales responsables del proceso de reducción y estabilización de nanopartículas.
- Complementar la caracterización de las nanopartículas de plata con técnicas más especializadas que permitan determinar el tamaño, forma y distribución de las nanopartículas, tales como la microscopía electrónica de barrido (SEM) o microscopía electrónica de transmisión (TEM), para corroborar las inferencias a partir de la caracterización óptica.
- Emplear métodos cuantitativos adicionales, como la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB), para complementar la evaluación de la actividad antimicrobiana, permitiendo establecer la concentración mínima efectiva a la cual las nanopartículas de plata (AgNPs) inhiben y eliminan el crecimiento microbiano.

IX. BIBLIOGRAFÍA

Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). A review on plant extract-mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *Journal of Advanced Research, 7*(1), 17–28. https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007

Alghoraibi, I., Soukkarieh, C., Zein, R., Alahmad, A., Walter, J.-G., & Daghestani, M. (2020). Aqueous extract of *Eucalyptus camaldulensis* leaves as reducing and capping agent in biosynthesis of silver nanoparticles. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 50(10), 895–902. https://doi.org/10.1080/24701556.2020.1728315.

Awwad, A. M., Salem, N. M., & Abdeen, A. O. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using carob leaf extract and its antibacterial activity. *International Journal of Industrial Chemistry, 4*, Article 29. https://doi.org/10.1186/2228-5547-4-29.

Barrientos F, Cahuana K, Pajares A, Rodrigues JdD (2009). *Blog Solventes Industriales. http://solventesindustrialesuni.blogspot.com.*

Barry, A. L., Amsterdam, D., Coyle, M. B., Gerlach, E. H., Thornsberry, C., & Washington, H. R. (1979). Simple inoculum standardizing system for antimicrobial disk susceptibility test. *Journal of Clinical Microbiology, 10*(6), 910–918. https://doi.org/10.1128/jcm.10.6.910-918.1979

Batt, C. A. (2014). *Escherichia coli* (2nd ed., Vol. 1). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00100-2

Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, *45*(4), 493–496. https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493

Boldyrev, V. V. (2006). Mechanochemistry and mechanical activation of solids. *Russian Chemical Reviews, 75*(3), 177–189. https://doi.org/10.1070/RC2006v075n03ABEH001205.

Calvo, J., & Martínez-Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 27*(1), 44–52. https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.11.001

Camacho Polo, J. D., & Deschamps Mercado, L. A. (2013*). Síntesis de nanopartículas de plata y modificación con pulpa de papel para aplicación antimicrobiana* (Tesis de pregrado). Universidad de Cartagena. https://repositorio.unicartagena.edu.co/handle/11227/73

Casquino, T. G. (2023). *Uso de los extractos vegetales como agentes estabilizantes para la síntesis verde de nanopartículas de plata con actividad antimicrobiana*. Tesis de licenciatura, Universidad Católica de Santa María. Repositorio UCSM. https://repositorio.ucsm.edu.pe/server/api/core/bitstreams/bc67bad7-5041-4b2d-983d-3c15df4f5da5/content

Cavalieri, S. J., Rankin, I. D., Harbeck, R. J., Sautter, R. L., McCarter, Y. S., Sharp, S. E., Ortez, J. H., & Jenkins, S. G. (2005). *Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana: Pruebas de dilución y difusión con discos* (2.ª ed.). Organización Panamericana de la Salud.

Ccahuana Ayma, F. (2025*). Síntesis verde de nanopartículas de plata a partir de Minthostachys acris Schmidt Lebuhn (muña) y su evaluación como agente bactericida contra Escherichia coli* (Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú). Universidad Nacional Mayor de San Marcos).

Chaparro, F. C., & Quintero, R. (2008). Nanociencia, nanotecnología, nanomateriales. . . La Revolución Industrial del Siglo XXI. Dialnet. https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8793338

Chatterjee, M., Pal, A., Halder, B., Ghosh, S. P., Samanta, P., & Saha, N. (2022). *Plant-based synthesis of silver nanoparticles and their effects on microorganisms*. *International Journal for Research Trends and Innovation*, 7(7), 1361–1370. https://ijrti.org/papers/IJRTI2207229.pdf

Cornejo, L. (2015). *Resonancia del plasmón de superficie (RPS): Propiedades optoelectrónicas*. Nuevas Tecnologías y Materiales. https://nuevastecnologiasymateriales.com/resonancia-del-plasmon-de-la-superficie-rps-propiedades-optoelectronicas/

Cruz, D. A., Rodríguez, M. C., López, J. M., Herrera, V. M., Orive, A. G., & Creus, A. H. (2012). Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: Una relación. *Avances en Ciencias e Ingeniería, 3*(2), 67–78.

Dagher, W., Alassod, A., Al Hinnawi, M. F., Alghoraibi, I., Taher, A., & Alnhlaoui, M. (2025). Characterization and antibacterial effect of green-synthesised silver nanoparticles using different extraction methods from *Ziziphus spina-christi* leaf extract collected from Syria. *RSC Advances, 15*, 35642–35659. https://doi.org/10.1039/D5RA05214A

Davidson, P. M., & Branen, A. L. (Eds.). (1993). *Antimicrobials in Foods* (2nd ed.). Marcel Dekker, Inc.

De Jong, K. P. (2009). *Synthesis of solid catalysts*. Wiley-VCH. https://api.pageplace.de/preview/DT0400.9783527626861_A23634724/preview-9783527626861_A23634724.pdf

De León Juárez, M. L. (2008). *Comparación del rendimiento de aceite esencial de dos especies de eucalipto (Eucalyptus citriodora Hook. y Eucalyptus camaldulensis Dehnh.), aplicando el método de hidrodestilación a nivel laboratorio* [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala].

Delgado Silva, H. D., & Fonseca Cruz, E. J. (2019). *Bioprospección microbiana dirigida a identificar microbiológica y molecularmente microorganismos de utilidad agrícola e industrial en Nicaragua* [Tesis de grado, Universidad Nacional de Ingeniería]. Repositorio Institucional de la UNI. http://ribuni.uni.edu.ni/id/eprint/3621

Dogara, A. M., Oladipo, B. T., Habib, A., Alharbi, B. G., Ezzat, M. O., & Mohammed, G. T. (2024). Antioxidant, α-glucosidase, antimicrobial activities, chemical composition and in silico analysis of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. *AIMS Biophysics, 11*(3), 255–280. https://doi.org/10.3934/biophy.2024015

Drasar, B. S., & Hill, M. J. (1974). *Human intestinal flora*. London: Academic Press.

Dybkova, S., Goncharuk, O., Riezhnichenko, L., Terpilowski, K., Borysenko, L., Gruzina, T., Dybkova, K., & Szewczuk-Karpisz, K. (2024). Aqueous dispersions of "green" silver nanoparticles for eco-applications: Synthesis, structure and biosafety. *Journal of Molecular Liquids,* 415, 126319. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.126319

Escobar, V. (2015). *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)* [Tesis de grado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador]. Quito, Ecuador.

Farouk, Salma M., Abu-Hussien, Samah H., Abd-Elhalim, Basma T., Mohamed, Reham M., Árabe, Naira M., Hussain, Ahmed A. T., Mostafa, Mostafa E., Hemdan, Bahaa, El-Sayed, Salwa M., Bakry, Ashraf, Ebeed, Naglaa M., Salah, Mahmud, Elhariry, Hesham, & Galal, Ahmed. (2023). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from *Punica granatum* (pomegranate) peel waste and its application to inhibit foodborne pathogens. *Scientific Reports*, 13, 19469. https://doi.org/10.1038/s41598-023-46355-x

Fletes Hernández, N. A. (2016). *Síntesis verde de nanopartículas de plata usando extracto de las plantas Valeriana officinalis y Passiflora incarnata y su evaluación como agentes antibacteriales* [Tesis de maestría, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo].

García Ruiz, M. I. (2004). *Inhibición de Aspergillus parasiticus y Penicillium digitatum con mezclas sinérgicas de antimicrobianos naturales y sintéticos en sistemas modelo de puré de manzana mínimamente procesado* (Tesis de licenciatura, Universidad de las Américas Puebla).

Gomathi, M., Rajkumar, P. V., Prakasam, A., & Ravichandran, K. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using Datura stramonium leaf extract and assessment of their antibacterial activity. *Resource-Efficient Technologies*, 3(3), 280–288.https://doi.org/10.18799/24056529/2017/3/133

Gómez-Garzón, M. (2018). Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde. *Repertorio de Medicina y Cirugía*, 27(2), 75–80. https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.v27.n2.2018.191

Grabow, W., Taylor, M., & Villiers, J. (2001). New methods for the detection of viruses: Call for review of drinking-water quality guidelines. *Water Science and Technology*, 43(1), 1-8. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11464736/

Hameed, A., Seemab, R., Nasir, I., Gull, M., Nawaz, M. S., Tariq, M., Baig, A., & Nawaz, A. (2025). Nanotecnología verde para combatir la resistencia

antimicrobiana: una revisión sistemática de nanopartículas de plata biogénicas. *Scholars Journal of Life Sciences (SJLS),* 10(8), artículo 005. https://doi.org/10.36348/sjls.2025.v10i08.005

Hassine, M., Jedidi, F., Kefi, S., & Hammami, S. (2018). Phytochemical analysis of Eucalyptus camaldulensis leaves extracts and testing its antimicrobial and schistosomicidal activities. *Bulletin of the National Research Centre*, 35(4), 211–218. https://doi.org/10.1186/s42269-018-0017-2

Huang, Y., Guo, X., Wu, Y., Chen, X., Feng, L., Xie, N., & Shen, G. (2024). Nanotechnology's frontier in combatting infectious and inflammatory diseases: 53 Prevention and treatment. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9(1), 1-50. https: //doi.org/10.1038/s41392-024-01745-z

Ijaz, I., Bukhari, A., Gilani, E., Nazir, A., Zain, H., Saeed, R., Hussain, S., Hussain, T., Bukhari, A., Naseer, Y., & Aftab, R. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using different plant parts and biological organisms, characterization and antibacterial activity. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management, 18*, 100704. https://doi.org/10.1016/j.enmm.2022.100704

Imamura, K., Inagaki, M., & Naka, S. (1984). Mechanochemical synthesis of hercynite. *Journal of Materials Science, 19*, 1397–1400. https://doi.org/10.1007/BF00952141.

Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V., & Zolfaghari, B. (2014). *Green synthesis of metal nanoparticles using plants: a review*. *Green Chem.*, 13, 2638–2650. https://doi.org/10.1039/C1GC15386B

Jan, H., Zaman, G., Usman, H., Ansir, R., Drouet, S., Gigliolo-Guivarc, N., Hano, C., & Haider, B. (2021). Biogenically proficient synthesis and characterization of silver nanoparticles (Ag-NPs) employing aqueous extract of *Aquilegia pubiflora* along with their in vitro antimicrobial, anti-cancer and other biological applications. *Journal of Materials Research and Technology, 15*, 950–968. https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.08.048

Jana, N. R., Gearheart, L., & Murphy, C. J. (2001). Wet chemical synthesis of silver nanorods and nanowires of controllable aspect ratio. *Chemical Communications,* (7), 617–618. https://doi.org/10.1039/B100521I

Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L., & Schatz, G. C. (2002). *The optical properties of metal nanoparticles: The influence of size, shape, and dielectric environment*. *Journal of Physical Chemistry B, 107*(3), 668–677.

Kim, Y.-G., Oh, S.-K., & Crooks, R. M. (2004). Preparation and characterization of dendrimer-encapsulated gold nanoparticles having narrow size distributions. *Chemistry of Materials, 16*(1), 167–172. https://doi.org/10.1021/cm034932o

Kumar, K. V., & Kavitha, S. (2025). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles from *Cleome felina* and its antimicrobial properties. *International Journal of Environmental Sciences, 11*(17s), 27–40. https://doi.org/10.64252/ezpmjv31

Lemire, J. A., Harrison, J. J., & Turner, R. J. (2013). *Antimicrobial activity of metals: Mechanisms, molecular targets and applications*. *Nature Reviews Microbiology, 11*(6), 371–384. https://doi.org/10.1038/nrmicro3028

Liu, J., & Jiang, G. (2015). *Silver Nanoparticles in the Environment*. Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-46070-2

Maiti, S., Krishnan, D., Barman, G., Ghosh, S. K., & Konar Laha, J. (2014). *Antimicrobial activities of silver nanoparticles synthesized from Lycopersicon esculentum extract*. *Journal of Analytical Science and Technology*, *5*(1), 40. https://doi.org/10.1186/s40543-014-0040-3.

Mares Briones, F. (2015). Síntesis verde de nanopartículas de Ag y su evaluación antibacterial en Escherichia coli (Tesis de maestría, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, México). Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales.

Marquez Cazorla, J. I. (2018). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata y oro impregnadas en celulosa bacteriana con aplicación antimicrobiana [Tesis de licenciatura, Universidad Católica de Santa María]. Repositorio Institucional UCSM. https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/7803.

Medina Hernández, P., & Mejía Silva, M. T. (2015). *Monografía de la plata (Ag)*. Servicio Geológico Mexicano. https://www.sgm.gob.mx/Web/MuseoVirtual/pdfs/Monografia%20PLATA.pdf

Meléndez Balbuena Lidia, Sánchez Muñoz Esteban, Ramírez Monroy Armado, Cabrera Vivas Blanca Martha, Arroyo Carranza Sandra Luz Maribel. (2018) Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso de la hierbabuena (Allium sativum) como agente reductor. Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, Revista Tendencias en Docencia e Investigación en Química. https://zaloamati.azc.uam.mx/server/api/core/bitstreams/b760945c-156b-421c-bb6a-df132b826059/content

Menichetti, A., Mavridi-Printezi, A., Mordini, D., & Montalti, M. (2023) *Effect of size, shape and surface functionalization on the antibacterial activity of silver nanoparticles*. *Journal of Functional Biomaterials, 14*(5), 244. https://doi.org/10.3390/jfb14050244

Minitab, LLC. (2019). *Minitab® Statistical Software* (Versión 19.1) [Software]. https://www.minitab.com

Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, 31(2), 346–356. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.003

Mohammadlou, M., Maghsoudi, H., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2016). A review on green silver nanoparticles based on plants: Synthesis, potential applications and ecofriendly approach. *International Food Research Journal*, 23(2), 446-463. Scopus.

Montaño Arias, N. M., Sandoval Pérez, A. L., Camargo Ricalde, S. L., & Sánchez Yáñez, J. M. (2010). Los microorganismos: pequeños gigantes. *Elementos, 77*, 15-23. Recuperado de https://www.redalyc.org/pdf/294/29411989003.pdf.

Morales, M. (2018). Antimicrobianos: Una revisión sobre mecanismos de acción y desarrollo de resistencia. *Acta Médica Costarricense*, 28(2), 79 http://www.binasss.sa.cr/revistas/amc/v28n2/art3.pdf

Nataro, J. P., & Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews, 11*(1), 42-51.

Ortega-Liébana, S. (2018). Nanocrystals, new materials with unique properties and applications. *Enseñanza de las Ciencias de la Tierra*, 26(3), 306–314. https://www.raco.cat/index.php/ECT/article/download/343169/434315.

Paramelle, D., Sadovoy, A., Gorelik, S., Free, P., Hobley, J., & Fernig, D. G. (2014). *A rapid method to estimate the concentration of citrate-capped silver nanoparticles from UV–visible light spectra*. *Analyst*, 139(19), 4855–4861. https://doi.org/10.1039/C4AN00978A

Patel, K., Kapoor, S., Dave, D. P., & Mukherjee, T. (2005). Synthesis of nanosized silver colloids by microwave dielectric heating. *Journal of Chemical Sciences, 117*(1), 53–60. https://doi.org/10.1007/BF02704361.

Patil, R. B., & Chougale, A. D. (2021). Analytical methods for the identification and characterization of silver nanoparticles: A brief review. *Materials Today: Proceedings, 47*, 5520–5532. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.03.384

Pedraza, P., Castellanos H. (2009). *Estudio Comparativo De Actividad Antimicrobiana De Diferentes Presentaciones Comerciales De Antibióticos De Administración Intravenosa A Través De Métodos In Vitro* (Tesis de grado). Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.

Percival, S. L., & Williams, D. W. (2013). *Escherichia coli* (2nd ed.). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00006-8

Pérez López, V. (2018). *Síntesis de nanopartículas de Au empleando sábila (Aloe barbadensis), uva (Vitis vinifera) y la cuantificación de C, H, O en los reductores orgánicos comparando la síntesis con reductores inorgánicos de* $KNaC_4H_4O_6$ *y* $C_4H_6O_6$ (Tesis para optar al título de Ingeniero Químico Industrial, Instituto Politécnico Nacional).

Ramirez, L. S., y Castaño, D. M. (2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et technica*, 15(42), 263-268. https://www.redalyc.org/pdf/849/84916714049.pdf

Reshes, G., Vanounou, S., Fishov, I., & Feingold, M. (2008). Cell shape dynamics in *Escherichia coli. Biophysical Journal*, 94(1), 251–264. https://doi.org/10.1529/biophysj.107.104398

Rodrigues, G. F., Monteiro, A. S. N., Vollú, A. L., Pires, P. M., Silva, A. S. S., Lopes, R. T., & Fonseca-Gonçalves, A. (2022). Efficacy of 30% and 38% silver diamine fluoride in arresting caries lesions after different application times: An in vitro study. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, 22, e210112. https://doi.org/10.1590/pboci.2022.019.

Rojas, A. (2011). *Conceptos y práctica de microbiología general*. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Práctica 5, pp. 49-51.

Rojo Romo, F. G. (2022). *Síntesis verde de nanopartículas de plata obtenidas a través de la valorización de subproductos de Hibiscus sabdariffa: Caracterización, capacidad antioxidante y evaluación antimicrobiana* [Tesis de licenciatura, Universidad de Guadalajara]. Universidad de Guadalajara. Recuperado de https://riudg.udg.mx/bitstream/20.500.12104/92074/1/LCUCEI10125FT.pdf

Rouessac, F., & Rouessac, A. (2007). *Chemical analysis*: *Modern instrumentation methods and techniques* (2nd ed., pp. 167–169). Wiley.

Salinas Estavané, J. P., & Sánchez Cervantes, E. M. (2017). *La química verde en la síntesis de nanoestructuras*. Universidad Autónoma de Nuevo León. http://eprints.uanl.mx/10484/1/54_la_quimica.pdf

Sarli, S. S., Kalani, M. R., & Moradi, S. A. (2020). Eco-friendly Taxus-based silver nanoparticles: Potent and safe antibacterial and anticancer agents. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 8411–8425. https://doi.org/10.2147/IJN.S251174.

Saxena, A., Tripathi, R. M., & Singh, R. P. (2010). Biological synthesis of silver nanoparticles by using onion (Allium cepa) extract and their antibacterial activity. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 5(2), 427–432. https://www.chalcogen.ro/427_Tripathi.pdf

Schaechter, M. (2009). Escherichia coli. In J. Lederberg (Ed.), Encyclopedia of Microbiology (3rd ed., pp. 125–132). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00059-6

Schmid, G. (Ed.). (2004). Nanoparticles: From theory to application. Wiley-VCH. URL: https://www.wiley-vch.de/en/areas-interest/engineering/nanoparticles-978-3-527-30507-0

Sharma, V., Gupta, S., & Roy, P. (2019). Silver nanoparticles: Synthesis, properties, and applications. *International Journal of Nanotechnology*, 16(2), 150-170. https://www.mdpi.com/1422-0067/17/9/1534

Singh, R., Verma, P., & Chandra, S. (2018). UV-Vis spectroscopy as a tool for nanoparticle characterization. *Nanoscience Journal,* 5(1), 40-50. https://www.researchgate.net/publication/325699853_UV-Vis_spectroscopy_and_chemometrics_as_a_tool_for_identification_and_discrimination_of_four_Curcuma_species

Skoog, K. (2011). Cell division in Escherichia coli. Stockholm University, Department of Biochemistry and Biophysics. https://su.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2%3A446223

Solomon, S. D., Bahadory, M., Jeyarajasingam, A. V., Rutkowsky, S. A., Boritz, C., & Mulfinger, L. (2007). Synthesis and study of silver nanoparticles. *Journal of Chemical Education, 84*(2), 322–325. https://doi.org/10.1021/ed084p322

Soto, K. M., Quezada-Cervantes, C. T., Hernandez-Iturriaga, M., Luna-Bárcenas, G., Vazquez-Duhalt, R., & Mendoza, S. (2019). Fruit peels waste for the green synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial activity against foodborne pathogens. *LWT, 103, 293-300*. https://doi.org/10.1016/j./wt.2019.01.023

Ticllacuri Perales, V. J., & Travezaño Neyra, E. M. (2019). *Caracterización de nanopartículas de plata obtenidas mediante síntesis biogénica usando extracto de Coffea arabica procedente de Satipo - Junín para uso antimicrobiano* (Tesis de licenciatura). Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Centro del Perú, Huancayo.

Vázquez Naya, J. M., Martín, F., Martínez Romero, M., & Nóvoa, F. J. (2010). Aplicaciones médicas de las nanotecnologías en relación con las otras tecnologías NBIC. *En Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED).*

Vishwanath, R., & Negi, B. (2021). Conventional and green methods of synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial properties. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry, 4, 100205*. https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2021.100205.

Wahab, S., Khan, T., Adil, M., & Khan, A. (2021). Mechanistic aspects of plant-based silver nanoparticles against multi-drug-resistant bacteria. *Heliyon, 7(6), e07448*. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07448.

Xie, R.-C., & Shang, J. K. (2007). Morphological control in solvothermal synthesis of titanium oxide. *Journal of Materials Science*, 42(16), 6583–6589.

Zanella, R (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano*; Volumen 5 (1): Páginas 70-75.

Zhang, X.-F., Liu, Z.-G., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016). Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(9), 1534. https://doi.org/10.3390/ijms17091534

Zheng, J. & Dickson, R. M. (2002). Individual water-soluble dendrimer-encapsulated silver nanodot fluorescence. *Journal of the American Chemical Society,* 124(47), 13982–13983. https://doi.org/10.1021/ja028282.

Zhu, H., Zhang, C., y Yin, Y. (2004). “Rapid synthesis of copper nanoparticles by sodium hypophosphite reduction in ethylene glycol under microwave irradiation”. *Journal of Crystal Growth*, 270, 722-728.

X. ANEXOS

Anexo A. Equipos y materiales utilizados a lo largo del proceso de síntesis de Nanopartículas de plata y determinación de propiedades antimicrobianas.

Figura A. 1

Horno Fisher Scientific Isotemp modelo 838 F



Figura A. 2

Procesador de alimentos mini chopper marca Premium modelo PMC156R



Figura A. 3

Balanza Satorius modelo LE6202S



Figura A. 4

Balanza analítica marca Mettler modelo AE200

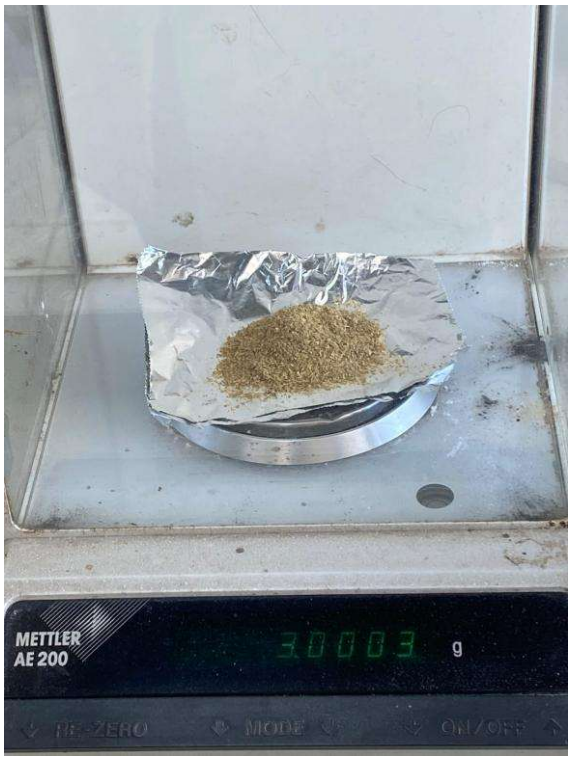


Figura A. 5

Plato térmico Fisher Scientific



Figura A. 6

Espectrofotómetro UV-VIS (HACH DR 6000)



Nota. Equipo ubicado en las instalaciones del laboratorio de MicroPoluentes del PIENSA.

Figura A. 7

*B*alanza analítica OHAUS Pioneer™ Plus PX



Figura A. 8

Espectrofotómetro VWR UV-3100PC



Nota. Equipo ubicado en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología en la Universidad Nacional Héroes de San José de las Mulas (UNHSJM).

Figura A. 9

Vortex Mixer Fisher Scientific



Figura A. 10

Incubadora Thermo Scientific



Figura A. 7

Autoclave



p A. 8

Micropipeta marca Thermo Scientific



Figura A. 9

Papel Whatman número 1



Anexo B. Resultado de Agar MHA

Figura B. 1

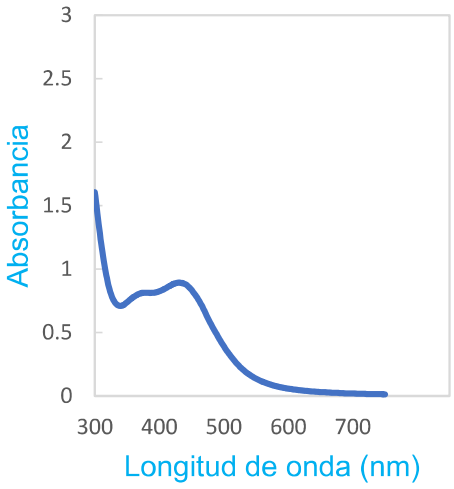
Registro de la inconsistencia gelatinosa del agar MHA que impidió su uso



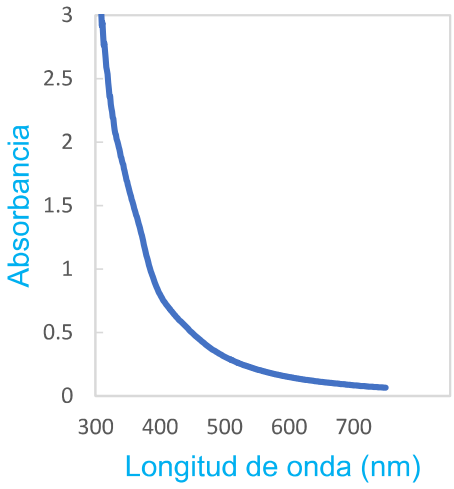
Anexo C. Gráficas obtenidas de espectro UV-VIS de distintas condiciones de síntesis.

Anexo C. 1 Espectros no característicos en diversas condiciones de síntesis de diseño de experimento Bohx-Behnken para la síntesis verde de nanopartículas de plata.

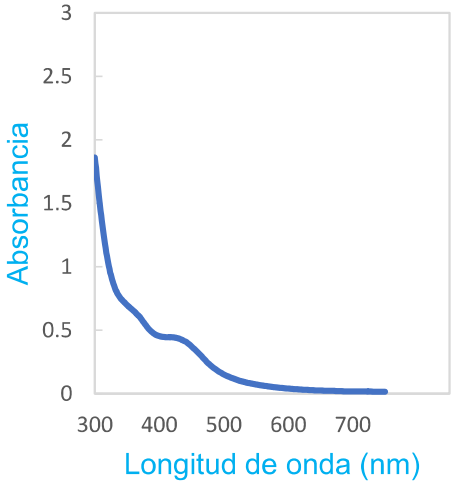
a. Ensayo #3



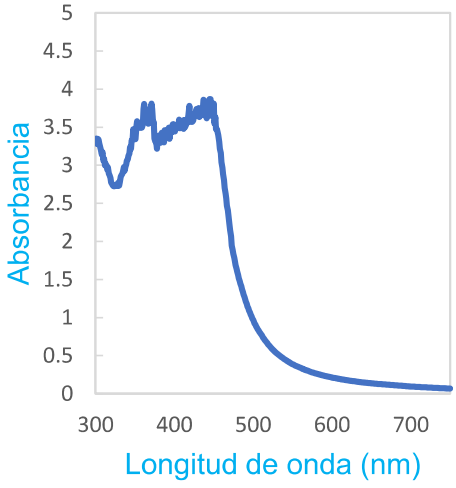
b. Ensayo #6



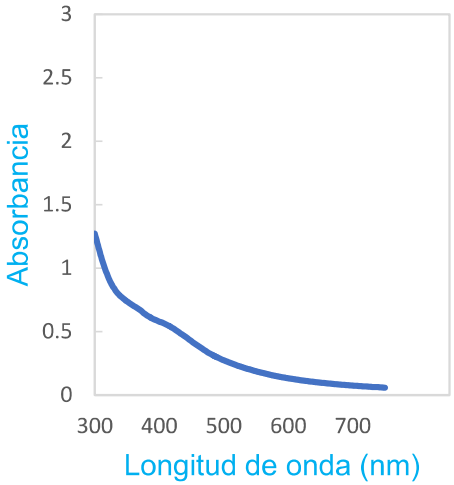
c. Ensayo #7



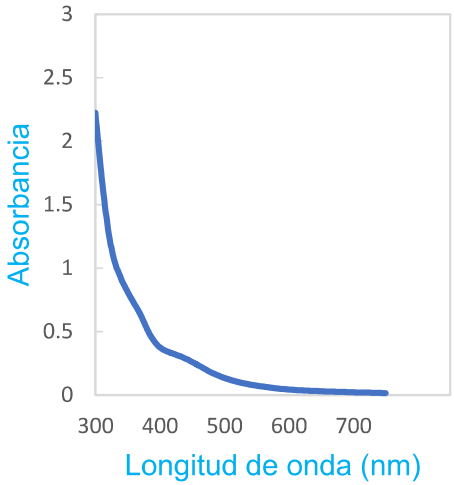
d. Ensayo #8



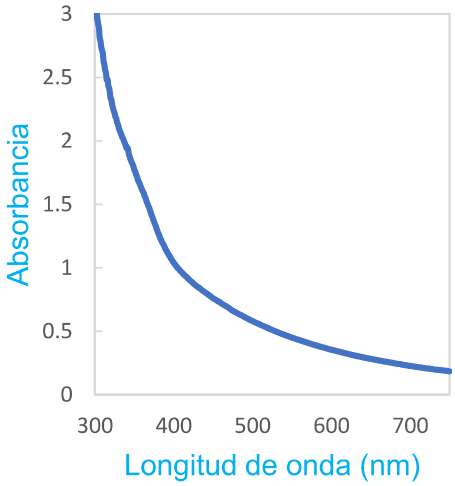
e. Ensayo #9



f. Ensayo #10

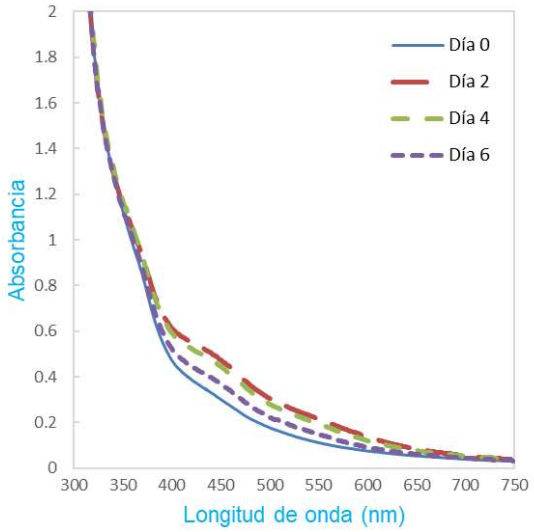


g. Ensayo #15

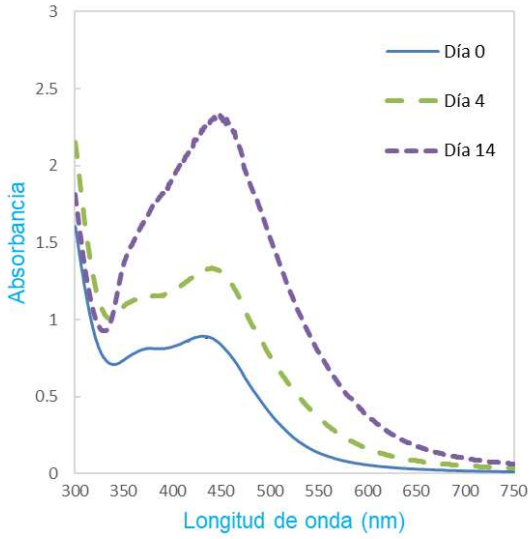


Anexo C. 2 Desarrollo en el tiempo de espectros UV-VIS en diversas condiciones de síntesis de diseño de experimento Bohx-Behnken

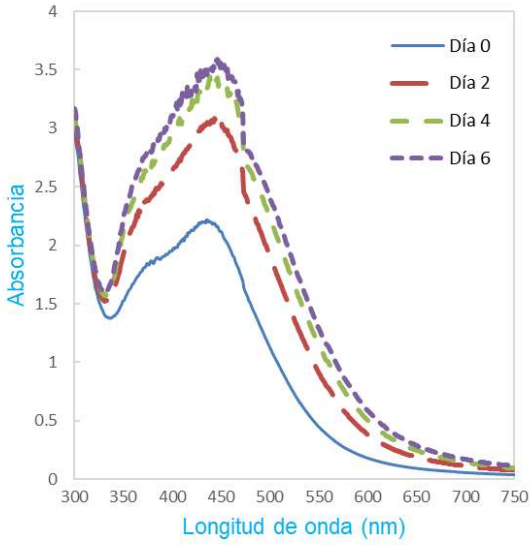
a. Ensayo #2



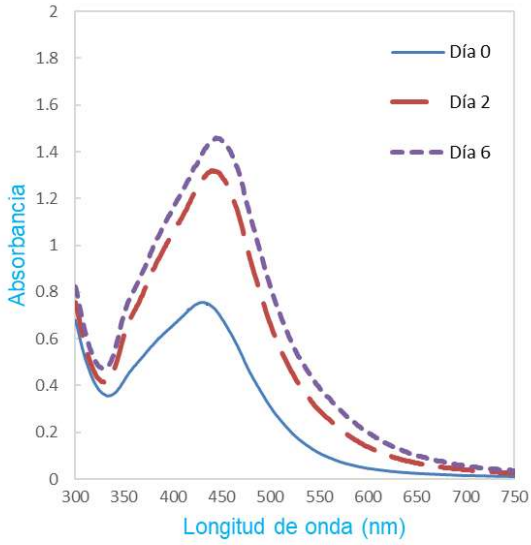
b. Ensayo #3



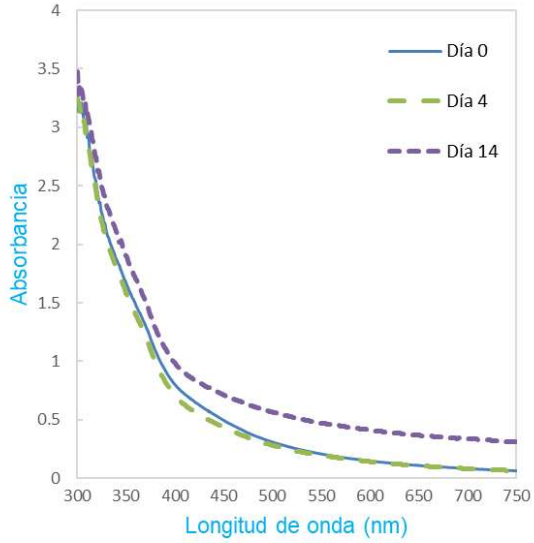
c. Ensayo #4



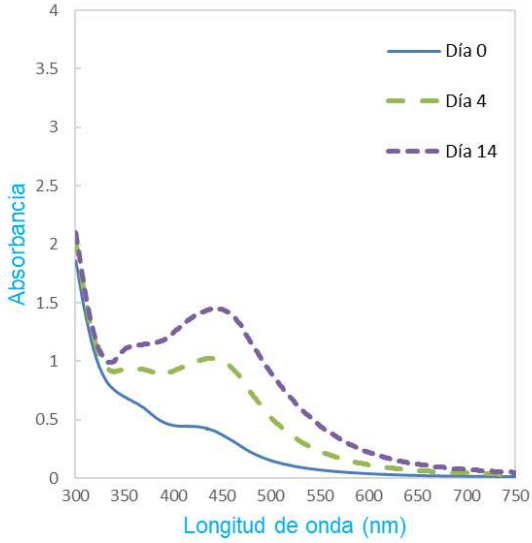
d. Ensayo #5



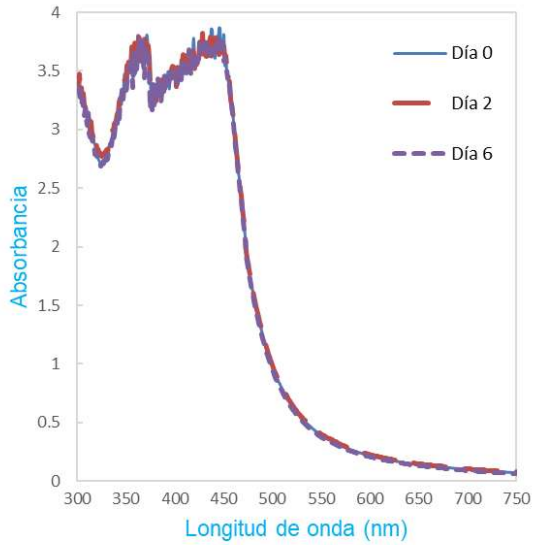
e. Ensayo #6



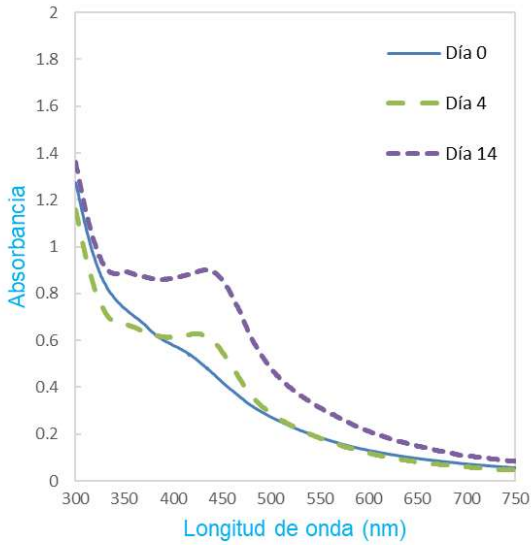
f. Ensayo #7



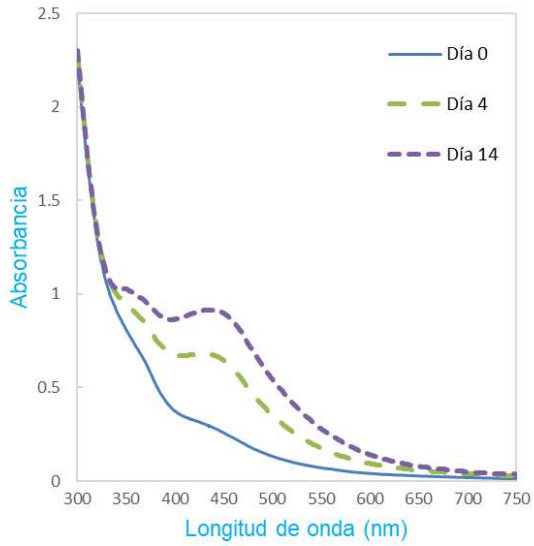
g. Condiciones #8



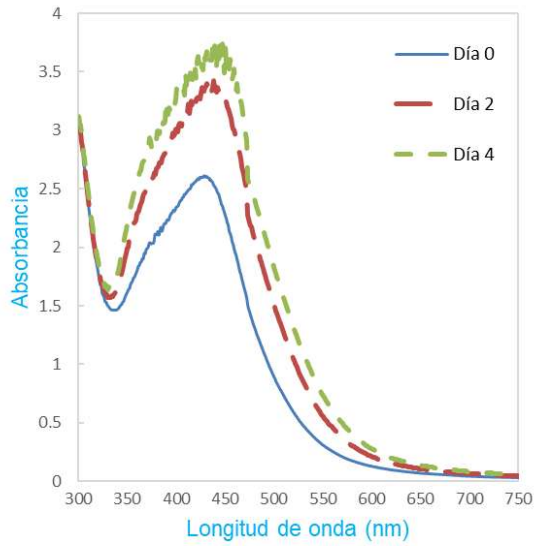
h. Condiciones #9



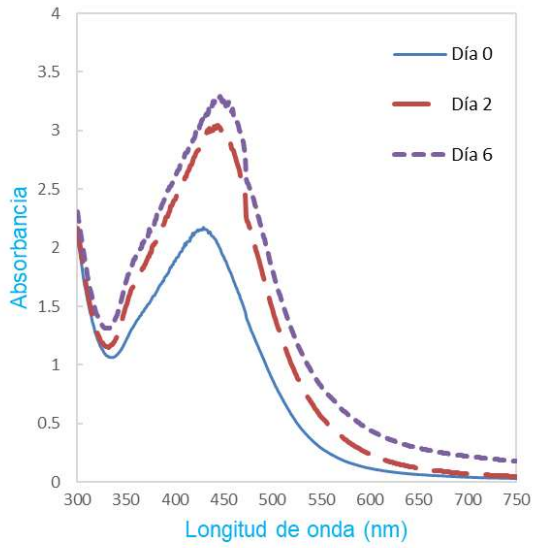
i. Condiciones #10



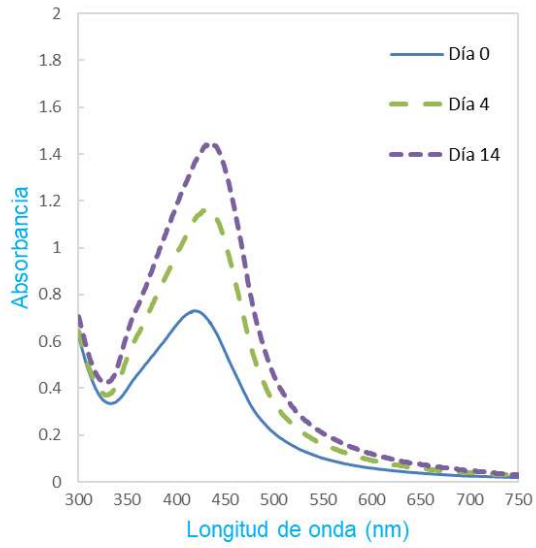
j. Condiciones #11



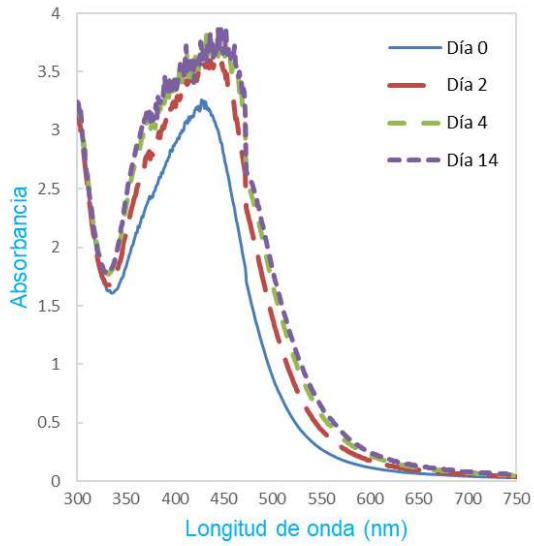
k. Condiciones #12



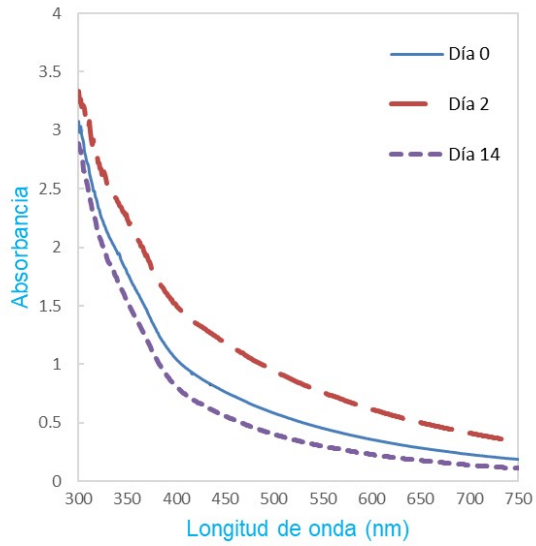
l. Condiciones #13



m. Condiciones #14



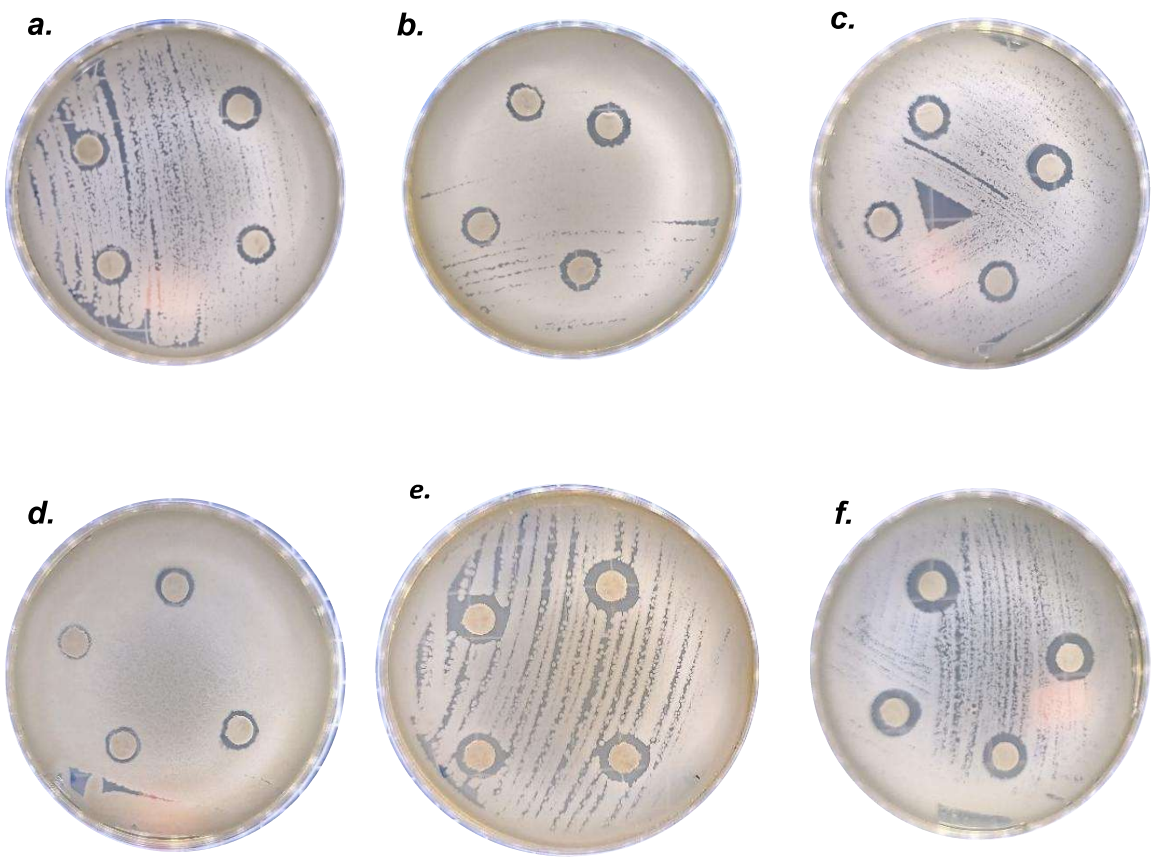
n. Condiciones #15



Anexo D. Resultados de actividad antimicrobiana

Figura D. 1

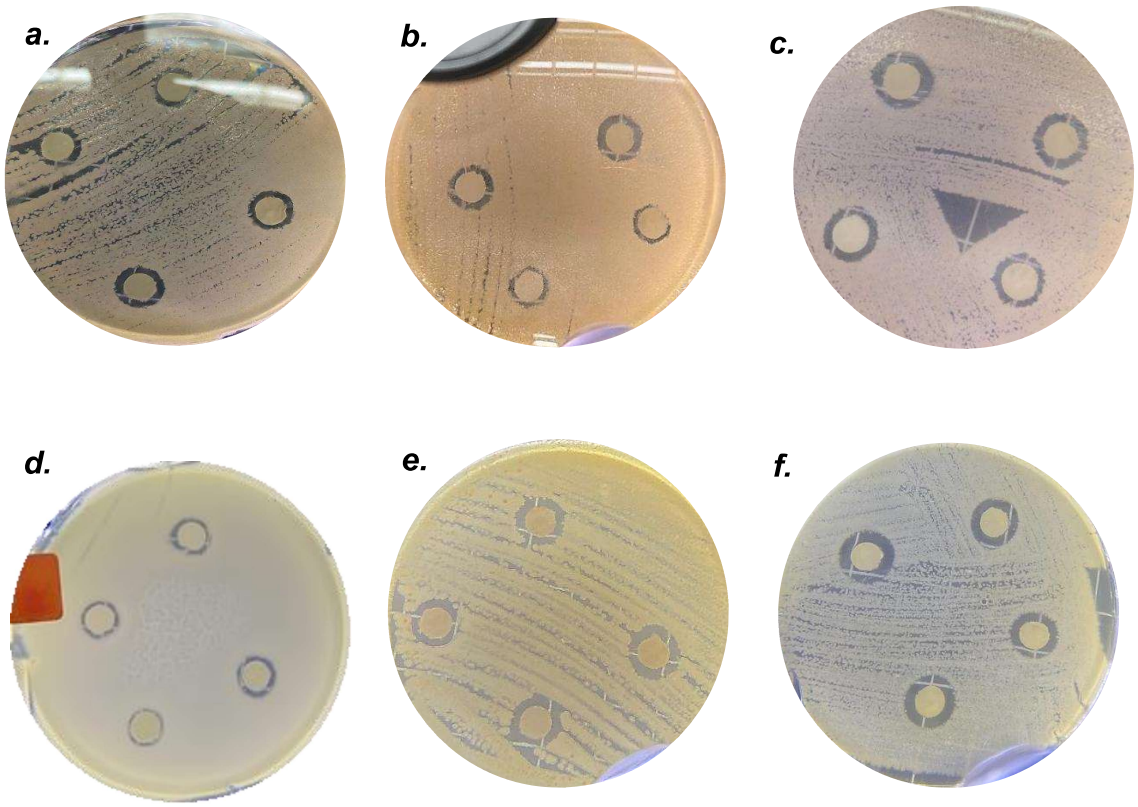
Halos obtenidos de las Nanopartículas de plata a las 24 horas



Nota. Figura (a), (b), (c) correspondiente a la primera corrida, figura (d), (e), y (f) correspondiente a la segunda corrida

Figura D. 2

Halos obtenidos de las Nanopartículas de plata a las 72 horas



Nota. Figura (a), (b), (c) correspondiente a la primera corrida, figura (d), (e), y (f) correspondiente a la segunda corrida

Universidad Nacional de Ingeniería

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
UNI
RECINTO UNIVERSITARIO PEDRO ARÁUZ PALACIOS

MATRICULA ORDINARIA CURSO 2026 SEMESTRE 1

REPOSICIÓN HOJA DE MATRÍCULA

CÓDIGO DE ESTUDIANTE	6B-2DCBD-3		
NOMBRE	NARVAEZ ABURTO KARLA MICHELLE		
ÁREA/CUR	DIRECCIÓN DE ÁREA DE CONOCIMIENTO DE AGRICULTURA		
CARRERA	Ingeniería Química		
TURNO	Diurno	**SEXO**	F
AÑO MATRICULADO	6	**GRUPO**	D1FCE-QUI-R
SIT. ESC	REINGRESO	**AÑO ING. EDUC. SUP**	2020

E. M	AÑO	GRUPO	ASIGNATURA
M	6	D1FCE-QU	FORMAS DE CULMINACION DE ESTUDIOS

LAS ASIGNATURAS MARCADAS CON (*) SON LLEVADAS POR TERCERA VEZ.
Para Consultar Informe de Calificaciones en https://singu.setec.edu.ni/

FECHA: 09/03/2026

Creado Por: 6B2DCBD3
Actualizado Por:

Universidad Nacional de Ingeniería

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
UNI
RECINTO UNIVERSITARIO PEDRO ARÁUZ PALACIOS

MATRICULA ORDINARIA CURSO 2026 SEMESTRE 1

CÓDIGO DE ESTUDIANTE	6B7744D7		
NOMBRE	ESPINOZA SÁNCHEZ MIGUEL ANGEL		
ÁREA/CUR	DIRECCIÓN DE ÁREA DE CONOCIMIENTO DE AGRICULTURA		
CARRERA	Ingeniería Química		
TURNO	Diurno	**SEXO**	M
AÑO MATRICULADO	6	**GRUPO**	D1FCE-QUI-R
SIT. ESC	REINGRESO	**AÑO ING. EDUC. SUP**	2020

AÑO	GRUPO	ASIGNATURA
6	D1FCE-QU	FORMAS DE CULMINACION DE ESTUDIOS

LAS ASIGNATURAS MARCADAS CON (*) SON LLEVADAS POR TERCERA VEZ.
Para Consultar Informe de Calificaciones en https://singu.setec.edu.ni/

Correo:
Clave:

FECHA: 15/03/2026 06:34:31

Creado Por: 6B7744D7
Actualizado Por:

INICIO DE CLASES:
-- NUEVO INGRESO 2026:
--PRESENCIAL: LUNES 2 DE FEBRERO
--SABATINO: SÁBADO 31 DE ENERO
--DOMINICAL: DOMINGO 1 DE FEBRERO
--REINGRESO 2026:
-- CARRERAS DE CIENCIAS DE LA SALUD (II AÑO - VI AÑO): LUNES 26 DE ENERO.
--PRESENCIAL: 9 DE MARZO
--SABATINO: 7 DE MARZO
--DOMINICAL: 8 DE MARZO

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA
AREA DE CONOCIMIENTO DE AGRICULTURA

SECRETARIA DE ÁREA ACADÉMICA

F-8:CARTA DE FINALIZADO PLAN DE ASIGNATURA

El Suscrito Secretario del **ÁREA DEL CONOCIMIENTO DE AGRICULTURA** hace constar que:

NARVAEZ ABURTO KARLA MICHELLE

Carné: **2020-0929U** Turno: **Diurno** Plan de Asignatura: **2015** de conformidad con el Reglamento Académico vigente en la Universidad, ha aprobado todas las asignaturas correspondientes a la carrera de **INGENIERÍA QUÍMICA**, en el año 2024 y solo tiene pendiente la realización de una de las formas de culminación de estudio.

Se extiende la presente **CARTA DE FINALIZADO PLAN DE ASIGNATURA**, a solicitud del interesado en la ciudad de Managua, a los veinte y dos días del mes de enero del año dos mil veinte y cinco.

Atentamente,

SECRETARÍA ACADÉMICA DE DACA
REPÚBLICA DE NICARAGUA
SA - DACA - UNI

Helia Vanessa Taleno Oporta
SECRETARIO DE ÁREA ACADÉMICA

IMPRESO POR SISTEMA DE REGISTRO ACADEMICO EL 22-ene.-2025

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA
AREA DE CONOCIMIENTO DE AGRICULTURA

SECRETARIA DE ÁREA ACADÉMICA

F-8:CARTA DE FINALIZADO PLAN DE ASIGNATURA

El Suscrito Secretario del **ÁREA DEL CONOCIMIENTO DE AGRICULTURA** hace constar que:

ESPINOZA SÁNCHEZ MIGUEL ANGEL

Carné: **2020-0828U** Turno: **Diurno** Plan de Asignatura: **2015** de conformidad con el Reglamento Académico vigente en la Universidad, ha aprobado todas las asignaturas correspondientes a la carrera de **INGENIERÍA QUÍMICA**, en el año 2024 y solo tiene pendiente la realización de una de las formas de culminación de estudio.

Se extiende la presente **CARTA DE FINALIZADO PLAN DE ASIGNATURA**, a solicitud del interesado en la ciudad de Managua, a los veinte días del mes de enero del año dos mil veinte y cinco.

Atentamente,

SECRETARIA ACADÉMICA DE DACA · REPÚBLICA DE NICARAGUA · SA · DACA · UNI

Helia Vanessa Taleno Oporta
SECRETARIO DE ÁREA ACADÉMICA

IMPRESO POR SISTEMA DE REGISTRO ACADEMICO EL 20-ene.-2025