

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE INGENIERÍA EN SISTEMAS, ELECTRÓNICA E INDUSTRIAL

MAESTRÍA EN QUÍMICA MENCIÓN QUÍMICA – FÍSICA

Tema: DESARROLLO DE UNA MEMBRANA A BASE DE FIBRA DE CABUYA (*FURCRAEA ANDINA*) RECUBIERTA CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y *PYOGENES*.

Trabajo de titulación previo a la obtención del Grado Académico de
Magister en Química Mención Química - Física.

Modalidad de titulación: Proyecto de desarrollo

Autora: Doctora, Mayra Alexandra Logroño Veloz, Magister

Director: Doctor, Jorge Efrén Silva Yumi, PhD.

Ambato-Ecuador

2022

APROBACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

A la Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ingeniería en Sistemas Electrónica e Industrial.

El Tribunal receptor de la Defensa del Trabajo de Titulación presidido por Ingeniera. Elsa Pilar Urrutia Urrutia Magister e integrado por las señoras: Licenciada Noroska Gabriela Salazar Mogollón, PhD y la Ingeniera Maribel Cecilia Pérez Pirela, PhD, designadas por la Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ingeniería en Sistemas, Electrónica e Industrial de la Universidad Técnica de Ambato, para receptor el Trabajo de Titulación con el tema: “Desarrollo de una membrana a base de fibra de cabuya (*furcraea andina*) recubierta con nanopartículas de plata y evaluación de su actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *pyogenes*” elaborado y presentado por la señora Doctora Mayra Alexandra Logroño Veloz, para optar por el Grado Académico de Magister en Química Mención Química - Física; una vez escuchada la defensa oral del Trabajo de Titulación el Tribunal aprueba y remite el trabajo para uso y custodia en las bibliotecas de la Universidad Técnica de Ambato.

Ing. Elsa Pilar Urrutia Urrutia, Mg.
Presidente y Miembro del Tribunal de Defensa

Lic. Noroska Gabriela Salazar Mogollón, PhD
Miembro del Tribunal de Defensa

Ing. Maribel Cecilia Pérez Pirela, PhD
Miembro del Tribunal de Defensa

AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el trabajo de titulación presentado con el tema: " Desarrollo de una membrana a base de fibra de cabuya (*furcraea andina*) recubierta con nanopartículas de plata y evaluación de su actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *pyogenes* ", le corresponde exclusivamente a: Doctora, Mayra Alexandra Logroño Veloz, Magister. autor bajo la dirección de: Doctor, Jorge Efrén Silva Yumi, PhD, director del trabajo de titulación; y el patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.

.....
Doctora, Mayra Alexandra Logroño Veloz, Magister.

AUTORA

.....
Doctor, Jorge Efrén Silva Yumi, PhD

DIRECTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que el Trabajo de Titulación, sirva como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además, apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad Técnica de Ambato.

Doctora. Mayra Alexandra Logroño Veloz, Magister.
C.C.0602050106

INDICE GENERAL

CONTENIDO	Pág.
PORTADA.....	i
APROBACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	ii
AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
AGRADECIMIENTO	xi
DEDICATORIA.....	xii
RESUMEN EJECUTIVO	xiii
1. CAPITULO I.....	1
1.1 Introducción.....	1
1.2 Justificación	2
1.3 Objetivos.....	5
2. CAPITULO II.....	6
2.1 Estado del Arte.....	6
2.1.1 Nitrato de Plata	6
2.1.2 Propiedades físicas del nitrato de plata	6
2.1.3 Propiedades químicas	6
2.1.4 Riesgos	7
2.1.5 Usos del nitrato de plata	8
2.2 Cabuya (<i>Furcraea andina</i>).....	9
2.2.1 Taxonomía	9
2.2.2 Composición química de la cabuya.....	10
2.2.3 Usos.....	11
2.3 Mandarina (<i>Citrus reticulata</i>).....	11
2.3.1 Taxonomía de la mandarina.....	11
2.3.2 Características químicas de cáscaras de mandarinas.....	12
2.4 Nanopartículas metálicas.....	13
2.3.1 Métodos de síntesis de nanopartículas	13
2.3.2 Síntesis química de nanopartículas	13
2.3.3 Síntesis verde de Nanopartículas	14
2.3.4 Nanopartículas de plata.	14
2.3.5 Caracterización de las Nanopartículas de plata	15

2.3.6 Aplicaciones de Nanopartículas de plata.....	16
2.5 Nanomateriales - Nanocompositos	16
2.5.1 Técnicas de recubrimiento de nanopartículas de plata en fibra vegetal.....	16
2.5.2 Incorporación de nanopartículas de plata en matrices poliméricas.....	17
2.4.5 Propiedades antimicrobianas de la nanomembrana vegetal	17
3. CAPITULO III	19
3.1 Metodología.....	19
3.2 Población y muestra.	19
3.3 Tipo de investigación	20
3.3.1 Experimental.....	20
3.4 Diseño de investigación.....	20
3.4.1 Diseño completamente aleatorio.....	20
3.4.2 Diseño factorial 2 ^k	21
3.5 Enfoque.....	22
3.6 Hipótesis	23
3.6.1 Hipótesis Nula.....	23
3.6.2 Hipótesis Alternativa.....	23
3.7 Descripción de instrumentos.....	23
3.8 Descripción y Operalización de variables	26
3.8.1 Variable independiente.....	26
3.8.2 Variable dependiente.....	26
3.9 Procedimiento para la recolección de información.....	30
3.10 Procedimiento para el análisis e interpretación de resultados	32
3.11 Aspectos Éticos.....	33
4. CAPITULO IV	34
4.1 Resultados.....	34
4.1.1 Condiciones de formación de nanopartículas de plata en estado coloidal ...	35
4.1.2 Condiciones de recubrimiento de las fibras de cabuya con nanopartículas de plata	46
4.1.3 Caracterización de las membranas de cabuya con AgNps	47
4.1.4 Actividad Antibacteriana de las membranas de cabuya con AgNps	58
5 CAPÍTULO V.....	64
5.1 Conclusiones.....	64
5.2 Recomendaciones	64
6 Referencias Bibliográficas	66
7. ANEXOS.....	71

Anexo 1: Proceso de secado de cáscaras de mandarina.....	71
Anexo 2 Proceso de obtención de los extractos de mandarina.....	71
Anexo 3 Proceso de obtención de nanopartículas de plata por el método SPR	72
Anexo 4 Proceso de limpieza de las fibras de cabuya (<i>Furcraea andina</i>).....	72
Anexo 5: Obtención de fibras de cabuya soportadas con nanopartículas de plata	73
Anexo 6 Caracterización de la membrana de cabuya con AgNPs mediante a)SEMb)FTIR.....	73
Anexo 7 Prueba de sensibilidad de las membranas de cabuya soportadas con AgNPs frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus pyogenes</i>	74
Anexo 8 Datos experimentales con los extractos de cáscaras de mandarina de variedad común.....	76
Anexo 9 Datos experimentales con los extractos de cáscaras de mandarina de variedad común.....	78
Anexo 10: Análisis de varianza longitud de onda 30 min 20°C entre todos los tratamientos	79
Anexo 11: Análisis de varianza longitud de onda 60 min 40°C entre todos los tratamientos	80
Anexo 12: Análisis multivariado de la longitud de onda para dos condiciones (30 min, 20°C variedad común y King) (60 min, 40°C variedad común y King).....	81
Anexo 13: Análisis de varianza de la absorbancia a 30 min 20°C entre todos los tratamientos	82
Anexo 14: Análisis de varianza de la absorbancia a 60 min 40°C entre todos los tratamientos	84
Anexo 15 Valores de medidas de halos para sensibilidad	85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Principales propiedades físicas del nitrato de plata.....	6
Tabla 2 Reacciones del nitrato de plata con haluros de plata.....	7
Tabla 3 Identificación de los principales riesgos según el Servicio de Información Nacional de Toxicología y Ciencia Forense	7
Tabla 4 Taxonomía de la planta de cabuya	10
Tabla 5 Taxonomía de la mandarina.....	12
Tabla 6 Composición bromatológica de las cáscaras de mandarina.....	12
Tabla 7 Compuestos antioxidantes de cáscaras de mandarina	13
Tabla 8 Concentración de Nitrato de plata y extractos acuosos de las cáscaras de mandarina variedad común y King.	20
Tabla 9 Determinación del número de unidades experimentales para el análisis.	20
Tabla 10 Diseño aleatorio AxB con extractos de cáscara de mandarina variedad común y King	21
Tabla 11 Diseño factorial 2 ² , con el extracto Variedad común.....	22
Tabla 12 Diseño factorial 2 ² , con el extracto Variedad King.....	22
Tabla 13 Resumen estadígrafos de las variables longitud de onda y absorbancia	34
Tabla 14 Determinación de la normalidad de las variables longitud de onda y absorbancia	35
Tabla 15 Anova entre tratamientos en tiempo 30 min y 20°C para longitud de onda (nm)	40
Tabla 16 Anova entre tratamientos en tiempo 60 min y 40°C para longitud de onda (nm)	40
Tabla 17 Análisis de varianza multivariado (Lawley-Hotelling) para longitud de onda (nm) entre todos los tratamientos (30 min, 20°C) y (60 min, 40°C).....	41
Tabla 18 Análisis de varianza multivariado (Lawley-Hotelling) para longitud de onda (nm) entre todos los tratamientos (30 min, 20°C) y (60 min, 40°C) con respecto a la concentración de nitrato de plata y concentración de extracto de mandarina variedad común y King.	41
Tabla 19 Anova entre tratamientos en tiempo 30 min y 20°C para Absorbancia.	43
Tabla 20 Anova entre tratamientos en tiempo 60 min y 40°C para Absorbancia.	44
Tabla 20 Análisis de varianza multivariado (Lawley-Hotelling) para la absorbancia entre todos los tratamientos (30 min, 20°C) y (60 min, 40°C) con respecto a la concentración de nitrato de plata y concentración de extracto de mandarina variedad común y King.	45

Tabla 21 Anova para la reflectancia de las fibras de cabuya soportadas con nanopartículas de plata.....	48
Tabla 22 Espectros IR de fibras de cabuya limpia (blanco).....	49
Tabla 23 Espectros IR de fibras de cabuya E1 soportadas con nanopartículas de plata adquiridas con extracto de cáscara de mandarina variedad común en tiempo de inmersión de 30 min.	51
Tabla 24 Espectros IR de fibras de cabuya E4 soportadas con nanopartículas de plata adquiridas con extracto de cáscara de mandarina variedad común en tiempo de inmersión de 60 min.	51
Tabla 25 Espectros IR de fibras de cabuya F1 soportadas con nanopartículas de plata adquiridas con extracto de cáscara de mandarina variedad King en tiempo de inmersión de 30 min.....	52
Tabla 26 Espectros IR de fibras de cabuya F4 soportadas con nanopartículas de plata adquiridas con extracto de cáscara de mandarina variedad King en tiempo de inmersión de 60 min.....	53
Tabla 27 Espectros EDX de fibras de cabuya E1 (30min) y E4 (60 min) soportadas con nanopartículas de plata adquiridas con extracto de cáscara de mandarina variedad común	56
Tabla 28 Espectros EDX de fibras de cabuya F1 (30 min) y F4 (60 min) soportadas con nanopartículas de plata adquiridas con extracto de cáscara de mandarina variedad King	57
Tabla 29 Condición de sensibilidad para reporte de actividad antimicrobiana.....	58
Tabla 30 Estadígrafos reporte de sensibilidad de las fibras con AgNPs.....	58
Tabla 31 Anova de resultado de sensibilidad de fibra de cabuya con AgNO ₃ (24horas)	61
Tabla 32 Anova de resultado de sensibilidad de fibra de cabuya con AgNO ₃ (48horas)	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Cabuya (<i>Furcraea andina</i>).....	9
Figura 2: Nanopartículas de plata en estado coloidal a) con extractos variedad común b) con extractos variedad King	36
Figura 3: Histograma de la distribución de longitud de onda en el tiempo a) 30 min y 20 °C b) 60 min 40°C con extractos de cáscara de mandarina variedad común.....	38
Figura 4: Histograma de la longitud de onda en el tiempo a) 30 min y 20 °C b) tiempo 60 min y 40°C con extractos de cáscara de mandarina variedad King.	39
Figura 5 Clasificación morfológica de las nanopartículas de plata y oro y su localización en el espectro UV-visible.....	43
Figura 6 Membranas de cabuya recubiertas con nanopartículas de plata	47
Figura 7 Micrografías SEM, membranas de cabuya soportadas con nanopartículas de plata	54
Figura 8 Micrografía SEM de fibras de cabuya modificadas con Ag NPs (magnificación de 300000 X).....	55
Figura 9 Pruebas de sensibilidad	60

AGRADECIMIENTO

Primero a Dios por permitir el trabajo y constancia
para lograr metas anheladas.

A toda mi familia y amigos quienes, con su apoyo,
han hecho posible alcanzar la culminación de una
meta profesional.

A mi tutor Doctor, Jorge Efrén Silva, quien, con sus
conocimientos, generosidad y vasta experiencia, logró
encauzar técnica y adecuadamente mi proyecto de Tesis.

Al Doctor Mauricio Alvares y Dra. Janet Fonseca por el
soporte incondicional en los laboratorios.

A todas las autoridades de la Universidad Técnica de
Ambato, quienes de manera desinteresada y cordial
supervisaron y regularon eficientemente todo el proceso.

Mayra Alexandra Logroño Veloz

DEDICATORIA

Con cariño a mis HIJOS Alexis, Andrea, Valentina (+), Jailene y a mi nietita Alysha que son el motivo y la razón para seguir superándome día a día y alcanzar mis ideales.

Mayra Alexandra Logroño Veloz

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE INGENIERÍA EN SISTEMAS, ELECTRÓNICA E
INDUSTRIAL
MAESTRÍA EN QUÍMICA MENCIÓN QUÍMICA- FÍSICA

TEMA:

DESARROLLO DE UNA MEMBRANA A BASE DE FIBRA DE CABUYA (*FURCRAEA ANDINA*) RECUBIERTA CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y *PYOGENES*.

AUTOR: Mayra Alexandra Logroño Veloz.

DIRECTOR: Doctor, Jorge Efrén Silva Yumi, PhD.

LINEA DE INVESTIGACIÓN: Medioambiente

FECHA: 19 de enero 2022

RESUMEN EJECUTIVO

El avance de la nanotecnología durante las últimas décadas ha permitido grandiosos progresos en diversos campos, incluidas las ciencias de la salud y la aplicación de la química verde. El objetivo del presente trabajo fue sintetizar y caracterizar nanopartículas de plata en solución y soportadas en una membrana vegetal de cabuya (*Furcraea andina*) a su vez, medir su actividad antimicrobiana. Se efectuó la síntesis in situ por método de química húmeda usando como agente reductor extractos de cáscara de mandarina variedad común y King y se evaluó los niveles de concentración, temperatura, tiempos de inmersión de las fibras de cabuya. Los coloides se caracterizaron por espectroscopia UV- visible proporcionando un rango promedio de longitud de onda entre 430 a 450 nm. La concentración óptima de reactivo precursor fue de 0.0025 M Ag NO₃ y como agente reductor 5% de extracto acuoso de cáscara de mandarina variedad común ó 3% de variedad King. La caracterización de la superficie se efectuó mediante microscopia SEM, EDX y FT-IR. El proceso permitió obtener un material con nanopartículas de plata que exhiben actividad antimicrobiana con mediana sensibilidad frente a *Staphylococcus aureus* y *pyogenes*.

Descriptor: Agente reductor, antibacteriano, cabuya, espectroscopia, fibra, micrografía, nanocompuesto, nanopartículas de plata, plasmón, química verde, sensibilidad,

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE INGENIERÍA EN SISTEMAS, ELECTRÓNICA E
INDUSTRIAL
MAESTRÍA EN QUÍMICA MENCIÓN QUÍMICA- FÍSICA

THEME:

DEVELOPMENT OF A MEMBRANE BASED ON CABUYA FIBER (FURCRAEA ANDINA) COATED WITH SILVER NANOPARTICLES AND EVALUATION OF ITS ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND PYOGENES.

AUTHOR: Mayra Alexandra Logroño Veloz.

DIRECTED BY: Doctor, Jorge Efrén Silva Yumi, PhD.

LINE OF RESEARCH: Environment

DATE: January 19 th, 2022

EXECUTIVE SUMMARY

The advancement of nanotechnology during the last decades has allowed great progress in various fields, including health sciences and the application of green chemistry. The objective of the present work was to synthesize and characterize silver nanoparticles in solution and supported on a plant membrane of cabuya (*Furcraea andina*), in turn, to measure their antimicrobial activity. In situ synthesis was carried out by wet chemistry method using common and King mandarin peel extracts as a reducing agent, and the levels of concentration, temperature, and immersion times of the cabuya fibers were evaluated. The colloids were characterized by UV-visible spectroscopy providing an average wavelength range between 430 to 450 nm. The optimal concentration of the precursor reagent was 0.0025 M Ag NO₃ and as a reducing agent, 5% of the aqueous extract of mandarin peel of the common variety or 3% of the King variety. The characterization of the surface was carried out by means of SEM, EDX and FT-IR microscopy. The process allowed obtaining a material with silver nanoparticles that exhibit antimicrobial activity with medium sensitivity against *Staphylococcus aureus* and *pyogenes*.

Descriptors: Silver nanoparticles, antibacterial activity, natural reducing agent

Silver nanoparticles, antibacterial activity, natural reducing agent

1. CAPITULO I

1.1 Introducción

La nanotecnología durante las últimas décadas ha concedido extraordinarios perfeccionamientos en varios campos, incluidas las ciencias de la salud. La aplicación de nanotecnología en medicina incluye la prevención, diagnóstico, pero en especial, trata enfermedades originadas por microorganismos resistentes a medicamentos convencionales.[1]

Las nanopartículas de plata (AgNPs) son de importancia médica por sus propiedades antimicrobianas desarrolladas, que en cotejo a macro-partículas de plata que son de mayor tamaño, no pueden traspasar la pared celular de los microorganismos para producir su muerte, esto crea que se indaguen y desplieguen nuevas metodologías de síntesis de nano partículas de plata y pueden ser físicos, químicos y biológicos.[2]

Existen diferentes rutas de producción de AgNPs y han sido investigadas; entre las cuales se basan en la reducción de nitrato de plata por hidruro de boro y sodio o citrato de sodio. Nuevos métodos incluyen el uso de microondas, electrólisis de sales de plata, microemulsión y foto reducción de iones Ag.[3]

Los métodos para reducir sales metálicas mediante el uso de un reductor químico demuestran un amplio número de variaciones del agente reductor, así pueden ser: ácido ascórbico, polioles o monosacáridos, por el impacto que tiene la síntesis de estos materiales en el ambiente; en la actualidad se indaga nuevas alternativas para la elaboración de nano partículas soportadas en fibras naturales como el algodón, seda, penco entre otros; que sean amigables con la naturaleza, también conocida como síntesis verde, y ocasionen menor cantidad de desechos tóxicos[4]. Varios autores en los últimos años han usado elementos como pétalos de flores y extractos de plantas de forma exitosa.[5]

En la síntesis verde, se provoca la reducción química de la sal AgNO_3 mediante el uso de β -D-glucosa, taninos, polifenoles como flavonoides que generalmente se encuentran en cáscaras de frutas cítricas y se usan como agentes reductores y por la elevada actividad antibacteriana.[6]

Existen matrices que estabilizan las nanopartículas de plata y permiten se mantengan o modifiquen sus propiedades, se citan, por ejemplo, polímeros orgánicos o recubrimientos de sílice [2]. Materiales como PVP (polivinil - pirrolidona) [7][8] PVA (Polivinil alcohol)[9], metilcelulosa [10] e hidroxipropil celulosa [4], son usados como agentes estabilizantes que evitan la agregación de las nanopartículas en soluciones coloidales y ayudan a modificar la forma y el tamaño de las partículas obtenidas.[5]

La compañía nano Composix, Inc. investigó las propiedades de las nanopartículas de plata y encontraron muchas funciones entre ellas la de protección antibacterial. Según los análisis realizados por este estudio bajo microscopio electrónico y espectrofotómetro de luz UV-visible demostraron que la efectividad de las nanopartículas de plata aumenta cuando el tamaño de partícula sea el menor posible, de hasta 10 nm de granulometría.[11]

De acuerdo con lo expuesto se formula el siguiente problema de investigación:

¿Cuál es el efecto de la membrana de *Furcraea andina*, estructurada con nanopartículas de plata utilizando como agente reductor cáscara de *Citrus reticulata* sobre la actividad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pyogenes*?

1.2 Justificación

Esta investigación cumple con el Eje 1 el Objetivo 3 del Plan de Desarrollo, proporcionando una nueva alternativa que ha surgido en los últimos años con respecto a la nanomedicina que hace uso de nanopartículas de disímiles tipos con diferentes aplicaciones, dentro de estas las nanopartículas de plata. [12]

Conveniencia

Esta investigación efectúa la síntesis de nuevos materiales nanofuncionales que combinen las ventajas de una matriz celulósica polimérica biodegradable, económica y con alta resistencia mecánica, con la actividad de las AgNPs. [6]. A su vez se aplicará como material de soporte una fibra natural como la cabuya (*Furcraea andina*), planta típica de las yungas y vertientes occidentales de la sierra ecuatoriana de la cual existen pocos reportes y se podrá obtener bionanocompositos a base de la fibra dura que podrán ser perfectamente usados bajo condiciones extremas de temperatura, humedad y presión sin que se afecte su funcionalidad, a diferencia de los bionanocompositos hechos de fibras blandas, cuyos usos se limitan a la industria textil debido a su resistencia mecánica y química inferior. [11]

Relevancia Social

Es un área de investigación muy activa en la actualidad; el estudio de propiedades de nanopartículas de plata soportadas en fibras naturales presentan un gran interés para la investigación química por la amplia variedad de nuevas propiedades y potenciales aplicaciones que se pueden explotar en el campo de la nanomedicina, [6]. Constituyen la alternativa para prácticas respetuosas con el ambiente, proporcionando una variante promisorio para resolución de problemas en la búsqueda de nuevas sustancias de alto valor biológico que dilucide las incógnitas relacionadas con la seguridad del hombre y su entorno.[13]

Implicaciones prácticas

Se enfoca en el objetivo 6 y 9 de Desarrollo Sostenible porque es necesario la búsqueda de alternativas a procedimientos antimicrobianos habituales como son los antibióticos especialmente en el campo del tratamiento y profilaxis infecciosa tópicos [14]. con respecto a la contaminación de *Staphylococcus aureus* que causa la mayoría de las infecciones por

estafilococo. y *Staphylococcus pyogenes* uno de los patógenos humanos más comunes. [11]

Valor teórico

En Ecuador existen diferentes estudios de síntesis verde de nanopartículas de plata, pero no existen estudios de síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs) usando como agente reductor los componentes orgánicos del extracto de cáscara de mandarina soportadas en fibra natural como la cabuya que presenten actividad antimicrobiana. [11]

Utilidad o valor metodológico

Esta investigación favorece el conocimiento técnico y aporta con nueva metodología para obtener nanopartículas de plata aplicando la química verde usando material orgánico puesto que las cáscaras de mandarina (*Citrus reticulata*) actúan como agente reductor que, de acuerdo a estudios comparativos en una investigación de compuestos bioactivos en cáscaras de frutas cítricas, identificaron que posee alto contenido de polifenoles. [15], los cuales promueven los periodos de cicatrización de heridas, gracias a su poder de eliminar radicales libres y son fuentes ricas de antioxidantes. [12]

1.3 Objetivos

1.3.1 General

Obtener una membrana de *Furcraea andina*, cubierta con nanopartículas de plata utilizando como agente reductor cáscara de *Citrus reticulata* para determinar la actividad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pyogenes*.

1.3.2 Específicos

Sintetizar y caracterizar nanopartículas de plata usando como agente reductor cáscara de *Citrus retícula*.

Identificar las condiciones para soportar nanopartículas de plata en la fibra natural *Furcraea andina* para obtener un apósito antiséptico.

Efectuar pruebas in vitro del apósito antiséptico de fibra natural *Furcraea andina* con nanopartículas de plata para determinar actividad antibacteriana de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pyogenes*.

2. CAPITULO II

2.1 Estado del Arte.

2.1.1 Nitrato de Plata

El nitrato de plata es una sal cristalina que se obtiene al disolver plata en ácido nítrico y evaporando la solución, normalmente se usa en disolución.[16] [17]

Fórmula química: $\text{Ag}[\text{NO}_3]$

Peso molecular: 169,89 g/mol

Sinónimos: Cristales de diana

Nitrato argénico [18]

2.1.2 Propiedades físicas del nitrato de plata

El estado de agregación es sólido, se presenta como cristales transparentes blancos en forma rómbica los cuales se pueden separar al enfriar una solución en los proceso de purificación repetida [19], cristaliza en láminas delgadas inalterables con el aire pero se alteran en presencia de materia orgánica a la luz [16]. Son inodoros de sabor amargo. En la Tabla 1 se indica importantes propiedades físicas del nitrato de plata.

Tabla 1 Principales propiedades físicas del nitrato de plata.

PROPIEDAD	VALOR
Densidad	4,35 g/ml
Punto de fusion	212°C
Descomposición termal	Mayor a 444°C
Temperatura crítica	15°C
Densidad de vapor (aire =1)	4,4
Solubilidad en agua	245g/gH ₂ O (25°C)
Solubilidad en alcohol	20,8g/L

Fuente: Enciclopedia de Tecnología Química (2020) [16]

2.1.3 Propiedades químicas

La sal de nitrato de plata es muy caustica, al exponerse a una temperatura inferior al rojo oscuro se funde y se solidifica por enfriamiento a una masa

cristalina que al calentarse se transforma en nitrito y en seguida se descompone, quedando plata reducida, se obtiene el nitrato de plata puro. [17] [19]

En química analítica cualitativa se usa para caracterizar haluros de plata por reacciones de coloración las que se exponen en la Tabla 2

Tabla 2 Reacciones del nitrato de plata con haluros de plata

REACCIONES	COLOR
$\text{NaF} + \text{AgNO}_3 \rightarrow \text{NaNO}_3 + \text{AgF}$	Incoloro
$\text{NaCl} + \text{AgNO}_3 \rightarrow \text{NaNO}_3 + \text{AgCl}$	Blanco
$\text{KBr} + \text{AgNO}_3 \rightarrow \text{KNO}_3 + \text{AgBr}$	Gris verdoso
$\text{KI} + \text{AgNO}_3 \rightarrow \text{KNO}_3 + \text{AgI}$	Amarillo

Fuente: Manual de Física y Química [19]

2.1.4 Riesgos

Una gota de la disolución de esta sal produce en la piel una mancha negra persistente, la cual desaparece lavando la parte ennegrecida con la disolución de cianuro de potasio. [19]

Las sales de plata o coloides, se han empleado desmedidamente y sin control, la venta de suplementos, alimenticios, de medicamentos, antibióticos y bactericidas a base de plata no es regulada y ha escapado a las medidas de seguridad pertinente [20], por lo tanto, es necesario resaltar los principales efectos tóxicos que se ocasiona en el hombre y están indicados en la Tabla 3 y pueden ser agudos o crónicos.

Tabla 3 Identificación de los principales riesgos según el Servicio de Información Nacional de Toxicología y Ciencia Forense

CLASE DE PELIGRO	INDICACIÓN	PREVENCIÓN
Sólido comburente	Puede agravar un incendio; comburente	Evitar su eliminación al medio ambiente
Corrosivo	Quemaduras sobre la piel	Usar guantes de protección
Sobre ojos	Quemaduras	Usar gafas de protección
Medio acuático	Muy tóxico con efectos nocivos duraderos	Evitar su eliminación en el agua.

Fuente: Fundación Española de Toxicología Clínica [21]

En caso de CONTACTO CON LA PIEL se debe retirar inmediatamente toda la ropa contaminada y enjuagar la piel con abundante agua.

En caso de CONTACTO CON LOS OJOS se debe quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad el lavado con abundante agua.

2.1.5 Usos del nitrato de plata

La plata es un metal que se le ha dado diversos usos

Usos en medicina:

En cirugía por muchos se ha empleado para cauterizar heridas [19]

Como medicamento se encuentra comercialmente como ARGENPAL Barra cutánea 42,5 mg [20]

Mecanismo de Acción: Destrucción de las células por acción química formándose una capa de tejido muerto o escara.

Indicaciones terapéuticas: Tratamiento cáustico de verrugas y granulomas de la piel, aftas bucales, epistaxis anterior.

Contraindicaciones: no se debe aplicar sobre heridas abiertas, infectadas, irritadas o enrojecidas, lunares, manchas de nacimiento u otras manchas de la piel, verrugas genitales, verrugas de la cara o de las mucosas, región anogenital o grandes áreas.

Advertencias y precauciones: Proteger la piel sana de alrededor de la lesión. En epistaxis anterior, no realizar otra cauterización simultáneamente en el mismo lugar del lado opuesto del septo.

Interacciones: No se debe emplear junto a otros medicamentos en la misma zona.

En el embarazo: se desconoce la eficacia y seguridad en mujeres embarazadas y si puede afectar a la capacidad reproductora.

Reacciones adversas: Dermatitis, exantema, quemaduras, decoloración de la piel. [20]

2.2 Cabuya (*Furcraea andina*)

La cabuya es una planta rústica, que se ha explotado en Ecuador desde tiempos inmemoriales [22]. Cervantes y Cuya (2015) aluden que es una planta de origen americano, sobretodo de las regiones de la cordillera de los andes como Perú, Venezuela, Colombia, Bolivia y Ecuador [23]

Villacrés P, (2018) indica que el fique o cabuya se usó en épocas incaicas con fines alimenticios, medicinales y en la construcción; además menciona que es importante legado histórico, cultural y económico de familias campesinas e indígenas. Además, menciona que en Ecuador se cultivan aproximadamente 2349 hectáreas de cultivo de cabuya; siendo la provincia del Carchi el mayor productor que representa el 51%, y el porcentaje restante producen las provincias de Pichincha, Tungurahua, Cotopaxi, Bolívar, Chimborazo, Azuay, Loja, Guayas y Manabí.[24]

La especie *Furcraea andina* (figura 1), es una planta de importancia industrial ya que se usan para la extracción de fibras naturales, obtención de bebidas fermentadas y sustancias precursoras de esteroides, representan importancia ambiental y económica.[25]



Figura 1 Cabuya (*Furcraea andina*)

Elaborado por: Logroño M. 2021

2.2.1 Taxonomía

Merino S (2015) manifiesta que el género *Furcraea* consta de 20 especies de plantas, forman rosetas de hojas grandes y carnosas que terminan en pequeñas puntas con una espina débil [26] La planta recibe diversos

nombres, dependiendo del país o región donde se cultive. Nombre común: .[25]

La cabuya blanca presenta la siguiente clasificación taxonómica y se indica en la tabla 4

Tabla 4 Taxonomía de la planta de cabuya

Taxón	Nombre
Nombre científico	<i>Furcraea andina</i>
Nombre común	pita, maguey, cabuya, mezcal, fique
Reino	Plantae
División	Embriofitas Sifonógamas
Sub-.división	Angiospermas
Clase	Monodicotiledóneas
Orden	Lilifloras
Familia	Amarilidáceas
Sub-familia	Agavoideas
Género	Furcraea
Especie	Furcraea Andina

Fuente: Merino, S (2015)[26]

2.2.2 Composición química de la cabuya

Yáñez, M (2017), indica las principales características químicas de la cabuya, así menciona que contiene del 40 al 80 % de celulosa, la más abundante de las paredes celulares de las plantas; de 5 a 25 % de lignina, considerado uno de los polímeros fundamentales de la pared celular que provee la rigidez adecuada a la planta y 10 % de hemicelulosa también llamado heteropolisacárido que cumple con la función de proteger a la celulosa de la planta; además contiene 1,58% de cenizas.[27]

2.2.3 Usos

Actualmente la fibra es áspera y rústica lo cual limita la elaboración y diversificación de productos siendo usada únicamente en la producción de sacos o costales, así como también en cordelería. Se usa la fibra para elaboración de productos textiles, hace las veces de jabón, leña, el jugo como fijador de colores y alimento para ganado; los indígenas lo usaban para teñirse el cabello, blanquear casas, hacer cercas. [22]

2.3 Mandarina (*Citrus reticulata*)

La mandarina es un fruto originario de Sur oeste de China y de la India; actualmente se cultiva en casi todo el mundo apreciado por el sabor y cualidades nutritivas. En el Ecuador las áreas de producción se desarrollan en lugares subtropicales en alturas entre 0 – 2500 msnm, la temperatura ideal es de 14 a 24°C y las cosechas comprenden entre los meses de marzo y agosto.[28]

La mandarina es destinada para el consumo local e insumo en la agroindustria para la producción de concentrados, néctares y jugos, por tal motivo conlleva a la generación de desechos orgánicos como las cáscaras, pulpas, semillas, donde la cáscara representa del 40 al 60% del peso aproximado de la fruta.[29][30]

2.3.1 Taxonomía de la mandarina

En el Ecuador se producen variedades de mandarina como Ponkan, Satsuma, precoz, normal (común) Dancy King y Malvasio [28] y pertenecen a la familia de las Rutacea como se indica en la Tabla 5 .

Tabla 5 Taxonomía de la mandarina

Taxón	Nombre
Reino	Plantae
División	Embriofitas
Sub-.división	Angiospermas
Clase	Dicotiledoeas
Orden	Geraniales
Familia	Rutacea
Sub-familia	Aurotioideae
Género	Citrus
Especie	Reticulata

Fuente: Delgado M, (2020)[30]

2.3.2 Características químicas de cáscaras de mandarinas

La cáscara de mandarina es fuente ideal de antioxidantes naturales, afirman varias investigaciones que predominan los polifenoles considerados también como agentes reductores; en la tabla 6 se indica la composición bromatológica y en la tabla 7 la cantidad y tipo de antioxidantes propios de la variedad King y común.

Tabla 6 Composición bromatológica de las cáscaras de mandarina

Análisis proximal	g/100g (base seca)
Humedad	4,33 - 4,4
Ceniza	3,96 - 4,17
Grasa	1,45 – 1,61
Proteína	7,75 – 7,79
Fibra Total	59,81 – 60

Fuente: Rincón A y Col (2005) [29]

Tabla 7 Compuestos antioxidantes de cáscaras de mandarina

Compuestos	mg/100g (base seca)
Ácido Ascórbico	10,51 - 14,15
Carotenoides totales	10,50 - 11,56
Polifenoles totales	75,79 – 77,21

Fuente: Rincón A y Col (2005) [29]

2.4 Nanopartículas metálicas

Como su propio nombre lo indica, son partículas que tienen escala entre 1 a 100 nm, presentan varias aplicaciones, especialmente el área de la medicina, como lo indica el grupo de investigación: “Materiales Avanzados y Energía-MAT y ER del Instituto Tecnológico de Medellín” reconoce que las nanopartículas de plata, cobre, óxido de zinc y de óxido de cobre se aplican como agentes antibacterianos inorgánicos, por su estabilidad y no presentan problemas de bioseguridad.[7]

2.3.1 Métodos de síntesis de nanopartículas.

Los principales métodos para la producción de nanopartículas son enfoques químicos y físicos que a menudo son costosos y potencialmente perjudiciales para el ambiente [8] algunas rutas han sido investigadas por reducción de hidruros y citratos de sodio, incluso en medio de radiación de microondas y fotoreducción [31]

2.3.2 Síntesis química de nanopartículas

D. K. Bhui y A. Misra llevaron a cabo un método sencillo de un solo paso para sintetizar nanopartículas de plata usando NaBH_4 , la mayoría se sintetizaron en un tamaño mono disperso y su agregación se controló variando la concentración de AgNO_3 y encontraron que la concentración del nitrato de plata tiene un efecto significativo en la morfología de las Ag NPs. [10]

Los métodos de reducción química exhiben soluciones multicolores en medio acuoso y para diferenciar el coloide se emplea espectroscopio Uv – visible en un rango de longitud de onda de 410 nm. [9]

2.3.3 Síntesis verde de Nanopartículas

La síntesis de nanopartículas con extracto de plantas es un método alternativo, eficiente, económico y seguro para el ambiente y origina nanopartículas con propiedades determinadas. [8]

Por lo general los extractos de plantas que se manipulan como agentes reductores para formar nanopartículas se caracterizan por poseer polifenoles, taninos y antioxidantes, los cuales se encuentran en desechos de cáscaras de cítricos, plátanos, tuna y especias como el ajo y la cebolla proporcionando resultados óptimos de reducción del nitrato de plata [32]

En el trabajo de titulación denominado “*Síntesis y características de nanopartículas de oro y plata mediante el uso de plantas endémicas del Ecuador*” se empleó diferentes cantidades de extractos de hojas de cuatro plantas endémicas de Ecuador como agentes reductores y estabilizantes de las siguientes plantas: guaba de Tumbaco (*Inga insignis*), algarrobo de Quito (*Mimosa quitensis*), ashpa chocho de Rumipamba (*Lupinus pubescens*) y mora andina (*Rubus glaucus*) y obtuvieron resultados óptimos en cantidad y calidad de nanopartículas.[33]

2.3.4 Nanopartículas de plata.

Ledesma A, & col (2014), sintetizaron AgNPs mediante una alternativa ambiental, manipulando como agente reductor extracto acuoso de nopal (*Opuntia sp.*) en presencia de polímeros biocompatibles solubles en agua poli (vinil alcohol) (PVA) como agente estabilizador. [34]

Kokila T, Ramesh P y Geetha, sintetizaron AgNPs a partir de un extracto de cáscara de plátano previamente seco de lo cual 25 g de polvo se calentó a 80°C, el extracto posteriormente se usó como agente reductor y estabilizante, para optimizar la ruta de producción se efectuaron diversas concentraciones entre 1 a 5 ml de extracto y a continuación se adicionó a AgNO₃ 1M, la reacción dio lugar a los 30 minutos a temperatura ambiente,

donde la formación de un color parduzco anaranjado indicó la formación de AgNPs [12]

2.3.5 Caracterización de las Nanopartículas de plata

Anna Zielinzka & Col. (2009) estudiaron el efecto del precursor de plata y su concentración en la formación de coloides estables para ser caracterizados en UV-VIS en una banda de plasmón fuerte cerca de 410nm, que ratifican la reducción de iones de plata a Ag^0 en fase acuosa; así como también, confirmaron mediante observación de difracción de rayos X en polvo (DRX). Los tamaños de las nanopartículas de plata se localizaron en el rango de 5 nm a 100 nm. [9]

D. K. Bhui y A. Misra (2010) muestran que las nanopartículas se logran analizar mediante microscopio electrónico de transmisión (TEM), espectroscopía UV –vis y técnicas de difracción de rayos X (XRD) [10] [34]

Ledesma A, & col (2014), en su investigación de extracción de AgNPs por síntesis verde monitorearon la formación de los mismos mediante análisis de espectroscopia UV-visible, registraron en una banda de absorción altamente simétrica un pico máximo a 421 nm lo cual indica la presencia de nanoestructuras de plata por la excitación de los plasmomes superficiales típicos de las AgNPs. Además, el análisis por TEM muestra la formación de nanopartículas de morfología esférica con un tamaño entre 4 nm a 28 nm. [34]

Kokila T, Ramesh P & Geetha (2020) obtuvieron nanopartículas de plata en estado coloidal de color parduzco anaranjado y confirmaron la formación de AgNPs por espectroscopia UV-visible a través de la conversión de color debido la banda de resonancia de la superficie a 430 nm; la naturaleza cristalina se confirma a partir del patrón difracción X (XRD) e informaron que el tamaño de las nanopartículas fue de 34 nm. [12]

La espectroscopia transformada de Fourier (FT-IR), microscopía de fuerza atómica (AFM) se usó para demostrar la composición de la solución reductora del residuo orgánico que se empleó como agente reductor. [12]

El diámetro de AgNPs fue entre 23 a 30 nm, se confirmó por el microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FE-SEM); los estudios de dispersión dinámica de luz (DLS) revelaron que el promedio de AgNPs se caracterizaron aproximadamente a 297 nm. [12]

2.3.6 Aplicaciones de Nanopartículas de plata

Ortega D, (2020) reitera que un campo de amplio interés de las nanopartículas de plata es la aplicación como agente antimicrobiano, pero el mecanismo de acción aún no es clarificado; sin embargo, las AgNPs pueden actuar de las siguientes formas: [35]

- Anclaje a la pared bacteriana que en el interior produce daños estructurales como la permeabilidad, y eso le causaría la muerte
- Interacción de las AgNPs con proteínas que contienen azufre, lo que ocasiona muerte celular[36]

2.5 Nanomateriales - Nanocompositos

Oksman K. & Col. (2006); Ovalle S. & Col (2013) han efectuado síntesis in situ para formar biocompuestos con materiales naturales como fibras de fique e incorporaron matrices a escala nanométrica, definidos como clusters de átomos entre rango de 1 a 100 nm. Los resultados han fomentado desarrollo en la búsqueda de avances de química verde y formación de materiales híbridos con propiedades interesantes con respecto a resistencia mecánica, térmica y actividad antimicrobiana[37] [38]

2.5.1 Técnicas de recubrimiento de nanopartículas de plata en fibra vegetal

Los reportes de investigación referentes a técnicas de recubrimiento con nanopartículas de plata en fase acuosa sobre fibras, mencionan que las fibras naturales de celulosa son matrices ideales por la superficie que

poseen porosidad innata, y la estructura nanoporosa con elevada densidad de oxígeno funciona como nanoreactor para estabilizar las nanopartículas e implica un recubrimiento uniforme sin la necesidad de usar estabilizantes [39]

2.5.2 Incorporación de nanopartículas de plata en matrices poliméricas

La incorporación de nanopartículas de plata en matrices poliméricas sobre la formación in-situ de nanopartículas de plata AgNPs sobre fibras de cabuya constituyen 3 pasos fundamentales como se indica a continuación:

Nucleación: Inicia con la agregación del agente reductor para transformar los iones de plata que están unidos electrostáticamente en la superficie de la fibra de cabuya.

Crecimiento: Los átomos de plata neutros comienzan a agregarse y la nanoestructura crece en la superficie hasta alcanzar un volumen estable de acuerdo a las condiciones de síntesis

Estabilización: La estructura porosa de la celulosa de la fibra de cabuya estabiliza las AgNPs mediante un efecto denominado “éter corona” posiblemente a la elevada densidad de átomos de oxígeno que rodean las nanopartículas.[40][41]

2.4.5 Propiedades antimicrobianas de la nanomembrana vegetal

J.M. Sahuquillo Arce y otros investigadores (2020) analizaron las propiedades antimicrobianas de una espuma de poliuretano que libera iones de plata sobre algunos microorganismos, cuyos estudios experimentales se realizaron in vitro para la capacidad bactericida mediante curvas de letalidad sobre *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *S. aureus resistente a meticilina*, *E. faecium*, *S. pyogenes* y *C. minutissimum*, los resultados indicaron que en 3h se alcanzó una disminución superior al 99,9% en todos los microorganismos gramnegativos exceptuado el *E. coli* que fue del 92,5%, asimismo, la reducción fue superior al 99% a las 2h en *S.*

pyogenes y *C. minutissimum*; a las 6h en *S. aureus* y a las 14h en *E. faecium*. En estudios in vivo estas reducciones se obtuvieron en 6h en los gramnegativos y en 24h en los grampositivos. [14]

Kokila T, Ramesh P & Geetha (2015) identificaron el potencial antibacteriano de los AgNPs biosintetizados probando contra Gram-positivos (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*) y bacterias Gram-negativas (*Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*) usando agar por el método de difusión de disco. Las placas se dejaron durante la noche a temperatura ambiente para permitir que apareciera cualquier contaminación. Luego los discos se colocaron en placas de agar Muller Hinton inoculados a 37 °C por 24 horas [12]. La actividad antibacteriana y antifúngica de las AgNPs y de AgNPs/nanofibras, se han evaluado utilizando cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus Níger* [34]

3. CAPITULO III

3.1 Metodología

El desarrollo de la presente investigación se ejecutó en los laboratorios de Investigación y Química Instrumental de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y en el Laboratorio Clínico Fonseca de la ciudad de Riobamba –Ecuador.

La síntesis de las nanopartículas de plata se efectuó bajo la modalidad de química verde con el método química húmeda como alternativa a solución de problemas ambientales generados por el uso de químicos tóxicos asociados a la síntesis química [42][43]

3.2 Población y muestra.

La población es finita y accesible, considerando que las muestras de cabuya cruda se ofertan en porciones con peso aproximado de 500 g; inmediatamente se eliminó de forma manual las impurezas y limpieza asistida por baño ultrasónico proporcionando submuestras de 7 cm de largo y 2 de ancho con pesos de 8 gramos totalmente secas y limpias.

Las muestras de cáscaras de mandarina parten de 500 g de material fresco, posterior de secado y triturado se obtuvo 60 g de variedad King y 50 gramos de variedad común.

Las condiciones en cuanto a la concentración de nitrato de plata y extractos acuosos de mandarina de dos variedades se indican en la tabla 8.

El número de unidades experimentales para la reducción del nitrato de plata con los extractos acuosos de la cáscara de mandarina de variedad común y variedad King, que delimitan los tratamiento con mejor condición en cuanto a concentración como temperatura que se emplean para la obtención de la membrana de cabuya soportada con AgNPs y su estimación antimicrobiana ante *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pyogenes*, se indican en la tabla 9 y se detalla el número de unidades experimentales para la presente investigación.

Tabla 8 Concentración de Nitrato de plata y extractos acuosos de las cáscaras de mandarina variedad común y King.

Concentración Molar de AgNO_3	% de acuoso variedad común	Extracto % acuoso variedad común
A1: 0,001	B1: 5	C1: 5
A2: 0,0015	B2: 4	C2: 4
A3: 0,002	B3: 3	C3: 3
A4: 0,0025	B4: 2	C4: 2
	B5: 1	C5: 1

Elaborado por: Logroño M. 2021

Tabla 9 Determinación del número de unidades experimentales para el análisis.

Modelos experimentales	Número de unidades experimentales.
Diseño experimental aleatorio A x B	40
Diseño factorial 2^2 Variedad común	4
Diseño factorial 2^2 Variedad King	4

Elaborado por: Logroño M. 2021

3.3 Tipo de investigación

3.3.1 Experimental.

Esta investigación se desarrolló dentro de la modalidad de investigación cuantitativa - experimental ya que todas las variables a evaluarse pueden ser medibles con la toma de datos numéricos en el laboratorio

3.4 Diseño de investigación

3.4.1 Diseño aleatorio.

La fase de formación de nanopartículas de plata por el método húmedo se utilizó como sustancias reductoras extractos acuosos de dos variedades de mandarina

(común y king), los mismos que se realizaron pruebas piloto para determinar una concentración adecuada; indistintamente se colocó una relación 1:1 con algunas soluciones de concentración de nitrato de plata sugeridas por diferentes investigaciones [42] a dos temperaturas 20 °C y 40 °C en dos tiempos 30 y 60 minutos con aplicación de un diseño aleatorio: A x B (variedad común) y AxC (variedad King) como se indican en la tabla 10.

Tabla 10 Diseño aleatorio AxB con extractos de cáscara de mandarina variedad común y King

% Extractos	A: [AgNO ₃]			
	A1	A2	A3	A4
B1	Y _{A1B1}	Y _{A2B1}	Y _{A3B1}	Y _{A4B1}
B2	Y _{A1B2}	Y _{A2B2}	Y _{A3B2}	Y _{A4B2}
B3	Y _{A1B3}	Y _{A2B3}	Y _{A3B3}	Y _{A4B3}
B4	Y _{A1B4}	Y _{A2B4}	Y _{A3B4}	Y _{A4B4}
B5	Y _{A1B5}	Y _{A2B5}	Y _{A3B5}	Y _{A4B5}
C1	Y _{A1C1}	Y _{A2C1}	Z _{A3C1}	Z _{A4C1}
C2	Y _{A1C2}	Y _{A2C2}	Z _{A3C2}	Z _{A4C2}
C3	Y _{A1C3}	Y _{A2C3}	Z _{A3C3}	Z _{A4C3}
C4	Y _{A1C4}	Y _{A2C4}	Z _{A3C4}	Z _{A4C4}
C5	Y _{A1C5}	Y _{A2C5}	Z _{A3C5}	Z _{A4C5}

Nota: **A** representa las concentraciones de Nitrato de plata A1: 0,001M AgNO₃; A2: 0,0015 M AgNO₃; A3: 0,002M AgNO₃; A4: 0,0025 M AgNO₃; **B** representa las concentraciones del extracto acuoso de cáscara de mandarina variedad común; B1: 5%; B2: 4%; B3:3%; B4 2%; B5: 1%.; **C** representa las concentraciones del extracto acuoso de cáscara de mandarina variedad King; C1: 5%; C2: 4%; C3:3%; C4 2%; C5:1%. **Y** representa la variable respuesta de cada combinación: longitud de onda y absorbancia.

Elaborado por: Logroño M, 2021

3.4.2 Diseño factorial 2^k

El procedimiento de síntesis del bionanocompuesto como se indica en los diseños de las tablas 11 y 12; considerando los parámetro óptimos de nitrato de plata y extractos de cáscara de mandarina del proceso 3.4.1; radicó en colocar las fibras de cabuya limpias en la solución precursora de AgNO₃ que proporcionó mejor absorción (0,0025M), durante dos tiempos 30 y 60 minutos en presencia de ondas

de ultrasonido a 40°C. Posteriormente las fibras se lavaron con abundante agua y se dispusieron en los extractos acuosos de mandarina de las dos variedades de con la concentración del 5%, B1 y C1 respectivamente, de manera similar en dos tiempos 30 y 60 minutos, en condiciones de ultrasonido a la temperatura de 40 °C, por último las fibras se lavaron y secaron a 60 °C por 24 horas. El tamaño de las fibras para todos los procesos fue de 7 cm de largo con un peso de 8 gramos

Tabla 11 Diseño factorial 2², con el extracto Variedad común

Numero de experimentos	Tiempo de inmersión con AgNO ₃ 0,0025M (min)	de	Tiempo de inmersión 5 % Extracto acuoso B1 (min)	de	Respuesta Experimental
E1	30		30		Y1
E2	30		60		Y2
E3	60		30		Y3
E4	60		60		Y4

Nota: Y: Representa la Variable respuesta actividad antimicrobiana del nanomaterial sobre *Staphylococcus aureus* y *pyogenes*.

Elaborado por: Logroño M. 2021

Tabla 12 Diseño factorial 2², con el extracto Variedad King

Numero de experimentos	Tiempo de inmersión con AgNO ₃ 0,0025M (min)	de	Tiempo de inmersión 5 % Extracto acuoso C1 (min)	de	Respuesta Experimental
F1	30		30		Z1
F2	30		60		Z2
F3	60		30		Z3
F4	60		60		Z4

Nota: Z representa Variable respuesta la actividad antimicrobiana del nanomaterial sobre *Staphylococcus aureus* y *pyogenes*.

Elaborado por: Logroño M. 2021

3.5 Enfoque

El enfoque de la investigación fue Cuantitativo, que verificó la actividad antimicrobiana de las membranas de cabuya (*Furcraea andina*) soportadas

con nanopartículas de plata obtenidas con agente reductor orgánico (extractos de cáscaras de mandarina) calculando por triplicado la sensibilidad en función del tiempo con respecto a agentes bacterianos como el *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pyogenes*, mediante el análisis de varianza con el uso del Software estadístico InfoStat 2020 versión libre.

3.6 Hipótesis

3.6.1 Hipótesis Nula

Ho: No es factible obtener una membrana de *Furcraea andina*, estructurada con nanopartículas de plata utilizando como agente reductor cáscara de *Citrus reticulata* que presente actividad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pyogenes*.

3.6.2 Hipótesis Alternativa

H1: Es factible obtener una membrana de *Furcraea andina*, estructurada con nanopartículas de plata utilizando como agente reductor cáscara de *Citrus reticulata* que presente actividad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pyogenes*.

3.7 Descripción de instrumentos

A continuación, se detalla características técnicas de, materiales, reactivos y equipos usados en la presente investigación:

Materiales:

Fibra de cabuya (*Furcraea andina*): La fibra de cabuya cruda se obtuvo de pequeños distribuidores que comercializan en el mercado local Plaza Barriga de la ciudad de Riobamba. La fibra presenta vestigios de restos de material vegetal.

Cáscaras de mandarina (*Citrus reticulata*): *Variedad común y King* Las muestras de frutos de mandarinas de variedad común y King se adquirió en un mercado local (Plaza Barriga) de la ciudad de Riobamba, con un grado

de madurez evidenciado por la firmeza, color y sin presencia de daños físicos ni biológicos.

Reactivos:

Nitrato de Plata:

Grado Analítico, EMSURE® ACS, ISO

Fórmula química: AgNO_3

Peso molecular: 169,87 g/mol

Temperatura de almacenaje: Ambiente.

Agua destilada: Presentación en galón de la casa comercial Prolabor – Riobamba Ecuador.

Medio de cultivo Agar – Muller: Merck ISO 17025

Composición típica 2 gramos de extracto de carne, 18 g de hidrolizado de caseína, 1,5 g de alimón y 18 g de agar

Medio de cultivo Agar-Sangre (Base):

Merck KGaA.64271Germany

Composición típica: Sustrato nutritivo que contiene extracto de levadura, peptona de caseína, cloruro de sodio y agar. pH $6,8 \pm 0,2$ a 25 °C.

Equipos:

Espectrofotómetro:

Modelo EVOLUTION 220 ESPECTRFOTOMETRO DE UV –VISIBLE
Presenta un diseño óptico de doble haz con posiciones para muestras y cubeta de referencia. Geometría de haz adecuada a la aplicación: Posee un monocromador Czerny – Tumer con anchos de la banda del espectro: variable de 1nm; 2nm, además cuenta con micro celda AFBG optimizada con fibra óptica AFBG. Fuente de luz: Lámpara flash de xenón. Detector: Fotodios de silicona dobles Modos de orden de escaneado: Absorbancia, %Transmitancia, % Reflectancia, Kubelka –Munk.

Resolución: mayor a 1,6 (relación pico/valle, tolueno en hexano), longitud de onda. Rango 190 -1100 nm, exactitud: +/- 0,8 nm; repetibilidad; menor o igual 0,1 nm (546,11 nm en línea de mercurio, SD de 10 mediciones)

Sistema operativo: Microsoft Windows XP integrado. Fuente de alimentación 100 – 240 V, 50 – 60 Hz, seleccionada automáticamente 150 W máximo.

Cámara de clima constante HPP

Modelo HPP 110, módulo con iluminación LED opcional, Software Atmósfera CONTROL, Temperatura de 0°C a +70°C, humedad de 10 a 90 % fh

pH-metro

Medidor de pH sobre mesa accumet® XL 150 pH/mV Fisher Scientific, porta electrodos, cables RS232 y USB Voltaje 120/240 V, rango de temperatura -5°C a + 105°C, precisión pH +/- 0,0022, exactitud múltiple

Microscopio electrónico de barrido SEM

Modelo JOEL JSM_IT 100

El equipo cuenta con una resolución de modo HV: 3 nm (30 KV) hasta 15 nm (1 KV), aumento de imagen de 128 a 96 nm, rango de ajuste de la presión de vacío de 10 a 100 Pa, voltaje de aceleración 50 KV a 30 KV, ajuste completamente automático con lente de condensador con zoo de elevada precisión; además cuenta con un lente objetivo cónica de apertura a 1 paso con ajuste fino a lo largo de X e Y, tamaño máximo de muestra 150 mm de diámetro. Acoplado para archivos de imagen JPEG, TIFF, BMP; contiene funciones de EDX con análisis de espectro cualitativo y cuantitativo y un sistema de evacuación automático.[44]

Espectrómetro FT-IR infrarrojo por transformada de Fourier

Modelo JASCO FT/IR 4100

El espectrómetro posee las siguientes características: es autolineable con diferentes rangos de trabajo en rango de IR Medio de 7800 a 350 cm⁻¹ con opción de extensión de número de onda de 15000 a 2000 cm⁻¹ presenta reconocimiento automático con accesorio externos de JASCO acoplados a

un Software con un paquete informático de Edición Especial JASCO incluye librería de espectros con 10000 compuestos orgánicos.[45]

Balanza Analítica:

Modelo OHAUS Explore

Exhibe una capacidad de 1100 g, con lecturas mínima de 0,001 g; el tamaño del plato 190 mm x 200 m, cuenta con calibración interna automática Autocal.

3.8 Descripción y Operalización de variables

3.8.1 Variable independiente.

– Membrana de cabuya (*Furcraea andina*), estructurada con nanopartículas de plata utilizando como agente reductor cáscara de *Citrus reticulata* variedad común y King.

3.8.2 Variable dependiente.

– Actividad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pyogenes*

Variable Independiente	Definición conceptual	Definiciones operacionales	Dimensiones	Indicadores	Ítems básicos	Unidad de medida	Técnica instrumento
Membrana de cabuya (<i>Furcraea andina</i>), estructurada con nanopartículas de plata utilizando como agente reductor	Se considera un nanomaterial que tiene alto impacto en el campo de la ciencia biomédica[46] además que los bionanocompuestos se	Formación in-situ de nanopartículas de plata AgNPs sobre fibras de cabuya poseen 3 pasos: nucleación, crecimiento y estabilización	Condiciones de recubrimiento	Concentración con Nitrato de plata Porcentaje es extracto de cáscara de mandarina variedades Tiempo Temperatura	¿Se conoce las condiciones de recubrimiento de la fibra de cabuya con extractos acuosos de cáscara de mandarina de variedad común y King?	Molaridad Porcentaje Minutos ° Centígrados Longitud de onda nm	Técnica Cuantitativa Instrumentos: Reactivos Balanza analítica Cámara de secado Espectrofotómetro UV vis con lecturas entre 400 – 490 nm.

cáscara de <i>Citrus reticulata</i> variedad común y King	definen como clusters de átomos de rangos entre 1 a 100 nm		Caracterización de las membranas soportadas con AgNPs	Tamaño Forma: cilíndrica Desplazamientos de picos de grupos funcionales que soportan las AgNPs.	¿Presentan nanopartículas de plata acopladas en fibra de cabuya por reducción de extracto orgánico?	Nanómetros Cilíndricos cm ⁻¹	Técnica Cuantitativa Revisión de documentos Instrumentos: Microscopio electrónico de barrido FT-IR
---	--	--	---	---	---	---	---

Variable Dependiente	Definición conceptual	Definiciones operacionales	Dimensiones	Indicadores	Ítems básicos	Unidad de medida	Técnica de instrumento
Actividad antimicrobiana de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus pyogenes</i> de	Acción que posee un compuesto, elemento o material sobre la inhibición de crecimiento	Aplicación de nanobiocompuesto en el campo de la biomedicina como alternativa al uso de antibióticos tópicos.	Condiciones de estudio de actividad antibacteriana	Tiempo Sensibilidad Mediana sensibilidad Resistencia	¿Existe acción antibacteriana de las membranas de cabuya con AgNPs?	Horas Formación de halos. Formación mediana de halos No hay	Técnica Cuantitativa Instrumentos Cepas aisladas de mo. Medios de cultivo Fibras de cabuya

las membranas de cabuya soportadas con AgNPs	bacteriano.					Formación de halos	con Ag.Nps. Incubadora
---	-------------	--	--	--	--	-----------------------	---------------------------

3.9 Procedimiento para la recolección de información.

a. Durante el desarrollo de la investigación se ejecutó una revisión bibliográfica de artículos científicos y libros mediante el uso de bases de datos como scopus, sciencedirect, web of science y scielo.

b. Las cáscaras de mandarina en buen estado de variedad común y King se secaron mediante deshidratación en cámara de clima constante con recirculación de aire a 40 °C por un tiempo de 24 horas, (Anexo 1)

A continuación las cáscaras secas se molieron, pesaron diferentes cantidades y se agregó agua destilada para calentar a 90° C y hervir por 10 minutos, luego de enfriar, se filtró con bomba al vacío para obtener extractos clarificados de diferentes concentraciones, los mismos se reservaron en frascos esterilizados y almacenaron a 4°C (Anexo 2) [47]

c. En la parte experimental, las nanopartículas de plata son adquiridas por un método de química húmeda [47][48] mediante un proceso de reducción utilizando agentes naturales obtenidos como extractos a partir de cáscaras de mandarina *Citrus reticulata* variedad común y variedad King y se evaluaron varios niveles de concentración.

Para formar las sustancias coloidales se obtienen combinando en partes iguales las diferentes soluciones de nitrato de plata (tubos codificados A1, A2, A3, A4) con volumen igual de extractos de varias concentraciones de cada variedad (B1, B2, B3, B4, B4 variedad común) (C1, C2, C3; C4, C5 variedad King) y se colocan en baño ultrasónico, primero a temperatura de 20 °C luego a 40°C y tiempos entre 30 a 60 minutos, tiempo en el que se lograba visualizar un cambio de color; las suspensiones de nanopartículas se analizaron por el método de resonancia de plasmón de superficie (SPR) que indica realizar un barrido en un rango de longitud de onda de 400 a 700 nm mediante espectroscopia de UV- visible (Anexo 3) Los extractos se tomaron como blancos para las mediciones. [49] [50]

- d. Las fibras de cabuya crudas como se recibieron del proveedor se limpiaron y cepillaron manualmente para eliminar vestigios de material orgánico e impurezas y sometieron a limpieza asistida por ultrasonido por 120 minutos a 40°C, posteriormente se secaron en una cámara de aire caliente a 60 °C por 24 horas. (Anexo 4)

- e. Una vez determinada las mejores condiciones para la obtención de nanopartículas en solución se procedió al recubrimiento de la membrana de cabuya (*Furcraea andina*) con nanopartículas de plata como se describe a continuación: Las fibras limpias con 7 cm de longitud de y 2 cm de espesor, se disponen en una caja Pétri con 5 ml de solución nitrato de plata como precursor por un tiempo variable a 40° C en baño de ultrasonido; posteriormente se lava con agua destilada y de adiciona el extracto de las cáscaras de mandarina por un tiempo variable en la misma condición del precursor. Finalmente se secan en estufa de aire recirculante a 60 °C por varias horas (Anexo 5)

- f. Se caracterizó las fibras soportadas con nanopartículas de plata con la espectroscopia de reflectancia difusa UV-Vis que dan bandas de absorción entre 400 y 480 nm; la caracterización de las fibras de mayor y menor tiempo de inmersión de cada variedad mediante microscopía electrónica de barrido con la obtención de los espectros EDX que demuestran la presencia de Ag y se aplicó la espectroscopia FT-IR (Anexo 6))para identificar la presencia de varios grupos funcionales posibles responsables de la bioreducción, captación y estabilidad de las nanopartículas de plata. [38]

- g. Las membranas de cabuya (*Fucraea andina*) soportada con AgNPs evaluaron la sensibilidad sobre *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pyogenes*, microorganismos que se aislaron de la piel de una paciente en el Laboratorio Clínico Fonseca.

El ensayo se realizó con el método de difusión en disco en agar; conocido también como método Kirby-Bauer que se emplea para determinar la sensibilidad del agente antimicrobiano, en el caso de la presente investigación se usaron las fibras de cabuya soportadas con AgNPs.

Inicialmente las colonias se consiguieron por hisopado de la piel infectada de una paciente, para inocular de forma inmediata y sembrar con el hisopo por rotación en el medio de cultivo selectivo Agar - sangre y dejar en incubación por 24 horas para el respectivo crecimiento de las cepas bacterianas.

Se preparó el medio de cultivo de agar nutritivo Mueller 5 gramos en 150 ml de agua destilada y se distribuyó en cajas Petri, seguidamente que el medio solidificó, se aplicó una suspensión de microorganismo en cada placa realizando un frotis y estriado por toda la superficie del medio; finalmente se adicionaron las muestras de cabuya con AgNPs y el blanco de 5 mm de largo. (Anexo 7)

Las cajas se incubaron a 37°C durante 24 horas, tiempo en que se midieron las zonas de inhibición en mm. [50] [51] [52]

3.10 Procedimiento para el análisis e interpretación de resultados

Las soluciones coloidales se efectuaron por triplicado, se realiza un resumen de estadígrafos por cada grupo; estableciendo si son valores paramétricos o no paramétricos para aplicar un análisis de correlación de variables y establecer si existen o no diferencias estadísticas significativas con la formación de nanopartículas usando espectroscopia UV-vis mediante la exploración de los máximos de absorción de las mezclas con cambios en la coloración a longitudes de onda entre 400 a 700 nm. [31]

Las membranas de cabuya soportadas con AgNPs, se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido, (menor y mayor tiempo de inmersión) EDX y FT-IR. y evidenciar la presencia de palta en las membranas y el tamaño promedio.

La determinación de la sensibilidad, se efectuó por triplicado para aplicar un análisis de varianza y establecer si existen o no diferencias estadísticas significativas con respecto a la actividad antimicrobiana del nanomaterial sobre *Staphylococcus aureus* y *pyogenes*, comparado con las soluciones coloidales y cabuya sin ningún tratamiento como blanco.

3.11 Aspectos Éticos

El desarrollo de la membrana soportada con AgNps se fundamenta en la aplicación de la química verde con el uso de un desecho orgánico que representa el 60 % en peso del fruto de la mandarina, y posee cantidad apreciable de antioxidantes como los polifenoles que actúan como agentes reductores, por otro lado, las fibras de cabuya solamente se utilizan en la industria textil y debido a su resistencia se podría establecer una nueva forma de posibilitar este producto con aplicación biomédica, evitando la resistencia de antibióticos a nivel tópico.

4. CAPITULO IV

4.1 Resultados

A continuación, se indica en la tabla 13 el resumen descriptivo de las variables respuestas por cada variedad de extracto de cáscara de mandarina en condiciones de tiempo y temperatura diversos.

Tabla 13 Resumen estadígrafos de las variables longitud de onda y absorbancia

Variedad común	n	Media	D.E.	Var(n-1)	CV	Mín.	Máx.	P(05)
Λ (nm) 30min,20°C	60	443,98	16,43	269,96	3,70	404,99	483,27	406,90
Λ (nm) 60min,40°C	60	429,59	10,51	110,53	2,45	401,00	444,84	402,15
Abs. 30min,20°C	60	0,74	0,46	0,21	62,51	4,0E-03	1,55	0,06
Abs. 60min,40°C	60	1,62	0,58	0,34	36,10	0,71	2,76	0,71

Variedad King	n	Media	D.E.	Var(n-1)	CV	Mín.	Máx.	P(05)
Λ (nm) 30min,20°C	60	441,95	12,26	150,19	2,77	424,09	481,98	426,29
Λ (nm) 60min,40°C	60	454,25	19,35	374,46	4,26	414,19	510,89	422,39
Abs. 30min,20°C	60	0,22	0,24	0,06	108,06	0,01	1,23	0,02
Abs. 60min,40°C	60	0,46	0,50	0,25	107,17	0,05	1,99	0,07

Nota: Λ representa la longitud de onda; Abs: Absorbancia; n=número de muestras; D.E.: desviación estándar; CV coeficiente de correlación; Mín: valor mínimo; Máx.: valor máximo; P (0,5) probabilidad con un nivel de significancia de 0.05.

Elaborado por: Logroño M, 2021

La normalidad de la distribución de las variables respuestas, se analizó mediante el cálculo de curtosis y coeficiente de asimetría como se indica en la tabla 14. Si la Curtosis y el Coeficientes de simetría son iguales y se encuentran dentro del rango entre -0.5 a + 0.5 se dice que la distribución de datos es normal, del análisis destaca indicar que solamente los valores de longitud de onda derivados de tiempo 30 min y temperatura 20 °C, presentan normalidad para los dos extractos de cáscara de mandarina.

Tabla 14 Determinación de la normalidad de las variables longitud de onda y absorbancia

Variedad común Variables:	Curtosis	Coeficiente de distribución	Cumple -0.5 a +0.5
Λ (nm) (30min,20°C)	0.401	-0.324	Si
Λ (nm) (60min,40°C)	1.880	-1.514	No
Abs. (30min,20°C)	-1.200	0.237	No
Abs. (60min,40°C)	-0.734	0.500	No
Variedad King			
Variables:			
Λ (nm) (30min, 20°C)	0.393	0.350	Si
Λ (nm) (60min, 40°C)	0.656	1.017	No
Abs. (30min, 20°C)	4.630	2.045	No
Abs. (60min, 40°C)	2.417	1.861	No

Nota: Λ representa la longitud de onda; Abs: Absorbancia;

Elaborado por: Logroño M. 2021

4.1.1 Condiciones de formación de nanopartículas de plata en estado coloidal

La formación de nanopartículas de plata en solución se compararon los diferentes tratamientos del diseño experimental aleatorio con las variables respuesta, en la formación de nanopartículas de plata por el método húmedo se

utilizó como sustancias reductoras extractos acuosos de dos variedades de mandarina (común y King)

Diferentes autores expresan que las nanopartículas metálicas, específicamente las conformadas por metales nobles como la plata presentan algunas ventajas de significancia por el comportamiento óptico con respecto a otros tipos de nanopartículas de otros elementos, además exhiben respuesta en el espectro visible por los tiempos reducidos de relajación electrónica y elevadas frecuencias de plasmón y transmisión entre bandas.[53]

Los coloides de las nanopartículas de plata se aprecian en la Figura 9, en la misma se evidencia diferentes tonalidades obtenidas por resonancia de plasmón se superficie [54] en condiciones similares, para los dos extractos de variedad de cáscara de mandarina.

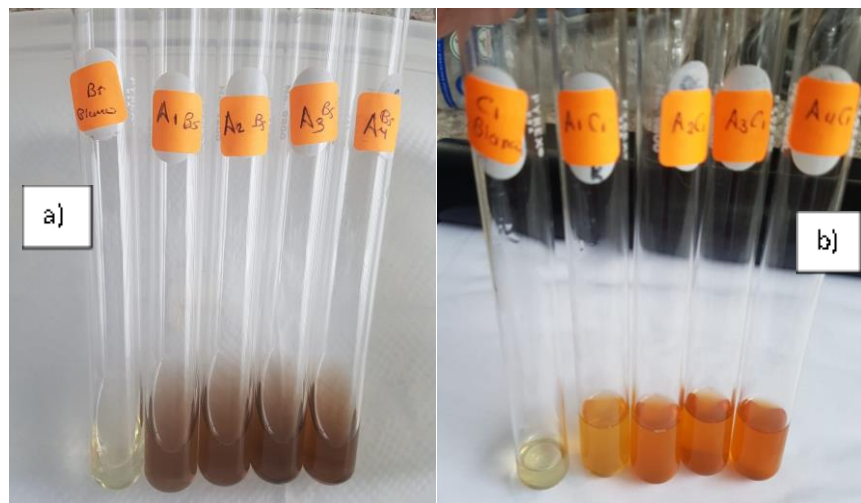


Figura 2: Nanopartículas de plata en estado coloidal a) con extractos variedad común b) con extractos variedad King

Elaborado por: Logroño M, 2021

Según “Rincón A, y col (2005) en la investigación: “Composición química y compuestos bioactivos de harinas de cáscaras de naranja, mandarina y toronja”, revelan que un extracto de cáscara de mandarina comparado con los otros cítricos del estudio, presenta mayor contenido de polifenoles y mayor eficiencia antiradicalaria; por otro lado, contiene otros antioxidantes como el

ácido ascórbico y carotenos, los mismos que presentaron menor potencial antioxidante [29] lo que atribuye a considerar que los compuestos que presenta capacidad reductora del nitrato de plata posiblemente son los polifenoles y carotenos.

4.1.1.1 Análisis de la Longitud de onda.

En la figura 3 se indica dos histogramas para $n = 60$ de dos grupos. El valor de longitud de onda del mayor cantidad de valores absolutos en el histograma a) es 444.13 ± 16.43 nm con un ajuste de la distribución normal de 443.979 nm; el comportamiento se concierda dentro de los límites de simetrías de distribución debajo del valor de la media; además no se evidencian valores atípicos; el límite máximo superior es 483.271 nm, límite inferior 404.994nm en cuanto a los a la gráfica del histograma b) el valor de la media es 431.69 ± 10.51 nm con un ajuste de la distribución normal de 429,599 nm, de acuerdo a lo expuesto en la tabla 14; la curtosis y el coeficiente de asimetría no son similares, por lo tanto no presenta distribución normal de datos; no se evidencias valores atípicos, el límite mínimo 396.196 nm y límite máximo 449.233 nm. Los valores se encuentran dentro del rango de longitud de onda para nanopartículas de plata según literatura entre 400 y 490 nm usando como agente reductor el extracto de mandarina de variedad común por 30 minutos a 20° a) Y 60 minutos a 40°C . Se puede aseverar que al aumentar la temperatura y tiempo en la formación de los coloides disminuye el valor de la longitud de onda, el color que se observa para el grupo a) y b) es café –verde que varía la tonalidad según la concentración de los extractos acuosos y la concentración de nitrato de plata.

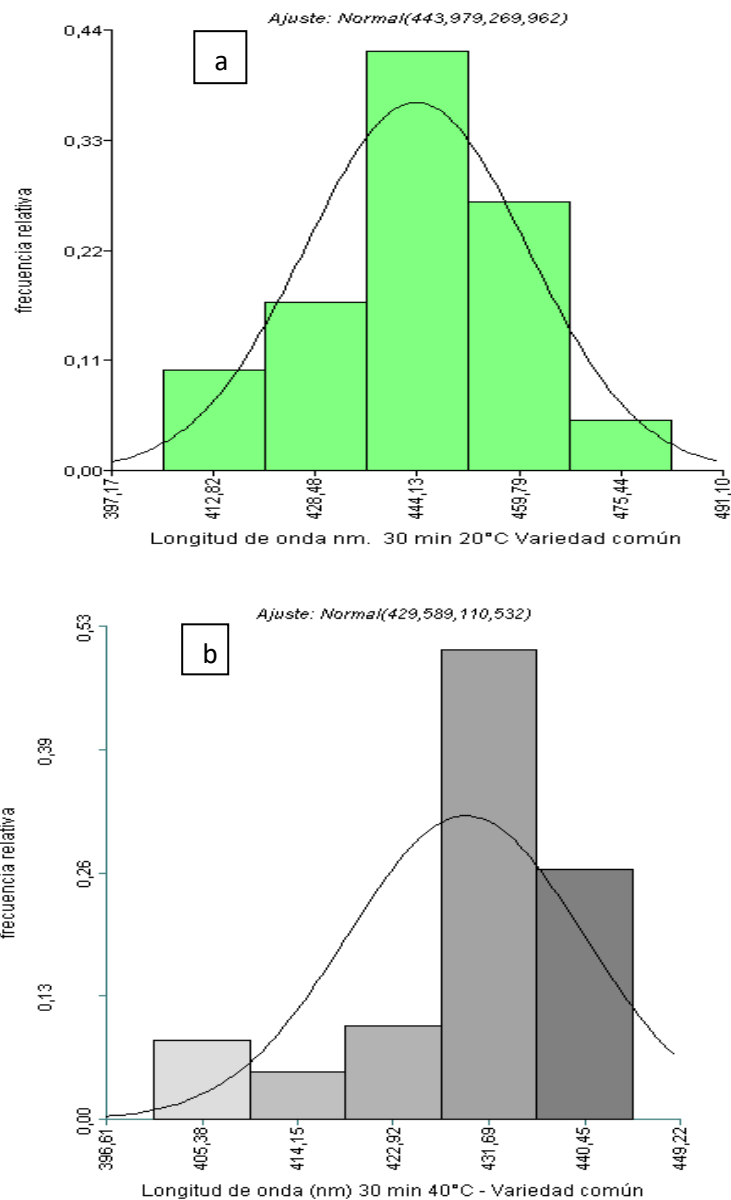


Figura 3: Histograma de la distribución de longitud de onda en el tiempo a) 30 min y 20 °C b) 60 min 40°C con extractos de cáscara de mandarina variedad común.

Elaborado por: Logroño M. 2021

En la figura 4 se muestran los histogramas para n= 60 de las dos variedades de experimentación; en la figura a) el rango que predomina es 462.56 nm. con un ajuste de la distribución normal de 454.076 nm; el comportamiento se ajusta con una curtosis con concentración normal en la media, se evidencian valores atípicos de picos de 501.22 que no se encuentran dentro del rango 400 - 490 nm; por otro

lado, en la figura b) la curtosis y coeficiente de asimetría (tabla14) no se encuentran dentro del rango -0,5 a +0,5 por lo tanto existe una curva de distribución asimétrica hacia la derecha; las condiciones de tiempo y temperatura influyen en el comportamiento de las variables.

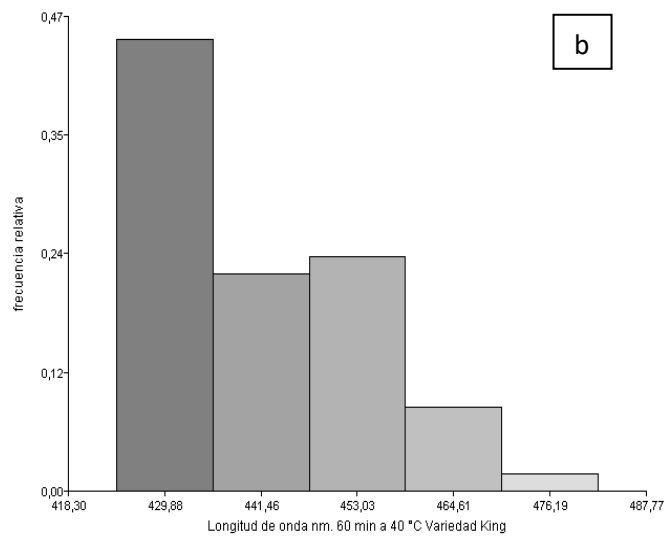
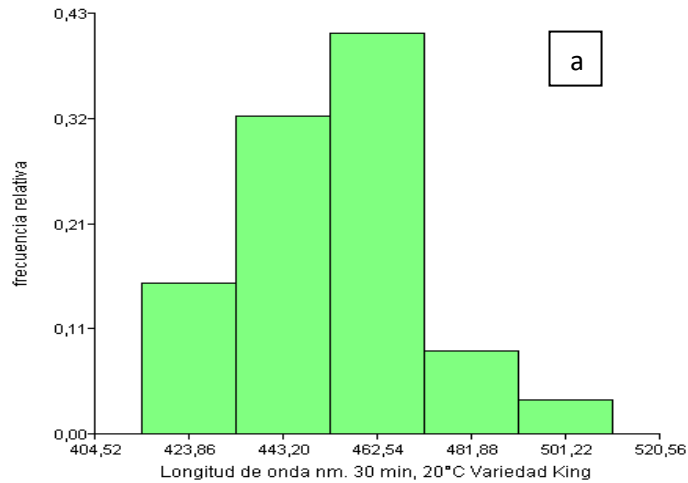


Figura 4: Histograma de la longitud de onda en el tiempo a) 30 min y 20 °C b) tiempo 60 min y 40°C con extractos de cáscara de mandarina variedad King.

Elaborado por: Logroño M. 2021

Tabla 15 Anova entre tratamientos en tiempo 30 min y 20°C para longitud de onda (nm)

F.V. N 120	SC	GI	CM	F	p-valor
Tratamientos	11577,73	39	296,86	1,04	0,4312
Error	22256,25	78	285,34		
Total	41551,70	119			
CV	3,76				

Elaborado por: Logroño M.2021

De acuerdo al detalle de la tabla 15, el valor de $p = 0,4312$ del Anova sugiere que los tratamientos con 6 rangos entre A, AB, ABC, ABCD, CD y D (Anexo 10); de medias aritméticas con letra común no son significativamente diferentes con un $p > 0,05$, donde un tratamiento que difiere es A1C1 (0,001 M AgNO₃ con 5% de extracto de cáscara variedad King) corresponde al valor más alto de longitud de onda 470,44 +/- 9,75; por otro lado el tratamiento con menor valor de longitud de onda de 426.76 +/- 9,75 concierne a A3B2 (0,002 M AgNO₃ con 4% de extracto de cáscara variedad común)

Tabla 16 Anova entre tratamientos en tiempo 60 min y 40°C para longitud de onda (nm)

F.V. N 120	SC	GI	CM	F	p-valor
Tratamientos	12070,57	39	309,50	3,51	<0,0001
Error	6884,24	78	88,26		
Total	199965,39	119			
CV	2,16				

Elaborado por: Logroño M.2021

El análisis Anova de la tabla 16 sugiere que existen diferencias estadísticas para un valor $p < 0,0001$ de la variable longitud de onda y se estableció 15 rangos para diferenciar el efecto de la concentración tanto del nitrato de plata como de los extractos medidos a la temperatura de 40°C en un tiempo de reacción de 60 min. (Anexo 11). El menor valor de longitud de onda que difiere de todos los tratamientos es 416,17 +/- 5,42 nm, corresponde a A2B1(0,0015M AgNO₃ con 5% de extracto de cáscara variedad común) y el máximo valor de longitud de

onda que difiere de todos es 459,20 +/- 5,42 nm, corresponde a A4 C3 (0,0025 M AgNO₃ con 3% de extracto de cáscara variedad King)

Tabla 17 Análisis de varianza multivariado (Lawley-Hotelling) para longitud de onda (nm) entre todos los tratamientos (30 min, 20°C) y (60 min, 40°C).

F.V.	Estadístico	F	gl(num)	gl(den)	p
TRATAMIENTOS	2,15	2,10	78	152	< 0,0001
REPETICIONES	0,59	11,30	4	152	<0,0001

Elaborado por: Logroño M.2021

Según la tabla 17 del análisis multivariado de Lawley-Hotelling comparando las longitudes de diferentes tiempos y temperaturas, con un p-valor <0,0001, existen diferencias estadísticas significativas con 15 rangos de variabilidad (Anexo 11) donde el tratamiento A4C3 (0.0025 M AgNO₃ con 3% de extracto de mandarina variedad King) difiere estadísticamente de todos los experimentos en diferentes condiciones.

Tabla 18 Análisis de varianza multivariado (Lawley-Hotelling) para longitud de onda (nm) entre todos los tratamientos (30 min, 20°C) y (60 min, 40°C) con respecto a la concentración de nitrato de plata y concentración de extracto de mandarina variedad común y King.

Cuadro de Análisis de la Varianza (Lawley-Hotelling)

F.V.	Estadístico	F	gl(num)	gl(den)	p
CONCENTRACIÓN AgNO ₃	0,07	1,20	6	210	0,3100
PORCENTAJE EXTRACTOS	1,27	7,38	18	210	<0,0001

Prueba Hotelling Alfa=0,05

Error: Matriz de covarianzas común gl: 107

Concentración de AgNO ₃	λ (30 min, 20°C)	λ (60 min, 40°C)	n	Rango
A4	447,67	436,98	30	A
A3	448,12	436,40	30	A
A2	446,46	432,68	30	A
A1	453,63	437,02	30	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Prueba Hotelling Alfa=0,05*Error: Matriz de covarianzas común gl: 107*

% EXTRACTOS	$\lambda(30 \text{ min, } 20^\circ\text{C})$	$\lambda(60 \text{ min, } 40^\circ\text{C})$	n	Rango
C3	449,39	450,02	12	A
C5	459,32	453,08	12	A
B2	433,33	426,30	12	B
B1	438,29	420,89	12	B
C2	457,04	434,59	12	C
C4	454,15	433,92	12	C
B3	448,10	434,91	12	C
B4	450,61	432,13	12	C
B5	449,56	433,71	12	C
C1	449,88	438,14	12	C

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)***Elaborado por:** Logroño M. 2021

Como se indica en la tabla 18, de la matriz de covarianzas el compartimiento de la longitud de onda de forma general para todos los experimentos con respecto al nitrato de plata comparando los diferentes porcentajes de dos extractos de variedades de mandarina, demuestran que la variable respuesta longitud de onda no presentan diferencias estadísticas significativas para un valor $p = 0.310$ con un nivel de significancia de 0.05. Por lo contrario, al comparar los extractos se evidencia 3 rangos de variabilidad donde C5 (1% de extracto de la variedad King) no difiere de C3(3 % de extracto variedad king); tampoco difieren B1 (5% extracto variedad común) B2 (4% extracto variedad común) y los porcentajes C2, C4,B3,B4,B5;C1 no presentan diferencias entre sí.

Por el rango promedio de longitud de onda el color absorbido es el azul entre 430 nm a 450 nm de absorción de los coloides, comparando con la literatura, probablemente las nanopartículas que se producen tienen la forma de esferas (figura 5). Además se menciona en otras investigaciones que la emisión de un pico a 400 nm es indicativo de nanopartículas de plata de menos de 5 nm de

díámetro y los tamaños predominates con absorciones desplazadas a 430 nm alrededor de 20 nm.[55]

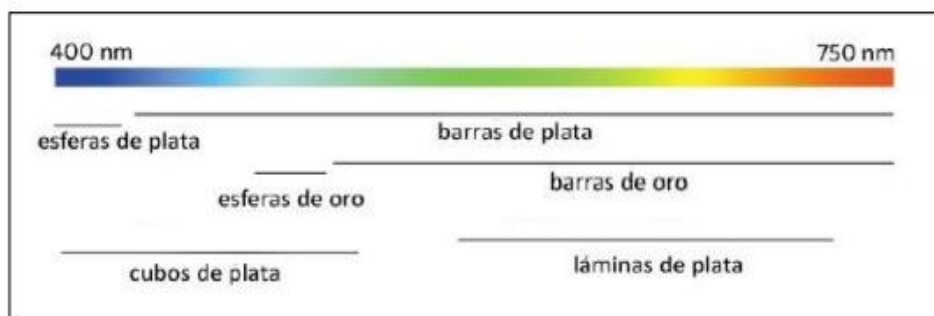


Figura 5 Clasificación morfológica de las nanopartículas de plata y oro y su localización en el espectro UV-visible.

Fuente: Sánchez M. 2017 [55]

4.1.1.2 Análisis de la absorbancia

La variable absorbancia como respuesta para todos los tratamientos según la tabla 14 no presenta distribución normal, por lo tanto, el análisis Anova para observar el comportamiento del efecto de los tratamientos a temperatura de 20°C y tiempo de 30 min se indican en la tabla 19, para un valor de $p < 0.0001$ existen diferencias significativas, donde el tratamiento A1C2 (0.001M AgNO₃ y 4% de extracto de cáscara de mandarina variedad King) difiere de todos los tratamientos con valor mínimo de 0,02 +/- 0,17 ; y el tratamiento A4B1 (0.0025M AgNO₃ con 5% extracto de cáscara de mandarina común) tiene el valor promedio mayor de 1,43 +/- 0,17; además se presentan 15 rangos de clasificación por tratamientos. (Anexo 13)

Tabla 19 Anova entre tratamientos en tiempo 30 min y 20°C para Absorbancia.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
N 120					
Tratamientos	14,91	39	0,38	4,66	<0.0001
Error	6,40	78	0,08		
Total	23,84	119			
CV	59,63				

Elaborado por: Logroño M.2021

En la tabla 20 se indica el análisis Anova de la absorbancia en condiciones de 60 min a 40 °C, que existen diferencias significativas entre todos los tratamientos (Anexo 14) se aprecia que el tratamiento A4B4 (0,0025M AgNO₃ con 2% de extracto de cáscara de mandarina variedad común) con un valor máximo de 2,74 +/-0,8 se diferencia de todos.

Tabla 20 Anova entre tratamientos en tiempo 60 min y 40°C para Absorbancia.

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
N 120					
Tratamientos	73,16	39	1,88	103,93	<0.0001
Error	1,41	78	0,02		
Total	74,65	119			
CV	12,91				

Elaborado por: Logroño M.2021

Del análisis de covarianza expresado en la tabla 20 se reporta que existe un efecto de todas las concentraciones de nitrato de plata sobre los valores de absorbancia, a mayor concentración de nitrato de plata, mayor valor de absorbancia para el caso de A4(0,0025M) con un promedio de 0.66 para la condición de 20°C por un tiempo de 30 min y al duplicar las condiciones acrecienta el valor de la absorbancia.

Con respecto al porcentaje y tipo de variedad de cáscara de mandarina, B1 con 5% de extracto de variedad común presenta un aumento de la absorbancia, lo que implica que la tendencia es acrecentar la producción de nanopartículas de plata con la temperatura y el tiempo.

Tabla 20 Análisis de varianza multivariado (Lawley-Hotelling) para la absorbancia entre todos los tratamientos (30 min, 20°C) y (60 min, 40°C) con respecto a la concentración de nitrato de plata y concentración de extracto de mandarina variedad común y King.

F.V.	Estadístico	F	gl(num)	gl(den)	p
[AgNO ₃]	1,50	26,33	6	210	<0,0001
%Extractos	6,47	37,73	18	210	<0,0001

Prueba Hotelling Alfa=0,05

Error: Matriz de covarianzas común gl: 107

[AgNO ₃]	Absorbancia _(30min,20°C)	Absorbancia _(60min,40°C)	n	Rangos
A4	0,66	1,50	30	A
A3	0,46	1,17	30	B
A2	0,41	0,85	30	C
A1	0,38	0,64	30	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Prueba Hotelling Alfa=0,05

Error: Matriz de covarianzas común gl: 107

%Extracto	Absorbancia _(30min,20°C)	Absorbancia _(60min,40°C)	n	Rangos
C2	0,17	0,64	12	A
B4	0,93	2,00	12	B
B5	0,74	1,05	12	C
C1	0,54	1,08	12	C
C3	0,19	0,20	12	D
C4	0,16	0,23	12	D
C5	0,07	0,17	12	D
B3	0,68	1,62	12	E
B2	0,70	1,74	12	E
B1	0,64	1,67	12	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Elaborado por: Logroño M.2021

4.1.2 Condiciones de recubrimiento de las fibras de cabuya con nano partículas de plata

Para las condiciones de recubrimiento se prefirió de acuerdo al análisis de covarianza expuesto en la Tabla 18, la concentración de nitrato de plata de A4: 0.0025 N (mayor concentración absorbancia) y con respecto a la concentración de extracto de mandarina variedad común se trabajó con B1(5 % de extracto) y para la variedad King C3 con el 3% de extracto de cáscara de mandarina con un pH natural de los extractos de 5,6 y 5,25 respectivamente.

Las fibras de tamaños 7 cm de largo x 2 cm de ancho con pesos similares de 8 gramos, se colorearon por el método de química húmeda por procesos de inmersión en volúmenes iguales de 5 ml para cada solución dentro de un baño ultrasónico con frecuencia de 30KHz lo que permitió una distribución uniforme de las partículas. En la figura 6 se observan las fibras coloreadas con los dos extractos a la temperatura de 40°C por dos tiempos de inmersión 30 y 60 min.

La síntesis in situ al depositar las nanopartículas de plata sobre la matriz de fibra de cabuya se caracterizó por la aparición de la coloración dorada para el extracto de mandarina variedad común y color café claro para la variedad King, de acuerdo a la literatura la característica mencionada es característico por la presencia de nanopartículas de plata esféricas.[38] [56]



Figura 6 Membranas de cabuya recubiertas con nanopartículas de plata

Elaborado por: Logroño M. 2021

4.1.3 Caracterización de las membranas de cabuya con AgNps

4.1.3.1 Porcentaje de Reflectancia

Durante la reacción de formación de nanopartículas de plata sobre la superficie, se busca que sean de menor tamaño y con una distribución

uniforma, tamaños pequeños incrementarán de forma positiva el área superficial para química de reacción, con la medida de reflectancia difusa, accesorio acoplado al equipo UV, se obtuvo información del porcentaje de reflectancia que se relaciona con la cantidad de nanopartículas de plata, así lo aseveran varios autores.[38] que a menor porcentaje de reflectancia, existe mayor cantidad de nanopartículas sobre las superficies, en la Tabla 21 se indica para un $p < 0,0001$ el modelo con respecto a la concentración de nitrato de plata 0.0025M para el extracto de cáscara de mandarina King presenta menor porcentaje para F1 con un tiempo de inmersión de 30 minutos y difiere estadísticamente de todos los tratamientos.

Tabla 21 Anova para la reflectancia de las fibras de cabuya soportadas con nanopartículas de plata.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	182,35	7	26,05	15,10	<0,0001
Tiempo de Nitrato de plata.	49,87	1	49,87	28,91	0,0001
Tiempo % reductor	48,17	1	48,17	27,93	0,0001
Tratamiento	84,31	5	16,86	9,78	0,0002
Error	27,60	16	1,72		
Total	209,95	23			

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 1,7248 gl: 16

Tratamiento	Medias	n	E.E.	Rango
F1	9,97	3	0,76	A
E2	10,36	3	0,76	A B
E3	10,40	3	0,76	A B
F2	10,88	3	0,76	A B
F3	10,94	3	0,76	A B
E1	12,51	3	0,76	B
F4	16,33	3	0,76	C
E4	17,58	3	0,76	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

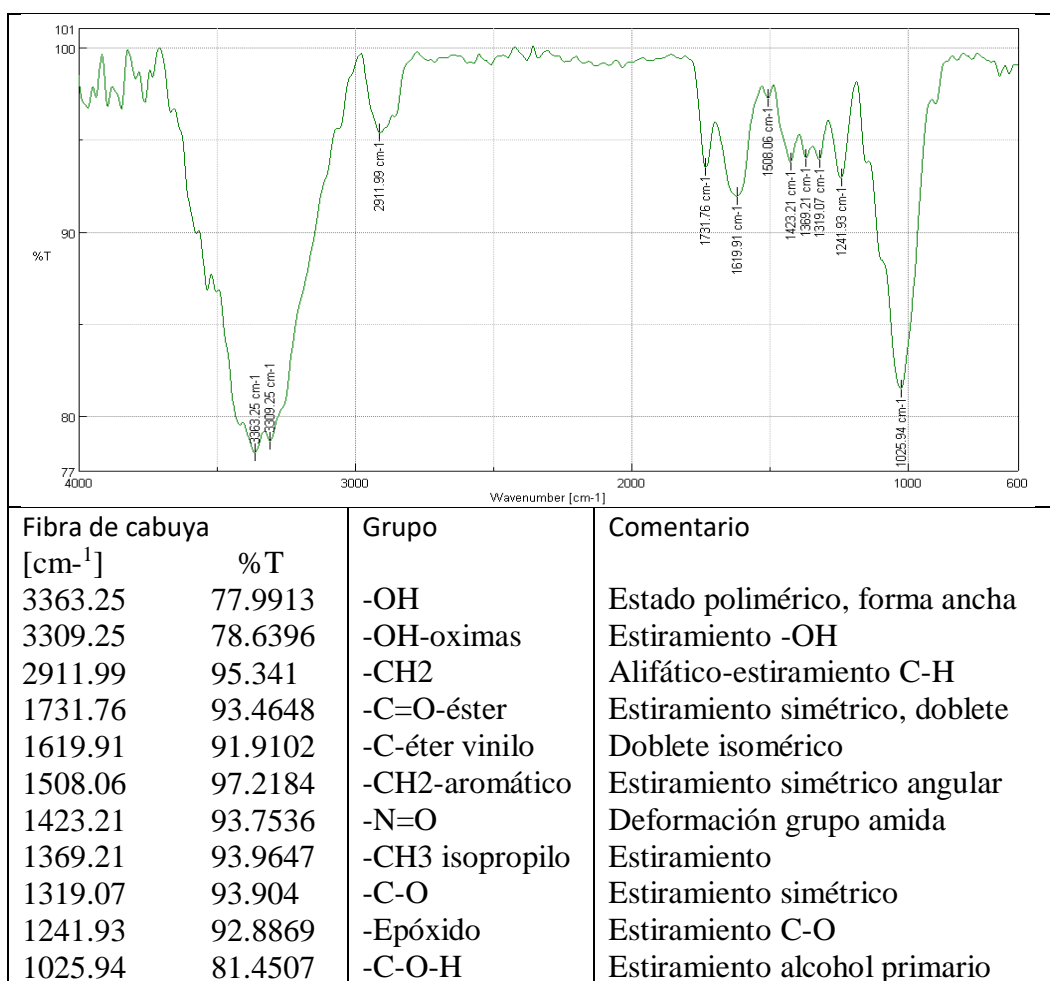
Elaborado por: Logroño M. 2021

4.1.3.2 Espectroscopia de Infrarrojo de transformada de Fourier (FT-IR)

La técnica FT-IR emplea la interacción de radiación infrarroja con la materia con una relación señal- ruido favorable para obtener información acerca de la estructura molecular y el principal uso es detectar posibles cambios de absorbancia que ayuden a la caracterización de las nanopartículas de plata mostrando las especies químicas enlazadas a las superficies con desplazamientos de los espectros comparados con la fibra sin soporte de nanopartículas [57].

A continuación, en la Tabla 22 se revela los picos característicos detectados en la fibra de cabuya como blanco para la respectiva comparación.[56]

Tabla 22 Espectros IR de fibras de cabuya limpia (blanco)



Elaborado por: Logroño M. 2021

Se revela en las tablas 23, 24, 25 y 26 los espectros para fibras soportadas con Ag NPs con las respectivas caracterizaciones de grupos funcionales importantes.

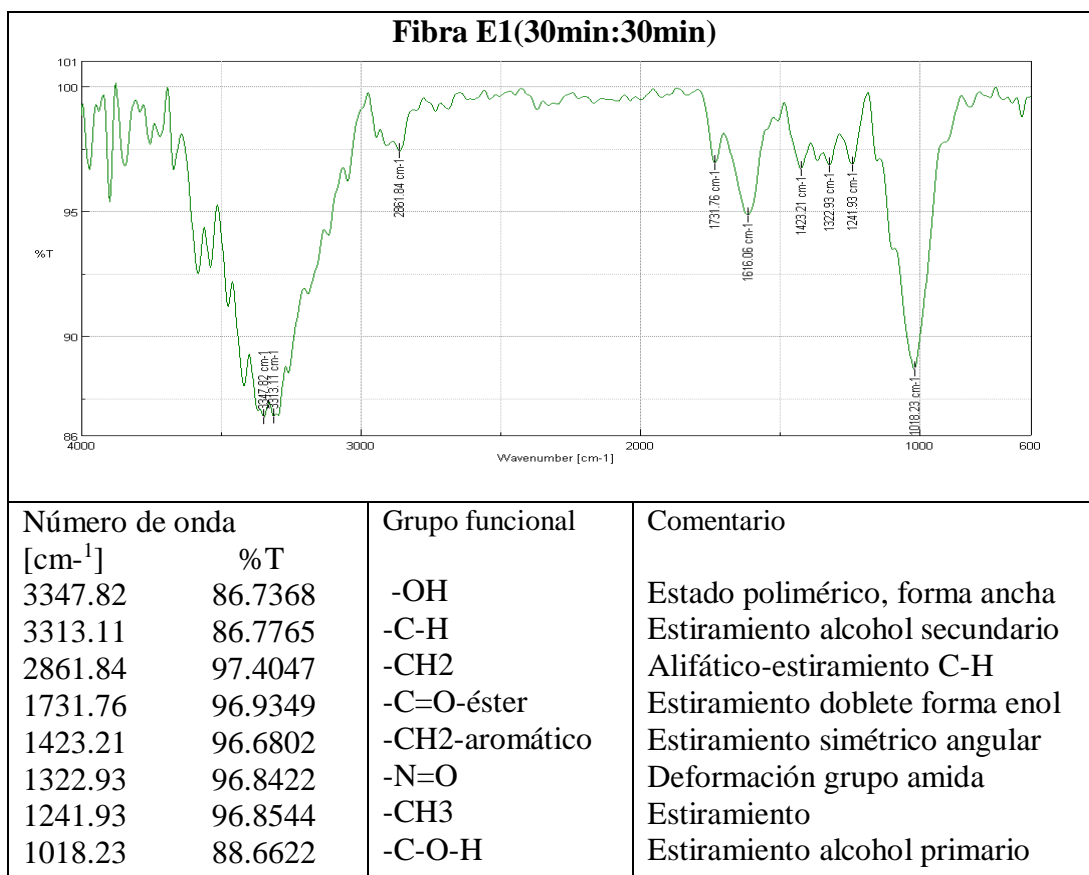
Se caracteriza analogías en todos los espectros de fibras con Ag NPs al comparar con el blanco en las zonas de 4000 a 3000 cm^{-1} y de 2000 a 1000 cm^{-1} , existiendo cambios leves de desplazamientos de bandas específicas según el tiempo y variedad del extracto usado para soportar las fibras.

La mayoría exhiben leves cambios en la zona de 2800 a 3000 cm^{-1} , se visualiza un desplazamiento del pico 2911.99 cm^{-1} del blanco hacia 2861.84 cm^{-1} (E1), 2881.13 cm^{-1} (E3); 2857.99 cm^{-1} (E4) 2923.56 cm^{-1} (F2), 2908.13 cm^{-1} 2896 cm^{-1} (F3), 2896.56 cm^{-1} (F4) propio de estiramiento asimétrico de enlaces simples - CH₂.

Además, se observa tenue cambio de desplazamiento de las bandas correspondientes al grupo - OH en 3363.25 cm^{-1} y -CO en 1025.94 cm^{-1} de alcoholes poliméricos y cíclicos respectivamente, que proviene posiblemente de la celulosa, y la presencia de bandas sobre los 3400 cm^{-1} , característico de aminas.

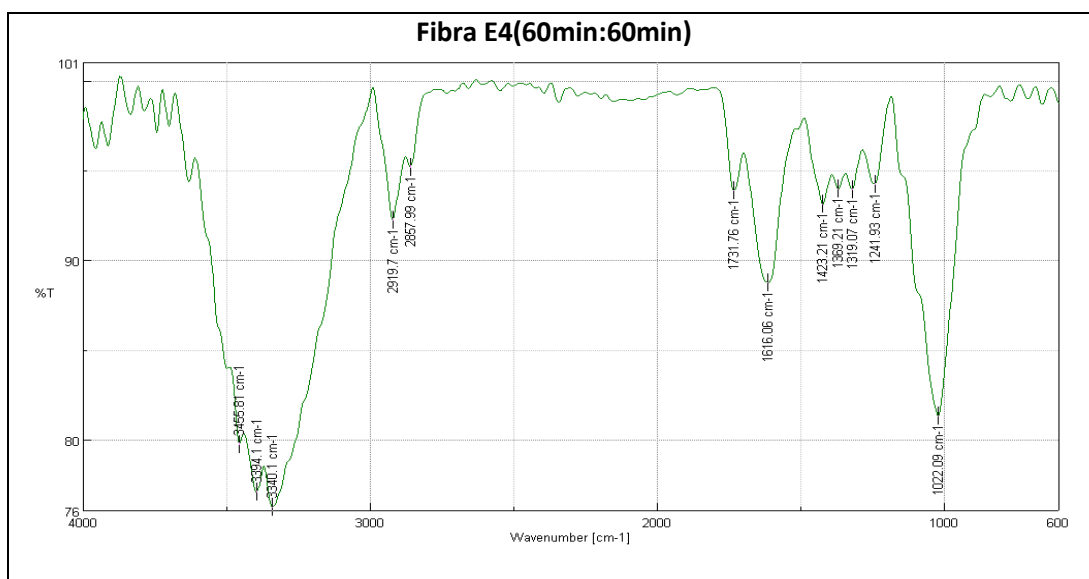
El recubrimiento de las fibras con las AgNPs no afecta la estructura básica de la fibra de cabuya, se evidencia por los ligeros desplazamientos de grupos importantes que actuarían como protectores y estabilizan los clústeres captados en las moléculas de la fibra.

Tabla 23 Espectros IR de fibras de cabuya E1 soportadas con nanopartículas de plata adquiridas con extracto de cáscara de mandarina variedad común en tiempo de inmersión de 30 min.



Elaborado por: Logroño M. 2021

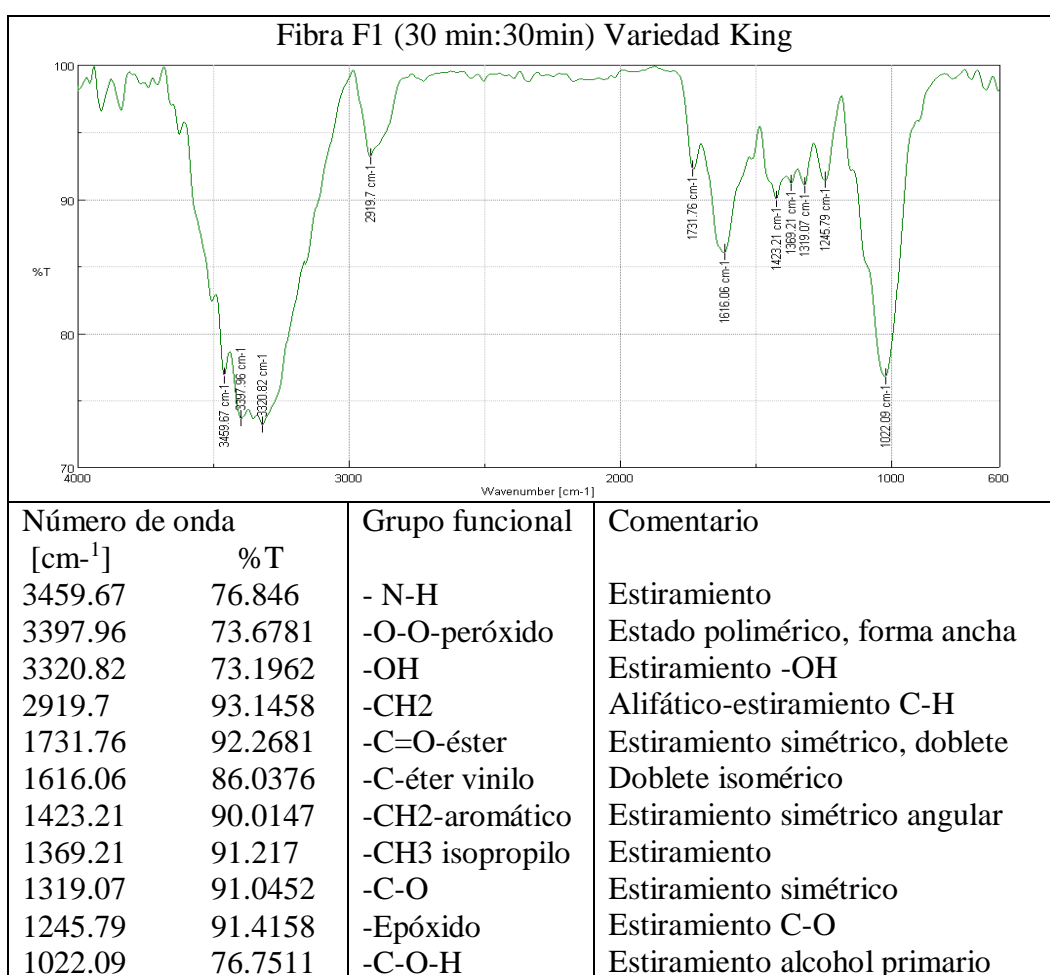
Tabla 24 Espectros IR de fibras de cabuya E4 soportadas con nanopartículas de plata adquiridas con extracto de cáscara de mandarina variedad común en tiempo de inmersión de 60 min.



Número de onda [cm ⁻¹]	%T	Grupo funcional	Comentario
3455.81	79.7163	-N-H	Estado polimérico, estiramiento
3394.1	77.0457	-O-O-	Estiramiento
3340.1	76.2131	-OH	Estiramiento anti simétrico
2919.7	92.239	-CH ₂	Alifático-estiramiento C-H
2857.99	95.1717	-CH ₃ unido a O	Sobretono de flexión
1731.76	93.8492	-C=O-éster	Estiramiento doblete forma enol
1616.06	88.7441	-C-éster de vinilo	Estiramiento simétrico angular
1423.21	93.1033	-N=O	Deformación grupo amida
1369.21	93.9681	-CH ₃ isopropilo	Estiramiento
1241.93	94.2322	-Aromático	Deformación
1022.09	81.2833	-C-O-H	Estiramiento alcohol primario

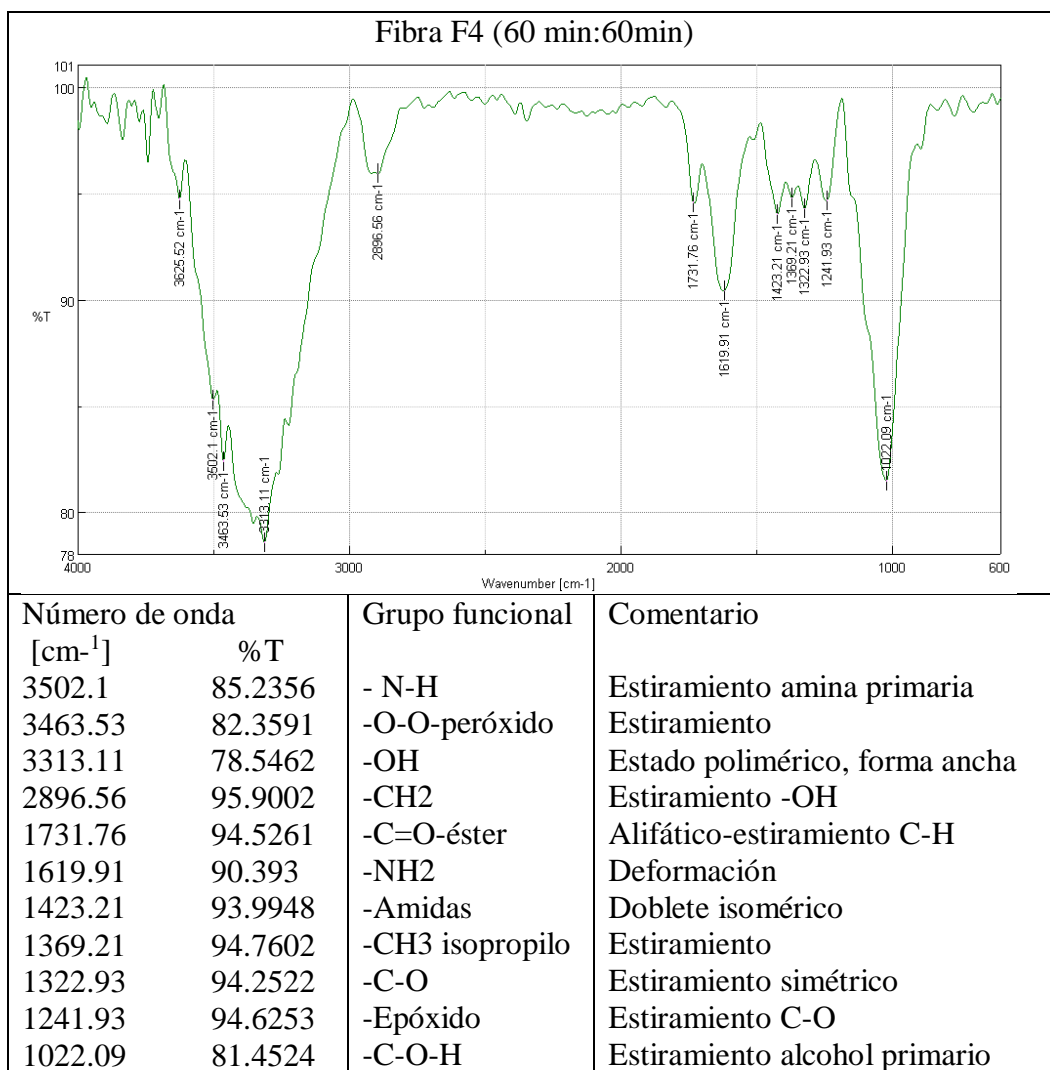
Elaborado por: Logroño M. 2021

Tabla 25 Espectros IR de fibras de cabuya F1 soportadas con nanopartículas de plata adquiridas con extracto de cáscara de mandarina variedad King en tiempo de inmersión de 30 min.



Elaborado por: Logroño M. 2021

Tabla 26 Espectros IR de fibras de cabuya F4 soportadas con nanopartículas de plata adquiridas con extracto de cáscara de mandarina variedad King en tiempo de inmersión de 60 min.



Elaborado por: Logroño M. 2021

4.1.3.3 Microscopía electrónica de barrido

La evaluación del tamaño y distribución de las nanopartículas de plata soportadas en la fibra de cabuya se efectuó por microscopia electrónica de barrido (SEM) con el equipo Modelo JOEL JSM_IT 100, las micrografías de las muestras se indican en la Figura 7; se puede acotar por revisión bibliográfica que el tamaño promedio de las nanopartículas soportadas en

fibra de cabuya por el color dorado y café en promedio de tamaño de 20 a 50 nm con forma circular [58]

Sánchez, M. (2017) indica que de forma general el tamaño Figura 8 de las nanopartículas aumenta con respecto al tiempo de la reacción entre el precursor y agente reductor con fibras y cuanto más alta es la temperatura el crecimiento de las nanopartículas será mayor.[55]

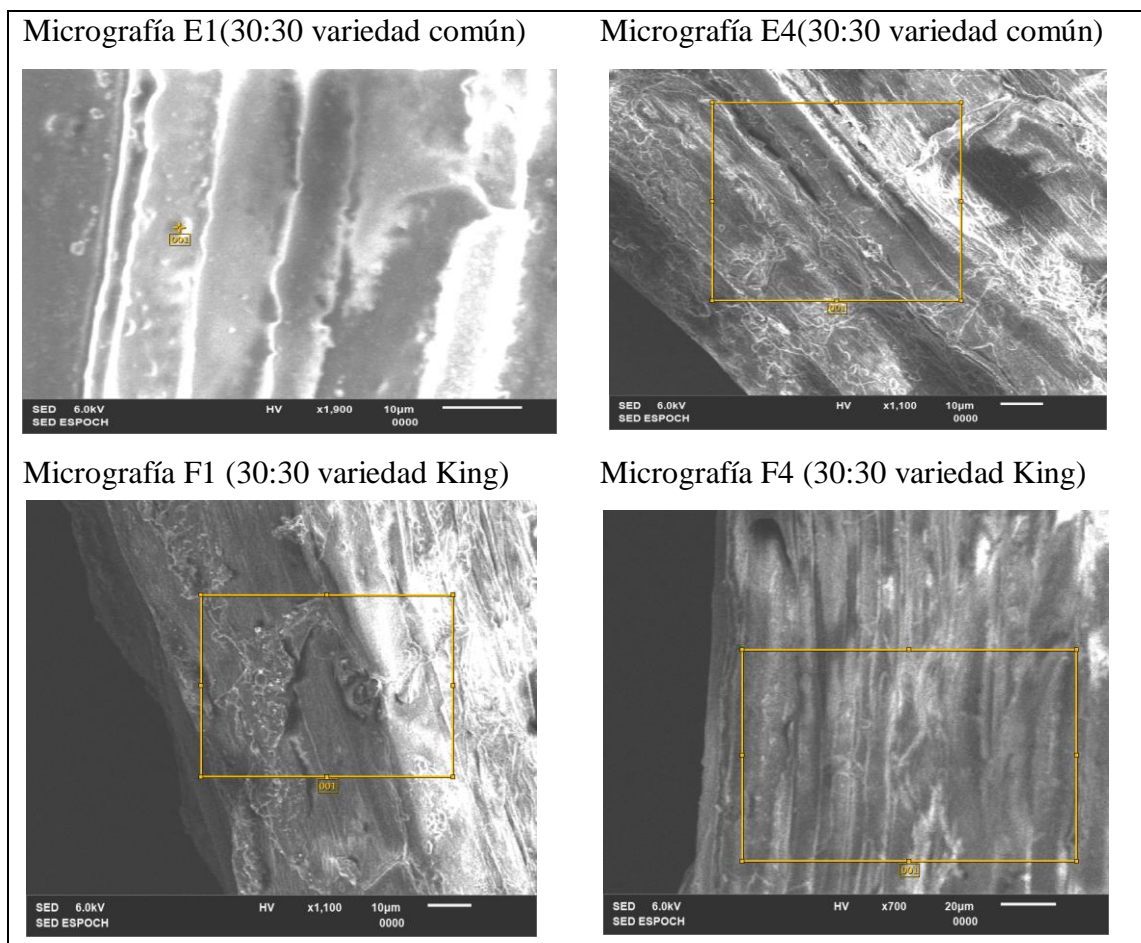


Figura 7 Micrografías SEM, membranas de cabuya soportadas con nanopartículas de plata

Elaborado por: Logroño M. 2021

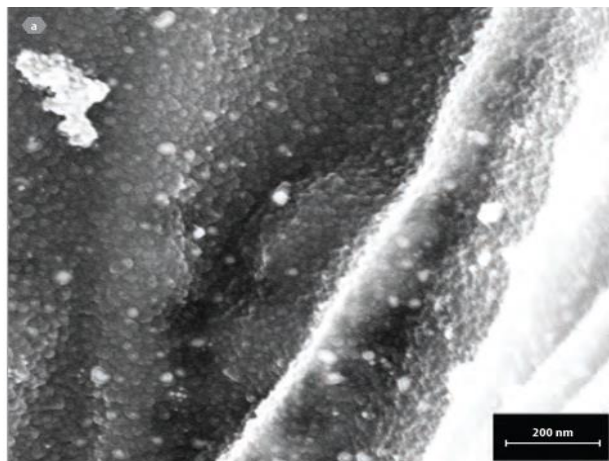


Figura 8 Micrografía SEM de fibras de cabuya modificadas con Ag NPs (magnificación de 300000 X)

Fuente: Ovalle, S A & col. 2013[38]

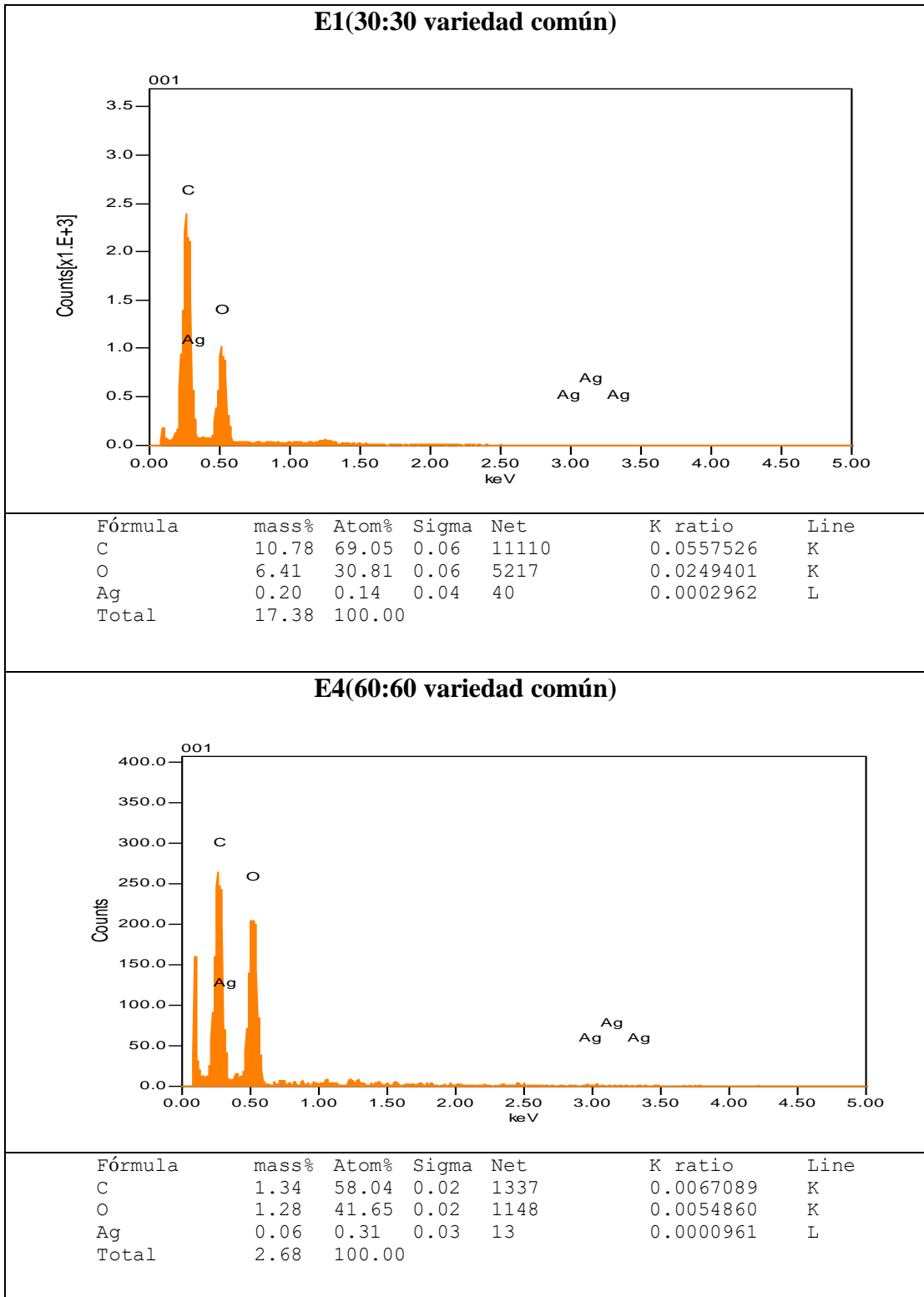
4.1.3.4 Energía de rayos X (EDX)

El análisis semicuantitativo importante que revela la composición química de las muestras se ejecutó por espectroscopia de dispersión de energía de rayos X (EDX) mediante el sistema acoplado al equipo SEM Modelo JOEL JSM_IT 100 en condiciones de vacío que permitió corroborar la presencia de nanopartículas de plata sobre la superficie de las fibras de cabuya.[55]

En las tablas 27 y 28 se demuestran los espectros EDX y la composición elemental para los tratamientos E1, E4 fibras reducidas con extractos de cáscara de mandarina variedad común y F1, F4 para fibras reducidas con extractos de cáscara de mandarina variedad King respectivamente.

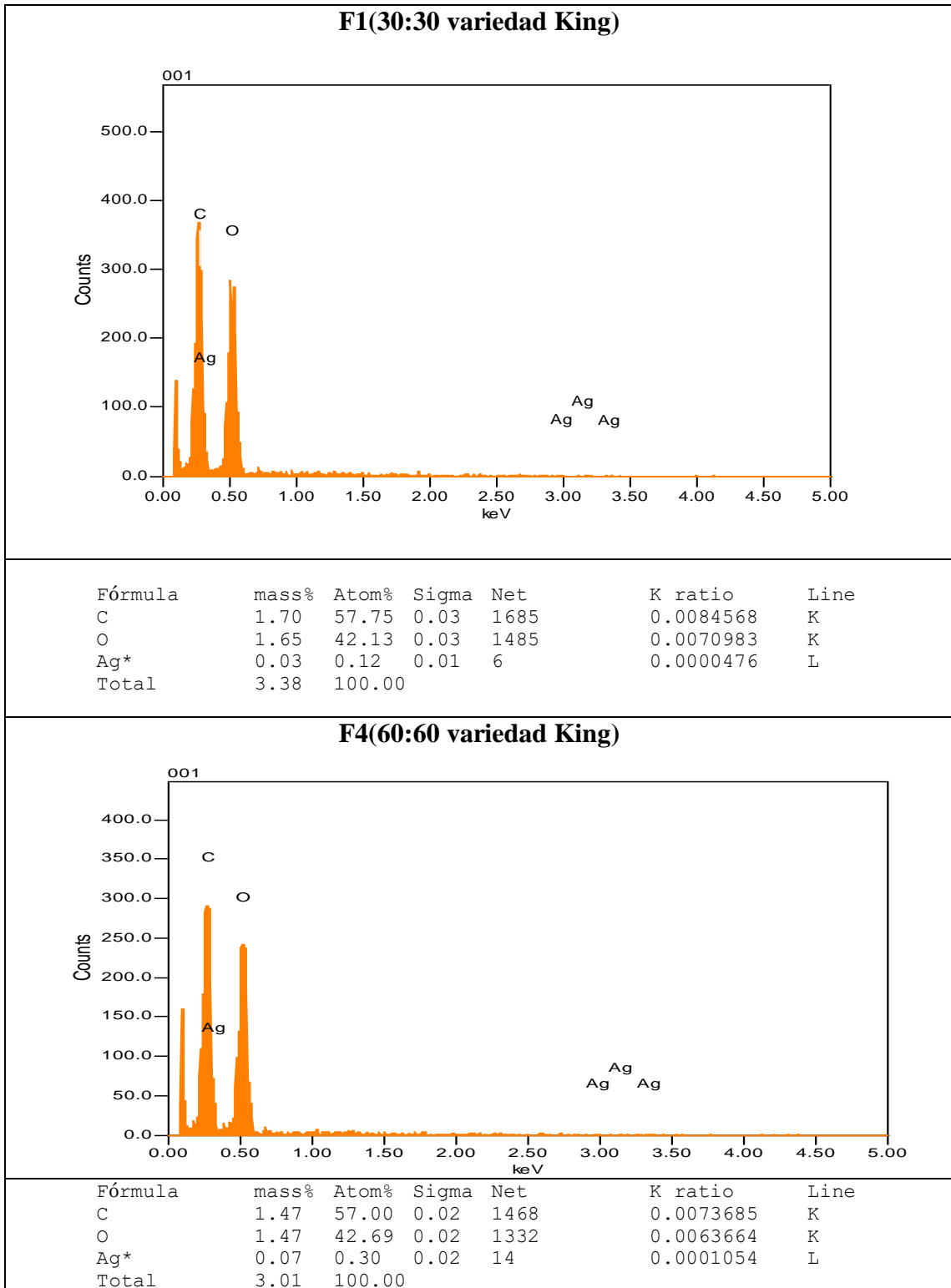
Se evidencia en los espectros señales de carbono y oxígeno, se atribuyen a la matriz de celulosa característico de la fibra de cabuya y señales de plata con escaso porcentaje de recubrimiento sobre la fibra que aumenta cambiando las condiciones de inmersión por el tiempo y el agente reductor de extracto de cáscara variedad común.

Tabla 27 Espectros EDX de fibras de cabuya E1 (30min) y E4 (60 min) soportadas con nanopartículas de plata adquiridas con extracto de cáscara de mandarina variedad común



Elaborado por: Logroño M. 2021

Tabla 28 Espectros EDX de fibras de cabuya F1 (30 min) y F4 (60 min) soportadas con nanopartículas de plata adquiridas con extracto de cáscara de mandarina variedad King



Elaborado por: Logroño M. 2021

4.1.4 Actividad Antibacteriana de las membranas de cabuya con Ag Nps

La actividad antibacterial de las fibras de cabuya soportadas con Ag NPs fueron evaluadas frente a una mezcla de microorganismos *Staphylococcus aureus* y *pyogenes* en medio de cultivo selectivo, se utilizó las fibras de cabuya limpias y soluciones coloidales obtenida con cada extracto de solución reductora como control; posterior a las 24 y 48 horas se realizó la comprobación de formación de halos (Tabla 29 y Figura 9) es decir cuando no existe crecimiento alrededor de las fibras , el resumen de las medidas con el reporte se evidencia en la tabla 30.

Tabla 29 Condición de sensibilidad para reporte de actividad antimicrobiana

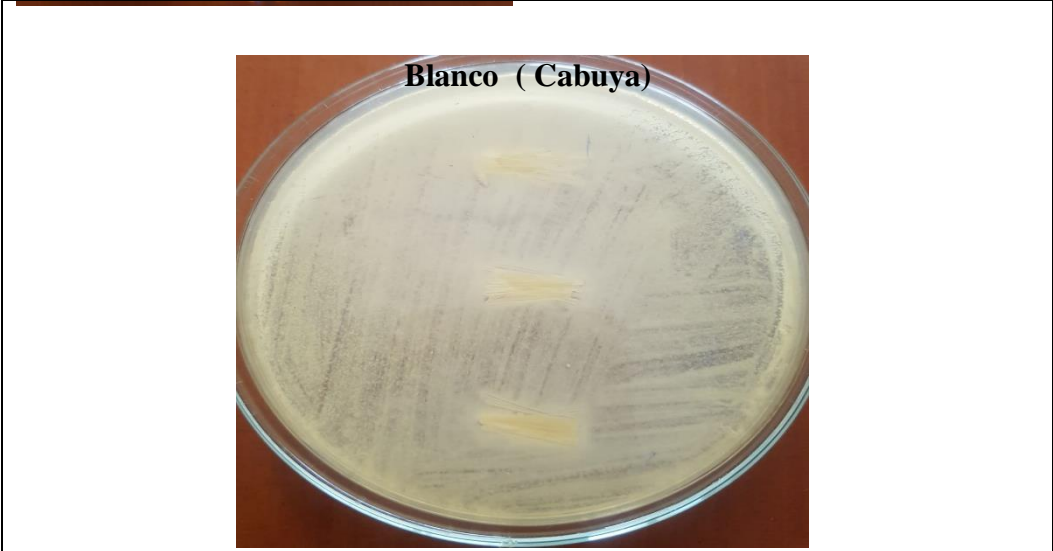
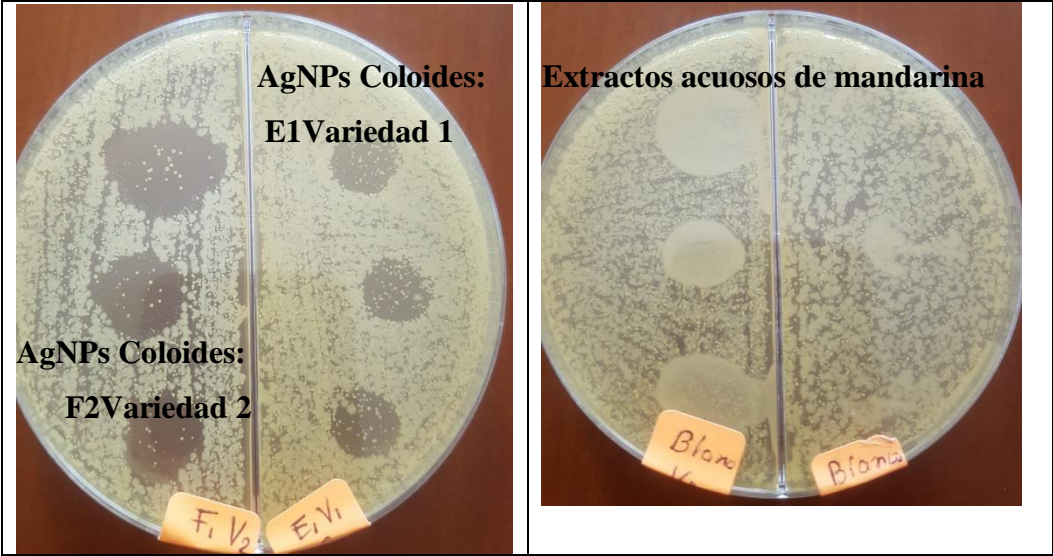
Reporte	Condición mm. Halo
Resistencia	0
Poca Sensibilidad	1 - 4
Mediana sensibilidad	5 - 9
Alta Sensibilidad	> ó =10

Fuente: Laboratorio Fonseca. 2021.

Tabla 30 Estadígrafos reporte de sensibilidad de las fibras con AgNPs

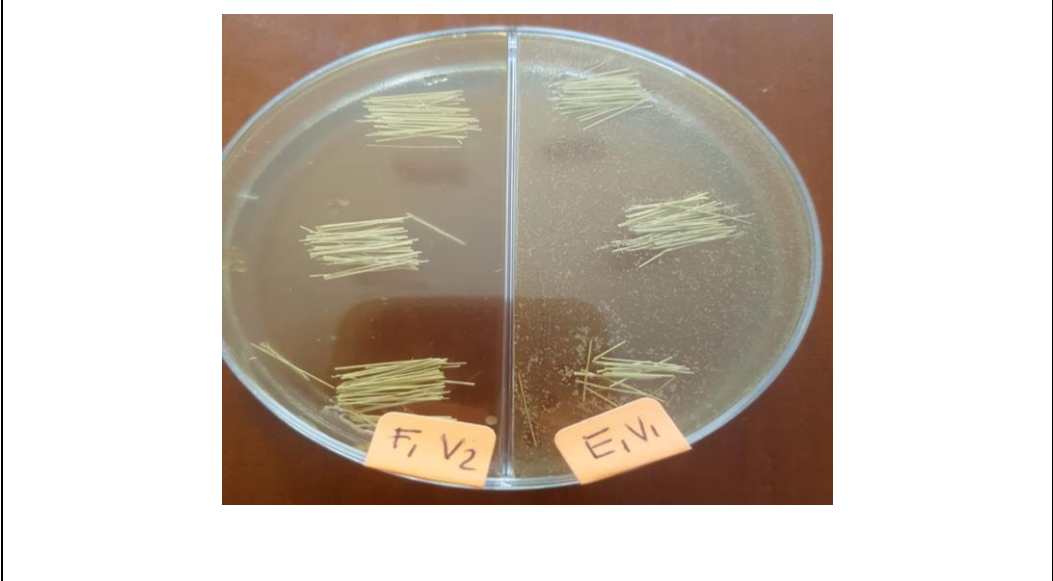
Reporte	Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx	P(05)
Mediana sensibilidad	Halo mm. (24 horas)	11	3,00	1,00	2,00	5,00	2,00
Mediana sensibilidad	Halo mm. (48 horas)	11	4,91	0,30	4,00	5,00	4,00
Poca sensibilidad	Halo mm. (24 horas)	5	0,40	0,55	0,00	1,00	0,00
Poca sensibilidad	Halo mm. (48 horas)	5	1,80	0,84	1,00	3,00	1,00
Resistencia	Halo mm. (24 horas)	11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Resistencia	Halo mm. (48 horas)	11	0,09	0,30	0,00	1,00	0,00
Sensibilidad	Halo mm. (24 horas)	6	9,17	1,83	7,00	12,00	7,00
Sensibilidad	Halo mm. (48 horas)	6	12,00	3,10	10,00	18,00	10,00

Elaborado por: Logroño M. 2021



F1(30:30 variedad King)

E1(30:30 variedad común)



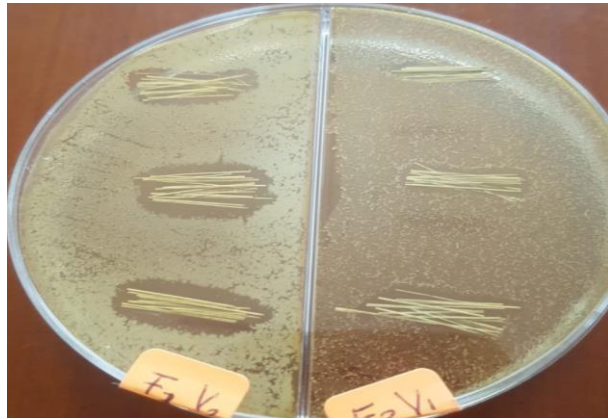
F2(30:60 variedad King)

E2(30:60 variedad común)



F3(60:30 variedad King))

E3(60:30 variedad común)



F4(60:60 variedad King)

E4(60:60 variedad común)



Figura 9 Pruebas de sensibilidad

Elaborado por: Logroño M. 2021

Según el Anova reportado en la tabla 31 acerca de la lectura de mm de formación o no de halos, para el tiempo de 24 horas, se evidencia con un p-valor <0,0001 4 rangos de diferencias estadísticas significativas, donde la cabuya (blanco), fibras con código E1(30:30 min variedad común) , F1(30:30 min variedad King) y E3(60:30 min variedad común) presentan resistencia; por lo contrario los tratamientos E2, E4, (variedad común) F2,F3,F4 (variedad kink) tienen poca sensibilidad, los coloides de nanopartículas de plata reducidas por extractos de cáscara de mandarina variedad King presentan mediana sensibilidad y difiere estadísticamente de todos los tratamientos los coloides de AgNPs resultante de reducción con el extracto de cáscara de mandarina variedad común.

Tabla 31 Anova de resultado de sensibilidad de fibra de cabuya con AgNO3 (24horas)

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	374,71	12	31,23	52,78	<0,0001
Reporte	358,51	3	119,50	201,98	<0,0001
Error	11,83	20	0,59		
Total	386,55	32			

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 0,5917 gl: 20

Reporte	Medias	n	E.E.	Rango
RESISTENCIA	0,00	11	0,24	A
POCA SENSIBILIDAD	0,22	5	0,39	A
MEDIANA SENSIBILIDAD	2,96	11	0,24	B
ALTA SENSIBILIDAD	9,17	6	0,31	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Duncan Alfa=0, 05

Error: 0,5917 gl: 20

Código	Medias	n	E.E.	Rango
E3	0,00	3	0,47	A
F1	0,00	3	0,44	A
E1	0,00	3	0,44	A
Cabuya	0,00	3	0,44	A
E4	0,67	3	0,44	A
E2	1,25	3	0,47	A
F2	2,67	3	0,44	B
F4	3,00	3	0,44	B
F3	3,67	3	0,44	B
Coloides F	7,67	3	0,44	C
Coloides E	10,67	3	0,44	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Logroño M. 2021

Luego de 48 horas se reporta en el Anova de la tabla 32 la lectura de mm de formación o no de halos, se evidencia que la cabuya (blanco), fibras con código E1(30:30 min variedad común), F1(30:30 min variedad King) continúan con resistencia; la fibra E3 (60:30 min variedad común) presentan poca sensibilidad; los tratamientos E2, E4, (variedad común) F2,F3,F4 (variedad King) cambiaron a mediana sensibilidad y los coloides de las dos variedades tienen alta sensibilidad con respecto a inactivar el crecimiento de microorganismo; por tanto el valor de $p < 0,0001$ de la prueba Anova determinó que los tratamientos son estadísticamente diferentes de modo que se rechazó la hipótesis nula a favor de la hipótesis alternativa a un nivel de significancia del 5%

El mecanismo de acción de inactivación se atribuye según diferentes autores que por el tamaño de las nanopartículas, pueden penetrar dentro de las membranas celulares interactuando con compuestos que tienen azufre, fósforo, como las proteínas del ADN y logra inhibir la viabilidad de réplica celular lo que conduce a la muerte celular.[56]

Tabla 32 Anova de resultado de sensibilidad de fibra de cabuya con AgNO₃ (48horas)

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	610,35	12	50,86	37,44	<0,0001
Reporte	584,90	3	194,97	143,53	<0,0001
Error	27,17	20	1,36		
Total	637,52	32			

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 1,3583 gl: 20

Reporte	Medias	n	E.E.	Rango
RESISTENCIA	0,13	11	0,36	A
POCA SENSIBILIDAD	1,67	5	0,59	B
MEDIANA SENSIBILIDAD	4,92	11	0,36	C
ALTA SENSIBILIDAD	12,00	6	0,48	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 1,3583 gl: 20

<u>Código</u>	<u>Medias</u>	<u>n</u>	<u>E.E.</u>	<u>Rango</u>
E1	0,00	3	0,67	A
F1	0,00	3	0,67	A
Cabuya	0,00	3	0,67	A
E3	0,75	3	0,71	A
E4	2,00	3	0,67	A B
E2	3,50	3	0,71	B C
F4	4,67	3	0,67	C
F2	5,00	3	0,67	C
F3	5,00	3	0,67	C
Coloides F	10,00	3	0,67	D
<u>Coloides E</u>	<u>14,00</u>	<u>3</u>	<u>0,67</u>	<u>E</u>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Logroño M. 2021

5 CAPÍTULO V

5.1 Conclusiones

- ❖ La adición de extractos acuosos de cáscara de mandarina variedad común y King en concentraciones entre 1 a 5 % sobre soluciones de nitrato de plata entre 0.001M a 0.0025 M tiene efectos de reducción en la obtención de nanopartículas de plata en estado de coloide caracterizados por el rango promedio de longitud de onda entre 430 a 450 nm de absorción de los coloides probablemente de forma esférica.
- ❖ Las condiciones de recubrimiento de fibra de cabuya se atribuyen al uso de nitrato de plata con concentración 0.0025M con inmersión por 60 minutos, y como agente reductor se puede usar soluciones al 5% de extracto acuoso de cáscara de mandarina variedad común y King con tiempos de inmersión de 60 minutos. Secado por 12 horas a 60°C, dan tonalidades doradas y café.
- ❖ Los análisis realizados mediante SEM, EDX y FT-IR permitieron corroborar la presencia de nanopartículas de plata sobre la superficie de las fibras de cabuya
- ❖ Se acepta la hipótesis alternativa si es factible obtener una membrana de cabuya (*Furcraea andina*) soportadas con nanopartículas de plata usando como agente reductor extractos de cáscara de mandarina con actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* y *pyogenes*

5.2 Recomendaciones

- ❖ Como las nanopartículas pueden presentar en una misma muestra diferente composición, por lo que consiguen una poli dispersión, es necesario caracterizar combinando diferentes técnicas con la finalidad de aportar mayor información para un mejor estudio de las mismas y con mayor cantidad de reactivo precursor, para alcanzar a un mínimo del 2% de recubrimiento con las nanopartículas sobre la fibra de cabuya y se facilite la caracterización.

- ❖ Se sugiere según las posibilidades de los laboratorios utilizar métodos de cuantificación de fracciones de Ag disueltas mediante fraccionamiento de flujo de campo asimétrico, seguidamente de un UV – visible y espectroscopia de masas con plasma acoplado (ICP-MS) y validar con técnicas de TEM y DLS.

6 Referencias Bibliográficas

- [1] W. Salem *et al.*, “Antibacterial activity of silver and zinc nanoparticles against *Vibrio cholerae* and enterotoxigenic *Escherichia coli*,” *Int. J. Med. Microbiol.*, vol. 305, no. 1, pp. 85–95, 2015, doi: 10.1016/j.ijmm.2014.11.005.
- [2] V. Makarov, S. Makarova, A. Love, O. Sinitsyna, and I. Yaminsky, “Green” nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants | O. Sinitsyna - Academia.edu,” *Acta Naturae*, vol. 6, no. 1, 2014, Accessed: Feb. 21, 2020. [Online]. Available: https://www.academia.edu/21540759/Green_nanotechnologies_synthesis_of_metal_nanoparticles_using_plants.
- [3] J. Morales, J. Morán, M. Quintana, and W. Estrada, “Synthesis and characterization of silver nanoparticles by sol-gel route from silver nitrate,” *Rev Soc Quím Perú*, vol. 75, no. 2, pp. 177–183, 2009, Accessed: Feb. 21, 2020. [Online]. Available: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v75n2/a04v75n2.pdf>.
- [4] G. M. Sulaiman, W. H. Mohammed, T. R. Marzooq, A. A. A. Al-Amiery, A. A. H. Kadhum, and A. B. Mohamad, “Green synthesis, antimicrobial and cytotoxic effects of silver nanoparticles using *Eucalyptus chapmaniana* leaves extract,” *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, vol. 3, no. 1, pp. 58–63, Jan. 2013, doi: 10.1016/S2221-1691(13)60024-6.
- [5] L. Cardeño Calle and M. E. Londoño, “Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo (*Allium sativum*),” *Rev. Soluciones Postgrado*, vol. 6, no. 12, pp. 129–140, Jun. 2014, doi: 10.14508/sdp.2014.6.12.129-140.
- [6] M. M. Oroz, “Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas - Dialnet,” *An. la Real Soc. Española Química*, no. 1, pp. 33–41, 2009, Accessed: Feb. 21, 2020. [Online]. Available: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2931286>.
- [7] C. Patricia Betancur Henao, V. Hernández Montes, and R. Buitrago Sierra, “Nanopartículas para materiales antibacterianos y aplicaciones del dióxido de titanio Nanoparticles for antibacterial materials and titanium dioxide applications,” *Rev. Cuba. Investig. Biomédicas*, vol. 35, no. 4, pp. 387–402, 2016, Accessed: Feb. 21, 2020. [Online]. Available: <http://scielo.sld.cu>.
- [8] Y. Liu, Y. Liu, N. Liao, F. Cui, M. Park, and H.-Y. Kim, “Fabrication and durable antibacterial properties of electrospun chitosan nanofibers with silver nanoparticles,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 79, pp. 638–643, Aug. 2015, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2015.05.058.
- [9] A. Zielińska, E. Skwarek, A. Zaleska, M. Gazda, and J. Hupka, “Preparation of silver nanoparticles with controlled particle size,” in *Procedia Chemistry*, Nov. 2009, vol. 1, no. 2, pp. 1560–1566, doi: 10.1016/j.proche.2009.11.004.
- [10] D. K. Bhui and A. Misra, “Synthesis of worm like silver nanoparticles in methyl cellulose polymeric matrix and its catalytic activity,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 89, no. 3, pp. 830–835, Jul. 2012, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2012.04.017.

- [11] K. Castro, “Elaboración de nanopartículas de plata vía síntesis y compuestos orgánicos de púnica granatum y catálisis bacteriana de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger*,” Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química., 2018.
- [12] T. Kokila, • P S Ramesh, and • D Geetha, “Biosynthesis of silver nanoparticles from Cavendish banana peel extract and its antibacterial and free radical scavenging assay: a novel biological approach,” *Appl. Nanosci.*, vol. 5, pp. 911–918, 2015, doi: 10.1007/s13204-015-0401-2.
- [13] M. Travieso Novelles, A. Rubio Ortega, and O. Pino Pérez, “Las nanopartículas a partir de plantas como base para el diseño de nuevos antimicrobianos,” *Rev. Cuba. Farm.*, vol. 51, no. 4, 2019, Accessed: Feb. 21, 2020. [Online]. Available: <http://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/263/178>.
- [14] J. M. Sahuquillo Arce *et al.*, “Estudio in vitro de las propiedades antimicrobianas de una espuma de poliuretano que libera iones de plata - Dialnet,” *Cirugía española Organo Of. la Asoc. Española Cir.*, vol. 89, no. 8, pp. 532–538, 2011, Accessed: Feb. 21, 2020. [Online]. Available: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3727131>.
- [15] A. M. Rincón, A. M. Vásquez, and F. C. Padilla, “Composicion química y compuestos bioactivos de las harinas de cascara de naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*) cultivadas en Venezuela,” *Arch. Latinoam. Nutr.*, vol. 55, no. 3, 2005, Accessed: Feb. 21, 2020. [Online]. Available: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222005000300013.
- [16] K. Othmer, “Enciclopedia De Tecnología Química,” 1945. <http://ebookbit.com/book?k=Enciclopedia+De+Tecnología+Química&lang=es&isbn=9789681855765&source=sites.google.com#pdf> (accessed Feb. 21, 2020).
- [17] P. G. Loyola, “Recuperación de nitrato de plata por cristalización a partir del efluente de disgregación del dore en el laboratorio químico de Century Minig Perú S.A.C.,” Universidad Nacional del Centro del Perú, 2010.
- [18] A. I. Vogel, *Química analítica cualitativa*, a Ed. Buenos Aires: Kapelusz, 1983.
- [19] M. Manuel, “manual de física y química - Iberlibro.” <https://www.iberlibro.com/buscar-libro/titulo/manual-de-fisica-y-quimica/> (accessed Feb. 21, 2020).
- [20] V. Vademecum, “★ Nitrato de plata □.” <https://www.vademecum.es/principios-activos-nitrato+de+plata-d08a101> (accessed Feb. 21, 2020).
- [21] “FETOC - Fundación Española de Toxicología Clínica.” <https://www.fetoc.es/> (accessed Feb. 21, 2020).
- [22] UTN-FICA-EITEX, “Cabuya una visión del futuro textil.” Accessed: Feb. 21, 2020. [Online]. Available: [http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/2658/2/04 IT 006 TESIS.pdf](http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/2658/2/04_IT_006_TESIS.pdf).
- [23] L. G. Cervantes Meneses and S. C. Inga, “Elaboración De Miel Del Cabuya Y Estudio De Prefactibilidad De Una Planta En El Distrito De Huanca

- Huanca, Provincia De Angaraes, Departamento De Huancavelica,” p. 185, 2015, [Online]. Available: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/4227/1/Cervantes_ml.pdf.
- [24] P. Villacrés, “CUANTIFICACIÓN DE LA BIOMASA RESIDUAL Y CARACTERIZACIÓN DEL CHAGUARMISHQUI,” UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO, 2018.
- [25] O. H. Criollo Figueroa, “Establecimiento de un protocolo para la propagación masiva in vitro DE CABUYA AZUL (Agave americana L.) Y CABUYA BLANCA (Furcraea andina Trel.),” SANGOLQUÍ / ESPE / 2011, 2011. Accessed: Feb. 21, 2020. [Online]. Available: <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/4656>.
- [26] S. Merino, “Aplicación de tejido de cabuya con un acabado fungicida a base de ají en cultivos de frutilla,” p. 92, 2015, [Online]. Available: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/7878/1/04 IT 169 TRABAJO GRADO.pdf>.
- [27] M. B. Yañez, “Facultad de Ingeniería Facultad de Ingeniería,” *Ucv*, p. 358, 2017.
- [28] L. Hora, “La mandarina, fruta de mayor producción.” 2013. <https://lahora.com.ec/noticia/1101372417/la-mandarina-fruta-de-mayor-> (accessed Jan. 07, 2021).
- [29] A. M. Rincón, A. Vásquez, M. Padilla, and F. C., “Composicion quimica y compuestos bioactivos de las harinas de cascaras de naranja (citrus sinensis), mandarina (citrus reticulata) y toronja (citrus paradisi) cultivadas en Venezuela,” *Arch. Latinoam. Nutr.*, vol. 55, no. 3, pp. 305–310, 2005, Accessed: Jan. 07, 2022. [Online]. Available: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222005000300013&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- [30] M. B. Nevárez, “Estudio comparativo de la calidad fisico-química y cromatográfica del fruto de la mandarina (citrus nobilis lour),” Universidad Técnica Estatal de Quevedo Facultad de Ciencias Pecuarias Carrera de Ingeniería en Alimentos, Quevedo, 2013.
- [31] J. K. L. A., “In situ syntheses of silver nanoparticles inside silver citrate nanorods via catalytic nanoconfinement effect,” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 605, p. 125343, 2020.
- [32] A. K and V. J., “Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using Vitex negundo (Karu Nochchi) Leaf Extract and its Antibacterial Activity,” *Med. Chem. (Los Angeles)*, vol. 07, no. 07, 2017, doi: 10.4172/2161-0444.1000460.
- [33] T. Pallasco and A. Ignacio, “Síntesis verde y caracterización de nanopartículas de oro y plata mediante el uso de algunas plantas endémicas del Ecuador,” Quito, 2017., Quito, 2017.
- [34] Ledezma A *et al.*, “Síntesis biomimética de nanopartículas de plata utilizando extracto acuoso de nopal (Opuntia sp.) y su electrohilado polimérico,” *Superf. y Vacío*, vol. 27, no. 4, pp. 133–140, 2014, Accessed: Feb. 21, 2020. [Online]. Available: <http://www.scielo.org.mx/pdf/sv/v27n4/1665-3521-sv-27-04-00133.pdf>.

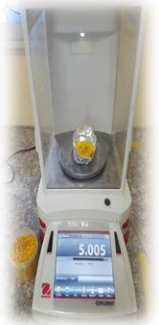




- [35] D. Ortega, “Aplicaciones biomédicas de las nanopartículas de plata,” FACULTAD DE FARMACIA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE TRABAJO, 2020.
- [36] Mathur P, J. S, R. S, and J. NK, “Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. Artif Cells,” *Nanomedicine Biotechnol*, vol. 46, no. sup1, pp. 115–26, 2018.
- [37] K. Oksman, A. P. Mathew, D. Bondeson, and I. Kvien, “Manufacturing process of cellulose whiskers/polylactic acid nanocomposites,” *Composites Sci. Technol.*, vol. 66, pp. 2776–2784, 2006.
- [38] S. A. Ovalle, C. Blanco-Tirado, and M. Y. Combariza, “In situ synthesis of silver nanoparticles on fique fibers | Síntese in situ de nanopartículas de prata em fibras de fique | Síntesis in situ de nanopartículas de plata sobre fibras de fique,” *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 42, no. 1, pp. 30–37, 2013, [Online]. Available: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84914171590&partnerID=MN8TOARS>.
- [39] G. A. Martínez-Castañón, N. Niño-Martínez, F. Martínez-Gutierrez, J. R. Martínez-Mendoza, and F. Ruiz, “Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes,” *J. Nanoparticle Res. 2008 108*, vol. 10, no. 8, pp. 1343–1348, Jul. 2008, doi: 10.1007/S11051-008-9428-6.
- [40] Y. Tan, X. Dai, Y. Li, and D. Zhu, “Preparation of gold, platinum, palladium and silver nanoparticles by the reduction of their salts with a weak reductant–potassium bitartrate,” *J. Mater. Chem.*, vol. 13, no. 5, pp. 1069–1075, Apr. 2003, doi: 10.1039/B211386D.
- [41] D. Bjorge *et al.*, “Performance assessment of electrospun nanofibers for filter applications,” *Desalination*, vol. 249, no. 3, pp. 942–948, Dec. 2009, doi: 10.1016/J.DESAL.2009.06.064.
- [42] S. Chouhan and S. Guleria, “Green synthesis of AgNPs using Cannabis sativa leaf extract: Characterization, antibacterial, anti-yeast and α -amylase inhibitory activity,” *Mater. Sci. Energy Technol*, vol. 3, pp. 536–544, 2020, [Online]. Available: doi: 10.1016/j.mset.2020.05.004.
- [43] J. K. Lim *et al.*, “In situ syntheses of silver nanoparticles inside silver citrate nanorods via catalytic nanoconfinement effect,” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 605, p. 125343, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.colsurfa.2020.125343.
- [44] Productos | JEOL Ltda., “Microscopio electrónico de barrido InTouchScope™ JSM-IT100.” <https://www.jeol.co.jp/en/products/detail/JSM-IT100.html> (accessed Jan. 08, 2022).
- [45] “Espectrofotómetros - FT/IR Jasco FTIR-4000.” <https://www.biriden.com/es/espectrofotometros/ftir-4000> (accessed Jan. 08, 2022).
- [46] M. K. Satapathy, R. Lekha, S. Mehndiratta, P. Das, and C. H. Chen, “Advanced Nanomaterials in the Clinical Scenario: Virtues and Consequences,” *Nanotechnol. Life Sci.*, pp. 427–449, 2020, doi: 10.1007/978-3-030-41464-1_18.
- [47] S. Chouhan and S. Guleria, “Green synthesis of AgNPs using Cannabis sativa leaf extract: Characterization, antibacterial, anti-yeast and α -amylase inhibitory activity,” *Mater. Sci. Energy Technol.*, vol. 3, pp. 536–544,

- 2020, doi: 10.1016/j.mset.2020.05.004.
- [48] E. K. Kambale *et al.*, “Green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles using aqueous leaf extracts from three Congolese plant species (*Brillantaisia patula*, *Crossopteryx febrifuga* and *Senna siamea*),” *Heliyon*, vol. 6, no. 8, Aug. 2020, doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04493.
- [49] N. H. et Al., “Green mode synthesis of silver nanoparticles using *Vitis vinifera*’s tannin and screening its antimicrobial activity / apoptotic potential versus cancer cells,” *Mater. Today Commun.*, vol. 25, no. 101511, 2020, [Online]. Available: doi: 10.1016/j.mtcomm.2020.101511.
- [50] V. K. M. Katta and R. S. Dubey, “Green synthesis of silver nanoparticles using *Tagetes erecta* plant and investigation of their structural, optical, chemical and morphological properties,” *Mater. Today Proc.*, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.matpr.2020.02.809.
- [51] M. Kumar Panda, N. Kumar Dhal, M. Kumar, P. Manjari Mishra, and R. Kumar Behera, “Green synthesis of silver nanoparticles and its potential effect on phytopathogens,” *Mater. Today Proc.*, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.matpr.2020.05.188.
- [52] G. N. Maity *et al.*, “Green synthesis, characterization, antimicrobial and cytotoxic effect of silver nanoparticles using arabinoxylan isolated from *Kalmegh*,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 162, pp. 1025–1034, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.06.215.
- [53] E. E. González-Jiménez, C. Físicas, and E. E. González, “Control de la superficie y el volumen en la nanoescala para la configuración y el diseño de nanodispositivos Artículo de Posesión,” *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat*, vol. 40, no. 157, pp. 590–599, 2016, doi: 10.18257/raccefyn.398.
- [54] J. Sebastián and J. Pablo, “Análisis UV-Vis de nanopartículas metálicas crecidas en ambiente líquido mediante PLD,” *El Hombre y la Máquina*, no. 47, pp. 37–42, 2015.
- [55] M. Sánchez, M. Tutor, J. Álvarez, R. Facultad, and D. E. Ciencias, “Trabajo de fin de máster módulo de Química Inorgánica e Ingeniería Química nanopartículas de plata: Preparación, caracterización y propiedades con aplicación en inocuidad de los alimentos.,” *J. Chromatogr.*, vol. 1040, no. 2, pp. 15–17, 2017, Accessed: Jan. 12, 2022. [Online]. Available: http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Msanchez/Sanchez_Moreno_Minerva_TFM.pdf.
- [56] K. Jyoti, M. Baunthiyal, and A. Singh, “Characterization of silver nanoparticles synthesized using *Urtica dioica* Linn. leaves and their synergistic effects with antibiotics ,” *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, vol. 9, no. 3, pp. 217–227, 2016, doi: 10.1016/j.jrras.2015.10.002.
- [57] M. A. Mendez, ““Síntesis y Caracterización De Nanopartículas De Plata: Efecto Sobre *Colletotrichum Gloesporioides*,” vol. 90, no. 17, 2009.
- [58] B. Tang *et al.*, “Application of anisotropic silver nanoparticles: Multifunctionalization of wool fabric,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 356, no. 2, pp. 513–518, 2011, doi: 10.1016/j.jcis.2011.01.054.

7. ANEXOS



Anexo 1: Proceso de secado de cáscaras de mandarina
Elaborado por: Logroño M, 2021

				
	1 Pesado de cáscara de mandarina	2 Calentamiento en medio acuoso	3 Filtrado al vacío	4 Muestras de extractos acuosos

Anexo 2 Proceso de obtención de los extractos de mandarina
Elaborado por: Logroño M, 2021



Adición 1:1 Solución de nitrato y extractos de cáscara de mandarina

Mezclas iniciales sin reacción

Calentamiento en baño ultrasónico

Medición de longitud de onda en espectrofotómetro

Anexo 3 Proceso de obtención de nanopartículas de plata por el método SPR

Elaborado por: Logroño M. 2021



Cabuya cruda

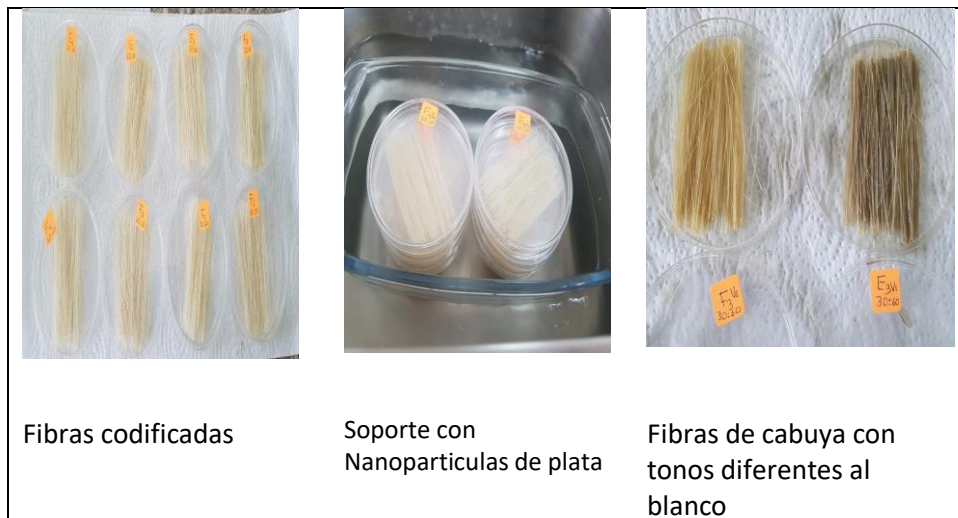
Lavado asistido con baño ultrasónico

Secado de las fibras

Fibras de cabuya limpias

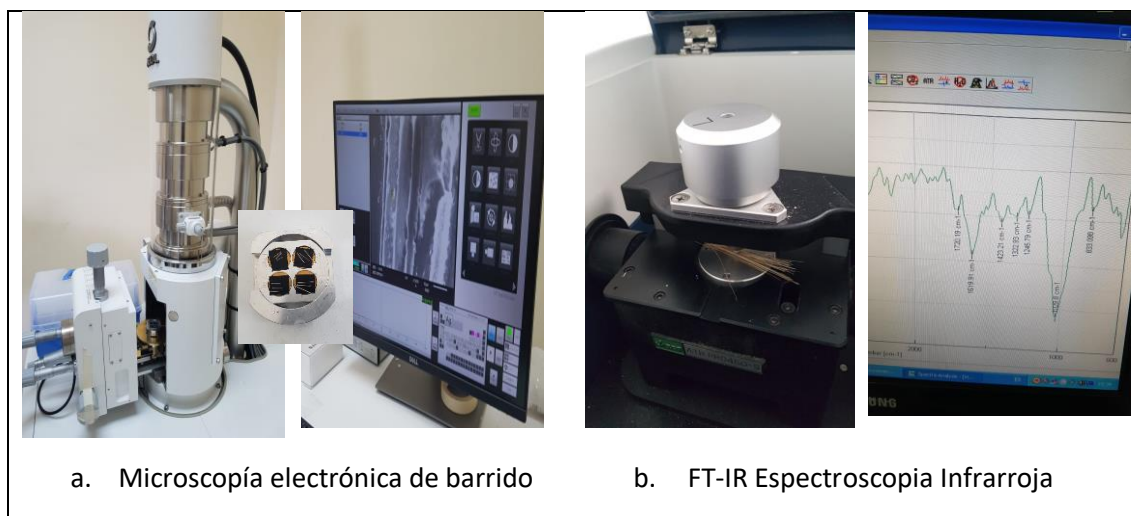
Anexo 4 Proceso de limpieza de las fibras de cabuya (*Furcraea andina*)

Elaborado por: Logroño M, 2021



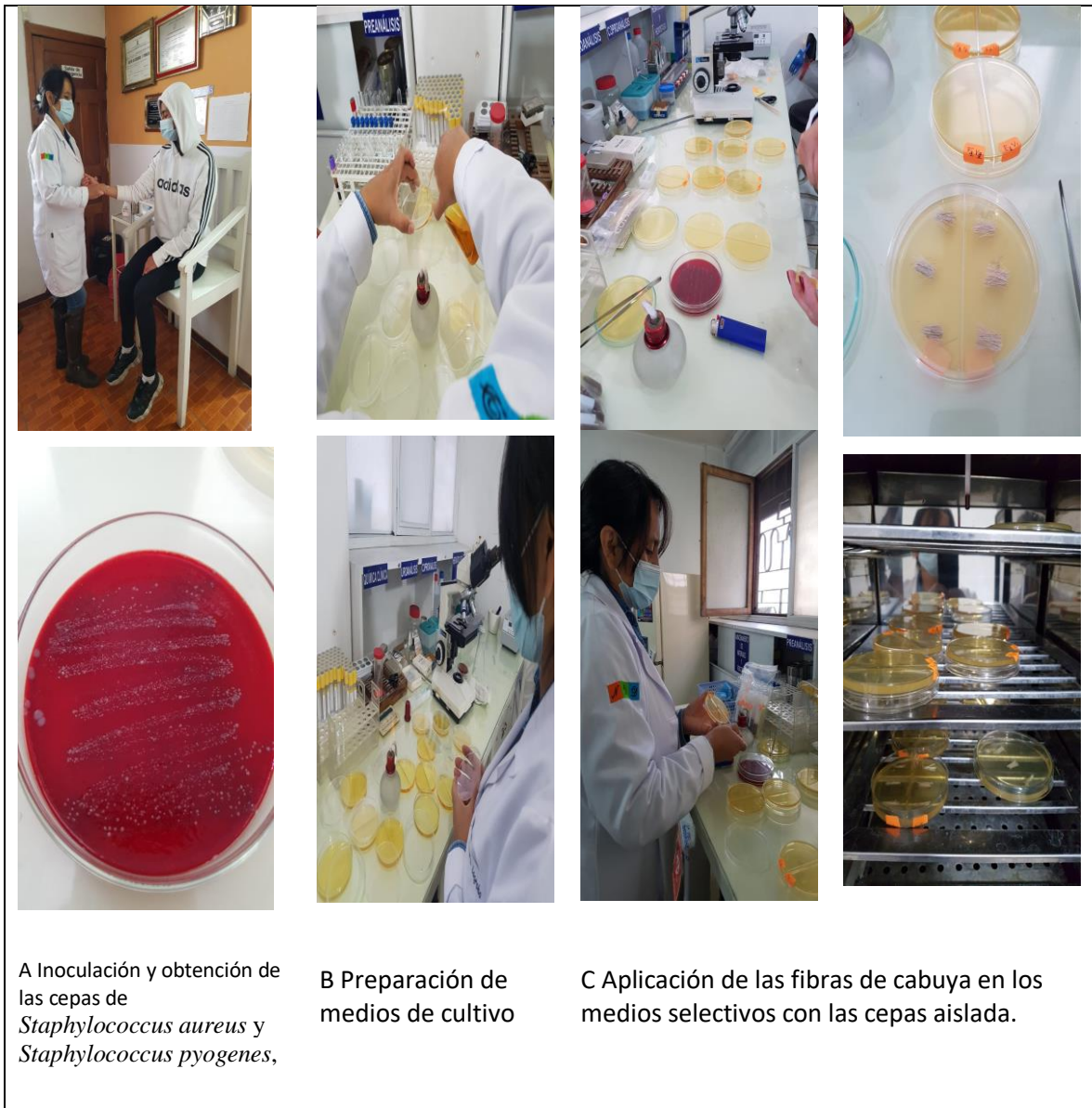
Anexo 5: Obtención de fibras de cabuya soportadas con nanopartículas de plata

Elaborado por: Logroño M, 2021



Anexo 6 Caracterización de la membrana de cabuya con AgNPs mediante a) SEM b) FT-IR

Elaborado por: Logroño M. 2020



A Inoculación y obtención de las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pyogenes*,

B Preparación de medios de cultivo

C Aplicación de las fibras de cabuya en los medios selectivos con las cepas aislada.

Anexo 7 Prueba de sensibilidad de las membranas de cabuya soportadas con AgNPs frente a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pyogenes*

Elaborado por: Logroño M, 2021

TRATAMIENTOS	REPETICIONES	Longitud de onda Tiempo 30 min Temperatura 20°C	Absorbancia Tiempo 30 min Temperatura 20°C	Longitud de onda Tiempo 60 min Temperatura (40°C)	Absorbancia Tiempo 60 min Temperatura 40°C
A1 B1	R1	404.994	0.188	427.760	1.287
A1 B1	R2	467.257	0.059	425.716	1.285
A1 B1	R3	427.126	1.253	402.201	1.182
A1 B2	R1	406.044	0.657	427.891	1.054
A1 B2	R2	463.944	0.041	429.061	1.048
A1 B2	R3	429.818	0.969	432.859	1.044
A1 B3	R1	483.271	0.004	437.961	1.085
A1 B3	R2	451.143	0.301	436.135	1.085
A1 B3	R3	406.897	0.933	436.126	1.079
A1 B4	R1	447.88	0.968	429.710	1.170
A1 B4	R2	442.232	0.997	433.016	1.170
A1 B4	R3	478.987	0.356	432.250	1.170
A1 B5	R1	442.365	0.566	436.902	0.708
A1 B5	R2	466.007	0.292	435.577	0.709
A1 B5	R3	454.095	0.769	436.677	0.710
A2 B1	R1	455.044	0.345	422.175	1.510
A2 B1	R2	457.658	0.106	402.152	1.418
A2 B1	R3	428.115	0.533	424.195	1.506
A2 B2	R1	426.731	0.591	427.244	1.476
A2 B2	R2	450.116	0.175	425.133	1.471
A2 B2	R3	418.132	1.222	401.106	1.355
A2 B3	R1	469.708	0.13	435.946	1.565
A2 B3	R2	451.35	0.597	436.155	1.559
A2 B3	R3	427.652	1.38	436.923	1.565
A2 B4	R1	448.673	0.953	428.359	1.542
A2 B4	R2	456.268	0.39	429.780	1.547
A2 B4	R3	443.218	1.232	428.066	1.544
A2 B5	R1	442.365	0.589	433.180	0.812
A2 B5	R2	454.834	0.363	432.337	0.810
A2 B5	R3	446.837	0.86	434.061	0.810
A3 B1	R1	441.786	0.28	422.625	1.521
A3 B1	R2	452.314	0.147	411.739	1.499
A3 B1	R3	426.079	0.483	427.514	1.523
A3 B2	R1	413.98	0.418	431.559	2.080
A3 B2	R2	447.693	0.394	416.985	2.034
A3 B2	R3	418.623	1.421	435.039	2.067
A3 B3	R1	460.333	0.367	431.768	1.704
A3 B3	R2	449.043	0.81	436.768	1.704
A3 B3	R3	430.094	1.551	436.768	1.701
A3 B4	R1	451.899	0.963	433.079	2.548

A3 B4	R2	460,136	0.348	432.269	2.543
A3 B4	R3	437.05	1.544	432.860	2.549
A3 B5	R1	446.866	0.47	433.155	1.123
A3 B5	R2	458.752	0.221	433.660	1.456
A3 B5	R3	443.298	0.944	432.236	1.467
A4 B1	R1	435.081	1.427	438.965	2.578
A4 B1	R2	432.926	1.429	400.996	2.178
A4 B1	R3	431.156	1.422	444.648	2.575
A4 B2	R1	448.991	0.326	444.839	2.539
A4 B2	R2	437.646	1.095	404.870	2.177
A4 B2	R3	438.263	1.096	439.045	2.577
A4 B3	R1	455.716	0.448	442.973	2.231
A4 B3	R2	452.875	0.525	411.124	1.980
A4 B3	R3	439.151	1.101	440.220	2.212
A4 B4	R1	452.395	0.724	435.201	2.757
A4 B4	R2	445.143	1.125	433.230	2.761
A4 B4	R3	443.419	1.501	437.780	2.705
A4 B5	R1	443.708	1.511	432.568	1.326
A4 B5	R2	452.713	1.125	432.244	1.339
A4 B5	R3	442.864	1.152	431.979	1.338

Anexo 8 Datos experimentales con los extractos de cáscaras de mandarina de variedad común

Elaborado por: Logroño M. 2021

TRATAMIENTOS	REPETICIONES	Longitud de onda Tiempo 30 min Temperatura 20°C	Absorbancia Tiempo 30 min Temperatura 20°C	Longitud de onda Tiempo 60 min Temperatura 40°C	Absorbancia Tiempo 60 min Temperatura 40°C
A1 C1	R1	486.23	0.742	481.978	0.0734
A1 C1	R2	510.89	0.714	425.765	0.286
A1 C1	R3	414.191	0.724	427.898	0.589
A1 C2	R1	478.7	0.022	433.869	0.347
A1 C2	R2	467.18	0.011	433.029	0.349
A1 C2	R3	456.759	0.041	433.403	0.352
A1 C3	R1	435.69	0.21	447.177	0.39
A1 C3	R2	468.066	0.04	451.299	0.06
A1 C3	R3	451.915	0.062	451.823	0.065
A1 C4	R1	429.193	0.21	433.971	0.188
A1 C4	R2	502.882	0.04	433.102	0.188
A1 C4	R3	463.316	0.062	442.799	0.192
A1 C5	R1	443.996	0.197	458.061	0.109
A1 C5	R2	465.7	0.042	448.141	0.134
A1 C5	R3	461.912	0.057	448.505	0.133
A2 C1	R1	450, 25	0.035	456.76	0.31
A2 C1	R2	474.084	0.02	426.292	0.592
A2 C1	R3	418.981	0.708	424.088	1.242
A2 C2	R1	435.928	0.502	437.173	0.364
A2 C2	R2	457.241	0.1	435.918	0.365
A2 C2	R3	438.806	0.262	436.918	0.372
A2 C3	R1	431.954	0.278	440.176	0.212
A2 C3	R2	468.065	0.081	433.627	0.244
A2 C3	R3	442.629	0.161	433.998	0.244
A2 C4	R1	434.107	0.288	428.252	0.243
A2 C4	R2	427.355	0.215	433.102	0.243
A2 C4	R3	460.063	0.13	428.903	0.254
A2 C5	R1	443.95	0.127	462.942	0.066
A2 C5	R2	465.778	0.033	453.109	0.154
A2 C5	R3	467.824	0.033	452.232	0.154
A3 C1	R1	432.126	0.641	441.114	0.893
A3 C1	R2	454.411	0.187	430.572	1.626
A3 C1	R3	439.441	0.735	434.636	1.626
A3 C2	R1	456.714	0.236	433.0223	0.561
A3 C2	R2	473.768	0.18	435.786	0.563
A3 C2	R3	447.965	0.168	436.872	0.576
A3 C3	R1	431.089	0.413	449.176	0.212
A3 C3	R2	462.252	0.136	457.925	0.133
A3 C3	R3	451.762	0.122	457.408	0.134
A3 C4	R1	434.256	0.28	434.055	0.208

A3 C4	R2	471.915	0.071	435.82	0.203
A3 C4	R3	462.957	0.089	434.865	0.207
A3 C5	R1	447.049	0.097	467.048	0.049
A3 C5	R2	469.051	0.017	448.015	0.224
A3 C5	R3	470.842	0.025	447.622	0.225
A4 C1	R1	433.217	0.523	435.506	1.987
A4 C1	R2	462.405	0.159	438.038	1.846
A4 C1	R3	422.385	1.234	434.978	1.838
A4 C2	R1	448.203	0.089	433.16	1.258
A4 C2	R2	474.847	0.139	434.867	1.259
A4 C2	R3	448.324	0.29	431.021	1.255
A4 C3	R1	434.91	0.29	451.317	0.293
A4 C3	R2	462.221	0.222	463.185	0.224
A4 C3	R3	452.065	0.223	463.091	0.223
A4 C4	R1	435.045	0.223	434.008	0.281
A4 C4	R2	466.028	0.101	434.164	0.282
A4 C4	R3	462.662	0.151	434.028	0.282
A4 C5	R1	439.001	0.097	464.852	0.084
A4 C5	R2	465.824	0.107	442.923	0.283
A4 C5	R3	470.809	0.048	443.566	0.479

**Anexo 9 Datos experimentales con los extractos de cáscaras de mandarina
de variedad común**

Elaborado por: Logroño M. 2021

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
$\lambda(30 \text{ min}, 20^\circ\text{C})$	120	0,46	0,18	3,76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19295,45	41	470,62	1,65	0,0291
TRATAMIENTOS	11577,73	39	296,86	1,04	0,4312
REPETICIONES	7717,72	2	3858,86	13,52	<0,0001
Error	22256,25	78	285,34		
Total	41551,70	119			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 285,3366 gl: 78

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	RANGO
A3 B2	426,76	3	9,75	A
A2 B2	431,66	3	9,75	A B
A4 B1	433,06	3	9,75	A B C
A1 B1	433,13	3	9,75	A B C
A1 B2	433,27	3	9,75	A B C
A4 C1	439,34	3	9,75	A B C D
A3 B1	440,06	3	9,75	A B C D
A2 C4	440,51	3	9,75	A B C D
A4 B2	441,63	3	9,75	A B C D
A3 C1	441,99	3	9,75	A B C D
A2 C2	443,99	3	9,75	A B C D
A4 B5	446,43	3	9,75	A B C D
A3 B3	446,49	3	9,75	A B C D
A2 B1	446,94	3	9,75	A B C D
A4 B4	446,99	3	9,75	A B C D
A1 B3	447,10	3	9,75	A B C D
A2 C3	447,55	3	9,75	A B C D
A2 B5	448,01	3	9,75	A B C D
A3 C3	448,37	3	9,75	A B C D
A4 B3	449,25	3	9,75	A B C D
A2 B4	449,39	3	9,75	A B C D
A2 B3	449,57	3	9,75	A B C D
A3 B5	449,64	3	9,75	A B C D
A3 B4	449,70	3	9,75	A B C D
A4 C3	449,73	3	9,75	A B C D
A1 C3	451,89	3	9,75	A B C D
A1 B5	454,16	3	9,75	A B C D
A4 C4	454,58	3	9,75	A B C D
A1 B4	456,37	3	9,75	A B C D
A3 C4	456,38	3	9,75	A B C D
A2 C1	456,39	3	9,75	A B C D
A4 C2	457,12	3	9,75	A B C D
A1 C5	457,20	3	9,75	A B C D
A4 C5	458,51	3	9,75	A B C D
A2 C5	459,18	3	9,75	A B C D
A3 C2	459,48	3	9,75	A B C D
A3 C5	462,31	3	9,75	B C D
A1 C4	465,13	3	9,75	B C D
A1 C2	467,55	3	9,75	C D
A1 C1	470,44	3	9,75	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 10: Análisis de varianza longitud de onda 30 min 20°C entre todos los tratamientos

Elaborado por Logroño M. 2021

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Longitud 2	120	0,66	0,47	2,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13081,15	41	319,05	3,61	<0,0001
TRATAMIENTOS	12070,57	39	309,50	3,51	<0,0001
REPETICIONES	1010,57	2	505,29	5,73	0,0048
Error	6884,24	78	88,26		
Total	19965,39	119			

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 88,2595 gl: 78

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	RANGOS
A2 B1	416,17	3	5,42	A
A2 B2	417,83	3	5,42	A B
A1 B1	418,56	3	5,42	A B
A3 B1	420,63	3	5,42	A B
A3 B2	427,86	3	5,42	A B C
A4 B1	428,20	3	5,42	A B C
A2 B4	428,74	3	5,42	A B C
A4 B2	429,58	3	5,42	A B C
A1 B2	429,94	3	5,42	A B C
A2 C4	430,09	3	5,42	A B C
A4 B3	431,44	3	5,42	A B C D
A1 B4	431,66	3	5,42	A B C D E
A4 B5	432,26	3	5,42	A B C D E
A3 B4	432,74	3	5,42	A B C D E F
A4 C2	433,02	3	5,42	A B C D E F
A3 B5	433,02	3	5,42	A B C D E F
A2 B5	433,19	3	5,42	A B C D E F
A1 C2	433,43	3	5,42	A B C D E F
A4 C4	434,07	3	5,42	A B C D E F
A3 C4	434,91	3	5,42	A B C D E F
A3 B3	435,10	3	5,42	B C D E F
A3 C2	435,23	3	5,42	B C D E F
A4 B4	435,40	3	5,42	B C D E F
A3 C1	435,44	3	5,42	B C D E F
A2 C1	435,71	3	5,42	B C D E F
A2 C3	435,93	3	5,42	B C D E F
A4 C1	436,17	3	5,42	B C D E F G
A2 B3	436,34	3	5,42	B C D E F G
A1 B5	436,39	3	5,42	B C D E F G
A1 C4	436,62	3	5,42	B C D E F G
A2 C2	436,67	3	5,42	B C D E F G
A1 B3	436,74	3	5,42	B C D E F G
A1 C1	445,21	3	5,42	C D E F G H
A1 C3	450,10	3	5,42	D E F G H
A4 C5	450,45	3	5,42	E F G H
A1 C5	451,57	3	5,42	F G H
A3 C5	454,23	3	5,42	G H
A3 C3	454,84	3	5,42	H
A2 C5	456,09	3	5,42	H
A4 C3	459,20	3	5,42	H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 11: Análisis de varianza longitud de onda 60 min 40°C entre todos los tratamientos

Elaborado por Logroño M. 2021

Prueba Hotelling Alfa=0,05

Error: Matriz de covarianzas común gl: 78

TRATAMIENTOS	Longitud 2	Longitud 1	n																
A4 C5	450,45	458,51	3	A	B	C	D	F	G										
A1 C3	450,10	451,89	3	A	B	C	D	F											
A1 C5	451,57	457,20	3	A	B	C	D	F											
A3 C5	454,23	462,31	3	A	B	C	D												
A3 C3	454,84	448,37	3	A	B	C													
A2 C5	456,09	459,18	3	A	B														
A4 C3	459,20	449,73	3	A															
A1 C1	445,21	470,44	3		B	C	D	F	G	H									
A2 C2	436,67	443,99	3			C	D	F	G	H	I	J							
A2 B3	436,34	449,57	3			C	D	F	G	H	I	J							
A2 C3	435,93	447,55	3			C	D	F	G	H	I	J							
A1 B3	436,74	447,10	3			C	D	F	G	H	I	J							
A2 C1	435,71	456,39	3				D	F	G	H		J							
A1 B5	436,39	454,16	3				D	F	G	H		J							
A1 C4	436,62	465,13	3				D	F	G	H		J							
A3 C2	435,23	459,48	3				D	F	G	H		J							
A4 C4	434,07	454,58	3					E	F	G	H	I	J						
A4 C2	433,02	457,12	3					E	F	G	H	I	J						
A3 B5	433,02	449,64	3					E	F	G	H	I	J						
A2 B5	433,19	448,01	3					E	F	G	H	I	J						
A3 B4	432,74	449,70	3					E	F	G	H	I	J						
A4 B3	431,44	449,25	3					E		G	H	I	J						
A4 B5	432,26	446,43	3					E		G	H	I	J						
A1 B4	431,66	456,37	3					E		G	H	I	J						
A2 B4	428,74	449,39	3					E			H	I	J						
A4 B2	429,58	441,63	3					E				I	J						
A2 C4	430,09	440,51	3					E				I	J						
A4 B1	428,20	433,06	3					E				I	J						
A1 B2	429,94	433,27	3					E				I	J						
A1 B1	418,56	433,13	3					E				I							
A3 B1	420,63	440,06	3					E				I							
A3 B2	427,86	426,76	3					E				I							
A2 B1	416,17	446,94	3					E											
A2 B2	417,83	431,66	3					E											
A4 C1	436,17	439,34	3						F	G	H	I	J						
A3 B3	435,10	446,49	3						F	G	H	I	J						
A3 C1	435,44	441,99	3						F	G	H	I	J						
A4 B4	435,40	446,99	3						F	G	H	I	J						
A3 C4	434,91	456,38	3						F	G	H	I	J						
A1 C2	433,43	467,55	3							G	H		J						

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Prueba Hotelling Alfa=0,05

Error: Matriz de covarianzas común gl: 78

REPETICIONES	Longitud 2	Longitud 1	n	
R2	432,34	460,50	40	A
R1	439,44	444,13	40	B
R3	435,53	442,91	40	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 12: Análisis multivariado de la longitud de onda para dos condiciones (30 min, 20°C variedad común y King) (60 min, 40°C variedad común y King)

Elaborado por: Logroño M, 2021

Anexo 14: Análisis de varianza de la absorbancia a 60 min 40°C entre todos los tratamientos

Elaborado por Logroño M. 2021

Código	Tiempo de Nitrato de plata	Tiempo % reductor	diámetro mm. 24 horas	diámetro mm. 48 horas	Reporte
E1	t30	t30	0	0	RESISTENCIA
E1	t30	t30	0	0	RESISTENCIA
E1	t30	t30	0	0	RESISTENCIA MEDIANA
E2	t30	t60	2	2	SENSIBILIDAD POCA
E2	t30	t60	0	2	SENSIBILIDAD MEDIANA
E2	t30	t60	3	5	SENSIBILIDAD POCA
E3	t60	t30	0	1	SENSIBILIDAD
E3	t60	t30	0	0	RESISTENCIA
E3	t60	t30	0	0	RESISTENCIA POCA
E4	t60	t60	1	1	SENSIBILIDAD POCA
E4	t60	t60	0	2	SENSIBILIDAD POCA
E4	t60	t60	1	3	SENSIBILIDAD
F1	t30	t30	0	0	RESISTENCIA
F1	t30	t30	0	0	RESISTENCIA
F1	t30	t30	0	0	RESISTENCIA MEDIANA
F2	t30	t60	2	5	SENSIBILIDAD MEDIANA
F2	t30	t60	3	5	SENSIBILIDAD MEDIANA
F2	t30	t60	3	5	SENSIBILIDAD MEDIANA
F3	t60	t30	2	5	SENSIBILIDAD MEDIANA
F3	t60	t30	4	5	SENSIBILIDAD MEDIANA
F3	t60	t30	5	5	SENSIBILIDAD MEDIANA
F4	t60	t60	2	5	SENSIBILIDAD MEDIANA
F4	t60	t60	3	4	SENSIBILIDAD MEDIANA
F4	t60	t60	4	5	SENSIBILIDAD

Cabuya	t60	t60	0	0 RESISTENCIA
Cabuya	t60	t60	0	0 RESISTENCIA
Cabuya	t60	t60	0	0 RESISTENCIA
Solucion coloide V2	t60	t60	10	18 SENSIBILIDAD
Solucion coloide V2	t60	t60	12	12 SENSIBILIDAD
Solucion coloide V2	t60	t60	10	12 SENSIBILIDAD
Solucion coloide V1	t60	t60	8	10 SENSIBILIDAD
Solucion coloide V1	t60	t60	7	10 SENSIBILIDAD
Solucion coloide V1	t60	t60	8	10 SENSIBILIDAD

Anexo 15 Valores de medidas de halos para sensibilidad

Elaborado por: Logroño M. 2021