



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES

UNIDAD LEÓN

TEMA:

Síntesis verde de Nanopartículas de plata a partir de *Opuntia ficus-indica* y evaluación de su efecto antimicrobiano mediante recubrimiento de tubos de Penrose.

ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN

para obtener el título de

Licenciado en Odontología

P R E S E N T A

Mario Iván García Valdés

TUTOR

Dr. Ravichandran Manisekaran

ASESOR

Dra. Verónica Campos Ibarra



León, Guanajuato. México. Noviembre 2023.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice.

Dedicatoria	5
Agradecimientos	6
Resumen.....	7
Abstract.....	8
Introducción.	9
Capítulo 1	11
Nanopartículas de plata y sus antecedentes.....	12
Efecto antimicrobiano de las Nanopartículas de plata	13
Aplicaciones de las Nanopartículas de plata en odontología.....	14
<i>Streptococcus mutans</i>	15
Síntesis de nanopartículas de plata.....	15
Antecedentes de nanopartículas de plata sintetizadas de forma verde.	17
Opuntia ficus-Indica (Nopal).	17
Antecedentes de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de <i>Opuntia ficus-indica</i>	19
Funcionalización de AgNPs en tubo de Penrose.	19
Capítulo 2	20
Planteamiento del problema.....	21
Justificación	21
Objetivo general.	21
Objetivos específicos.....	21
Hipótesis.....	22
Capítulo 3	23
Marco metodológico.....	24
Criterios de selección de muestra.....	24
Variables del estudio.....	25
Materiales.	27

Equipo	27
Muestras	27
Instrumental.....	27
Insumos.....	28
Metodología experimental.	29
Obtención del extracto de <i>Opuntia ficus-indica</i>	29
Obtención de solución precursora.	30
Síntesis de nanopartículas de plata.	30
Caracterización	31
Proceso de funcionalización	31
Cultivo de <i>Streptococcus mutans</i>	32
Evaluación de efecto antimicrobiano.....	33
Capítulo 4	34
Resultados.	35
Espectroscopia UV.....	35
Análisis de distribución por intensidad.	38
Análisis de carga superficial	38
Efecto antimicrobiano	39
Discusión.	42
Conclusión	43
Referencias.	44

Índice de ilustraciones

Ilustración 1.- Morfología de las Nanopartículas de plata (Misirli, G. M.2021).	13
Ilustración 2: Mecanismos de acción de AgNPs. (Yin, I. X. 2020).	14
Ilustración 3 Diagrama de síntesis de nanoparticulas.	16
Ilustración 4 pH de muestras.....	29
Ilustración 5 Trozos de tubo de Penrose de silicona.	31
Ilustración 6 Tubos con las muestras de trozos de tubo de Penrose	32
Ilustración 8 Gráfico de espectroscopia UV-Visible del crecimiento de nanopartículas de plata después de 120 h en refrigeración	35
Ilustración 9 Gráfico de espectroscopia UV-Visible del crecimiento de nanopartículas de plata después de 120 horas	36
Ilustración 10.-TEM de muestra de nanoparticulas de plata sintetizadas con extracto de nopal.....	38
Ilustración 11 Distribución de tamaño por intensidad.....	38
Ilustración 12 Distribución de potencial zeta.....	38
Ilustración 13 Nanoparticulas de plata en Placas de S.mutans	39
Ilustración 14 Nanoparticulas de plata funcionalizadas durante 24 horas en tubos de Penrose de silicona en placas de S. mutans	40
Ilustración 15 Nanoparticulas de plata funcionalizadas durante 48 horas en tubos de Penrose de silicona en placas de S. mutans	40

Índice de tablas

Tabla 1 Fenoles disponibles en pulpa de nopal. (El-Mostafa, K., 2014).	18
Tabla 2 Vitaminas presentes en la pulpa de nopal. (El-Mostafa, K., 2014).	18
Tabla 3 Variables dependientes.....	25
Tabla 4 Variables independientes.	25
Tabla 5 Muestras de obtención de extracto de Opuntia ficus-indica.	29
Tabla 6 Proporciones de solución precursora.	30
Tabla 7 Proporciones de soluciones y concentración de AgNPs	30
Tabla 8 Halo de inhibición de Nanopartículas	39
Tabla 9 Muestras de Tubo de Penrose con AgNPs en 24 horas.	40
Tabla 10 Muestras de Tubo de Penrose con AgNPs en 48 horas.	41

Dedicatoria

A Sebastián, mi hijo que fue partícipe de este proyecto, estando a mi lado muchos días y noches de trabajo desde el inicio hasta el final, llenándome de motivación y ganas por realizar este proyecto de la mejor manera.

A Blanca, mi mujer, mi maestra y mi apoyo incondicional que, a pesar de no haber estado en un buen momento, me apoyó siempre que la necesité; le agradezco por llevarme siempre al camino del bien y ser un ejemplo de cómo ser una persona increíble.

A mis abuelos, que siempre me apoyaron en todo lo que fue necesario para culminar esta etapa de la vida, que comenzó en 1999 y que a la fecha siguen aportando en mi proceso de formación profesional y como ser humano.

A mis padres que siempre con el máximo esfuerzo me apoyaron y me enseñaron el camino del éxito con las herramientas y talentos que cada persona tiene, además de estar para mí sin importar el sin fin de errores que he cometido y mi falta de experiencia en la vida.

A la fuerza y seres superiores que han formado parte de mi crecimiento espiritual y que han sido parte de mi filosofía de vida, a Dios, Cristo, la suerte.

A mi familia: Mariana mi hermanita, Dany y Nachito, mis primos y mi tío Nacho porque siempre han estado presentes en mi vida y fueron mis primeros pacientes. Gracias por su apoyo emocional y recreativo.

A mi mejor amigo el Doctor Romero Lara, quien fue esa persona importante en la universidad y que ahora tengo una amistad de por vida con él; le agradezco por siempre creer en mí para lograr todos mis objetivos.

A mi compañero y colega Rafael Morales, que me apoyó en este proyecto cuando tuve un par de dificultades y que durante la universidad siempre fue una persona sincera y honorable.

A mis grandes amigos y compañeros que pude tener en estos años de universidad, Emi, Oscar, César Aby, Osva, Fer, Diego, Rubén, Alex, George y Sigi. Que sin duda me hicieron pasar momentos inolvidables y que son importantes en esta etapa de la vida.

Y, por último, agradecer a la Virgen de San Juan de los Lagos, que siempre está ahí para mí que la necesito y me da ese boost extra de fe.

Agradecimientos

Agradezco infinitamente el apoyo del Dr. Ravichandran Manizekaran que fue mi guía durante este proyecto, aportando apoyo intelectual y también en la práctica.

Agradezco a la Dra. Verónica Campos Ibarra por su asesoramiento metodológico y apoyo en la redacción de este trabajo.

Agradezco al Lic. Rafael Morales Noriega por su apoyo en la producción de cultivos.

Agradezco el apoyo financiero de la DGAPA-UNAM-PAPIME con Numero de proyecto PE201622.

Resumen.

Introducción: Las nanopartículas de plata son estructuras nanométricas en un rango de 1 a 100 nanómetros, sus propiedades destacadas son buena estabilidad química, fácil disolución, su eficacia como recubrimiento y un buen efecto antimicrobiano. En la cavidad oral existen más de 700 especies bacterianas. *S. mutans* es la bacteria con mayor prevalencia en caries dental y que puede derivar en una infección intraconducto. Las nanopartículas de plata presentan efecto antimicrobiano en contra de *S. mutans* por lo cual es una alternativa en la prevención de infecciones asociadas a dispositivos dentales. Un dispositivo que se encuentra en constante presencia de microorganismos es el tubo de Penrose, este sistema se comprende como un drenaje pasivo de una cavidad que comunica el medio interno con el medio externo por lo tanto pueden existir infecciones agregadas. Las nanopartículas tienen un gran potencial para diversas aplicaciones clínicas. sin embargo, su producción presenta muchas limitantes éticas y de procesos de producción. Existen métodos de síntesis verde, utilizando plantas o algunos microorganismos, dichos procesos presentan menos problemas de producción y son libres de contaminantes.

Objetivo: En este estudio se sintetizaron Nanopartículas de plata a partir de *Opuntia ficus-indica* (Nopal), se funcionalizaron como recubrimiento en tubos de Penrose de silicona y se evaluó su efecto antimicrobiano en *S.mutans*.

Materiales y métodos: Se realizó la síntesis de nanopartículas de plata utilizando el extracto de *Opuntia ficus indica* y nitrato de plata, se caracterizaron realizando pruebas de UV-vis, TEM y DLS para optimizar las nanopartículas a la concentración y condiciones adecuadas. Las AgnNPs se funcionalizaron con APTES y PEI para utilizarse como recubrimiento de tubos de Penrose de silicona y se evaluó su efecto antimicrobiano en placas de *S.mutans* midiendo su halo de inhibición

Resultados: La síntesis con el método presentado confirma la formación de nanopartículas de plata en un tamaño dentro del rango de 25-60 nM. También se confirmó actividad antimicrobiana de las AgNps a distintas concentraciones además de ser funcionalizadas en tubos de Penrose mostrando también el efecto antimicrobiano utilizando *S.mutans* como muestra.

Conclusión: Las nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto de nopal funcionalizadas como recubrimiento de tubo de Penrose presentan un efecto antimicrobiano en contra de *Streptococcus mutans*.

Palabras clave. Nanopartículas de plata, Síntesis verde de Nanopartículas, Efecto antimicrobiano.

Abstract

Introduction: Silver nanoparticles are nanometric structures in a range of 1 to 100 nanometers, their properties include good chemical stability, better dissolution, used as coating and a good antimicrobial effect. In the oral cavity there are more than 700 bacterial species. *S. mutans* is the bacteria with the highest prevalence in dental decay and can lead to a root infection. Silver nanoparticles have an antimicrobial effect against *S. mutans*, making it an alternative in the prevention of infections associated with dental devices. The Penrose tube is a passive drainage of a cavity that communicates the internal environment with the external environment. Therefore, there may be added infections. Nanoparticles have great potential for various clinical applications, however, its production presents many ethical and production process limitations. There are green synthesis methods, using plants or some microorganisms, these processes present fewer production problems and are free of contaminants.

Objective: In this study, silver nanoparticles were synthesized from *Opuntia ficus-indica* (Nopal), functionalized as a coating in silicone Penrose tubes, and their antimicrobial effect on *S. mutans* was evaluated.

Materials and methods: The synthesis of silver nanoparticles was carried out using the extract of *Opuntia ficus indica* and silver nitrate, they were characterized by UV-vis, TEM and DLS tests to optimize the nanoparticles at the appropriate concentration and conditions. The AgNPs were functionalized with APTES and PEI to be used as a coating for silicone Penrose tubes and their antimicrobial effect was evaluated on *S. mutans* plates by measuring their inhibition zone.

Results: The synthesis with this method confirms the production of silver nanoparticles in a size within the range of 25-60 nm. Antimicrobial activity of the AgNPs was also confirmed at different concentrations in addition to being functionalized in Penrose tubes, also showing the antimicrobial effect using *S. mutans* as a sample.

Conclusion: Silver nanoparticles synthesized from *Opuntia ficus-indica* extract, functionalized as a Penrose tube coating, present an antimicrobial effect against *Streptococcus mutans*

Keyword: Silver nanoparticles, Green nanoparticle synthesis, Antimicrobial effect.

Introducción.

Las nanopartículas (AgNPs) son estructuras en un rango de 1 a 100 nanómetros que pueden ser producidas a partir de diversos metales, sin embargo, las nanopartículas de plata son las que destacan por sus propiedades, entre ellas podemos mencionar buena estabilidad química, gran disolución, su eficacia como recubrimiento y un buen efecto antimicrobiano (Wei L, 2015). El efecto antimicrobiano de las AgNPs ya ha sido comprobado ante la presencia de bacterias *Gram positivo* y *Gram negativo*. El mecanismo de acción asociado a las nanopartículas de plata es que penetran la membrana celular de las bacterias generando una desestabilización, lo que provoca daño a la célula, ya que la membrana aumenta en permeabilidad y permite la fuga de contenido al exterior generando la muerte celular (Bruna, T.2021).

En la cavidad oral existen más de 700 especies bacterianas. *S. mutans* es la bacteria con mayor prevalencia en la caries dental y que puede derivar en infecciones intraconducto. Este microorganismo es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa y con resistencia antibiótica (Salehi B, Kregiel D,2020). Las nanopartículas de plata presentan efecto antimicrobiano en contra de *S. mutans* por lo cual es una alternativa en la prevención de infecciones asociadas a dispositivos dentales (Espinosa-Cristóbal, LF,2009). Por estas características seleccionamos esta bacteria para evaluar el efecto antimicrobiano de las AgNPs

Las nanopartículas tienen un gran potencial para diversas aplicaciones clínicas. Sin embargo, su producción presenta muchas limitantes éticas y de procesos de producción. Los métodos más utilizados para sintetizar las nanopartículas son de origen químico o físico, por un lado, el método químico es caracterizado por el uso de compuestos tóxicos que a su vez generan residuos nocivos para el ecosistema (Nqakala ZB, 2021). De parte de los procesos físicos encontramos limitantes en la producción, pues se necesita una gran cantidad de energía para producir nanopartículas de igual forma el tiempo prolongado que dura el proceso complica la producción(Siddiqi, K. S2018). Es por estas desventajas que la comunidad científica ha puesto en marcha diversos estudios para encontrar un proceso de síntesis verde, utilizando plantas o algunos microorganismos (Husen A,2014).

Un dispositivo que se encuentra en constante presencia de microorganismos es el tubo de Penrose, este sistema se comprende como un drenaje pasivo de una cavidad que comunica el medio interno con el medio externo por lo tanto pueden existir infecciones agregadas (Madgar, O, 2019). Esta es una aplicación clínica que puede implementar con el uso de nanopartículas de plata. Este sistema de drenaje está fabricado en su mayoría en látex sin embargo en presencia de pacientes alérgicos a este material existe la alternativa de los tubos de silicona, los cuales utilizaremos en este experimento.

La síntesis verde que proponemos en este experimento se realiza a partir del extracto de planta *Opuntia ficus-indica*. Esta planta presenta diversos nutrientes y compuestos orgánicos que son motivo de estudio para las áreas biomédicas, por citar un ejemplo podemos ver que se ha utilizado como suplemento de fibra en el tratamiento de síndrome de intestino irritable, presentando resultados favorables (Remes-Troche,2021). También posee compuestos como los fenoles que son reductores de metales y pueden ser utilizados en la síntesis de nanopartículas de plata (Santos-Espinoza 2020). Por lo tanto, el propósito de este estudio fue evaluar el efecto antimicrobiano de las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de nopal funcionalizadas como recubrimiento de tubos de Penrose en placas de *Streptococcus mutans*.

Capítulo 1

Marco teórico

Nanopartículas de plata y sus antecedentes.

La plata durante años fue utilizada como uno de los principales compuestos antimicrobianos, existiendo registros desde 3500 a.c en culturas como la egipcia o incluso en medicina china tradicional. En la era más moderna se remonta su empleo hasta el siglo XIX y al pasar los años se encontraron nuevas aplicaciones como bactericida en heridas o quemaduras previniendo infecciones por microorganismos (Cardosa, 2016). En el siglo XX el uso de la plata fue perdiendo presencia en los tratamientos para infecciones ya que la penicilina la había sustituido en gran medida. En la actualidad existen diversos campos de la ciencia que enfocan sus esfuerzos en la nanotecnología, la cual posiciona la plata como uno de los metales más utilizados. Las nanopartículas se comprenden como estructuras en el rango de 1 a 100 nm, esto permite una adecuada manipulación, por lo cual ha beneficiado a diversas áreas de la innovación a esta escala (Díaz, 2019).

Las nanopartículas de plata pueden presentar distintas morfologías, cada una con propiedades físicas, químicas y biológicas específicas, esta variación se debe a 2 factores: el tamaño de partícula y su forma. Las nanopartículas cambian en sus propiedades de acuerdo al número de átomos presentes en su superficie, lo cual está relacionado al tamaño, además de la forma de la nanopartícula, que influye en la orientación cristalográfica, donde el número de superficies influye en la unión y estructura electrónica (Misirli, G. M.2021). En un estudio donde se evalúa la propiedad antimicrobiana de las AgNps en presencia de *E. coli*, *B. subtilis* y *S.aureus*, se comprueba que al disminuir el tamaño de la partícula su eficacia es mayor, de igual forma se concluye que en nanopartículas con mayor número de superficies con densidad atómica alta, se potencializa el efecto antimicrobiano. (Agnihotri S. 2014).

Las morfologías encontradas en las AgNPs pueden ser: (A) Piramidales, (B) Nanofilamentos, (C) Nanocubos, (D) nanoplacas, (E) Mixto Esferas/nanobarras y (F) esféricas. (Ilustraci Todas ellas son producto de una síntesis específica (Misirli, G. M.2021). Las nanopartículas esféricas liberan más iones de plata debido a su superficie, la cual es mayor. La concentración de plata puede influir en el efecto antimicrobiano.

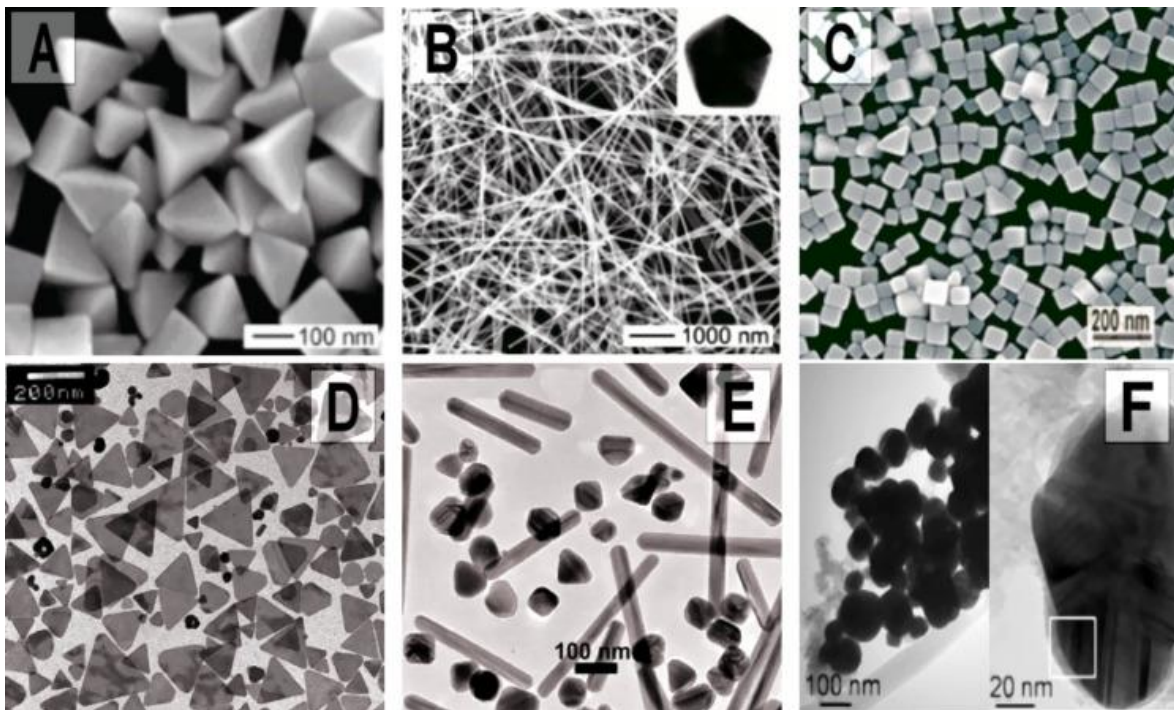


Ilustración 1.- Morfología de las Nanopartículas de plata (Misirli, G. M.2021).

Efecto antimicrobiano de las Nanopartículas de plata

El efecto antimicrobiano de las partículas de plata es efectivo contra bacterias *Gram positivo* y *Gram negativo*, esta propiedad puede deberse a distintos mecanismos de acción, ya que actualmente no existe un solo proceso que pueda tomarse como definitivo, por lo tanto, es importante describir cada uno de ellos (Yin, I. X. 2020). Uno de estos mecanismos de acción es la penetración de las nanopartículas de plata en la membrana celular de las bacterias generando una desestabilización y provocando un daño a la célula ya que la membrana aumenta en permeabilidad y provoca una fuga de contenido al exterior concluyendo con muerte celular. Otro mecanismo es la liberación de iones de plata, afines al azufre, permitiendo una adherencia de los iones a la pared celular modificando la membrana y a través de la modificación de respiración celular el ADN es modificado, evitando así la reproducción de dichas células a tal grado que se extinga un tipo específico de bacteria (Bruna, T.2021).

Cuando la disolución de las nanopartículas se ve afectada por el medio en el que se encuentra, el efecto antimicrobiano se verá afectado, por lo tanto, existen agentes que se adicionan a las AgNps para contrarrestar la disolución. Es importante señalar que las nanopartículas de plata liberan iones de forma más rápida en soluciones acidas en comparación a soluciones base (Yin, I. X. 2020).

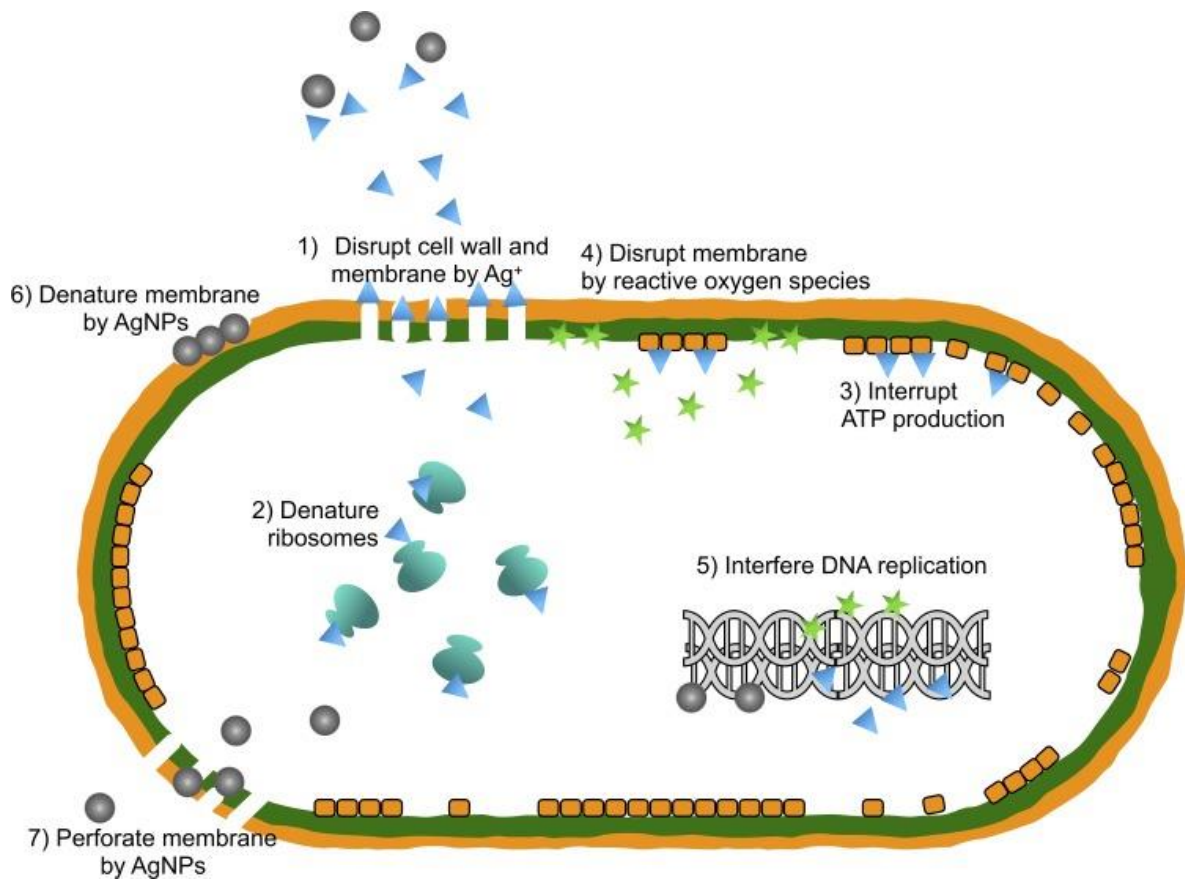


Ilustración 2: Mecanismos de acción de AgNPs. (Yin, I. X. 2020).

Aplicaciones de las Nanopartículas de plata en odontología.

La propiedad antimicrobiana de las AgNPs ha dado paso a distintas aplicaciones en el área de la odontología, podemos encontrar su adición a muchos materiales empleados en esta área. En el área de rehabilitación bucal es común que las prótesis alojen microorganismos, provocando infecciones bucales, por lo cual las nanopartículas de plata se agregan al acrílico para brindar la protección antimicrobiana (Yin, I. X. 2020).

En las restauraciones dentales, a pesar de realizar un protocolo adecuado, es común encontrar filtraciones en la brecha de la unión con el órgano dental, debido a esto se pueden agregar nanopartículas de plata en bajas concentraciones a sistemas adhesivos ó incluso a las resinas compuestas (Dias HB,2019).

Un área de la odontología donde se encuentran diversas aplicaciones es la Endodoncia, las nanopartículas se han utilizado como irrigante intraconducto, obteniendo buenos resultados sin dañar las propiedades mecánicas de la dentina (Suzuki TYU,2019). También existe evidencia de su

uso como recubrimiento de gutapercha, con aumento en la efectividad a su efecto antimicrobiano sin causar ningún daño o intoxicación de los tejidos (Mishra P, 2018). Por último también se añade al MTA, elevando el efecto antimicrobiano en contra de bacterias anaerobias en el conducto (Vazquez-Garcia, F, 2016).

En el área de ortodoncia podemos encontrar el uso de AgNPs como adición a sistemas adhesivos para evitar la formación de caries, se puede agregar también a los elásticos anulando la formación de biopelículas (Hernandez-Gomora AE, 2017).

Durante un tratamiento por implante puede existir una infección peri implantar y en este caso para prevenir dicha complicación, los implantes son recubiertos con nanopartículas de plata obteniendo un gran efecto antimicrobiano y disminuyendo considerablemente el riesgo de infección. En el área de periodoncia, la cual está ligada en su totalidad a las infecciones bacterianas, existe la aplicación de AgNPs en apósitos quirúrgicos que refieren una inhibición de colonización bacteriana en la herida y mejorando el tiempo de cicatrización de la misma (Yin, I. X. 2020).

Streptococcus mutans.

Las nanopartículas de plata tienen efecto antimicrobiano sobre la bacteria *Streptococcus mutans*, se han realizado diversos estudios donde se experimenta esta propiedad en presencia de la bacteria, arrojando resultados positivos y con distintas aplicaciones. *S. mutans* es una de las bacterias presentes en la cavidad oral, es anaerobia y *Gram positiva* resistente a diversos antibióticos y es participe de enfermedades infecciosas como la caries con la posibilidad de provocar infecciones intraconducto También se encuentra en la enfermedad periodontal debido a su gran cualidad para formación de biopelículas (Salehi B, Kregiel D, 2020). Ya que esta bacteria está presente en la cavidad oral y es resistente a antibióticos, será decidido utilizar en este experimento para la evaluación del efecto antimicrobiano.

Síntesis de nanopartículas de plata.

Para la síntesis de nanopartículas de plata existen diversos métodos. La síntesis puede llevarse a cabo por un catalizador que regule el proceso de obtención de nanopartículas a partir de una molécula o un grupo completo que posea una tendencia ascendente, o puede realizarse a partir de procesos específicos sobre el material y disminuir gradualmente su tamaño. Las síntesis de las nanopartículas pueden tener su origen de forma física, química o biológica (Siddiqi, K. S2018).

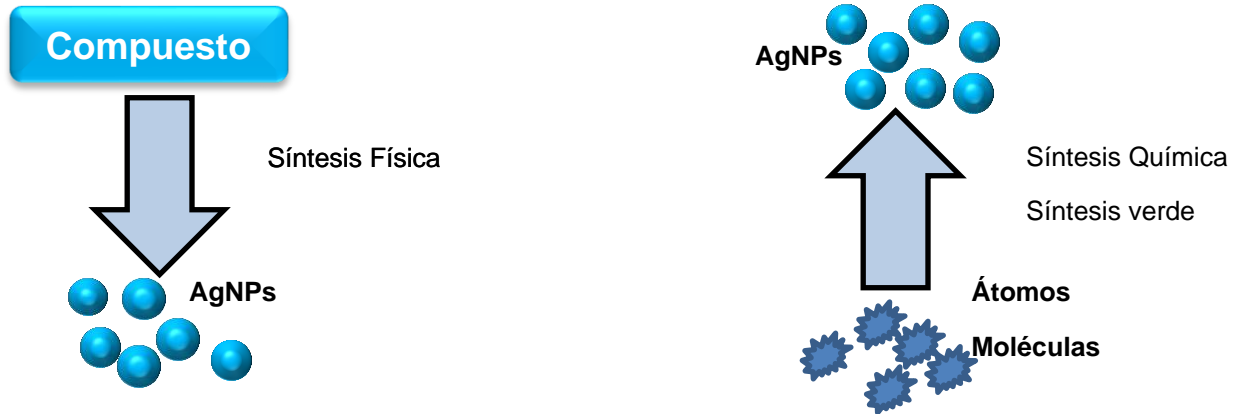


Ilustración 3 Diagrama de síntesis de nanopartículas.

La síntesis de nanopartículas, de plata en orientación descendente se produce a partir de procesos físicos, mientras que la representación ascendente representa síntesis por procesos químicos.

Dentro de la síntesis química podemos encontrar la reducción del compuesto, electroquímica, pirolisis o irradiación asistida, las ventajas de la síntesis química son la eficiencia y la rapidez en su proceso, sin embargo, se requiere de diversos materiales tóxicos además de generar productos tóxicos durante la reacción (Nqakala ZB, 2021).

La síntesis física de las AgNPs se centra en la trituración o corte de una micromolécula para la obtención de partículas a escala nanométrica, este proceso tiene diversas desventajas, principalmente el tiempo prolongado para la estabilidad térmica, que a su vez va acompañado por un alto consumo de energía y defectos estructurales en la nanopartícula. Dentro de la síntesis física podemos encontrar trituración mecánica, corte y pulverización catódica y descomposición térmica (Siddiqi, K. S 2018).

Ya que conocemos los 2 tipos de síntesis convencionales y ver que existen desventajas que limitan su realización además de producir reactivos tóxicos, podemos entrar en el tercer tipo de síntesis de nanopartículas, la síntesis verde o también conocida como biológica. Estos métodos tienen grandes ventajas en comparación a los procesos anteriores, son sostenibles, de fácil producción y eficaces. Dentro de la síntesis verde podemos encontrar métodos a partir de hongos, bacterias y extracto de diversas plantas incluyendo algas, en cuanto a las plantas se pueden utilizar desde la raíz, hasta las flores (Siddiqi, K. S 2018) (Husen A,2014).

Antecedentes de nanopartículas de plata sintetizadas de forma verde.

Recientemente han existido diversos estudios utilizando el método de síntesis verde, mostrando distintos procesos para la obtención de nanopartículas, en este trabajo nos centramos en los métodos donde se emplean plantas, por lo cual se destacan los siguientes artículos.

Se sintetizaron nanopartículas de plata a partir del extracto de la planta *Boerhaavia diffusa* donde la preparación de dicho extracto fue a partir de la deshidratación de la planta y posteriormente se agregó agua destilada y nitrato de plata, sintetizando nano partículas de 24 nm en promedio y obteniendo efecto antimicrobiano (Vijay Kumar PPN, 2014).

Hay evidencia del uso de extractos de distintas plantas para la síntesis de nanopartículas de plata, entre ellas podemos encontrar: *Salvia officinalis* , *Tilia cordata* , *Levisticum officinale* , *Aegopodium podagraria* , *Urtica dioica* , *Viscum album*. Sin embargo, no se puso a prueba su efecto antimicrobiano, de igual forma se menciona que el tiempo prolongado de almacenamiento puede cargar de forma negativa la partícula (Flieger, J.,2021).

Opuntia ficus-Indica (Nopal).

El nopal lleva por nombre científico *Opuntia ficus indica*, es perteneciente a las cactáceas, se destaca por ser una planta subtropical y tropical creciendo en zonas áridas o semiáridas, encontrándola prácticamente en todo el territorio de México y partes de centro américa (El-Mostafa, K., 2014). Esta planta presenta diversos nutrientes y compuestos orgánicos que son gran motivo de estudio para la biomédica, por citar algunos ejemplos podemos ver que se ha utilizado como suplemento de fibra en el tratamiento de síndrome de intestino irritable, presentando resultados favorables (Remes-Troche,2021). En el área de la nutrición el nopal es una planta muy recurrente, pues todos sus compuestos están involucrados cuando se trata de una dieta más saludable y rica en nutrientes.

Fenoles

Los fenoles son un grupo molecular orgánico que se produce a partir del metabolismo de las plantas y pueden estar asociados a otras moléculas y compuestos químicos, este grupo es de interés científico debido a las propiedades antioxidantes y reductoras que presenta (El-Mostafa, K., 2014). Estos compuestos son reductores de metales y son utilizados en la síntesis verde de nanopartículas (Santos-Espinoza 2020),

el nopal podemos encontrar polifenoles y ácidos fenólicos, de los cuales algunos en específico son exclusivos de cactus. Centrándonos en la planta solamente podemos encontrar los siguientes fenoles:

Tabla 1 Fenoles disponibles en pulpa de nopal. (El-Mostafa, K., 2014).

Ácido fenólico total	218,8 mg/100g
quercetina	9 mg/100g
isorhamnetina	4.94 mg/100g
Kaempferol	0,78 mg/100g
luteolina	0,84 mg/100g
glucósidos de isorhamnetina	50,6 mg/100g
Kaempferol	2.7 mg/100g

También podemos encontrar diversas vitaminas presentes en la planta, de igual forma ácidos grasos de los cuales se ha comprobado beneficio en contra de enfermedades vasculares e incluso la diabetes, sin embargo, estos están presentes en la semilla de opuntia ficus indica y no en el fruto.

Tabla 2 Vitaminas presentes en la pulpa de nopal. (El-Mostafa, K., 2014).

Vitaminas	Mg/100g de pulpa
Vitamina K1	53.2
Vitamina C,	37
α -tocoferol,	84.9
β -tocoferol,	12.6
γ -tocoferol,	7.9
σ -tocoferol	422
vitamina E total	527.4

Antecedentes de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de *Opuntia ficus-indica*

Estudios previos han realizado la síntesis de nanopartículas a partir de *Opuntia ficus indica*, donde se menciona que las proteínas presentes en extractos orgánicos promueven una mejor unión a los metales. Sin embargo, no detalla el proceso de síntesis (Lozoya-Rodríguez, D. A., 2017).

Ledezma, A describe la síntesis de AgNPs a partir de extracto del nopal, el cual se obtuvo cortando el nopal en trozos pequeños y mezclándolos con agua a 95 °Celsius, en un tiempo entre 20 y 30 minutos. Finalmente agrego hidróxido de amonio. (Ledezma, A. 2014).

En un estudio se extrajo mucilago de *Opuntia ficus indica* en concentraciones de 10 a 100% agregando 20 ml de mucilago y 30 ml de AgNO₃ 1mM a una temperatura de 55 °C para posteriormente centrifugarse a 6000 rpm y separar el material orgánico de las AgNPs, este estudio logro oxidar la glucosa presente (Khalifa, Z, 2020).

Como podemos ver a lo largo de la última década ha existido gran interés por utilizar el nopal como un medio para la obtención de nanopartículas de plata. Han existido diversos métodos y procedimientos realizados y aún sigue en desarrollo su investigación.

Funcionalización de AgNPs en tubo de Penrose.

La funcionalización de superficies es una técnica estándar para modificar las propiedades superficiales de los materiales, en este caso de las nanopartículas de plata. Como parte de este experimento se decidió incluir la funcionalización de las AgNPs con (3-Aminopropil) trietoxisilano (APTES) y polímero ramificado catiónico de polietilenimina (PEI) de las nanopartículas para modificar su carga superficial y evitar aglomeraciones en el tubo de Penrose El (3-Aminopropil) trietoxisilano (APTES) es un aminosilano el cual puede modificar la carga de las nanopartículas..(Ding, W, 2013).

El tubo de Penrose es un drenaje pasivo de una cavidad al medio externo, por lo cual está en constante presencia de microorganismos infecciosos. Este sistema de drenaje está fabricado en su mayoría en látex, sin embargo en presencia de pacientes alérgicos a este material existe la alternativa de los tubos de silicona, los cuales utilizaremos en este experimento. Se han reportado recubrimientos de catéteres con agentes antibacterianos de amplio espectro como antibióticos, metales y nanopartículas metálicas, no obstante, aun no hay estudios sobre recubrimientos a tubo de Penrose de silicona con AgNPs funcionalizadas con PEI y APTES, por lo que su investigación puede impactar en pacientes presenten abscesos .

Capítulo 2

Planteamiento del problema

La síntesis química o física de nanopartículas de plata representan un riesgo debido a los compuestos tóxicos necesarios para su obtención, así como gasto excesivo de energía. También se generan desechos de naturaleza tóxica durante su proceso, por lo cual se opta por una síntesis biológica eficiente, de bajo costo y que mantenga las propiedades de las nanopartículas.

Justificación

Debido a la necesidad de síntesis de AgNPs donde no existan limitantes durante su producción, así como evitar el uso de compuestos tóxicos o nocivos, es indispensable la formulación de nuevos procesos de síntesis “verdes”, por lo que usar extracto de *Opuntia ficus-indica* representa un procedimiento de bajo costo, de fácil suministro y sin intervención de agentes contaminantes. Es indispensable conocer propiedades de las nanopartículas de plata sintetizadas a partir de este proceso además de evaluar su actividad antimicrobiana. Es de gran impacto conocer si estas AgNPs pueden ser funcionalizadas como recubrimiento de superficies, en este experimento utilizamos tubos de Penrose de silicona ya que están en contacto con microorganismos durante proceso de drenaje de infecciones. Por lo tanto es necesario emplear otros compuestos como APTES y PEI.

Objetivo general.

Sintetizar nanopartículas de plata utilizando extracto de *Opuntia ficus-indica* y evaluar el efecto antimicrobiano como recubrimiento de tubo de Penrose.

Objetivos específicos.

- Realizar una síntesis verde de nanopartículas de plata a partir extracto de *Opuntia ficus-indica*.
- Optimizar y caracterizar la síntesis de nanopartículas de plata
- Determinar la concentración efectiva para obtener actividad antimicrobiana de la síntesis realizada sobre *Streptococcus. mutans*
- Funcionalizar las AgNPs con PEI y APTES.
- Evaluar el efecto antimicrobiano de AgNPs funcionalizadas como recubrimiento en tubos de Penrose.

Hipótesis.

Las nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto de nopal funcionalizadas como recubrimiento de tubo de Penrose presentan un efecto antimicrobiano en contra de *Streptococcus mutans*.

Hipotesis Nula

Las nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto de nopal no presentan un efecto antimicrobiano en contra de *Streptococcus mutans* como recubrimiento de tubo de Penrose..

Capítulo 3

Marco metodológico

Tipo de estudio: experimental puro *in vitro*.

Diseño de estudio: Descriptivo, prospectivo y comparativo.

Universo de estudio/muestra:

- **Universo de estudio:**
 - Nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto de *Opuntia ficus-indica* funcionalizadas en tubo de Penrose de silicona.
 - *Streptococcus mutans*
 - Efecto antimicrobiano.
- **Tamaño de muestra:** Triplicados de experimentos independientes n=9

Criterios de selección de muestra.

- **Criterios de inclusión:**
 - Nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto de *Opuntia ficus-indica*
 - Nanopartículas de plata funcionalizadas con PEI y APTES
 - Tubo de Penrose de silicona recubiertas con AgNPs
 - Tubos de Penrose de silicona recubiertas con AgNPs-PEI
 - Tubos de Pensrose de silicona recubiertas con AgNPs-APTES.
 - Cultivos bacterianos de *S. mutans* puros.
- **Criterios de exclusión:**
 - Nanopartículas de plata sintetizadas de forma química o física
 - Tubos de Penrose de látex.
- **Criterios de eliminación:**
 - Cultivos bacterianos contaminados
 - Agares con almacenamiento mayor a un mes
 - Muestras sin proliferación después de 24 horas.

Variables del estudio

Tabla 3 Variables dependientes.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de la variable
Efecto antimicrobiano	Inhibición del crecimiento de un grupo de microorganismos bacterianos mediado por la presencia de un agente antimicrobiano.	Se realizó la evaluación utilizando el método de difusión en agar y difusión en pozo.	Cuantitativa	Continua

Tabla 4 Variables independientes.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de la variable
Concentración de extracto de nopal	Cantidad de nopal en agua	Se pesó la cantidad de nopal en gramos utilizando una balanza	Cuantitativa	
Temperatura de cocción del extracto de nopal	Temperatura a la cual el nopal se mantiene en el agua.	Se mantuvo la temperatura con una parrilla y un termómetro de mercurio	Cuantitativa	
Tiempo de cocción del extracto de nopal	Tiempo en el cual el nopal permanece en cocción	Se utilizó un cronometro para establecer el tiempo de cocción	Cuantitativa	
Concentración de solución precursora de AgNO ₃	Proporción que hay entre cantidad de soluto y cantidad de disolución de nitrato de plata	Se agregó el AgNPs en concentraciones expresadas en µg/ml	Cuantitativas	
Concentración de AgNps para evaluar efecto antimicrobiano	Proporción que hay entre cantidad de soluto y cantidad de disolución de nanoparticulas	Se realizó la evaluación en concentraciones expresadas en µg/ml	Cuantitativa	Continua

Recubrimiento de tubos de Penrose con AgNPs funcionalizadas	Cantidad volumétrica de la solución sobre la matriz polimérica	Se realizó la evaluación en concentraciones expresadas en $\mu\text{g/ml}$	Cuantitativa	Continua
Tiempo de exposición de los fragmentos de tubo de Penrose en solución de nanopartículas	Periodo de tiempo en el cual permanecen los fragmentos de tubo de Penrose dentro de la solución con nanopartículas.	Se realizó evaluación en distintos periodos de tiempo	Cuantitativa	Continua

Materiales y métodos.

Materiales.

Equipo

- Agitador magnético IKA C-MAG HS7 (IKA Works, Wilmington, EE. UU)
- Balanza analítica (Denver instrument, Colorado, EE. UU)
- Vortex (Genie 2 Daigger, Vernon Hills, Illinois, EE. UU)
- Campana de flujo laminar horizontal (LumisellMR LH-120, Celaya, Guanajuato, México)
- Incubadora (Binder ®, Tuttlingen, Alemania)
- Espectrofotómetro (Thermo Scientific®, Finlandia).
- Campana por flujo laminar para levaduras (Thermo Scientific, Grand Island, Nueva York)
- Centrifugadora (Beckman, J2-MC, Indianapolis, EE.UU)
- Filtro Millipore® (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemania)
- Aspirador de laboratorio Accuris ASPIRE™ (Accuris Instruments, Edison, New Jersey, EE. UU)

Muestras

- Bacteria ATCC. S.mutans Clarke 35668
- Tubo de drenaje Penrose de silicona 30cm Medicoplast

Instrumental

- Micropipetas de 1000,200, 50 y 1 μ L (Thermo Scientific™, Austin, TX, EE. UU)
- Placa de Petri pequeñas de 6-cm y grandes de 10-cm (Thermo Scientific, Richardson, TX, EE.UU)
- Matraz Erlenmeyer
- Micro placas de 96 pozos (Thermo Scientific, Denver, CO, EE.UU)
- Vaso de precipitados
- Mortero de porcelana
- Asa bacteriológica
- Frascos de vidrio autoclavable de 3,3 x 250 ml (KIMAX)
- Tubos falcón de 10 mL y de 50 mL
- Tubos Eppendorf de 1.5 mL y de 5mL

Insumos

- Nopal (*Opuntia Ficus Indica*)
- Nitrato de plata AgNO_3 (Sigma Aldrich)
- Polietilenimina branched PEI 25,000(Sigma-Aldrich)
- Clorhexidina (FGM,Ciudad de México, México)
- APTES (
- Agua bidestilada
- Agar Mueller Hinton™ (BectonDickins, Cuamatla Estado de México, México)

Metodología experimental.

Obtención del extracto de *Opuntia ficus-indica*

Para obtener el extracto de *Opuntia ficus-indica* (Nopal) se establecieron 8 muestras condicionadas de manera distinta, con la finalidad de conocer si algún factor variable como el tiempo de calentamiento, gramaje o temperatura influyen en el proceso de síntesis de AgNPs.

Para esta etapa se cortaron trozos de nopal con un peso de 5 y 10g y se colocaron en agua a temperatura de 60°C o 90°C en un lapso de 30 o 60 minutos (Tabla 5), se monitoreo el proceso para mantener las condiciones establecidas de temperatura y no permitir la ebullición del agua. Inmediatamente después de terminado el proceso todas las soluciones fueron filtradas para disminuir la cantidad de compuestos orgánicos y de igual forma disminuir la densidad de la solución. Se mantuvieron en refrigeración a -20 ° Celsius.

Tabla 5 Muestras de obtención de extracto de *Opuntia ficus-indica*.

Muestra	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8
Nopal/100ml H ₂ O	10g	10g	10g	10g	5g	5g	5g	5g
Temperatura	60°C	90°C	60°C	90°C	60°C	90°C	60°C	90°C
Tiempo	30min	30min	60min	60min	30min	30min	60min	60min

NX=muestra de extracto de nopal

Posterior a la fabricación del extracto procedimos a verificar el pH de las sustancias, utilizando un medidor de pH, que nos proporcionó un resultado muy similar para cada una de las soluciones, marcando un pH en el rango de 4 y 5 (Ilustración 4).

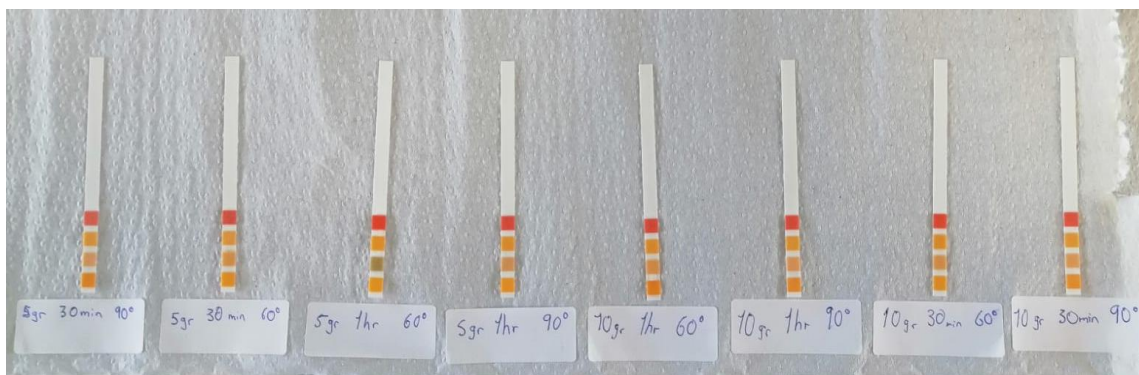


Ilustración 4 pH de muestras.

Obtención de solución precursora.

La solución precursora se obtuvo de AgNO_3 (Nitrato de plata) al 1M, equivalente a 1.7g mezclado en 10ml de H_2O . Posteriormente se prepararon 2 soluciones con las siguientes concentraciones: 5mM y 25 mM de Nitrato de plata (Tabla 6).

Tabla 6 Proporciones de solución precursora.

Concentración de 5mM	50 μ l de solución precursora	9950 μ l H_2O
Concentración 25mM	250 μ l de solución precursora	9750 μ l H_2O

Se agregaron las soluciones en tubos Falcon, utilizando una micropipeta y posteriormente se mezclaron con vortex durante 2 min hasta obtener una mezcla homogénea. Cada tubo se mantuvo en refrigeración a una temperatura de 4 ° Celsius.

Síntesis de nanopartículas de plata.

A cada una de las muestras de extracto (tabla 5) se agregaron las dos concentraciones obtenidas de solución precursora (Tabla 6), con las siguientes proporciones (Tabla 7):

Tabla 7 Proporciones de soluciones y concentración de AgNPs

Extracto de nopal (muestras N1-N8)	Solución precursora	Concentración de AgNps
5ml	5ml solución a 5mM	540 μ g/mL
5ml	5ml solución a 25mM	3mg/ml

Posteriormente se preservaron en refrigeración las 16 muestras a 4°C para corroborar la formación de nanopartículas con diferentes periodos de tiempo.

Caracterización

Después de 120 horas de refrigeración a 4°C las 16 muestras(N1-N8 con las 2 distintas concentraciones) se colocaron en placas de 96 pocillos con una programación de 10 segundos de agitación, con la finalidad de realizar el análisis de absorción óptica de nanopartículas mediante espectroscopia UV, utilizando un espectrómetro (Thermo Scientific Multiskan Go) del Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria de la ENES León. Se realizaron pruebas de dispersión de luz dinámica (DLS) para conocer la distribución de las nanopartículas de plata. La prueba de DLS se realizó en el CINVESTAV ubicado en Juriquilla, Qro. También se realizó la prueba de microscopio electrónico de transmisión para conocer la morfología y el tamaño de las nanopartículas. La caracterización por TEM se realizó en el Instituto de Neurobiología de la UNAM en el campus Juriquilla, Qro.

Proceso de funcionalización

Se emplearon tubos de Penrose de silicona de 6mm de diámetro con longitud de 30cm, los cuales se cortaron en partes de 5mm de longitud y se seccionaron para obtener 3 muestras de cada trozo (Ilustración 5). para tener muestras de 5 x 9 mm y un área de 45 mm². En total se obtuvieron 30 piezas para realizar la prueba.



Ilustración 5 Trozos de tubo de Penrose de silicona.

La funcionalización de las nanopartículas de plata se realizó con (3-Aminopropil) trietoxisilano (APTES) y polietilenimina (PEI) para modificar la carga de las AgNPs de negativo a positivo, evitar aglomeración de las partículas y tener una mejor adherencia en la superficie del tubo de Penrose de silicona. Se utilizó la concentración seleccionada de 540 µg/mL de AgNPs .

Posteriormente se colocaron las muestras en tubos, distribuidas de la siguiente manera:

- 3 piezas sin AgNPs
- 3 piezas con Clorhexidina al 2% (control).
- 3 piezas con 500µl de agua y 500µl de AgNPs (135 µg/ml)
- 3 piezas con 500µl de PEI y 500µl de AgNPs (135 µg/ml)
- 3 piezas con 500µl de APTES y 500µl de AgNPs (135 µg/ml)

Se realizaron 2 juegos de muestras para su observación en 24 y 48 horas (Ilustración 6), manteniéndose en agitación constante durante este periodo. Transcurrido este tiempo se extrajo el líquido con el uso de pipeta y se secaron las muestras hasta obtener una evaporación total del líquido, empleando el horno a 50°C durante 24 horas.

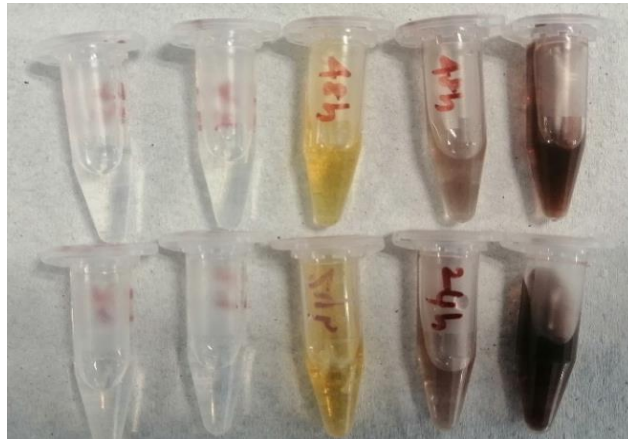


Ilustración 6 Tubos con las muestras de trozos de tubo de Penrose

Cultivo de *Streptococcus mutans*.

Se utilizó agar Muller Hinton (BD Bioxon), en una cantidad de 9.5g en 250ml de agua mezclados en un matraz y se llevó a cabo su esterilización en autoclave durante 15 minutos. Finalmente se prepararon 10 placas de agar, en las cuales se colocaron 20 ml de agar en cada caja de Petri de 10cm de diámetro y se refrigeraron durante su proceso de estratificación.

Para el cultivo joven se utilizó una muestra de *S.mutans* del Laboratorio de investigación Interdisciplinaria de la ENES León. Se empleó un asa metálica calentada previamente durante 5 segundos en mechero para transportar la muestra de *S. mutans* a la caja de Petri, frotando la superficie con el asa; Todo esto realizado dentro de la campana de extracción. Finalmente se incubó durante 24 horas.

Se preparó una solución McFarland 0.6, de la cual se utilizaron 80µl para cada placa y con el uso de perlas de vidrio (8-10 por placa) se sembró la bacteria en la caja mediante el rodamiento por la superficie.

Evaluación de efecto antimicrobiano.

Se evaluó el efecto antimicrobiano de las Nanopartículas de plata diluida al 50% en pocillos con las siguientes concentraciones:

- Control positivo: clorehexdina 25 microgramos
- Control Negativo agua 100microlitros
- 100 µL de AgNPs=en concentración de 27 µg/ml
- 50 µL de AgNPs =en concentración de 13.5 µg/ml
- 25 µL de AgNPs =en concentración de 6.75 µg /ml

Se colocaron las diferentes muestras de tubo de silicona (5) en cada placa de *S. mutans* y permanecieron en incubadora durante 24 horas para posteriormente medir el halo de inhibición de cada muestra y así conocer el efecto antimicrobiano.

Las muestras de tubo de Penrose se colocaron de la siguiente forma:

1. Control Positivo: Fragmentos + Clorhexidina al 2%
2. Control Negativo: Fragmento con Agua sin AgNPs
3. Fragmentos con AgNPs
4. Fragmentos con PEI y AgNPs
5. Fragmentos con APTES y AgNPs

Se evaluó el efecto antimicrobiano a partir del diámetro del halo de inhibición y posteriormente se obtuvo el promedio de las 3 muestras.

Capítulo 4

Resultados.

Espectroscopia UV.

Una vez transcurrido el tiempo en refrigeración (120h) se analizaron las muestras por espectroscopia UV-vis donde se determinó que las muestras tienen un pico entre los 450 y 500 nm de absorbancia (Ilustración 8). Se seleccionó la muestra N8 con condiciones de 540 µg/mL AgNPs/10gr Nopal/60min/90°C para ser evaluada antes y después de retirar los sedimentos del extracto de nopal ya que presentó un pico marcado entre los 448nm de absorbancia siendo la que presentó un mejor pico de absorción de nanopartículas de plata. La muestra se centrifugó a 13000 RPM durante 15 minutos a 15°C y se evaluó nuevamente por espectroscopia UV-vis, donde se obtuvo un resultado de 428nm (Ilustración 9).

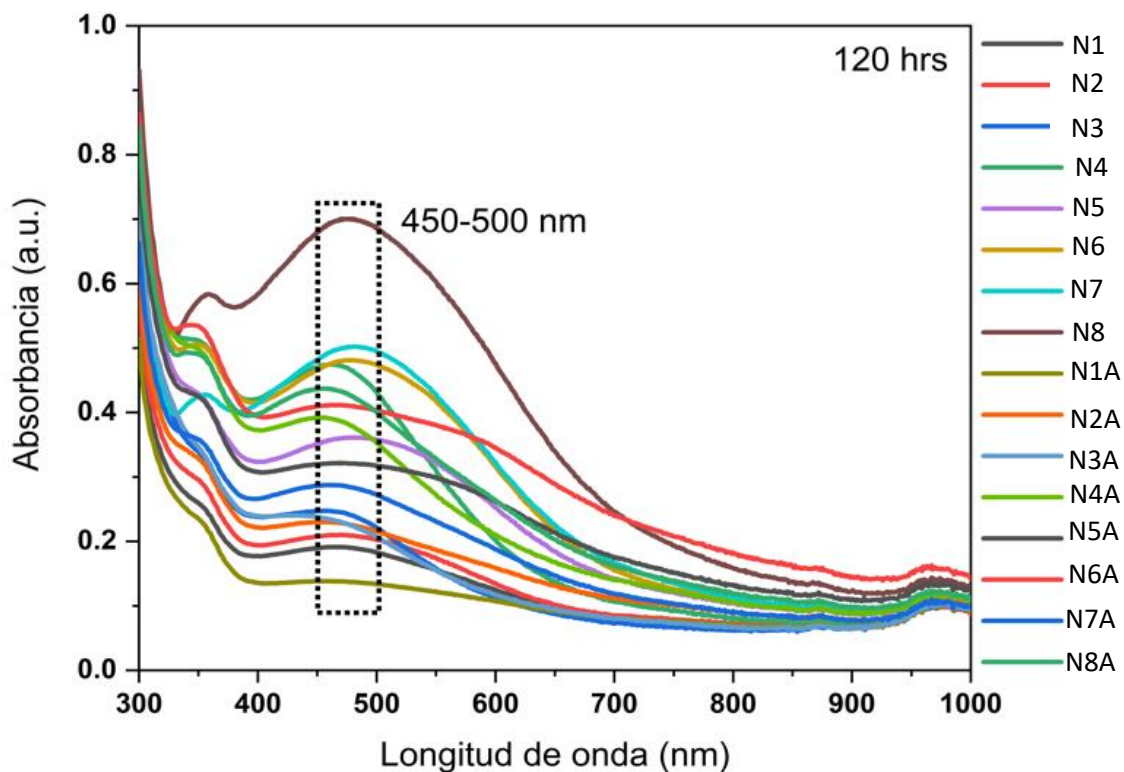


Ilustración 7 Gráfico de espectroscopia UV-Visible del crecimiento de nanopartículas de plata después de 120 h en refrigeración

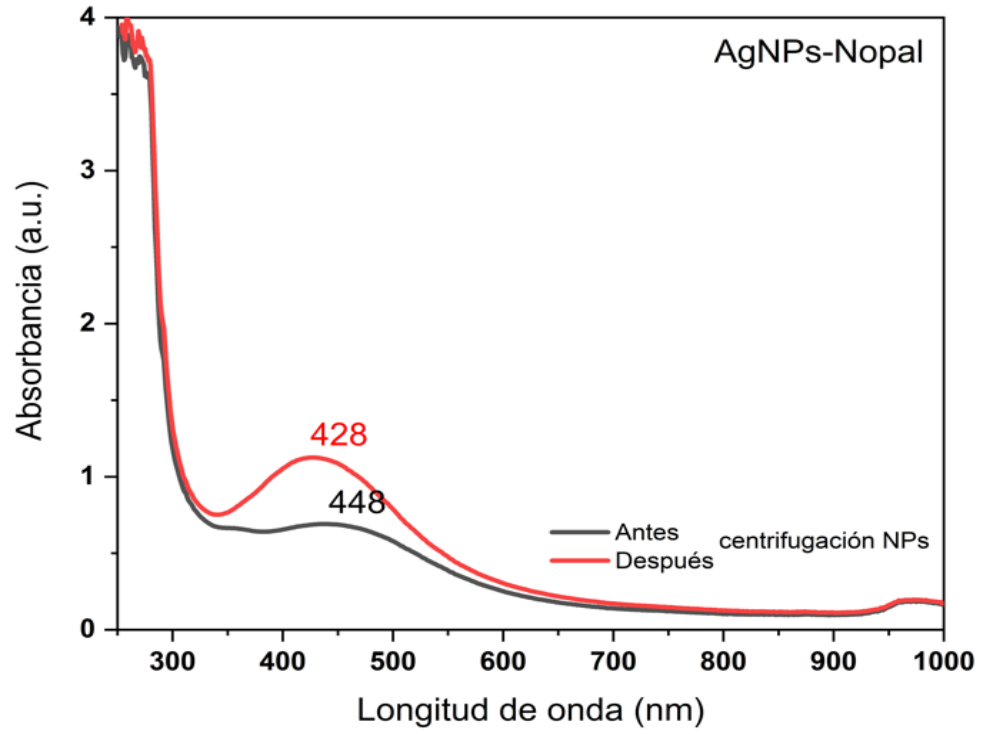


Ilustración 8 Gráfico de espectroscopia UV-Visible del crecimiento de nanopartículas de plata después de 120 horas

Análisis Morfológico.

La micrografía TEM muestra las nanopartículas de plata casi esféricas con la capa orgánica de recubrimiento de extracto de nopal. El tamaño oscila entre 25 y 60 nm con alta estabilidad (Ilustración 10).

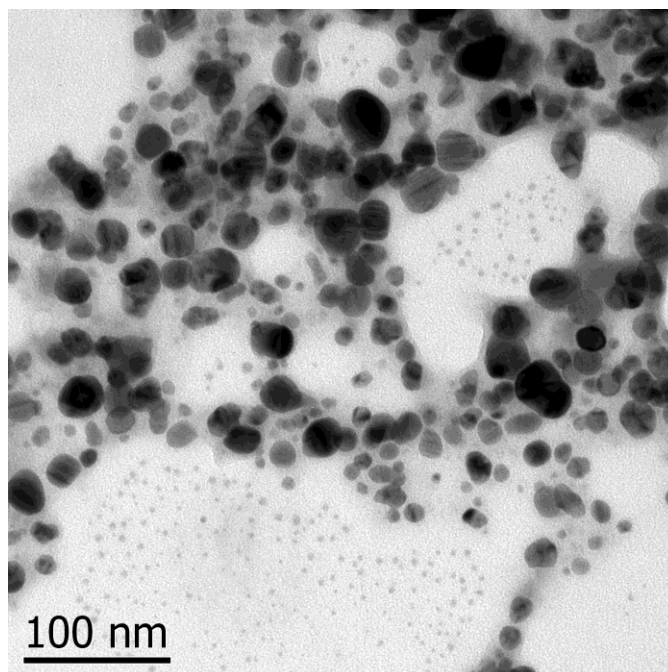
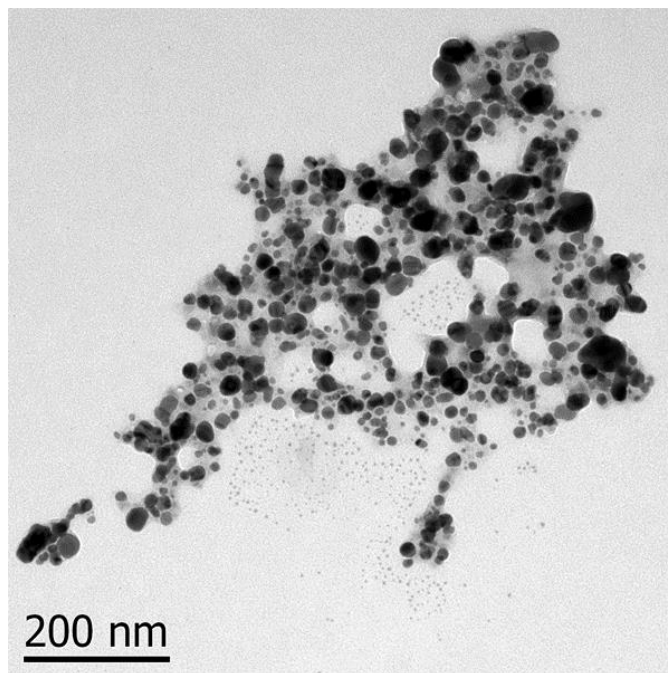


Ilustración 9.-TEM de muestra de nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de nopal

Análisis de distribución por intensidad.

Se encontró que el tamaño de partícula promedio era de 128 nm en medio de dilusion encontrándose en el rango de 80-150 nm (Ilustración 11).

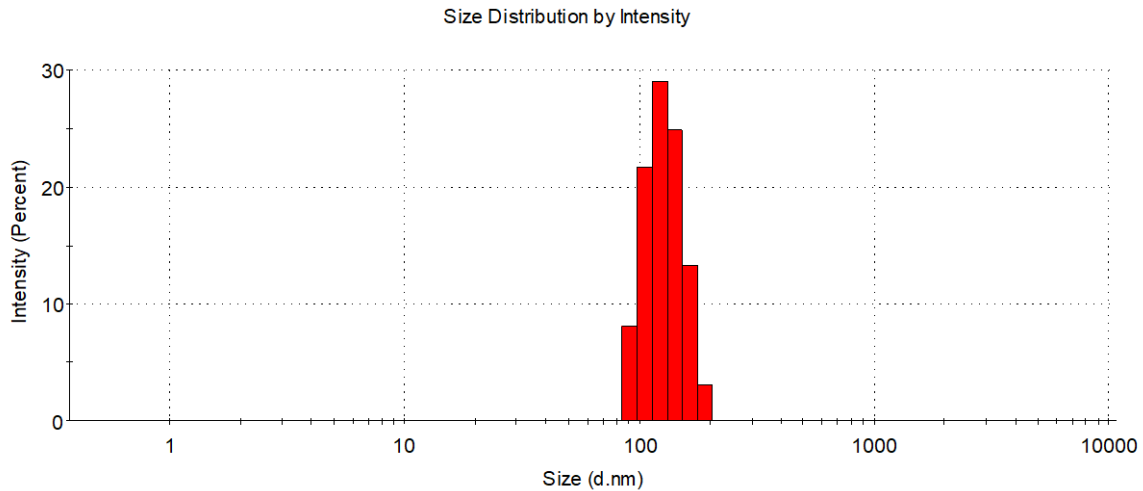


Ilustración 10 Distribución de tamaño por intensidad.

Análisis de carga superficial

Se encontró que la carga superficial era de -27,3 mV (Ilustración 12), lo que confirma que las nanopartículas están cubiertas por el extracto de nopal y también proporciona una mayor estabilidad.

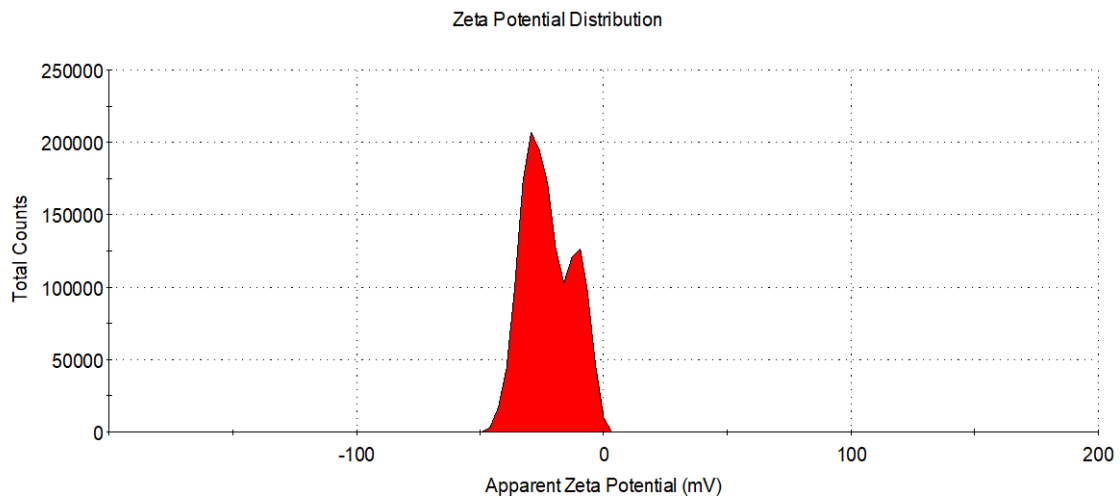


Ilustración 11 Distribución de potencial zeta

Efecto antimicrobiano

Después de 24 horas se pudo observar un halo de inhibición en todas las placas (Ilustración 13), por lo que existe un buen efecto antimicrobiano. Comenzando con las placas con AgNPs sin el uso de tubos de Penrose, mostrando un efecto similar en todas las muestras a diferentes concentraciones (Tabla 8).



Ilustración 12 Nanopartículas de plata en Placas de *S. mutans*

A continuación, se muestran las medidas del halo de inhibición en cada una de las placas:

Tabla 8 Halo de inhibición de Nanopartículas

Placa	1	2	3	Promedio
Control -	0mm	0mm	0mm	0mm
Control +	25.12mm	26.64mm	26.15mm	25.97mm
1.-AgNPs 27 µg g/ml	22.28mm	18.64mm	18.8mm	19.9mm
2.-AgNPs 13.5µg g/ml	21.7mm	15.9mm	17.57mm	18.39mm
3.-AgNPs 6.75µg g/ml	20.49mm	13.27mm	14.97mm	16.24mm

Las Placas con las muestras de tubo de Penrose adicionado con nanopartículas en el periodo de 24 horas (ilustración 14), muestran inhibición en todas las muestras con AgNPs siendo la que más destaca la muestra con APTES con un halo promedio de 13.6 mm (Tabla 9) debido a que genera una mejor adhesión de nanopartículas.



Ilustración 13 Nanpartículas de plata funcionalizadas durante 24 horas en tubos de Penrose de silicona en placas de *S. mutans*

Tabla 9 Muestras de Tubo de Penrose con AgNPs en 24 horas.

Placa	1	2	3	Promedio
Control -	0mm	0mm	0mm	0mm
Control +	22.23mm	18.3mm	23.32mm	21.2mm
1.-AgNPs	10.13mm	9.8mm	10.29mm	10mm
2.- AgNPs+APTES	12.57mm	13.14mm	9.04mm	11.6mm
3.-AgNPs+PEI	16.1mm	18mm	15.98mm	16.7mm

Las placas con muestras de tubo de Penrose adicionado con nanopartículas en periodo de 48 horas (Ilustración 15), muestra un efecto antimicrobiano, sin embargo, es más reducido en la muestra con APTES, pero con mayor halo de inhibición en la muestra con PEI en comparación a las muestras con un periodo de 24 horas de agitación (Tabla 10)..



Ilustración 14 Nanpartículas de plata funcionalizadas durante 48 horas en tubos de Penrose de silicona en placas de *S. mutans*

Tabla 10 Muestras de Tubo de Penrose con AgNPs en 48 horas.

Placa	1	2	3	Promedio
Control -	0mm	0mm	0mm	0mm
Control +	16.95mm	22.72mm	19.23mm	19.6mm
1.-AgNPs	10.95mm	9.69mm	10.26mm	10.3mm
2.-AgNPs+APTES	16.59mm	10.92mm	13.4mm	13.63mm
3.-AgNPs+PEI	8.48mm	10.8mm	11.85mm	10.4mm

Discusión.

En este estudio se sintetizaron nanopartículas de plata de forma verde, atendiendo la búsqueda de nuevos procesos que no generen gastos excesivos de energía, recursos y además que son tóxicos para el ser humano y el ecosistema.

El uso de *Opuntia ficus indica* (Nopal) para sintetizar nanopartículas de plata mantiene la propiedad de efecto antimicrobiano a una concentración de 5mM, que basándonos en los resultados es la concentración que presenta mejores cualidades de absorción. En cuanto al tamaño de las partículas podemos confirmar que se encuentra en el rango de los 80 y 150 nm. Se puede confirmar la presencia del extracto de nopal en las nanopartículas ya que carga superficial fue de -27,3 mV. De igual forma al ser aplicadas en tubos de Penrose de silicona, las nanopartículas mantienen buenos resultados en la inhibición en placas de *S.mutans*.

Algo a destacar es que durante el proceso de síntesis de las nanopartículas de plata no se utilizó ningún otro compuesto en la solución siendo lo único el extracto de nopal y Nitrato de plata, podemos ver un procedimiento similar en el estudio realizado por Ledezma et al. (2014) donde realizan un extracto de nopal también filtrado, sin embargo, agregan 4ml de hidróxido de amonio el cual es tóxico, por lo tanto, la síntesis no es completamente verde. Este mismo estudio también evaluó el efecto antimicrobiano de las nanopartículas en presencia de cepas de *E. coli* y *S. aureus* presentando resultados positivos de inhibición.

Podemos comparar el proceso de síntesis de AgNPs a partir de *Opuntia ficus-indica* de este estudio con el procedimiento realizado por Khalifa et al (2020) en el cual se obtiene el extracto de nopal dividido en concentraciones de 10,20,40,60,80 y 100, posteriormente se agregó 30 ml de nitrato de plata 1mM a 20 ml de la solución de extracto de nopal a temperatura de 55 ° Celsius, posteriormente se centrifugo y se utilizó para oxidación de glucosa, no se puso a prueba el efecto antimicrobiano en este estudio.

Aplicaciones antimicrobianas de las AGNPs

Recubrimiento de superficies auto desinfectantes, prevención de infecciones asociadas a dispositivos médicos (catéteres, tubo de Pensrose, otros materiales a base de polivinilsiloxano)

Conclusión

Después de los resultados obtenidos en la evaluación del efecto antimicrobiano de las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de *Opuntia ficus indica* (Nopal) podemos concluir que este método de síntesis verde proporciona estabilidad, morfología y tamaño dentro de los rangos aceptables de nanopartículas de plata, además de la propiedad antimicrobiana y buena adhesión que permite su uso como recubrimiento de otros materiales, en este caso tubos de Penrose de silicona, para así evitar una infección durante el drenaje de una cavidad.

Debido a la escasa información de este método de síntesis, existen diversas áreas de oportunidad de investigación que pueden ser de suma importancia para la biomédica, un ejemplo es conocer si es citotóxico para las células humanas y su interacción con las mismas a la concentración utilizada en este ensayo. Es importante conocer otras aplicaciones clínicas ya sea en odontología o en otra área de la salud.

Referencias.

1. Wei, L., Lu, J., Xu, H., Patel, A., Chen, Z. S., & Chen, G. (2015). Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug discovery today*, 20(5), 595-601.
2. Cardoso, P. (2016). Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud. *Rev. Hosp. Niños (B. Aires)*, 58(260), 19–28. <http://revistapediatria.com.ar/wp-content/uploads/2016/04/260-Nanopartículas-de-plata.pdf>
3. Salehi, B., Kregiel, D., Mahady, G., Sharifi-Rad, J., Martins, N., & Rodrigues, C. F. (2020). Management of Streptococcus mutans-Candida spp. oral biofilms' infections: Paving the way for effective clinical interventions. *Journal of clinical medicine*, 9(2), 517.
4. Espinosa-Cristóbal, LF, Martínez-Castañón, GA, Martínez-Martínez, RE, Loyola-Rodríguez, JP, Patino-Marin, N., Reyes-Macias, JF, & Ruiz, F. (2009). Efecto antibacteriano de nanopartículas de plata frente a Streptococcus mutans. *Cartas de materiales*, 63 (29), 2603-2606.
5. Madgar, O., Segal, O., Mansour, J., Sagiv, D., Dubriyan, A., Bedrin, L., Talmi, Y. P., Wolf, M., & Alon, E. E. (2019). Closed-suction compared with Penrose drainage after free flap reconstruction in the head and neck. *The British journal of oral & maxillofacial surgery*, 57(10), 1098–1101. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2019.10.001>
6. El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M., ... y Cherkaoui-Malki, M. (2014). Nopal (Opuntia ficus-indica) como fuente de compuestos bioactivos para la nutrición, la salud y la enfermedad. *Moléculas*, 19 (9), 14879-14901.
7. Santos-Espinoza A, Gutiérrez-Miceli F, Ruiz-Valdiviezo V, Montes-Molina J (2020) El papel de los compuestos polifenólicos en la síntesis verde de nanopartículas metálicas, (46-57) Revista Biotecnología 2020 Vol. 24 N°2
8. Lee, Y., Puumala, E., Robbins, N. y Cowen, LE (2020). Resistencia a fármacos anti fúngicos: mecanismos moleculares en Candida albicans y más allá. *Revisiones químicas*, 121 (6), 3390-3411.
9. Díaz Acosta, E.M. (2019). Nanopartículas de plata: síntesis y funcionalización. Una breve revisión. Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología, 12(22) Epub 15 de junio de 2020. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2019.22.60758>
10. Misirli, G. M., Sridharan, K., & Abrantes, S. M. P. (2021). A review on nanostructured silver as a basic ingredient in medicine: pPhysicochemical parameters and

characterization. *Beilstein journal of nanotechnology*, 12, 440–461.
<https://doi.org/10.3762/bjnano.12.36>

11. Agnihotri, S., Mukherji, S. y Mukherji, S. (2014). Nanopartículas de plata de tamaño controlado sintetizadas en el rango de 5 a 100 nm utilizando el mismo protocolo y su eficacia antibacteriana. *Avances de RSC*, 4, 3974-3983.
12. Yin, I. X., Zhang, J., Zhao, I. S., Mei, M. L., Li, Q., & Chu, C. H. (2020). The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. *International journal of nanomedicine*, 15, 2555–2562. <https://doi.org/10.2147/IJN.S246764>
13. Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P., & Caro, N. (2021). Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications. *International journal of molecular sciences*, 22(13), 7202. <https://doi.org/10.3390/ijms22137202>
14. Dias, H. B., Bernardi, M. I. B., Marangoni, V. S., de Abreu Bernardi, A. C., de Souza Rastelli, A. N., & Hernandez, A. C. (2019). Synthesis, characterization and application of Ag doped ZnO nanoparticles in a composite resin. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 96, 391–401. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.10.063>
15. Suzuki, T. Y. U., Pereira, M. A., Gomes-Filho, J. E., Wang, L., Assunção, W. G., & Santos, P. H. D. (2019). Do Irrigation Solutions Influence the Bond Interface Between Glass Fiber Posts and Dentin?. *Brazilian dental journal*, 30(2), 106–116. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201901963>
16. Mishra, P., & Tyagi, S. (2018). Surface analysis of gutta percha after disinfecting with sodium hypochlorite and silver nanoparticles by atomic force microscopy: An *in vitro* study. *Dental research journal*, 15(4), 242–247
17. Vazquez-Garcia, F., Tanomaru-Filho, M., Chávez-Andrade, G. M., Bosso-Martelo, R., Basso-Bernardi, M. I., & Guerreiro-Tanomaru, J. M. (2016). Effect of Silver Nanoparticles on PHysicochemical and Antibacterial Properties of Calcium Silicate Cements. *Brazilian dental journal*, 27(5), 508–514. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201600689>
18. Hernández-Gómora, A. E., Lara-Carrillo, E., Robles-Navarro, J. B., Scougall-Vilchis, R. J., Hernández-López, S., Medina-Solís, C. E., & Morales-Luckie, R. A. (2017). Biosynthesis of Silver Nanoparticles on Orthodontic Elastomeric Modules: Evaluation of Mechanical and Antibacterial Properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(9), 1407. <https://doi.org/10.3390/molecules22091407>
19. Salehi, B., Kregiel, D., Mahady, G., Sharifi-Rad, J., Martins, N., & Rodrigues, C. F. (2020). Management of *Streptococcus mutans*-*Candida* spp. Oral Biofilms' Infections: Paving the Way for Effective Clinical Interventions. *Journal of clinical medicine*, 9(2), 517. <https://doi.org/10.3390/jcm9020517>

20. Siddiqi, KS, Husen, A. y Rao, RAK (2018). Una revisión sobre la biosíntesis de nanopartículas de plata y sus propiedades biocidas. *Revista de nanobiotecnología*, 16 (1), 14. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0334-5>
21. Nqakala, Z. B., Sibuyi, N. R. S., Fadaka, A. O., Meyer, M., Onani, M. O., & Madiehe, A. M. (2021). Advances in Nanotechnology towards Development of Silver Nanoparticle-Based Wound-Healing Agents. *International journal of molecular sciences*, 22(20), 11272. <https://doi.org/10.3390/ijms222011272>
22. Husen, A., & Siddiqi, K. S. (2014). Plants and microbes assisted selenium nanoparticles: characterization and application. *Journal of nanobiotechnology*, 12, 28. <https://doi.org/10.1186/s12951-014-0028-6>
23. Kumar, PV, Pammi, SVN, Kollu, P., Satyanarayana, KVV y Shameem, U. (2014). Síntesis verde y caracterización de nanopartículas de plata utilizando extracto de planta *Boerhaavia diffusa* y su actividad antibacteriana. *Cultivos y Productos Industriales*, 52, 562-566.
24. Flieger, J., Franus, W., Panek, R., Szymańska-Chargot, M., Flieger, W., Flieger, M. y Kołodziej, P. (2021). Síntesis verde de nanopartículas de plata utilizando extractos naturales con actividad antioxidante comprobada. *Moléculas*, 26 (16), 4986.
25. Lozoya-Rodríguez, DA, De Lima, R., Fraceto, LF, Ledezma Pérez, A., Bazaldua Domínguez, M., Gómez Batres, R., ... & Orozco Carmona, V. (2017). Desarrollo de recubrimiento compuesto HA/Ag-NPs a partir de proceso verde para aplicaciones de cadera. *Moléculas*, 22 (8), 1291.
26. Ledezma, A., Romero, J., Hernández, M., Moggio, I., Arias, E., Padrón, G., ... & Torres, S. (2014). Síntesis biomimética de nanopartículas de plata utilizando extracto acuoso de nopal (*Opuntia sp.*) y su electrohilado polimérico. *Superficies y vacío*, 27 (4), 133-140.
27. Khalifa, Ziad, et al. " Mucilage-capped silver nanoparticles for glucose electrochemical sensing and fuel cell applications". *RSC avanza* 10.62 (2020): 37675-37682.
28. El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M., Latruffe, N., et al. (2014). Nopal (*Opuntia ficus-indica*) como fuente de compuestos bioactivos para la nutrición, la salud y las enfermedades. *Moléculas*, 19 (9), 14879–14901. MDPI AG. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.3390/molecules190914879>
29. Ding, W., & Guo, L. (2013). Immobilized transferrin Fe₃O₄@SiO₂ nanoparticle with high doxorubicin loading for dual-targeted tumor drug delivery. *International journal of nanomedicine*, 8, 4631–4639. <https://doi.org/10.2147/IJN.S51745>
30. Remes-Troche, J. M., Taboada-Liceaga, H., Gill, S., Amieva-Balmori, M., Rossi, M.,

Hernández-Ramírez, G., García-Mazcorro, J. F., & Whelan, K. (2021). Nopal fiber (*Opuntia ficus-indica*) improves symptoms in irritable bowel syndrome in the short term: a randomized controlled trial. *Neurogastroenterology and motility*, 33(2), e13986. <https://doi.org/10.1111/nmo.13986>

31. Monroy Caltzonci, Diego Antonio, sustentante "Evaluación de los efectos biológicos de las nanopartículas de plata en suturas de seda y ácido poliglicólico" / 2023
32. Morales Noriega, Juan Rafael, sustentante "Comparación del efecto antimicrobiano y citotóxico de las nanopartículas de TiO₂ con ácido hipocloroso frente a patógenos dentales" / 2023

Anexos.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

La Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León
a través de la División de Educación Continua e Innovación

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a

Mario Iván García Valdés & Ravichandran Manisekaran

Por haber obtenido el

Segundo Lugar

en el Concurso de Carteles de Investigación Básica a Nivel Licenciatura
con el trabajo

**“SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EFECTO ANTIMICROBIANO DE NANOPARTÍCULAS
DE PLATA A BASE DE OPUNTIA FICUS-INDICA (NOPAL)”**

llevado a cabo el


1 de octubre de 2022


en el marco del


Greater Expo ARIC Dental 2022

“Por mi Raza Hablará el Espíritu”

León, Guanajuato, a 3 de octubre de 2022


Dra. Laura Susana Acosta Torres
Directora
ENES Unidad León, UNAM


Lic. Juan José Ulloa García
Presidente
Greater ARIC Dental 2022


Exp. Roberto Ruiz Díaz
Jefe de División
Educación Continua e Innovación





UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

La Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León
a través de la División de Educación Continua e Innovación

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a

Mario Iván García Valdés & Ravichandran Manisekaran

Por haber obtenido el

Tercer Lugar

en el Concurso de Carteles
con el trabajo

**"Síntesis, caracterización y efecto antimicrobiano de nanopartículas de
plata a base de Opuntia Ficus-Indica (Nopal)"**

en el marco del

1º Congreso Internacional de BioNano Materiales

"Por mi Raza Hablará el Espíritu"

León, Guanajuato, a 21 de octubre de 2022

Dra. Laura Susana Acosta Torres
Directora
ENES Unidad León, UNAM



Esp. Roberto Ruiz Díaz
Jefe de División
Educación Continua e Innovación