

Influence of the wavelength of monochromatic light on the plasmon resonance of biosynthesized silver nanoparticles and its application in the inhibition of *E. coli* bacteria

Influencia de la longitud de onda de luz monocromática en la resonancia del plasmón de nanopartículas de plata biosíntetizadas y su aplicación en la inhibición de bacterias *E. coli*

Asmat-Campos, D.^{1,2*}, Mora-Alva, O.³, Robles-Castillo, H.⁴

¹ Universidad Privada del Norte, Dirección de Investigación y Desarrollo, Trujillo, Perú

² Universidad Privada del Norte, Grupo de Investigación en Ciencias Aplicadas y Nuevas Tecnologías, Trujillo, Perú

³ Universidad Privada del Norte, Departamento de Ciencias, Trujillo, Perú

⁴ Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ciencias Biológicas, Trujillo, Perú

Resumen- La resonancia de plasmón superficial (RPS) es una característica presente en las nanopartículas metálicas las cuales están asociadas a la oscilación colectiva de electrones libres. En este trabajo de investigación se considera a las nanopartículas de plata (NP Ag) las cuales han sido obtenidas por el método de síntesis verde (biosíntesis) usando como reductor el extracto de residuos de uva proveniente de la industria vinícola; estas nanopartículas en la investigación juegan el papel de agente inhibidor de bacterias *E. Coli*. La eficiencia de inhibición de las NP Ag puede aumentar en base a la frecuencia de la energía incidente motivado por la longitud de onda de cada color monocromático, elevando el nivel de oscilación del plasmón de superficie, es así como se investiga la influencia en función a siete longitudes de onda correspondientes al espectro visible. Los resultados muestran una correcta síntesis de nanopartículas de plata obtenidas por ruta verde, pues la caracterización por espectrofotometría UV-vis muestra el pico de RPS en 422.61 nm típico para este tipo de nanomaterial; asimismo, la evaluación por microscopía electrónica de barrido señala una geometría esférica definida con tamaño promedio de 32.66 nm; el efecto de la NP Ag con influencia de luz sugiere una alta eficiencia en la inhibición de *E. Coli*, específicamente cuando está bajo influencia de la longitud de onda monocromática azul (11.2 nm halo inhibición – 69.6% por encima de la muestra sin influencia de luz). Este efecto de inhibición se suma a las ya conocidas propiedades intrínsecas de la plata para inhibir agentes bacterianos.

Palabras clave: Nanopartículas de plata, síntesis verde, efecto antibacterial, inhibición bacterial, *E. Coli*, longitud de onda.

Abstract– Surface plasmon resonance (SPR) is a characteristic present in metallic nanoparticles which are associated with the collective oscillation of free electrons. In this research work, silver nanoparticles (NP Ag) are considered, which have been obtained by the green synthesis method (biosynthesis) using the extract of grape residues from the wine industry as a reducer; These nanoparticles in research play the role of inhibiting agent of *E. Coli* bacteria. The inhibition efficiency of NP Ag can increase based on the frequency of the incident energy motivated by the wavelength of each monochromatic color, raising the level of oscillation of the surface plasmon, this is how the influence is investigated as a function of seven wavelengths corresponding to the visible spectrum. The results show a correct synthesis of silver nanoparticles obtained by the green route, since the characterization by UV-vis spectrophotometry shows the RPS peak at 422.61 nm typical for this type of nanomaterial; Likewise, the evaluation by scanning electron microscopy indicates a defined spherical geometry with an average size of 32.66 nm; the effect of NP Ag with light influence suggests a high efficiency in the inhibition of *E. Coli*, specifically when it is under the influence of the Monochromatic blue wavelength (11.2 nm halo inhibition - 69.6% above the sample without influence of light). This inhibiting effect adds to the already known intrinsic properties of silver to inhibit bacterial agents.

Keywords: Silver nanoparticles, green synthesis, antibacterial effect, bacterial inhibition, *E. Coli*, wavelength.

Digital Object Identifier (DOI):

<http://dx.doi.org/10.18687/LACCEI2021.1.1.53>

ISBN: 978-958-52071-8-9 ISSN: 2414-6390

I. INTRODUCCIÓN

Los materiales metálicos nanoestructurados están estrechamente relacionados con las propiedades eléctricas y electrónicas, las mismas que pueden referirse a la interacción de la radiación electromagnética con la materia, esto debido a la presencia de electrones libres en la banda de conducción presentes en la superficie de las nanopartículas que reciben un haz de luz incidente, el mismo que induce una excitación colectiva.

Las nanopartículas de plata tienen diferentes propiedades que están siendo aprovechadas en muchas industrias como la electrónica, de la imprenta [1], alimentaria [2], farmacéutica [3] entre otras. El estudio de la elaboración de nanopartículas de plata ha destacado en la última década por seguir las nuevas tendencias de síntesis más seguras y amigables con la salud humana y el medio ambiente, así como económicamente más rentables. [4], [5] Estas técnicas, conocidas como “síntesis verde” por usar agentes orgánicos biocompatibles [6] [7], buscan el reemplazo de los reactivos químicos peligrosos comúnmente usados en las técnicas tradicionales con el fin de obtener un producto con nuevas y potenciales aplicaciones aún en estudio. [8]–[11].

Dentro de los métodos de síntesis verde para la obtención de NPs, se encuentran diversos procedimientos utilizando partes de plantas: hojas, corteza, y frutos; todo en cuanto los materiales son de fácil acceso y seguros de manejar. Se ha recopilado resultados de muchos trabajos en los que se usaron extractos de plantas como agentes reductores debido a sus componentes polifenólicos, y a los grupos amino y carboxilo que podrían actuar como estabilizadores en la obtención de nanopartículas metálicas.

Es conocido el potencial inhibidor de la plata coloidal y plata nanoparticulada, siendo este último mucho más eficiente [12], esto debido a una interacción a nivel de cargas, sin embargo, es escasa la información e investigaciones en donde relacionen una mejora de la eficiencia de inhibición bacteriana en base a la activación plasmónica por longitudes de onda de luz monocromática.

Respecto a la parte microbiológica, la bacteria *E. coli* es un bacilo tipo gramnegativo, presente en la microbiota del tracto intestinal de animales y hasta inclusive en el ser humano. Procesos de mutación de esta bacteria generan clones que mediante procesos de patoadaptación adquieren elementos genéticos que funcionan como factores de virulencia; esas cepas están asociadas a infecciones gastrointestinales, hasta inclusive asociado a infecciones del tracto urinario, sanguíneo y nervioso. La alta morbilidad, así como la variedad en síndromes y cuadro clínicos asociados a este tipo de bacteria, la hacen uno de los patógenos más versátiles y de gran relevancia para el ser humano.

En ese sentido, el presente trabajo evalúa la interacción de las nanopartículas de plata biosintetizadas bajo influencia de diferentes frecuencias de energía incidente correspondiente a

cada longitud de onda monocromática, con el objetivo de incrementar la eficiencia de inhibición bacteriana (*E. coli*), sumando de esta forma a las ya conocidas propiedades intrínsecas de la plata.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Síntesis de nanopartículas de plata

La síntesis se realizó mediante el método de química verde, teniendo como precursor químico al nitrato de plata (AgNO_3) Merck (N° CAS 5979-45-6), para ello se preparó una solución stock de 1M diluido en 10 mL de agua ultrapura, luego se extrajo 50 uL y aforó a 50 mL, obteniéndose de esa forma la concentración para el proceso de síntesis. El extracto se preparó empleando hollejos residuales de uva tinta de mesa (*Vitis vinifera* var. Gross Collman) procedente de Cascas (provincia de Gran Chimú, región La Libertad, Perú), como residuo proveniente de la producción de vino. Los residuos fueron secados a 45°C por 72 horas en una estufa de convección forzada UN55 PLUS (Memmert GmbH Co. KG, Alemania); posteriormente el extracto se elaboró en base a solvente etanólico de 96° (v/v), agitándose a 300 rpm durante 30 minutos, finalmente la mezcla se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min, eliminando el sedimento residual y almacenando el sobrenadante en frascos ámbar. Las nanopartículas se elaboraron mediante la mezcla entre el precursor previamente preparado y el extracto de residuos de uva bajo agitación magnética (300 rpm) a 60°C, hasta posteriormente llevarlo a pH 10. El extracto resultó ser un excelente reductor orgánico por poseer grupos fenólicos [13].

B. Preparación de inóculo, medio de cultivo y reto con *E. coli*

Las evaluaciones fueron en base al método de difusión en disco, para ello primero se realizó el proceso de siembra de bacterias, partiéndose de un cultivo fresco y sembrado en TSA durante 18 horas a 37 °C, pasando a trabajar 3-4 colonias (escala 0.5 Mc Farland), posteriormente se preparó el inóculo y fue tomado con hisopo debidamente esterilizado; se usó como medio de cultivo el Agar Müeller-Hinton, lugar donde se esparció con hisopo el inóculo, para luego pasar al proceso de secado (5 min.) e incubado 37°C entre 18-24 horas. Se prepararon varios medios de cultivo en placas Petri con el respectivo inóculo los cuáles fueron sometidos a evaluación. El reto microbiano se trabajó con cepas de bacteria *Escherichia coli* como microorganismo indicador (*E. Coli*, ATCC 25922) sembradas en medio de cultivo y placas Petri, la inoculación de las nanopartículas de plata (NP Ag) fue en hoyos de 5 mm de diámetro, con un volumen de 10uL/hoyo del agar para recuento de bacterias (PCA), el volumen del medio de cultivo fue de 20mL/placa, y la cantidad de inóculo por placa fue de 0.1 mL

de una suspensión de *E. coli* 5.67×10^6 UFC/mL. Todas las muestras tuvieron su respectivo control.

C. Evaluación de la influencia de luz monocromática en bacterias *E. Coli*

Las placas con cultivo *E. Coli*, fueron perforadas con el objetivo de inocular la solución coloidal de nanopartículas. Para todos los casos, el volumen de coloide inoculado de NP Ag fue de 10 uL por cada perforación (hoyo), cabe mencionar que en cada evaluación la muestra fue acompañada de un control que estuvo en condiciones de oscuridad.

Para el ensayo, se diseñó y fabricó una cámara al que en la parte superior se adaptó una bombilla LED inteligente RGB, con manejo de cambio de color inalámbrico (Yeelight - Xiaomi, YM., China). Una vez introducido la placa Petri, se encendió el foco en base al color monocromático escogido para la ocasión, la muestra se dejó por 24 horas, y de forma paralela -en oscuridad- se tuvo una muestra control, los colores en evaluación fueron: violeta, azul, cian, verde, amarillo, naranja y rojo. La monitorización se realizó mediante un equipo de medición de iluminancia y longitud de onda para luz visible previsto para esta investigación, para ello se realizó el dimensionamiento del prototipo en base al uso del sensor de iluminancia y sensor multiespectral de 6 canales, acoplado a una interfaz de comunicación serial a Wi-Fi para enviar los datos capturados a un servidor web y poder visualizarlos en cualquier lugar desde un navegador web. En base a los requerimientos de la investigación se definieron los elementos de hardware a utilizar, es así como se usó el sensor de iluminancia LTR-329ALS-01 en tarjeta de desarrollo ClickBoard, el sensor multiespectral AS7262, un módulo de comunicación UART/Wi-Fi NINA-132 uBlox en tarjeta de desarrollo ClickBoard, un microcontrolador PIC18F47K42 en tarjeta de desarrollo Curiosity Nano y la base de conexión Curiosity Nano Base for Click Boards.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La metodología adoptada para la síntesis verde de nanopartículas de plata fue exitosa, así lo demuestra anteriores manuscritos publicados por el mismo autor correspondiente de esta investigación [13]–[15], en donde se analizó características relacionados a estabilidad de nanopartículas, tipo de extracto usado, mecanismo de formación en el proceso de reducción del precursor, entre otros.

Es así como el material nanoestructurado elaborado para esta aplicación es el resultado de la mejor metodología obtenida en este innovador proceso de síntesis, pues el resultado por espectrofotometría (Fig. 1) muestra el pico de resonancia de plasmón superficial (RPS) ubicado en 422.61 nm y una absorbancia de 1.78 u.a.; asimismo, la gráfica representa una tendencia estadística típico de una distribución leptocúrtica, lo

cual aproximaría el hecho de haber logrado nanopartículas con alta monodispersidad, una característica compleja de conseguir, pero importante para diversidad de aplicaciones.

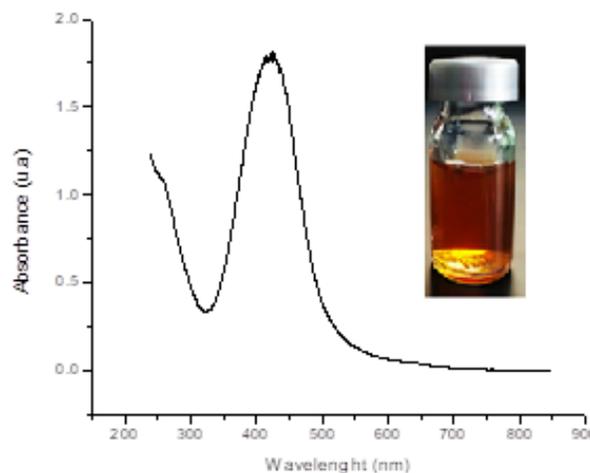


Fig. 1. Espectro de absorbancia óptica de NP Ag biosintetizadas.

Una forma de comprobar las características del coloide tales como su forma y tamaño, fue mediante la caracterización por microscopía electrónica de transmisión (TEM), el mismo que se muestra en la Fig. 2. En base a ello, es posible identificar que las NP Ag tienen geometría esférica y de alta monodispersidad, lo cual justifica el resultado por espectrofotometría; asimismo, el tamaño promedio de la nanoestructura es de 32.66 nm. (SD=6.72).

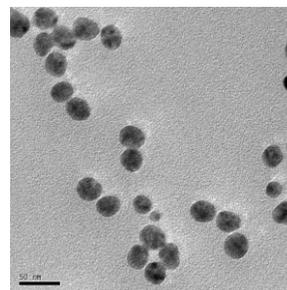


Fig. 2. Microscopía electrónica de transmisión de nanopartículas de plata sintetizadas con extracto alcohólico de residuos de uva.

Estas nanopartículas fueron las que se aplicaron a la investigación con el objetivo de sumar una mejora en la eficiencia de inhibición en agentes microbianos, a las ya conocidas propiedades antibacteriales que posee la plata, todo ello en base a la metodología adoptada para tal fin.

Respecto a la fuente de luz monocromática esta fue previamente caracterizada con el sensor diseñado para tal fin, con el objetivo de determinar las diversas longitudes de onda que se aplicarán a las muestras de cultivo. En la tabla 1 y Fig. 3, se muestra los valores de las componentes de longitud de onda por cada color

de forma individual, nótese que en todos los casos hay picos más definidos y su combinación con intensidades de otros colores de menor prevalencia, dando como resultado el tono deseado.

Tabla 1. Cuantificación de los valores de longitud de onda de la fuente luminosa RGB.

Color	Nombre en App	V(450nm)	B(500nm)	G(550nm)	Y(570nm)	O(600nm)	R(650nm)	LUX
Violeta	Indigo	3783	669	254	587	331	1406	7037
Azul	Navy Blue	3945	176	29	41	14	29	4084
Cian	Deep Sky Blue	3314	2360	985	1641	284	255	7263
Verde	Forest Green	135	2416	1059	1770	310	304	4184
Amarillo	Gold	139	1723	786	1609	694	2595	6664
Anaranjado	Pumpkin	68	412	213	653	535	2466	3740
Rojo	Dark Red	48	38	48	378	490	2430	2674

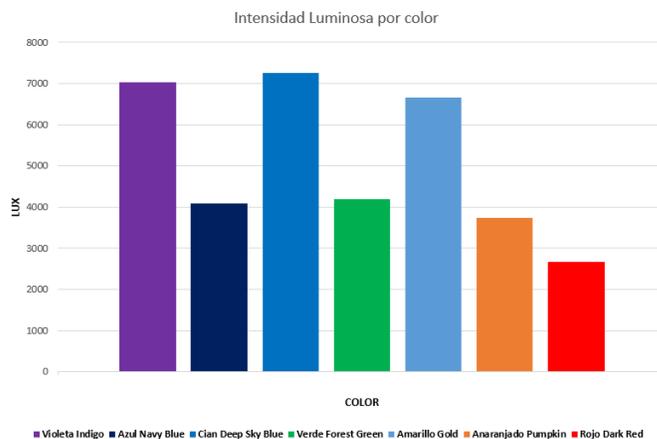


Fig. 4. Intensidad luminosa por cada color monocromático usado en la interacción NP Ag – agente microbiano.

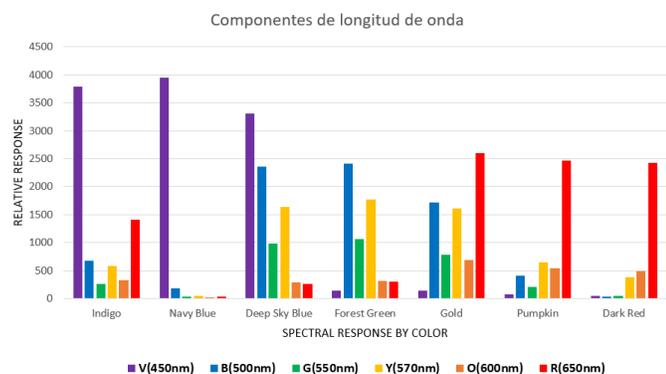


Fig. 3. Componentes de longitud de onda de la fuente luminosa RGB.

Para la prueba en los medios de cultivo, se evaluó usando la aplicación de Android Google Home, tan solo se varió el color de la fuente de luz, mas no la intensidad, pero con los datos adquiridos, se puede observar que la fuente de luz utilizada genera los distintos colores seleccionados (Fig. 3) utilizando una combinación de diferentes longitudes de onda y variando la intensidad. Por ejemplo, si comparamos el violeta con el azul, podemos observar que, en realidad, el azul presenta una componente de 450nm más grande que la del propio violeta, con la diferencia que, la intensidad luminosa disminuye notablemente (Fig. 4) y, al color violeta se le suman otras componentes de longitud de onda. En el otro extremo, comparemos el anaranjado con el rojo, en los cuales observamos una componente de 650nm bastante similar, pero, al color anaranjado se le suman algunas componentes de 500nm y 550nm y presenta una mayor componente de 570nm que el color rojo.

Una vez lista la muestra, se ingresó a una cámara cerrada diseñado específicamente para la investigación, cabe mencionar que previamente la fuente luminosa fue calibrada a un color monocromático en base a sus características especificadas en la Tabla 1, Fig. 3 y 4, mientras que la muestra control permaneció en oscuridad.

Las nanopartículas de plata suelen tener un rango entre 410 - 430 nm en donde se da la resonancia de plasmón superficial (RPS), el cual correspondería a que desde el punto de vista de la colorimetría absorbe en el rango del violeta-azul siendo su color reflejado (color complementario) el amarillo, color típico del coloide de NP Ag (Fig. 1).

Los resultados del efecto entre la interacción de las propiedades antimicrobianas de la plata y la absorbancia de diversas longitudes de onda del espectro visible demuestran estar íntimamente ligadas, y por ende aumentar su eficiencia de inhibición debido a una mejora sustancial de la resonancia de plasmón superficial (RPS), es así como en la Tabla 2 y Fig. 5 se muestra el halo de inhibición para *E. coli* logrado en la longitud de onda del color azul, que es el que mayor efecto ha tenido, alcanzando el valor de 11.2 mm., esto comparado con la muestra sin influencia de luz (sólo NP Ag) que logró un valor de halo de inhibición de 6.6 mm, es decir una se obtuvo mejora en la eficiencia del 69.69%. El color magenta fue el que menor eficiencia mostró, logrando un valor de 7.1 mm de halo de inhibición y eficiencia del 7.5%, luego tenemos al cian considerado el segundo de mayor eficiencia con un 69.6%, seguido del verde 42.4%, amarillo 30.3%, naranja 21.2% y rojo 19.6%.

Tabla 2. Halos de inhibición (en mm) de bacterias *E. coli*, en función al color monocromático incidido en la muestra experimental de NP Ag.

Promedios de halos de inhibición		
Color	Diámetro (mm)	% mejora
Violeta	7.1	7.5
Azul	11.2	69.6
Cian	9.6	46.5
Verde	9.4	42.4
Amarillo	8.6	30.3
Naranja	8	21.2
Rojo	7.9	19.7

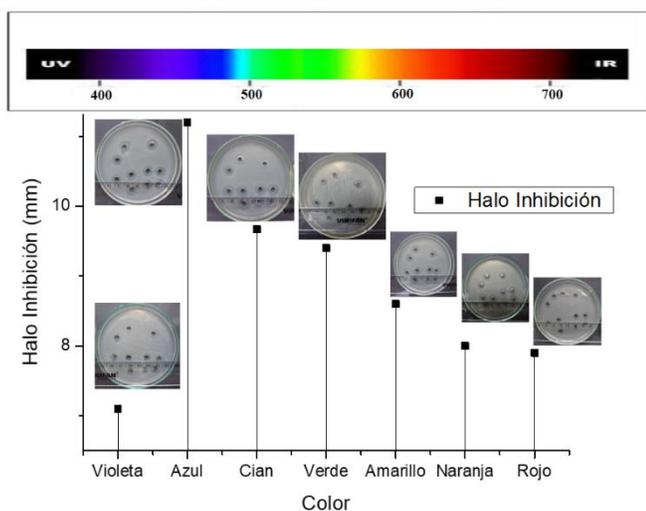


Fig. 5. Halos de inhibición obtenidos en función a la interacción de luz monocromática con NP Ag.

Tal y como se mencionó en el párrafo anterior, la respuesta de inhibición en los demás casos también resultó ser mejor (pero no eficiente) respecto a la muestra en donde no hubo influencia de luz (Fig. 6), es así como en la Fig. 5, se muestra el decrecimiento gradual del diámetro de halo de inhibición.

En base a los resultados, las componentes de longitud de onda mostrados en la Tabla 1 y Fig. 3, es posible observar que por tratarse de un foco RGB existe la combinación de tonalidades que permiten finalmente obtener un color específico, sin embargo, colores como el violeta y cian poseen picos de longitud de onda que coinciden con el azul, no obstante el magenta está más direccionado a longitudes de onda más energéticas (dirección UV), lo cual no implica una correcta interacción de efecto de resonancia de plasmón para la plata, pues en esos casos se debería de considerar nanopartículas semiconductoras que fácilmente absorben en ese rango. Es por

ello, que para el caso del magenta su inhibición es mucho menor, pero para el caso del cian al coincidir en parte al espectro del azul, tiene también una destacada interacción longitud de onda – RPS, y por ende una correcta inhibición.

Tal y como se mencionó líneas arriba, todas las muestras tuvieron su respectivo control (para evaluación de cultivo) y muestra con NP Ag sin influencia de luz, este último con el objetivo de poder realizar una comparación, y en base a ello calcular el porcentaje (%) de mejora de la inhibición, es así como en la Fig. 6 se muestra en una sola placa los hoyos control (sin NP Ag) y hoyos con 10 uL de NP Ag que estuvo en oscuridad durante el mismo tiempo que las demás muestras (24 h.). El valor promedio de halo de inhibición en esa muestra fue de 6.6 mm, que es el resultado de la acción inhibitoria típica de la NP Ag, además de ello el halo no es muy definido.

Es así como, la presencia de electrones libres en la banda de conducción de la superficie de las NP Ag que reciben un haz de luz incidente, genera una excitación conjunta de estos electrones, el mismo que trae como consecuencia una oscilación coherente deslocalizada de los electrones confinados. Su relación respecto al color está basada en que, para determinadas frecuencias de la energía incidente, se produce un acoplamiento entre la frecuencia de onda incidente y de la oscilación del polaritón, este fenómeno se conoce como el anteriormente fenómeno mencionado de resonancia de plasmón superficial (RPS), el cual tiene la capacidad de absorber determinadas frecuencias de luz incidente y de transmitir las frecuencias no absorbidas que se asocian a un determinado color.

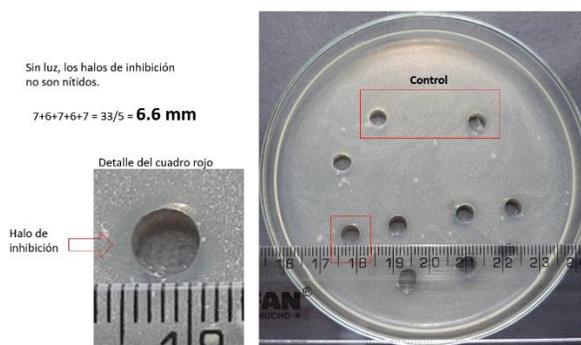


Fig. 6. Muestra de cultivo *E. Coli* con NP Ag sin influencia de luz.

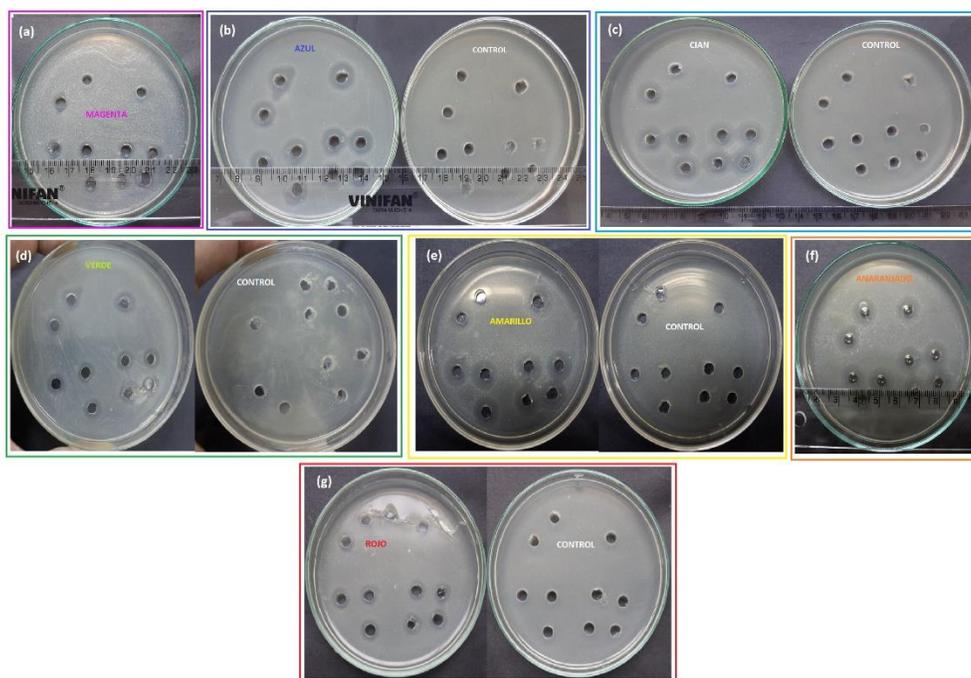


Fig. 4. Muestras de cultivo *E. coli* bajo influencia de luz monocromática y sus respectivos halos de inhibición. (a) magenta, (b) azul, (c) cian, (d) verde, (e) amarillo, (f) anaranjado, (g) rojo.

IV. CONCLUSIONES

La acción inhibitoria en cultivos de bacterias *E. coli* se ha visto mejorado en un 69.6% gracias a la influencia de la interacción correspondiente al color monocromático azul y la nanopartícula de plata (NP Ag), esta eficiencia es adicional a la acción ya conocida en este tipo de nanoestructura. La metodología de síntesis verde de NP Ag fue exitosa, pues el extracto de residuos de uva actúa como un potencial agente reductor; se la logrado obtener nanoestructuras con geometría esférica definida y de 32.66 nm de diámetro promedio.

AGRADECIMIENTOS

La presente investigación forma parte del proyecto financiado por la Universidad Privada del Norte – Dirección de Investigación e Innovación UPN-20191007. Esta investigación se desarrolló en colaboración con la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), gracias al convenio marco de cooperación con la Universidad Privada del Norte (UPN). Un agradecimiento especial a los revisores, cuyas sugerencias servirán para mejorar el presente trabajo.

REFERENCIAS

- [1] I. J. Fernandes *et al.*, "Silver nanoparticle conductive inks: synthesis, characterization, and fabrication of inkjet-printed flexible electrodes," *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–11, 2020, doi: 10.1038/s41598-020-65698-3.
- [2] A. Roy, O. Bulut, S. Some, A. K. Mandal, and M. D. Yilmaz, "Green synthesis of silver nanoparticles: Biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity," *RSC Advances*, vol. 9, no. 5. Royal Society of Chemistry, pp. 2673–2702, Jan. 18, 2019, doi: 10.1039/c8ra08982e.
- [3] X. Y. Dong, Z. W. Gao, K. F. Yang, W. Q. Zhang, and L. W. Xu, "Nanosilver as a new generation of silver catalysts in organic transformations for efficient synthesis of fine chemicals," *Catalysis Science and Technology*, vol. 5, no. 5. Royal Society of Chemistry, pp. 2554–2574, May 01, 2015, doi: 10.1039/c5cy00285k.
- [4] K. Mishra, N. Basavegowda, and Y. R. Lee, "Biosynthesis of Fe, Pd, and Fe-Pd bimetallic nanoparticles and their application as recyclable catalysts for [3 + 2] cycloaddition reaction: A comparative approach," *Catal. Sci. Technol.*, vol. 5, no. 5, pp. 2612–2621, May 2015, doi: 10.1039/c5cy00099h.
- [5] J. M. Patete, X. Peng, C. Koenigsmann, Y. Xu, B. Karn, and S. S. Wong, "Viable methodologies for the synthesis of high-quality nanostructures," *Green Chem.*, vol. 13, no. 3, pp. 482–519, Mar. 2011, doi: 10.1039/c0gc00516a.
- [6] D. Asmat-Campos *et al.*, "Unraveling the Active Biomolecules Responsible for the Sustainable Synthesis of Nanoscale Silver Particles through Nuclear Magnetic Resonance Metabolomics," *ACS Sustain. Chem. Eng.*, Nov.

2020, doi: 10.1021/acssuschemeng.0c06903.

- [7] L. M. Gilbertson, J. B. Zimmerman, D. L. Plata, J. E. Hutchison, and P. T. Anastas, "Designing nanomaterials to maximize performance and minimize undesirable implications guided by the Principles of Green Chemistry," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 44, no. 16, pp. 5758–5777, Aug. 2015, doi: 10.1039/c4cs00445k.
- [8] M. Rafique, I. Sadaf, M. S. Rafique, and M. B. Tahir, "A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications," *Artif. Cells, Nanomedicine, Biotechnol.*, vol. 45, no. 7, pp. 1272–1291, Oct. 2017, doi: 10.1080/21691401.2016.1241792.
- [9] S. Ahmed, M. Ahmad, B. L. Swami, and S. Ikram, "A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise," *Journal of Advanced Research*, vol. 7, no. 1. Elsevier, pp. 17–28, Jan. 01, 2016, doi: 10.1016/j.jare.2015.02.007.
- [10] S. Prabhu and E. K. Poulouse, "Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects," *Int. Nano Lett.*, vol. 2, no. 1, pp. 1–10, Dec. 2012, doi: 10.1186/2228-5326-2-32.
- [11] D. Sharma, S. Kanchi, and K. Bisetty, "Biogenic synthesis of nanoparticles: A review," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 12, no. 8. Elsevier B.V., pp. 3576–3600, Dec. 01, 2019, doi: 10.1016/j.arabjc.2015.11.002.
- [12] D. Asmat-Campos, E. Bustamante-Marrufo, D. Pérez-Mauricci, A. Sánchez-Gonzales, J. Vásquez-Aniceto, and H. Robles-Castillo, "Evaluation of the antibacterial potential of micrometric and nanometric silver colloids adhered to clay filters," *Proc. LACCEI Int. Multi-conference Eng. Educ. Technol.*, no. July, pp. 29–31, 2020, doi: 10.18687/LACCEI2020.1.1.139.
- [13] D. Asmat-Campos *et al.*, "Efecto del tiempo en la capacidad reductora de extractos de residuos vinícolas: Aplicabilidad en la biosíntesis de nanopartículas de plata," no. July, pp. 29–31, 2020, doi: 10.18687/laccei2020.1.1.202.
- [14] D. Asmat-Campos *et al.*, "Influencia del tipo de solvente y pH para la extracción de compuestos reductores de residuos vinícolas en la producción de nanopartículas de plata," no. July, pp. 29–31, 2020, doi: 10.18687/laccei2020.1.1.91.
- [15] D. Asmat-Campos, Avalos-Vera, Delgado-Alfaro, Gutierrez-Hoyos, Jacinto-Paredes, and Reyes-Zavaleta, "Synthesis and characterization of nanofluids from the biosynthesis of nanoparticles and their evaluation in solar thermal systems," *E3S Web Conf.*, vol. 167, p. 05003, 2020, doi: 10.1051/e3sconf/202016705003.