



# Evaluation of the antibacterial potential of micrometric and nanometric silver colloids adhered to clay filters

## Evaluación del potencial antibacteriano de coloides de plata micrométricos y nanométricos adheridos a filtros de arcilla

Asmat-Campos, D., MSc.<sup>1,2</sup>, Bustamante-Marrufo, E., Ing.<sup>3</sup>, Pérez-Mauricci, D., Ing.<sup>3</sup>, Sánchez-Gonzales, A., Ing.<sup>3</sup>, Vásquez-Aniceto, J., Ing.<sup>3</sup>, Robles-Castillo, H. Dr.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidad Privada del Norte, Dirección de Investigación y Desarrollo, Trujillo, Perú

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

<sup>3</sup>Universidad Privada del Norte, Programa de Ingeniería Industrial, Trujillo, Perú

<sup>4</sup>Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Microbiología y Parasitología, Trujillo, Perú

**Resumen–** Desde tiempos remotos la plata coloidal ha sido utilizado principalmente para la desinfección del agua, como productos medicinales, entre otros; sin embargo, su eficiencia está en función al tamaño de la partícula metálica con la cual se da la interacción. En el caso de esta investigación se diseñó y elaboró filtros de arcilla con agregado de partículas de plata a tamaño micrométrico (plata coloidal comercial) y nanopartículas de plata (NP Ag), este último sintetizado mediante el método de química verde (biosíntesis) a partir del reductor obtenido de residuos de la producción vinícola. Como caso puntual de estudio, se ha considerado investigar la muestra de agua proveniente del afluente hídrico del Río Moche, ubicado en la Provincia de Trujillo, La Libertad – Perú, el mismo que cuenta con elevado contenido de contaminación microbiológica. Para la evaluación de los coloides de plata se presentan resultados por espectrofotometría, ambas con concentraciones de 12 ppm, el mismo que comprueba que el método de química verde es eficiente para la obtención de NP Ag y con tamaño aproximado de 30 nm., así mismo se muestra resultados por Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) los cuales aproximan el mecanismo fitoquímico de reducción; los resultados sugieren el potencial efecto antibacteriano de los filtros con NP Ag para heterótrofos mesófilos viables (97.43%), coliformes totales (90%), coliformes fecales (76.08%) y E. Coli (90%).

**Palabras Clave:** Nanopartículas de plata, Plata coloidal, síntesis verde, filtro antibacteriano, contaminación del agua.

**Abstract–** Since ancient times, colloidal silver has been used primarily for water disinfection, as medicinal products, among others; however, its efficiency is a function of the size of the metal particle with which the interaction occurs. In the case of this research, clay filters were designed and developed with aggregate of micrometric-sized silver particles (commercial colloidal silver) and silver nanoparticles (NP Ag), the latter synthesized by the green chemistry method (biosynthesis) from reducer obtained from residues of wine production. As a case study, the sample of water from the Moche River affluent, located in the Province of Trujillo, La Libertad - Peru, which has a high content of microbiological contamination has been considered. For the evaluation of silver colloids, results are presented by spectrophotometry, both with concentrations of 12 ppm, which proves that the green chemistry method is efficient for obtaining NP Ag and approximately 30 nm in size. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) results are shown which approximate the phytochemical reduction mechanism; The results suggest the potential antibacterial effect of filters with NP Ag for viable mesophilic heterotrophs (97.43%), total coliforms (90%), fecal coliforms (76.08%) and E. Coli (90%).

**Keywords:** Silver nanoparticles, colloidal silver, green synthesis, antibacterial filter, water pollution.

## I. INTRODUCCIÓN

En la naturaleza, se ha podido encontrar arcilla en abundantes cantidades [1], este material natural se compone de minerales granulados y es usado mayormente en la elaboración de piezas y figuras de cerámica [2]. Desarrollos en esta temática han utilizado arcilla para poder crear distintos biofiltros con diferentes porosidades, con el fin de purificar aguas contaminadas con cromo hexavalente [3]. El uso de este material natural no solo reduce los costos de este proceso, sino que también reduce el nivel de contaminación hídrica [4]. En virtud de ello, se tomó la idea de elaborar filtros de arcilla para tratar las aguas contaminadas, tomándose como caso de estudio aplicativo las aguas del afluente del río Moche (Trujillo, Perú), en base a la eliminación de bacterias altamente nocivas. Para aumentar la eficiencia de los filtros, se empleó coloides de plata debido a las conocidas propiedades antibacteriales que posee y que se han conocido en toda la historia [5], debido a ello, se optó por utilizar plata coloidal y nanopartículas de plata (NP Ag) incorporadas a los filtros antes mencionados en la evaluación de esta investigación, con el objetivo de destacar el mejor efecto antibacterial. La plata coloidal es una sustancia que contiene partículas macrométricas de Ag (plata) que no se disuelven, generalmente a ese tamaño sedimentan; dicho coloide se obtiene mediante el proceso de electrólisis [6]. La base de la acción astringente y cáustica de los iones de plata [7] se origina al combinar el ion argéntico con grupos químicos sulfhídrico, carboxilo, fosfato, amino y otros biológicamente importantes, estas interacciones con las proteínas modifican sus propiedades físicas, y a menudo hacen que precipiten [8]. La plata coloidal es muy eficaz frente a un amplio rango de bacterias (Gram positivas y Gram negativas), hongos y levaduras, ya que la acción de la plata coloidal consiste en inhibir las enzimas implicadas en el proceso respiratorio de óxido-reducción celular de las bacterias, provocando su muerte en pocos minutos [9]. Por este motivo, el microorganismo no puede desarrollar mecanismos de resistencia como ocurre con los antibióticos y respeta el resto de las enzimas implicadas [10], siendo segura para el hombre y todo ser vivo pluricelular [11].

Por otro lado, en los últimos años la nanociencia y la nanotecnología han experimentado una rápida expansión a nivel mundial, dando lugar al desarrollo y producción de una gran variedad de nanomateriales [12]. El interés creciente por los materiales a nanoescala está convirtiendo a las NP Ag en el nanomaterial más utilizado actualmente, debido a sus propiedades antimicrobianas [13,14] pues existen pruebas que demuestran que las NP Ag pueden dañar directamente las membranas de las células, interaccionando con ellas y penetrando en su interior [15]. Es por ello que las mismas están siendo utilizadas en diversas aplicaciones de tratamiento de agua, pinturas, vendajes, material sanitario, envases para el almacenamiento de comida, etc. [16]. Hay muchas publicaciones hechas con respecto al campo antes mencionado, en donde detallan el efecto de sus propiedades

dependiendo del tamaño y forma [17], siendo las partículas con un tamaño menor a 100 nm las que muestran una actividad antibacteriana óptima [18].

Existen diferentes investigaciones con respecto a la síntesis de nanopartículas en las que se usaron extractos de plantas como agentes reductores debido a sus componentes polifenólicos [19] logrando encontrar una variedad de rutas de biosíntesis [20] que producen nanopartículas de diversas formas con baja polidispersidad [21]. Es por ello que con el nuevo concepto de “síntesis verde”, diversos investigadores están desarrollando diversas metodologías las cuales cumplan un efecto reductor del precursor nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ), es así como sintetizaron Ag NPs utilizando extracto de arándano (*Vaccinium coroybosum*) en estado acuoso [22], agente reductor orgánico que a diferencia de los inorgánicos o químicos no es un contaminante, además de que tiene un menor costo de elaboración [23]; en las diferentes pruebas realizadas por el investigador, logró determinar una alta efectividad en la creación de NP Ag [24]. Por dicho antecedente, en este proyecto de investigación se propone utilizar como agente reductor el extracto alcohólico de los residuos de *Vitis vinífera* (uva), provenientes de la producción vinícola.

En el presente artículo, se muestran los resultados de la eficiencia en remoción y potencial efecto antibacterial de los filtros de arcilla con adherencia de micro y nanopartículas de plata para heterótrofos mesófilos viables, coliformes totales, coliformes fecales y *E. Coli*, que son contaminantes encontrados en las muestras tomadas del afluente hídrico antes mencionado.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Síntesis de nanopartículas de plata

Para este proceso se utilizó el método de química verde (biosíntesis), teniendo como precursor al nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) a una concentración de 1M en dilución de 10 mL de agua ultrapura, con el objetivo de preparar una solución stock para posteriormente extraer 50 uL y aforarlo a 50 mL, obteniéndose la concentración ideal para el proceso de síntesis. Este proceso se llevó a cabo en hotplate – stirring a una temperatura de 60 °C por 10 minutos y a 300 rpm. Posteriormente, se añadió gota a gota el extracto de residuos de uva provenientes de la producción vinícola, el cual demostró ser un excelente reductor por contar con grupos fenólicos. Paso final, la solución se llevó a pH 10, obteniéndose una solución con coloración marrón oscura. (Fig.1). La plata coloidal fue de procedencia local a 12 ppm.



Fig. 1. Protocolo de biosíntesis de nanopartículas de plata.

*B. Elaboración de filtros de arcilla con agregado de plata coloidal y nanopartículas de plata*

En cuanto al diseño del filtro de arcilla, se planteó la idea de utilizar como recurso un envase de plástico de 795 mL. La base del envase sirvió simultáneamente como molde para el filtro, por ello se cortó a una altura de 4 cm respecto a la base.

Se precisó las cantidades de materiales áridos a utilizar en las dos mezclas, estas fueron bajo la proporción entre arcilla, arena y aserrín (1:1:0,25) con un volumen de solvente de 4 mL de nanopartículas de plata y plata coloidal (ambos a 12 ppm) en cada filtro fabricado, así mismo para poder disminuir la consistencia de la mezcla se procedió a añadir agua ultrapura con relación de proporcionalidad respecto a los coloides de 2:1 con el objetivo de adquirir muestras homogéneas. Del procedimiento antes mencionado, se prosiguió a agregar el preparado en moldes para posteriormente dejarlas secar por tres días a temperatura ambiente. Terminado dicho proceso, los filtros fueron llevados al horno por 6.5 h a una temperatura de 750 °C, para finalmente pasar a barnizar los filtros con la misma solución de su composición. (Fig.2)



Fig. 2. Protocolo de elaboración de filtros de arcilla con plata coloidal y nanopartículas de plata.

Con respecto al ensamblado, cada filtro se encajó en la parte inferior de los envases de plástico. Previamente, se aislaron los contornos de los filtros con teflón y se emplearon los anillos de hule que portaban los envases,

colocándolos encima del teflón para evitar cualquier fuga de agua. (Fig.3)



Fig. 3. Protocolo de ensamblado de filtros

*C. Preparación de muestras para análisis bacteriológico*

Con el fin de garantizar que los envases de plástico de 795 mL estén esterilizados y no modifiquen los resultados, se procedió a desinfectarlos con alcohol de 70°, durante un tiempo aproximado de 20 minutos. Así mismo se siguieron las recomendaciones de protocolo para la recolección y análisis bacteriológico del agua.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se muestran los resultados producto de la evaluación del proceso de síntesis verde de NP Ag, donde se empleó residuos de la producción vinícola en su elaboración.

Las NP Ag fueron evaluadas por espectrofotometría UV-Vis (Hewlett Packard, 8452A, CA, EE.UU), obteniendo los datos relativos a la ubicación del pico de plasmón en 423.27 nm, y su absorbancia característico de las NP Ag; este análisis nos reveló en un primer plano la presencia de nanopartículas (Fig. 4).

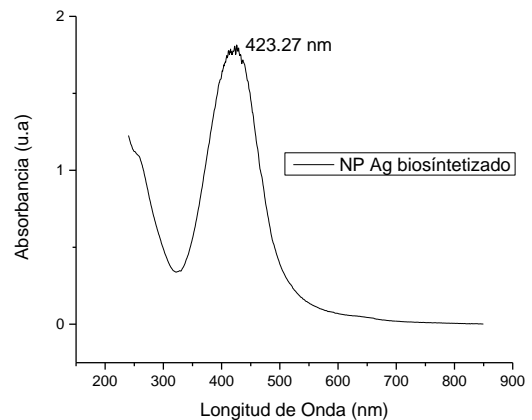


Figura 4. Espectrofotometría UV-Vis de nanopartículas de plata.

La ubicación del pico de resonancia de plasmón nos aseguró la formación de NP Ag, por lo cual se demuestra que el método de química verde utilizando extracto alcohólico de residuos provenientes de la producción vinícola es efectivo para la elaboración de nanopartículas.

Para establecer el mecanismo fitoquímico aproximado del proceso de reducción y formación de NP Ag fue evaluado por la técnica de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) (Thermo Scientific, Nicolet iS50, Alemania). El extracto de residuos provenientes de la producción vinícola utilizado como reductor estuvo en solvente alcohólico, las NP Ag se lograron debido al mecanismo de reducción respecto al precursor nitrato de plata, en la Fig. 5 se presenta el espectro FTIR y se observan bandas a  $3314\text{ cm}^{-1}$  y  $3341\text{ cm}^{-1}$  para el extracto y las NP Ag respectivamente, estos relacionados con grupos hidroxilo, en el primer caso corresponde a la función alcohol del metabolito secundario y en el segundo a la función hidróxido [25]. También se identificaron bandas en  $2922\text{ cm}^{-1}$  para ambos casos comparados, las cuales pertenecen a los estiramientos de  $-\text{CH}_2-$  y  $-\text{CH}_3$  el cual podría atribuirse a las uniones intermoleculares de la estructura química del extracto reductor y en el otro caso al etanol empleado [26]. Se encontró en el extracto alcohólico de uva una banda en  $1713\text{ cm}^{-1}$  que es la vibración de estiramiento de  $-\text{C}=\text{O}$  grupo carbonilo de la función cetona; también se identificó en el extracto la presencia de una señal en  $1204\text{ cm}^{-1}$  la cual atañe a la flexión  $-\text{C}-\text{O}$  posiblemente del grupo fenol, la misma que desaparece cuando se sintetizan las NP Ag, debido a que este grupo es el responsable de la reducción de la plata; las bandas a  $1566\text{ cm}^{-1}$  y  $1358\text{ cm}^{-1}$  son flexiones de  $-\text{N}-\text{O}$  de los grupos nitro; la banda a  $1035\text{ cm}^{-1}$  del extracto también es una flexión de  $-\text{C}-\text{O}$  y está relacionada con alcoholes primarios [25]. Con estos resultados, se considera que la capacidad reductora estuvo asociada con la presencia de metabolitos secundarios con grupos fenólicos presentes en el extracto alcohólico de residuos de uva, considerando que para extraer la mayor cantidad de compuestos fenólicos y antioxidantes es mejor hacerlo en medio alcohólico por su solubilidad.

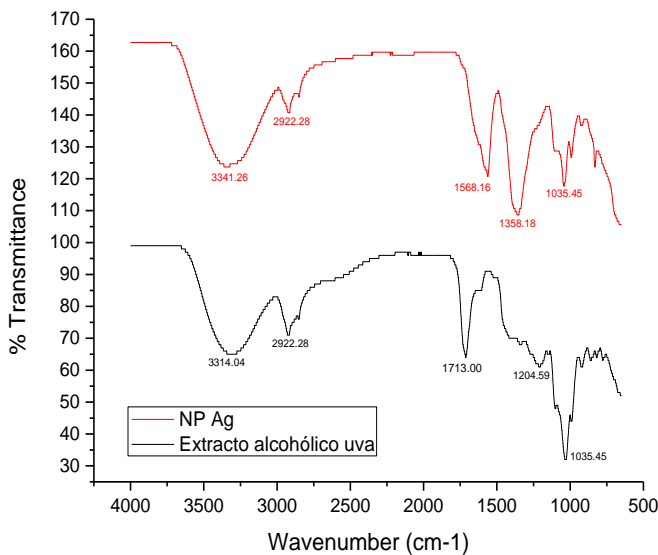


Figura 5. Espectro FTIR del extracto alcohólico de residuos de uva y las nanopartículas de plata biosintetizadas.

Respecto a la plata coloidal comercial, los resultados por espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Vis) denotan que este no es nanopartícula, esto debido a la inexistencia del pico de resonancia de plasmón en el rango de  $410 - 430\text{ nm}$ , cambiando de esta forma las propiedades físicas plasmónicas relacionadas a este metal. (Fig. 6)

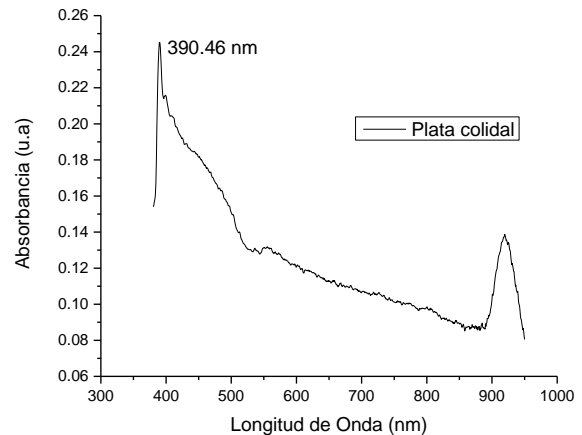


Figura 6. Espectrofotometría UV-Vis de la plata coloidal

Para la evaluación de la investigación respecto al potencial antibacterial, se extrajo muestras de agua del afluyente en mención, pasando a añadirse en los depósitos con filtros antes mencionados, extrayendo un volumen de  $300\text{ mL}$  en donde se mantuvo en goteo por alrededor de 3 horas en un promedio de 12 gotas/minuto, con el objetivo de recolectar las muestras de agua tratada; cabe destacar que los resultados bacteriológicos son el producto de un solo proceso de filtrado.

El análisis microbiológico se dio con todos los protocolos validados para la toma de muestra y su evaluación microbiológica, para ello, la recolección de las muestras de agua contaminadas se realizó en tres envases esterilizados, cada uno de  $100\text{ mL}$ ; estas muestras se analizaron bacteriológicamente en condiciones óptimas de temperatura, mediante el método de conteo por colonias (UFC/100 mL).

Los resultados de los análisis bacteriológicos indicaron que las cantidades iniciales de Heterótrofos mesófilos viables, Coliformes totales, Coliformes termotolerantes/ fecales y *Escherichia Coli* fueron de  $1.36 \times 10^6\text{ UFC}/100\text{ mL}$ ,  $1.1 \times 10^4\text{ NMP}/100\text{ mL}$ ,  $4.6 \times 10^3\text{ NMP}/100\text{ mL}$  y  $2.4 \times 10^3\text{ NMP}/100\text{ mL}$  respectivamente, siendo el más eficiente usando filtros con NP Ag y la remoción de heterótrofos mesófilos viables. Nótese en las Fig. 7, 8 y 9 la evaluación antibacterial.

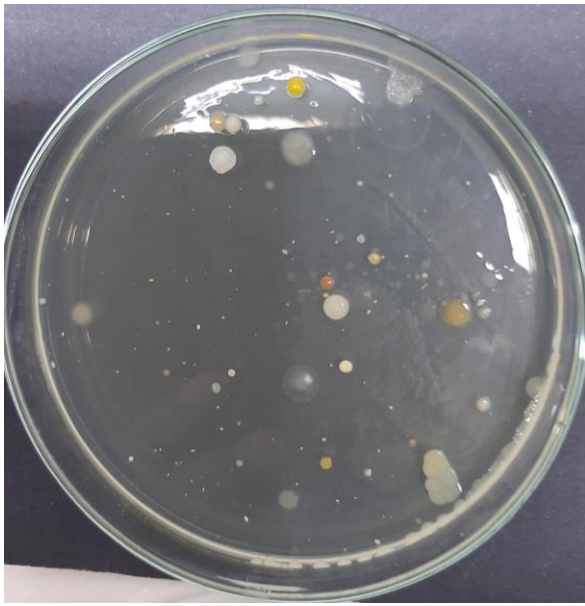


Figura 7. Recuento inicial de Heterótrofos mesófilos viables de agua de río 136 UFC/placa. Diluc.  $10^{-2}$  Heterótrofos:  $1.36 \times 10^6$  UFC/100mL.

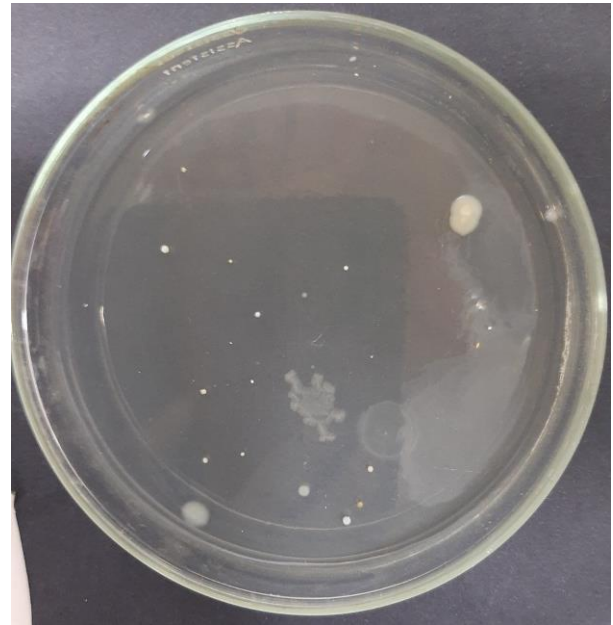


Figura 9. Recuento de Heterótrofos mesófilos viables del agua con tratamiento de nanopartículas de plata (NP Ag) 35 UFC/placa. Diluc.  $10^{-1}$  Heterótrofos mesófilos viables:  $3.5 \times 10^4$  UFC/100 mL

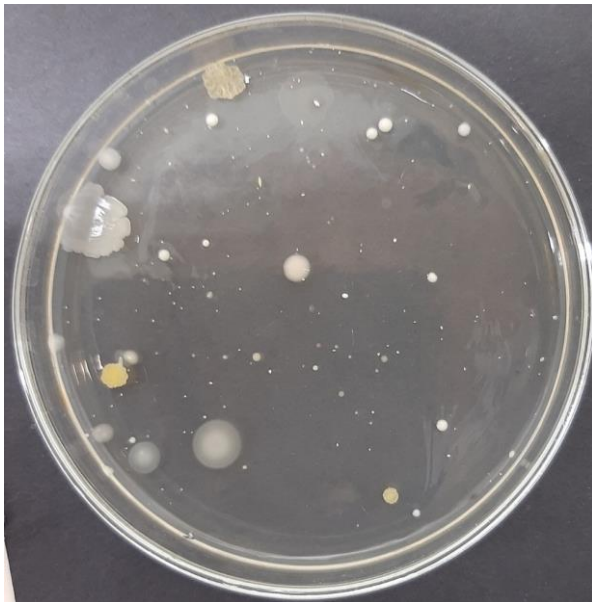


Figura 8. Recuento de Heterótrofos mesófilos viables del agua con tratamiento de plata coloidal comercial 144 UFC/placa. Diluc.  $10^{-1}$  Heterótrofos mesófilos viables:  $1.4 \times 10^5$  UFC/100 mL

De la misma muestra de agua, se analizaron recuentos de coliformes totales (NMP/100 mL), coliformes termotolerantes/fecales (NMP/100 mL) y *E. coli* (NMP/100 mL) cuyos resultados se muestran en la Tabla 1.

Los resultados obtenidos muestran una mayor eficiencia del filtro con agregado de NP Ag con respecto a la reducción de heterótrofos mesófilos viables y *Escherichia Coli*, esto se debe a que las NP Ag son de tamaño nanométrico y tienden a desprender iones, los cuales entran a la bacteria reaccionando con las enzimas de esta y modificando sus genes. En cambio, la plata coloidal al ser una sustancia con tamaño macrométrico, su acceso a la bacteria presenta mayor dificultad, evitando que actúe de una manera tan eficaz como el filtro con agregado de NP Ag.

En lo que corresponde a la calidad del agua, se determinó que las muestras sobrepasan la normativa DS N° 031-2010-SA. de Coliformes fecales, totales, bacterias heterotróficas y *E. Coli* establecidos por DIGESA – MINSA (Perú), el cual señala valores de  $<1,28$  NMP/100mL para coliformes fecales, totales y *Escherichia Coli*, y un límite máximo de 500 UFC/mL para las bacterias heterotróficas, indicando que la muestra inicial estuvo muy por encima de una muestra convencional de agua de afluente natural hídrico, cuyo efecto hubiese alcanzado la totalidad de eliminación de bacterias.

Se considera que, volviendo a someter el agua ya tratada por segunda vez en el filtro, la eficiencia sería posiblemente la totalidad de remoción bacterial.

Tabla 1. Resultados microbiológicos

<b>Recuentos Microbianos</b>	<b>Recuento Inicial</b>	<b>Eficiencia de filtro Ag Coloidal (%)</b>	<b>Eficiencia de filtro NP Ag (%)</b>
<b>Heterótrofos mesófilos viables</b>	1.36 x 10 <sup>6</sup> UFC/100mL	89.71	97.43
<b>Coliformes Totales</b>	1.1 x 10 <sup>4</sup> NMP/100mL	90	90
<b>Coliformes termo tolerantes/fecales</b>	4.6 x 10 <sup>3</sup> NMP/100mL	76.08	76.08
<b>E. Coli</b>	2.4 x 10 <sup>3</sup> NMP/100mL	54.17	90

#### IV. CONCLUSIONES

Se determinó la eficiencia del uso de los residuos de la producción vinícola para la síntesis verde de NP Ag, puesto que mediante la técnica de espectrofotometría UV-Vis se indicó la presencia del pico de resonancia de plasmón superficial de la plata. Utilizando la misma técnica se demostró que la plata coloidal no posee las características plasmónicas de nanopartícula, para lo cual se considera sólo partícula. Por otro lado, los resultados relacionados a las aplicaciones estuvo en torno a la evaluación del potencial efecto antibacterial en filtros de arcilla; en ese sentido, en primer lugar se realizó análisis bacteriológico a la muestra de agua del afluente en estudio, siendo el recuento inicial de heterótrofos mesófilos viables 1.36 x 10<sup>6</sup> UFC/100mL, coliformes totales 1.1 x 10<sup>4</sup> NMP/100mL, coliformes termotolerantes/fecales 4.6 x 10<sup>3</sup> NMP/100mL y *Escherichia Coli* 2.4 x 10<sup>3</sup> NMP/100mL; y en segundo lugar se evaluó el efecto inhibitor, siendo el caso del filtro con nanopartículas de plata el que mayor eficiencia tuvo respecto a la eliminación de heterótrofos mesófilos viables (97.43%), y *E. coli* (90%); para el caso del filtro con plata coloidal la inhibición fue menor; demostrándose de esta forma que la influencia del tamaño de partícula es vital, al margen del tipo de material usado. Cabe destacar que el mecanismo inhibitorio está basado en el ingreso del nanomaterial al ADN bacteriano y el efecto de alterar su genética para evitar su replicación.

#### AGRADECIMIENTO

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).

#### REFERENCIAS

- [1] Luján C. (2012). An investigation of the origin of the colour of the lycurgus cup by analytical transmission electron microscopy. Obtenido de Wiley Online Library: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.14754754.1990.tb01079.x>.
- [2] Pérez-Arántegui J. (2003). La tecnología de la cerámica mudéjar entre los siglos XIV y XVI: las producciones esmaltadas de las zonas de Teruel y Zaragoza. Congreso Ibérico de Arqueometría 2005. España.
- [3] Soriano, F. (2014). Eficiencia del filtro de arcilla en la purificación del agua para consumo humano en Cajamarca, Tesis de grado, Universidad Privada del Norte.
- [4] Contreras, C., & Elisban, P. (2018). Estudio de filtros cerámicos impregnados con plata coloidal, como un sistema de tratamiento de agua para procesos agroindustriales: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/8492>

- [5] Gulbranson SH, Hud JA, Hansen RC. (2000). Argyria que sigue el uso de los Suplementos Dietéticos que Contienen la proteína de plata coloidal. *Cutis*. 66 (5): 373-374.
- [6] Garcia, J., Jaramillo, A., Mosquera, R., Ortiz, A., y Londoño, E. (2006). Efecto de la plata coloidal frente a cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Facultad de Salud, Programa Odontología. Universidad Santiago de Cali. Colombia.
- [7] Delgado, G., Díaz, D., Zavala, C. (2015). Efecto de la plata coloidal en la evolución de la cicatrización de heridas quirúrgicas abdominales en ratas albinas (*Rattus norvegicus*). *Ciencia y Desarrollo*, 18(2), 7-12.
- [8] DL. Productos de Plata para las Indicaciones Médicas: Gravamen del Riesgo-Ventaja. *Diario de la Toxicología. Toxicología Clínica*. 1996; 34 (1): 119- 126
- [9] Stadelmann W.K., Digenis A.G. and Tobin G.R. (1998). Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *Harvard University* 176 (2): 26S-38SBowen
- [10] Plata Coloidal aniquila a más de 650 especies de microbios patógenos en minutos 2006 DSALUD:COM Ediciones MK3 Madrid España.
- [11] Der-Chi Tien, Kuo-Hsiung Tseng, Chih-Yu Liao, Tsing-Tshih Tsung. (2008). Colloidal silver fabrication using the spark discharge system and its antimicrobial effect on *Staphylococcus aureus*. *Medical Engineering & Physics*, 30(8), 948-952.
- [12] Source, P. (2018). Nanotechproject. Obtenido de Un inventario de productos de consumo basados en nanotecnología introducidos en el mercado: <http://www.nanotechproject.org/cpi/>.
- [13] Hansen, S. F. (2008). Obtenido de Marco de categorización para ayudar a evaluar la exposición de nanomateriales en productos de consumo. Springer Link: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10646-008-0210-4>.
- [14] Kim, J. S. et al. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 3(1), 95-101.
- [15] Marambio, C., & Erick Momb Hoek. (2010). A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *Journal of nanoparticle research*, 12, 1531-1551.
- [16] Shrivastava, S., & Bera, T. (2007). Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 18, 22.
- [17] Julio, P. R., & Kiser Wang, M. (2009). Remoción de nanomateriales de titanio y Liberación de aguas residuales con Plantas de Tratamiento. *Environmental Science & Technology*, 6757-6763.
- [18] Andreescu, S., & Njagi, J. (2009). Aplicaciones de nanomateriales avanzados para monitoreo ambiental. *Monitoreo Ambiental*, 2-38.
- [19] Klasen H. J. (1999). Historical review of the use of silver in the treatment of burns. *Burns*, 26(2000), 117-130.
- [20] Chen, R. (2007). Nanopartículas de plata: oxidación parcial y actividades antibacterianas. Springer Link, 527-534.
- [21] American Silver LLC. (2007). Composición coloidal antiviral de plata. Estados Unidos.
- [22] Asmat-Campos, D. & Col. (2019). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles, by the reductive action of the aqueous extract of blueberry (*Vaccinium corymbosum*). *Proceeding Lacccei 2019*. Jamaica.
- [23] Malak Hekmati, Sepideh Hasanirad & col. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles using extracts of *Allium rotundum* L., *Falcaria vulgaris* Bernh, and *Ferulago angulate* Boiss, and their antimicrobial effects in vitro. *Gene Reports*, 19 (100589)
- [24] Nair, S. L. (2007). Silver Nanoparticles: Synthesis and Therapeutic Applications. *Journal of biomedical nanotechnology*, 3 (16), 301-316.
- [25] Junior, V., Arruda, I., Bemme, L., et al. (2013). Caracterización térmica e espectroscópica de microcápsulas de quitosana incorporada de própolis", *Revista Eletrônica da Univar*, v. 2, n. 10, págs. 161 - 165, 2013.
- [26] Gutierrez-Gonçalves, Mej, Marcucci, Mc (2009). Actividade antimicrobiana e antioxidante da Própolis do Estado do Ceará", *Revista Fitos*, v.4, n.1, PP. 81-86.