



## Biosíntesis de nanopartículas de plata con extracto de queñua y su aplicación antibacteriana en el afluente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales del departamento de Cusco, Perú

### Resumen

El propósito de este estudio es investigar la capacidad antibacteriana de las nanopartículas de plata (AgNPs), biosintetizadas con extractos de queñua (*Polylepis racemosa*), en el afluente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) del departamento de Cusco, Perú. Los extractos de queñua se prepararon mediante maceración, utilizando como solventes agua destilada y una mezcla hidroetanólica al 50%. La biosíntesis se realizó mezclando  $\text{AgNO}_3$  0,1 M con los extractos preparados, después se estudió el efecto del pH de biosíntesis, la temperatura y el porcentaje de concentración de etanol sobre el tamaño de las AgNPs. Los resultados revelaron que las condiciones óptimas para obtener nanopartículas con tamaños hidrodinámicos de 58,68 nm, y estables después de 11 semanas de la biosíntesis, fueron cuando se usó extracto acuoso con pH de 10 y temperatura de 20 °C. Se evaluó la actividad antibacteriana de las AgNPs en 500 mL de agua residual con una carga inicial de  $33 \times 10^6$  MP/100 mL de coliformes totales y termotolerantes, los hallazgos indicaron que las dosis de AgNPs erradicaron casi el 100% de estos contaminantes, lo que sugiere que las AgNPs son un potencial agente antibacteriano.

**Palabras clave:** queñua; biosíntesis verde; actividad antibacteriana; nanopartículas de plata.

## Biosynthesis of silver nanoparticles with queñua extract and its antibacterial application in the influent of the Wastewater Treatment Plant of the department of Cusco, Peru

### Abstract

The purpose of the study was to investigate the antibacterial capacity of silver nanoparticles (AgNPs), biosynthesized with extracts of queñua (*Polylepis racemosa*), in the influent of the wastewater treatment plant (WWTP) of the department of Cusco, Peru. The queñua extracts were prepared by maceration, using distilled water and a 50% hydroethanolic mixture as solvents. The biosynthesis was carried out by mixing 0.1 M  $\text{AgNO}_3$  with the prepared extracts, then the effect of the biosynthesis pH, temperature, and the percentage of ethanol concentration on the size of the AgNPs was studied. The results revealed that the optimal conditions to obtain hydrodynamic sizes of 58.68 nm and stable after 11 weeks of biosynthesis were when aqueous extract was used with pH of 10 and a temperature of 20 °C. The antibacterial activity of the AgNPs was evaluated in 500 mL of wastewater with an initial load  $33 \times 10^6$  NMP/100 mL of total and thermotolerant coliforms, the findings indicated that the doses of AgNPs eradicated almost 100% of these contaminants, suggesting that AgNPs are a potential antibacterial agent.

**Keywords:** queñua; green biosynthesis; antibacterial activity; silver nanoparticles.

## Biossíntese de nanopartículas de prata com extrato de queñua e sua aplicação antibacteriana no afluente da Estação de Tratamento de Águas Residuais do departamento de Cusco, Peru

### Resumo

O objetivo do estudo foi investigar a capacidade antibacteriana de nanopartículas de prata (AgNPs), biosintetizadas com extratos de queñua (*Polylepis racemosa*), no afluente da estação de tratamento de águas residuais do departamento de Cusco, Peru. Os extratos de queñua foram preparados por maceração, utilizando água destilada e mistura hidroetanólica 50% como solventes. A biossíntese foi realizada misturando  $\text{AgNO}_3$  0,1 M com os extratos preparados, em seguida foi estudado o efeito do pH da biossíntese, da temperatura e da porcentagem da concentração de etanol no tamanho dos AgNPs. Os resultados revelaram que as condições ótimas para obtenção de tamanhos hidrodinâmicos de 58,68 nm, e estáveis após 11 semanas de biossíntese, foram quando foi utilizado extrato aquoso com pH de 10 e temperatura de 20 °C. A atividade antibacteriana das AgNPs foi avaliada em 500 mL de água residual com carga inicial  $33 \times 10^6$  NMP/100 mL de coliformes totais e termotolerantes, os achados indicaram que as doses de AgNPs erradicaram quase 100% desses contaminantes, sugerindo que AgNPs são um potencial agente antibacteriano.

**Palavras-chave:** queñua; biossíntese verde; atividade antibacteriana; nanopartículas de prata.



## Introducción

La cantidad de bacterias en el agua indica su grado de contaminación; por ejemplo, identificar la presencia de coliformes totales en el agua permite evaluar la efectividad de un proceso de desinfección. Si estas bacterias no están presentes en el agua, es un indicativo de que el agua no contiene contaminación microbiológica, pues estas bacterias son más resistentes a los procesos de desinfección que las bacterias que causan enfermedades [1].

Las nanopartículas de plata (AgNPs) actúan contra las bacterias uniéndose a ellas y penetrando en su interior, allí liberan plata elemental ( $\text{Ag}^0$ ), la cual provoca cambios estructurales en la membrana celular bacteriana, conocidos como picaduras. Estas alteraciones modifican la permeabilidad celular, lo que conduce a la muerte de la bacteria [2]. Las AgNPs con una mayor área de superficie interactúan con los microorganismos de manera más efectiva, lo que les permite adherirse a la superficie bacteriana y atravesar la membrana celular, esto las hace extremadamente tóxicas para las bacterias [3].

La Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR), ubicada en Cusco, Perú, trata las aguas residuales empleando métodos físicos, químicos y biológicos para mitigar los contaminantes físicos, químicos y microbiológicos. El tratamiento de aguas residuales ha mejorado en la PTAR, no obstante, existen obstáculos para eliminar los microorganismos patógenos que son dañinos para la salud. La implementación de técnicas basadas en nanotecnología podría ser una solución prometedora para perfeccionar la calidad de las aguas residuales y garantizar su reúso en el futuro. Con la nanotecnología se podrían mejorar los métodos tradicionales utilizados actualmente como la coagulación, floculación y la desinfección.

La nanotecnología es la investigación científica que permite comprender todos los fenómenos a escala nanométrica, a nivel atómico y molecular [4]. Las AgNPs son los nanomateriales más utilizados en la actualidad por el uso que se les puede dar como agentes antimicrobianos, obedeciendo a sus propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales, antiinflamatorias, anticancerígenas y antiangiogénicas. Hay tres formas diferentes de producir AgNPs: la síntesis física, química y biológica.

La síntesis biológica es el método para la obtención de nanopartículas (NPs) más segura y respetuosa con el medio ambiente. Los métodos biológicos crean NPs únicas mediante la acción de enzimas, microorganismos, extractos de plantas y hongos [5]. Las AgNPs biosintetizadas requieren de iones de plata en solución y de la acción de agentes reductores biológicos; la síntesis de NPs con extractos de plantas se destaca como el método más eficiente, simple, rentable y que ofrece una mayor versatilidad, pues permite controlar más variables que la síntesis con microorganismos. Además, tiene fortalezas, por ejemplo, permite controlar el tamaño de las NPs sin depender de agentes externos como polímeros, estabilizantes o surfactantes [6]. También cabe mencionar que la formación de AgNPs inicia con la formación de átomos de plata (clústeres), que finalmente resulta en las formaciones de AgNPs energéticamente estables. Los compuestos bioactivos (flavonoides, alcaloides, polifenoles y terpenoides) presentes actúan como reductores y como protectores de los átomos de plata durante este proceso [7].

El agente reductor empleado en este estudio, la queñua (*Polylepis racemosa*), es una planta endémica de las altas elevaciones de los Andes, caracterizada por tener un tronco retorcido y una corteza de color café rojizo que se desprende en delgadas láminas y hojas con folíolos pequeños, gruesos y cubiertos por resina y tricomas [8]. Según Cubas y Huaman [9], esta especie vegetal contiene una variedad de metabolitos secundarios: ácidos fenólicos, terpenos, flavonoides, entre otros; y según el tamizaje fitoquímico que realizaron del extracto etanólico al 96% de las hojas de queñua, revelaron la

presencia significativa de compuestos fenólicos, alcaloides, taninos, flavonoides y saponinas, así como trazas de triterpenos y esteroides. Como es sabido, estos metabolitos desempeñan un papel crucial en la reducción de los iones de plata ( $\text{Ag}^+$ ), como se aborda en el presente estudio. En definitiva, este estudio marca un hito en la investigación sobre la síntesis verde de AgNPs al presentar el uso de la queñua como un agente reductor novedoso y prometedor, ya que presenta una composición rica en metabolitos con alta capacidad reductora.

En anteriores investigaciones, se han sintetizado AgNPs empleando como agente reductor residuos de té verde y se obtuvieron NPs de forma hexagonal con bordes truncados, estas NPs presentan alta actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli* [10]. En la literatura científica también se sintetizaron AgNPs usando extractos de moras andinas, arándanos, café y *Berberis vulgaris*. Todos estos se caracterizan por tener alto contenido de compuestos bioactivos, los cuales poseen componentes fenólicos que, debido a sus características, tienen la capacidad de llevar a cabo una reducción de  $\text{Ag}^+$ . Las AgNPs obtenidas removieron bacterias coliformes totales y termotolerantes [11–14].

En este trabajo se hizo una biosíntesis de AgNPs con extractos de queñua y se indagó sobre la influencia del pH y la temperatura de biosíntesis en el tamaño de las NPs. Además, se investigó la eficacia de las AgNPs en la eliminación bacterias (coliformes totales y termotolerantes) presentes en el agua residual del afluente de la PTAR de Cusco, Perú.

## Materiales y métodos

### Materiales y Reactivos

Etanol 96° ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ; Nro. CAS: 64-17-5, Perú), hidróxido de sodio 99% ( $\text{NaOH}$ ; Merck Nro. CAS 1310-73-2, Alemania), nitrato de plata 99% ( $\text{AgNO}_3$ ; Merck Nro. CAS: 7761-88-8, Alemania) y agua destilada.

### Recolección de las muestras

Se recolectaron ramas y hojas de queñua originarios de Perú en la zona de Cusco, provincia de Urubamba, específicamente en el distrito de Calca, a una altitud de 2926 msnm, una latitud de  $13^\circ 19' 0''$  Sur y una longitud de  $71^\circ 57' 14''$  Oeste. Se procedió a su identificación y clasificación taxonómica en el Herbario Vargas de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, la muestra fue identificada como *Polylepis racemosa*. Adicionalmente, se recolectó una muestra compuesta del afluente al sedimentador primario de la PTAR de Cusco, Perú.

### Preparación de los extractos

La preparación del extracto acuoso e hidroetanólico se realizó según el método reportado por Caceda [15]. El solvente hidroetanólico se preparó mezclando etanol de 96° con agua destilada en una proporción del 50% v/v, seguidamente se prepararon extractos en concentraciones al 10% p/p con base al material seco de queñua. El extracto acuoso fue sometido a calentamiento en un baño termostático durante 40 min, alcanzando la temperatura de ebullición ( $84^\circ\text{C}$ ). El extracto hidroetanólico al 50% se dejó en maceración durante 5 días, luego se filtraron ambos extractos con papel filtro con la finalidad de separar el sobrenadante y el residuo sólido. Con el fin de evitar que los compuestos orgánicos de los extractos se oxidaran, particularmente los fenoles, se almacenaron en un ambiente fresco en botellas de color ámbar.

### Caracterización de los extractos de *Polylepis racemosa*

Para calcular la cantidad de compuestos fenólicos se empleó el método de Folin Ciocalteu, según Gutiérrez *et al.* [16]. La siguiente ecuación representa el modelo matemático de la curva patrón:

$$y = 0,0315(x) + 0,0692 \quad (1)$$

Donde  $x$  es la absorbancia a 765 nm,  $y$  es la concentración en mg de ácido gálico por litro (mg AG/L) y el valor de ajuste de  $R^2$  es de 0,99.

Se empleó la Ec. (2) para presentar los cálculos en mg AG/g de queñua [17].

$$C = c_1 * \frac{V}{M} \quad (2)$$

Donde  $V$  es el volumen de la muestra,  $M$  es la masa de la muestra,  $c_1$  es la concentración de ácido gálico en mg AG/L de extracto, y  $C$  es la concentración de ácido gálico en mg AG/g de queñua.

### Biosíntesis de AgNPs

Basados en experiencias previas de pruebas preexperimentales, se biosintetizaron las AgNPs mezclando en una proporción de 1:3 los extractos con el  $AgNO_3$  0,1 M. Después se ajustó el pH con NaOH 0,1 M hasta obtener un pH de 7, 10 y 12, seguido de una agitación constante a 350 rpm durante 24 h. En el caso de los ensayos de biosíntesis a temperatura de 60 °C, se usó una plancha calefactora de baño maría durante 30 min a temperatura constante controlada mediante un termómetro. Una vez finalizados, los experimentos se almacenaron en botellas color ámbar recubiertas con papel aluminio, la variable dependiente fue el tamaño de las AgNPs y las variables independientes se presentan en la **tabla 1**.

**Tabla 1.** Variables independientes y sus valores para los experimentos de biosíntesis de AgNPs.

Niveles (valores)	Variables independientes		
	Cantidad de etanol en el solvente (%)	pH	Temperatura (°C)
1	0	7	20
2	-	10	-
3	50	12	60

Se realizó un diseño factorial multinivel con base a las variables independientes y los niveles presentados en la **tabla 1**, el resultado fue un total de 12 experimentos presentados en la **tabla 2**.

**Tabla 2.** Experimentos de biosíntesis de AgNPs.

	N.º de ensayo											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Cantidad de etanol (%)	50	50	50	0	0	50	0	50	0	0	50	0
pH	7	12	7	7	12	10	7	12	10	10	10	12
T (°C)	20	20	60	60	20	60	20	60	60	20	20	60

### Caracterización de las NPs

El espectrómetro modelo Thermo Evolution 3000 se utilizó para definir la banda de plasmón de superficie de las NPs mediante espectrofotometría UV-visible. Los espectros obtenidos se evaluaron utilizando el software Origin 2022b. Se tomaron muestras a dos intervalos de tiempo durante un mes para monitorear la evolución de las longitudes de onda en la solución de reacción. El objetivo era observar la estabilidad de las NPs a lo largo del tiempo.

El análisis DLS (*Dynamic Light Scattering*) se realizó 11 semanas después del inicio del proceso de biosíntesis, en un equipo del modelo Zetasizer Nano Z, con la finalidad de examinar y monitorear la polidispersidad, la distribución de tamaño y la estabilidad de los coloides. Los parámetros de operación del DLS fueron:

- Temperatura: 25 °C
- Medio dispersante: agua
- Índice de refracción del dispersante: 1,33
- Viscosidad: 0,89 cP
- Ángulo de medición: 90°

### Composición elemental y morfología de las AgNPs

La caracterización morfológica, se realizó utilizando un equipo de microscopía electrónica de barrido (SEM), modelo Tescan Mira 3. Mediante la técnica de Energy Dispersive X (EDX) y potencial Z, se evaluó la composición elemental y carga superficial de las NPs, respectivamente. Estos análisis se realizaron después de 14 semanas de la síntesis, para evaluar la morfología y la estabilidad de las AgNPs.

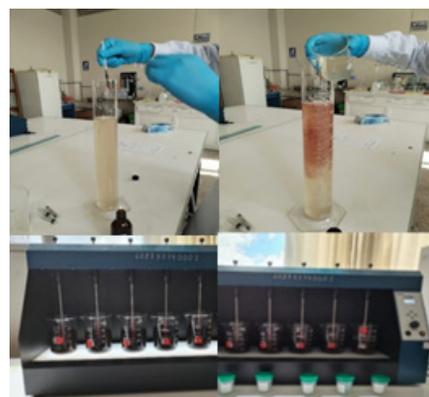
### Análisis estadístico

Se desarrolló el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de las variables, así mismo, se estudió el efecto de cada una de las variables sobre la dispersión de los tamaños hidrodinámicos de las AgNPs. Por otro lado, se estableció un modelo matemático para relacionar las variables investigadas. El software Statgraphics Centurion 18-X64 se utilizó para evaluar el análisis estadístico (la autorización de Software Shop fue adquirida en el año 2022).

### Aplicación de las NPs en el afluente de la PTAR

La aplicación antibacteriana se realizó sobre 10 L de agua residual filtrada que se obtuvo del ingreso al primer sedimentador de la PTAR. La **figura 1** muestra los pasos que se siguieron para tratar la muestra de agua de la PTAR.

Con base a pruebas preexperimentales, se expusieron 500 mL de agua filtrada a diferentes dosis de AgNPs en solución coloidal del extracto (50, 70, 90, 110 y 130 mL) para evaluar la actividad antibacteriana, se utilizó un equipo de pruebas de jarras para agitar las muestras durante 30 min a una velocidad constante de 250 rpm, luego se dejó reposar las muestras durante 20 min. La **figura 1** ilustra el proceso de dosificación de AgNPs en las muestras de agua de la PTAR.



**Figura 1.** Muestras de agua filtradas después de aplicar nanopartículas de plata (AgNPs). Se observa el agua previamente filtrada para después aplicar las AgNPs, las cuales se dispersan en el líquido. La solución formada es mezclada con agitación continua en los vasos precipitados.

Se utilizó el método de dilución en tubo múltiple para realizar el análisis bacteriano [18], el cual se realizó por triplicado para determinar la cantidad total de coliformes y termotolerantes, tanto en la muestra filtrada inicial como en las que fueron expuestas con dosis de AgNPs, con la finalidad de comparar los resultados.

Se utilizó la Ec. (3) para determinar el % de eliminación de bacterias:

$$\% \text{ de eliminación} = \frac{m_i - m_f}{m_i} * 100 \quad (3)$$

Donde  $m_f$  son los coliformes totales en la muestra con dosificación de AgNPs y  $m_i$  son los coliformes totales en la muestra de agua filtrada.

Tabla 3. Cantidad de compuestos fenólicos en los extractos hidroetanólico 50% y acuoso de queñua.

	Cantidad total de compuestos fenólicos				
	R1 Equivalentes de AG mg/mL de extracto	R2 Equivalentes de AG mg/mL de extracto	R3 Equivalentes de AG mg/mL de extracto	Promedio Equivalentes de AG mg/mL de extracto	Promedio Equivalentes de AG mg/g de queñua
Extracto hidroetanólico 50% de queñua	19,09	19,21	19,04	19,11	95,58
Extracto acuoso de queñua	10,98	11,09	11,15	11,07	55,38

R: repetición por cada muestra.  
AG: ácido gálico.

## Resultados y discusión

### Determinación de compuestos fenólicos totales del extracto de queñua

En la **tabla 3** se proporciona información sobre la cantidad de compuestos fenólicos en los extractos de queñua.

El extracto hidroetanólico al 50% mostró mayor concentración de compuestos fenólicos totales que el extracto acuoso, esta diferencia podría explicarse a la distinta naturaleza de polaridad de los solventes. Además, cabe resaltar que la temperatura tuvo un impacto significativo en la extracción de compuestos fenólicos del extracto acuoso, el cual ebulló a 84 °C durante 40 min. Investigaciones anteriores, como las de Muñoz *et al.* [19], subrayan la importancia de la temperatura en la extracción acuosa de compuestos fenólicos, así mismo, Shahidi y Ambigaipal [20] mencionan que los compuestos fenólicos son los responsables de las propiedades antioxidantes y reductoras de los extractos, por lo tanto, los compuestos reducen los iones de plata ( $\text{Ag}^+$ ) a plata elemental ( $\text{Ag}^0$ ) al donar electrones.

### Biosíntesis de las AgNPs

De los 12 ensayos de AgNPs sintetizados, se observó que poco después de agregar el extracto de queñua a la solución de  $\text{AgNO}_3$ , las muestras experimentaron un cambio en su apariencia física. La **figura 2** muestra la variación de color a marrón oscuro provocado por la adición de 0,1 M de NaOH a la mezcla de reacción, lo cual indica la formación de AgNPs. Rodríguez *et al.* [21] explican que la variación de color se produce debido a la fuerte absorción de luz visible causada por la excitación del plasmón superficial de las NPs. Así mismo, según Cumbal *et al.* [11], la variación de color indica el inicio de la reducción de  $\text{Ag}^+$  para generar  $\text{Ag}^0$ , que luego se agrupan para formar AgNPs. Además, se demostró que los extractos con tallos y hojas de plantas tuvieron un impacto directo en la síntesis originado por los compuestos fitoquímicos que contienen grupos hidroxilo, carboxilo y fenólicos, así como otros metabolitos que podrían haber contribuido a la síntesis.



Figura 2. Mezcla de reacción entre los extractos acuosos de queñua, la solución de  $\text{AgNO}_3$  y NaOH.

### Efecto del pH

El control de pH es fundamental para la síntesis de AgNPs; cuando el pH aumenta hacia valores alcalinos, las AgNPs de tipo esférico muestran bandas de longitud de onda características que abarcan aproximadamente los 420 nm [22]. Martínez *et al.* indican que las AgNPs sintetizadas a pH alcalino tienen una mayor concentración como resultado del aumento del pH de las mezclas de reacción [23].

### Efecto de la temperatura

Según Sánchez [24], la temperatura es un factor importante para controlar el tamaño de las AgNPs porque afecta la etapa de nucleación, la cual se desarrolla más rápido a altas temperaturas, por lo tanto, se produce un crecimiento de núcleos de  $\text{Ag}^0$ , esto permite a las AgNPs tener una etapa de crecimiento homogénea, lo que produce partículas de tamaño similar.

Sin embargo, en la presente investigación a 60 °C, las AgNPs sintetizadas mostraron un desplazamiento hacia longitudes de onda mayores (**figura 3** y **figura 4**) en su evolución de estabilidad en el tiempo, lo que indicaría que las AgNPs son más grandes. Según Jiang [25], este fenómeno podría explicarse por el aumento proporcional de la temperatura que provoca un crecimiento más rápido de las NPs durante la unión de los clústeres de plata. Esto se traduce en una agregación sin control durante el crecimiento, ya que las NPs se unen entre sí sin ninguna restricción en cuanto a su tamaño.

### Caracterización del tamaño de las AgNPs

Se constata a detalle en la **tabla 4** los picos de superficie de plasmón superficial (SPR) de cada ensayo de biosíntesis de AgNPs con extracto acuoso en las diferentes fechas de análisis.

Tabla 4. Resultados de las longitudes de onda ( $\lambda$ ) de las AgNPs biosintetizadas con extracto acuoso de queñua.

Ensayo n.º	T (°C)	pH	Fecha: 22/11/22	Fecha: 22/12/22
			(nm)	(nm)
4	60	7	416	421
5	20	12	410	411
7	20	7	417	419
9	60	10	413	415
10	20	10	405	405
12	60	12	406	408

Las representaciones gráficas de los espectros de SPR de las AgNPs se muestran en la **figura 3**.

Según sus características visuales y los valores de absorbancia registrados, se identificaron AgNPs con probable morfología esférica en intervalos de anchos de banda de 405 a 421 nm. Los hallazgos coinciden con los de Pardo *et al.* [26], ellos encontraron que las AgNPs tienen formas esféricas con diámetros de entre 1 y 50 nm en el rango de longitudes de onda mencionado. Según Cruz *et al.* [27], el

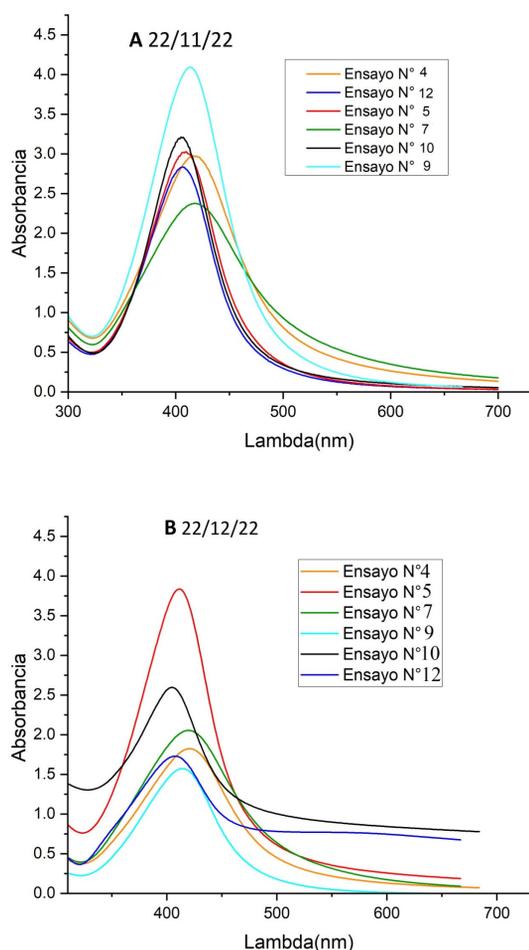


Figura 3. UV-visible de AgNPs con extracto acuoso de queñua.

desplazamiento a longitudes de onda más largas y el ancho de banda de absorción aumentan con las AgNPs más grandes. Esto se debe a que el campo eléctrico no es uniforme dentro de las partículas, lo cual reduce la densidad de la carga en su superficie.

En la mayoría de los experimentos, los espectros exhibieron un desplazamiento a longitudes de onda mayores a lo largo del tiempo, esto podría deberse a que continúa una reacción lenta de reducción de  $Ag^+$  a  $Ag^0$ , aumentando probablemente el tamaño de las partículas hasta tener una forma energéticamente favorable.

Por otro lado, el espectro UV del ensayo diez (pH: 10, T: 20 °C) permaneció sin variaciones en su banda de longitud de onda, esto confirma la estabilidad y uniformidad de las AgNPs en una solución coloidal, conservando su forma esférica.

En la **tabla 5** se muestran los tamaños hidrodinámicos (Z) de las AgNPs.

Tabla 5. Tamaños hidrodinámicos (Z) de las AgNPs con extracto acuoso de queñua.

N.º de ensayo	Temperatura (°C)	pH	Z (nm)	Pdl
4	60	7	111,20	0,50
5	20	12	147,60	0,43
7	20	7	178,50	0,40
9	60	10	52,44	0,25
10	20	10	58,68	0,48
12	60	12	48,89	0,48

Z: tamaño hidrodinámico promedio.  
Pdl: índice de polidispersidad de las NPs.

La mayoría de ensayos muestran Pdl similares, esto sugiere que las muestras tienen una gama variada de tamaños, lo que puede ocurrir debido a que con el tiempo las muestras tienen la tendencia a aglomerarse. En referencia a Botasini [28], el promedio Z puede sobreestimar el tamaño hidrodinámico de las muestras polidispersas. Esto se debe a que Z es la media aritmética de las poblaciones de

partículas presentes, donde las de mayor tamaño tienen pesos relativos superiores en la cantidad de luz dispersada en comparación con las partículas más pequeñas.

Los picos de SPR de cada ensayo de biosíntesis de AgNPs con extracto hidroetanólico al 50% de queñua se exhiben en la **tabla 6**.

Tabla 6. Resultados de las longitudes de onda ( $\lambda$ ) de las AgNPs biosintetizadas con extracto hidroetanólico al 50% de queñua.

Ensayo n.º	T (°C)	pH	Fecha: 25/11/22	Fecha: 28/12/22
			(nm)	(nm)
1	20	7	429	428
2	20	12	419	412
3	60	7	428	429
6	60	10	419	422
8	60	12	415	411
11	20	10	425	424

Los espectros UV-vis exhibieron una franja de absorción de energía entre 411 y 429 nm. Los picos de SPR de las AgNPs sintetizadas con extracto hidroetanólico tuvieron mayores longitudes de onda que los de las AgNPs sintetizadas con extracto acuoso. Según You-saf *et al.* [29], la existencia de diversos grupos funcionales en los extractos podría ser el motivo de la variación de tamaño y forma de las AgNPs sintetizadas. Los compuestos presentes en los extractos hidroetanólicos generalmente tienen un tamaño molecular más grande y poseen superior capacidad de unirse a las AgNPs, lo que resultaría en la conformación de partículas más grandes.

Los espectros de las AgNPs biosintetizadas con extracto hidroetanólico al 50% de queñua se observan en la **figura 4**.

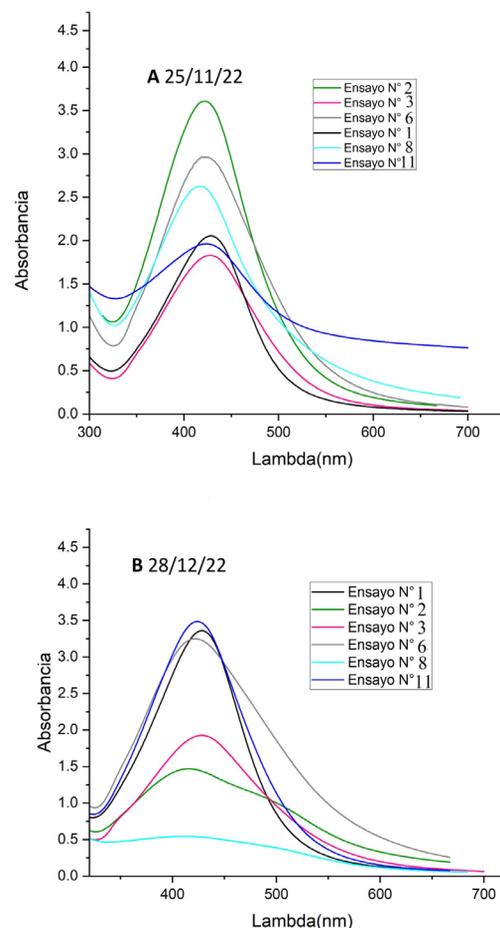


Figura 4. UV-visible de AgNPs con extracto hidroetanólico al 50% de queñua.

En la **figura 4B** se observa la aparición de bandas de longitud de onda de resonancia dipolar, distintivas de las NPs de grandes tamaños. Cuando el pH es superior de 10, la temperatura de 60 °C y la concentración superior de compuestos fenólicos, las AgNPs crecen

a un ritmo acelerado e incontrolable. Esto promueve las polidispersidad y aglomeración de las NPs, lo que se refleja en el tiempo. En la **tabla 7** se muestran los tamaños hidrodinámicos de las AgNPs biosintetizadas con extracto hidroetanólico al 50%.

**Tabla 7.** Tamaños hidrodinámicos promedio (Z) de las AgNPs con extracto hidroetanólico al 50% de queñua.

N.º de ensayo	Temperatura(°C)	pH	Z (nm)	Pdl
1	20	7	49,82	0,56
2	20	12	84,54	0,24
3	60	7	220,70	0,71
6	60	10	62,70	0,50
8	60	12	268,4	0,60
11	20	10	34,77	0,60

Z: tamaño hidrodinámico promedio.  
Pdl: índice de polidispersidad de las NPs.

Los valores mayores de Pdl en los extractos hidroetanólicos al 50% sugieren que las AgNPs tienen una heterogénea distribución de tamaños, esto coincide con los espectros UV-vis que muestran que las AgNPs son más polidispersas y tienden a juntarse. Los ensayos tres (pH:7 y T: 60 °C) y ocho (pH:12 y T: 60 °C) mostraron Z más altos y mayores Pdl, por lo tanto, la temperatura de síntesis puede haber sido un factor que influyó en la formación de AgNPs. Estos resultados son similares a lo que observaron Liu *et al.* [30], que la alta temperatura favorece la formación de NPs, pero solo si hay suficiente cantidad de iones de agente precursor Ag<sup>+</sup>, si la cantidad de iones Ag<sup>+</sup> es insuficiente, la nucleación se produce muy rápidamente, lo que impide el crecimiento de las NPs.

### Análisis estadístico

#### Análisis de las variables

La **tabla 8** muestra los resultados del análisis de varianza (ANOVA).

**Tabla 8.** Resultado del análisis de varianza para AgNPs obtenidas con extracto acuso e hidroetanólico de queñua.

Fuente	Valor P	Cuadrado medio	Suma de cuadrados
A	0,529	1273,49	1273,49
B	0,945	14,55	14,55
C	0,307	3689,71	3689,71
AA	0,297	3855,74	3855,74
AC	0,036	25.661,4	25.661,40
BB	0,052	19.979,8	19.979,80
BC	0,906	42,4581	42,45
Error total		2695,79	10.783,20
Total (corr.)			65.300,30

Valor P: medida de la credibilidad de la hipótesis nula.

A: cantidad de etanol.

B: pH.

C: temperatura.

AA: interacción de cantidad de etanol - pH.

AC: interacción de cantidad de etanol -temperatura de biosíntesis.

BB: interacción de pH.

BC: interacción pH-temperatura de biosíntesis.

De la **tabla 8** se deduce que el tipo de extracto y la temperatura no influyeron significativamente en el tamaño de las AgNPs. Sin embargo, la interacción entre estos dos factores tuvo un impacto significativo, esto señala que las dimensiones de las AgNPs no son determinadas de manera individual por cada factor, sino que surgen de la interacción compleja entre estos. En consecuencia, se respalda la hipótesis alternativa que sugiere que la combinación específica de factores, incluyendo la temperatura y el tipo de extracto, impacta directamente en el tamaño de las AgNPs.

### Efectos estimados para el tamaño de las AgNPs

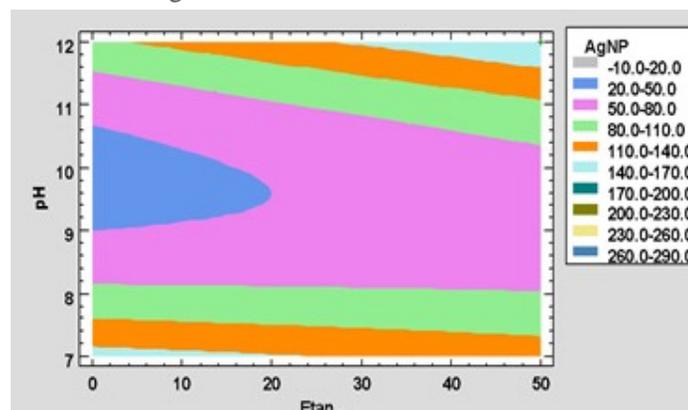
**Tabla 9.** Efectos estimados del tamaño hidrodinámico de las AgNPs obtenidas con extracto acuso e hidroetanólico de queñua.

Efecto	Factor de inflación de varianza (VIF)	Estimado	Intervalo de confianza
Promedio		52,14	± 72,08
A	1,0	20,60	± 83,23
B	1,0	-2,70	± 101,93
C	1,0	35,07	± 83,23
AB	1,0	43,91	± 101,93
AC	1,0	92,49	± 83,23
BB	1,0	73,12	± 176,56
BC	1,0	-4,61	± 101,93

En la **tabla 9**, para evaluar la influencia de las variables, se calculó la disparidad entre los niveles altos y bajos, así como el promedio de estos niveles para cada variable. Según el factor de inflación de varianza (VIF), no existe multicolinealidad entre las variables independientes. Las siguientes son las estimaciones de los efectos:

- Un aumento promedio de 35,07 nm en la distribución de tamaños de las NPs se produce al aumentar la temperatura de 20 a 60 °C.
- Las AgNPs aumentan de tamaño en promedio 20,60 nm como resultado de la transición de solvente acuoso a hidroetanólico (50%).
- Para el pH el efecto resultó negativo, lo cual condujo a la disminución del tamaño de las NPs en 2,70 nm al aumentar el pH de 7 a 12.

### Modelo de regresión



**Figura 5.** Superficie de respuesta estimada, a partir del modelo matemático presentado en la Ec. (4), del tamaño hidrodinámico de las AgNPs obtenidas con diferentes % de etanol en el extracto de queñua.

El modelo de regresión utilizado para predecir el tamaño de las AgNPs se representa gráficamente en la **figura 5**. Debido a que el pH no varía de manera lineal, la superficie de respuesta estimada es una parábola. Por lo tanto, se puede observar que los rangos que están marcados de azul y rosado son donde se obtienen dimensiones de menor tamaño a 80 nm de AgNPs, en condiciones de pH inferior a 10 y concentración de etanol del 0 al 50%. Mientras que la tonalidad azul solo indica las condiciones ideales para obtener AgNPs con un tamaño menor a 50 nm, estas condiciones se dan empleando extractos acuosos o extractos con un contenido de etanol no superior al 20%. Los colores naranja, celeste y verde indican que un pH mayor a 11,5, y emplear extractos hidroetanólicos o acuosos, no es adecuado para la síntesis de AgNPs, ya que producen NPs de gran tamaño.

El modelo matemático que representa la biosíntesis de AgNPs es:

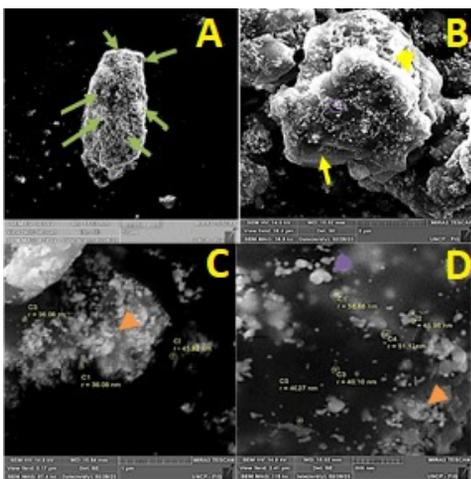
$$\text{Tamaño hidrodinámico (nm)} = 1420,21 - 270,617 \times \text{pH} - 6,62437 \times \text{CE} - 0,997704 \times T + 0,0924867 \times \text{CE} \times T + 0,35126 \times \text{CE} \times \text{pH} + 13,8494 \times \text{pH}^2 - 0,046075 \times \text{pH} \times T \quad (4)$$

Donde T es la temperatura de biosíntesis, CE es la cantidad de etanol y  $R^2 = 83,48\%$ .

El valor de  $R^2$  indica que el modelo de regresión puede explicar el 83,48% de la variación en el tamaño de las AgNPs. Esto indica que el modelo puede predecir el tamaño de las AgNPs en función de los factores mencionados y se ajusta bien a los datos experimentales.

### Caracterización por microscopía electrónica de barrido (SEM)

La **figura 6** muestra las microfotografías emitidas por la SEM en el ensayo diez, el cual mantuvo una mejor estabilidad a lo largo del tiempo y también presentó las mejores condiciones de réplica por la simplicidad de preparación del extracto acuoso de queñua. Según los hallazgos de la presente investigación, la biosíntesis de AgNPs a un pH de 10 y una temperatura de 20 °C, son condiciones donde las NPs presentaron tamaños hidrodinámicos promedios de 58,68 nm, aunque también se obtuvieron NPs de menor tamaño con diferencias de solo el 1,15% a condiciones de temperatura de 60 °C y pH 12 empleando extracto acuoso de queñua; sin embargo, esto significaría un mayor control del proceso y costo de producción en escala piloto o industrial, es por eso que se descartaron los otros ensayos.



**Figura 6.** Microfotografías de las nanopartículas (NPs). A: 7,3 kx, B: 16.9 kx, C: 87,4 kx y D: 115 kx.

Se pudo evidenciar la existencia de plata metálica (**figura 6A**, señaladas con flechas verdes), las cuales, según Pardo *et al.* [26], se observan como puntos blancos brillantes en las micrografías debido a sus propiedades lumínicas.

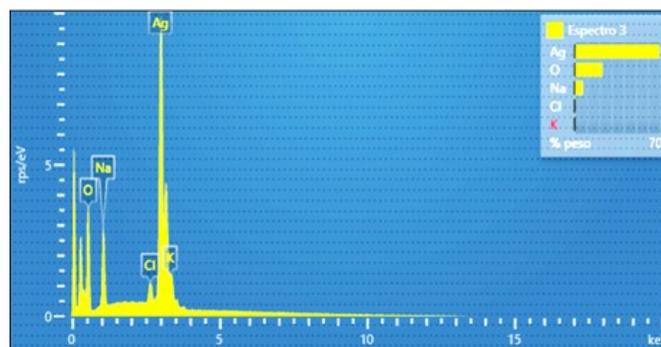
También se observa una fase de color gris más suave (señalado con una flecha amarilla en la **figura 6B**). Zahir *et al.* [31] mencionan que esta película se identifica como la parte orgánica, y según Asif *et al.* [32], la película se compone de sustancias orgánicas extraídas de plantas y materia orgánica que rodea las NPs. Esta materia orgánica se ve como una capa gruesa que rodea las NPs. Estos materiales son los que brindan estabilidad a las AgNPs.

Mediante esta técnica se observaron algunas NPs grandes, de hasta 119,30 nm de radio, y otras pequeñas de hasta 36,06 nm. Sin embargo, también se detectaron partículas de tamaño inferior a 60 nm de diámetro, pero no se pudo determinar su tamaño exacto debido a las limitaciones de la técnica. La muestra estaba compuesta por más del 85% de nanoestructuras esféricas, de las cuales el 95% eran AgNPs y el 5% eran material vegetal. Los resultados obtenidos confirman que la muestra es polidispersa, tal y como se demostró en el análisis de DLS.

Las partículas más pequeñas, representadas por las flechas naranjas en las **figuras 6C** y **6D**, forman una capa alrededor de las partículas de mayor tamaño, lo que conduce a la creación de agregados. Según Koehler *et al.* [33], las NPs se atraen entre sí debido a la carga eléctrica excesiva en su superficie, cuanto mayor sea el número de car-

gas eléctricas en exceso mayor es esta atracción. En otras palabras, las NPs con una alta carga eléctrica en su superficie se repelen entre sí, lo que les impide agruparse. Por el contrario, es más probable que se agrupen las NPs con una carga eléctrica menor en su superficie. La deshidratación de la muestra durante la preparación para las técnicas de análisis puede hacer que las partículas se reduzcan de tamaño y se agrupen.

La **figura 7** presenta los hallazgos del análisis de EDX, los cuales indican la composición de las AgNPs, compuestas principalmente por plata elemental ( $Ag^0$ ). Esto se deduce porque se observa un pico pronunciado y una energía de 3 keV que, según Paulkumar *et al.* [34], es la energía característica de los rayos X emitidos por la plata.



**Figura 7.** Composición elemental emitida por espectroscopia de rayos X de AgNPs biosintetizadas con extracto acuoso de queñua.

La espectroscopia de rayos X mostró que las AgNPs están compuestas principalmente por  $Ag^0$  (69,31%), pero también hay presencia de O (22,57%), Na (6,66%) y K (1,46%). Estos últimos elementos pueden ser el resultado de biomoléculas presentes en la superficie de las AgNPs que las protegen de la degradación.

Después de 14 semanas, se confirmó mediante el análisis EDX los elementos en las AgNPs, el 69,31% era  $Ag^0$ . Los hallazgos corroboran los resultados de la investigación de Menon *et al.* [35], en la que el análisis EDX indica la presencia de  $Ag^0$ , Cl, C y O. Según ellos, estos grupos funcionales se adsorben en las NPs.

Los autores Srirangam y Parameswara [36] llevaron a cabo la síntesis utilizando extracto de *Malachra capitata* L. donde observaron que los espectros mostraban  $Ag^0$  en 70,36% y un porcentaje de C del 35,13%, también mencionan que el porcentaje de  $Ag^0$  es un indicador de la eficiencia de conversión. En el estudio de Femi *et al.* [37] se biosintetizaron AgNPs con *Gleichenia pectinata* (Willd.) C. Presl, en los espectros observaron la presencia del pico característico de  $Ag^0$  a 3 keV  $Ag^0$  en un porcentaje del 16%, ellos también descubrieron la presencia de otros elementos químicos como O (68%), Si (12%), Al (5%) y K (4%), que se encontraban en la superficie de las AgNPs formando una capa orgánica de recubrimiento.

Según Bhattacharjee *et al.* [38], la técnica de potencial Z puede evaluar la carga superficial de las NPs, y si tienen cargas superficiales más bajas, suelen agruparse, coagularse o flocularse. Por el contrario, las NPs con cargas superficiales más altas de  $\pm 30$  mV tienden a repelerse entre sí, esto indica que las partículas no se atraen entre sí, por lo que no se agrupan ni se floculan. También, Elamawi *et al.* [39] mencionan que cuando las AgNPs tienen una carga negativa se repelen con otras partículas, lo que evita que se agrupen. En la presente investigación se obtuvo un valor de  $-10$  mV, pues la biosíntesis a un pH de 10 fomenta la formación de AgNPs con una mayor carga negativa, según lo reportado por Bélteky *et al.* [40], que investigaron cómo los grupos funcionales que se encuentran en las superficies de las NPs son susceptibles a perder protones en soluciones básicas, esto permite incrementar la carga superficial negativa de dichas NPs; por lo tanto, el valor Z de la muestra probablemente fuera mayor al principio de la síntesis que después de un período de 14 semanas. La probable reducción en el valor de

Z puede ser atribuible a una combinación de factores, incluyendo la adsorción de biomoléculas a la superficie de las partículas y la oxidación de la plata. Asimismo, la matriz biológica del extracto de queñua puede ayudar a estabilizar las AgNPs, incluso después de que su carga negativa haya disminuido. Las biomoléculas presentes en el extracto podrían estar adsorbiéndose a la superficie de las partículas y generando una carga negativa adicional.

### Aplicación antibacteriana

Tabla 10. Aplicación de AgNPs en solución acuosa en 500 mL de agua filtrada.

Ensayo	(mL) AgNPs	NMP CT/100 mL	NMP CTL/100 mL	% de eliminación de bacterias
1		33 × 106	33 × 106	-
2	50	1,8	1,8	100
3	70	1,8	1,8	100
4	90	1,8	1,8	100
5	110	1,8	1,8	100
6	130	1,8	1,8	100

CT: coliformes totales.

CTL: coliformes termotolerantes.

Las dosis de AgNPs en solución acuosa aplicadas a las muestras de agua se muestra en la **tabla 10**. La muestra filtrada contenía coliformes totales y coliformes termotolerantes en una cantidad de 33 × 106 NMP/100 mL. Después de haber aplicado las diferentes dosis, se redujo a menos de 1,8 NMP/100 mL, esto indica que se produjo una eliminación de prácticamente el 100%. Este resultado afirma lo mencionado por Ticllacuri y Travezaño [12], quienes han encontrado que las NPs de tamaño nanométrico tienen una mayor capacidad de supresión de coliformes totales y termotolerantes. Según Menon et al. [35], las AgNPs poseen la capacidad de eliminar bacterias al interrumpir la permeabilidad y la respiración de la membrana celular. Además, se unen a moléculas con azufre, lo que produce sustancias que dañan la célula a nivel molecular. Se cree que las AgNPs interfieren con enzimas y proteínas necesarias para producir Adenosín Trifosfato (ATP) en las células bacterianas, lo que interrumpe la función celular y mata las bacterias.

Los resultados de esta investigación señalan que las AgNPs son efectivas en el tratamiento antibacteriano. Esto significa que la PTAR podría cumplir con los requisitos de calidad ambiental para aguas de categoría uno (coliformes inferiores a 50 NMP/100 mL) [41]. Sin embargo, deben realizarse más estudios de la variación mediante el empleo de dosis menores con base a los resultados expuestos en la **tabla 10**.

### Conclusiones

En esta investigación se sintetizaron AgNPs con extracto de queñua a diferentes condiciones de temperatura, pH y tipo de extracto. Los resultados evidenciaron que las mejores condiciones para replicar la síntesis de AgNPs son a un pH 10, temperatura de 20 °C y extracto acuoso con un promedio de tamaño de 58,68 nm de diámetro medido mediante la técnica DLS. Con la técnica SEM se midieron tamaños en rango de radio entre 36,06 a 119,30 nm con forma esférica y una carga superficial negativa moderada (-10 mV). Se constató que la cantidad de etanol, pH y la temperatura de síntesis afectan en el tamaño de las AgNPs. Finalmente, se examinó la actividad antibacteriana de las AgNPs sintetizadas en muestras de agua del afluente de la PTAR de Cusco, Perú, los hallazgos demostraron que las AgNPs eliminaron a las bacterias (coliformes totales y termotolerantes) en la muestra, lo que demuestra su potencial uso como agente antibacteriano. No obstante, se señala la necesidad de realizar más estudios para determinar si quedan restos de AgNPs en las aguas tratadas, la cuales podrían representar toxicidad para el medio en donde se encuentren.

### Agradecimientos

Expresamos nuestro agradecimiento a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco por el financiamiento de la investigación a través del programa “Yachayninchis Wiñarinanpaq”, impulsado por el Vicerrectorado de Investigación de la UNSAAC con n.º de resolución R-1023-2022-UNSAAC, con contrato n.º 045-VRIN-2022-UNSAAC.

### Referencias

- [1] C. Campos Pinilla, *Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas*, Ciudad de México, Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma del Estado de México (CIRA-UAEM), 2003, pp. 224-229.
- [2] S. K. Srika, D. D. Giri, D. B. Pal, P. K. Mishra y S. N. Upadhyay, “Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Review”, *Scientific Reseach An Academic Publisher*, vol. 6, nro. 1, pp. 35-39, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.4236/gsc.2016.61004>
- [3] K. H. A. y R. R. Siddiqi, “A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties”, *Journal Nanobiotechnol*, vol. 16, nro. 18, pp. 2-28, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0334-5>
- [4] P. A. Serena Domingo, *La nanotecnología*, Madrid, Catarata, 2010.
- [5] M. Garzón Gómez, “Nanomateriales, Nanoparticulas y Síntesis Verde”, *Repertorio de Medicina y Cirugía*, vol. 27, nro. 2, pp. 75-80, 2018. DOI: <https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.v27.n2.2018.191>
- [6] R. de la C. Esquivel Figueredo y S. M. Mas-Diego, “Síntesis biológica de nanopartículas de plata: revisión del uso potencial de la especie *Trichoderma*”, *Revista Cubana de Química*, vol. 33, nro. 2, pp. 23-45, 2021.
- [7] N. Sharma Kumar, J. Vishwakarma, S. Rai, T. S. Alomar, N. Al-Masoud y A. Bhattarai, “Green Route Synthesis and Characterization Techniques of Silver Nanoparticles and Their Biological Adeptness”, *ACS Omega*, vol. 7, nro. 31, pp. 27004-27020, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01400>
- [8] M. W. y O. J. A. Servat Grace P., “Flora y fauna de cuatro bosques de *Polylepis* (Rosaceae) en la cordillera del Vilcanota (Cusco, Perú)”, *Ecología Aplicada*, vol. 1, nro. 1, p. 11, 2002. DOI: <https://doi.org/10.21704/rea.v1i1-2.226>
- [9] M. P. Cubas Villanueva y D. A. Huaman Jimenez, “Actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de *Polylepis Incana* Kunth”, tesis de grado, Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Lima, 2018.
- [10] S. Aragón Mamani, “Síntesis verde y caracterización de nanopartículas de plata en matriz de arcilla Chak'o y su actividad antimicrobiana en *E. Coli* ATCC 51813”, tesis de maestría, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, 2020.
- [11] L. Cumbal, B. Kumar, K. Smita y A. Debut, “Green syntesis of silver nanoparticles using Andean blackberry fruit extract”, *Saudi J Biol Sci*, vol. 24, nro. 1, pp. 45-50, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.09.006>
- [12] V. J. Ticllacuri Perales y E. M. Travezaño Neyra, “Caracterización de Nanoparticulas de Plata obtenidas mediante síntesis biogénica usando extracto de *Coffea arabica* procedente de Satipos -Junín para uso antimicrobiano”, Universidad Nacional del Centro del Perú, 2019.
- [13] A. Zorro, A. Lannone, S. Natali y R. Lavecchia, “Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Bilberry and Red Currant Waste Extracts”, *Procesos de Separación y Extracción Verde*, vol. 7, nro. 4, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr7040193>
- [14] M. Behravan, A. Hossein Panahi, A. Naghizadeh, M. Ziaee, R. Mahdavi y A. Mirzapour, “Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Berberis vulgaris* leaf and root aqueous extract and its antibacterial activity”, *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 124, pp. 148-154, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.101>
- [15] C. J. Caceda Quiroz, “Evaluación de la Actividad Antibacteriana in vitro del Extracto Alcohólico de las Hojas de *Polylepis* ru-

- gulosas (*queilua*). Frente a Cultivos Bacterianos Uropatógenos Aislados en el Hospital Hipólito Unanue - Tacna”, *Ciencia y Desarrollo*, vol. 14, pp. 51–58, 2012. DOI: <https://doi.org/10.33326/26176033.2012.14.302>
- [16] D. M. Gutiérrez Avella, C. Alberto Ortiz y A. Mendoza Cisneros, “Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal”, *Simpósio de Metrología 2008*, 2008.
- [17] E. García Martínez, I. Fernández Segovia y A. Fuentes López, “Determinación de polifenoles totales por el método de Folin - Ciocalteu”, *Universitat Politècnica de València*, Valencia, 2015.
- [18] APHA-AWWA-WPCF, *Métodos Normalizados para el Análisis de aguas Potables y Residuales*, España, Diaz de Santos, SA, 1992.
- [19] W. Muñoz C., L. C. Pabon y W. Chavez R., “Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (Campomanesia)”, *Revista CENIC Ciencias Químicas*, vol. 46, pp. 38–46, 2015.
- [20] F. Shahidi y P. Ambigaipalan, “Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects”, *Journal of Functional Foods*, vol. 18, pp. 820–897, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- [21] E. Rodríguez-León, R. Iñiguez-Palomares, R. E. Navarro, R. Herrera-Urbina, J. Tánori, C. Iñiguez-Palomares y A. Maldonado, “Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts)”, *Nanoscale Research Letter*, vol. 8, nro. 318, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-318>
- [22] P. Sinhg, K. Yeon Ju, H. Singh, C. Wang, K. Hyon Hwang, M. El-Agamy Farh y D. Chun Yang, “Biosynthesis, characterization, and antimicrobial applications of silver nanoparticles”, *International Journal of Nanomedicine*, vol. 10, pp. 2567–2577, 2015. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S72313>
- [23] F. Martínez M., E. Zuñiga G. y A. K. Sanchez Lafarga, “Método de síntesis de nanopartículas de plata adaptable a laboratorios de docencia relacionado con la nanotecnología”, *Mundo nano*, vol. 10, nro. 6, pp. 103–108, 2021. DOI: <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2013.10.50967>
- [24] M. Sánchez Moreno, “Nanopartículas de plata: preparación, caracterización y propiedades con aplicación en la inocuidad de alimentos”, tesis de máster, Universidad Nacional de Educación a Distancia, Madrid, 2017.
- [25] X. C. Jiang, W. M. Chen, C. Y. Chen, S. X. Xiong y A. B. Yu, “Role of Temperature in the Growth of Silver Nanoparticles Through a Synergetic Reduction Approach”, *Nanoscale Res Letters*, vol. 6, nro. 1, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11671-010-9780-1>
- [26] L. Pardo, J. Arias y P. Molleda, “Elaboración de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extracto de hojas de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y su uso como conservante”, *La granja: Revista de Ciencias de la Vida*, vol. 35, nro. 1, pp. 1–14, 2022. DOI: <https://doi.org/10.17163/lgr.n35.2022.04>
- [27] D. Cruz, M. Rodríguez, L. Juan, V. Herrera, A. Orive y A. Creus, “Nanopartículas Metálicas y Plasmones de Superficie: Una relación profunda”, *Avances en Ciencias e Ingeniería*, vol. 3, nro. 2, pp. 67–78, 2012.
- [28] S. Botasini, “Estudio de la estabilidad de las nanopartículas y desarrollo de un sensor colorimétrico”, tesis de doctorado, Universidad de la República Uruguay, 2016.
- [29] H. Yousaf, A. Mehmood, K. S. Ahmad y M. Raffi, “Green synthesis of silver nanoparticles and their applications as an alternative antibacterial and antioxidant agents”, *Materials Science and Engineering: C*, vol. 112, nro. 110901, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110901>
- [30] H. Liu, Z. Huan, W. Jie y W. Junfu, “Effect of temperature on the size of biosynthesized silver nanoparticle: Deep insight into microscopic kinetics analysis”, *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 13, nro. 1, pp. 1011–1019, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.09.004>
- [31] M. Zahir Shah, Z. H. Guan, A. Ud Din, A. Ali, A. Ur Rehman, K. Jan, S. Faisal, S. Saud y M. Adnan, “Synthesis of silver nanoparticles using *Plantago lanceolata* extract and assessing their antibacterial and antioxidant activities”, *Scientific Reports*, vol. 11, nro. 20754, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00296-5>
- [32] M. Asif, R. Yasmin y U. Shehla, “Green Synthesis of Silver Nanoparticles (AgNPs), Structural Characterization, and their Antibacterial Potential”, *Sage Journals*, vol. 20, nro. 2, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1177/15593258221088709>
- [33] J. M. Koehler, N. Visaveliya y A. Knauer, “Controlling formation and assembling polarization, and electrochemical potential of nanoparticles by control of electrical charging”, *Nanotechnol*, vol. 3, nro. 6, pp. 553–568, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1515/ntrev-2014-0006>
- [34] K. Paulkumar, G. Gnanajobitha, M. Vanaja, M. Pavunraj y G. Annadurai, “Green synthesis of silver nanoparticle and silver based chitosan bionanocomposite using stem extract of *Saccharum officinarum* and assessment of its antibacterial activity”, *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 8, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1088/2043-6254/aa7232>
- [35] S. Menon, H. Agarwal, S. Rajesh Kumar y V. Kumar, “Green synthesis of silver nanoparticles using medicinal plant *Acalypha* leaf extracts and its application as an antioxidant and antimicrobial agent against foodborne pathogens”, *International Journal of Applied Pharmaceutics*, vol. 9, nro. 5, pp. 42–50, 2017. DOI: <https://doi.org/10.22159/ijap.2017v9i5.19464>
- [36] G. M. Srirangam y K. Parameswara Rao, “Synthesis and characterization of silver nanoparticles from the leaf extract of *malachra capitata* (L.)”, *Rasayan Journal*, vol. 10, nro. 1, pp. 46–53, 2017. DOI: <https://doi.org/10.7324/RJC.2017.1011548>
- [37] A. G. Femi Adepoju, A. Oluwasogo Dadá, K. Opeyemi Otun, A. Olufemi Adepoju y O. Paul Fatoba, “Green synthesis of silver nanoparticles using terrestrial fern (*Gleichenia Pectinata* (Willd.) C. Presl.): characterization and antimicrobial studies”, *Helijón*, vol. 5, nro. 4, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.helijon.2019.e01543>
- [38] T. Bhattacharjee, M. Castilho y I. De Oliveira, “FTIR study of secondary structure changes in Epidermal Growth Factor by gold nanoparticle conjugation”, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, vol. 1862, nro. 3, pp. 495–500, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2017.11.009>
- [39] R. Elamawi, R. Al Harbi y A. Hendi, “Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Trichoderma longibrachiatum* and their effect on phytopathogenic fungi”, *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, vol. 28, nro. 28, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0028-1>
- [40] P. Bélték, A. Rónavi, N. Igaz, B. Szerencsés, I. Y. Tóth, L. Pfeiffer, M. Kiricsi y Z. Kónya, “Silver nanoparticles: aggregation behavior in biorelevant conditions and its impact on biological activity”, *International Journal of Nanomedicine*, vol. 14, pp. 667–687, 2019. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S185965>
- [41] El Peruano, 004-2017-MINAM - *Estandares Nacionales de calidad Ambiental para Agua*, Lima, 2008.

**Citación del artículo:**

N. Gutierrez-Sierra, N. J. Mesco-Aquise, A. R. Maldonado-Farfán y S. Aragón-Mamani, "Biosíntesis de nanopartículas de plata con extracto de queñua y su aplicación antibacteriana en el afluente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) del departamento de Cusco, Perú", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, nro. 3, pp. 11-20, 2023. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n3.111932>