



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL FACULTAD
DE INGENIERÍA QUÍMICA CARRERA DE
INGENIERÍA QUÍMICA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
INGENIERO QUÍMICO**

**TEMA: OBTENCIÓN DE UN NANOCOMPUESTO ESTRUCTURADO POR
NANOCELULOSA Y DOPADO CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AGNPS)
CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL Y CICATRIZANTE, UTILIZANDO COMO
MATERIA PRIMA LOS RESIDUOS DE BANANO: RAQUIS Y CASCARA (*MUSA
ACUMINATA*).**

AUTORES:

HEYDI GISSELLA GANCHOZO INTRIAGO

ROBERTO ANGEL LUNA BURGOS

**DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN: ING.
MARINA CHANENA ALVARADO AGUILAR MSc.**

GUAYAQUIL – ECUADOR

AGOSTO 2018

REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN

| | | | |
|--|---|--|-----|
| TÍTULO Y SUBTÍTULO: | Obtención de un nanocompuesto estructurado por nanocelulosa y dopado con nanopartículas de Plata (AgNPs) con actividad antibacterial y cicatrizante, utilizando como materia prima los residuos de banano: raquis y cascara (Musa acuminata). | | |
| AUTOR(ES) (apellidos/nombres): | Ganchozo Intriago Heydi Gissella y Luna Burgos Roberto Ángel | | |
| REVISOR(ES)/TUTOR(ES) (apellidos/nombres): | Dr Zalamea Molina Luis Felipe / Ing. Alvarado Aguilar Marina Chanena | | |
| INSTITUCIÓN: | Universidad de Guayaquil | | |
| UNIDAD/FACULTAD: | Ingeniería Química | | |
| MAESTRÍA/ESPECIALIDAD: | Ingeniería Química | | |
| GRADO OBTENIDO: | Ingeniero(a) Químico (a) | | |
| FECHA DE PUBLICACIÓN: | 27 de Septiembre del 2018 | No. DE PÁGINAS: | 110 |
| ÁREAS TEMÁTICAS: | Nanociencia y nanotecnología | | |
| PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS: | Agentes de reducción, nanopartículas de plata, lignocelulosa, nanocompuesto, Microscopia electrónica de barrido (SEM). | | |
| RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras): | Actualmente se generan gran número de desechos lignocelulósicos, dadas sus propiedades, estos pueden ser empleados en el desarrollo de nuevos compuestos nanométricos, aprovechando su disponibilidad y costo. En el presente trabajo se sintetizó un nanocompuesto estructurado por nanocelulosa dopado con nanopartículas de plata (NEN – AgNPs) con actividad antibacterial y antioxidante. La nanocelulosa se obtuvo del raquis de banano, y las nanopartículas de plata (AgNPs) se sintetizaron utilizando como agente reductor el extracto de la cascara de banano. La formación de AgNPs se verificó con Espectrofotometría UV - Vis a una longitud de onda de 410 nm, con tamaño de 24 nm confirmado mediante Microscopia electrónica de barrido (SEM), nanocelulosa con 32 nm de diámetro con variaciones de longitud de 462 a 1,374 nm y NEN – AgNPs con diámetro de 73 nm. El NEN – AgNPs presento un 72,16% de capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana mayoritaria con halo de inhibición de 15 mm para bacterias Gram Negativas. | | |
| ADJUNTO PDF: | SI | | |
| CONTACTO CON AUTOR/ES: | Teléfono: Heydi Gissella Ganchozo Intriago 00986729821 Roberto Ángel Luna Burgos 0988526488 | E-mail: heydigiss@hotmail.com robertoluna69@hotmail.com | |
| CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN: | Nombre: Ing. Janeth Katherine Zalamea Cedeño | | |
| | Teléfono: 0989554553 | | |
| | E-mail: Janeth.zalameac@ug.edu.ec | | |

CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrado **ING. MARINA CHANENA ALVARADO AGUILAR MSc.**, tutora del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por **HEYDI GISSELLA GANCHOZO INTRIAGO, C.C.: 0924002348** y **ROBERTO ANGEL LUNA BURGOS, C.C.: 12064355552**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **INGENIERO QUIMICO**.

Se informa que el trabajo de titulación: **“OBTENCIÓN DE UN NANOCOMPUESTO ESTRUCTURADO POR NANOCELULOSA Y DOPADO CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AGNPS) CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL Y CICATRIZANTE, UTILIZANDO COMO MATERIA PRIMA LOS RESIDUOS DE BANANO: RAQUIS Y CASCARA (MUSA ACUMINATA).”** ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio (URKUND) quedando el 2% de coincidencia.

URKUND

Documento: [Revisión final TESIS.pdf](#) (D40885994)

Presentado: 2018-08-20 14:50 (-05:00)

Presentado por: janeth.zalamea@ug.edu.ec

Recibido: katherine.janeth.zalamea.ug@analysis.orkund.com

Mensaje: urkund [Mostrar el mensaje completo](#)

2% de estas 35 páginas, se componen de texto presente en 5 fuentes.

| Categoría | Enlace/nombre de archivo |
|-----------|---|
| | kalanchoe-david.aguilar.pdf |
| | Proyecto Final.docx |
| | TESIS de VIN CASTRO URKUND.pdf |
| | Tesis final Dennis Amaguaña.pdf |
| | http://sciemti.co/sciencias.gov.co/8083/cv/ac/visualizador/generarCurrículoCu.do?cod_rm=9000... |

66% #1 Activo

Fuente externa: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/4314/1/3887...> PAREDES%20VILLALTA... 66%

1 UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO

QUÍMICO TEMA: OBTENCIÓN DE UN NANOCOMPUESTO ESTRUCTURADO POR NANOCELULOSA Y DOPADO CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AGNPS) CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL Y CICATRIZANTE, UTILIZANDO COMO MATERIA PRIMA LOS RESIDUOS DE BANANO: RAQUIS Y CASCARA (MUSA ACUMINATA). AUTORES: ROBERTO ANGEL LUNA BURGOS HEYDI GISSELLA GANCHOZO INTRIAGO DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN: ING. MARINA CHANENA ALVARADO AGUILAR MSc. GUAYAQUIL - ECUADOR AGOSTO 2018

2 RESUMEN Actualmente se generan gran número de desechos lignocelulósicos, dadas sus propiedades, estos pueden ser empleados en el desarrollo de nuevos compuestos nanométricos, aprovechando su disponibilidad y costo. En el presente trabajo se sintetizó un nanocompuesto estructurado por nanocelulosa dopado con nanopartículas de plata (NEN - AgNPs) con actividad antibacteriana y antioxidante. La nanocelulosa se obtuvo del raquis de banano, y las nanopartículas de plata (AgNPs) se sintetizaron utilizando como agente reductor el extracto de la cascara de banano. La formación de AgNPs se verificó con Espectrofotometría UV - Vis a una longitud de onda de 410 nm, con tamaño de 24 nm confirmado mediante Microscopía electrónica de barrido (SEM), nanocelulosa con 32 nm de diámetro con variaciones de longitud de 462 a 1,374 nm y NEN - AgNPs con diámetro de 73 nm. El NEN - AgNPs presento un 72,16% de capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana mayoritaria con halo de inhibición de 15 mm para bacterias Gram Negativas. Palabras claves: agentes de reducción, nanopartículas de plata, lignocelulosa, nanocompuesto, Microscopía electrónica de barrido (SEM).

<https://secure.orkund.com/view/40027683-510294-256961#DcQxDoAgEATAv1y9MbccBI6vGAtD1FBIQ2n8u04xj9xT6qog+PcfQAML6AgwRPgGmf0a/extH+2QgovSk8Zsmiy7s3h4Pw>

ING. MARINA CHANENA ALVARADO AGUILAR MSc.
C.C: 0905463543

LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS

Nosotros, **HEYDI GISSELLA GANCHOZO INTRIAGO, C.C.: 0924002348** y **ROBERTO ANGEL LUNA BURGOS, C.C.: 12064355552**, certificamos que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es **“OBTENCIÓN DE UN NANOCOMPUESTO ESTRUCTURADO POR NANOCELULOSA Y DOPADO CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AGNPS) CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL Y CICATRIZANTE, UTILIZANDO COMO MATERIA PRIMA LOS RESIDUOS DE BANANO: RAQUIS Y CASCARA (*MUSA ACUMINATA*)”** son de mi absoluta propiedad y responsabilidad Y SEGÚN EL Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizo el uso de una licencia gratuita intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la presente obra con fines no académicos, en favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso del mismo, como fuera pertinente.

HEYDI GISSELLA GANCHOZO INTRIAGO
C.C.: 0924002348

ROBERTO ANGEL LUNA BURGOS
C.C.: 12064355552

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Habiendo sido nombrado. **ING. MARINA CHANENA ALVARADO AGUILAR MSc.**, tutora del trabajo de titulación, certifico que el presente proyecto ha sido elaborado por **HEYDI GISSELLA GANCHOZO INTRIAGO, C.C: 0924002348** y **ROBERTO ANGEL LUNA BURGOS, C.C.: 1206435552**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **INGENIERO QUÍMICO**.

Tema: **““OBTENCIÓN DE UN NANOCOMPUESTO ESTRUCTURADO POR NANOCELULOSA Y DOPADO CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AGNPS) CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL Y CICATRIZANTE, UTILIZANDO COMO MATERIA PRIMA LOS RESIDUOS DE BANANO: RAQUIS Y CASCARA (MUSA ACUMINATA)”**

Certifico que he revisado y aprobado en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

ING. MARINA CHANENA ALVARADO AGUILAR MSc
C.C: 0905463543

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrado, **DR. LUIS FELIPE ZALAMEA MOLINA, MSc.**, tutor del trabajo de titulación, certifico que el presente proyecto, elaborado por **HEYDI GISSELLA GANCHOZO INTRIAGO, C.C: 0924002348** y **ROBERTO ANGEL LUNA BURGOS, C.C.: 12064355552**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **INGENIERO QUIMICO**, en la Carrera/Facultad, ha sido **REVISADO Y APROBADO** en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

DR. LUIS FELIPE ZALAMEA MOLINA, MSc
C.C: _____

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios por regalarme la vida y todo lo maravilloso que poseo, por ser mi luz y fuerza en cada paso, sin el nada fuera posible.

A mis padres, por ser las personas más especiales en mi vida, que con amor y esfuerzo me han dado lo mejor, con sabiduría me han dirigido en la vida y en los estudios, que a pesar de que no siempre fue fácil estuvieron allí para darme aliento, por ser mi motor para continuar, por los momentos de incertidumbre en el desarrollo de la tesis, por el sacrificio y la constancia que ponen en el trabajo día a día. Por eso y muchas cosas más siempre les quedare en deuda y expreso mi amor infinito.

A mis hermanos, por cada momento de risa y diversión, que, a pesar de no siempre estar de acuerdo en las mismas cosas, siempre contarán con mi apoyo.

A mis abuelitos, por siempre brindarme una sonrisa cálida, por sus consejos y ternura, y a quienes ya no se encuentran con nosotros, sé que desde el cielo me cuidan y se alegran de que este momento haya llegado.

A mi compañero de tesis y enamorado, que con amor y paciencia me ha sabido comprender en los mejores y peores momentos, su entrega en la investigación siempre fue algo que admiré y sin sus palabras de aliento nada habría sido igual en el trayecto de la realización de la tesis.

Heydi Ganchozo Intriago

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico primero a Dios por darme la sabiduría necesaria para lograr este objetivo, siempre le agradeceré el permitirme disfrutar estos momentos junto a mis seres queridos que han sido el principal motor emocional. Especialmente dedico este trabajo a mi padre Roberto Luna I. y a mi madre Mayra Burgos V. por todo el apoyo incondicional, el esfuerzo, la confianza y por siempre generar en mí ese coraje de hacer las cosas con dedicación, mil gracias padres. A mis hermanas y a mi hermano, porque que sus locuras y palabras de ánimo han tenido su buen efecto. También dedico este trabajo a la Sra Glenny Intriago, Universi Ganchozo y María Castro Domínguez por su paciencia y a las demás personas que de alguna u otra manera influyeron en mí; a mis abuelos, cuñados, sobrinos, tíos, primos, a todos.

Finalmente dedico partes importantes de estas líneas a quien con su entrega, dedicación y amor a tenido las herramientas necesarias para alcanzar este logro que juntos podremos siempre compartir, dedico este trabajo a mi compañera de tesis y amor.

Roberto Luna Burgos

AGRADECIMIENTO

A Dios, nuestros padres y amigos por ser parte de nuestras vidas.

Agradecemos todo el apoyo y la confianza brindada por parte de nuestra tutora y amiga la Ing. Marina Alvarado Aguilar que siempre nos direccionó hacia la investigación inculcándonos la perseverancia a lo largo del desarrollo de esta tesis.

También agradecemos a los ingenieros: Ing. Radium Avilés, Ing. Wilfrido Terán, Ing. Alfredo Leal, Ing. Plutarco Ponce, Dra. Gabriela Carrera, Ing. Augusta Jiménez, Ing. Roxana Martínez y al Ing. Raúl Serrano, docentes que nos proporcionaron aportes significativos en el transcurso de este trabajo.

Heydi Ganchozo y Roberto Luna

TABLA DE CONTENIDOS

| | |
|---|----|
| RESUMEN..... | 11 |
| SUMMARY | 12 |
| INTRODUCCION..... | 13 |
| CAPITULO I..... | 14 |
| EL PROBLEMA | 14 |
| 1. Tema..... | 14 |
| 1.1. Planteamiento del problema..... | 14 |
| 1.2. Formulación y sistematización del problema..... | 15 |
| 1.3. Justificación de la investigación | 15 |
| 1.3.1. Justificación teórica..... | 15 |
| 1.3.2. Justificación metodológica..... | 16 |
| 1.3.3. Justificación práctica | 17 |
| 1.4. Objetivos de la investigación..... | 17 |
| 1.4.1. Objetivo general | 17 |
| 1.4.2. Objetivos específicos..... | 17 |
| 1.5. Delimitación de estudio | 18 |
| 1.6. Hipótesis general o premisa | 19 |
| 1.6.1. Operacionalización de variables | 20 |
| CAPÍTULO II..... | 21 |
| MARCO TEÓRICO..... | 21 |
| 2. Residuos de origen vegetal..... | 21 |
| 2.1. Composición química de los materiales lignocelulósicos | 21 |
| 2.1.1. Hemicelulosa | 23 |
| 2.1.2. Lignina | 23 |
| 2.1.3. Celulosa | 25 |
| 2.2. Banano..... | 26 |
| 2.2.1. Banano en el mundo y en el Ecuador..... | 29 |
| 2.2.2. Residuos de banano | 30 |
| 2.2.3. Raquis de banano | 30 |
| 2.2.4. Cáscara de banano | 31 |
| 2.3. Nanocelulosa | 32 |
| 2.3.1. Nanocelulosa fibrilada (NCF)..... | 32 |

| | | |
|-------------------------------------|--|----|
| 2.3.2. | Whiskers de celulosa o celulosa nanocrystalina (NCC) | 32 |
| 2.3.3. | Nanocelulosa bacteriana (NCB)..... | 33 |
| 2.3.4. | Aplicaciones de la nanocelulosa | 35 |
| 2.4. | Nanocompuesto y sus aplicaciones..... | 36 |
| 2.4.1. | Nanopartículas metálicas y nanofibras de celulosa | 36 |
| 2.5. | Metabolitos secundarios..... | 37 |
| 2.5.1. | Compuestos fenólicos | 39 |
| 2.5.2. | Taninos | 40 |
| 2.5.3. | Flavonoides | 41 |
| 2.5.4. | Glicósidos | 42 |
| 2.5.5. | Saponinas | 43 |
| 2.6. | Nanopartículas de plata | 44 |
| 2.6.1. | Plata..... | 44 |
| 2.6.2. | Aplicaciones de las nanopartículas de plata..... | 45 |
| 2.6.3. | Métodos de síntesis de las Nanopartículas de Plata..... | 45 |
| 2.6.4. | Mecanismo de acción de las Nanopartículas de Plata | 48 |
| CAPITULO III | | 49 |
| ASPECTOS METODOLOGICOS | | 49 |
| 3. | Experimentación..... | 49 |
| 3.1. | Materiales y reactivos | 49 |
| 3.2. | Diagrama de bloques..... | 50 |
| 3.3. | Metodología para la elaboración del extracto de la cascara de banano | 51 |
| 3.3.1. | Preparación de extractos de banano..... | 51 |
| 3.3.2. | Tamizaje fitoquímico de los extractos de banano obtenidos..... | 52 |
| 3.4. | Metodología para la síntesis de nanopartículas de plata | 53 |
| 3.5. | Metodología para la síntesis de nanocelulosa de raquis de banano | 54 |
| 3.5.1. | Caracterización de la materia prima (raquis de banano) | 54 |
| 3.5.2. | Determinación de humedad (TAPPI T1205-75) | 55 |
| 3.5.3. | Determinación de cenizas (TAPPI T211-OM-02) | 56 |
| 3.5.4. | Determinación de extractivos Orgánicos y Acuosa (ASTMD 1110-84) . | 57 |
| 3.5.5. | Determinación del contenido de celulosa | 59 |
| 3.6. | Obtención de Nanocelulosa y NEN – AgNPs | 60 |
| 3.7. | Ensayo de eliminación de radicales DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidroxilo)..... | 63 |
| 3.8. | Ensayos microbiológicos | 64 |
| CAPITULO IV | | 66 |
| RESULTADOS Y ANALISIS | | 66 |

| | |
|---|------------|
| 4. Resultados de la experimentación..... | 66 |
| 4.1. Preparación del extracto - Elección del solvente | 66 |
| 4.1.1. Tamizaje Fitoquímico | 66 |
| 4.2. Caracterización de las Nanopartículas de plata (AgNPs) | 69 |
| 4.2.1. Cambio de color..... | 69 |
| 4.2.2. Espectroscopía UV-Vis | 70 |
| 4.2.3. Efecto de la cantidad de extracto | 71 |
| 4.2.4. Efecto de la concentración del Nitrato de Plata..... | 73 |
| 4.2.5. Efecto de los días de maceración del extracto | 73 |
| 4.2.6. Efecto del pH..... | 76 |
| 4.2.7. Efecto de la temperatura | 78 |
| 4.3. Composición del raquis de banano y rendimiento de nanocelulosa..... | 79 |
| 4.4. Ensayos de laboratorio para NCF, AgNPs y NEN-AgNPs..... | 80 |
| 4.4.1. Determinación de la Capacidad antioxidante DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidroxilo)..... | 80 |
| 4.4.2. Determinación de la actividad antimicrobiana | 83 |
| 4.4.3. Microscopía electrónica de barrido (SEM) | 85 |
| CONCLUSIONES..... | 88 |
| RECOMENDACIONES | 90 |
| ANEXOS..... | 104 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Operacionalización de variables | 20 |
| Tabla 2. Composición de residuos de materia lignocelulósica | 22 |
| Tabla 3. Taxonomía general del banano..... | 27 |
| Tabla 4. Clasificación de las especies de banano y plátano..... | 28 |
| Tabla 5. Composición lignocelulósica de raquis de banano | 30 |
| Tabla 6. Composición fitoquímica de la cáscara de banano (Musa AAA)..... | 31 |
| Tabla 7. Identificación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de Banano (M. Acuminata)..... | 44 |
| Tabla 8. Variables a modificar en la síntesis de AgNPs | 53 |
| Tabla 9. Normativas aplicadas para los análisis de composición de raquis de banano..... | 55 |
| Tabla 10. Curva estándar de Calibración del Espectrofotómetro UV/Vis | 64 |
| Tabla 11. Tamizaje fitoquímico de la Cáscara de banano (AAA)..... | 68 |
| Tabla 12. Determinación de compuestos bioactivos en el extracto de la mezcla agua – etanol. . | 68 |
| Tabla 13. Cuantificación de Metabolitos secundarios | 68 |
| Tabla 14. Concentración de AgNPs a diferentes volúmenes de extracto de la cascara de banano con sus absorbancias respectivas..... | 73 |
| Tabla 15. Concentración de AgNPs variando los días de maceración de la cáscara de banano con sus absorbancias respectivas..... | 74 |
| Tabla 16. Tamizaje fitoquímico de extractos macerados a distintos días | 75 |
| Tabla 17. Concentración de AgNPs variando el pH de la mezcla con sus absorbancias respectivas | 77 |
| Tabla 18. Concentración de AgNPs variando la temperatura de la mezcla con sus absorbancias respectivas | 79 |
| Tabla 19. Condiciones óptimas experimentales para la síntesis de AgNPs | 79 |
| Tabla 20. Composición del raquis de banano | 80 |
| Tabla 21. Rendimiento celulósico del procedimiento empleado | 80 |
| Tabla 22. Porcentaje de actividad antioxidante de los productos obtenidos en la experimentación | 83 |
| Tabla 23. Actividad antimicrobial para bacterias Gram Positivas y Gram Negativas | 84 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|-----|
| Figura 1. Delimitación de estudio..... | 18 |
| Figura 2. Estructura de la lignina..... | 24 |
| Figura 3. Estructura primaria de celulosa unida por enlace $\beta(1-4)$ glucosídico..... | 25 |
| Figura 4. Estructura de la celulosa lineal..... | 25 |
| Figura 5. Producción/Rendimiento de Bananos en Ecuador | 29 |
| Figura 6. Rutas de síntesis de metabolitos secundarios | 38 |
| Figura 7. Estructura química del fenol | 40 |
| Figura 8. Estructura de un tanino hidrolizado | 40 |
| Figura 9. Estructura de un tanino condensado..... | 41 |
| Figura 10. Estructura básica de los flavonoides | 41 |
| Figura 11. Estructura de saponinas..... | 43 |
| Figura 12. Mecanismo de formación de nanopartículas de plata..... | 46 |
| Figura 13. Clasificación de la Síntesis de las Nanopartículas de Plata..... | 46 |
| Figura 14. Procedimiento experimental para la obtención de NEN-AgNPs..... | 50 |
| Figura 15. Tratamiento de la cáscara de banano..... | 51 |
| Figura 16. Extractos de cáscara de banano con diferentes solventes..... | 52 |
| Figura 17. Determinación de Humedad del raquis de banano | 56 |
| Figura 18. Determinación de cenizas del raquis de banano..... | 57 |
| Figura 19. Determinación de extractivos acuosos y orgánicos..... | 59 |
| Figura 20. Determinación de Celulosa por el método Kurschner y Hoffer | 60 |
| Figura 21. Pretratamiento de raquis de banano..... | 61 |
| Figura 22. Pretratamiento químico de raquis de banano..... | 62 |
| Figura 23. Tratamiento mecánico del raquis de banano | 62 |
| Figura 24. Prueba DPPH | 63 |
| Figura 25. Prueba microbiológica | 65 |
| Figura 26. Prueba de Saponinas | 66 |
| Figura 27. Prueba de Taninos | 67 |
| Figura 28. Prueba de flavonoides | 67 |
| Figura 29. Cambio de coloración durante la formación de nanopartículas de plata | 69 |
| Figura 30. Comparación de espectros visibles del extracto y nanopartículas de plata | 70 |
| Figura 31. Efecto de la cantidad de extracto sobre la absorbancia de las AgNPs..... | 72 |
| Figura 32. Espectros visibles de AgNPs sintetizadas variando la cantidad de extracto..... | 72 |
| Figura 33. Efecto de los días de almacenamiento de las AgNPs a diferentes días de macerados..... | 74 |
| Figura 34. Espectros visibles de AgNPs sintetizadas variando pH y condiciones..... | 77 |
| Figura 35. Espectros visibles de nanopartículas de plata sintetizadas variando la temperatura .. | 78 |
| Figura 36. Espectro visible del grado de inhibición del extracto de la cáscara de banano | 81 |
| Figura 37. Espectro visible del grado de inhibición de AgNPs | 81 |
| Figura 38. Espectro visible del grado de inhibición del NEN - AgNPs propuesto..... | 82 |
| Figura 39. Prueba microbiológica | 84 |
| Figura 40. Análisis de nanopartículas de plata sintetizadas..... | 85 |
| Figura 41. Análisis de nanocelulosa sintetizada..... | 86 |
| Figura 42. Análisis de NEN-AgNPs sintetizada..... | 86 |
| Figura 43. Acta de entrega de resultados de análisis de SEM realizados | 103 |
| Figura 44. Resultado de análisis del Laboratorio UBA..... | 104 |
| Figura 45. Entrega preliminar de resultados y acta | 105 |

INDICE DE NOMENCLATURA

| | |
|--------------------|---|
| NEN - AgNPs | Nanocompuesto estructurado por nanocelulosa dopado con nanopartículas de plata. |
| AgNPs | Nanopartículas de plata. |
| NCF | Nanofibras de celulosa o nanocelulosa fibrilada. |
| NCC | Celulosa nanocristalina. |
| NCB | Celulosa bacteriana. |
| SEM | Microscopía electrónica de barrido. |
| TEM | Microscopía electrónica de transmisión. |
| XRD | Difracción de rayos X. |
| FTIR | Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier. |
| TAPPI | Technical Association of the Pulp and Paper Industry. |
| ASTM | American Society for Testing and Materials. |
| %H | Porcentaje de Humedad. |
| %EO | Porcentaje de extractos orgánicos. |
| %EA | Porcentaje de extractos acuosos. |
| %C | Porcentaje de cenizas. |
| DPPH | 2,2-difenil-1-picrilhidroxilo. |
| Abs | Absorbancia. |
| Conc | Concentración. |
| SRP | Resonancia superficial de plasmón. |
| Uv-vis | Ultravioleta Visible. |
| SNAS | Técnicas de dispersión como dispersión de neutrones de ángulo pequeño. |
| M1 | Macerado del primer día. |
| M3 | Macerado del tercer día. |
| M5 | Macerado del quinto día. |
| CENCINAT | Centro de nanociencia y nanotecnología |
| ESPE | Universidad de las Fuerzas Armadas |

RESUMEN

Actualmente se generan gran número de desechos lignocelulósicos, dadas sus propiedades, estos pueden ser empleados en el desarrollo de nuevos compuestos nanométricos, aprovechando su disponibilidad y costo. En el presente trabajo se sintetizó un nanocompuesto estructurado por nanocelulosa dopado con nanopartículas de plata (NEN – AgNPs) con actividad antibacterial y antioxidante. La nanocelulosa se obtuvo del raquis de banano, y las nanopartículas de plata (AgNPs) se sintetizaron utilizando como agente reductor el extracto de la cascara de banano. La formación de AgNPs se verificó con Espectrofotometría UV - Vis a una longitud de onda de 410 nm, con tamaño de 24 nm confirmado mediante Microscopia electrónica de barrido (SEM), nanocelulosa con 32 nm de diámetro con variaciones de longitud de 462 a 1,374 nm y NEN – AgNPs con diámetro de 73 nm. El NEN – AgNPs presentó un 72,16% de capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana mayoritaria con halo de inhibición de 15 mm para bacterias Gram Negativas.

Palabras claves: agentes de reducción, nanopartículas de plata, lignocelulosa, nanocompuesto, Microscopia electrónica de barrido (SEM).

SUMMARY

Currently, large quantities of lignocellulosic waste are generated, given their properties, they can be used in the development of new nanometric compounds, taking advantage of their availability and cost. In the present work, a nanocomposite structured by nanocellulose doped with silver nanoparticles (NEN - AgNPs) with antibacterial and antioxidant activity was synthesized. The nanocellulose was obtained from the banana rachis, and the silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized as the reducing agent of the banana skin extract. The formation of AgNPs was verified with UV spectrophotometry - wavelength of 410 nm, with size of 24 nm confirmed by scanning microscope (SEM), nanocellulose with 32 nm diameter with length variations from 462 to 1,374 nm and NEN - AgNPs with a diameter of 73 nm. The NEN - AgNPs presents 72.16% antioxidant capacity and major antimicrobial activity with a 15 mm inhibition halo for Gram Negative bacteria.

Keywords: reducing agents, silver nanoparticles, lignocellulose, nanocomposite, scanning electron microscopy (SEM).

INTRODUCCION

La nanociencia es un campo de interés que en los últimos años ha tenido un desarrollo multitudinario gracias a las múltiples aplicaciones que se le atribuyen en áreas médicas, alimenticias, entre otros [1]. El uso de nanomateriales puede resultar también muy beneficioso frente a problemas medioambientales, como el tratamiento de aguas residuales, conversión de energía solar, purificación de aire, etc [2].

La aplicación de materiales lignocelulósicos es una alternativa que concibe un enfoque verde para producir materiales a escala nanométrica. Se estima que la producción mundial de biomasa lignocelulósica es de aproximadamente $1,3 \times 10^{10}$ toneladas métricas por año [3]. Desechos como la cáscara de banano cuentan con la capacidad de actuar en procesos de cicatrización, actividad antioxidante y antimicrobiana gracias a la presencia de compuestos bioactivos [4]. Por otra parte el raquis de banano es una fibra rica en celulosa, polímero que es aprovechable en la elaboración de nanocelulosa [5].

Dentro del área de la nanotecnología, la síntesis verde de nanopartículas de plata cuenta con gran acogida debido a sus propiedades ópticas, magnéticas, electrónicas, catalíticas, etc. Que las hacen aplicables en un sinnúmero de campos de acción [6], esto junto con las características de biocompatibilidad de la nanocelulosa proveniente de una fuente vegetal proporcionan un nanocompuesto con prometedoras aplicaciones [7].

CAPITULO I

EL PROBLEMA

1. Tema

Obtención de un nanocompuesto estructurado por nanocelulosa y dopado con nanopartículas de plata (AgNPs) con actividad antibacterial y cicatrizante, utilizando como materia prima los residuos de banano: raquis y cascara (*Musa Acuminata*).

1.1. Planteamiento del problema.

En el presente trabajo se pretende aprovechar los residuos de banano (*Musa Acuminata*) (raquis y cáscara) para obtener un nanocompuesto estructurado por nanocelulosa dopado con nano partículas de plata (NEN-AgNPs). Para obtener el compuesto NEN-AgNPs se va a preparar la nanocelulosa a partir del raquis, mientras que, a partir de la cáscara de banano se va a obtener extractos bioactivos que van a participar en la síntesis de AgNPs para su posterior dopaje en la base nanocelulósica con posible capacidad antimicrobiana, antioxidante y cicatrizante. Esta formulación tiene alto potencial en la industria alimentaria y en la salud por la creciente demanda de nuevos compuestos con actividad antimicrobiana y cicatrizante.

En el Ecuador la producción de banano mantiene un auge significativo, lo que genera un gran número de desechos durante el cultivo de banano. Sin embargo, gran parte de estos desechos se han estado utilizando como abono y para la producción de bioles, pero aún se puede potencializar el adecuado aprovechamiento de los compuestos presentes en estos residuos.

1.2. Formulación y sistematización del problema

¿Se puede obtener un Nanocompuesto estructurado por nanocelulosa y dopado con nanopartículas de Plata (AgNPs) con actividad antibacterial y cicatrizante, utilizando como materia prima los residuos de banano: raquis y cascara (*Musa Acuminata*)?

1.3. Justificación de la investigación.

1.3.1. Justificación teórica

La presente investigación se enfoca en el aprovechamiento de residuos de banano y el dopaje de nanopartículas de plata (AgNPs) en una matriz nanocelulósica para la obtención de un nanocompuesto estructurado por nanocelulosa (NEN-AgNPs). El raquis es un desecho del cultivo de banano que puede servir como materia prima con un gran contenido de lignocelulosa [5]. A su vez, la cáscara de banano posee la capacidad de ayudar en la cicatrización, con compuestos antioxidantes y antimicrobianos atribuida a los metabolitos secundarios bioactivos como son los compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, taninos, terpenoides y saponinas [4], [8], [9].

Mediante los residuos (raquis y cáscara de banano) se pretende generar un nanocompuesto estructurado por nanocelulosa y nanopartículas de plata (NEN-AgNPs) con actividad antimicrobiana y cicatrizante que pueda ser usado en la industria alimentaria, medica, entre otros [10].

1.3.2. Justificación metodológica

La viabilidad metodológica de la investigación se fundamenta en la accesibilidad de las materias primas y en los procesos eficientes para el aprovechamiento de los diferentes compuestos de interés, incluido el dopaje de las nanopartículas de plata. Kumar y Sharma [11], hicieron una revisión sobre algunos métodos para el pretratamiento de la materias primas con alto contenido lignocelulósico; concluyendo, que la aplicación de métodos combinados para el pretratamiento ha tenido cierto éxito en comparación con los pretratamientos únicos convencionales debido a que se logra optimizar el procesamiento de la biomasa, además de reducir los coproductos no deseados. Es por eso que para la obtención de nanocelulosa, en este trabajo se ha considerado un pretratamiento físico-químico. Por otra parte, para la extracción de los compuestos bioactivos presentes en la cáscara de banano se van a utilizar solventes no tóxicos como etanol, metanol, agua, etanol - agua, metanol – agua. La metodología y la aplicación de solventes no tóxicos ha sido reportada en trabajos previos con buenos resultados [4], [9], [12], [13].

La actividad antimicrobiana de la cáscara de banano está asociada a la presencia de sustancias polares [14]; por este motivo los solventes polares son más eficientes para realizar la extracción. Sumado a las características de la nanocelulosa, las propiedades de los metabolitos extraídos para sintetizar las nanopartículas de plata repotencian la capacidad antimicrobiana del nanocompuesto final.

1.3.3. Justificación práctica

Este trabajo aplica una química verde que unifica tres fases importantes; 1) Selección del mejor disolvente para aprovechar los metabolitos secundarios del extracto de la cáscara de banano, seguido de la síntesis de nanopartículas de plata, producto de hacer reaccionar una solución de nitrato de plata con un agente reductor que es el extracto para reducir los iones Ag^+ , 2) Obtención de nanocelulosa, a partir del raquis rico en compuestos lignocelulósicos, aplicando un tratamiento físico – químico, proceso en el que se aprovecha la celulosa que mediante una fase mecánica reduce su tamaño a escala manométrica, 3) Dopaje de nanopartículas de plata en la estructura nanocelulósica para obtener un nanocompuesto, aplicando agitación magnética durante 6 horas para su suspensión.

1.4. Objetivos de la investigación

1.4.1. Objetivo general

Obtener un nanocompuesto estructurado por nanocelulosa y dopado con nanopartículas de Plata (AgNPs) con posible actividad antibacterial y cicatrizante, utilizando como materia prima los residuos de banano: raquis y cascara (*Musa Acuminata*).

1.4.2. Objetivos específicos

- ✓ Evaluar cualitativa y cuantitativamente la presencia de metabolitos secundarios en el extracto de la cáscara de banano.
- ✓ Verificar la formación de nanopartículas de plata generados por la capacidad reductora de los extractos de la cáscara de banano.

- ✓ Cuantificar el contenido celulósico presente en el raquis de banano y el rendimiento de nanocelulosa obtenida.
- ✓ Comprobar el dopaje de nanopartículas de plata (AgNPs) en la nanocelulosa.
- ✓ Determinar la capacidad antioxidante y antibacteriana del nanocompuesto obtenido.

1.5. Delimitación de estudio

El presente trabajo se desarrolla en un tiempo estimado de 6 meses en la ciudad de Guayaquil de Ecuador, específicamente en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad de Guayaquil. Sus coordenadas son: 2°11'00"S 79°53'00"O.



Figura 1. Delimitación de estudio

1.6. Hipótesis general o premisa

Es posible obtener un nanocompuesto estructurado por nanocelulosa y dopado con nanopartículas de Plata (AgNPs) con actividad antibacterial y cicatrizante, utilizando como materia prima los residuos de banano: raquis y cascara (*Musa Acuminata*).

Variable independiente:

- ✓ Nano compuesto conformado por nanocelulosa de raquis de banano y dopaje de nanopartículas de plata (AgNPs) en base al extracto de la cascara de banano.

Variable dependiente:

- ✓ Presencia de metabolitos en el extracto de la cáscara de banano en función del solvente utilizado.
- ✓ Razón de carga del extracto de cáscara de banano: Nitrato de Plata.
- ✓ Rendimiento nanocelulósico mediante el tratamiento físico-químico del raquis de banano.
- ✓ Razón de carga de nanocelulosa: nanopartículas de plata para obtener el nano compuesto.
- ✓ Porcentaje inhibición antioxidante y antibacteriano

1.6.1. Operacionalización de variables

Tabla 1. Operacionalización de variables.

| Objetivo General: Obtener un nanocompuesto estructurado por nanocelulosa y dopado con nanopartículas de Plata (AgNPs) con actividad antibacterial y cicatrizante, utilizando como materia prima los residuos de banano: raquis y cascara (<i>Musa Acuminata</i>). | | | |
|---|--|--|--|
| Objetivos Específicos | Variable | Dimensiones | Indicadores |
| Evaluar por métodos cualitativos la presencia de metabolitos secundarios en el extracto de la cáscara de banano utilizando diferentes solventes. | Presencia de metabolitos en el extracto de la cáscara de banano en función del solvente utilizado. | - | Positivo (+) Negativo (-) |
| Verificar la formación de nanopartículas de plata generados por la capacidad reductora de los extractos de la cáscara de banano. | Razón de carga del extracto de cáscara de banano: Nitrato de Plata. | Nanómetros | Colorimetría Espectrofotómetro SEM |
| Cuantificar el contenido celulósico presente en el raquis de banano y el rendimiento de nanocelulosa obtenida. | Rendimiento nanocelulósico mediante el tratamiento termo-químico del raquis de banano. | Porcentuales | Gravimetría |
| Comprobar el dopaje de nanopartículas de plata (AgNPs) en la nanocelulosa. | Razón de carga de nanocelulosa: nanopartículas de plata para obtener el nanocompuesto | Nanómetros | SEM |
| Determinar la capacidad antioxidante y antibacteriana del nanocompuesto obtenido. | Porcentaje inhibición antioxidante y antibacteriano | Porcentajes de inhibición, diámetro del halo | Inhibición en cultivo de bacteria, espectro UV |

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2. Residuos de origen vegetal

Los residuos de origen vegetal son considerados como la materia resultante que no está dirigida al consumo, se obtienen de diversas partes de una planta como, por ejemplo: cáscaras, hojas o semillas procedentes de frutas o leguminosas, restos de cultivos de caña de azúcar, café, fibras de pseudotallo de banano, raquis de palma, etc. [15].

En campo agrícola se producen cantidades elevadas de estos desechos y más allá de ser usados como abono o fuentes de combustión para calderas, pueden llegar a generar altas cargas de contaminación, sin embargo, gracias a la composición química que poseen pueden aportar de manera significativa en el desarrollo del campo industrial, aprovechando la disponibilidad y economía que representan. Estos residuos acogen el nombre de biomasa o materia lignocelulósica y se caracterizan por tener una compleja estructura química que está compuesta principalmente por macromoléculas como la celulosa, hemicelulosa y lignina [15], [16].

2.1. Composición química de los materiales lignocelulósicos

Los materiales lignocelulósicos están compuestos por dos grupos de moléculas que se diferencian por el peso molecular. Las sustancias de bajo peso molecular están constituidas por materia orgánica como extractos acuosos, mientras que la materia inorgánica por cenizas. Las de mayor peso molecular representan un porcentaje próximo al 90% y se conocen como macromoléculas dentro de los cuales están la holocelulosa conformada por: celulosa y hemicelulosa y por su parte la lignina [17].

La composición o distribución de los tres componentes varía dependiendo del tipo de planta, siendo los rangos más comúnmente hallados: Celulosa: 38-50%; Hemicelulosa: 23-32% y Lignina: 15-25% [18]. La eficiente separación de los componentes de la biomasa lignocelulósica resulta uno de los principales desafíos para la utilización de este recurso renovable [19].

Tabla 2. Composición de residuos de materia lignocelulósica.

| Biomasa | % Celulosa | % Hemicelulosa | % Lignina | Fuente |
|---------------------------------|-------------|----------------|-------------|--------|
| Madera dura (álamo) | 50,8 - 53,3 | 26,2 - 28,7 | 15,5 - 16,3 | [20] |
| | 45 - 51 | 25 - 28 | 10,0 - 21 | [21] |
| Madera blanda (pino) | 45,0 - 50,0 | 25,0 - 35,0 | 25,0 - 35,0 | [20] |
| | 42 - 49 | 13 - 25 | 23 - 29 | [21] |
| Paja de trigo | 35,0 - 39,0 | 23,0 - 30,0 | 12,0 - 16,0 | [20] |
| | 42,6 | 21,3 | 8,2 | [21] |
| Elote | 33,7 - 41,2 | 31,9 - 36,0 | 6,1 - 15,9 | [20] |
| Tallo de maíz | 35,0 - 39,6 | 16,8 - 35,0 | 7,0 - 18,4 | [20] |
| | 45 | 35 | 15 | [21] |
| Paja de arroz | 29,2 - 34,7 | 23,0 - 25,9 | 17,0 - 19,0 | [20] |
| | 32,1 | 24 | 18 | [21] |
| Cascarilla de arroz | 26,7 - 35,6 | 12,0 - 29,3 | 15,4 - 20,0 | [20] |
| Bagazo de caña de azúcar | 25,0 - 45,0 | 26,0 - 32,0 | 15,0 - 25,0 | [20] |
| | 49,4 | 31,5 | 8,74 | [22] |
| | 54,87 | 16,52 | 23,33 | [21] |
| Sorgo de paja | 32,0 - 35,0 | 24,0 - 27,0 | 15,0 - 21,0 | [20] |
| Paja de cebada | 36,0 - 43,0 | 24,0 - 33,0 | 6,3 - 9,8 | [20] |
| | 36 - 43 | 24 - 33 | 6,3 - 9,8 | [21] |
| Hierbas | 25,0 - 40,0 | 25,0 - 50,0 | 10,0 - 30,0 | [20] |
| | 25 - 40 | 25 - 50 | 10,0 - 30,0 | [21] |
| Centeno | 42,83 | 27,86 | 6,51 | [22] |
| Bambú | 49 - 50 | 18 - 20 | 23 | [21] |

Comparación de los componentes lignocelulósicos de diferentes fuentes de biomasa.

2.1.1 Hemicelulosa

La hemicelulosa es una estructura que está constituida por diferentes azúcares como pentosas (xilosa y arabinosa), hexosas (manosa, glucosa y galactosa), azúcar y ácidos, entrelazadas entre sí glucosídicamente. A diferencia de la celulosa estos compuestos forman cadenas y con ramificaciones más cortas que la hacen más fácil de hidrolizar [23].

El contenido de hemicelulosa, tanto por cantidad como por variedad difiere mucho en función de las distintas especies variando del 20 – 30% de materia seca, tanto si se trata de madera como de otros componentes lignocelulósicos [24].

La hemicelulosa se adhiere a la celulosa por medio de puentes de hidrógeno y las interacciones de Van Der Waal, sirviendo a su vez de conexión entre la lignina y las fibras de celulosa y da toda la rigidez a la red de celulosa, hemicelulosa y lignina [25].

2.1.2. Lignina

La lignina es un polímero orgánico amorfo, insoluble, muy difícil de aislar en su estado natural [24]. Siendo uno de los biopolímeros más abundantes en las plantas y junto con la celulosa y la hemicelulosa conforma la pared celular de las mismas en una disposición regulada a nivel nanoestructural, dando como resultado redes de lignina-hidratos de carbono [18].

Desde punto de vista de su estructura a diferencia de la celulosa, hemicelulosa y proteínas, la lignina no se ha podido definir con claridad, debido a la complejidad que afecta su aislamiento, análisis de la composición y la caracterización estructural. Definir la estructura de la lignina se complica porque sus unidades estructurales no suelen

repetirse de forma regular, esto se debe a que la estructura de este polímero varía en función de su origen y el método utilizado para su aislamiento [18].

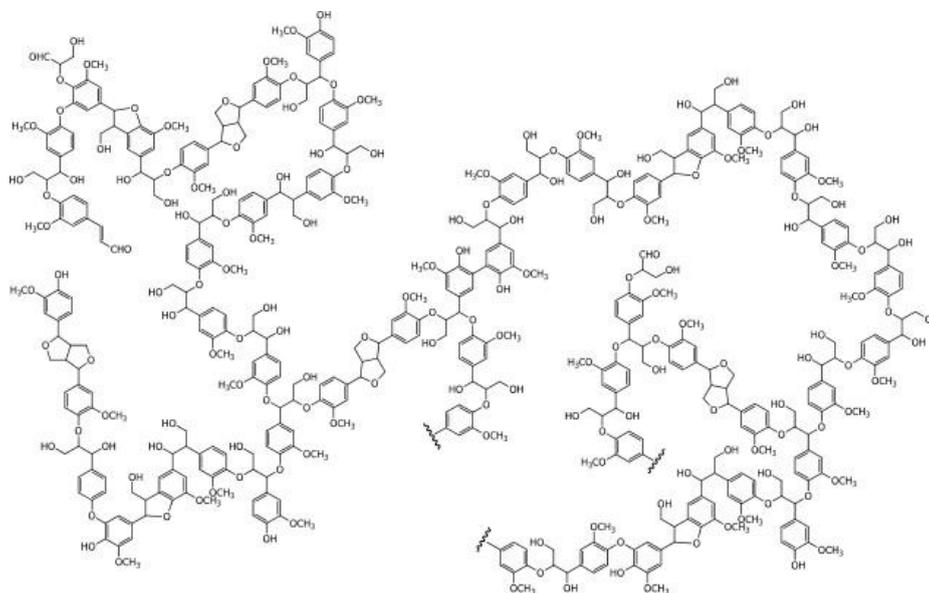


Figura 2. Estructura de la lignina [18].

La lignina proporciona rigidez y sostén a las fibras polisacáridas, participa en el transporte interno de agua, nutrientes y metabolitos. Es más resistente a la degradación enzimática que la celulosa y hemicelulosa y se une a ambas formando una barrera impermeable que dificulta su degradación enzimática. Las uniones lignina-hemicelulosa se da mediante intermediarios cinamílicos. Esta fuerte asociación ha hecho que se estudien diferentes métodos químicos y físicos de deslignificación como pretratamiento a la hidrólisis enzimática con el fin de obtener mayores rendimientos [26].

2.1.3. Celulosa

La celulosa es un polisacárido natural, es el biopolímero más abundante y renovable con diversas aplicaciones útiles, su fórmula química general se expresa como $(C_6H_{10}O_5)_n$; donde n es el número de unidades de glucosa presente en la celulosa, $n = 10000$ to 15000 , donde n va a depender de la fuente lignocelulósica [27]. Es una importante estructura que forma parte de las paredes celulares de las plantas cuya proporción oscila entre un 30- 50%, está compuesto por unidades de glucosa que están unidas por enlaces β (1-4) glucosídicos [28].

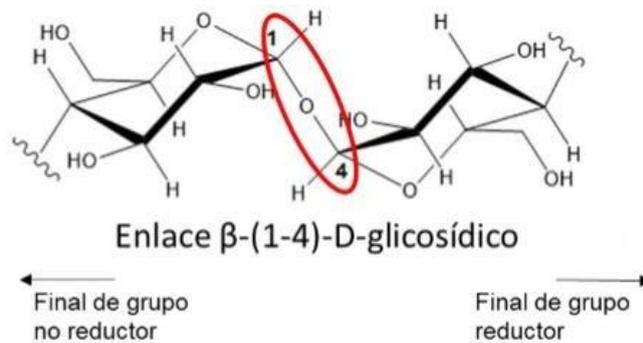


Figura 3. Estructura primaria de celulosa unida por enlace β (1-4) glucosídico [23].

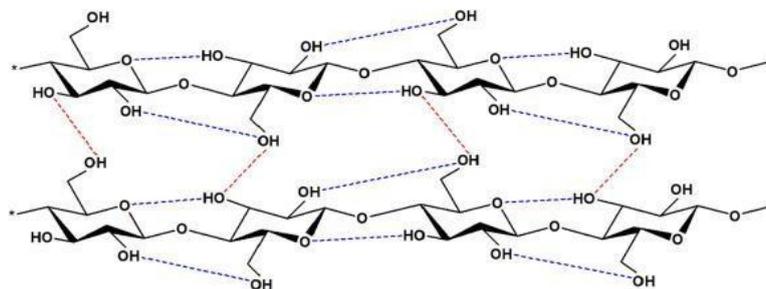


Figura 4. Estructura de la celulosa lineal [29].

Las cadenas de celulosa muestran alta estabilidad producto de sus enlaces inter e intramoleculares, dando lugar a una estructura fuertemente enlazada y resistente a varios disolventes [30].

Es el componente estructural más abundante en la tierra y a pesar de que puede ser producido de forma sostenible de varias fuentes de biomasa, este polímero aparte de encontrarse presente en la madera, algodón, cáñamo y otras plantas, también es sintetizada por otros organismos como Tunicados, Oomycotas, algunas algas y bacterias como la *Acetobacter xylinum*, sus derivados se usan para un sin número de aplicaciones como la industria de papel, biomateriales, productos farmacéuticos, como agente espesante, cosmetología [31], [32].

Muchas de las propiedades de la celulosa dependen del grado de polimerización, que puede variar según la fuente de celulosa. Debido a la gran cantidad de grupos hidroxilo en los anillos de glucosa a lo largo del esqueleto, hay una gran cantidad de puentes de hidrógeno entre las cadenas de celulosa individuales. Esto genera regiones amorfas y cristalinas, lo que le proporciona resistencia, rigidez y durabilidad [33].

2.2. Banano

La planta de banano pertenece a las Musáceas y su nombre científico es *Musa paradisiaca* [34]. Esta fruta tuvo su origen en el sureste de Asia y las Islas Pacífico, se encuentra en muchos países de tipo tropical, y se la considera una de las especies más antiguas del mundo [35].

Las condiciones climáticas de esta planta herbácea para crecer pueden abarcar diversos tipos de climas y suelos, siendo el clima húmedo tropical el más adecuado para producir, extendiéndose su producción durante todo el año [36].

La clasificación taxonómica del banano es la siguiente:

Tabla 3. Taxonomía general del banano.

| | |
|--------------|----------------|
| Reino | Plantae |
| Clase | Liliopsida |
| Orden | Zingiberales |
| Familia | Musaceae |
| Sub- familia | Cucurbitoideae |
| Genero | Musa |
| Especie | Paradisiaca |

Fuente: Cultivo de alta densidad banano [37].

El banano junto con el plátano, fueron clasificados en el año 1753 originalmente por Carl Nilsson Linnaeus, bajo el nombre de *Musa paradisiaca*, que hace referencia a híbridos y cultivares de especies silvestres. Pero al transcurrir los años se modificó su clasificación debido a que existen diferencias genéticas entre ellos, siendo así que se denominó *Musa balbisiana* al plátano, el cual para su consumo debe cocinarse, y al banano como *Musa acuminata*, que se lo consume como fruta [38].

Tabla 4. Clasificación de las especies de banano y plátano.

| Especies | Grupo | Subgrupo | Clones | Otros nombres |
|--|---------------|-------------------|-------------------|---|
| <i>Musa acuminata</i> (Consumo fresco-Banano) | Diploide AA | Sucrier | Baby banana | <i>Lady's finger/Bocadillo/Moquicho</i> |
| | Triploide AAA | Gross Michel/Seda | Gross Michel | <i>Orto/seda</i> |
| | Triploide AAA | Cavendish | Gran Naine | <i>Gran enana/chiquita</i> |
| | | | Dwarf Cavendish | <i>Cavendish pequeño</i> |
| | | | Valery | <i>Robusta</i> |
| | | | Lacatan | <i>Filipino/Montecristo</i> |
| | | | Williams | <i>Cavendish gigante</i> |
| | | | Rojo y rojo verde | <i>Morado</i> |
| <i>Musa balbisiana</i> (Consumo cocido-Plátano) | Triploide AAB | Plantain | French Plantain | <i>Dominico</i> |
| | | | Horn plantain | <i>Barraganete/Bellaco</i> |
| | | | Dominico harton | |
| | | | Maqueño | |
| | | | Manzano/Silk | |
| | | | Limeño | |
| | Triploide ABC | Plantain | Cuatrofilios | |
| | | | Pelipita | |
| | | | | |
| Tetratriploide AAAB | | FHIA 4 | | |
| | | FHIA 21 | | |

Fuente: Dirección de Inteligencia Comercial e Inversiones Pro Ecuador [38].

Los guineos son frutas ricas en fuentes de potasio, ácido fenólicos, antocianinas, fructosanos, terpenos, además poseen altas concentraciones de antioxidantes como la catecolamina, dopamina y galocatequinas [39].

Entre las principales funciones que cumplen el banano se encuentran mejorar la retención de líquidos, promover la absorción de nutrientes, y el metabolismo de las grasas, así como prevenir infecciones de tipo urogenital y reducir el riesgo de padecer cáncer de colon [40].

2.2.1. Banano en el mundo y en el Ecuador

El banano es una de las frutas tropicales más cultivada y con un volumen de consumo de 20 millones a nivel mundial lo que equivaldría un 30% del comercio mundial [41], donde Asia se mantiene como el continente de mayor producción con aproximadamente el 54.4 % del total mundial, seguido de América y África [42]. En general, este fruto se produce en unos 122 países a nivel mundial [12].

Para el 2016 los principales países productores fueron India, China, Indonesia, Brasil y Ecuador [42]. Siendo Ecuador el principal país exportador [41].

A nivel nacional es la actividad agrícola más importante en generación de empleo y desde el punto de vista económico representa un 3.84 % del PIB. Estas plantaciones mayormente se concentran en tres provincias del litoral, como Guayas, Los Ríos y El Oro (92%) y entre otras 7 provincias (8%) [43]. A pesar de que el área de cosecha se ha reducido en los últimos 10 años, la capacidad de producción se mantiene [42].

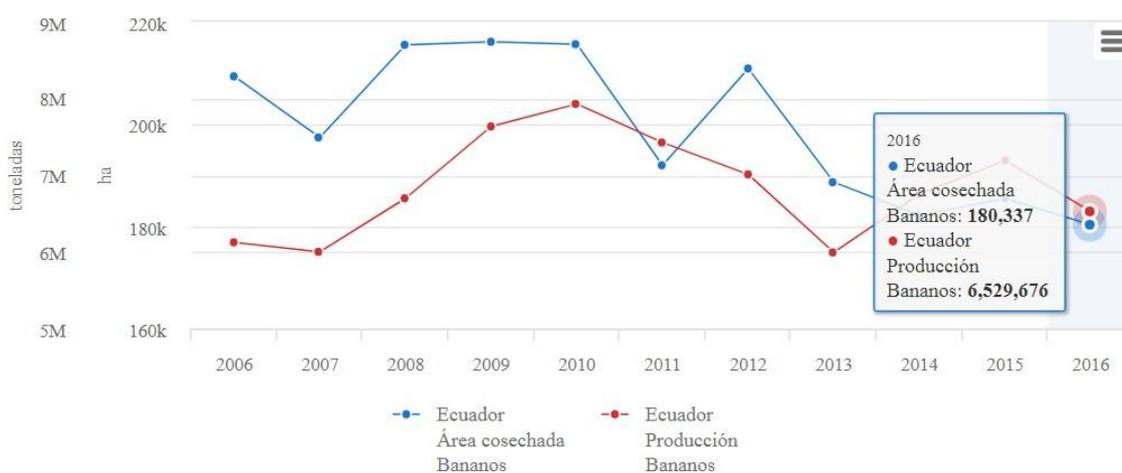


Figura 5. Producción/Rendimiento de Bananos en Ecuador [42].

2.2.2. Residuos de banano

La producción de banano deja grandes cantidades de residuos, algunos de estos se están aprovechando en la producción de abono orgánico, biocombustibles, textil, químicos, alimentos de consumo animal, entre otros [26]. Entre los principales residuos orgánicos que se generan se encuentran el raquis y la cáscara.

2.2.3. Raquis de banano

El raquis o también denominado pinzote está conformado por un tallo floral, que tiene por función sostener el racimo durante la cosecha del fruto. Estructuralmente está compuesto principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina, contando con un 5 - 8% de fibra [44].

Del racimo de banano, el raquis constituye aproximadamente entre un 4.4 y 6.9 % del peso total. Del raquis es posible la obtención de celulosa, misma que se encuentra por alrededor del 40 % base seca [5].

Tabla 5. Composición lignocelulósica de raquis de banano.

| Variedad | Celulosa (%) | Hemicelulosa (%) | Lignina (%) | Cenizas (%) | Extractos (%) | Fuente |
|---------------------|--------------|------------------|-------------|-------------|---------------|--------|
| Cavendish Colla AAA | 26,1 | 11,2 | 10,8 | 29,9 | 18,2 | [45] |
| | 57,1 | 2,7 | 31,6 | 5 | - | |
| Gian Cavendish | 66,7 | - | 15,3 | 2,3 | 5,4 | [46] |
| Grande Naine | 36,28 | 17,18 | 8,64 | 30,16 | 13,64 | [5] |

2.2.4. Cáscara de banano

Las cáscaras de banano son residuos que resultan en un 35% del peso total de la fruta y poseen aplicaciones que se han venido utilizando para tratar enfermedades como diarreas, úlceras, anemias y quemaduras en la piel [14].

Estos desechos contienen altos niveles de metabolitos secundarios en especial compuestos fenólicos, los cuales promueven los periodos de cicatrización de heridas, gracias a su poder de eliminar radicales libres por ser fuentes ricas de antioxidantes [47].

Se conoce que la cáscara de banano contiene mayores niveles de compuestos fenólicos que la pulpa [48].

Tabla 6. Composición fitoquímica de la cáscara de banano (AAA).

| Componentes | Cáscara verde | Cáscara madura | Fuente |
|----------------------|---------------|----------------|--------|
| Cavendish | | | |
| % Humedad | 91,62 | 95,66 | |
| % Proteína | 5,19 | 4,77 | |
| % Fibra cruda | 11,58 | 11,95 | |
| Energía bruta (kcal) | 4383 | 4592 | |
| % Calcio | 0,37 | 0,36 | |
| % Fosforo | 0,28 | 0,23 | |
| % Ceniza | 16,3 | 14,58 | [34] |
| TPC | 685,57 ± 0,80 | 586,29 ± 0,99 | |
| TFC | 380,33 ± 1,61 | 225,01 ± 1,49 | |
| DPPH (%) | 52,66 ± 0,82 | 45,08 ± 1,30 | |
| Dream Banana | | | |
| TPC | 160,77 ± 0,82 | 94,9 ± 0,83 | [48] |
| TFC | 96,92 ± 1,22 | 72,46 ± 1,33 | |
| DPPH (%) | 50,64 ± 0,75 | 40,01 ± 1,44 | |

TPC (mg GAE / 100 g de materia seca), TFC (mg CE / 100 g de materia seca)

Comparación de los compuestos presentes en la cáscara de banano en estado verde y maduro.

2.3. Nanocelulosa

El nanocelulosa es una fibra natural que se refiere a materiales de celulosa en las que al menos una de sus dimensiones se encuentra en escala nanométrico [49]. Los mayores esfuerzos para su obtención radican en alcanzar una nanocelulosa con dimensiones que oscilen desde 1 hasta 100 nm , estas dimensiones nanométricas hacen de este biopolímero un material interesante por las buenas propiedades mecánicas ya que a estas escalas presentan características de baja densidad (alrededor de 10.6 g/cm^3), alta rigidez de hasta 220 GPa de módulo elástico que es mayor a la fibra de Kevlar, también tiene una alta resistencia de tracción de hasta 10 GPa, biodegradabilidad, quiralidad, termoestabilidad, baja expansión térmica [7], [50].

Existen tres tipos de nanocelulosa:

2.3.1. Nanocelulosa fibrilada (NCF).

Consiste en partes cristalinas y amorfas alternados, posee un diámetro de entre 10 y 100 nm y con longitudes que pueden sobrepasar los 1000 nm, su morfología se la suele asimilar a la de un tallarín [50], [3]. El aislamiento exitoso de las nanofibras de celulosa se informó por primera vez en 1983, actualmente se conoce que por tratamientos mecánicos mediante el uso de un homogenizador se puede diluir suspensiones de nanofibras de celulosa resultando geles con un aumento en su viscosidad [51].

2.3.2. Whiskers de celulosa o celulosa nanocristalina (NCC)

Su apariencia es como la de un grano de arroz, el diámetro de este tipo de celulosa está entre los 2 y 20 nm y longitudes de entre 100 y 1000 nm. Su producción consiste en la remoción de constituyentes asociados a la celulosa mediante tratamientos químicos, este tratamiento también permite el rompimiento del enlace glucosídico propio de la celulosa, liberando los cristales individuales [15].

2.3.3. Nanocelulosa bacteriana (NCB)

Es otro tipo de nanocelulosa que difiere de NCF y NCC debido a su origen, ya que esta es producida por bacterias, principalmente por *Gluconacetobacter xylinus*, esta nanocelulosa es generada de la acumulación de azúcares de bajo peso molecular durante unos días hasta dos semanas [52], [50]. Los tres tipos de nanocelulosa tienen la misma composición química a diferencia de que NCB siempre está en forma pura; es decir, sin los demás componentes de biomasa lignocelulósica como la lignina, hemicelulosa, pectina, etc. [53].

Desarrollar nuevos materiales de base orgánica es necesario para reducir la dependencia de recursos fósiles y proporcionar un futuro sostenible. La abundancia relativa de la celulosa ha sido un factor clave para la producción de nanocelulosa [50].

La obtención de celulosa y nanocelulosa a partir de residuos lignocelulósicos ha sido desarrollada por tratamientos químicos aplicando distintos métodos como la hidrólisis ácida, hidrólisis alcalina, agentes de oxidación, Organosolv, líquidos iónicos; y tratamientos mecánicos tales como homogenización, ultrasonificación, microfluidización, molienda y tratamiento térmico de alta presión térmico [3], [54]. La combinación de métodos de tratamiento químicos-físicos como alcalino, blanqueo, hidrólisis ácida y explosión de vapor pueden favorecer la obtención de celulosa y nanocelulosa del raquis de banano [54].

Tibolla et. al., [55] determinaron que la combinación de tratamiento químico-enzimático con la enzima xylanasa en la cáscara de banano mostró nanofibras de celulosa de un diámetro de 8,8 nm y longitudes de entre 615 y 3633.3 nm. En otros grupos de investigación primero se promueve la deslignificación y posteriormente la obtención de

nanocelulosa aplicando los métodos químicos-mecánico obteniendo nanofibras de celulosa de diámetros de entre 2.89 y 4.65 nm [56].

Por otra parte Carchi [15] obtuvo como resultados nanofibras de celulosa con 17.73 nm de ancho y 286.44 nm de longitud producto del tratamiento químico aplicado al raquis de banano.

Las nanofibras de celulosa se prepararon a partir de la cascara del fruto de banano usando tratamiento alcalino a una alta presión hidrotermica y seguido de la reacción con ácido oxálico con lo que se logró hidrolizar la hemicelulosa y despolimerizar los componentes de la lignina consiguiendo obtener nanofibras de celulosa de 30 nm de diámetro. Es importante mencionar que la cantidad de celulosa presente en los residuos de banano va a depender de la variedad y parte que se aproveche del mismo [7].

Deepa et al., [54] reportó la producción de nanofibras de celulosa a partir de raquis de banano con un diámetro de 10-60 nm aplicando explosión de vapor con hidróxido de sodio al 2%, seguido de blanqueamiento con clorito de sodio a 70°C e hidrolisis ácida a 20 PSI por 3 horas, las fibras obtenidas fueron suspendidas en agua y agitadas mecanicamente. Por otra parte, el grupo de trabajo de Zuluaga et al, [57] obtuvo nanofibras de celulosa con diámetros de 3 – 5 nm sometiendo la celulosa a una hidrolisis alcalina.

Desarrollar nuevos materiales de base orgánica es necesario para reducir la dependencia de recursos fósiles y proporcionar un futuro sostenible. La abundancia relativa de la celulosa ha sido un factor clave para la producción de nanocelulosa [50].

La nanocelulosa puede ser caracterizada combinando técnicas microscópicas como la microscopía de fuerza atómica (AFM), microscopía electrónica de transmisión (TEM), microscopía electrónica de barrido (SEM) o técnicas de dispersión como dispersión de

neutrones de ángulo pequeño (SANS) y junto con el análisis de imágenes para determinar las dimensiones necesarias [15].

2.3.4. Aplicaciones de la nanocelulosa

Entre las propiedades de las nanofibras de celulosa una de las más importantes es su biocompatibilidad, es todo se debe a que en su estructura molecular presenta grupos –OH que permiten la modificación de las NCF, facilitando que una amplia variedad de materiales (PVA, PLA, etc) y nanometales (Au, Ag, Pb, Fe, Ni, etc) se acoplen en su estructura [7]. Esto hace que sea un material versátil multifuncional atractivo para su utilización en distintas áreas como:

La industria alimentaria, mediante la utilización de NCF como ingrediente para la preparación de cremas, glaseados, salsas, o como agentes estabilizador de aceites y grasas, también puede ser utilizado empaques de envoltura para evitar la descomposición de alimentos [7], [1].

La industria medicinal, por su característica como fibra dietética puede ser utilizado en el tratamiento de trastornos intestinales, de igual forma, puede tener potencial en la reconstrucción de tejidos [1].

En el área medioambiental puede ser utilizado en los procesos de filtración de aire y agua contaminada. Las nanofibras de celulosa también se han reportado como catalizadores que impiden la agregación de nanopartículas tales como TiO₂, Au, CuO, Ag. [7].

2.4. Nanocompuesto y sus aplicaciones

Las nanofibras de celulosa tiene una alta estabilidad mecánica, estructura cristalina, buena área de superficie y porosidad. Entre las características más importantes de las nanofibras de celulosa está la concentración de grupos hidroxilos (OH) ligados en su superficie estructural que permiten las modificación de las NCF [7].

Estos grupos OH presentes en la superficie de la NCF hacen que estas se entrelacen con compuestos de amonio cuaternario formando aminas cuaternarias. Este proceso se llama cuaternización. A través de este proceso, los grupos catiónicos se introducen en la superficie NCF para mejorar la adsorción de aniones de fuentes de agua contaminadas [7].

2.4.1. Nanopartículas metálicas y nanofibras de celulosa

La generación de un nanocompuesto conformado por nanometales como las nanopartículas de plata (AgNPs) y nanofibras de celulosa es posible, porque, las nanofibras de celulosa presentan áreas de superficie rugosa de alta estabilidad mecánica que permiten la inserción de la nanometales en su superficie [7].

Khalid et al., [58] demostraron que el nanocompuesto conformado por nanocelulosa bacteriana dopado de nanopartículas de óxido de zinc tiene la capacidad de cicatrización de heridas y propiedades antimicrobianas para *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Citrobacter freundii*.

Nanocompuestos de esta naturaleza se han sintetizados por el método de reducción utilizando como agente reductor NaBH_4 , la nanofibra de celulosa se dopa con nanopartículas de plata constituyendo un nanocompuesto cuya resistencia al crecimiento bacteriano está en función al tamaño de su estructura [7].

Estas combinaciones se han desarrollado con varias finalidades como catalíticas, como biosensores en la detección de catecol, preparación de compuestos antibacterianos

Los nanocompuestos a base de NCF evitan la formación de microorganismos en su superficie debido a su alto grado de humectabilidad [7].

2.5. Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios se originan de los primarios, y se diferencian de este primer grupo por su distribución en el reino vegetal, su producción es más limitada en comparación con los compuestos primarios que se encuentran en forma abundante y son necesarios para las funciones básicas y desarrollo de las plantas, la producción de los productos secundarios varía de acuerdo a determinadas especies, géneros o familias. Dentro de ellos se subdividen cuatro grupos químicos principales: compuestos fenólicos, terpenos, glicósidos y alcaloides [59].

Los principales productos secundarios que se encuentran presentes en la cáscara de banano son los compuestos fenólicos y las saponinas, en la siguiente figura se muestran las principales rutas de síntesis.

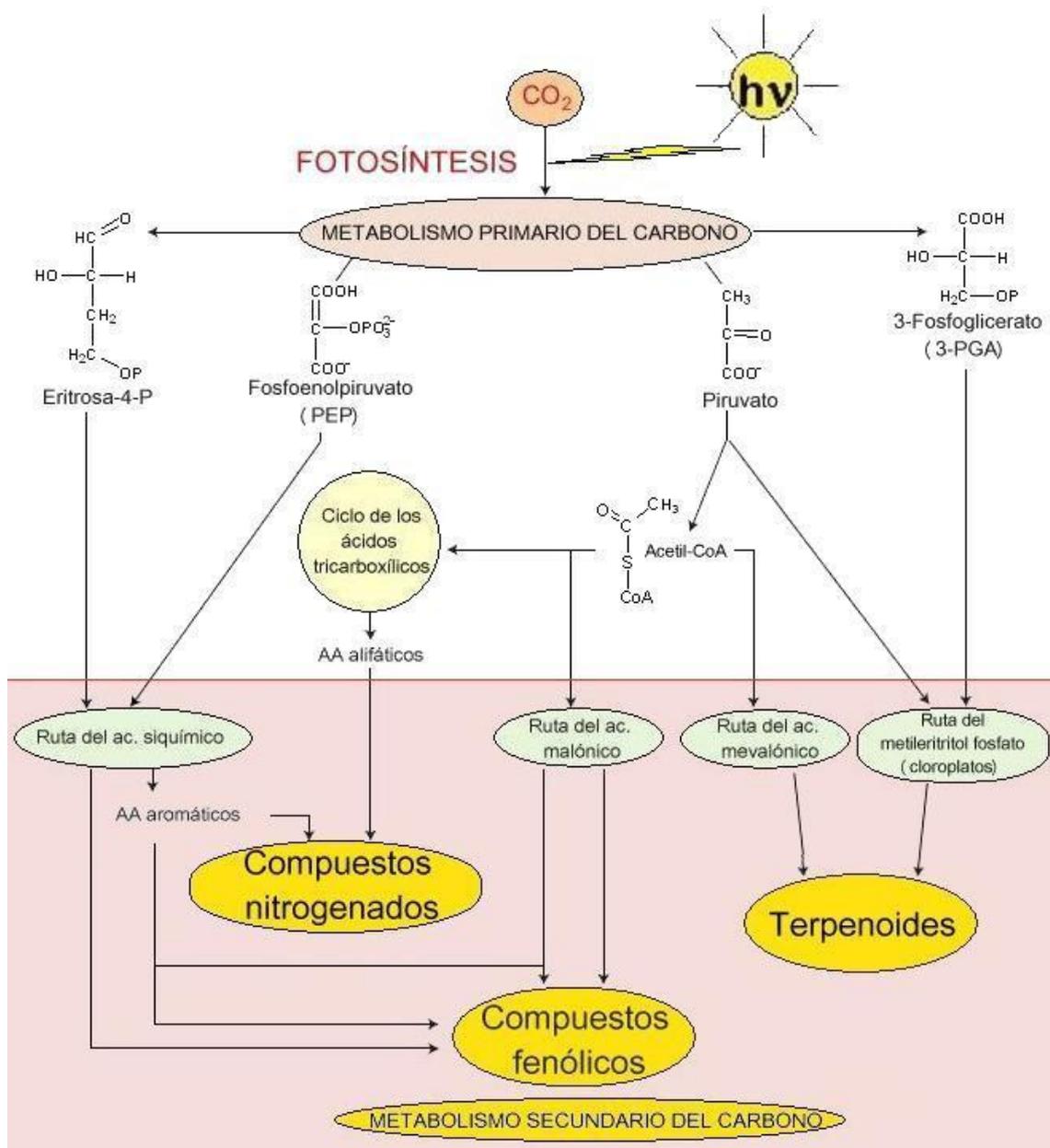


Figura 6. Elementos del metabolismo del carbono en relación con las rutas de síntesis de metabolitos secundarios [59].

La importancia de los metabolitos secundarios en el organismo humano se fundamenta en su poder antioxidante, pues estos actúan de forma potencial frente a los radicales libres que son responsable del daño de los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos en las células causando enfermedades como el cáncer y acelerando los procesos de envejecimiento, es

por ello que bajo estudios científicos se promueve el consumo de frutas, ya que estas son ricas en antioxidantes [60].

La extracción de los compuestos bioactivos de fuentes vegetales suelen darse por métodos convencionales con el uso de solventes, sin embargo la solubilidad de ciertos compuestos fenólicos se ve afectada por la polaridad del solvente [61], existiendo otros factores que afectan esa extracción como la temperatura, relación solvente-muestra, concentración y tiempo de exposición [14]. Existen otros métodos como la extracción asistida por ultrasonido o por vía microonda que aceleran los procesos de extracción, aumentando los rendimientos en un menor tiempo [61].

2.5.1. Compuestos fenólicos

Los también llamados polifenoles o fenilpropanoides están conformados en su estructura básica por un fenol con un grupo hidroxilo, dentro de este grupo encontramos los flavonoides, taninos, cumarinas y lignina [59].

Los compuestos fenólicos sobresalen por su interacción como agentes que ayudan a prevenir enfermedades como la diabetes, problemas cardiovasculares, obesidad o cáncer [14]. Estos se encuentran presentes en la cáscara de banano en mayor proporción que en la pulpa, los taninos tienen una característica propia que los define que es la astringencia, a medida que la fruta se madura ese sabor desagradable se reduce, ya que existe una polimerización de los polifenoles, asociándose así a un cambio en la estructura de los taninos [62].

El contenido de los compuestos fenólicos en las plantas puede variar significativamente debido a factores como las condiciones de cultivo, humedad, temperatura, estado de madurez, procesamiento, condiciones de crecimiento y

almacenamiento [40]. Los fenilpropanoides son los responsables del pardeamiento oxidativo del banano por la acción de la enzima polifenol oxidasa [62].

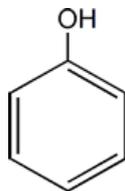


Figura 7. Estructura química del fenol [59].

2.5.2. Taninos

Los taninos son compuestos polifenólicos que se subdividen en taninos condensados (TC) y taninos hidrolizables (TH). Juegan un papel importante como potentes inhibidores enzimáticos reduciendo o eliminando su actividad, actúan como agentes precipitantes de proteínas [63]. Sin embargo, en algunos estudios se cuestionan sus efectos, debido a que pueden producir resultados opuestos a la inhibición, actuando como fagoestimulantes, esto ocurre generalmente por la capacidad que tienen los taninos de unirse a proteínas desnaturalizándolas volviéndose tóxicos [64].

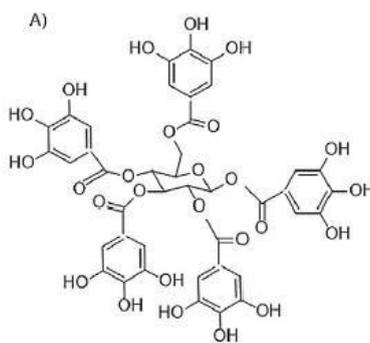


Figura 8. Estructura de un tanino hidrolizado [65].

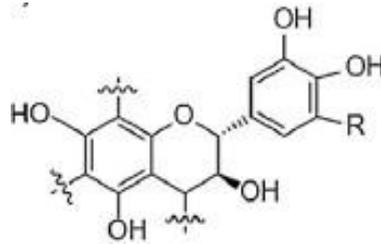


Figura 9. Estructura de un tanino condensado [65].

Los taninos hidrolizables se diferencian de los condensables por su grado de hidrolización, su estructura está conformada principalmente por ácidos fenólicos y azucres simples y se pueden hidrolizar fácilmente, en cambio los taninos condensados son polímeros correspondientes a unidades de flavonoides que no pueden ser hidrolizados, pero si oxidados al tratarlos con ácidos fuertes formando antocianidinas [59].

2.5.3. Flavonoides

Los flavonoides son un grupo de compuestos naturales con estructuras fenólicas variables dentro de los cuales se encuentran aproximadamente 4500 elementos. Su estructura nuclear incluye los carbonos C6-C3-C6, y la diversidad de flavonoides depende de la posición del anillo aromático [66].

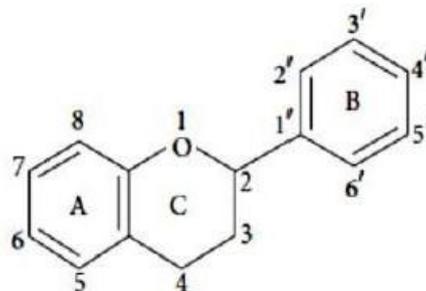


Figura 10. Estructura básica de los flavonoides [67].

Estos metabolitos derivan de la vía del shikimato y del metabolismo de los fenilpropanoides [67]. Dependiendo del estado de oxidación del anillo pirano central se pueden dividir en diferentes subclases: flavonoles, flavanonas, flavonas, flavan-3-ol, isoflavonas y antocianidinas, existe una clase llamada chalcones que corresponde a la no ciclación del fragmento C3, los cuales tienen un sistema de numeración diferente [68]. La clasificación de los flavonoides puede estudiarse por el número de productos intermedios o finales que presente, ejemplo de estos son las chalconas, flavanonas, y los flavan-3-oles que son tanto productos intermedios como productos finales que se acumulan en el proceso de biosíntesis de la planta, mientras que otras clases como flavonas y flavonoles se identifican como productos finales en la biosíntesis [67].

Entre sus principales funciones en la industria alimentaria está la de proveer color y sabor, brindar protección a las enzimas y vitaminas, así como prevenir procesos de oxidación de grasas, cabe mencionar que este grupo de polifenoles son los más abundantes en los alimentos [67].

La función de mayor importancia y estudio en los flavonoides radica en su poder antioxidante al actuar sobre los radicales libres en el organismo, mejorando la respuesta inmunológica a agentes que son causantes de cáncer, reducen el riesgo cardiovascular y síntomas de la menopausia, ya que presenta propiedades antitrombóticas, así como su capacidad para reducir el colesterol en la sangre [66].

2.5.4. Glicósidos

Los glicósidos son fitoquímicos vegetales que se originan al condensar una molécula de azúcar que contiene un grupo hidroxilo con otra molécula de azúcar mediante un enlace glicosídico. Las saponinas junto con los glicósidos cianogénicos y glicósidos cardiacos forman parte de estos metabolitos secundarios [59].

2.5.5. Saponinas

A este tipo de metabolito se lo conoce como glicósido de esterol y glicósido de triterpeno, al igual que a los compuestos fenólicos se le atribuyen propiedades para inhibir la proliferación de células malignas [69]. Proveen el característico sabor amargo, actúan como un sistema de defensa contra patógenos, generan efectos antiinflamatorios, anticarcinogénicos, efectos antibacterianos, antifúngicos y antivirales, a pesar que en algunas fuentes se menciona que son antinutricionales por su actividad hemolítica [70].

Las propiedades surfactantes o detergentes propias de las saponinas surgen de la adición de un azúcar a su estructura, cuando no contienen el grupo hidrofílico, se presentan como agliconas y se denominan sapogeninas [59].

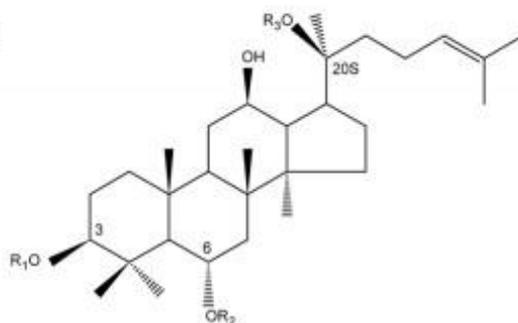


Figura 11. Estructura de saponinas [71].

Tabla 7. Identificación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de Banano (*M. Acuminata*).

| Variedad de Cultivo de banano (<i>Musa acuminata</i>) | Método Analítico | Extracto | Contenido Fenólico total (TPC) ^a | Contenido total de Flavonoides (TFC) ^b | %DPPH | Fuente |
|---|------------------|----------|---|---|------------|--------|
| Cavendish basrai | Fisicoquímico | Metanol | 83.04±0.072 | 11.66±0.23 | 82.46±1.50 | [39] |
| Cavendish basrai | Fisicoquímico | Agua | 19.50±0.30 | 4.77±0.020 | 67.27±0.65 | [39] |
| <i>Musa cavendish</i> | Fisicoquímico | Acetona | 23.49±1.13 | 39.46±0.89 | 47.09±1.62 | [72] |
| <i>Musa cavendish</i> | Ultrasonido | Metanol | 585±29 | 225.91±1.49 | 45.08±1.30 | [48] |
| <i>Musa acuminata</i> colla AAA | Ultrasonido | - | 35.1±1.15 | 196.1±6.70 | 84.5±6.48 | [61] |
| <i>Musa acuminata</i> colla | Cromatografía | - | - | 2.14 ^c | - | [40] |
| <i>Musa acuminata</i> , Gran enana, Pequeña enana | Cromatografía | - | 1.00 ^d | - | - | [40] |
| <i>Musa acuminata</i> , Gran Nain, Musa AAA Nanicao | Ensayo Follin | - | 154.70 | - | - | [40] |
| <i>Musa acuminata</i> colla | HPLC | - | - | 2.30 | - | [40] |

(mg GAE / 100 g de materia seca), ^b(mg CE / 100 g de materia seca), ^cContenido de Catequina,

^dAcido galico

2.6. Nanopartículas de plata

2.6.1. Plata

La plata es un metal que cuenta con singularidades que lo distinguen de los demás elementos, en forma pura posee la conductividad térmica y eléctrica más alta entre todos los metales y además tiene menos resistencia de contacto [2]. Desde la antigüedad se utilizaba para desinfectar el agua, tratar úlceras gástricas, mejorar la curación de heridas e infecciones [73].

2.6.2. Aplicaciones de las nanopartículas de plata.

La rama de la nanotecnología enfatiza su investigación sobre las nanopartículas de plata gracias a sus múltiples aplicaciones, dentro de las cuales sobresalen la inhibición bacteriana y su acción como agentes anticancerígenos [2]. Sin embargo, también cuentan con propiedades ópticas y biológicas, actúan en procesos de catálisis, fabricación de nanodispositivos, en la industria alimenticia y de cosméticos [74].

Las propiedades más importantes de las nanopartículas de plata son las ópticas que cambian con la alteración de forma y tamaño. La resonancia de plasmón de las nanopartículas es responsable de estas propiedades ópticas únicas y beneficiosas de nanopartículas que dependen del tamaño, la forma, su distancia entre sí y los cambios del índice de refracción [75].

2.6.3. Métodos de síntesis de las Nanopartículas de Plata

Existen dos categorías principales en que se dividen los métodos de síntesis de nanopartículas de plata: “Top down” y “Bottom up”. En la primera división Top down; que significa de arriba hacia abajo se encuentran procesos mecánicos que tratan el metal al granel ejerciéndose una reducción de tamaño hasta alcanzar la escala manométrica y posterior a ello aplicando agentes coloidales, lograr la estabilización. Mientras que en el segundo enfoque de abajo hacia arriba (Bottom up) las nanopartículas se sintetizan utilizando productos químicos y métodos biológicos por autoensamblaje, partiendo de un agente reductor y la disolución de la sal en un solvente para conseguir la reducción de los iones de plata y en una segunda fase emplear agentes estabilizantes para que no exista aglomeración de las nanopartículas [73], [76].

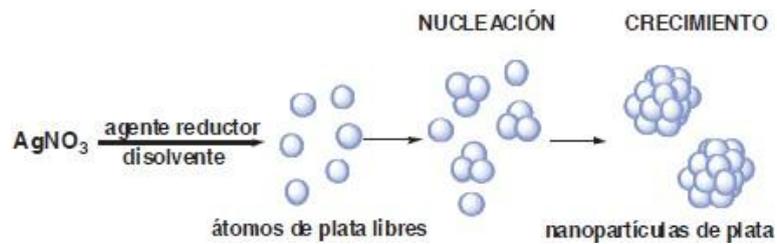


Figura 12. Mecanismo de formación de nanopartículas de plata [6].

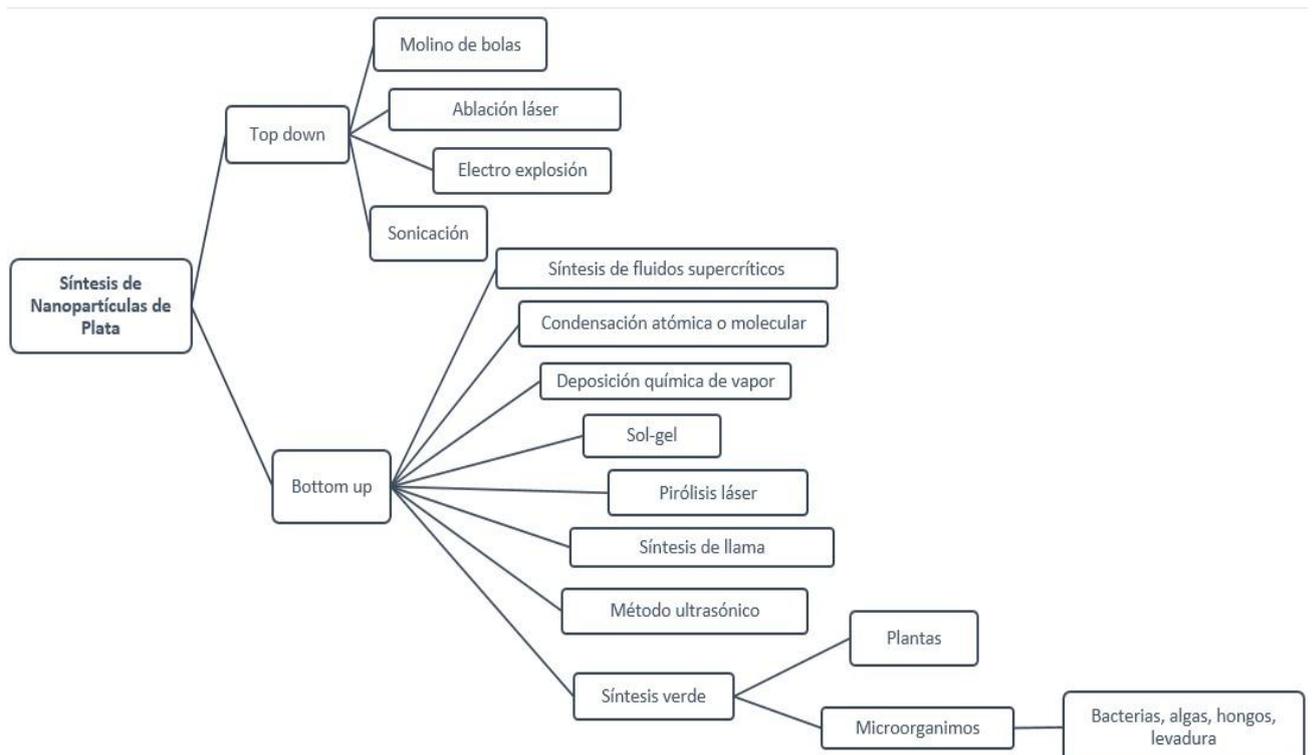


Figura 13. Clasificación de la Síntesis de las Nanopartículas de Plata [76].

La síntesis verde ofrece ventajas por encima de los métodos químicos o físicos, son de menor costo, se puede realizar a gran escala, no necesita altas temperaturas, energía o elementos tóxicos, el empleo de extractos de origen vegetal hace que esta metodología sea más accesible, sin tener que hacer uso de cultivos celulares causando menor riesgo biológico [73], [77].

La formación de nanopartículas de plata se puede corroborar de distintas maneras, la primera, se la verifica por el cambio de color de la solución a un tono café marrón, característica propia de las nanopartículas de plata debido a un fenómeno conocido como resonancia de plasmón, otra forma de comprobar su formación se observa con el uso de un Espectrofotómetro UV-VIS, donde sobresalen picos de absorbancia en un rango de 400 a 460 nm de longitud de onda aproximadamente, verificando la reducción de iones de plata a estado cerivalente. Existen métodos analíticos que proveen mayor exactitud al proporcionar información de las nanopartículas de plata, dentro de ellos están el análisis de Difracción de rayos X (XRD), Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), Microscopía electrónica de barrido (SEM), Microscopía electrónica de transmisión (TEM) [75].

La síntesis verde provee un enfoque ecológico y de bajo costo frente a otros métodos propuestos, y sus aplicaciones van a variar de acuerdo a la fuente de extracción y las propiedades de las nanopartículas obtenidas. Cabe mencionar que la reducción de iones de plata en la formación de nanopartículas está directamente relacionada con la manipulación de variables como, concentración del extracto vegetal, concentración de la solución de nitrato de plata, tiempo de incubación, pH, temperatura, elementos que influyen en la optimización de la síntesis de nanopartículas de plata, incidiendo directamente en su tamaño y morfología [47], [75].

Ahmed et al., [78] sintetizó nanopartículas de plata de 34 nm partiendo del extracto de la hoja de *Azadirachta indica*, evaluando la concentraciones de iones metálicos y la cantidad de extracto, obteniendo zonas de inhibición de 9 mm tanto *para E.coli* como *S. aureus*

Kokila et al., [47] obtuvo nanopartículas de plata a partir del extracto de la cáscara de banano de variedad Cavendish con un tamaño de 34 nm, presentando un 64% de

inhibición de radicales libres y con zonas de inhibición máxima de 10,75 mm frente a bacterias como *K.pneumonia* y *E. coli*.

Por otra parte, Ibrahim [79] encontró que las condiciones óptimas para obtener nanopartículas de plata a partir del extracto de la cáscara de banano fueron 1,75 mM de nitrato de plata, 20.4 mg de materia seca y un tiempo de incubación de 72 horas, logrando un tamaño de 23,7 nm de nanopartículas y un mayor % de mejora de la inhibición bacteriana para el patógeno *P. aeruginosa*, con 20 mm de inhibición. Siendo Narayanamma [80] el que reportó el menor tamaño de partículas, de 10 nm empleando la misma fuente vegetal que los investigadores anteriores, pero con modificaciones en el proceso que contenían uso de agentes reticulantes para darle el cuerpo de un hidrogel, presentando una actividad antibacterial de 17 mm de zona de inhibición para *S. aureus* y 16 mm para *E.coli*.

2.6.4. Mecanismo de acción de las Nanopartículas de Plata

El modo en que las nanopartículas actúan se debe al tamaño nanométrico (1–100 nm) y la forma, mientras más pequeñas son, más área de acción a nivel celular existe y el campo de aplicación se expande cuando poseen formas esféricas, teniendo mayor actividad antibacterial [81].

Las AgNPs se adhieren a la pared celular de la bacteria ocasionando cambios en su estructura [73]. Al penetrar su interior dañan compuestos que poseen grupos funcionales basados en azufre o fósforo, como la molécula de ADN [6]. El mecanismo en que actúan las nanopartículas es afectando la respiración de las bacterias que se encuentran creando una capa protectora alrededor de las moléculas, provocando la muerte celular [81].

CAPITULO III

ASPECTOS METODOLOGICOS

3. Experimentación.

3.1. Materiales y reactivos

Materiales y equipos

- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación
- Tela de filtración
- Papel filtro Whatman N°1
- Pipetas
- Envases ámbar
- Vidrio reloj
- Termómetro
- Tiras de pH
- Espátula
- Gradilla
- Equipo de filtración
- Balanza
- Barra de agitación
- Estufa
- Espectrofotómetro UV-Vis
- Equipo de agitación
- Placa de Calentamiento

Reactivos

- Agua destilada
- Cloruro Férrico
- Reactivo de Wagner
- Nitrato de plata
- Alcohol etílico
- Alcohol metílico
- Hidróxido de sodio
- Alcohol amílico
- Ácido clorhídrico concentrado
- Ácido Nítrico 68%
- Tolueno
- Ácido oxálico
- Clorito de sodio
- Ácido cítrico

3.2. Diagrama de bloques

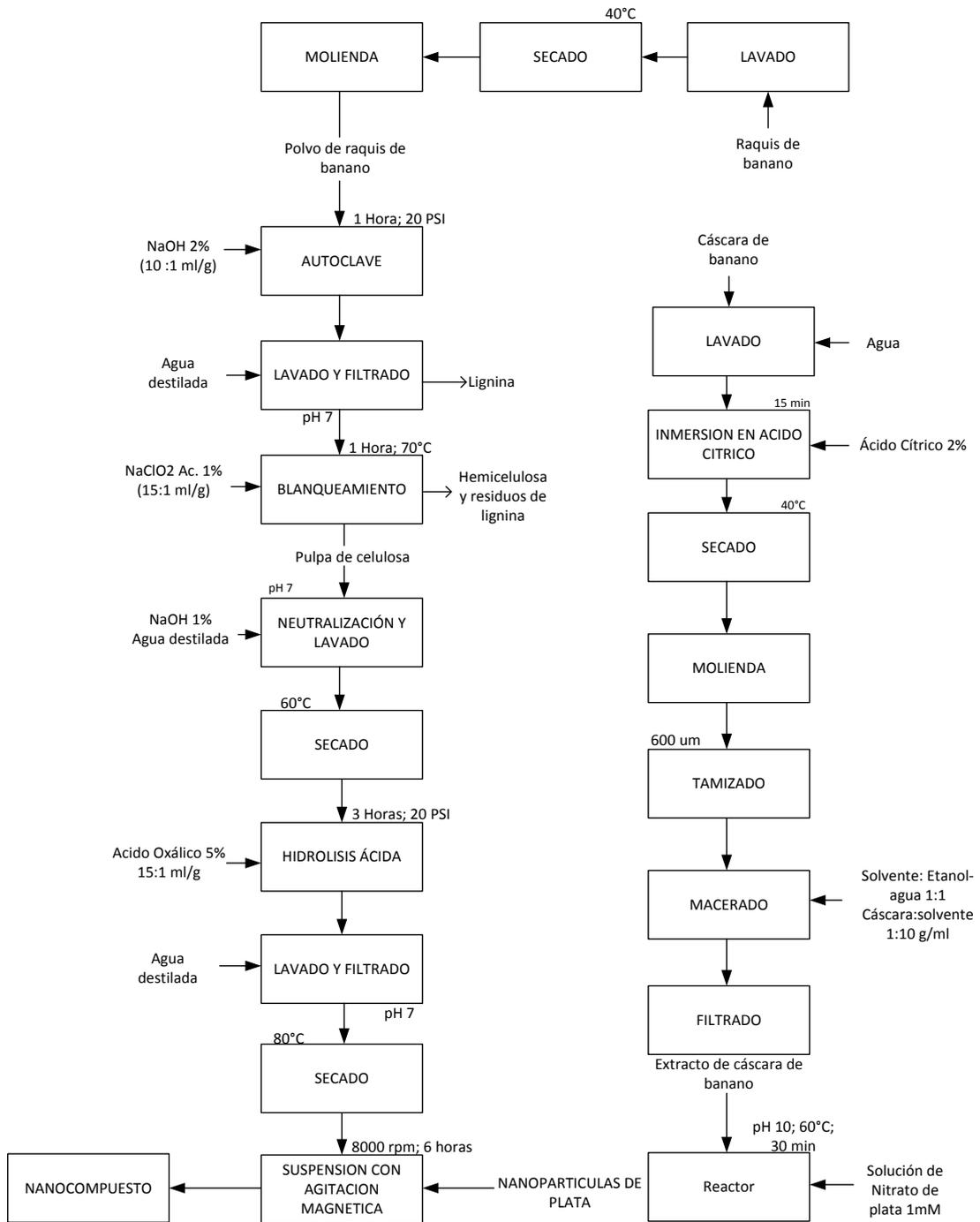


Figura 14. Procedimiento experimental para la obtención de NEN-AgNPs.

3.3. Metodología para la elaboración del extracto de la cascara de banano

Para la elaboración del extracto de cáscara de banano se siguió la metodología descrita por Padilla-Camberos et al., [8] con respectivas modificaciones en el proceso.

3.3.1. Preparación de extractos de banano

Se colectaron bananos orgánicos (*Musa acuminata*) de la variedad Williams con un grado de madurez 4 [82], de un mercado de la ciudad de Guayaquil, la cáscara de banano fresco fue lavada y sumergido en una solución de ácido cítrico al 2% durante 15 minutos para luego ser deshidratada a 40°C hasta peso constante. Una vez secas las cascara se trituraron, molieron y tamizaron hasta obtener un tamaño de 600 micras.

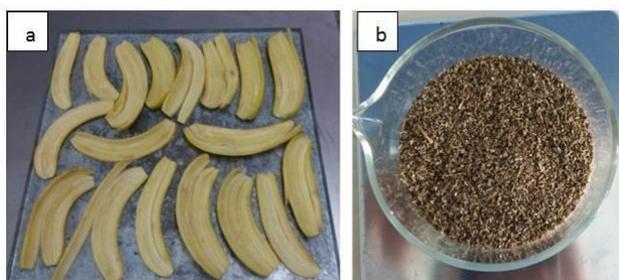


Figura 15. Tratamiento de la cáscara de banano: a) Cáscaras de banano húmedo, b) Cáscara tamizada.

Para cada experimentación, la extracción de metabolitos secundarios se llevó a cabo mediante maceración, donde la cáscara de banano deshidratada se mezcló en relación 1:10 m/v con diferentes solventes; agua, etanol, metanol, etanol-agua (1:1), metanol-agua (1:1). Cada mezcla fue puesta a maceración durante 24 horas. Posteriormente se pasó por un filtro de tela de lienzo, el líquido resultante fue doblemente filtrado en papel Whatman 1, y almacenado en frascos color ámbar y refrigerados a 4°C.

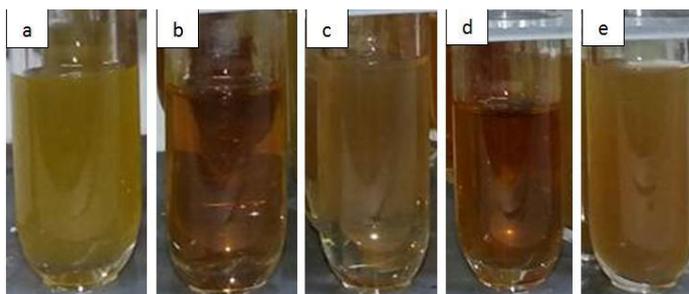


Figura 16. Extractos de cáscara de banano con diferentes solventes: a) metanol, b) metanol-agua, c) agua, d) etanol-agua, e) etanol.

3.3.2. Tamizaje fitoquímico de los extractos de banano obtenidos.

Los diferentes extractos obtenidos fueron analizados cualitativamente por el método descrito por Trease y Evans citados en Padilla-Camberos et al., [8] para determinar la presencia metabolitos secundarios.

Determinación de Fenólicos: Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adiciona 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9% en agua).

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos de tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos de tipo pirogalotánicos.

Determinación de Flavonoides: Se toman 2 ml de extracto etanólico y se calientan a 80° C por 10 minutos con 1 ml de HCl concentrado, se deja enfriar a temperatura ambiente y se adiciona 1 ml de agua y 2 ml de alcohol amílico. Se agita y se deja reposar hasta que se separen en dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica es indicativo de un ensayo positivo.

Color rojo a naranja corresponde a Flavonas

Color rojo carmín Flavonoles y Flavononoles

Color rojo magenta Flavanonas

Determinación de Saponinas: Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que, si la extracción es alcohólica, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. El ensayo es positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persiste por más de 2 minutos.

3.4. Metodología para la síntesis de nanopartículas de plata

Para la síntesis de nanopartículas se siguió la metodología descrita por Kokila et al., [47] con modificaciones experimentales.

Se utilizó la mezcla de agua – etanol como solvente de extracción de la cáscara de banano. Se prepararon nanopartículas de plata variando factores como tiempo de maceración del extracto, la cantidad de extracto, pH, Temperatura y días de almacenamiento de las AgNPs. En la tabla no.8 se describen las variables analizadas en la experimentación.

Tabla 8. Variables a modificar en la síntesis de AgNPs.

| Cantidad de extracto (µl) | | | | Tiempo de maceración (días) | | |
|---------------------------|-----|-----|-----|-----------------------------|---|----|
| 52 | 156 | 260 | 520 | 1 | 3 | 5 |
| Temperatura (°C) | | | | pH | | |
| 27 | 40 | 50 | 60 | 6 | 8 | 10 |

Para la elaboración de nanopartículas de plata se tomó en cuenta el tiempo de maceración del extracto. Se partió utilizando el Nitrato de plata químicamente puro (AgNO_3) como precursor de la plata y se preparó una disolución acuosa de nitrato de plata a una concentración de 1 mM.

Se tomaron 5 ml de solución de nitrato de plata a los que se le añadieron gota a gota el extracto de la cáscara de banano a diferentes volúmenes (52, 156, 260 y 520 μl), y de dos a tres gotas de Hidróxido de sodio al 1% para ajustar el pH.

Esta reacción se la realizó bajo agitación constante, modificando temperaturas de reacción (27, 40, 50 y 60°C), valores de pH (6, 8 y 10), así como la incidencia de los días de maceración (1, 3 y 5 día), durante 30 minutos. Luego se almacenaron en recipientes color ámbar a 4°C. Las muestras se realizaron por triplicado para cada variable en estudio. Adicional se realizó un control de la estabilidad de las AgNPs durante el tiempo (0- 7 días) de almacenamiento de las nanopartículas de plata sintetizadas.

3.5. Metodología para la síntesis de nanocelulosa de raquis de banano

3.5.1. Caracterización de la materia prima (raquis de banano)

Para caracterizar la fibra de raquis de banano se siguió una secuencia de métodos de análisis, principalmente para efectuar la determinación del contenido de celulosa bajo el uso de las Normas TAPPI y ASTM descritas en [24].

Tabla 9. Normativas aplicadas para los análisis de composición de raquis de banano.

| Análisis | Norma |
|-------------------------------|--------------------|
| Humedad | TAPPI T 1205-75 |
| Cenizas | TAPPI T211-OM02 |
| Extractos acuosos y orgánicos | ASTM-D1110-84 |
| Celulosa | Kruschner y Hoffer |

3.5.2. Determinación de humedad (TAPPI T1205-75)

Cuantificar la humedad presente en la muestra es necesario para conocer la composición de la misma en base seca. Para la determinación de humedad en el raquis de banano se pesaron 2 gr de la muestra húmeda en una balanza analítica de precisión de 0.0001 g, dicha muestra fue llevada a una estufa y secada a 105°C durante 4 horas. Una vez seca, se retiró la muestra del horno y se dejó enfriar en un desecador por 15 minutos para finalmente pesarlo. Esta operación se repitió hasta obtener un peso constante. El porcentaje de humedad (%H) de la muestra tomada se calculó mediante la siguiente fórmula.

$$\%Humedad = 100 \times \frac{(M_2 - M_3)}{(M_2 - M_1)}$$

Dónde:

M_1 ; peso del recipiente

M_2 ; peso del recipiente y de la muestra húmeda

M_3 ; peso del recipiente y de la muestra seca



Figura 17. Determinación de Humedad del raquis de banano: a) Muestras de raquis de banano, b) Estufa con las muestras de raquis.

3.5.3. Determinación de cenizas (TAPPI T211-OM-02)

Con la determinación de ceniza se conoce la cantidad de sales mineral y materia inorgánica de nuestra biomasa. Para ello los crisoles de porcelana vacíos se colocaron dentro de una mufla a 550°C durante una hora, luego se retiraron y se dejaron enfriar en un desecador para luego tomar su peso.

Se tomó la fracción sólida de humedad inicial conocida y se pesó dentro del crisol. Una vez pesada la muestra húmeda, se colocaron los crisoles dentro de la mufla a 550°C por aproximadamente 3 horas. Se apagó y se dejó enfriar la mufla hasta poder retirar las muestras, posteriormente se llevaron al desecador y se pesó rápidamente.

El porcentaje de cenizas (%Cenizas) referido al material seco con cenizas se calcula mediante la ecuación:

$$\%Cenizas = 100 \times \frac{(M_3 - M_1)}{(M_2 - M_1) \times \frac{(100 - \%H)}{100}}$$

Dónde:

M_1 peso del crisol

M_2 peso del crisol y de la muestra húmeda

M_3 peso del crisol y de las cenizas

$\%H$ porcentaje de humedad de la muestra

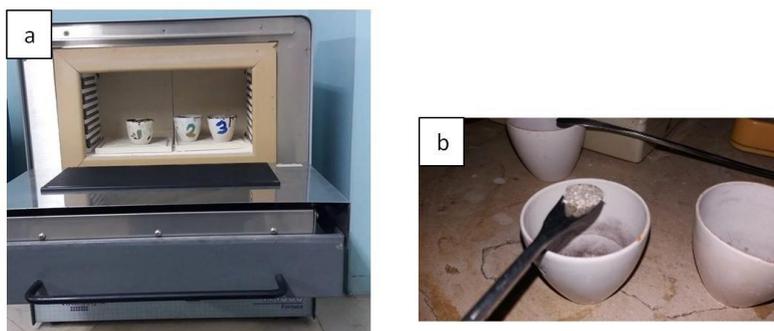


Figura 18. Determinación de cenizas del raquis de banano a) Mufla con las muestras de raquis de banano, b) Crisoles con las cenizas de raquis de banano.

3.5.4. Determinación de extractivos Orgánicos y Acuosos (ASTM D 1110-84)

Extractivos acuosos

Inicialmente el cartucho de extracción se secó a 105°C hasta peso constante. La muestra seca a 105°C se colocó en el cartucho y se montó el sistema de extracción Soxhlet con agua caliente, con un reflujo constante durante un tiempo mínimo de 6 horas a 100°C . El conjunto cartucho-muestra fue secado a 105°C , se enfrió en un desecador y se pesó.

El contenido de extractivo acuosos ($\%EA$) con referencia al material seco original se determina según la ecuación:

$$\%EA = 100 \times \frac{(M_3 - M_2)}{(M_3 - M_1)}$$

Dónde:

M_1 Peso del cartucho soxhlet seco a 105 °C

M_2 Peso del sistema cartucho-muestra extraída con agua seco a 105 °C

M_3 Peso del sistema cartucho-muestra seco a 105 °C

Extractos Orgánicos.

Se realizó una mezcla de etanol (96%) y tolueno (grado reactivo) relación 1:2 para extraer los compuestos orgánicos. Muestra libre de extractos acuosos se colocó en el cartucho de extracción, se montó y se mantuvo el sistema de extracción soxhlet en reflujo por un tiempo mínimo de 6 horas, regulando la potencia del sistema de calentamiento con el fin de que la velocidad de vaciado del sifón sea de 4 a 6 veces por hora. Posteriormente se secó el cartucho con el material libre de extractivos a 105°C en una estufa.

El contenido de extractivos orgánicos (%EO), se expresa con referencia al material seco original y se obtiene a partir de la ecuación:

$$\%EO = 100 \times \frac{(M_4 - M_2)}{(M_3 - M_1)}$$

Dónde:

M_1 ; peso del cartucho soxhlet seco a 105 °C

M_2 ; peso del sistema cartucho-muestra extraída con orgánicos secos a 105 °C

M_3 ; peso del sistema cartucho-muestra seco a 105 °C

M_4 ; peso del sistema cartucho-muestra extraído con agua, seco.



Figura 19. Determinación de extractivos acuosos y orgánicos: a) Cartucho con el raquis de banana montado en el Sistema Soxhlet, b) Cartucho y solución luego de realizar la extracción.

3.5.5. Determinación del contenido de celulosa

Se empleó el método modificado de Kurschner y Hoffer citado en Giraldo [83] que consiste en adicionar a 1g de madera anhidra libre de extractos, una mezcla formada por etanol y ácido nítrico concentrado en relación 4:1, se llevó a reflujo en baño maría durante 30 minutos, se filtró repitiendo este proceso dos veces. Al residuo se le realizó un lavado con agua destilada caliente a 60°C por una hora, posteriormente se sometió a un lavado con una solución saturada de acetato de sodio, seguido de agua destilada caliente a 60°C. El residuo se secó a una temperatura de 105°C, se enfrió en un desecador y se pesó. El porcentaje de celulosa se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Celulosa} = \frac{P_{or}}{P_o} * 100\%$$

Dónde:

P_{or} ; es el peso seco del residuo (g) y

P_o ; es el peso anhidro de la muestra (g).

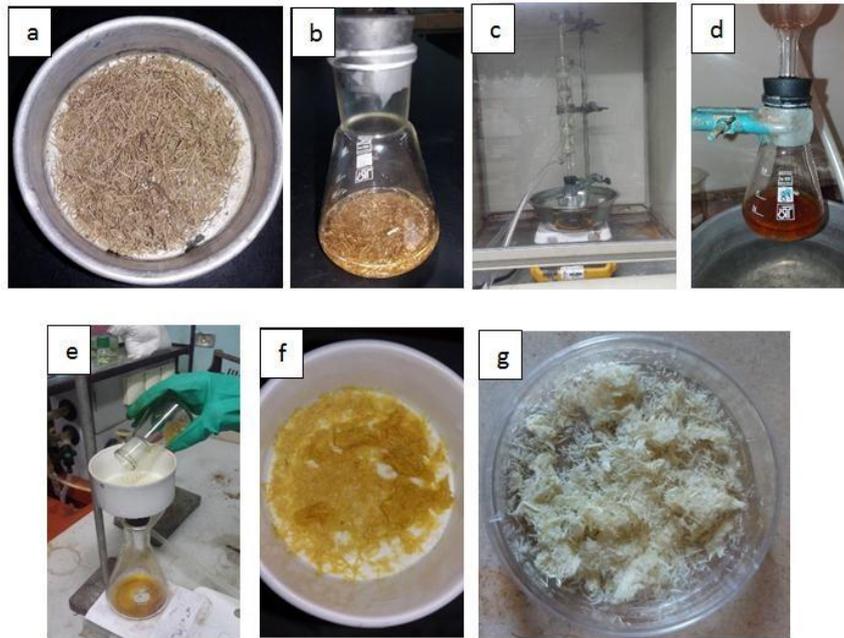


Figura 20. Determinación de Celulosa por el método Kurschner y Hoffer: a) Raquis seco de banano, b) Raquis con ácido nítrico y alcohol etílico, c) Digestión del raquis de banano, d) Conversión de raquis a celulosa luego de las digestiones, e) Filtración y lavado de la celulosa a partir del raquis, f) celulosa húmeda, g) celulosa seca.

3.6. Obtención de Nanocelulosa y NEN – AgNPs

Para la obtención de nanocelulosa y NEN - AgNPs se siguió la metodología reportada por Deepa et al., [54] y Dong et al., [84].

El raquis de banano ya picado fue obtenido de la empresa bananera AgroAereo. Inicialmente el raquis de banano fue sometido a un proceso de pretratamiento, que consistió en un lavado con agua para eliminar el látex que exuda de su superficie, luego se dejó escurrir el exceso de líquido y fue expuesto al ambiente para un pre secado, la fibra de raquis pre secada se introdujo en un horno a 100°C hasta peso constante. Una vez seca, se trituró y molió hasta obtener un polvo de raquis de banano.

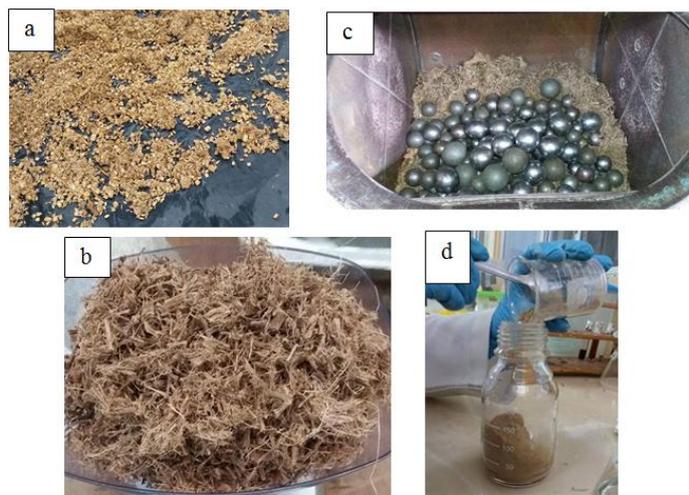


Figura 21. Pretratamiento de raquis de banano: a) raquis triturado, b) raquis seco, c) molino de bolas cargado con raquis, d) polvo de raquis de banano.

Para el tratamiento químico el polvo de raquis banano junto con una solución de hidróxido de sodio al 2% (relación 1:10 m/v) se llevaron a un autoclave donde se sometieron a explosión de vapor a 20 Lbs de presión durante una hora. En esta etapa del proceso permite deslignificar la muestra.

La muestra libre de lignina se lavó con agua destilada hasta alcanzar un pH de 7. En la etapa de blanqueo, la muestra sólida resultante fue tratada con clorito de sodio acidificado al 1% (la solución de clorito de sodio se acidificó con ácido cítrico al 10% llevando la solución general a pH 2) a razón de 1:15 g/ml respectivamente bajo calentamiento a baño María a 70°C por una hora, durante esta etapa ocurre la remoción de hemicelulosa y lignina residual. Pasada la hora de reacción la muestra de celulosa blanqueada fue neutralizada con hidróxido de sodio y lavada con agua. La pulpa de celulosa se llevó a la estufa y se secó a 60°C. Posteriormente, la pulpa de celulosa se trató químicamente con ácido oxálico ($C_2H_2O_4$) con concentraciones de 5, 7 y 9% (1:15 gr/ml) en un autoclave a 20 libras de presión durante 3 horas, finalizado el tiempo de reacción, rápidamente se liberó vapor

generando una caída de presión, las fibras fueron retiradas, filtradas y lavadas con agua hasta pH neutro.

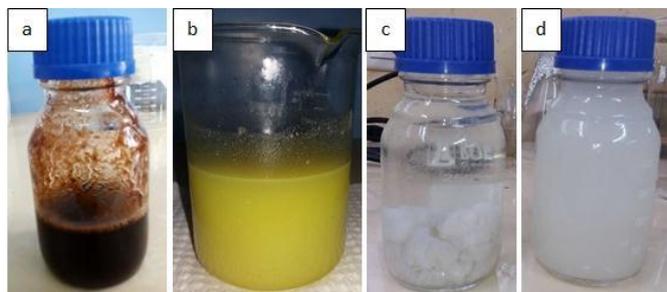


Figura 22. Pretratamiento químico de raquis de banano: a) raquis tratado con NaOH 2%, b) Raquis de banano en proceso de blanqueamiento, c) pulpa de celulosa blanqueada, d) celulosa con $C_2H_2O_4$.

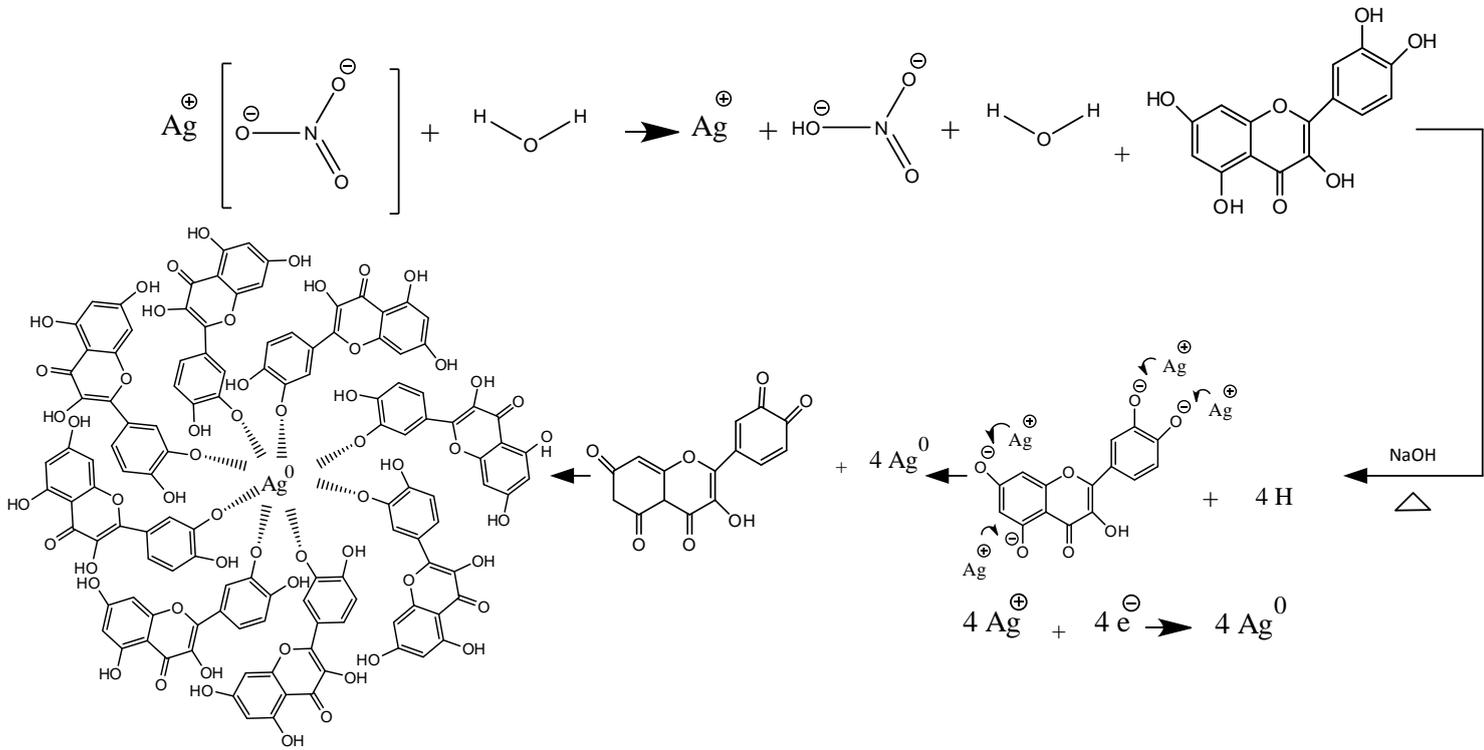
Finalmente, el tratamiento mecánico consistió en adicionar la celulosa en una suspensión de nanopartículas de plata hasta obtener un porcentaje de carga del 5% de Celulosa bajo agitación magnética constante durante 6 horas. El nanocompuesto generado está constituida por NCF y AgNPs que fue almacenado para posteriores análisis.



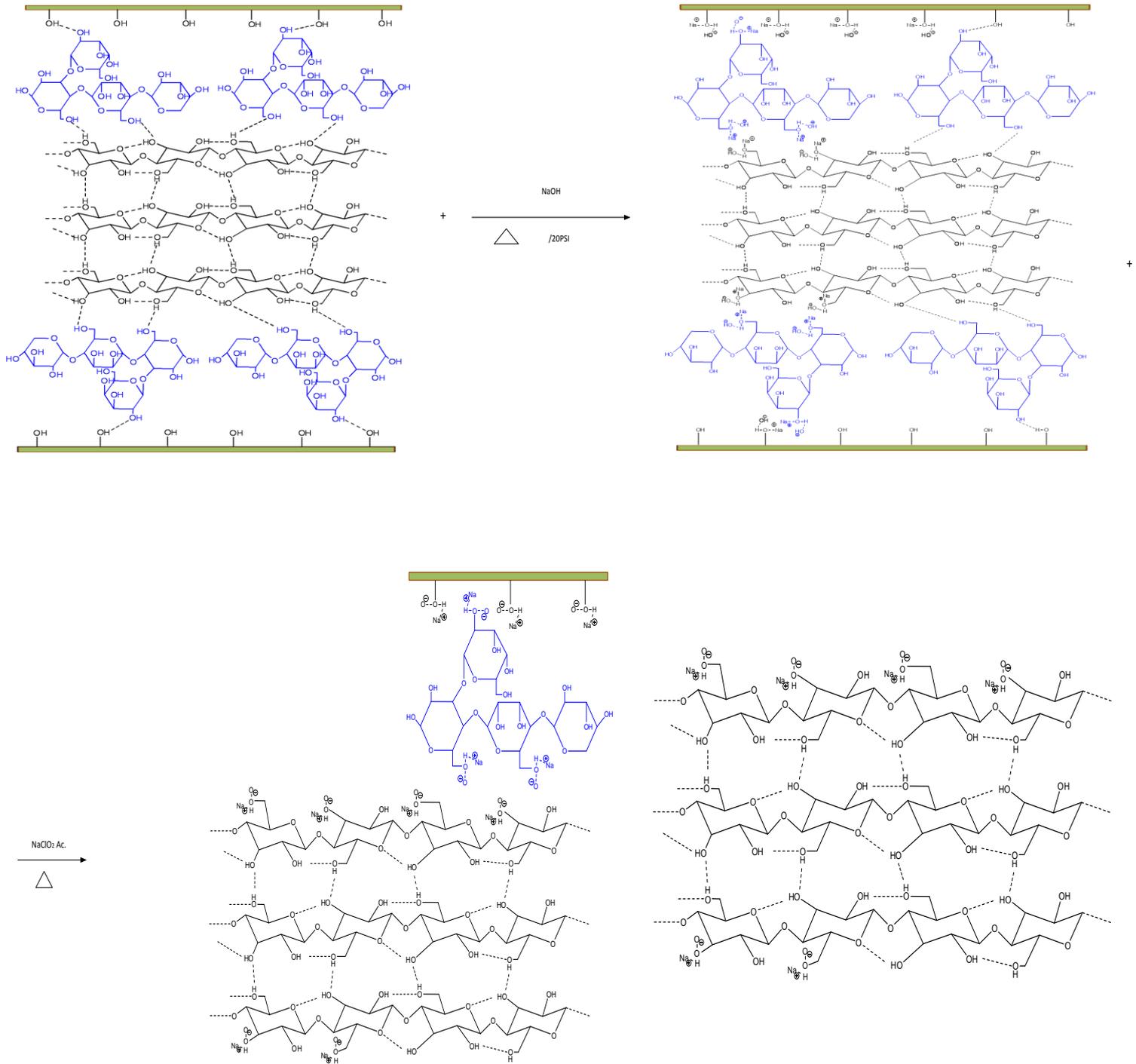
Figura 23. Tratamiento mecánico del raquis de banano: a) celulosa seca luego de ser tratada con $C_2H_2O_4$, b) Nanofibras de celulosa y nanopartículas de plata en suspensión luego de la agitación.

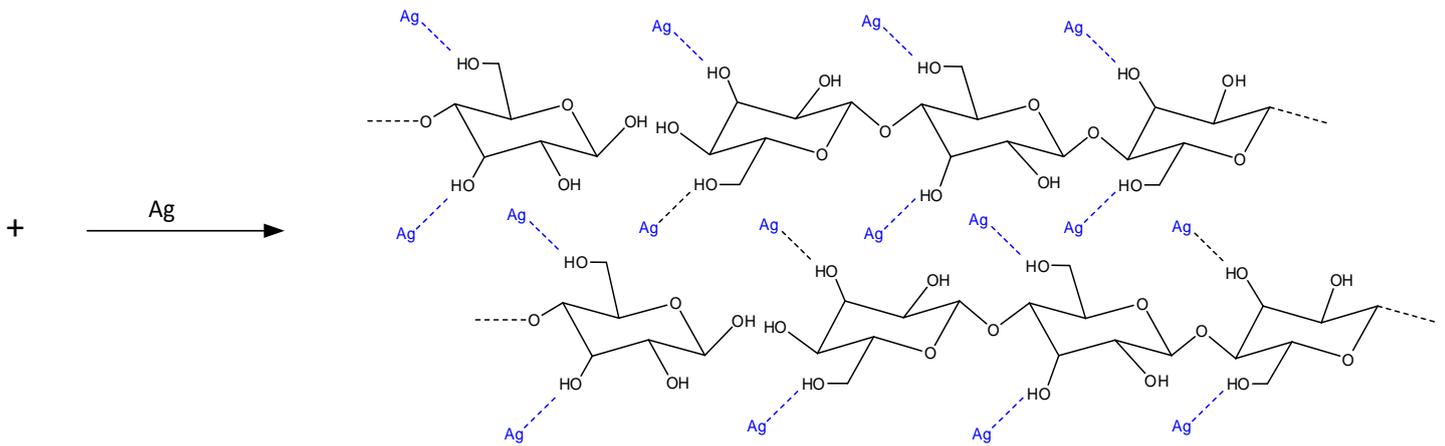
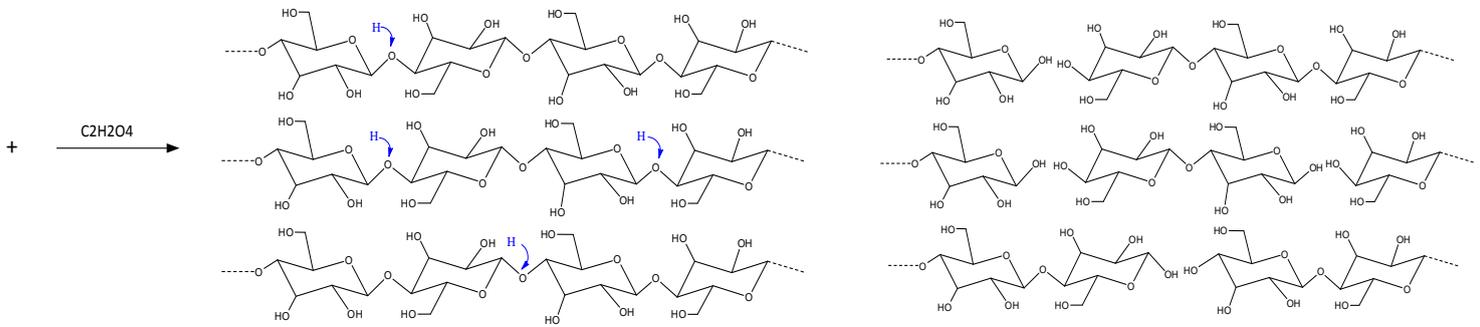
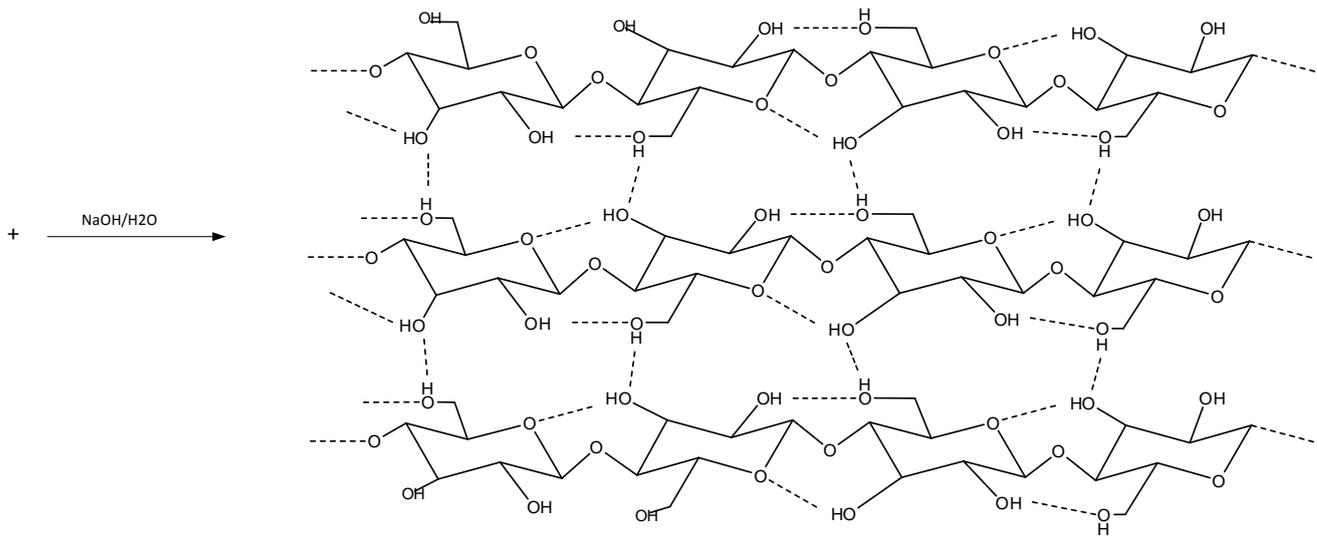
Mecanismo de reacción.

Síntesis de nanopartículas de plata.



Síntesis de nanofibras de celulosa y nanocompuesto.





3.7. Ensayo de eliminación de radicales DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidroxilo)

Se realizaron análisis de medición de la capacidad antioxidante con fines de comparación de resultados para el extracto de la cáscara de banano, las nanopartículas de plata y el nanocompuesto obtenido.

Para la preparación de las muestras se incubó el patrón, el reactivo 2,2-difenil-1-picrilhidroxilo (0,1mM) con metanol durante 24 horas previo al análisis y se almacenó en frascos color ámbar a 4 °C.

Posterior a ello, se prepararon alícuotas de 1, 2, 4 y 5 ml de DPPH hasta enrasar con 10 ml de metanol, se hizo empleo del Espectrofotómetro para el análisis, se trabajó a una longitud de onda de 517 nm.



Figura 24. Prueba DPPH: a) Preparación del patrón DPPH, b) Alícuotas de DPPH para calibrar el equipo, c) Cambio de coloración característico de violeta a amarillo.

Se colocaron las alícuotas en las celdas del equipo para realizar la calibración con la curva estándar (Tabla no. 10), luego se midió el valor de absorbancia en un tiempo definido de 15 minutos para cada muestra.

Tabla 10. Curva estándar de Calibración del Espectrofotómetro UV/Vis.

| Curva estándar | |
|----------------|------------|
| Conc. mg/l | Abs 517 nm |
| 0,1 | 0,01 |
| 0,2 | 0,054 |
| 0,4 | 0,112 |
| 0,5 | 0,145 |
| 1 | 1,182 |

El procedimiento consistió en colocar en una celda 2 ml de la solución patrón DPPH, y rápidamente añadir 50 µl de muestra para dar inicio a las lecturas. El % de inhibición se calculó mediante la siguiente fórmula.

$$\%Inhibición = \frac{(Abs_{t\ inicial} - Abs_{t\ final})}{(Abs_{t\ inicial})} * 100$$

3.8. Ensayos microbiológicos

Se realizaron pruebas microbiológicas para verificar la inhibición bacteriana en cada etapa de la síntesis experimental. Se sometieron a estudio dos grupos de bacterias Gram – positivas (*Staphylococcus aureus*) y Gram – negativas (*Escherichia coli*). Bajo el método de difusión en disco de agar.

Se emplearon cajas Petri preparadas con Agar nutritivo, los cuales se inocularon con los patógenos de control, se incubaron durante 24 horas a una temperatura de 37°C. Transcurrido el tiempo de incubación, se realizó la lectura de las cajas, registrando la zona de inhibición. Las pruebas se realizaron por triplicado.

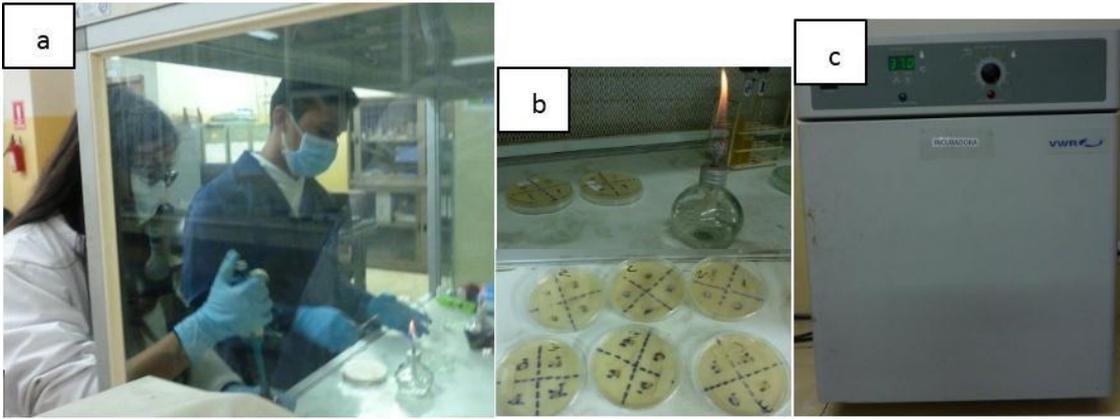


Figura 25. Prueba microbiológica: a) Preparación de muestras para ensayos microbiológicos, b) cajas Petri inoculadas, c) Incubadora.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y ANALISIS

4. Resultados de la experimentación.

4.1. Preparación del extracto - Elección del solvente

Para la preparación del extracto de la cáscara de banano se seleccionó la mezcla de agua-etanol como solvente por cumplir con tres de los metabolitos secundarios cualificados; saponinas, taninos y flavonoides, luego de realizar un tamizaje fitoquímico a los extractos cascara de banano preparados con los distintos solventes: agua, etanol, metanol, agua-etanol y agua-metanol. Por análisis cualitativos se observaron mejores resultados en las mezclas hidroalcohólicas, dando positivo para saponinas, taninos y flavonoides. La selección de la mezcla agua-etanol se realizó tomando en cuenta diversos factores tanto económicos, ambiental y de funcionalidad final del producto.

4.1.1. Tamizaje Fitoquímico

En la figura 26 se observa la presencia de espuma en la superficie del líquido, lo que indica la participación de saponinas solo para los extractos de las mezclas de agua – etanol y agua metanol.

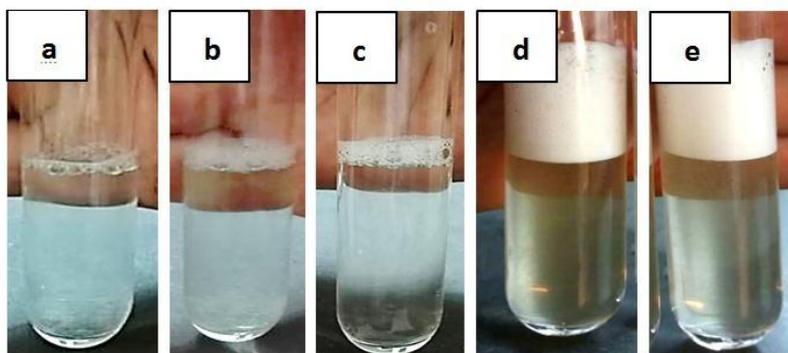


Figura 26. Prueba de Saponinas: a) Agua, b) Etanol, c) Metanol, d) Agua- Etanol, e) Agua- Metanol.

La presencia de taninos es positiva para cuatro de los cinco extractos ensayados, dando una coloración azulada, sólo el extracto acuoso indica un resultado negativo, al no presentar un cambio de color significativo, en la figura 27 se observan los resultados.

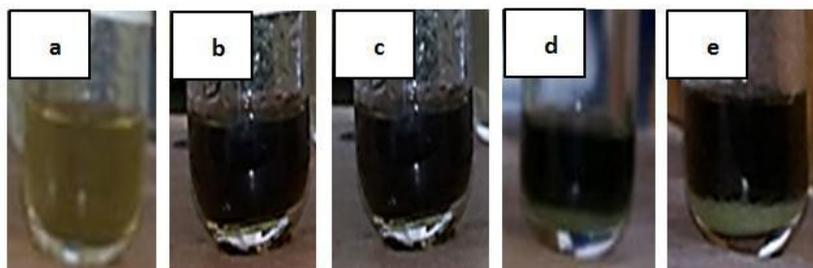


Figura 27. Prueba de Taninos: a) Agua, b) Etanol, c) Metanol, d) Agua- Etanol, e) Agua- Metanol.

La coloracion roja / marrón en la fase amfílica es la responsable de dar un resultado positivo para la prueba de flavonoides, en la figura 28 se observa dicha coloración sólo para los extractos de mezclas de agua – etanol y agua – metanol.

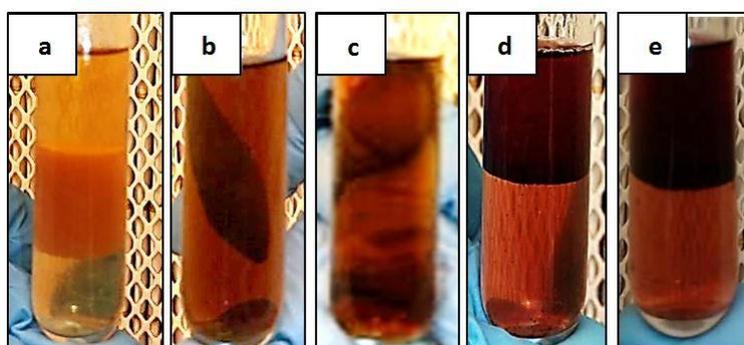


Figura 28. Prueba de flavonoides: a) Agua, b) Etanol, c) Metanol, d) Agua- Etanol, e) Agua- Metanol.

Tabla 11. Tamizaje fitoquímico de la Cáscara de banano (AAA).

| Tamizaje fitoquímico (Metabolitos secundarios) | Extractos | | | | |
|---|---------------------|------|-----------------|------------------|-------------|
| | Solventes empleados | Agua | Alcohol etílico | Alcohol metílico | Agua-Etanol |
| Saponinas | - | - | - | +++ | +++ |
| Taninos | - | +++ | +++ | +++ | ++ |
| Flavonoides | - | - | - | +++ | +++ |

Leyenda: (+++) Abundante, (++) Moderado, (+) Presencia, (-) Ausencia

En la tabla no.12 se detalla el tipo de compuesto fitoquímico presente en el extracto hidroalcohólico seleccionado en base a las observaciones que presentan en el ensayo, y en la tabla no. 13, las cantidades en que se encuentran.

Tabla 12. Determinación de compuestos bioactivos en el extracto de la mezcla agua – etanol.

| Metabolito secundario | Respuesta | Observación |
|-----------------------|-----------|--|
| Saponinas | Positivo | Presencia de espuma en la superficie del líquido. |
| Taninos | Positivo | Coloración azul correspondiente a taninos de tipo pirogalotánicos. |
| Flavonoides | Positivo | Color rojo carmín correspondiente a Flavonoles y Flavonoles |

Tabla 13. Cuantificación de Metabolitos secundarios.

| Parámetro | Método | Resultados | Unidades |
|--------------------------|---------------------------|------------|----------|
| Saponinas | INEN 1672 | 1,66 | g/100 g |
| Taninos | E.P. (Denis – Folin) | 0,16 | g/ 100 g |
| Flavonoides (Quercetina) | Olga Lock et al 2006 (UV) | 452,0 | mg/kg |

Fuente: Laboratorios UBA

4.2. Caracterización de las Nanopartículas de plata (AgNPs)

4.2.1. Cambio de color

La formación de nanopartículas de plata se ve evidenciada por el cambio de coloración de un tono amarillo tenue propio del extracto a un color marrón oscuro, al mezclar la solución de nitrato de plata con el extracto, esto ocurre a causa de la excitación de resonancia superficial de plasmón (SPR) [85]. Este proceso toma alrededor de 30 minutos, y este nuevo color marrón oscuro que se forma, puede deberse a la acción de los compuestos bioactivos de la cáscara de banano al comportarse como agentes reductores que tienen por función reducir los iones de plata a su estado cerivalente, dato que se demuestra en algunos estudios [75]. Las nanopartículas obtenidas por esta síntesis verde mantienen su coloración durante 45 días lo cual indica una buena estabilidad de las nanopartículas sin que exista aglomeración de las mismas.

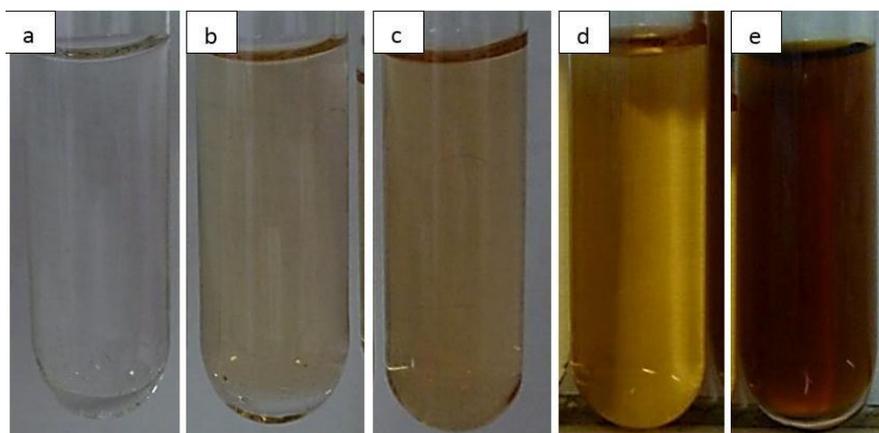


Figura 29. Transcurso del cambio de coloración durante la formación de nanopartículas de plata.

4.2.2. Espectroscopía UV-Vis

La espectroscopía UV-Vis es una técnica importante para determinar la formación y estabilidad de las nanopartículas de plata en solución [76]. Su fundamento consiste en un proceso de absorción de una molécula de radiación electromagnética en un rango ultravioleta visible (UV-Vis) que va aproximadamente de 200 a 700 nm, dicha absorción provoca la excitación electrónica [81], por ello mediante esta técnica se analiza la resonancia de plasmón de las AgNPs que se encuentran en un rango aproximado de 400 a 450 nm [76]. Las nanopartículas de plata sintetizadas fueron analizadas bajo el estudio de los espectros UV- Vis modificando variables en el proceso. Desde el Espectrofotómetro Uv-Vis se obtuvo una banda con un pico de absorbancia a la longitud de onda de 410 nm característica de las nanopartículas de plata.

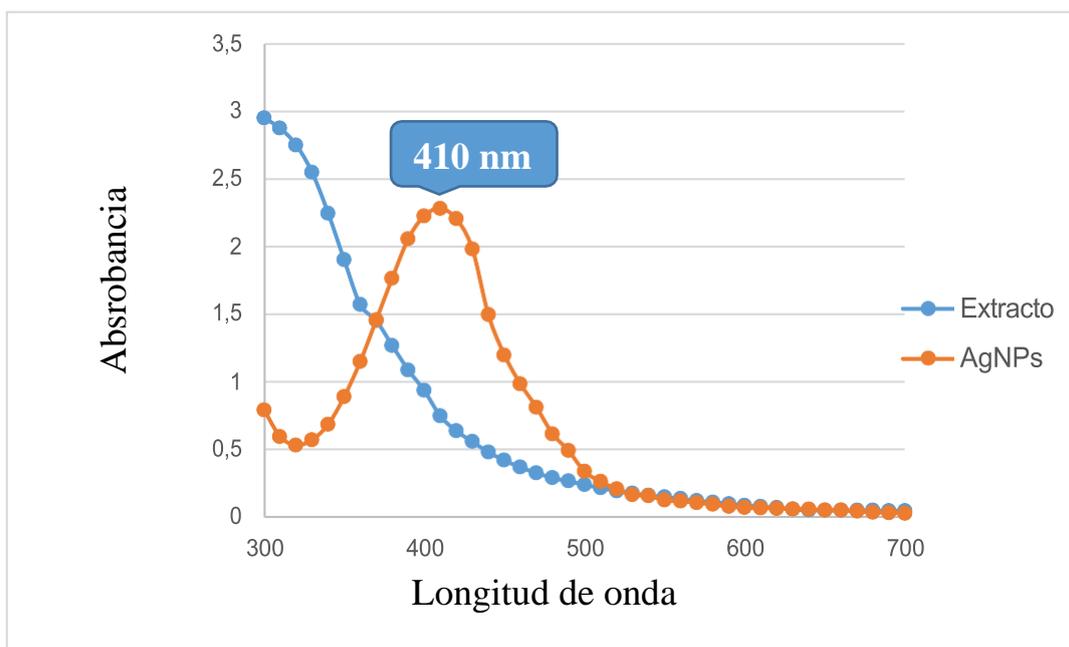


Figura 30. Comparación de espectros visibles del extracto y nanopartículas de plata.

4.2.3. Efecto de la cantidad de extracto

La cantidad de extracto de cáscara de banana óptima fue de 156 microlitros (μl) en una cantidad de 5 ml de solución de Nitrato de plata (AgNO_3) 1 mM, para la síntesis de las nanopartículas de plata medidas en espectrofotómetro a una longitud de onda de 410 nm.

Mediante el Espectrofotómetro Uv-Vis, se pudo analizar cómo afectan diferentes cantidades de extracto la formación de nanopartículas de plata. Al aumentar la cantidad de extracto existe una elevación de la concentración y consigo un aumento de la banda de resonancia superficial de plasmón (SPR). En algunos estudios se explica cómo el tamaño y estabilidad de las nanopartículas se ven afectados por las variaciones de concentración de extracto, Ibrahim [79] menciona que a cantidades bajas puede generarse un pico de absorbancia, pero en menor intensidad y más ancho, indicando una menor concentración de nanopartículas y más dispersas, al incrementar la concentración del extracto existe más posibilidad de que los iones de Ag se reduzcan, sin embargo también hay que tener en cuenta que si las cantidades de extracto se exceden puede ocasionarse una precipitación ya que los iones de plata por encima de su límite pueden ser tóxicos para la proteína propia del extracto vegetal, en concentraciones elevadas se pueden generar bandas de SPR más pequeñas, dando tamaños de partículas más grandes, trabajos desarrollados por Kokila et al., y Kumar et al., lo confirman [47], [75]. Otras fuentes acotan que el ensanchamiento de las curvas refleja la pérdida de estabilidad ocasionando aglomeración de nanopartículas.

En las figuras 31 y 32, se evidencia que la cantidad de 156 microlitros presentó un mayor pico de absorbancia frente a las otras cantidades de extracto empleadas, y en la tabla no 14 los valores de concentración presentes en cada variación de volumen, los espectros reflejan lo anteriormente descrito, con una cantidad mínima o un exceso de

extracto en la preparación de AgNPs, la banda SPR decrece en absorbancia, a su vez, al existir un incremento excesivo en el volumen del extracto, la longitud de onda es menor, pero se ensancha mucho más denotando falta de estabilidad en las nanopartículas fabricadas.

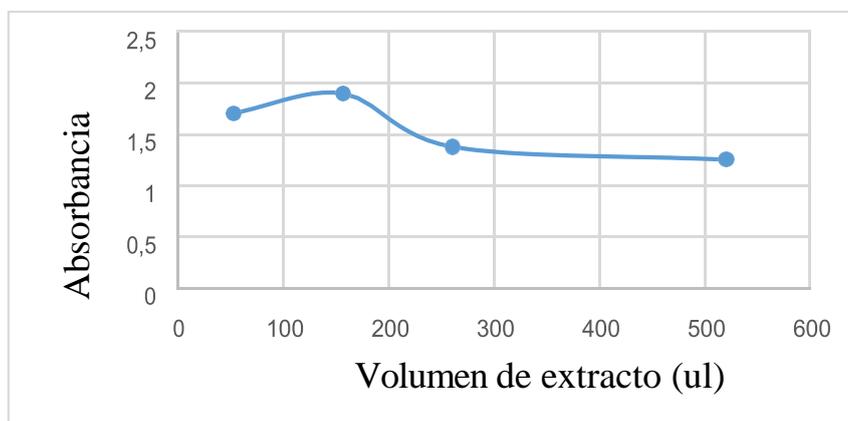


Figura 31. Efecto de la cantidad de extracto sobre la absorbancia de las nanopartículas de plata.

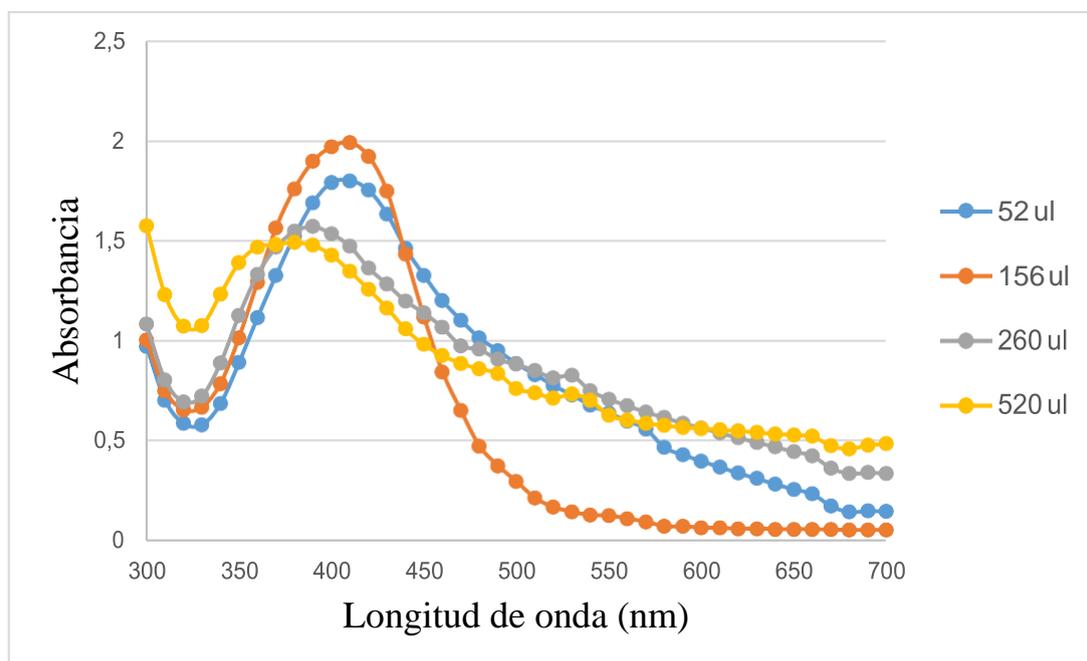


Figura 32. Espectros visibles de nanopartículas de plata sintetizadas a 27°C y pH 10, variando la cantidad de extracto.

Tabla 14. Concentración de AgNPs a diferentes volúmenes de extracto de la cascara de banano con sus absorbancias respectivas.

| Volumen de extracto (ul) | Absorbancia | Concentración (ppm) |
|--------------------------|-------------|---------------------|
| 52 | 1,798 | 358 |
| 156 | 1,989 | 912 |
| 260 | 1,471 | 232 |
| 520 | 1,346 | 187 |

4.2.4. Efecto de la concentración del Nitrato de Plata

La concentración de las nitrato de plata no fue un factor que se modificó debido a que diferentes grupos de trabajo han determinado que la concentración optima es 1 mM [47], [81] y [86]. A valores de concentraciones mayores se atribuye un pico de absorbancia que es menos estable al transcurrir el tiempo, mientras que, a concentraciones menores a 1 mM, las bandas se ensanchan y el valor de absorbancia es inferior.

4.2.5. Efecto de los días de maceración del extracto

La maceración del extracto de la cáscara de banano fue una variable que se estudió desde el punto de vista de la concentración y estabilidad de las nanopartículas de plata sintetizadas y a su vez por presencia de los metabolitos secundarios presentados. Se llevó un control de las nanopartículas midiendo su absorbancia y concentración, mostrados en la figura 33, y tabla 15.

A la par se realizó el tamizaje fitoquímico de los extractos preparados variando el tiempo de maceración para confirmar la presencia de los mismos.

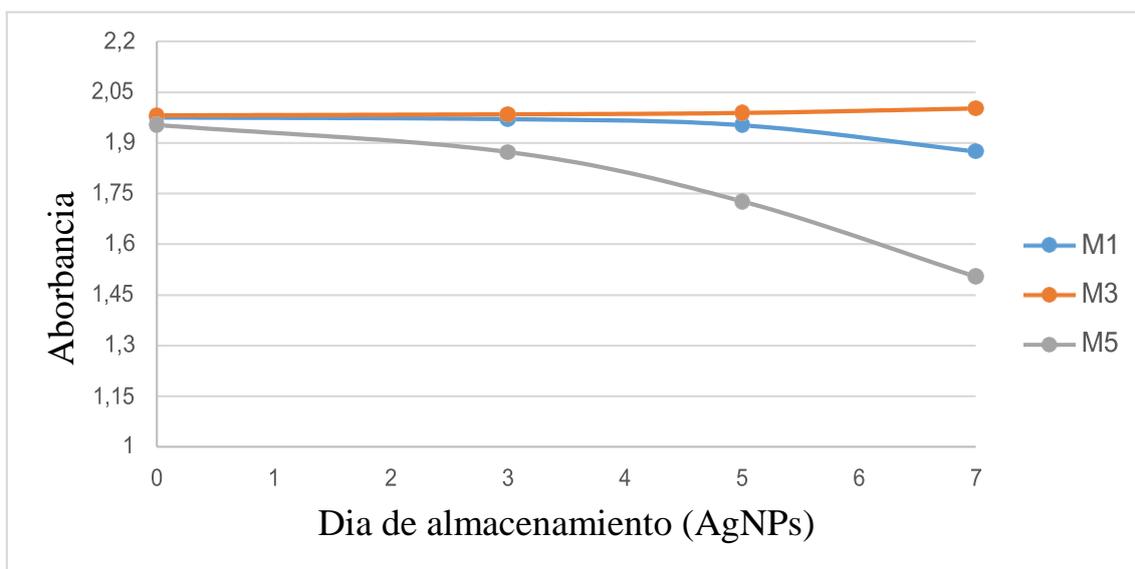


Figura 33. Efecto de los días de almacenamiento de las nanopartículas de plata sobre la absorbancia leída a diferentes días de maceración.

Tabla 15. Concentración de AgNPs variando los días de maceración de la cáscara de banano con sus absorbancias respectivas.

| Muestra macerada | Día de almacenamiento (AgNPs) | Absorbancia | Concentración (ppm) |
|------------------|-------------------------------|-------------|---------------------|
| M1 | 0 | 1,976 | 1080 |
| | 3 | 1,971 | 1077 |
| | 5 | 1,953 | 1076 |
| | 7 | 1,875 | 1069 |
| M3 | 0 | 1,982 | 1079 |
| | 3 | 1,985 | 1083 |
| | 5 | 1,989 | 1085 |
| | 7 | 2,002 | 1085 |
| M5 | 0 | 1,953 | 989 |
| | 3 | 1,873 | 945 |
| | 5 | 1,727 | 894 |
| | 7 | 1,504 | 503 |

Basado en los ensayos realizados a las maceraciones de los días 1, 3 y 5 se determinó que el tiempo de maceración óptimo fue del día 3. La utilización del extracto de la cáscara

de banano con 3 días de maceración permite sintetizar AgNPs manteniendo su estabilidad durante los días de control (0, 3, 5, 7) sin verse afectados los picos de absorbancia, con concentraciones constantes. A su vez los extractos macerados hasta el 1er y 5to día presentaron cambios en la estabilidad de las AgNPs, en el macerado que duró un día, la absorbancia leída disminuyó levemente, mientras que el macerado que duró 5 días mostró un decrecimiento notable en la absorbancia al transcurso de los días de almacenamiento de las AgNPs, al igual que los valores de concentración presentes. En cuanto al tamizaje fitoquímico dispuesto en la tabla no. 16, los macerados de los días 1 y 3 mantuvieron sus metabolitos, en cambio el macerado que se almacenó 5 días tuvo un cambio en la cualificación fitoquímica respecto a la presencia de taninos, la coloración azul cambió a verde intensa, confirmándose así que estos son sensibles a cambios con el transcurso de los días.

Tabla 16. Tamizaje fitoquímico de extractos macerados a distintos días.

| Tiempo de Maceración | Metabolito secundario | Extracto | Observación |
|-----------------------------|------------------------------|-----------------|---|
| M1 | Saponinas | Positivo | Presencia abundante de espuma en la superficie del líquido. |
| | Taninos | Positivo | Coloración azul correspondiente a taninos de tipo pirogalotánicos. |
| | Flavonoides | Positivo | Color rojo carmín correspondiente a Flavonoles y Flavonoles |
| M3 | Saponinas | Positivo | Presencia abundante de espuma en la superficie del líquido. |
| | Taninos | Positivo | Coloración azul correspondiente a taninos de tipo pirogalotánicos. |
| | Flavonoides | Positivo | Color rojo carmín correspondiente a Flavonoles y Flavonoles |
| M5 | Saponinas | Positivo | Presencia de espuma en la superficie del líquido. |
| | Taninos | Positivo | Coloración verde suave correspondiente a taninos de tipo pirocatecólicos. |
| | Flavonoides | Positivo | Color rojo carmín correspondiente a Flavonoles y Flavonoles |

4.2.6. Efecto del pH

El efecto del pH se evaluó variando tres valores de pH (6, 8 y 10) mediante espectrofotometría UV-Vis, donde se observaron cambios respecto a la acidez y basicidad. La formación de AgNPs se ve afectada principalmente por el pH del medio de reacción, cuando el medio es ácido es nula la tasa de formación de nanopartículas de plata, mientras que al incrementarse y volverse básico el medio, el valor de la absorbancia aumenta considerablemente, así como su concentración lo que significa que en medios ácidos no existe una buena reducción de la plata, se necesita de un pH básico donde predominan los grupos hidroxilos para obtener una banda de absorción buena.

Según estudios en rangos de pH ácidos (2 -6) la formación de AgNPs ocurre de forma muy lenta, el tamaño de las nanopartículas es grande y la forma varía restando estabilidad a las mismas, en tanto que en rangos básicos (8 - 11) la intensidad del pico de absorción aumenta [75].

En el trabajo desarrollado por Alqadi et al., [87], se describen cambios en la forma de las AgNPs sintetizadas, en rangos de pH neutro y ligeramente básicos (7, 8 y 8.5) las nanopartículas son irregulares y esto puede ocurrir por la falta de equilibrio entre nucleófilos, mientras que AgNPs preparadas en un rango de pH entre 10 a 11, son más regulares y de menor tamaño, de forma esférica, resultado de un equilibrio entre los procesos de nucleación y crecimiento, así como del aumento en la tasa de reducción de la Ag^+ .

En la experimentación, el pH óptimo de formación de AgNPs fue de 10, dados los resultados mostrados en las gráficas, en absorbancias y valores de concentración, no se extendió el análisis a un pH más alcalino en la síntesis debido a que en trabajos similares

denotan que existe un ensanchamiento de los picos de absorbanza, produciendo AgNPs más inestables que se aglomeran.

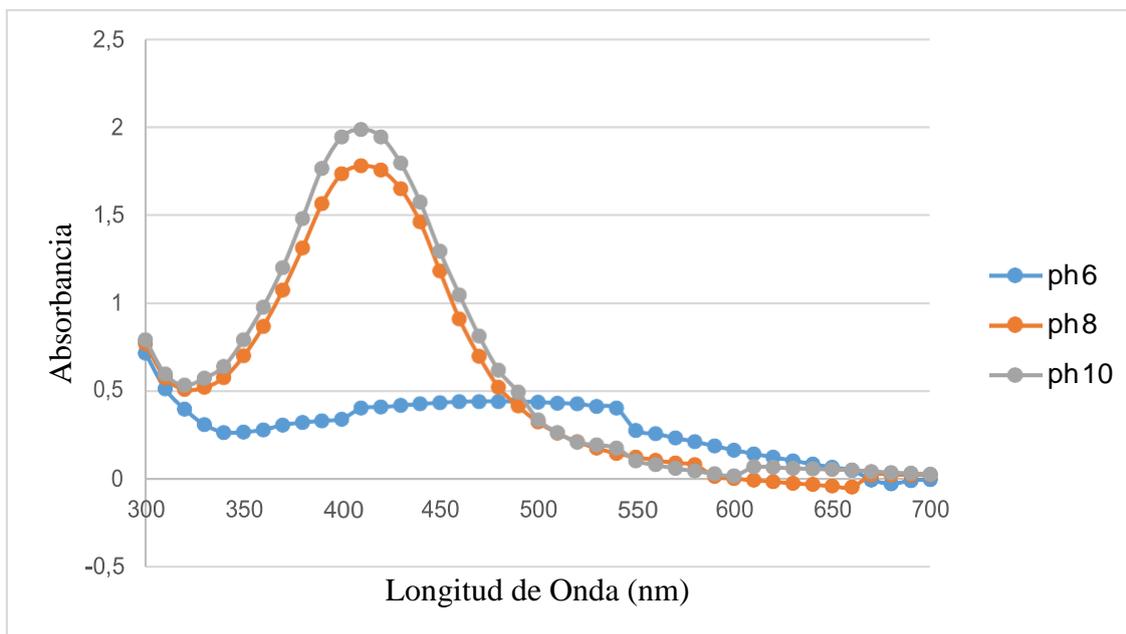


Figura 34. Espectros visibles de nanopartículas de plata sintetizadas variando pH y condiciones fijas de 27°C y 152 µl de extracto y M3.

Tabla 17. Concentración de AgNPs variando el pH de la mezcla con sus absorbancias respectivas.

| pH de la mezcla | Absorbancia | Concentración (ppm) |
|-----------------|-------------|---------------------|
| 6 | 0,401 | 7 |
| 8 | 1,777 | 1240 |
| 10 | 1,984 | 1789 |

4.2.7. Efecto de la temperatura

La temperatura es un factor determinante para sintetizar nanopartículas de plata ya que incide en su tamaño y forma. Como afirman Ibrahim [79], Kumar et al., [75], la temperatura actúa consumiendo los reactivos rápidamente formando nanopartículas de tamaño más pequeño. Al calentar la mezcla de reacción del extracto con nitrato de plata, la temperatura acelera la reducción de iones de plata, aumentando la concentración, así como es notable el cambio de color de la solución de marrón claro a un tono más oscuro en cuestión de minutos.

Bajo análisis del espectrofotómetro UV-Vis variando temperaturas de reacción (27, 40, 50 y 60°C) en la formación de AgNPs, se determinó que la temperatura óptima de reacción es de 60° C por incrementarse la banda de absorbancia, sin presentar un pico ancho y mostrar una concentración elevada en comparación con las demás variaciones de temperatura, en la figura 35 y tabla 18 se observan las diferencias.

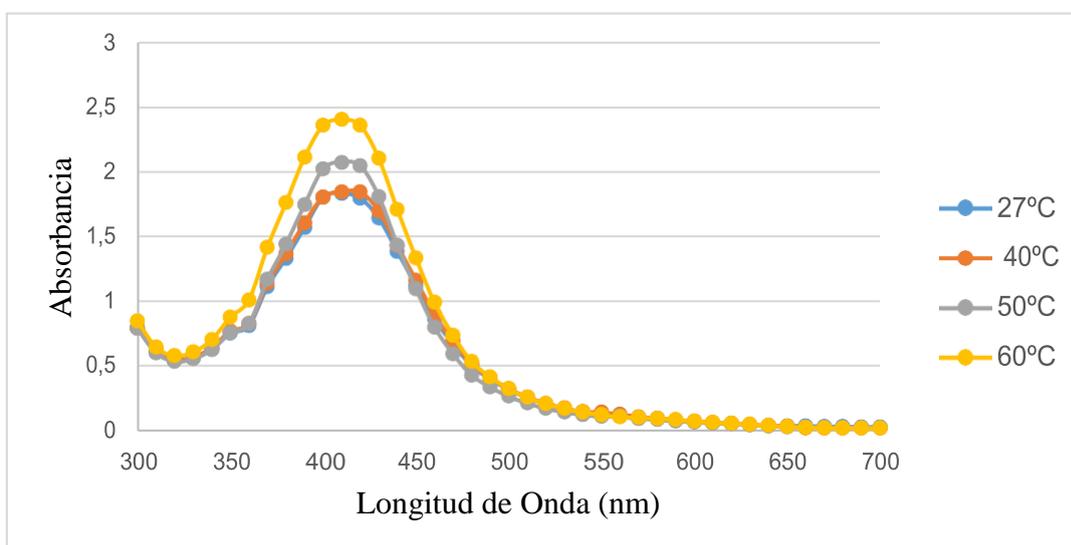


Figura 35. Espectros visibles de nanopartículas de plata sintetizadas variando la temperatura y manteniendo condiciones fijas de Ph 10, 152 μ l de extracto y M3.

Tabla 18. Concentración de AgNPs variando la temperatura de la mezcla con sus absorbancias respectivas.

| Temperatura °C | Absorbancia | Concentración (ppm) |
|----------------|-------------|---------------------|
| 27 | 1,832 | 1089 |
| 40 | 1,842 | 902 |
| 50 | 2,072 | 1950 |
| 60 | 2,402 | 2388 |

En base a las experimentaciones realizadas para cada variable respecto a los valores de absorbancia y concentración, se lograron definir las condiciones finales de optimización en la síntesis de AgNPs. En la siguiente tabla se detallan los resultados

Tabla 19. Condiciones óptimas experimentales para la síntesis de AgNPs.

| Cantidad de extracto de cáscara de banano (µl) | Día de macerado del extracto | pH | Temperatura (°C) | Absorbancia | Concentración (ppm) |
|--|------------------------------|----|------------------|-------------|---------------------|
| 156 | 3 | 10 | 60 | 2,402 | 2388 |

4.3. Composición del raquis de banano y rendimiento de nanocelulosa

Previo a la fase experimental se determinó la composición del raquis de banano cuyos resultados se observan en la tabla no. 20 en la que se evidencia el elevado porcentaje de humedad que contiene la fibra, así como el porcentaje de Celulosa.

Tabla 20. Composición del raquis de banano.

| Análisis | Valor (%) |
|---------------------|-----------|
| Humedad | 90,6 |
| Cenizas | 8,84 |
| Extractos acuosos | 24,87 |
| Extractos orgánicos | 4,02 |
| Celulosa | 41 |

El contenido de celulosa presente en el raquis de banano fue extraído mediante la aplicación de tratamientos físico - químicos y llevado a escala nanométrica logrando un rendimiento promedio de 36,41 % tabulado en la tabla no. 21, existiendo un porcentaje de pérdida de aproximadamente 5 % en comparación al contenido celulósico registrado en la tabla no 20, posiblemente producto de la manipulación en el proceso. Basado en los rendimientos obtenidos y el trabajo realizado por Deepa et al., [54] el promedio de ácido oxálico seleccionado fue de 5% para preparar la nanocelulosa como parte del proceso de producción del nanocompuesto.

Tabla 21. Rendimiento nanocelulósico del procedimiento empleado.

| Muestra | Raquis (gr) | Celulosa inicial (gr) | Ac. Oxálico Conc. | Nanocelulosa (gr) | Rendimiento (%) | Promedio |
|---------|-------------|-----------------------|-------------------|-------------------|-----------------|----------|
| A | 7 | 2,87 | 5 | 0,95 | 33,1 | 36,41 |
| A' | 7 | 2,87 | 5 | 1,14 | 39,72 | |
| B | 7 | 2,87 | 7 | 0,93 | 32,4 | 35,02 |
| B' | 7 | 2,87 | 7 | 1,08 | 37,63 | |
| C | 7 | 2,87 | 9 | 1,07 | 37,28 | 36,94 |
| C' | 7 | 2,87 | 9 | 1,05 | 36,59 | |

4.4. Ensayos de laboratorio para NCF, AgNPs y NEN-AgNPs.

4.4.1. Determinación de la Capacidad antioxidante DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidroxilo)

La capacidad antioxidante se midió usando el Espectrofotómetro UV – Vis. Este método consiste en la reacción entre el radical libre estable (DPPH) con un elemento antioxidante, el DPPH acepta un radical de hidrógeno que le cede el antioxidante reduciéndose para convertirse en una molécula diamagnética. En la experimentación, sí existe un buen porcentaje de inhibición, se aprecia un cambio de color de violeta a amarillo debido a la reducción del DPPH a difenilpicrilhidrazina [47].

En las figuras 36, 37 y 38 se observan los espectros visibles de cada ensayo, donde se expresa la relación de las absorbancias en el transcurso del tiempo de análisis, datos necesarios para determinar los % de inhibición.

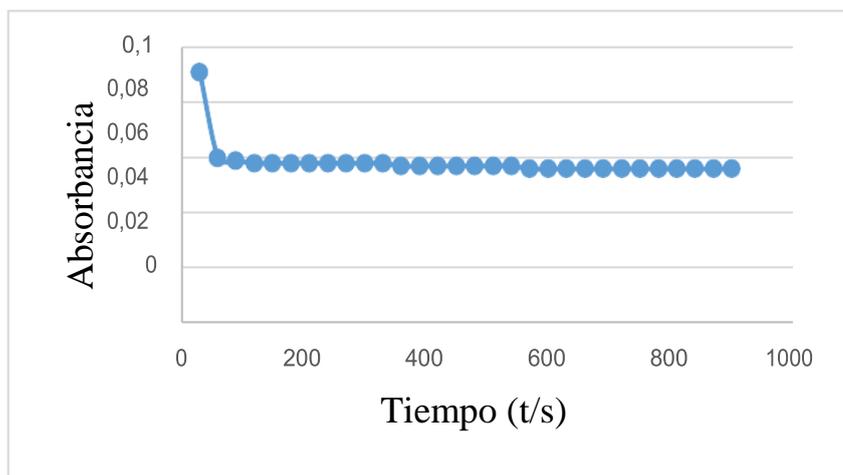


Figura 36. Espectro visible del grado de inhibición del extracto de la cáscara de banano.

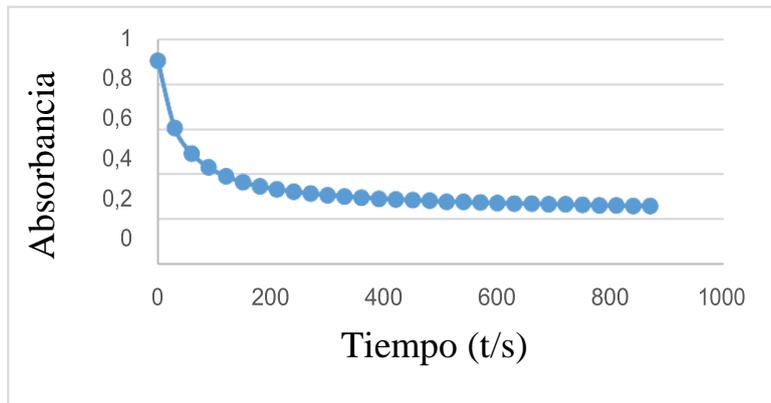


Figura 37. Espectro visible del grado de inhibición del AgNPs.

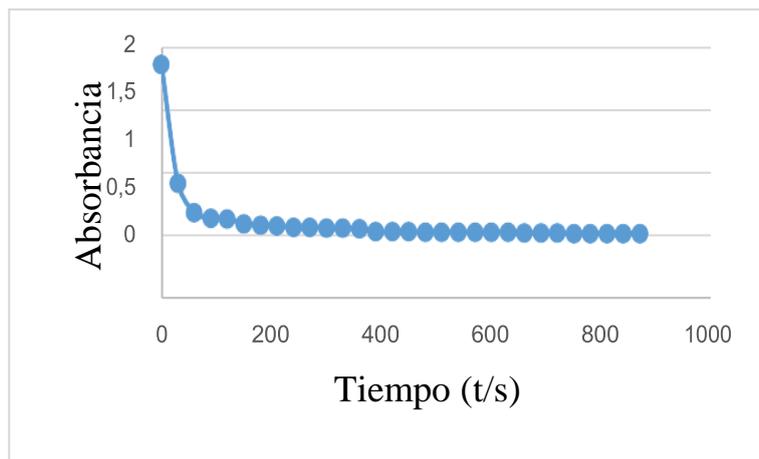


Figura 38. Espectro visible del grado de inhibición del NEN - AgNPs propuesto.

La actividad antioxidante del nanocompuesto fue de 72,16%, sin embargo, el mayor incremento de inhibición se observó en las AgNPs sintetizadas (71,57%) en comparación con el extracto puro (62,5%) existiendo un aumento de la capacidad antioxidante gracias al poder reductor de los compuestos bioactivos presentes en la cáscara al reducir los iones de Ag⁺.

A pesar de que el extracto presenta un buen porcentaje de inhibición, y su participación en la síntesis de AgNPs es esencial para la reducción de iones plata a su estado elemental, la reducción de tamaño a escala nanométrica hace que mejore sus capacidades de inhibición existiendo una relación directa de la capacidad antioxidante con el poder cicatrizante.

En el año 2016, Padilla-Camberos et al., [8] demostraron que la capacidad antioxidante desempeña un papel importante en la cicatrización de heridas, obteniendo porcentajes de actividad antioxidante de 89, 90 y 34 % respectivamente para extractos metanólicos, hexanólicos y clorofórmico en heridas en ratas de laboratorio.

Tabla 22. Porcentaje de actividad antioxidante de los productos obtenidos en la experimentación.

| Muestra | Actividad antioxidante (%) |
|-------------------------|----------------------------|
| Extracto | 62,5 |
| Nanopartículas de plata | 71,57 |
| NEN - AgNPs | 72,16 |

4.4.2. Determinación de la actividad antimicrobiana

Las pruebas microbiológicas realizadas por el método de difusión en disco de agar arrojaron resultados de inhibición mayores para bacterias Gram negativas en las muestras ensayadas, y esto puede atribuirse a que las bacterias Gram negativas poseen una capa más fina de peptidoglicano.

Esto se ha observado en repetidos estudios, incluido Mohammadlou et al., [76] donde se menciona que la actividad microbiológica es mayor para las bacterias Gram negativas debido a que cuentan con una capa de peptidoglicano más fina, mientras que, las Gram positivas poseen una capa de peptidoglicano más gruesa, de estructura rígida de difícil penetración por parte de las nanopartículas de plata [47].

En la tabla no. 23 se detallan los diámetros de inhibición presentados en patógenos *E. coli* y *Staphylococcus aureus*.

Tabla 23. Actividad antimicrobial para bacterias Gram Positivas y Gram Negativas.

| Microorganismo | Zona de Inhibición (mm) | | | |
|------------------------------|----------------------------------|-------|-------------|---|
| | Extracto de la cascara de banano | AgNPs | NEN – AgNPs | Ciprofloxacina (Antibiótico de control) |
| <i>Escherichia coli</i> | 10 | 27 | 15 | 39 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 5 | 16 | 12 | 35 |

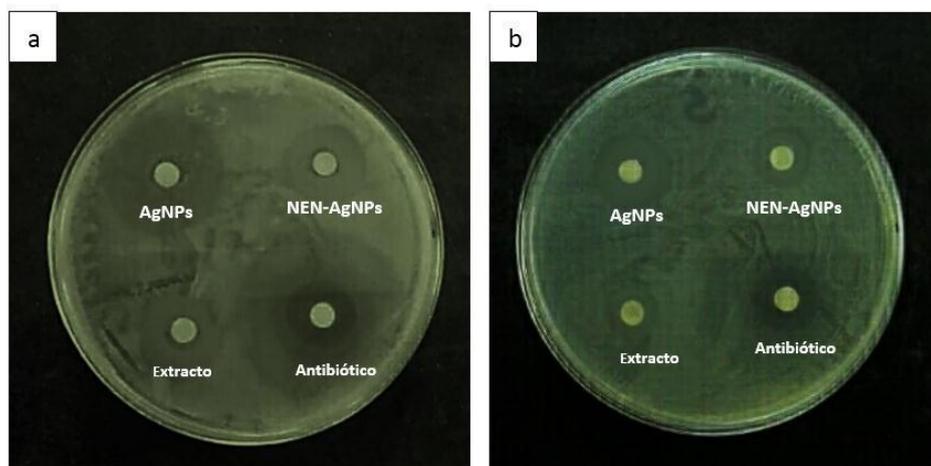


Figura 39. Prueba microbiológica: a) Actividad antibacteriana de muestras para la bacteria *Escherichia coli*, b) Actividad antibacteriana de muestras para la bacteria *Staphylococcus aureus*.

4.4.3. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La técnica SEM se utilizó para la determinación del tamaño y morfología de las nanopartículas de plata, nanocelulosa y NEN – AgNPs

Caracterización de las nanopartículas de plata.

Se observaron nanopartículas de plata de forma esférica, con una distribución de tamaño mayoritario de aproximadamente 24 nm.

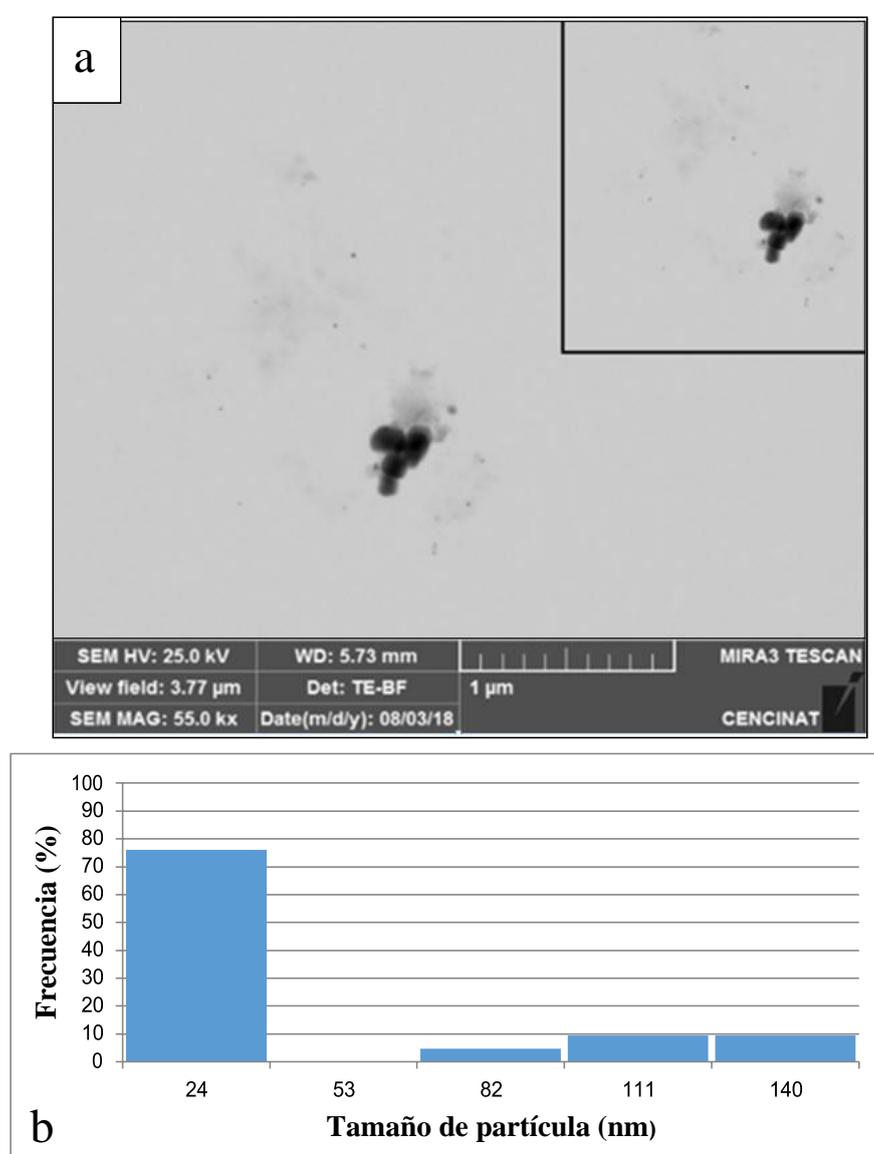


Figura 40. Análisis de nanopartículas de plata sintetizadas: a) Imagen de AgNPs desde un SEM proporcionadas por el laboratorio CENCINAT de la ESPE, b) Histograma de distribución de tamaño de AgNPs.

Caracterización de nanofibras de celulosa

Mediante análisis SEM las nanofibras de celulosa mostraron dimensiones que van aproximadas de 32 nm de diámetro y longitudes que varían desde 0.3 a 2.1 μm .

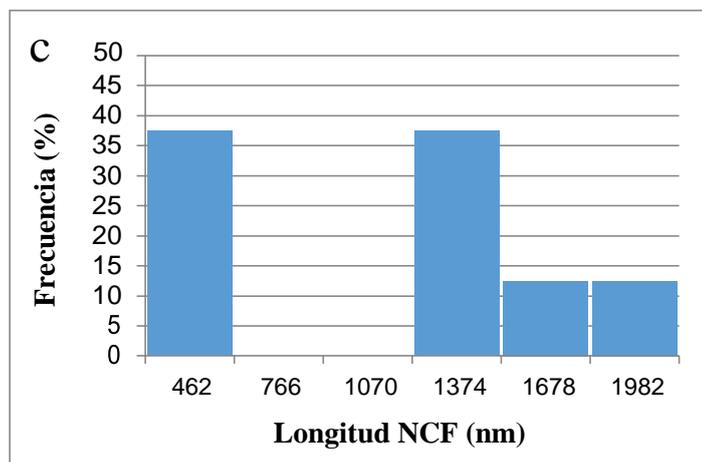
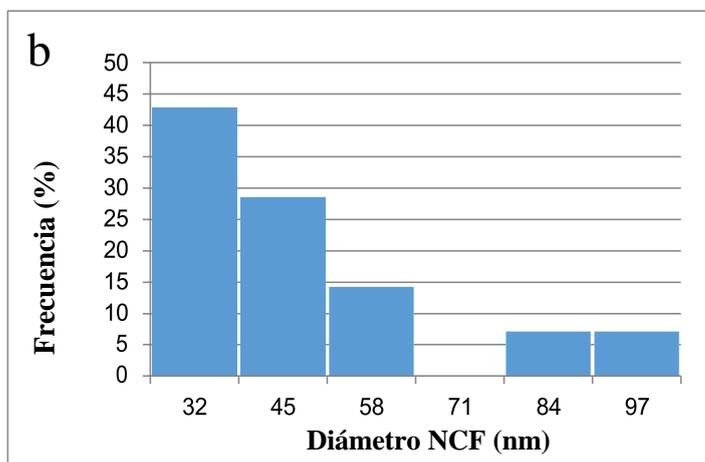
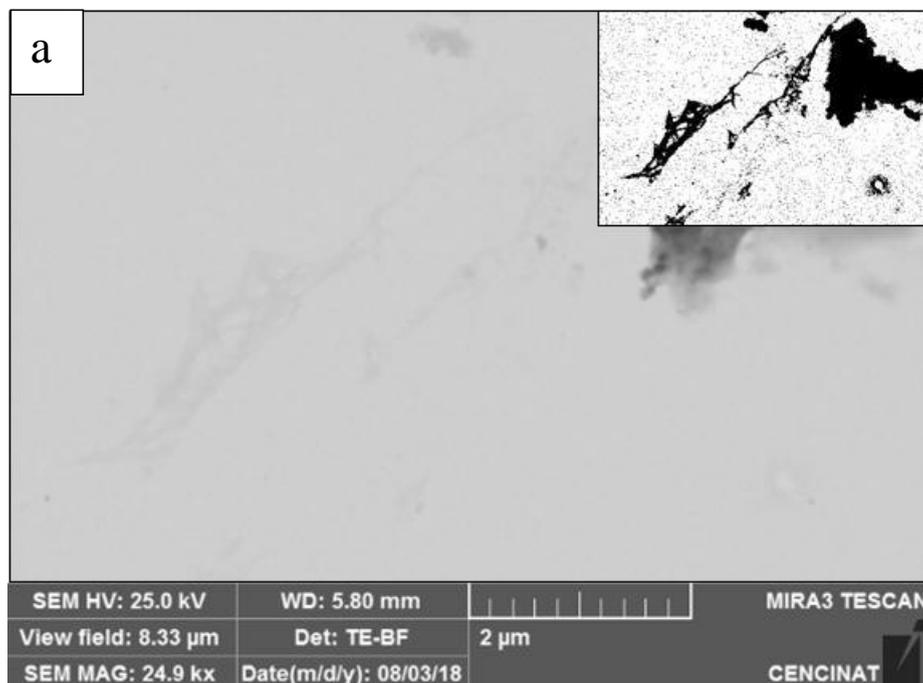


Figura 41. Análisis de nanocelulosa sintetizada: a) Imagen de NCF desde un SEM proporcionadas por el laboratorio CENCINAT de la ESPE, b) Histograma de distribución de tamaño de NCF.

Caracterización de NEN - AgNPs

En la imagen SEM y distribución de tamaños reportada para el NEN - AgNPs se observó una mayor frecuencia de diámetros entre los 64 - 82 nm.

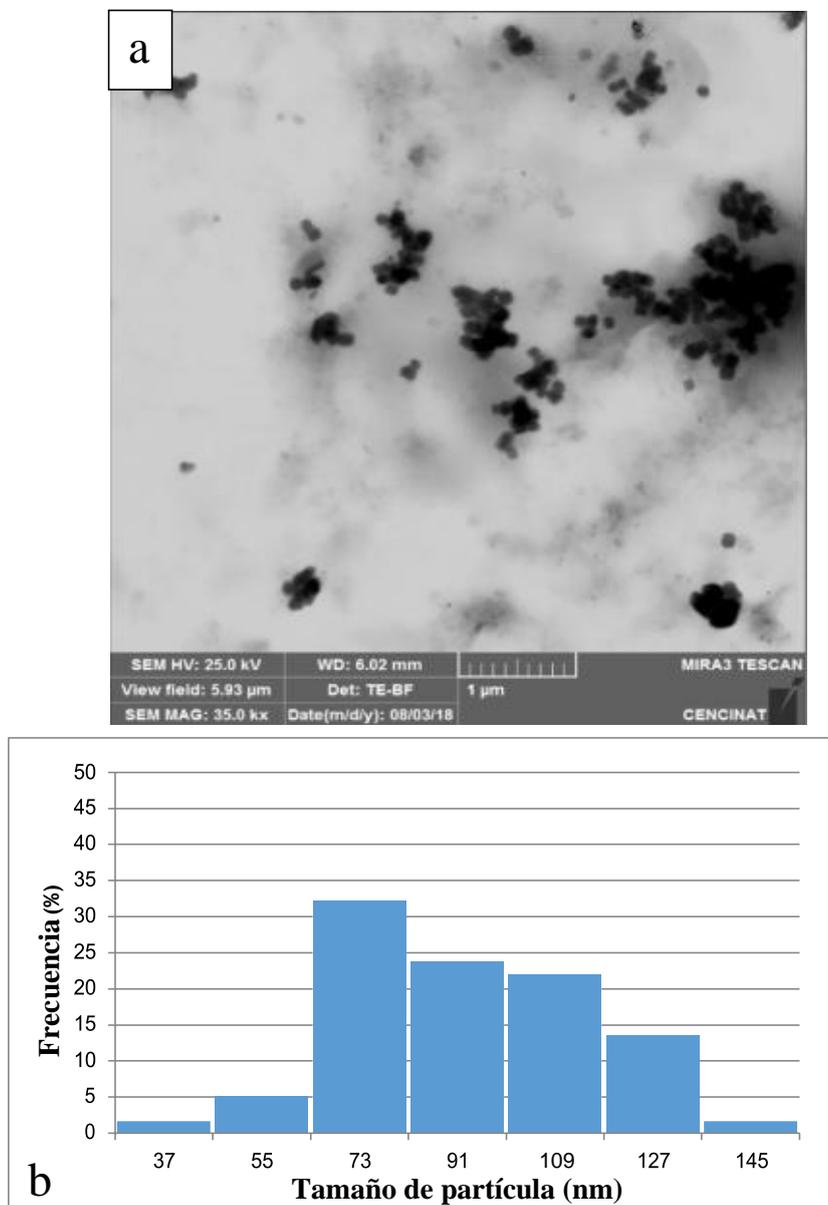


Figura 43. Análisis de NEN-AgNPs sintetizada: a) Imagen de NEN – AgNPs desde un SEM proporcionadas por el laboratorio CENCINAT de la ESPE, b) Histograma de distribución de tamaño de NEN – AgNPs

CONCLUSIONES

La selección de la mezcla agua – etanol como solvente de extracción de metabolitos secundarios de la cáscara de banano resultó positiva en el ensayo para saponinas, taninos y flavonoides de forma cualitativa y mediante métodos cuantitativos desarrollados por el laboratorio UBA, obteniendo cantidades de 1,16 g/ 100 g de saponinas, 0,16 g/100 g de taninos y 452 mg/kg de flavonoides expresados en valores de quercetina.

Se verificó de manera visual la formación de AgNPs mediante colorimetría por su tonalidad marrón oscuro, la presencia de Ag se confirmó mediante Espectrofotometría UV - Vis, con picos de absorbancia a una longitud de onda de 410 nm. Su forma y tamaño se analizaron a través del equipo de Microscopía electrónica de barrido (SEM) dando como resultado AgNPs de tamaño aproximadamente de 24 nm y de forma esférica.

El contenido de celulosa del raquis de banano fue de 41% basado en el método de Kurschner y Hoffer. En la experimentación, al raquis de banano se le aplicó tratamientos físico - químicos mostrando un rendimiento de 36,4% obteniendo nanofibras de celulosa con tamaños de 32 nm de diámetro y de 0,3 a 2,1 μm de longitud observados por un SEM.

Debido a la biocompatibilidad característica de la nanocelulosa, esta presenta la capacidad de receptar nanometales como la plata gracias a los grupos OH dispuestos en su superficie modificándose así las nanofibras de celulosa, por ello existe un dopaje de las AgNPs en la estructura de la nanocelulosa obteniendo un nanocompuesto.

La capacidad antioxidante y antibacterial del NEN - AgNPs fue demostrada por técnicas experimentales de laboratorio, la primera por eliminación del radical libre DPPH, resultando un 72,16% de capacidad antioxidante. El NEN - AgNPs posee un mejor porcentaje de actividad antioxidante en comparación con las AgNPs y el extracto de

banano. Esto podría deberse indirectamente al número de grupos –OH presentes en la superficie de su estructura, que hacen de las nanofibras de celulosa un agente estabilizante para las AgNPs evitando la aglomeración y el funcionamiento de las mismas.

Por otra parte, la actividad antibacterial del NEN – AgNPs se evidenció tanto en bacterias Gram positivas y Gram negativas, mostrando un halo de inhibición de 12 y 15 mm respectivamente. Sin embargo, la inhibición bacteriana está protagonizada por las nanopartículas de plata a pesar que en bacterias Gram positivas el halo de inhibición es menor.

RECOMENDACIONES

Considerar otros métodos que permitan optimizar los procesos de extracción sin afectar la calidad de compuestos bioactivos presentes en diferentes fuentes vegetales.

Se recomienda implementar la utilización de agentes de estabilización que permitan mantener en el tiempo la formación, tamaño y dispersión de las nanopartículas así como evitar la agregación de las mismas.

Para la síntesis de nanopartículas de plata existen variables que juegan un rol importante como lo son: el pH, la temperatura, concentración de nitrato de plata, tiempo de macerado y volumen de extracto, no obstante, las tres últimas variables mencionadas van a depender directamente del tipo de agente reductor con el que se trabaje. Por lo tanto se recomienda evaluar otras fuentes ricas en metabolitos secundarios que actúen como agentes eficientes en la reducción de Ag^+ y estabilización de AgNPs.

Emplear un homogenizador de alta presión para optimizar el proceso de obtención del nanocompuesto.

Se recomienda realizar análisis más exhaustivos para la caracterización del NEN - AgNPs entre ellos Difracción de rayos X (XRD), Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), Difracción de luz dinámica (DLS), Microscopia electrónica de transmisión (TEM) y Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)

BIBLIOGRAFIA

- [1] C. Gómez H. *et al.*, “Vegetable nanocellulose in food science: A review,” *Food Hydrocoll.*, vol. 57, pp. 178–186, 2016.
- [2] S. Jain and M. S. Mehata, “Medicinal Plant Leaf Extract and Pure Flavonoid Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles and their Enhanced Antibacterial Property,” *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–13, 2017.
- [3] H. V Lee, S. B. A. Hamid, and S. K. Zain, “Conversion of Lignocellulosic Biomass to Nanocellulose: Structure and Chemical Process,” *Sci. World J.*, vol. 2014, p. 631013, 2014.
- [4] B. Prakash, C. H. Sumangala, G. Melappa, and C. Gavimath, “Evaluation of Antifungal activity of Banana peel against Scalp Fungi,” *Mater. Today Proc.*, vol. 4, no. 11, pp. 11977–11983, 2017.
- [5] M. F. Deumaga *et al.*, “Genotype contribution to the chemical composition of banana rachis and implications for thermo/biochemical conversion,” *Biomass Convers. Biorefinery*, vol. 5, no. 4, pp. 409–416, 2015.
- [6] M. Monge, “Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas,” *Investig. Quim.*, no. August, pp. 33–41, 2009.
- [7] M. Prakash, R. Selvakumar, P. Suresh, and S. Ramakrishna, “Extraction and modification of cellulose nanofibers derived from biomass for environmental application,” *R. Soc. Chem.*, no. 7, pp. 42750–42773, 2017.
- [8] E. Padilla, A. Canales, J. Flores, and C. Barragan, “Wound healing and antioxidant capacity of *Musa paradisiaca* Linn . peel extracts,” *Wound Heal. Antioxid. Capacit. Musa Parad. Linn. peel Extr.*, vol. 4, no. January, pp. 165–

173, 2016.

- [9] A. Aboul, Z. Salama, A. Gaafar, H. Aly, F. Elella, and H. Ahmed, "Research Article Identification of phenolic compounds from banana peel (*Musa paradaisica* L .) as antioxidant and antimicrobial agents," *J. Chem. Pharm. Res.*, vol. 8, no. 4, pp. 46–55, 2016.
- [10] L. Cardeño and M. Londoño, "Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo (*Allium sativum*) Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo (*Allium sativum*)," *Soluciones Postgrado EIA*, pp. 126–137, 2014.
- [11] A. K. Kumar and S. Sharma, "Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: a review," *Bioresour. Bioprocess.*, vol. 4, no. 7, 2017.
- [12] G. Ehiowemwenguan, Emoghene, and J. E. Inetianbor, "Antibacterial and phytochemical analysis of Banana fruit peel," *IOSR J. Pharm.*, vol. 4, no. 8, pp. 2250–3013, 2014.
- [13] R. González, M. G. Lobo, and M. González, "Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds," *Food Chem.*, vol. 119, no. 3, pp. 1030–1039, 2010.
- [14] H. T. Vu, C. J. Scarlett, and Q. V. Vuong, "Phenolic compounds within banana peel and their potential uses: A review," *J. Funct. Foods*, vol. 40, no. July 2017, pp. 238–248, 2018.
- [15] D. E. Carchi Maurat, "Aprovechamiento de los residuos agrícolas provenientes del cultivo de banano para obtener nanocelulosa," Cuenca, 2014.

- [16] J. Lee, C. J. Houtman, H. Kim, I. Choi, and T. W. Jeffries, "Scale-up study of oxalic acid pretreatment of agricultural lignocellulosic biomass for the production of bioethanol," *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 16, pp. 7451–7456, 2011.
- [17] R. Pezoa, "Estudio de pretratamiento con ácido diluido y líquidos iónicos en residuos agrícolas para la producción de bioetanol de segunda generación," Chile, 2010.
- [18] M. Chavez and M. Domine, "Lignina , estructura y aplicaciones: métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial," *Av. en Ciencias e Ing.*, vol. 4, no. 4, pp. 15–46, 2013.
- [19] E. Abraham *et al.*, "Extraction of nanocellulose fibrils from lignocellulosic fibres: A novel approach," *Carbohydr. Polym.*, vol. 86, no. 4, pp. 1468–1475, 2011.
- [20] J. Cai *et al.*, "Review of physicochemical properties and analytical characterization of lignocellulosic biomass," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 76, no. January, pp. 309–322, 2017.
- [21] M. Bilal, M. Asgher, H. M. N. Iqbal, H. Hu, and X. Zhang, "Biotransformation of lignocellulosic materials into value-added products—A review," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 98, pp. 447–458, 2017.
- [22] M. Raud, M. Tutt, J. Olt, and T. Kikas, "Dependence of the hydrolysis efficiency on the lignin content in lignocellulosic material," *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 41, no. 37, pp. 16338–16343, 2016.
- [23] S. Morales, "Hidrólisis ácida de celulosa y biomasa lignocelulósica asistida con líquidos iónicos," Universidad Autonoma de Madrid, 2015.

- [24] S. R. Perea, “Recuperación de celulosa en un residuo forestal mediante líquidos iónicos,” Centro de investigaciones de investigaciones en materiales avanzados, 2016.
- [25] A. M. Sánchez Riaño and C. A. Gutiérrez Morales, A. I. Muñoz Hernández, J. A. Rivera Barrero, “Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos Bioethanol Production from agroindustrial lignocellulosic byproducts,” *Tumbaga*, vol. 5, pp. 61–91, 2010.
- [26] E. A. A. Zamora, “Identificación del mecanismo de solvatación de biomasa lignocelulósica con líquidos iónicos,” Universidad Nacional de Colombia, 2013.
- [27] R. J. Moon, A. Martini, J. Nairn, J. Youngblood, A. Martini, and J. Nairn, “Cellulose nanomaterials review: structure , properties and nanocomposites,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 40, no. 7, pp. 3941–3994, 2011.
- [28] H. Charreau, M. L. Foresti, and A. Vazquez, “Nanocellulose patents trends: a comprehensive review on patents on cellulose nanocrystals, microfibrillated and bacterial cellulose.,” *Recent Pat. Nanotechnol.*, vol. 7, no. 1, pp. 56–80, Jan. 2013.
- [29] H. Shaghaleh, X. Xu, and S. Wang, “RSC Advances materials based on cellulose , cellulose nano fi bers , and cellulose derivatives,” *RSC Adv.*, vol. 8, no. 2, pp. 825–842, 2018.
- [30] A. Casas, “Disolución de madera de ‘pinua radiata’ y ‘eucalyptus globulus’ en líquidos iónicos basados en cation 1- alquil-3-metilimidazolio y regeneración de celulosa y lignina,” Universidad Complutense de Madrid, 2013.
- [31] H. Xie, H. Du, X. Yang, and C. Si, “Recent Strategies in Preparation of Cellulose

- Nanocrystals and Cellulose Nanofibrils Derived from Raw Cellulose Materials,” *Int. J. Polym. Sci.*, vol. 2018, pp. 1–25, Apr. 2018.
- [32] H. Kargarzadeh *et al.*, “Advances in cellulose nanomaterials,” *Cellulose*, vol. 25, no. 4, pp. 2115–2189, 2018.
- [33] H. Shaghaleh, X. Xu, and S. Wang, “Current progress in production of biopolymeric materials based on cellulose, cellulose nanofibers, and cellulose derivatives,” *RSC Adv.*, vol. 8, no. 2, pp. 825–842, 2018.
- [34] K. Moreira, “Reutilización de residuos de la cáscara de bananos (*musa paradisiaca*) y plátanos (*musa sapientum*) para la producción de alimentos destinados al consumo humano.,” Universidad de Guayaquil, 2013.
- [35] M. Z. Imam and S. Akter, “*Musa paradisiaca* l. and *musa sapientum* l. : A phytochemical and pharmacological review,” *J. Appl. Pharm. Sci.*, vol. 1, no. 5, pp. 14–20, 2011.
- [36] G. T. Pilco, “Caracterización bromatológica de la cáscara de Banano (*musa paradisiaca*) y posterior extracción e identificación de la fracción con mayor actividad antimicrobiana.,” Universidad Central del Ecuador, 2017.
- [37] C. Tigasi, ““Cultivo de alta densidad en banano (*Musa paradisiaca* Var. Cavendish),”” Universidad Técnica de Cotopaxi, La Manà, 2017.
- [38] C. A. Romero, *El Banano Peruano*, MINAGRI-. 2014.
- [39] S. Azizuddin, S. Ghafoor, A. Qadeer, and T. Makhmoor, “Evaluation of Physico-Chemical and Antioxidant Properties in Different Varieties of Banana (*Musa acuminata*), Indigenous to Pakistan,” *J.Chem.Soc.Pak*, vol. 36, no. 6, pp. 1088–1095, 2014.

- [40] T. A. Anyasi, A. I. O. Jideani, and G. R. A. Mchau, “Functional properties and postharvest utilization of commercial and noncommercial banana cultivars,” *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, vol. 12, no. 5, pp. 509–522, 2013.
- [41] AEBE, “Banano: la fruta más comercializada a nivel mundial - AEBE,” 2018.
- [42] FAOSTAT, “Proporción de producción de Bananos por región.” .
- [43] INIAP, “Banano, plátano y otras musáceas | Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.” .
- [44] J. C. Mora, M. Esquivel, M. Durán, and R. Zamora, “Obtención y evaluación de mezclas de polipropileno con fibras de raquis de banano (musa AAA),” *Rev. Iberoam. Polímeros Vol. Iber. Polímeros*, vol. 16, no. 162, pp. 91–111, 2015.
- [45] A. B. Guerrero, I. Ballesteros, and M. Ballesteros, “The potential of agricultural banana waste for bioethanol production,” *Fuel*, vol. 213, no. October 2017, pp. 176–185, 2018.
- [46] M. Sibaja, P. Alvarado, R. Pereira, and M. Moya, “Composites from banana tree rachis fibers (Musa Giant Cavendish AAA),” *Prod. use biocompatible Mater.*, pp. 2–7, 2014.
- [47] T. Kokila, P. S. Ramesh, and D. Geetha, “Biosynthesis of silver nanoparticles from Cavendish banana peel extract and its antibacterial and free radical scavenging assay: a novel biological approach,” *Appl. Nanosci.*, vol. 5, no. 8, pp. 911–920, 2015.
- [48] R. S. S. Fatemeh, A. Abbas and M. Azhar, “Total phenolics , flavonoids and antioxidant activity of banana pulp and peel flours: Influence of variety and stage of ripeness Total phenolics , flavonoids and antioxidant activity of banana pulp

- and peel flours: influence of variety and stage of ripe,” *Int. Food Res. J.*, vol. 3, no. January, pp. 1041–1046, 2012.
- [49] A. Blanco, M. C. Monte, C. Campano, A. Balea, N. Merayo, and C. Negro, *Nanocellulose for Industrial Use*. Madrid: Elsevier Inc., 2018.
- [50] P. Phanthong, P. Reubroycharoen, X. Hao, and G. Xu, “Nanocellulose: Extraction and application,” *Carbon Resour. Convers.*, vol. 1, no. 1, pp. 32–43, 2018.
- [51] H. P. S. A. Khalil, A. H. Bhat, and A. F. I. Yusra, “Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 87, no. 2, pp. 963–979, 2012.
- [52] T. Abitbol *et al.*, “Nanocellulose , a tiny fiber with huge applications,” *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 39, no. I, pp. 76–88, 2016.
- [53] A. F. Jozala, L. C. De Lencastre-novaes, A. M. Lopes, V. D. C. Santos-ebinuma, P. G. Mazzola, and A. Pessoa-jr, “Bacterial nanocellulose production and application : a 10-year overview,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 100, no. 5, pp. 2063–2072, 2016.
- [54] B. Deepa *et al.*, “Utilization of various lignocellulosic biomass for the production of nanocellulose: a comparative study for the production of nanocellulose: a comparative study,” *ResearchGate*, vol. 22, no. January, pp. 1075–1090, 2015.
- [55] H. Tibolla, F. M. Pelissari, M. I. Rodrigues, and F. C. Menegalli, “Cellulose nanofibers produced from banana peel by enzymatic treatment: Study of process conditions,” *Ind. Crop. Prod.*, vol. 95, pp. 664–674, 2017.
- [56] H. Tibolla, F. M. Pelissari, J. T. Martins, A. A. Vicente, and F. C. Menegalli,

- “Cellulose nano fi bers produced from banana peel by chemical and mechanical treatments: Characterization and cytotoxicity assessment,” *Food Hydrocoll.*, vol. 75, pp. 192–201, 2018.
- [57] R. Zuluaga, J. L. Putaux, J. Cruz, J. Vélez, I. Mondragon, and P. Gañán, “Cellulose microfibrils from banana rachis: Effect of alkaline treatments on structural and morphological features,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 76, no. 1, pp. 51–59, 2009.
- [58] A. Khalid, R. Khan, M. Islam, T. Khan, and F. Wahid, “Bacterial cellulose-zinc oxide nanocomposites as a novel dressing system for burn wounds,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 164, pp. 214–221, May 2017.
- [59] A. Ávalos and E. Perez, “Metabolismo secundario de plantas,” *Reduca Biol. Ser. Fisiol. Veg.*, vol. 2, no. 3, pp. 119–145, 2009.
- [60] A. Pereira and M. Maraschin, “Banana (*Musa spp*) from peel to pulp: Ethnopharmacology, source of bioactive compounds and its relevance for human health,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 160, pp. 149–163, 2015.
- [61] A. K. Anal, S. Jaisanti, and A. Noomhorm, “Enhanced yield of phenolic extracts from banana peels (*Musa acuminata* Colla AAA) and cinnamon barks (*Cinnamomum varum*) and their antioxidative potentials in fish oil,” *J. Food Sci. Technol.*, vol. 51, no. 10, pp. 2632–2639, 2012.
- [62] S. Pareek, “Nutritional and Biochemical Composition of Banana (*Musa spp.*) Cultivars,” in *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*, India: Elsevier Inc., 2015, pp. 49–81.
- [63] B. Adamczyk *et al.*, “Tannins can slow-down but also speed-up soil enzymatic

- activity in boreal forest,” *Soil Biol. Biochem.*, vol. 107, pp. 60–67, 2017.
- [64] C. Moctezuma, A. Hammerbacher, M. Heil, J. Gershenzon, R. Méndez, and K. Oyama, “Specific Polyphenols and Tannins are Associated with Defense Against Insect Herbivores in the Tropical Oak *Quercus oleoides*,” *J. Chem. Ecol.*, vol. 40, no. 5, pp. 458–467, 2014.
- [65] B. Adamczyk, J. Simon, V. Kitunen, S. Adamczyk, and A. Smolander, “Tannins and Their Complex Interaction with Different Organic Nitrogen Compounds and Enzymes: Old Paradigms versus Recent Advances,” *ChemistryOpen*, vol. 6, no. 5, pp. 610–614, 2017.
- [66] M. Palma, M. Sotoz, and E. Aguirre, “Flavonoids in Agriculture,” in *Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health*, Intech., no. August, Intech- World’s largest Science, Technology & Medicine Open Access book publisher, 2017, pp. 190–201.
- [67] A. Amer, “Biotechnology approaches for in vitro production of flavonoids,” *J. Microbiol. Biotechnol. food Sci.*, no. May, 2018.
- [68] K. Marobela, F. Ghislain, H. Okatch, and R. Majinda, “Polyphenols: A Diverse Class of Multi-Target Anti-HIV-1 Agents,” *Curr. Drug Metab.*, vol. 14, pp. 392–413, 2013.
- [69] R. Bissinger, P. Modicano, S. Honisch, M. Abed, and F. Lang, “Effect of saponin on erythrocytes,” *Int. J. Hematol.*, vol. 100, no. March, pp. 51–59, 2015.
- [70] J. Troisi *et al.*, “Saponins,” 2015.
- [71] M. Peng, Y. X. Yi, T. Zhang, Y. Ding, and J. Le, “Stereoisomers of Saponins in *Panax notoginseng* (Sanqi): A Review,” *Front. Pharmacol.*, vol. 9, no. March,

- pp. 1–18, 2018.
- [72] H. T. Vu, C. J. Scarlett, and Q. V. Vuong, “Optimization of ultrasound-assisted extraction conditions for recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity from banana (*Musa cavendish*) peel,” *J. Food Process. Preserv.*, vol. 41, no. 5, pp. 1–14, 2016.
- [73] P. Mathur, S. Jha, S. Ramteke, and N. K. Jain, “Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles,” *Artif. Cells, Nanomedicine, Biotechnol.*, vol. 0, no. 0, pp. 1–12, 2017.
- [74] M. Ahamed, M. A. Majeed Khan, M. K. J. Siddiqui, M. S. Alsalhi, and S. A. Alrokayan, “Green synthesis, characterization and evaluation of biocompatibility of silver nanoparticles,” *Phys. E Low-Dimensional Syst. Nanostructures*, vol. 43, no. 6, pp. 1266–1271, 2011.
- [75] R. Kumar, G. Ghoshal, A. Jain, and M. Goyal, “Rapid Green Synthesis of Silver Nanoparticles (AgNPs) Using (*Prunus persica*) Plants extract: Exploring its Antimicrobial and Catalytic Activities,” *J. Nanomed. Nanotechnol.*, vol. 08, no. 04, 2017.
- [76] M. Mohammadlou, H. Maghsoudi, and H. Jafarizadeh-Malmiri, “A review on green silver nanoparticles based on plants: Synthesis, potential applications and eco-friendly approach,” *Int. Food Res. J.*, vol. 23, no. 2, pp. 446–463, 2016.
- [77] Y. Mirgorod, V. Borodina, and N. A. Borsch, “Investigation of Interaction between Silver Ions and Rutin in Water,” *Biophysics (Oxf)*., vol. 58, no. May 2015, pp. 947–952, 2013.
- [78] S. Ahmed, S. Ullah, M. Ahmad, B. L. Swami, and S. Ikram, “Green synthesis of

- silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract,” *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–7, 2015.
- [79] H. M. M. Ibrahim, “Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms,” *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, vol. 8, no. 3, pp. 265–275, 2015.
- [80] A. Narayanamma, “Natural Synthesis of Silver Nanoparticles by Banana Peel Extract and as an Antibacterial Agent,” *J. Polym. Text. Eng.*, vol. 3, no. 1, pp. 17–25, 2016.
- [81] F. N. Domenech Gordillo, “Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata usando extracto de hojas de *Ambrosia arborescens* (marco) como reductor químico,” Pontificia Universidad Católica del Ecuador, 2017.
- [82] A. Madan and A. S. Nandane, “Development of Active Modified Atmosphere Lab Scale Setup to Study the Effect on Shelf-life of Banana,” no. April, 2014.
- [83] G. Giraldo, “Cuantificación de celulosa proveniente de residuos de la industria del mueble,” *EIDENAR*, 2009. [Online]. Available: <http://revistaeidenar.univalle.edu.co/revista/ejemplares/8/d.htm>. [Accessed: 19-Aug-2018].
- [84] H. Dong, J. F. Snyder, D. T. Tran, and J. L. Leadore, “Hydrogel , aerogel and film of cellulose nanofibrils functionalized with silver nanoparticles,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 95, no. 2, pp. 760–767, 2013.
- [85] A. Baghizadeh *et al.*, “Green synthesis of silver nanoparticles using seed extract of *Calendula officinalis* in liquid phase,” *J. Mol. Liq.*, vol. 207, no. July 2015, pp. 159–163, 2015.

- [86] M. Vanaja and G. Annadurai, "Coleus aromaticus leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles and its bactericidal activity," *Appl. Nanosci.*, vol. 3, pp. 217–223, 2013.
- [87] M. Alqadi, O. Noqtah, F. Alzoubi, J. Alzoubi, and K. Aljarrah, "pH effect on the aggregation of silver nanoparticles synthesized by chemical reduction," *Mater. Sci.*, 2014.

ANEXOS



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



ACTA DE ENTREGA

ACTA N°: SEM18_AGO_03
Número de páginas: 1
Solicitado por: ROBERTO LUNA
Autor informe: Prof. Carlos Arroyo, Ph.D.
Dirección: Av. General Rumiñahui S/N
Fecha de emisión: 08/03/2018

GENERALIDADES: En referencia a la FACTURA N° 001-001-000051489 emitida por la empresa pública ESPE-INNOVATIVA de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, se completó una hora de uso contratadas por el cliente con la observación de 4 muestras de *Nanocompuestos*, *Nanocelulosa* y *Nanopartículas de Plata* en el microscopio electrónico de barrido (SEM), alto vacío, TESCAN MIRA3 FEG del Laboratorio de Caracterización de Nanomateriales de la ESPE.

METODOLOGÍA: Cada una de las muestras entregadas por el solicitante fueron depositadas sobre un portamuestras para microscopía electrónica de transmisión y fueron introducidos al microscopio TESCAN MIRA 3 alto vacío y observadas en modo STEM con un voltaje de 25 kV a diferentes magnificaciones.

RESULTADOS: Se obtuvieron microfotografías a diferentes magnificaciones de varias regiones de cada una de las muestras entregadas.

OBSERVACIONES

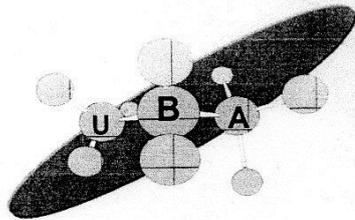
- Las muestras ensayadas fueron proporcionadas por el solicitante.
- Los resultados fueron entregados en formato electrónico al e-mail: robertoluna69@hotmail.com.

Ensayo Supervisado por:

Carlos Arroyo, Ph.D
Laboratorio de Caracterización de Nanomateriales
Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT)
Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE

Roberto Luna Burgos
Solicitante
120643555-2

Figura 44. Acta de entrega de resultados de análisis de SEM realizados.



**INFORME DE RESULTADOS
IDR 21946-2018**

Fecha: 08 de Agosto del 2018

| DATOS DEL CLIENTE | | | | | | |
|--|---|--------------------------|--|------------|--------|--------------------------|
| Nombre | LUNA BURGOS ROBERTO ANGEL | | | | | |
| Dirección | Calle Tulcán entre 10 de Agosto y Clemente Ballén | | | | | |
| Teléfono | 0988526488 | | | | | |
| Contacto | Sr Roberto Luna | | | | | |
| DATOS DE LA MUESTRA | | | | | | |
| Tipo de muestra | Extracto de Guineo | Cantidad | Aprox. 100 mL | | | |
| No. de muestras | 1 (n=2) | Lote | N/A | | | |
| Presentación | Frasco de vidrio | Fecha de recepción | 02 de Agosto del 2018 | | | |
| Colecta de muestra | Realizado por el CLIENTE | Fecha colecta de muestra | N/A | | | |
| CONDICIONES DEL ANALISIS | | | | | | |
| Temperatura (°C) | 22.0 | Humedad (%) | 52.0 | | | |
| Fecha de Inicio de Análisis | | | 03 de Agosto del 2018 | | | |
| Fecha de Finalización del análisis | | | 06 de Agosto del 2018 | | | |
| RESULTADOS | | | | | | |
| CODIGO CLIENTE | CODIGO UBA | PARAMETROS | METODO | RESULTADOS | Unidad | Límite de cuantificación |
| Extracto de Guineo | UBA-21946-1 | Taninos | E.P. 01/2005:20814 (Denis – Folin) | 0.16 | g/100g | - |
| | | Flavonoides (Quercetina) | Olga Lock et al 2006 (UV) | 452.0 | mg/Kg | - |
| | | Saponinas | INEN 1672 | 1.66 | g/100g | - |
| Observaciones: | | | | | | |
| 1. Los resultados emitidos en este informe, corresponden únicamente a la(s) muestra(s) recibidas por el laboratorio. No siendo extensivo a cualquier lote. | | | | | | |
| 2. Este reporte no debe ser reproducido parcial o totalmente, excepto con la aprobación escrita por parte del laboratorio. | | | | | | |
| 3. Nomenclatura: N.D. = No Detectable; N.A. = No aplica | | | | | | |

CONTROL DE CALIDAD

ALIMENTOS

FARMACEUTICOS

AMBIENTALES

COSMETICOS

Av. Carlos L. Plaza Dañin, Cda. La FAE, Mz 20 Solar 12 (Frente al primer bloque de la Atarazana)
PBX: 2288-578, 601-7745 Cel.: 0992737500 / 0984780671
e.mail: nmontoya@uba-lab.com
nmontoya@mail.com
Guayaquil-ECUADOR

Figura 45. Resultado de análisis del Laboratorio UBA



Figura 46. Entrega preliminar de resultados y acta.

