

Síntesis y evaluación de la actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata obtenidas con extractos de hibiscus sabdariffa var. Colima

Synthesis and Antibacterial Activity Evaluation of Silver Nanoparticles Obtained with Hibiscus Sabdariffa Var. Colima Extracts

Carlos Arnulfo Velázquez Carriles ¹

Jorge Manuel Silva Jara. ²



DOI: <https://doi.org/10.26495/17jkc212>

Resumen

En la actualidad, las nanopartículas se han utilizado para eliminar patógenos en los alimentos, por lo que sus métodos de síntesis deben ser económicos y amigables con el medio ambiente. El objetivo de este estudio consistió en obtener nanopartículas de plata de una forma amigable con el medio ambiente. Para ello, se utilizó la metodología de la síntesis verde de nanopartículas con extractos de hojas y tallos de *Hibiscus sabdariffa* var. Colima. Las nanopartículas fueron caracterizadas por espectroscopia UV-Vis, FTIR y microscopia SEM. Además, se evaluaron la actividad antimicrobiana contra los patógenos *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella Enteritidis*, actividad antioxidante por captación de radicales DPPH, ABTS y FRAP, así como la actividad citotóxica con *Artemia salina*, y finalmente, la inhibición de formación de biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*. Se encontró que las nanopartículas presentaron dos morfologías, cuasi-esféricas y nanoalambres, mientras que la caracterización FTIR reveló el poder reductor del extracto acuoso atribuido principalmente a los grupos -OH de o-hidroxiacetona y COO- de la pectina presente en los tallos de jamaica. A su vez, este material mostró una excelente actividad de captación de radicales DPPH, ABTS y FRAP, encontrando valores de reducción de alrededor del 90%. El porcentaje de inhibición de los patógenos por microdilución resultó ser superior al 90%, al igual que la inhibición del biofilm de *P. aeruginosa*. Finalmente, el bioensayo con *Artemia salina*, demostró que las nanopartículas no exhibieron toxicidad. Los resultados obtenidos en este estudio permiten visualizar metodologías distintas para obtener nanopartículas con actividad antimicrobiana que no representen un riesgo para su consumo ni para el medio ambiente, con lo que se puede combatir de forma segura a los patógenos alimentarios.

Palabras clave:

Actividad antibiopelícula, actividad antimicrobiana, *Hibiscus sabdariffa*, nanopartículas de plata, patógenos alimentarios.

Abstract

Nowadays, nanoparticles have been used to eliminate food pathogens, so synthesis methods should be more economical and eco-friendlier. The objective of this study was to obtain silver nanoparticles in an eco-friendly manner. Green nanoparticle synthesis methodology was used with *Hibiscus sabdariffa* var Colima leaves and steams to achieve it. Nanoparticles were characterized with UV-Vis, FTIR spectroscopy, and SEM microscopy. Also, antimicrobial activity against foodborne pathogens *Escherichia coli* O157:H7,

¹Universidad de Guadalajara, Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, México, arnulfo.velazquez@academicos.udg.mx

²Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México, jorge.silva@academicos.udg.mx

Staphylococcus aureus, and *Salmonella Enteritidis*, free radicals DPPH, ABTS and FRAP antioxidant activity, cytotoxic activity with *Artemia salina*, and biofilm inhibition of *Pseudomonas aeruginosa*, were evaluated. It was found that nanoparticles exhibited two morphologies: quasi-spherical and nanowires. At the same time, FTIR characterization revealed the reducing power of the aqueous extract attributed mainly to -OH of o-hydroxyacetone groups and COO- groups of pectin present in roselle stems. This material also showed excellent DPPH, ABTS, and FRAP radical scavenging activity, finding reduction values of around 90%. Pathogen growth inhibition in the microdilution test was above 90%; the same values were found for *P. aeruginosa* biofilm inhibition. Finally, the bioassay with *Artemia salina* demonstrated that they did not have toxicity. These results allow us to visualize that different synthesis methodologies to obtain nanoparticles with antimicrobial activity do not present harm to their consumption or environment, which can help combat foodborne pathogens safely.

Keywords:

Antibiofilm activity, antimicrobial activity, foodborne pathogens, Hibiscus sabdariffa, silver nanoparticles.

1. INTRODUCCIÓN

Las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETAs) representan un problema de salud pública significativo a nivel mundial. Estas enfermedades son causadas por el consumo de alimentos o agua contaminados con agentes patógenos o sustancias tóxicas producidas por microorganismos. En la Región de las Américas, se estima que anualmente 77 millones de personas se enferman debido a las ETAs, y más de 9,000 mueren. Los niños menores de 5 años son los más afectados, representando una proporción significativa de estas cifras (OMS, 2015).

Los síntomas más comunes de las ETAs incluyen malestar estomacal, cólicos, náuseas, vómitos, diarrea y fiebre, que pueden variar en duración e intensidad. Las bacterias patógenas frecuentemente asociadas con las ETAs incluyen *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* patógena, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Shigella* spp., *Vibrio* spp. y *Yersinia enterocolitica*. Estos microorganismos pueden encontrarse en una variedad de alimentos, como carnes rojas, pescados, mariscos, productos lácteos, carne de aves, frutas y hortalizas (CDC, 2021; OMS, 2021).

Entre las diversas tecnologías empleadas para erradicar los patógenos en los alimentos se encuentran los tratamientos térmicos, los tratamientos químicos, el procesamiento a altas presiones y las atmósferas modificadas, así como el uso de desinfectantes químicos como el peróxido de hidrógeno, el cloro y compuestos fenólicos (Sánchez-Maldonado et al., 2018). No obstante, estos métodos pueden tener efectos negativos, como alterar las características sensoriales y nutricionales de los alimentos, así como presentar riesgos derivados de la ingestión de residuos tóxicos de algunos desinfectantes. Además, ciertas técnicas, como el procesamiento a altas presiones y las atmósferas modificadas, pueden resultar costosas y complicadas de aplicar a gran escala en la industria alimentaria (Hofmann y Jones, 2021). Esto limita la practicidad de algunas de estas tecnologías en un sector que busca soluciones que sean efectivas y económicamente viables para asegurar la inocuidad de los alimentos.

La síntesis verde de nanopartículas metálicas, es considerada una tecnología no convencional que utiliza extractos de plantas, hongos y bacterias. Además, ha sido objeto de estudio en los últimos años, obteniendo nanopartículas con tamaños y morfologías estables. Debido a la composición de los extractos, éstos pueden funcionar como agentes reductores y estabilizantes, además de que la síntesis verde es un método simple, económico y amigable con el medio ambiente (Jonapá-Hernández et al., 2020). Dentro de las nanopartículas metálicas más usadas se encuentran las de plata debido a su actividad óptica y antimicrobiana relacionadas con la relación volumen-área superficial (Din y Rehan, 2017).

La síntesis tradicional de nanopartículas utiliza solventes y tensoactivos que pueden ser un peligro al medio ambiente, mientras que la síntesis verde hace uso de la bioproducción a través de la reducción de los metales con extractos ricos en compuestos bioactivos (Gómez-Garzón 2018).

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), es un arbusto rico en compuestos fenólicos y antocianinas (Janneth 2020; Cid-Ortega y Guerrero-Beltrán, 2012), y se ha reportado actividad antimicrobiana de sus extractos contra patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Escherichia coli*, *Clostridium sporogenes*, entre otros (Olaleye, 2007).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana, antioxidante y antibiofilm de nanopartículas de plata sintetizadas utilizando extractos de las partes aéreas de la planta de jamaica variedad Colima (*Hibiscus sabdariffa*). Las nanopartículas fueron caracterizadas por espectroscopia FT-IR y UV-Vis, y microscopia electrónica de barrido (SEM). Además, se evaluó la actividad antioxidante por inhibición de los radicales ABTS, DPPH y FRAP, así como la actividad antimicrobiana contra los patógenos alimentarios *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella* Enteritidis, y la inhibición de formación de biopelícula de *Pseudomonas aeruginosa*. Finalmente, se determinó citotoxicidad de las nanopartículas en modelo *Artemia salina*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron hojas y tallos de *Hibiscus sabdariffa* de viveros locales de la Zona Metropolitana de Guadalajara, Jalisco, México. Las partes aéreas se lavaron y desinfectaron en una solución de 2 mg/mL de hipoclorito de sodio durante 10 min por inmersión y en seguida, se enjuagaron con agua destilada, y se secaron en un horno de convección forzada a 40°C hasta alcanzar peso constante. Posteriormente, las hojas fueron trituradas para obtener un polvo fino (~1 mm). Para la obtención del extracto se preparó una solución 1:10 (m/v) en agua destilada y se llevó a 100°C por 5 min, después, se filtró con papel Whatman N°1 y el extracto se mantuvo en congelación a -20°C y protegido de la luz hasta su uso.

La síntesis verde de nanopartículas se llevó a cabo siguiendo la metodología reportada por Azizi et al. (2017). Se preparó una solución 3 mM de AgNO₃ y se añadieron 15 mL de extracto a temperatura ambiente en agitación constante durante 24 h en oscuridad. Se tomaron alícuotas y se midieron en un espectrofotómetro UV-Vis (NanoDrop 2000, Thermo Scientific) para determinar el plasmón superficial característico. En seguida, se realizaron lavados con agua destilada centrifugando a 6000 rpm durante 30 min (2x), y se secaron en horno de convección a 80°C durante 8 h.

El espectro FT-IR se obtuvo en un espectrofotómetro Cary 630 (Agilent Technologies) en un intervalo de número de onda de 4000 – 400 cm⁻¹, y las micrografías se tomaron en un microscopio FE-SEM (MIRA 3 LMU, Tescan) con voltaje de aceleración de 10 kV.

La actividad antimicrobiana de las nanopartículas se evaluó contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* patógena y *Salmonella* Enteritidis por microdilución en pozo. Las cepas fueron sembradas en caldo soya tripticaseína (CST) durante 24 h a 37°C, y posteriormente se ajustó la concentración a 1x10⁵ cel/mL por densidad óptica a 600 nm y diluciones seriadas. En una placa microtituladora de 96 pozos se colocaron 160 µL de CST, 20 µL de las cepas, y 20 µL de nanopartículas en concentración de 20, 50 y 80 µg/mL. Como control negativo se utilizó buffer fosfato salino. Las placas se incubaron a 37°C durante 24 h, y posteriormente se midió la absorbancia a 595 nm en un lector de placas iMark (Bio-Rad). El porcentaje de inhibición se determinó con la ecuación 1 (Reyes-Becerril et al., 2020).

$$\text{Porcentaje de inhibición (\%)} = \frac{OD_{\text{control}} - OD_{\text{muestra}}}{OD_{\text{control}}} * 100 \quad (1)$$

donde OD es la densidad óptica medida a 595 nm.

La inhibición de formación de biopelícula de *Pseudomonas aeruginosa* se realizó siguiendo la metodología descrita por O'Toole (2011), en las mismas concentraciones de nanopartículas utilizadas previamente. La actividad antioxidante fue evaluada por tres métodos colorimétricos: ABTS (Brand-Williams et al., 1995), DPPH (Li et al., 2008) y FRAP (Benzie y Strain, 1996), utilizando ácido ascórbico como referencia. Finalmente, se determinó el efecto citotóxico de las nanopartículas en modelo *Artemia salina* de acuerdo con lo descrito por Casas-Junco et al. (2019) y Romero-García et al. (2023).

Los resultados se expresan como la media \pm SD (n=6). Se realizó un ANOVA con $p < 0.05$ utilizando el paquete estadístico StatGraphics Centurion XIX.

3. RESULTADOS

En la Figura 1 se muestran los resultados de la caracterización de las nanopartículas de plata. La Figura 1a muestra el plasmón característico de las nanopartículas de plata alrededor de 400 nm de longitud de onda. Por otro lado, en el espectro FT-IR (Figura 1b) se observan contribuciones del extracto alrededor de 3273 cm^{-1} de grupos hidroxilo, sugiriendo la presencia de antocianinas (espectro naranja). El espectro de las nanopartículas de plata (espectro azul), presentan una reducción significativa en estas bandas, sugiriendo la reducción y formación de Ag^0 por las bandas metálicas cerca de 1000 cm^{-1} . En las micrografías de la Figura 1c se observa la morfología característica de nanopartículas esféricas con un tamaño promedio de 100 nm, así como nano-alambres.

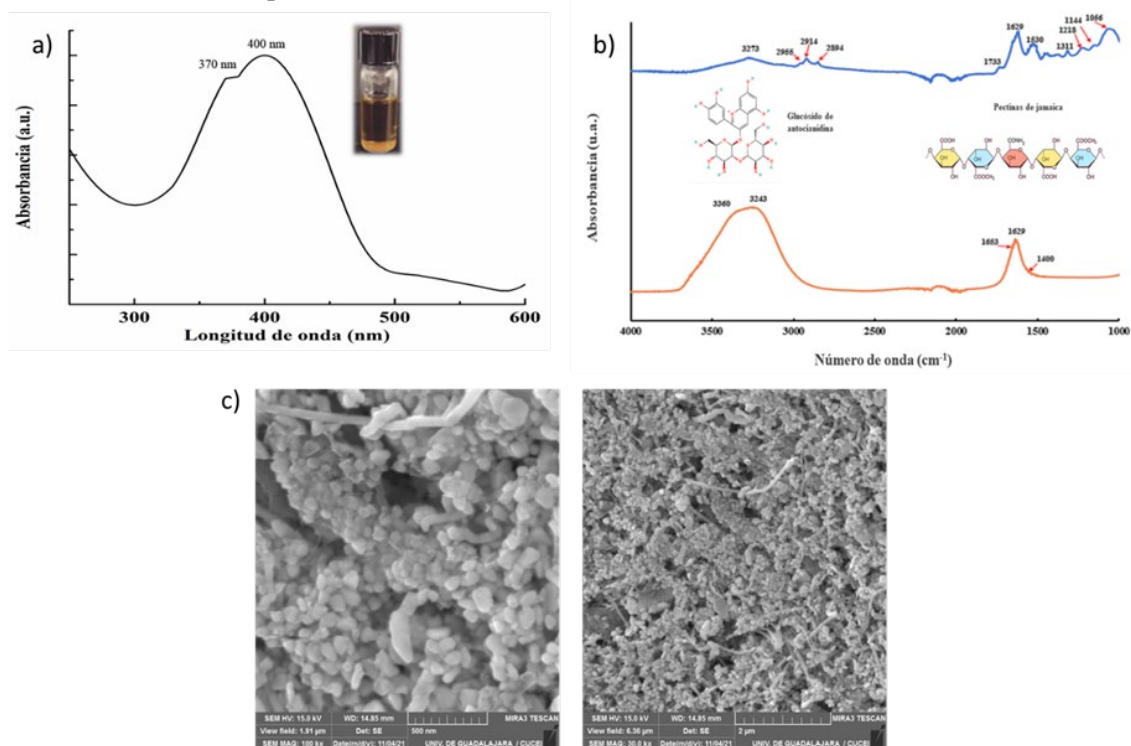


Figura 1. Caracterización de nanopartículas de plata. a) Plasmón superficial, b) Espectro FT-IR y, c) Microscopía SEM. Fuente: elaboración propia.

Con respecto de la actividad biológica de las nanopartículas, en la Figura 2 se muestran los resultados de la inhibición de *Salmonella* Enteritidis, *E. coli* y *S. aureus*. Se lograron obtener inhibiciones superiores al 90% para las tres concentraciones en las tres cepas, comprobando la efectividad de las nanopartículas contra patógenos alimentarios.

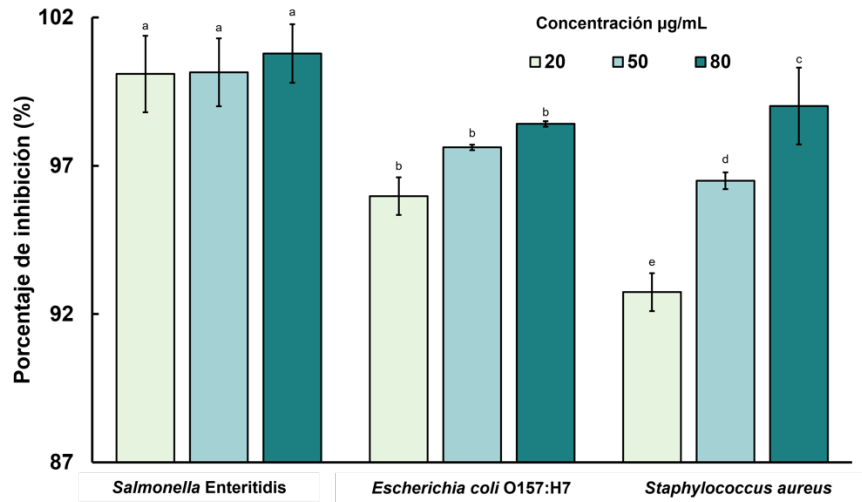


Figura 2. Actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata. Fuente: elaboración propia.

Además del efecto antimicrobiano, se evaluó la actividad antifilmadora de biopelícula de *P. aeruginosa*, encontrando un efecto dependiente de la concentración en la inhibición ($p < 0.05$) (Figura 3).

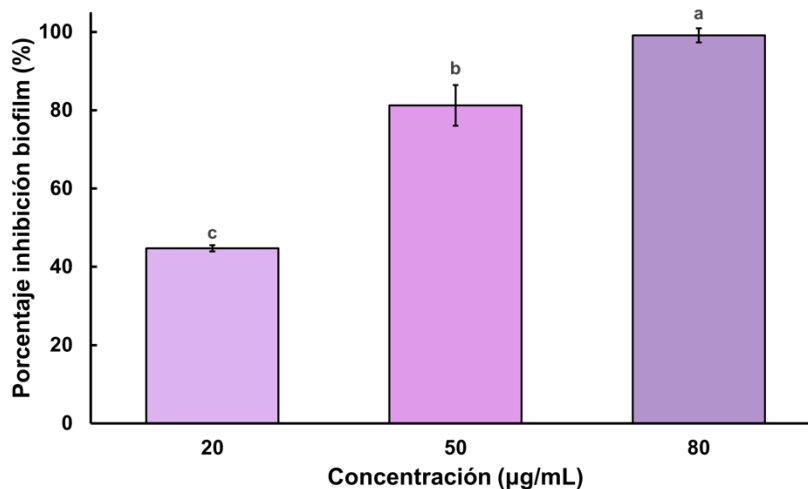


Figura 3. Actividad antifilmadora de biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*. Fuente: elaboración propia.

La actividad antioxidante de las nanopartículas de plata se muestra en la Figura 4. La inhibición del radical ABTS (Figura 4a), exhibe actividad significativamente mayor que el ácido ascórbico de referencia ($p < 0.05$), así como para concentraciones superiores a 150 µg/mL de nanopartículas de plata

con el radical DPPH (Figura 4b). En la figura 4c se observa una dependencia de la concentración para la inhibición del radical FRAP. En todos los casos, las nanopartículas de plata obtenidas por síntesis verde mostraron mayor actividad antioxidante que moléculas utilizadas de forma convencional para esta actividad.

Finalmente, las nanopartículas fueron evaluadas en un modelo *Artemia salina* para determinar efecto citotóxico. Se encontró que las nanopartículas fueron no tóxicas al evaluar al microscopio los microcrustáceos (Figura 5) y con una tasa de mortalidad del 0%. Los nauplios de *Artemias* se mantuvieron en contacto con las nanopartículas durante 24 y 48 h, sin presentar cambios en el microcrustáceo respecto a la morfología y comportamiento.

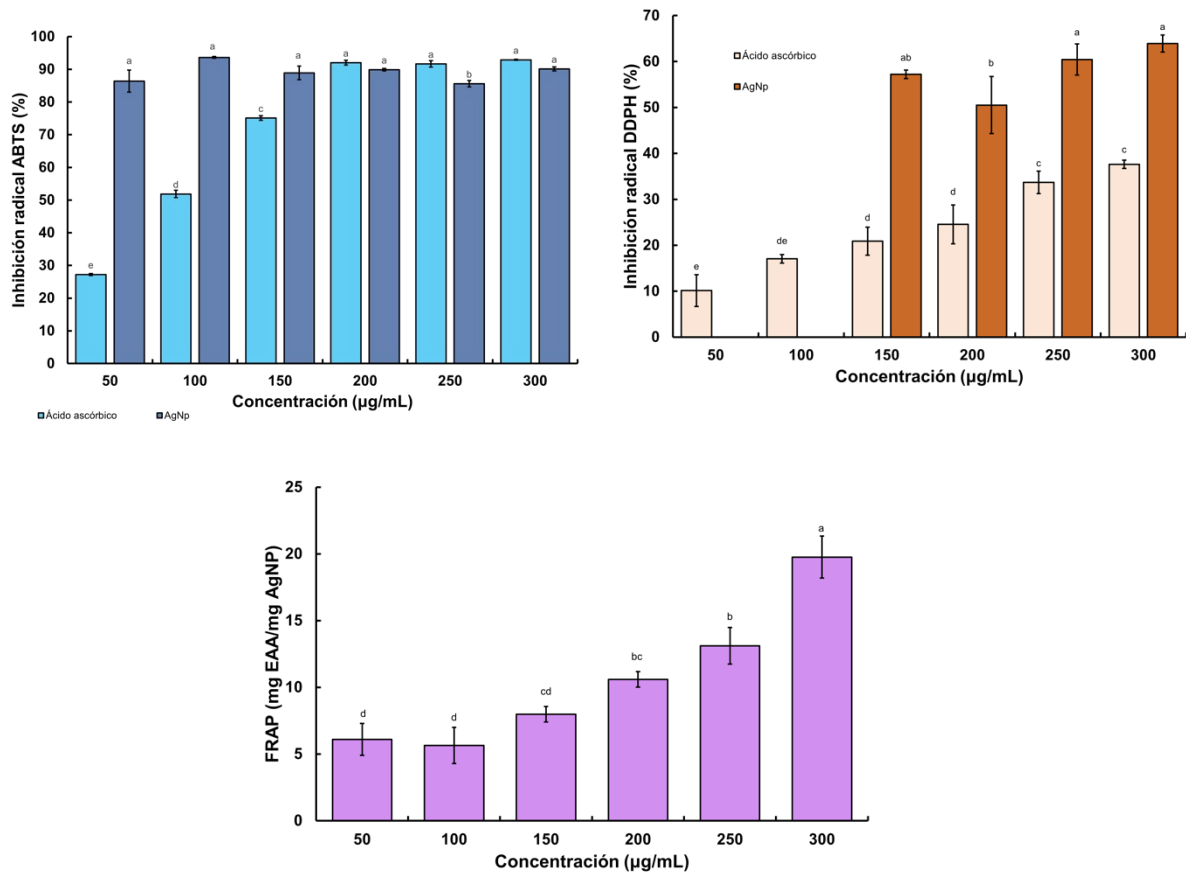


Figura 4. Actividad antioxidante de nanopartículas de plata. a) ABTS, b) DPPH y, c) FRAP. Fuente: elaboración propia.

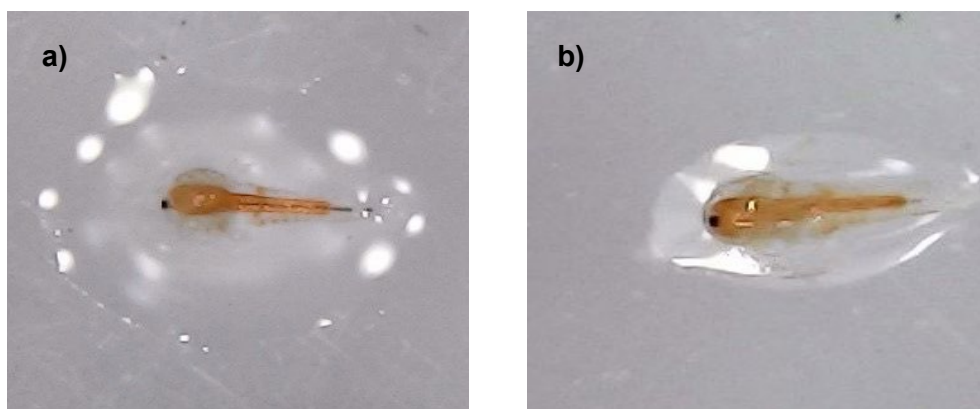


Figura 5. *Artemia salina* en contacto con nanopartículas de plata. a) 24 h y, b) 48 h. Fuente: elaboración propia.

4. DISCUSIÓN

La síntesis verde de nanopartículas de plata ha sido explorada con diversos extractos de plantas, donde en un espectro UV-Vis, se ubica el plasmón superficial en longitudes de onda entre 400 y 450 nm, lo que comprueba la formación de las nanopartículas como ha sido reportado anteriormente (Ramasamy et al., 2012; Anandalakshmi et al., 2016). Por otro lado, el uso de extractos de *Coriaria ruscifolia* L. muestra señales en el espectro FT-IR asociadas con compuestos fenólicos como -OH quelatado y o-hidroxiacetona característicos de las antocianinas (Barragán et al., 2018), así como señales hacia 1653, 1629 y 1400 cm^{-1} se pueden relacionar con grupos funcionales COO- de residuos de pectinas (Balachandran et al., 2015), similares a los encontrados en los espectros de este estudio. La síntesis verde produce tamaños y morfologías estables por la variedad de los compuestos bioactivos que contienen los extractos de plantas, como *Euphorbia hirta* L. (Elumalai et al., 2010), *Elettaria cardamom* (GnanaJobitha et al., 2012) y *Coriandum sativum* (Nazeruddin et al., 2014). En las micrografías de este estudio se encontró una distribución uniforme de tamaños y formas, lo que sugiere que el extracto de partes aéreas de *Hibiscus sabdarriifa* var. Colima tiene la capacidad para reducir y estabilizar nanopartículas de plata.

La plata ha sido estudiada a lo largo de los años por su capacidad para eliminar microorganismos a través de distintos mecanismos como el daño a la membrana y modificación de su permeabilidad, disminuyendo la actividad enzimática. Se ha demostrado que la integridad de la membrana de *E. coli* es dependiente de la concentración de nanopartículas de plata, donde concentraciones altas causa daño severo (Li et al., 2010). A su vez, otras bacterias grampositivas son muy sensibles a las nanopartículas de plata, como *Klebsiella pneumoniae* y *S. aureus* (Huawei et al., 2017). En otros estudios se ha logrado obtener inhibición del crecimiento de patógenos como los alcanzados en este estudio (Aguilar-Ávila et al., 2024). El biofilm bacteriano es un mecanismo de defensa que algunas bacterias generan para protegerse de condiciones adversas, y está compuesto principalmente por polisacáridos. El biofilm de *P. aeruginosa* ha sido inhibido en distintas concentraciones de nanopartículas de plata hasta en un 90% en concentraciones altas, sugiriendo modificación en el sistema del *Quorum Sensing* de la bacteria (Hussain et al., 2019), así como fue demostrado al utilizar las nanopartículas obtenidas por síntesis verde.

La actividad antioxidante que exhiben las nanopartículas de plata ha sido reportada con extractos como *Clerodendrum phlomidis* (Sriranjani et al., 2016) y *Elephantopus scaber* (Kharat y Mendhulkar, 2016). Las plantas y sus extractos poseen actividad antioxidante asociada a los fitoquímicos que incluyen fenoles, flavonoides, taninos, terpenoides, entre otros. Estos compuestos están relacionados con el

balance de equilibrio redox, lo cual permite proteger a los organismos contra la producción excesiva de radicales libres asociados con el estrés oxidativo (Gijon et al., 2020). El análisis FTIR, así como la evaluación de actividad antioxidante de las nanopartículas de plata obtenidas a partir de reducción con extractos de *H. sabdarriffa*, muestran la presencia de grupos funcionales asociados con dichos compuestos, lo que favorece un potencial antioxidante que puede ser incorporado en formulaciones alimenticias o bien, en la tecnología de barreras para garantizar la inocuidad de los alimentos.

En muchos estudios se ha encontrado que las nanopartículas de plata pueden presentar efecto citotóxico debido a la producción de especies reactivas de oxígeno (Ferreira et al., 2020). Sin embargo, cuando se obtienen por síntesis verde se ha observado que este efecto disminuye, posiblemente por la actividad antioxidante que exhiben. En distintas líneas celulares se ha evaluado el efecto citotóxico de nanopartículas de plata, encontrando que no representan un peligro al contacto (Ferreira et al., 2020; Gupta et al., 2012), como quedó demostrado al no dañar ni la estructura ni favorecer mortalidad en los microcrustáceos de *Artemia salina* utilizados en este estudio.

5. CONCLUSIONES

Las nanopartículas de plata son utilizadas en productos para el consumo debido a sus propiedades biológicas, ópticas, magnéticas, entre otras. Se lograron obtener nanopartículas de plata por síntesis verde con extracto de planta de jamaica var. Colima, con morfología cuasi-esférica homogénea y tamaños de alrededor de 100 nm. Las nanopartículas exhibieron actividad antimicrobiana contra patógenos grampositivos y gramnegativos en dosis de 20 µg/mL de hasta el 90%, así como evitar la formación de biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* en un comportamiento dependiente de la concentración de nanopartículas. Estas nanopartículas mostraron tener actividad antioxidante por la inhibición de los radicales ABTS, DPPH y FRAP, así como no ser tóxicas en las dosis evaluadas en el modelo *Artemia salina*.

Los hallazgos encontrados en este estudio permiten aprovechar los desechos agroindustriales de los cálices de jamaica var. Colima (una planta muy apreciada en la gastronomía mexicana), para producir nanopartículas que podrían ser incorporadas en sistemas alimenticios o bien, incorporarse en tecnologías de barreras para garantizar la inocuidad de los alimentos. Además, estos nanosistemas contribuyen de manera significativa a la economía circular y los ODS de la Agenda 2030.

Asimismo, al utilizar extractos vegetales en conjunto con la síntesis de nanopartículas, se minimiza el uso de solventes que podrían contaminar el medio ambiente, de forma que se puede combatir a los microorganismos patógenos sin presentar un peligro ambiental o para el ser humano.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Ingeniero Francisco Gilberto Rojo Romo por su apoyo en la ejecución de los experimentos.

REFERENCIAS

Aguilar-Ávila, D. S., Reyes-Becerril, M., Velázquez-Carriles, C. A., Hinojosa-Ventura, G., Macías-Rodríguez, M. E., Angulo, C., y Silva-Jara, J. M. (2024). Biogenic Ag₂O nanoparticles with “Hoja Santa”(Piper auritum) extract: characterization and biological capabilities. *BioMetals*, 1-12.

- Anandalakshmi, K., Venugobal, J., y Ramasamy, V. (2016). Characterization of silver nanoparticles by green synthesis method using *Pedaliium murex* leaf extract and their antibacterial activity. *Applied nanoscience*, 6(3), 399-408. <https://doi.org/10.1007/s13204-015-0449-z>
- Azizi, M., Sedaghat, S., Tahvildari, K., Derakhshi, P., y Ghaemi, A. (2017). Synthesis of silver nanoparticles using *Peganum harmala* extract as a green route. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 10(4), 420-427. <https://doi.org/10.1080/17518253.2017.1395081>.
- Balachandran, Y.L., Panarin, A.Y., Khodasevich, I.A., Terekhov, S.N., Gutleb, A.C., y Girijaa, S. (2015). Environmentally friendly preparation of gold and silver nanoparticles for SERS applications using biopolymer pectin. *Journal of Applied Spectroscopy*, 81(6), 962-968. <https://doi.org/10.1007/s10812-015-0036-9>.
- Barragán Condori, M., Aro Aro, J.M., Huamaní Meléndez, V.J., y Cartagena Cutipa, R. (2018). Antocianinas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del mio-mio (*Coriaria ruscifolia* L.). *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 20(4), 419-428. <http://dx.doi.org/10.18271/ria.2018.419>.
- Benzie I.F. y Strain J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239:70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E. y Berset C.L.W.T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28:25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Casas-Junco P.P., Solís-Pacheco J.R., Ragazzo-Sánchez J.A., Aguilar-Uscanga B.R., Bautista-Rosales P.U. y Calderón-Santoyo M. (2019). Cold plasma treatment as an alternative for ochratoxin a detoxification and inhibition of mycotoxigenic fungi in roasted coffee. *Toxins (Basel)*. 11(6):337. <https://doi.org/10.3390/toxins11060337>.
- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (2021). Microbios y enfermedades transmitidas por los alimentos. Recuperado el 15 de octubre de 2023 de <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/foodborne-germs-es.html>.
- Cid-Ortega, S., y Guerrero-Beltrán, J.A. (2012). Propiedades funcionales de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 6(2), 47-63.
- Din, M.I. y Rehan, R. (2017). Synthesis, characterization, and applications of copper nanoparticles. *Analytical Letters*, 50(1), 50-62. <https://doi.org/10.1080/00032719.2016.1172081>.
- Elumalai E.K., Prasad T.N.V.K.V., Kambala V., Nagajyothi P.C. y David E. (2010). Green synthesis of silver nanoparticle using *Euphorbia hirta* L and their antifungal activities. *Scholars Research Library*, 2(6):76-81.

- Ferreira L.A.B., dos Reis S.B., do Nascimento da Silva E., Cadore S., da Silva Bernardes J., Durán N. y de Jesus M.B. (2020). Thiol-antioxidants interfere with assessing silver nanoparticle cytotoxicity. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 24:102130. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.102130>.
- Gijon D., Reyes-Becerril M., Armenta J., Junco E. y Angulo C. (2020). Uso de hierbas aromáticas en la producción animal. *Recursos Naturales y Sociedad*, 6(2):23-29.
- GnanaJobitha G., Annadurai G. y Kannan C. (2012). Green synthesis of silver nanoparticle using *Elettaria cardamomom* and assessment of its antimicrobial activity. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 3(3):323-330.
- Gómez-Garzón, M. (2018). Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde. *Revista Repertorio de Medicina y Cirugía*, 2-3. <https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.v27.n2.2018.191>.
- Gupta Mukherjee S., O'Claonadh N., Casey A. y Chambers G. (2012). Comparative *in vitro* cytotoxicity study of silver nanoparticle on two mammalian cell lines. *Toxicology in Vitro*, 26(2):238-251. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2011.12.004>.
- Hoffmann, V., y Jones, K. (2021). Improving food safety on the farm: Experimental evidence from Kenya on incentives and subsidies for technology adoption. *World Development*, 143, 105406. <https://doi.org/10.1016/j.worlddev.2021.105406>.
- Huawei H., Gang T., Wang Y., Cai R. , Pengchao G., Chen L., Zuo H., Ping Z. y Qingyou X. (2017). *In situ* green synthesis and characterization of sericin-silver nanoparticle composite with effective antibacterial activity and good biocompatibility. *Materials Science and Engineering C*, 80(2017):509-516. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.06.015>.
- Hussain Af., Alajmi M.F., Khan M.A., Pervez S.A., Ahmed F., Amir S., Husain F.M., Khan M.S., Shaik G.M., Hassan I., Khan R.A. y Rehman Md. T. (2019). Biosynthesized silver nanoparticle (AgNP) from *Pandanus odorifer* leaf extract exhibits anti-metastasis and anti-biofilm potentials. *Frontiers in Microbiology*, 10:1-8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00008>.
- Janneth, R.C.K. (2020). Aplicación de abonos orgánicos en la producción del cultivo flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Recinto Higuerón Santa Lucía. Universidad Agraria del Ecuador, 26-30.
- Jonapá-Hernández, F., Ruiz-Lau, N., Ruiz-Valdivieso, V.M. y Gutiérrez-Miceli, F.A. (2020). Síntesis de fitonanopartículas de cobre, una opción más amigable con el medio ambiente. *BioTecnología*, 24(2), 58-68.
- Kharat S.N. y Mendhulkar V.D. (2016). Synthesis, characterization and studies on antioxidant activity of silver nanoparticles using *Elephantopus scaber* leaf extract. *Materials Science and Engineering: C*, 62:719-724. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.02.024>.

- Li H., Wang X., Li P., Li Y. y Wang H. (2008). Comparative study of antioxidant activit of grape (*Vitis vinifera*) seed powder assessed by different methods. Journal of Food and Drug Analysis, 16:67-73. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2321>.
- Li W.R., Xie X.B., Shi Q.S., Zeng H.Y., OU-Yang Y.S. y Chen Y.B. (2010). Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. Applied Microbioly and Biotechnoly, 85:1115–1122. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2159-5>.
- Nazeruddin G.M., Prasad N.R., Prasad S.R., Shaikh Y.I., Waghmare S.R. y Adhyapak P. (2014). *Coriandrum sativum* seed extract assisted in situ green synthesis of silver nanoparticle and its anti-microbial activity, Industrial Crops and Products, 60:212-216. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.040>.
- O’Toole G. (2011). Microtiter dish biofilm formation assay. Journal of Visualized Experiments. 47:2437. <https://doi.org/10.3791/2437>.
- Olaleye, M.T. (2007). Cytotoxicity and antibacterial activity of methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. Journal of Medicinal Plants Research, 1(1), 9-13.
- Organización Mundial de la Salud. (2015). Las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) en la Región de las Américas de la OMS. Recuperado el 20 de octubre del 2024. <https://iris.who.int/handle/10665/327649>.
- Organización Mundial de la Salud (2021). Resistencia a los antimicrobianos. Recuperado el 20 de octubre del 2024 de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
- Ramasamy, P., Seo, D.M., Kim, S.H., y Kim, J. (2012). Effects of TiO₂ shells on optical and thermal properties of silver nanowires. Journal of Materials Chemistry, 22(23), 11651-11657. <https://doi.org/10.1039/C2JM00010E>.
- Romero-García, D. M., Velázquez-Carriles, C. A., Gomez, C., Velázquez-Juárez, G., y Silva-Jara, J. M. (2023). Tannic acid-layered hydroxide salt hybrid: assessment of antibiofilm formation and foodborne pathogen growth inhibition. Journal of Food Science and Technology, 60(10), 2659-2669. 10.1007/s13197-023-05790-4.
- Reyes-Becerril, M., Ginera, P., Silva-Jara, J., Macias, A., Velazquez-Carriles, C., Alcaraz-Meléndez, L., y Angulo, C. (2020). Assessment of chemical, biological and immunological properties of “Damiana de California” *Turnera diffusa* Willd extracts in Longfin yellowtail (*Seriola rivoliana*) leukocytes. Fish & shellfish immunology, 100, 418-426. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.03.045>.
- Sánchez-Maldonado, A. F., Lee, A., y Farber, J. M. (2018). Methods for the control of foodborne pathogens in low-moisture foods. Annual Review of Food Science and Technology, 9(1), 177-208. 10.1146/annurev-food-030117-012304.

Sriranjani R., Srinithya B., Vellingiri V., Brindha P., Savarimuthu P.A., Sivasubramanian A. y Muthuraman M.S. (2016). Silver nanoparticle synthesis using *Clerodendrum phlomidis* leaf extract and preliminary investigation of its antioxidant and anticancer activities, Journal of Molecular Liquids, 220:926-930. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.05.042>.