

## Comportamiento antimicrobiano de nanopartículas de plata sintetizadas electroquímicamente.

### *Antimicrobial Performance of Electrochemically Synthesized Silver Nanoparticles.*

Mario Víctor Vázquez\*  
Lucas Blandón-Naranjo\*\*



UNIVERSIDAD  
DE ANTIOQUIA

Recibido: 10 de abril, 2014

Aceptado: 18 de junio, 2014

Tipo de artículo: Resultado de Investigación

### Resumen

La palabra nanotecnología y todo lo relacionado con este ámbito se hacen cada vez más habituales en nuestro vocabulario cotidiano. Cada día se reportan numerosos desarrollos científicos que permiten aprovechar las cualidades especiales que adquieren distintos materiales cuando son intervenidos estructuralmente en dimensiones menores a los 100 nm. Uno de los campos más promisorios en esta materia tiene que ver con las ciencias de la salud, en especial con el uso de metales como la plata y el cobre, a los cuales históricamente se les reconoce una valiosa condición antimicrobiana, por lo que resultan de interés para la fabricación de dispositivos que puedan usarse en ambientes clínicos. Con relación a la síntesis y caracterización de nanomateriales existen varios métodos de preparación que resultan adecuados, dependiendo de la aplicación posterior de los mismos. Una de estas opciones es proveída por la electroquímica. En esta comunicación se abordan diferentes tópicos que demuestran cómo las técnicas electroquímicas pueden ser utilizadas para la fabricación de materiales nanométricos con actividad antimicrobiana, que podrían ser implementados en aplicaciones clínicas.

**Palabras clave:** nanopartículas de plata, nanomedicina, electroquímica, actividad antimicrobiana.

### Abstract

Nanotechnology and all related with nanometric world are every day, more frequently in our vocabulary. Every day it was reported a lot of scientific developments which allow to take advantage the special qualities that acquire different materials when their dimensions fall below 100 nm. One of promising fields are related with health area, which has been implemented the use of metals such as silver and copper, due to historically, this metals has shown as antimicrobial agents. For this reason, arises an interest for fabrication of devices that can be used in clinic environment. In relation to synthesis and characterization of nanomaterials, it was reported many methods for preparation, which are suitable depending of future application of materials. One of these options could be the electrochemical techniques. In this paper, is shown how electrochemical techniques can be used to manufacture nanomaterials with antimicrobial activity that could be implemented in clinical applications are addressed.

**Keywords:** silver nanoparticles, nanomedicine, electrochemistry, antimicrobial activity

\* Doctor en Ciencias Químicas. Profesor Titular, Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares. Universidad de Antioquia. mariovictorv@gmail.com

\*\* Magíster en Ciencias Químicas. Docente de Cátedra, Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares. Universidad de Antioquia. lucasblann@gmail.com

## Introducción

Dentro de la gran diversidad de aplicaciones actuales de la electroquímica, o de sus principios, se pueden encontrar ejemplos relacionados con el campo de la salud humana. Tal vez los más comunes podrían ser las medidas potenciométricas que permiten evaluar el funcionamiento del corazón (electrocardiograma), del cerebro (electroencefalograma) o de músculos (electromiograma). Existen otros ejemplos relacionados ya no con la medida de un potencial eléctrico, sino con la aplicación de una señal eléctrica para restablecer o contribuir al funcionamiento correcto de un determinado órgano. En este aspecto se puede mencionar el funcionamiento del marcapasos, los desfibriladores, la terapia electroconvulsiva, la cardioversión, entre otras.

En general, se puede visualizar que se trata de señales eléctricas generadas por una distribución particular de iones a lado y lado de las membranas celulares, o modificaciones en esta distribución mediante la aplicación de señales externas. Un caso en que se podría evidenciar la relación entre la electricidad y la química sería el del marcapasos ya mencionado. Aquí se tiene un dispositivo que permite aplicar una señal eléctrica, de baja intensidad, al músculo cardíaco para regular su funcionamiento, para “marcar” su paso. Esta señal eléctrica es generada en una batería, es decir, a partir de reacciones químicas espontáneas.

La relación entre nanotecnología y salud humana podría analizarse desde diversos enfoques, algunos de ellos negativos, como los efectos nocivos que podría generar la presencia en el ambiente de partículas de tan reducido tamaño. Sin embargo, también se pueden encontrar aplicaciones benéficas de nanopartículas metálicas, que van desde el empleo de vestimenta hospitalaria antimicrobiana hasta diseños futuristas conocidos como nanodispositivos, los cuales permitirían abordar distintas terapias aprovechando la posibilidad de actuar de manera localizada en el sitio de interés, por ejemplo, liberando de manera controlada fármacos; y en general, aprovechando las distintas geometrías

que pueden obtenerse a partir del “nanodiseño” para tratar diversas patologías, incluido el cáncer (Dizaj et al., 2014).

## Metales como agentes antibacterianos

El aprovechamiento de algunas propiedades de los metales en la salud humana encuentra aplicaciones que se remontan a pasados históricos, como el empleo de utensilios de plata. La verificada actividad antimicrobiana de este metal, propiedad que es aprovechada actualmente para fabricar cremas que contienen sus sales (algo similar sucede con el cobre), constituye una muestra del actual aprovechamiento que hace la medicina de estos agentes antimicrobianos de uso externo (Guo & Sadler; Lu et al., 1999).

## ¿Qué es una nanopartícula?

En una conferencia impartida en 1959 por uno de los mejores científicos del siglo pasado, el premio Nobel en Física Richard Feynman, se predijo que “había mucho espacio al fondo” (el título original de su conferencia fue “There’s plenty of room at the bottom”), augurando una gran cantidad de nuevos descubrimientos si se pudiera fabricar materiales de dimensiones atómicas o moleculares (Feynman, 1992). Hubo que esperar hasta la década de 1980 para tener verdaderos avances en el área de la nanociencia, pero a partir de ahí la cantidad de producciones científicas en este ámbito creció de manera casi exponencial. Los estudios iniciales en nanopartículas se enfocaron principalmente en las propiedades que derivaban de su gran área superficial y en la posibilidad de confinar allí carga eléctrica, mientras que actualmente estos trabajos se han enfocado en el ensamble controlado de materiales a escala nanométrica para usos en diferentes áreas tecnológicas como la optoelectrónica, sistemas de almacenamiento de energía y de información, catálisis, electrónica, entre otras (Riley, 2002).

La clasificación de los materiales nanométricos es un tema en el que los autores no logran ponerse de acuerdo. Algunos concuerdan en que un material se considera nanométrico cuando por lo menos una de sus dimensiones es inferior a 100 nm. En general, estos materiales se pueden clasificar según el tipo de dimensión (1, 2 ó 3 dimensiones) y su composición. En esta última, se diferencian principalmente tres tipos de materiales: los de carbono y basados en carbono, que incluyen toda la gama de partículas poliméricas, nanotubos de carbono, etc; nanopartículas cerámicas que se obtienen a partir de materiales cerámicos (inorgánicos no metálicos) teniendo temperaturas de fusión y resistencias mecánicas bastante elevadas; y las nanopartículas metálicas, las cuales a su vez se clasifican en dos clases, las de valencia cero y las que se encuentran en forma oxidada (Sellers et al., 2008). Las nanopartículas metálicas tienen aplicaciones en optoelectrónica, sistemas de almacenamiento de energía, catálisis, marcación biológica, fotografía y fabricación de baterías (Jeon et al., 2010; Liu, 2006).

## Metodología

Teniendo en cuenta la información anterior, disponer de nanopartículas metálicas de plata representa una opción de mucho interés de cara a diversas aplicaciones en el ámbito de la medicina. Se deben considerar entonces los distintos caminos mediante los cuales es posible sintetizar estas nanopartículas metálicas.

Existen diversos mecanismos experimentales para obtener los tamaños correspondientes al mundo “nano”, sin embargo, es posible distinguir dos grandes grupos de técnicas: aquellas que permiten obtener la nanopartícula partiendo del material de mayor tamaño (growth down), o bien a partir de un nivel atómico o molecular, realizando una agregación que conduzca a la escala nano (growth up). Dependiendo de las características deseadas en las nanopartículas, algunos métodos resultarán más adecuados que otros. En este punto es donde surge la pregunta si desde la electroquímica es posible

realizar algún aporte a la síntesis de nanopartículas metálicas, de plata en este caso, para aprovechar la actividad antibacteriana de las mismas.

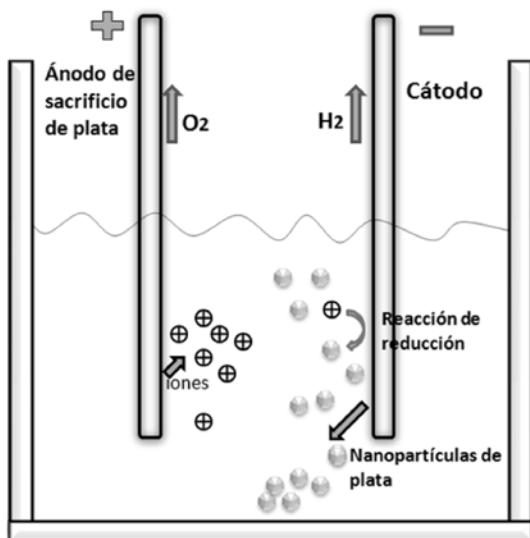
## Características de la síntesis electroquímica

La generación electroquímica de nanopartículas tiene algunas ventajas importantes, fundamentalmente relacionadas con la posibilidad de controlar variables experimentales: potencial aplicado, corriente de electrólisis, material de electrodos, uso de tensioactivos, etc., que modulan la morfología del producto de síntesis. Otra característica favorable es lo simple del equipamiento necesario y el bajo costo del método.

El fundamento de uno de los métodos electroquímicos empleados con éxito para la obtención de nanopartículas de plata, se basa en la aplicación de un campo eléctrico continuo de unos 20 V entre dos electrodos de plata metálica (Starowicz et al., 2006; Blandón et al., 2012; Blandón, 2013) sumergidos en agua deionizada. Esta electrólisis puede ser realizada alternando el signo de los electrodos, es decir, actuando como ánodo y cátodo alternativamente, o manteniéndolo durante toda la síntesis. A raíz de la simpleza del instrumental requerido, este método permite evaluar la síntesis en presencia de distintos tensioactivos. Esta posibilidad es de gran interés en medicina ya que se puede trabajar con este tipo de compuestos orgánicos seleccionando aquellos que hayan demostrado ser biocompatibles, como el caso de la familia de los Pluronic®.

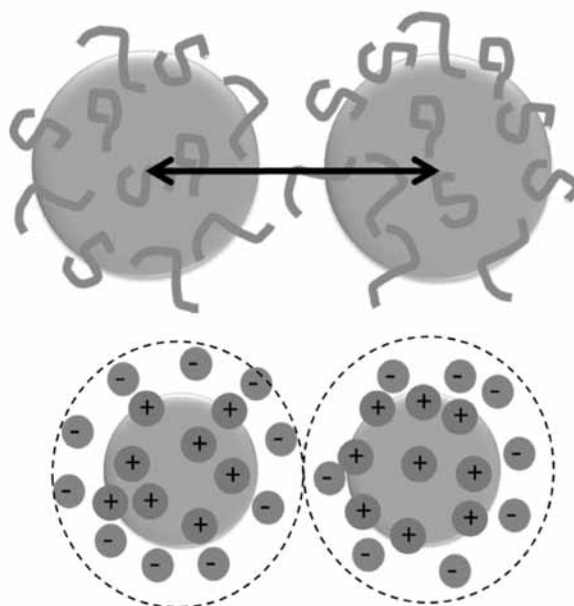
La síntesis electroquímica se puede describir en una serie de etapas que implican la formación del ion  $Ag^+$  a partir de la oxidación del electrodo, la posterior reducción del mismo en el otro electrodo con polaridad diferente, y el paso al medio líquido de las nanopartículas de Ag, favorecido por una constante agitación del medio. En la Figura 1 se muestra un esquema que ilustra las distintas etapas que ocurren durante la síntesis electroquímica. Cuando se aplica una diferencia de potencial

entre los dos electrodos, comienza un proceso de oxidación en el ánodo (cargado positivamente) en el cual se forman iones de plata ( $\text{Ag}^+$ ) que, debido a su carga, se desplazan hacia el polo opuesto cargado negativamente (cátodo), donde se dan los procesos de reducción. Sobre este último, los iones de plata se reducen para formar plata metálica. Dependiendo de las condiciones experimentales, la plata puede quedar adherida a la superficie del electrodo o formar nanopartículas y migrar hacia el seno de la solución.



**Figura 1.** Síntesis electroquímica de nanopartículas de plata  
Fuente: Starowicz et al. (2006)

Realizar la síntesis en presencia de tensioactivos favorece la obtención de nanopartículas de un tamaño homogéneo, gracias a la propiedad de los mismos de interactuar tanto con las nanopartículas como con el medio que los rodea. Gracias a esta interacción, las nanopartículas, que en condiciones normales tenderían a aglomerarse y precipitar, se repelen por factores estéricos o electrostáticos. La repulsión dependerá de las características estructurales de los tensioactivos ya que estos pueden estar cargados (positiva o negativamente) o tener cadenas estructurales largas con las que se logra repulsión por factores estéricos. En la Figura 2 se muestran ambos modelos de estabilidad.

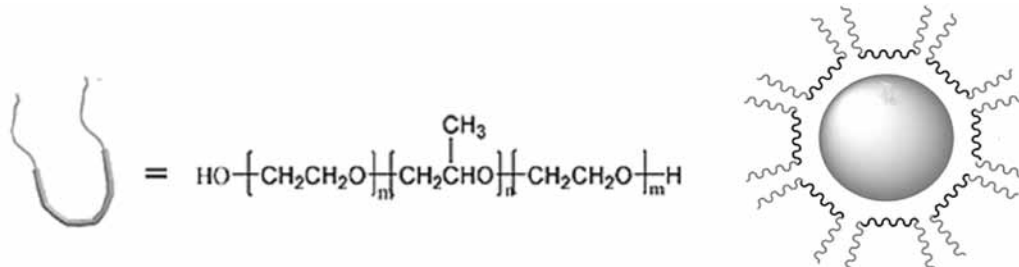


**Figura 2.** Modelos de estabilidad coloidal, Izquierda: estérico, derecha: electrostático  
Fuente: Blandón (2013)

Además de la estabilidad conferida a las nanopartículas, los tensioactivos también tienen la propiedad de modificarlas superficialmente, lo cual abre una nueva gama de posibles usos para estos materiales. Se pueden diseñar estrategias para modificar nanopartículas con tensioactivos que sean biocompatibles, con el fin de fabricar dispositivos médicos (Twu et al., 2008; Bian et al., 2010; Blandón et al., 2012) o con tensioactivos que presenten actividad antimicrobiana, lo que aumenta el efecto bactericida de estos materiales. Los resultados mostrados en este trabajo corresponden a estudios realizados por nosotros, en los cuales se usaron dos polímeros diferentes para estabilizar las AgNPs: Pluronic® F127 y Pluronic® P123. Este tipo de compuestos se conoce como copolímeros en bloque, debido a que están constituidos por un segmento hidrofílico en el centro de su estructura (óxido de propileno) y un segmento hidrofóbico en sus extremos (óxido de etileno). En la Figura 3 se muestra la estructura general para los polímeros usados, así como el modelo que ilustra la forma en la que el surfactante interactúa con la

superficie de las partículas (Abdullin, et al., 2010). Las características de estos polímeros varían principalmente por la relación entre la longitud de las cadenas externas (óxido de etileno) con respecto a la cadena interna (óxido de propileno). Si la relación es alta, el surfactante tiene carácter

principalmente hidrofílico, por lo que tendrá una interacción fuerte con las moléculas de agua. Caso contrario ocurre si la relación es baja. En este caso, el polímero tendrá una mayor afinidad con las zonas no polares del medio en el que esté disuelto.



**Figura 3.** Izquierda: estructura general de los copolímeros tipo Pluronic®.

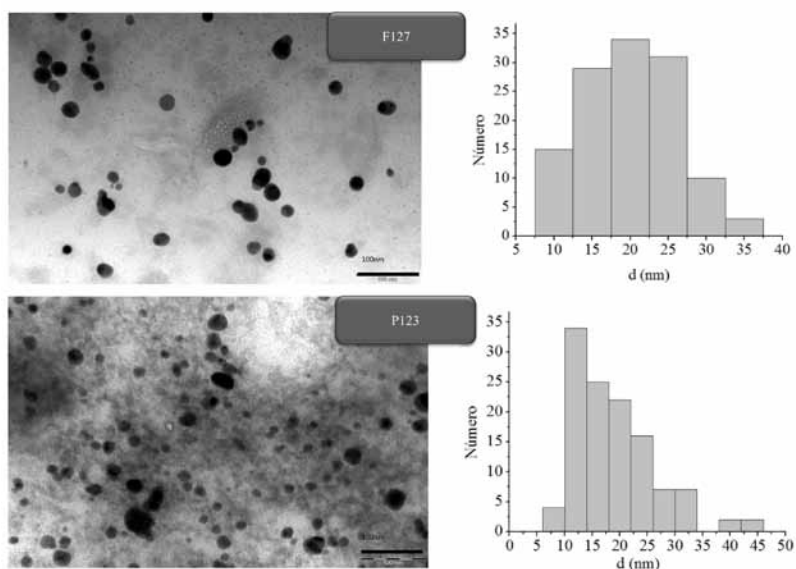
Derecha: modelo de estabilización de AgNPs con Pluronic®

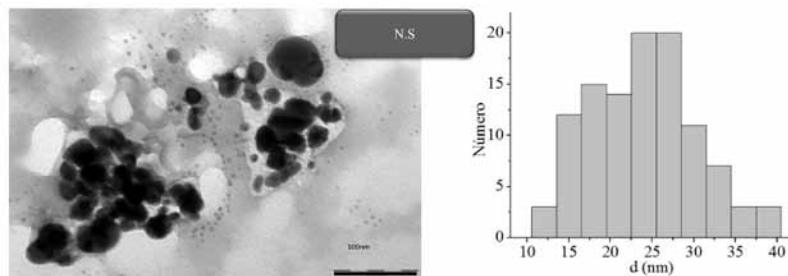
Fuente: Abdullin, et al. (2010)

### Características morfológicas de nanopartículas de plata sintetizadas electroquímicamente

Para caracterizar las nanopartículas se utilizan diversas técnicas instrumentales que permiten verificar la composición (espectroscopía de rayos X), concentración (absorción de radiación UV), y lo distintivo de este tipo de sistemas: su tamaño. Para este último propósito se emplean técnicas basadas en la dispersión de luz dinámica, así como distintos tipos de microscopías como la de

transmisión (TEM), electrónica de barrido (SEM), o de fuerza atómica (AFM). Estas técnicas de microscopía permiten tener una idea directa de la morfología de las nanopartículas. Para el caso de las nanopartículas de plata sintetizadas mediante el método electroquímico, se puede observar lo mostrado en la Figura 4.





**Figura 4.** Imágenes TEM de nanopartículas sintetizadas con dos tensioactivos estéricos de diferente estructura química. Superior: Pluronic® F127, Centro: Pluronic® P123, Inferior: Sin surfactante  
Fuente: Blandón (2013)

Contiguo a cada imagen se encuentra la respectiva distribución de tamaño de partícula, realizada a partir de la medición individual de las partículas observadas. El menor tamaño promedio de partícula se obtiene para el sistema estabilizado con Pluronic® P123, debido probablemente a que tiene un mayor carácter hidrofóbico, lo que podría incrementar la interacción entre el surfactante y la superficie de las nanopartículas. La imagen superior muestra una distribución normal, en la cual el diámetro promedio de partícula es de 20 nm. La imagen TEM obtenida para este sistema muestra partículas bien dispersas y con tamaños de partículas uniformes. Si bien el sistema sin estabilizar (imagen inferior) muestra una distribución de tamaño de partícula aproximadamente normal, el diámetro promedio es de 30 nm (mayor que para los sistemas estabilizados) y además en la imagen se puede ver la formación de aglomerados, los que disminuyen su estabilidad en suspensión y causan que el material se precipite (Blandón, 2013). Con estos precedentes, es de esperar que los sistemas estabilizados sean más eficientes cuando se piensa en aplicaciones que impliquen el almacenamiento del material durante largos periodos de tiempo. Así mismo, la selección del tipo de estabilizante juega un papel primordial, ya que es posible que además de que este le confiera estabilidad coloidal, brinde la posibilidad de modificar superficialmente las nanopartículas, con lo que se podría incluso mejorar la actividad antimicrobiana al hacerlas selectivas a cierto tipo de microorganismos (García, et al., s.f; Burkowska, et al., 2014).

### Comportamiento antibacteriano de nanopartículas de plata sintetizadas electroquímicamente

Como fue mencionado anteriormente, las propiedades antibacterianas de la plata metálica y sus sales tienen un reconocimiento muy antiguo (Kim et al., 2007). Uno de los usos actuales más comunes puede encontrarse en cremas para tratar lesiones por quemaduras, las cuales contienen sulfadiazina de plata. Para el caso de las nanopartículas sintetizadas por vía electroquímica resulta interesante evaluar esa propiedad antibacteriana, debido a que por el método empleado podrían encontrarse aplicaciones particulares, por ejemplo, para las soportadas en sustratos porosos.

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana se emplean distintos tipos de ensayos, como la microdilución en caldo (Abate, 1998), la cual usa bromuro de 4,5-dimetil-(2-il)-2,5-ifenill tetrazolium, compuesto que se torna azul cuando hay presencia de microorganismos, pues estos lo metabolizan y el residuo tiene este color. Además del reactivo, los microorganismos se ponen en contacto con el agente antimicrobiano en diferentes concentraciones con el fin de determinar a partir de qué concentración tiene efectos bactericidas el sustrato.

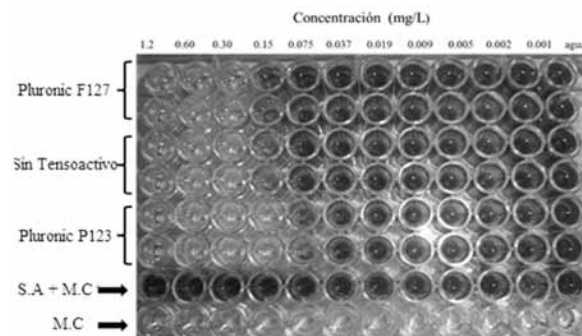
Para evaluar la actividad antimicrobiana de sustratos sólidos (por ejemplo, cuando se tienen nanopartículas de plata inmovilizadas) se puede utilizar un método que

compare un medio de cultivo que se pone en contacto con el sustrato con nanopartículas inmovilizadas, ante otro con el sustrato sin nanopartículas. Luego, se toma un volumen de las soluciones y se adiciona a un medio de cultivo para contar la cantidad de colonias que se forman.

La Figura 4 muestra los resultados del comportamiento de nanopartículas sintetizadas por el método electroquímico cuando se realiza la evaluación antimicrobiana usando el método de dilución en caldo frente al microorganismo *Pseudomonas aeruginosa* (S.A.) (Blandón, et al., 2012). En esta imagen se muestran los resultados para tres sistemas: nanopartículas de plata estabilizadas con Pluronic® F127, con Pluronic® P123, y sin estabilizar. Se puede observar que las nanopartículas sintetizadas en presencia de Pluronic® F127 comienzan a inhibir el crecimiento de microorganismos a partir de una concentración de 0,15 mg/L, que es la misma concentración que se obtiene para el caso en que no se emplearon los polímeros. Por el contrario, las nanopartículas generadas en presencia de Pluronic® P123 inhiben el crecimiento celular a partir de 0,075 mg/L. El análisis de los resultados se puede abordar desde dos perspectivas: en el primer caso, se observa que el surfactante usado para estabilizar AgNPs no modifica sustancialmente la actividad antimicrobiana, lo que es un resultado esperado ya que este tipo de polímeros son biocompatibles y se usan ampliamente en la industria de alimentos.

No obstante, el sistema estabilizado con Pluronic P123 presenta una mejor actividad antimicrobiana, lo que se puede explicar desde una perspectiva estructural con respecto al polímero. Pluronic® P123 tiene un carácter más hidrofóbico que F127, esto debido a la relación entre óxido de propileno/óxido de etileno, hecho que evidencia el efecto importante de los tensioactivos empleados en la síntesis, con relación a la actividad antimicrobiana de estos sistemas nanoparticulados. La hidrofobicidad de dicho polímero podría mejorar la interacción entre las nanopartículas en suspensión y la pared celular de los microorganismos, lo que daría como consecuencia un aumento en su actividad antimicrobiana. Empero,

teniendo en cuenta que la funcionalidad química de ambos surfactantes no varía (en ambos casos los componentes son óxido de etileno y óxido de propileno), la diferencia no tendría por qué ser muy marcada.



**Figura 4.** Evaluación de actividad antimicrobiana usando el método de microdilución en caldo  
Fuente: Blandón et al. (2012)

Al margen de las bondades del método electroquímico, dependiendo de la aplicación particular y del diseño del sistema que se empleará como antibacteriano, podrán utilizarse otros métodos de síntesis, como el de síntesis química a partir de un agente reductor fuerte como el borohidruro de sodio (NaBH<sub>4</sub>).

## Conclusiones

Una posible conexión entre la electroquímica, la nanotecnología y el área de la salud podría encontrarse en las nanopartículas de plata, de comprobada actividad antimicrobiana, sintetizadas por un método electroquímico. De esta manera la ciencia electroquímica aporta una vía bastante sencilla, de bajo costo al no requerir de muchos reactivos, y con la posibilidad de un fácil control de variables experimentales que se relacionan con las características finales de estas partículas. Desde el punto de vista de la investigación básica, se trata de un método con una gran flexibilidad, que por lo mismo permite evaluar numerosas variables como potencial aplicado, variación de la corriente de electrólisis, tiempo de síntesis, temperatura, entre otras, con el propósito de interpretar los distintos procesos fisicoquímicos que ocurren a lo largo de la síntesis. Además, esta metodología de síntesis

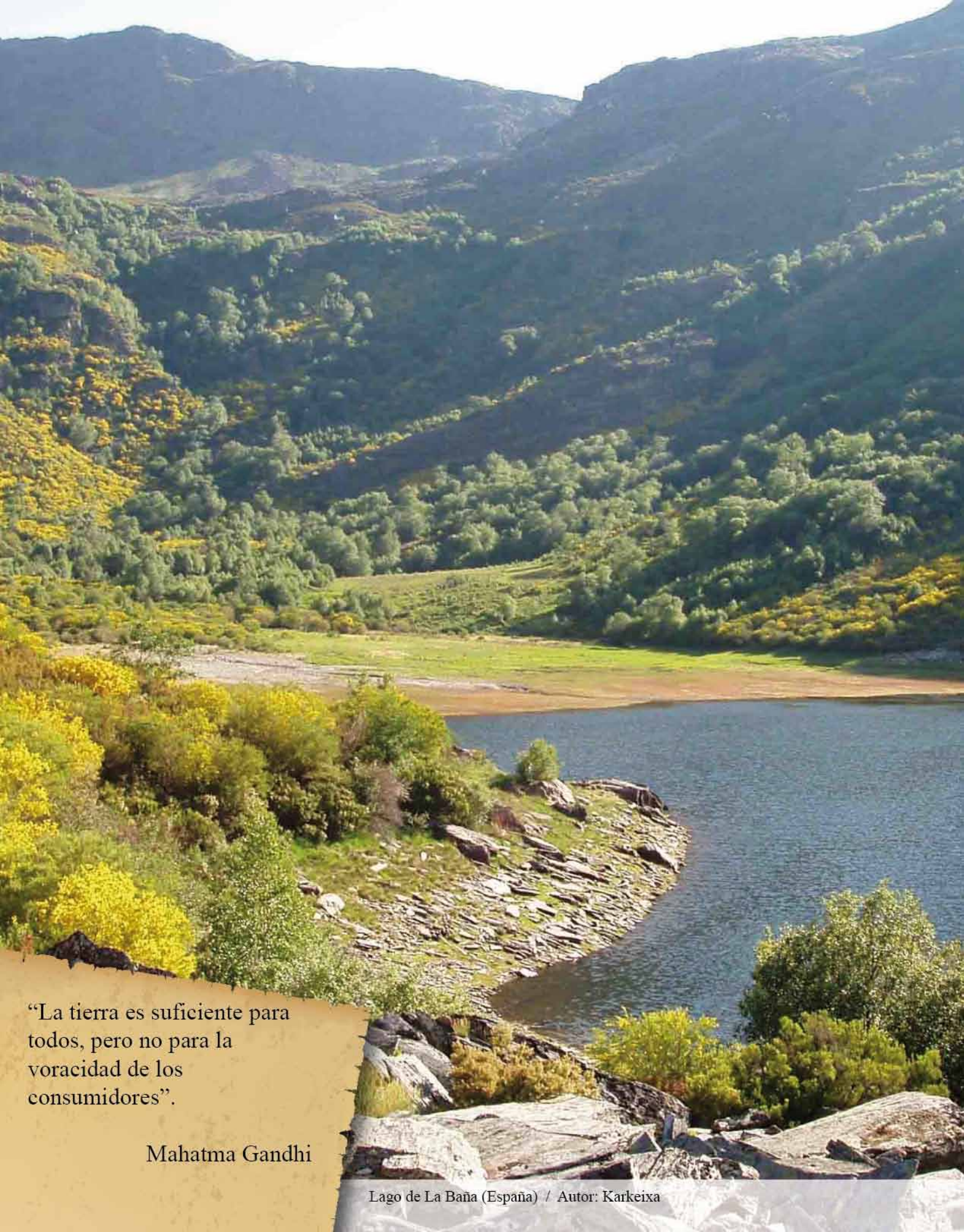
permite también la utilización in situ de estabilizantes con diferentes funcionalidades químicas que pueden aportar a las características finales del material obtenido. Los resultados mostrados en el presente artículo hacen parte de una serie de investigaciones realizadas por los autores de este trabajo, en las que muestran resultados obtenidos durante el proceso de síntesis y de AgNPs, y de aplicación de estas como agentes antimicrobianos. Las nanopartículas sintetizadas electroquímicamente en presencia de copolímeros en bloque tipo Pluronic® muestran buenas características en cuanto a la distribución del tamaño de partícula y la morfología obtenida. Así mismo, los materiales obtenidos mostraron una buena actividad antimicrobiana cuando se evaluaron frente a *Pseudomonas Aeruginosa*.

## Referencias

- Abate, G., Mshana, R. & Miorner, H. (1998). Evaluation of a colorimetric assay based on 3-(4,5-dimethyl-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide for rapid detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung D*, 12 (2), 1011–1016.
- Abdullin, T., Bondar, O., Shtyrlin, Y., Kahraman, M. & Culha, M. (2010). Pluronic block copolymer-mediated interactions of organic compounds with noble metal nanoparticles for SERS analysis. *Langmuir*, 26 (7), 153.
- Bian, Y., Li, C. & Li, H. (2010). Para-Sulfonatocalix[6] arene-modified silver nanoparticles electrodeposited on glassy carbon electrode: preparation and electrochemical sensing of methyl parathion. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20298889>
- Blandón, L. Vázquez, M., Benjumea, D., & Ciro, G. (2012). Electrochemical Synthesis of Silver Nanoparticles and their Potential Use as Antimicrobial Agent: a Case Study on *Escherichia Coli*. *Portugaliae Electrochimica Acta*, 30 (2), 135-144.
- Blandón, L. (2013). Evaluación catalítica y antimicrobiana de nanopartículas de plata. Universidad de Antioquia.
- Burkowska, A., Sionkowski, G. & Walczak, M. (2014). Influence of Stabilizers on the Antimicrobial Properties of Silver Nanoparticles Introduced into Natural Water. 26 (3), 542-549.
- Dizaj, S. M.; Lotfipour, F., Barzegar, M. H. Zarrintan, & Adibkia, K. (2014). “Antimicrobial Activity of the Metals and Metal Oxide Nanoparticles”, *Mater. Sci. Eng. C*, 44 (1), 278–284.
- Feynman, R. P. (1992). There's Plenty of Room at the Bottom. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 1 (1), 60-66.
- García, A., Crespo, J., López, J., Olmos, M. E., Monge, M. P., Rodríguez, P., Martín, P., Bartolome, B. & Moreno, M. V. (s.f.). Novel biocompatible silver nanoparticles for controlling the growth of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in wines. *Food Control*.
- Guo, Z. & Sadler, P. J. (1999). Metals in Medicine. *Angewandte Chemie*, 38 (11), 1512-1531.
- Jeon, S., Xu, P., Mack, N. H., Chiang L. Y., Brown, L. & Wang, H. (2010). Understanding and Controlled Growth of Silver Nanoparticles Using Oxidized N-Methyl-pyrrolidone as a Reducing Agent. *The Journal of Physical Chemistry C*, 114, 36-40.
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K., Park, S., Lee, H., Kim, S., Park, Y. K., Park Y. H., Kim, Y. K., Hwang, C., Lee, Y., Jeong, D. & Cho, M. (2007). Antimicrobial Effects of Silver Nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 3 (1), 95-101.
- Lu, J., Ryu, H., Vogel, J., Santo Domingo, J. & Ashbolt, N. J. (1999). Molecular Detection of *Campylobacter* spp. and Fecal Indicator Bacteria during the Northern Migration of



- Sandhill Cranes at the Central Platte River. *Applied Environ Microbiol*, 38, 1512-1531.
- Riley, D. J., 2002. Electrochemistry in nanoparticle science. Recuperado de <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S135902940200047X>
- Sellers, K., Mackay, C., Bergeson, L., Clough S., Hoyt, M., Chen, J., Henry, K. & Hamblen, J. (2008). *Nanotechnology and the Environment*. USA: Taylor & Francis Group.
- Starowicz, M., Stypuła, B. & Banaś, J. (2006). Electrochemical synthesis of silver nanoparticles. Recuperado de <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S138824810500367X>
- Twu, Y., Chen, Y. & Shih, C. (2008). Preparation of silver nanoparticles using chitosan suspensions. Recuperado de <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032591007005396>



“La tierra es suficiente para todos, pero no para la voracidad de los consumidores”.

Mahatma Gandhi