

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIAL DE LAS  
NANOPARTÍCULAS DE PLATA APLICADAS EN UN SUELO DEL  
SECTOR PALMICULTOR DEL DEPARTAMENTO DE  
SANTANDER - COLOMBIA**

**JUAN GUILLERMO QUIROGA TASCO**

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA  
ESCUELA DE INGENIERÍAS  
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL  
BUCARAMANGA**

**2016**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIAL DE LAS  
NANOPARTÍCULAS DE PLATA APLICADAS EN UN SUELO DEL  
SECTOR PALMICULTOR DEL DEPARTAMENTO DE  
SANTANDER - COLOMBIA**

**JUAN GUILLERMO QUIROGA TASCO**

**PROYECTO DE GRADO**

**DIRECTORA**

**PhD. SANDRA NATALIA CORREA TORRES**

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA  
ESCUELA DE INGENIERÍAS  
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL  
BUCARAMANGA**

**2016**

**Nota de aceptación**

---

---

---

---

---

---

---

---

**Firma del Presidente del jurado**

---

**Firma del jurado**

---

**Firma del jurado**

Bucaramanga, Septiembre 15 de 2016

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, quien me regalo a mi familia, quien día tras día me regala cada amanecer, quien me lleno de fortaleza y constancia para terminar la primera fase de una gran etapa de mi vida.

A mi familia, especialmente a mi Madre y hermanos, quienes con su apoyo incondicional, esfuerzo y comprensión se han convertido en el motivo para mejorar cada día.

A la Universidad Pontificia Bolivariana y a cada uno de sus docentes de la Facultad de Ingeniería Ambiental, que hicieron parte de mi formación profesional y personal.

A mi directora del proyecto, la PhD. Sandra Natalia Correa por sus valiosos aportes, enseñanzas y confianza depositada en mí.

A la facultad de Bacteriología y laboratorio Clínico de la Universidad de Santander, a su equipo de trabajo, quienes contribuyeron en mis aprendizaje en microbiología.

Gracias Totales!!

## TABLA DE CONTENIDO

<b>INTRODUCCION</b> .....	<b>14</b>
<b>1. OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
1.1 OBJETIVO GENERAL .....	16
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
<b>2. MARCO DE TEÓRICO</b> .....	<b>17</b>
2.1 NANOTECNOLOGIA .....	17
2.1.1 Nanopartículas de plata .....	17
2.1.2 Síntesis de nanoparticulas.....	18
2.1.3 Tecnicas de caracterizacion de nanoparticulas metalicas .....	21
2.2 EL SUELO .....	24
2.2.1 Propiedades del suelo .....	25
2.2.2 Propiedades Fisicas del suelo .....	25
2.2.3 Propiedades Quimicas del suelo .....	27
2.2.4 Caracteristicas Biologicas del suelo.....	30
2.3 PALMA AFRICANA.....	34
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	<b>36</b>
3.1 Síntesis y caracterizacion de nanoparticulas de plata a partir de extracto vegetal.....	36
3.2 Identificacion de los grupos de bacterias y propiedades fisicoquimicas del suelo.....	38
3.3 Diseño Experimental.....	43
<b>4. RESULTADOS Y ANALISIS</b> .....	<b>45</b>
4.1 IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION DE NANOPARTICULAS DE PLATA DE PLATA .....	45
4.1.1 Identificación de nanopartículas de plata por ultravioleta visible .....	45
4.1.2 Caracterización de nanopartículas de plata por microscopia electrónica de barrido.....	46
4.1.3 análisis con espectroscopia de energía dispersiva eds .....	48

4.2 CARACTERIZACION FISICOQUIMICA Y MICROBIOLOGICA INICIAL DEL SUELO.....	50
4.2.1 Propiedades Físicas .....	50
4.2.2 Propiedades Químicas.....	55
4.3 IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES DE BACTERIAS EN EL SUELO.....	60
4.4 ANÁLISIS DEL EFECTO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN EL SUELO.....	62
4.4.1 Propiedades físicoquímicas del suelo .....	62
4.5 EFECTO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN LAS PROPIEDADES MICROBIOLÓGICAS DEL SUELO .....	67
<b>5. CONCLUSIONES .....</b>	<b>70</b>
<b>6. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>72</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>73</b>
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>77</b>

## LISTAS DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mecanismos de acción bactericida de las Nanopartículas de Plata.....	17
<b>Figura 2.</b> Equipo Espectrofotómetro ultravioleta visible DR5000 HACH. Universidad Pontificia Bolivariana .....	21
<b>Figura 3.</b> Equipo SEM de la Universidad Pontificia Bolivariana .....	22
<b>Figura 4.</b> Triángulo de las clases texturales del suelo.....	25
<b>Figura 5.</b> Fases del proyecto .....	35
<b>Figura 6.</b> Procedimiento de Síntesis de AgNPs .....	36
<b>Figura 7.</b> Metodología para la toma de muestras de suelo .....	37
<b>Figura 8.</b> Procedimiento para obtención de diluciones seriadas aplicadas en el recuento en placa .....	41
<b>Figura 9.</b> Método de recuento en placa por siembra de gota en superficie de Miles y Misra .....	42
<b>Figura 10.</b> Montaje experimental .....	43
<b>Figura 11.</b> Microcopias electrónicas de barrido de la muestra 1 de nanopartículas de plata a 50.000 X y 100.000 X .....	46
<b>Figura 12.</b> Microcopias electrónicas de barrido de la muestra 2 de nanopartículas de plata a 50.000 X y 100.000 X .....	46
<b>Figura 13.</b> Espectros EDS y caracterización respectiva en porcentaje de peso y porcentaje atómico de los elementos encontrados .....	48
<b>Figura 14.</b> Tabla de Munsell .....	49

## LISTAS DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de los métodos de síntesis de nanopartículas .....	18
<b>Tabla 2.</b> Propiedades de la materia orgánica y el efecto de estos en el suelo .....	27
<b>Tabla 3.</b> Clasificación de grupos funcionales de bacterias .....	30
<b>Tabla 4.</b> Clasificación taxonómica de <i>Elaeis guineensis</i> .....	33
<b>Tabla 5.</b> Propiedades determinadas en el suelo .....	38
<b>Tabla 6.</b> Preparación de medios de cultivo selectivo .....	39
<b>Tabla 7.</b> Concentraciones para el análisis del efecto de AgNPs en el suelo. ....	42
<b>Tabla 8.</b> Determinación de la densidad real del suelo .....	50
<b>Tabla 9.</b> Determinación del contenido de humedad .....	51
<b>Tabla 10.</b> Resultados de lecturas del hidrómetro al determinar la textura .....	51
<b>Tabla 11.</b> Determinación de la textura por el método de Bouyoucos .....	52
<b>Tabla 12.</b> Porcentajes tamizados para la determinación de la granulometría del suelo. ....	52
<b>Tabla 13.</b> Determinación del pH del suelo .....	54
<b>Tabla 14.</b> Determinación de la conductividad eléctrica del suelo .....	55
<b>Tabla 15.</b> Determinación de la capacidad de intercambio catiónico .....	55
<b>Tabla 16.</b> Determinación del contenido de materia orgánica y Carbono .....	56
<b>Tabla 17.</b> Interpretación contenido de materia orgánica .....	56
<b>Tabla 18.</b> Determinación del porcentaje de Nitrógeno .....	56
<b>Tabla 19.</b> Interpretación del porcentaje de Nitrógeno total en el suelo .....	57
<b>Tabla 20.</b> Resultado de la determinación de Fosforo total .....	57
<b>Tabla 21.</b> Clasificación de la deficiencia de fosforo y su corrección .....	57
<b>Tabla 22.</b> Recuento de células viables .....	59
<b>Tabla 23.</b> Determinación del contenido de humedad a partir de las diferentes concentraciones de AgNPs .....	62
<b>Tabla 24.</b> Determinación de la textura por el método de Bouyoucos .....	62
<b>Tabla 25.</b> Determinación del pH del suelo .....	63

<b>Tabla 26.</b> Determinación de la conductividad eléctrica del suelo .....	64
<b>Tabla 27.</b> Determinación de la capacidad de intercambio catiónico .....	65
<b>Tabla 28.</b> Determinación del contenido de materia orgánica .....	66

## LISTAS DE GRAFICOS

<b>Grafico 1.</b> Composición física ideal del suelo .....	23
<b>Grafico 2.</b> Espectro UV-VIS de las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de hoja de palma africana .....	45
<b>Grafico 3.</b> Curva de granulometría del suelo .....	53
<b>Grafico 4.</b> UFC de los grupos de bacterias .....	60
<b>Grafico 5.</b> Cambios en las UFC en las tres concentraciones de suelo con AgNPs .....	67

## LISTAS DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Análisis químicos de Nitrógeno Total y Fosforo Total del suelo .....	77
--------------------------------------------------------------------------------------	----

## RESUMEN GENERAL DE TRABAJO DE GRADO

**TITULO:** EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIAL DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA APLICADAS EN UN SUELO DEL SECTOR PALMICULTOR DEL DEPARTAMENTO DE SANTANDER – COLOMBIA.

**AUTOR(ES):** JUAN GUILLERMO QUIROGA TASCO

**FACULTAD:** Facultad de Ingeniería Ambiental

**DIRECTOR(A):** SANDRA NATALIA CORREA TORRES

### RESUMEN

En la presente investigación se realizó la síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs) mediante el extracto vegetal proveniente de las hojas de palma africana (*Elaeis guineensis*) y una sal precursora, Nitrato de Plata ( $\text{AgNO}_3$ ). Los nanocompuestos metálicos biosintetizadas fueron caracterizados por UV-Vis, SEM, y EDS, para su posterior adición a suelos provenientes del Municipio de Puerto Wilches – Santander, Colombia. Las AgNPs presentaron un espectro alrededor de 420 nm, los cuales se caracterizaban por poseer una forma semiesférica con tamaños que oscilaban entre 23 y 42 nm. El objetivo del proyecto fue evaluar el efecto de las AgNPs en las propiedades fisicoquímicas y su poder antimicrobial en los grupos de bacterias que intervienen en los ciclos del Carbono, Nitrógeno y Fosforo en el suelo, de esta forma generar una respuesta a la problemática ocasionada por la influencia de diversos patógenos en el cultivo de palma. Los resultados obtenidos demostraron que las AgNPs acidifican el suelo, reducen la materia orgánica y el Intercambio catiónico. Además de causar pequeños cambios en la clase textural del suelo. Se comprobó la relación existente entre el tamaño de las nanopartículas y su capacidad de inhibición en las células microbianas, al obtener resultados de 69% en la reducción de la población de bacterias en muestras de suelo con presencia de nanopartículas de tamaño inferior a 34.7 nm y a una concentración de 0.06 mg/ml.

### **PALABRAS CLAVES:**

Nanopartículas, Suelo, Efecto antimicrobial, Bacterias.

## GENERAL SUMMARY OF WORK OF GRADE

**TITLE:** EVALUATION ANTIMICROBIAL EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES APPLIED IN A SOIL OF SECTOR OIL PALM FROM SANTANDER - COLOMBIA.

**AUTHOR(S):** JUAN GUILLERMO QUIROGA TASCO

**FACULTY:** Facultad de Ingeniería Ambiental

**DIRECTOR:** SANDRA NATALIA CORREA TORRES

### ABSTRACT

In This research the synthesis of silver nanoparticles (AGNPS) was Performed by the plant extract from the leaves of palm (*Elaeis guineensis*) and a precursor salt, silver nitrate ( $\text{AgNO}_3$ ). The biosynthesized metal nanocomposites Were Characterized by UV-Vis, SEM, EDS and for subsequent Addition to soils from the municipality of Puerto Wilches - Santander, Colombia. The AGNPS presented to spectrum around 420 nm, Which is Characterized by a hemispherical shape Having With sizes ranging Between 23 and 42 nm. The project objective was to Evaluate the effect of AGNPS on the physicochemical properties and antimicrobial power in groups of bacteria Involved in the cycles of carbon, nitrogen and phosphorus in the soil, THUS generating a response to the problems Caused by the influence of various pathogens in palm cultivation. The results obtained showed that the AgNPs acidifies the soil. Also it small Caused Changes in soil texture. It was proved the relationship between the size of nanoparticles and its inhibition capacity in the microbial cells, to obtain results of 69% reduction in the population of bacteria in soil samples with presence of nanoparticles smaller than 34.7 Nm and to a concentration of 0.06 mg/ml.

### KEYWORDS:

Nanoparticles, Soil, Effect antimicrobial, Bacteria.

V° B° DIRECTOR OF GRADUATE WORK

## INTRODUCCION

La plata es un elemento metálico que ha ganado mucho interés debido a su buena conductividad, estabilidad química y su actividad catalítica y antibacteriana. Debido a esto, las nanopartículas de plata son uno de los nanomateriales más comúnmente utilizados (Piao et al., 2011).

En la actualidad, los consumidores están en contacto con las AgNPs contenidas en aerosoles, detergentes, sistemas de purificación de aguas, pinturas para paredes, productos cosméticos, entre otros. Las AgNPs también tienen su aplicación en el sector alimentario. Dentro del campo de la agricultura, las AgNPs se emplean para prolongar la conservación de frutos, ya que además de su actividad antibacteriana presentan un efecto fungistático que retarda el crecimiento de hongos fitopatógenos (Aguilar, 2009).

El Banco Mundial destaca que la agricultura contribuye al desarrollo general de las naciones de tres formas: como actividad económica, como medio de subsistencia y como proveedor de servicios ambientales. A través de los años, la agricultura ha jugado un papel muy importante en el proceso de desarrollo económico del país. Una actividad significativa de la agricultura colombiana es el sector palmicultor. Colombia es el primer productor latinoamericano y el cuarto productor mundial, con más de 420.000 hectáreas de palma sembrada.

Así mismo, el aumento de la producción agrícola y especialmente la producción en monocultivos ha creado un aumento extraordinario de insectos-plagas. Los daños económicos provocados por las plagas han asolado a los agricultores desde el comienzo mismo de la agricultura, con pérdida de productividad, ingresos e inversiones (Brechelt, 2.014). La producción de palma no está exenta a esta problemática, ya que desde hace unos años se ha visto afectada por la influencia de diversos patógenos, tales como el hongo *Phytophthora palmivora* comúnmente conocido como PC, el cual ha impactado de forma negativa el rendimiento del cultivo.

Por lo tanto, en el presente proyecto se propone desarrollar una alternativa de síntesis de nanopartículas, económica y amigable con el ambiente, que no requiere de agentes reductores fuertes ni tóxicos, ni de disolventes inorgánicos; de tal forma que tras la aplicación al suelo, los microorganismos presentes no sean fuertemente impactados por la contaminación que podrán adquirir las partículas tras el proceso de síntesis. Las AgNPs ofrecen la posibilidad real de la liberación

controlada de agroquímicos en sitios precisos y la entrega selectiva de diversas macromoléculas necesarias para mejorar la resistencia a enfermedades en las plantas. Por tal razón, se requiere desarrollar un análisis de los efectos directos de las nanopartículas en las diferentes propiedades fisicoquímicas del suelo y la inhibición en el crecimiento y reproducción de los microorganismos benéficos y patógenos con estas. Con el fin de obtener una estrategia al incorporar AgNPs a pesticidas y plaguicidas, cuyo resultado sea una técnica que genere estabilidad en la producción agrícola sin causar daños irreparables a los seres humanos y al ambiente. De esta forma, lograr un uso más eficiente y contribuir a un manejo más seguro de los agroquímicos, enfocados a garantizar la protección del ambiente, el manejo sustentable de cultivos y el desarrollo económico del país.

## 1. OBJETIVOS

### 1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el potencial antimicrobial de las nanopartículas de plata biosintetizadas para ser aplicadas en el suelo procedente del sector palmicultor en el departamento de Santander - Colombia.

### 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Biosintetizar nanopartículas de plata a partir de extractos vegetales de la palma "*Elaeis guineensis*" para la aplicación en suelos palmíferos evaluando su efecto antimicrobial.
- Identificar los grupos de bacterias y las propiedades fisicoquímicas del suelo procedente del sector palmicultor afectado por el *Phytophthora palmivora* en el departamento de Santander - Colombia.
- Analizar el efecto antimicrobial de las nanopartículas y su consecuencia en las propiedades fisicoquímicas de los suelos palmicultores.

## **2. MARCO DE TEÓRICO**

### **2.1 NANOTECNOLOGIA**

Durante las últimas décadas, la investigación en ciencia y tecnología se ha centrado en la fabricación de estructuras atómicas y materiales a escalas nanométricas, conocido como “Nanotecnología”. La nanotecnología es la creación de materiales, dispositivos y sistemas útiles por medio de la manipulación de la materia a una escala nanoscópica.

Los estudios de la nanotecnología abarcan un amplio espectro de áreas de investigación, desde actividades industriales hasta ciencias aplicadas. Debido a que cualquier dispositivo a escala nanométrica pueden interactuar fácilmente con biomoléculas localizadas tanto en la superficie como en el interior de las células (Camacho, J; Deschamps, L. 2013). Además de poseer una mayor relación de superficie de contacto con el entorno, lo cual favorece y optimiza los procesos en los que se emplean.

#### **2.1.1 NANOPARTÍCULAS DE PLATA**

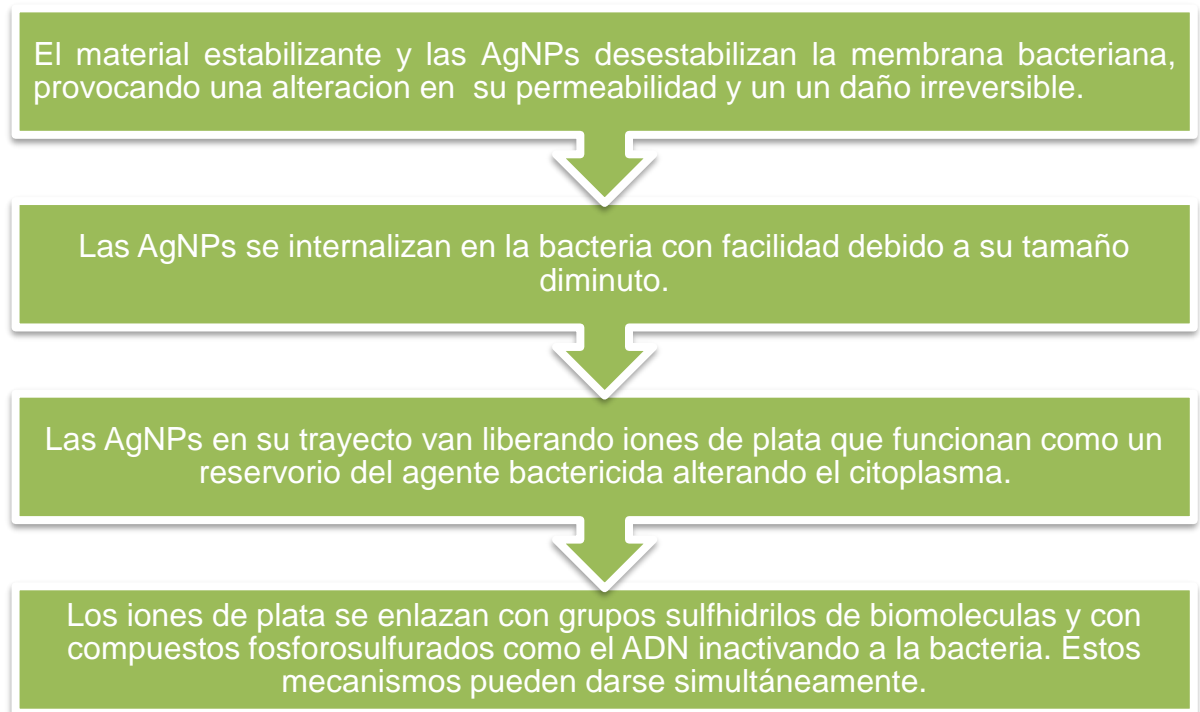
La plata es un elemento metálico que ha ganado mucho interés debido a su buena conductividad, estabilidad química y su actividad catalítica y antibacteriana. A través de los años, la plata ha sido empleadas en diversos campos, pero uno de los más importantes es su uso como agente desinfectante, con fines higiénicos y médicos (García-Barrasa et al 2011).

La plata ha sido reconocida y probada en diversas aplicaciones como un excelente agente antimicrobiano por su alta actividad biosida. Las nanopartículas de plata exhiben un mejor efecto antibacteriano, y debido a su tamaño pequeño, el área superficial con respecto al volumen es mucho mayor (Doll, 2010). Las bacterias, los virus y los hongos dependen de una enzima para metabolizar el oxígeno para vivir; los iones de plata interfieren con esta enzima y desactiva la absorción de oxígeno, inactivando así al microorganismo. (Pelayo, 2007).

Varios estudios indican que las nanopartículas de plata se pueden adherir a la membrana celular, alterando la permeabilidad celular y funciones respiratorias de la célula. Es posible que las AgNPs no solo interactúen con la superficie de la membrana, sino que también penetren al interior de la bacteria. La implementación de las AgNPs se ve justificada dado el efecto inhibitorio que ejerce ante los microorganismos, este efecto se lleva a cabo mediante las cargas electrostáticas,

esto se explica debido a que la membrana celular de estos microorganismos se encuentran cargadas negativamente y las nanopartículas positivamente, lo cual genera que estas últimas se aglomeren a su alrededor generando así la muerte del microorganismo. (Martínez, D; Silva, A. 2014). La Figura 1 señala los mecanismos de acción de las AgNPs.

**Figura 1. Mecanismos de acción bactericida de las Nanopartículas de Plata.**



**Fuente:** Leyva, 2013. Nanopartículas de Plata: Tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica.

### 2.1.2 SÍNTESIS DE NANOPARTICULAS

La síntesis biológica de nanomateriales ha sido una buena opción para la obtención de dichos materiales, ya que estos resultan ser más amigables con el ambiente. En la biosíntesis se involucran: levaduras, extractos de plantas o microorganismos como las bacterias y hongos; los cuales logran la reducción de varios tipos de iones metálicos (Sastry et al., 2003). El empleo de extractos de plantas como agentes reductores, pueden llegar a ser una vía más rápida que la implementación de microorganismos para la preparación de nano-partículas.

Los métodos de síntesis de nanopartículas suelen agruparse en dos categorías, las aproximaciones «de arriba hacia abajo» y las «de abajo hacia arriba» (Rao et al., 2004; Schmid, 2004). La primera consiste en la división de sólidos másicos en porciones más pequeñas. Este enfoque puede involucrar la molienda o el desgaste, métodos químicos, y la volatilización de un sólido seguido por la condensación de los componentes volatilizados. La segunda aproximación, «de abajo hacia arriba», consiste en la fabricación de nanopartículas a través de la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en solución. Este último enfoque es mucho más popular en la síntesis de nanopartículas. Las nanopartículas pueden ser soportadas o no. El soporte da estabilidad a las nanopartículas, además de que les puede conferir propiedades específicas (Wachs, 2001). La Tabla 1 presenta la clasificación de los métodos de síntesis de nanopartículas.

**Tabla 1. Clasificación de los métodos de síntesis de nanopartículas**

Clasificación de síntesis basado en “arriba hacia abajo”	
<b>Evaporación térmica</b>	Consiste en el calentamiento hasta la evaporación del material que se pretende depositar. Se lleva a cabo en una cámara de vacío en la que se condensa el vapor sobre una lámina fría requiriendo en todo momento un control preciso de las condiciones de crecimiento para no producir una modificación de la morfología de la capa depositada.
<b>Deposito químico en fase de vapor</b>	Consiste en la descomposición de uno o varios compuestos volátiles, en el interior de una cámara de vacío (reactor), en o cerca de la superficie de un sólido para dar lugar a la formación de un material en forma de capa delgada o de nanopartículas.
<b>Preparación de clusters gaseosos</b>	Utiliza un láser pulsado de alta potencia para producir vapores atómicos metálicos que son acarreados en un gas inerte y posteriormente son depositados en un óxido monocristalino u otro sustrato, bajo condiciones de ultra-alto vacío
<b>Implantación de iones</b>	Consiste en que los iones de un material pueden ser implantados en un sólido, cambiando por tanto las propiedades físicas y químicas de este, ya que el ion implantado puede ser de un elemento distinto al que lo compone.

<b>Molienda de partículas</b>	Consiste en la clasificación de partículas por medio de molinos de alta eficiencia; las partículas resultantes son clasificadas por medios físicos, recuperándose las de tamaño nanométrico.
<b>Clasificación de síntesis basado en “abajo hacia arriba”</b>	
<b>Método coloidal</b>	Este método consiste en disolver una sal del precursor metálico o del óxido a preparar, un reductor y un estabilizante en una fase continua o dispersante (un líquido en este caso). este rango de tamaño de partículas en una solución coloidal suele oscilar en el rango de nanómetros, por ello el método coloidal es un método eficiente de producción de nanopartículas
<b>Reducción fotoquímica y radioquímica</b>	Consiste en la generación de nanopartículas de alta pureza. La síntesis de nanopartículas metálicas modificando el sistema químico por medio de altas energías se asocia con la generación de reductores fuertes altamente activos como electrones, radicales y especies excitadas.
<b>Irradiación con microondas</b>	La técnica de irradiación con microondas produce nanopartículas con una muy baja dispersión de tamaño; el proceso de calentamiento asistido por microondas se ha utilizado como una alternativa atractiva para la síntesis de materiales a escala nanométrica, dado que es un método rápido, uniforme y efectivo, que permite incrementar las cinéticas de reacción en uno o dos órdenes de magnitud.
<b>Utilización de dendrímeros</b>	Consiste en el uso de micelas, emulsiones y dendrímeros como nanorreactores que permiten la síntesis de partículas de forma y tamaño definidos. Esto se logra alterando la naturaleza de los dendrímeros.
<b>Método sol-gel</b>	El método sol-gel es un proceso químico en fase húmeda ampliamente utilizado en la ciencia de los materiales. Este método se utiliza principalmente para la fabricación de nanomateriales (normalmente un óxido metálico). Se parte de una solución química o sol que actúa como precursor de una red integrada

ya sea de partículas discretas o de una red de polímeros.

**Fuente:** Zanella, 2012. Metodologías para la síntesis de nanopartículas 2012.

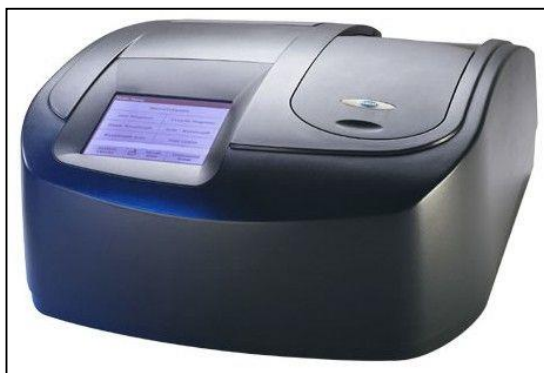
### **2.1.3 TECNICAS DE CARACTERIZACION DE NANOPARTICULAS METALICAS**

Las Nanopartículas metálicas se caracterizan generalmente por su tamaño, forma, superficie, área de la cara, y dispersión (Jiang et al., 2009). En el proceso de identificación y caracterización de las nanopartículas, implican métodos como la espectroscopia UV-Visible y la microscopia electrónica de barrido SEM (por sus siglas en ingles), la cual es comúnmente la más empleada en la determinación de forma, tamaño y distribución.

#### **2.1.3.1 Espectrofotometría UV-Visible**

Con el método de espectrofotometría UV-Visible se pueden identificar y cuantificar biomoléculas en soluciones y en muestras biológicas, utilizando reactivos específicos que reaccionan con el compuesto a analizar, el cual forma un producto coloreado que permite detectarlo. Las moléculas a analizar deben presentar una capacidad para absorber radiación. Las longitudes de onda que puedan llegar a ser adsorbidas por las partículas dependen de las condiciones del medio como el pH, temperatura, fuerza iónica, y su constante dieléctrica.

Las moléculas pueden absorber energía luminosa y almacenarla en forma de energía interna. Lo cual logra el funcionamiento de los ciclos vitales como la fotosíntesis en plantas y bacterias. Cada molécula tiene una serie de estados excitados que la distingue del resto de moléculas y permite la captación máxima de energía. Por tal motivo el espectro de adsorción es el fenómeno que presenta una molécula al ser sometida a diferentes longitudes de onda. Para el oro esto se produce a longitudes de onda en torno a 520 nm mientras que para la plata es de 420 nm (Murray & Barnes, 2007).



**Figura 2.** Equipo Espectrofotómetro ultravioleta visible DR5000 HACH.  
Universidad Pontificia Bolivariana

### **2.1.3.2 Microscopia electrónica de barrido**

El Microscopio electrónico de barrido (Scanning Electron Microscopy, SEM), utiliza un haz de electrones en lugar de un haz de luz para formar una imagen ampliada de la superficie de un objeto. El SEM es un instrumento que permite la observación y caracterización superficial de sólidos inorgánicos y orgánicos. Tiene una gran profundidad de campo, la cual permite que se enfoque a la vez una gran parte de la muestra. El SEM es una de las principales técnica usadas para la caracterización de materiales manométricos.

Las principales utilidades del SEM son la alta resolución ( $\sim 1$  nm), la gran profundidad de campo que le da apariencia tridimensional a las imágenes y la sencilla preparación de las muestras. La preparación de las muestras que van a ser analizadas por el SEM, es relativamente sencilla las principales características son: muestra sólida y conductora. En el caso que la muestra no tenga propiedades conductoras, la muestra es recubierta con una capa de carbón o una capa delgada de un metal como el oro. De lo contrario, las muestras no conductoras se trabajan en bajo vacío. En la figura 3, se presenta el equipo de SEM del laboratorio de Nanociencia y Nanotecnología de la Universidad Pontificia Bolivariana. El equipo consta esencialmente de las siguientes partes:

- Una unidad óptica-electrónica, que genera el haz que se desplaza sobre la muestra.
- Un portamuestra, con distintos grados de movimientos.
- Una unidad de detección de las señales que se originan en la muestra,

seguida de un sistema de amplificación adecuado.

- Un sistema de visualización de las imágenes (tubo de rayos catódicos).
- Un sistema de vacío, un sistema de refrigeración y un sistema de suministro eléctrico, relativamente similares a los del MET.
- Un sistema de registro fotográfico, magnético o de video.
- Un sistema de procesamiento de la imagen con ayuda computacional (optativo).



**Figura 3.** Equipo SEM de la Universidad Pontificia Bolivariana.

Las aplicaciones del equipo son muy variadas, van desde la industria petroquímica o la metalurgia hasta la medicina forense. Entre las áreas de aplicación de esta técnica, se pueden mencionar:

**Geología:** Investigaciones geomíneras, cristalográficas, mineralógicas y petrológicas. Estudio morfológico y estructural de las muestras.

**Estudio de materiales:** Caracterización microestructural de materiales. Identificación, análisis de fases cristalinas y transiciones de fases en diversos materiales tales como metales, cerámicos, materiales compuestos, semiconductores, polímeros y minerales. Composición de superficies y tamaño de grano. Valoración del deterioro de materiales, determinación del grado de cristalinidad y presencia de defectos. Identificación del tipo de degradación: fatiga, corrosión, fragilización, etc.

**Metalurgia:** Control de calidad y estudio de fatiga de materiales, características texturales. Análisis de fractura (fractomecánica) en materiales.

**Odontología:** Una aplicación específica de este microscopio se obtiene al estudiar la direccionalidad de las varillas del esmalte dental. Además se pueden analizar a través del SEM las alteraciones que producen los ácidos producidos por la entrada de microorganismos y restos alimenticios en las superficies vestibulares de los dientes anteriores, ya que sobre ellos se produce la retención de los materiales odontológicos en fracturas, fisuras, ferulizaciones, entre otras.

## 2.2 EL SUELO

Hillel (1998) considera el suelo como un cuerpo natural involucrado en interacciones dinámicas con la atmósfera que está encima y con los estratos que están debajo, que influye el clima y el ciclo hidrológico del planeta y que sirve como medio de crecimiento para una variada comunidad de organismos vivos. Además, él juega un papel ambiental preponderante como reactor bio-físico-químico que descompone materiales de desecho y recicla dentro de él nutrientes para la regeneración continua de la vida en la Tierra.

Físicamente, el suelo es un medio poroso compuesto por tres fases: sólida, líquida y gaseosa. La proporción idealizada en que deben estar las tres fases del suelo, para ofrecer un medio adecuado al crecimiento de las plantas, se esquematiza en la Grafico 1.



**Grafico 1.** Composición física ideal del suelo. Jaramillo, 2002. Introducción a la Ciencia del Suelo.

### **2.2.1 PROPIEDADES DEL SUELO**

Las propiedades del suelo constituyen uno de los principales objetivos de su química. Estas propiedades resultan del proceso de formación y evolución del suelo y su conocimiento permite elaborar criterios valiosos para la elaboración de clasificación y especialmente para la interpretación de las relaciones suelo-planta.

### **2.2.2 PROPIEDADES FISICAS DEL SUELO**

Algunas de las propiedades del suelo descritas en esta sección, son de gran importancia para la presencia de microorganismos en el suelo y el desarrollo de los diferentes cultivos.

#### **2.2.2.1 Color**

El color del suelo depende de sus componentes y varía con el contenido de humedad, materia orgánica presente y grado de oxidación de minerales presentes. Se puede evaluar como una medida indirecta ciertas propiedades del suelo. Se usa para distinguir las secuencias en un perfil del suelo, determinar el origen de materia parental, presencia de materia orgánica, estado de drenaje y la presencia de sales y carbonato. El color del suelo se puede determinar mediante espectrofotómetro, pero para fines prácticos se emplea un Catálogo de colores conocido como "La tabla de colores de Munsell" mediante la comparación del suelo del estudio (Mirsal, 2008).

#### **2.2.2.2 Humedad**

La humedad hace referencia a la cantidad de agua que posee el suelo y está directamente relacionada con la textura, el contenido de materia orgánica y el gasto por evotranspiración del suelo. La humedad influye directamente en la actividad biológica. Sin embargo un suelo con alto nivel de humedad, inhibe en el intercambio de gases y en el movimiento del oxígeno en el suelo.

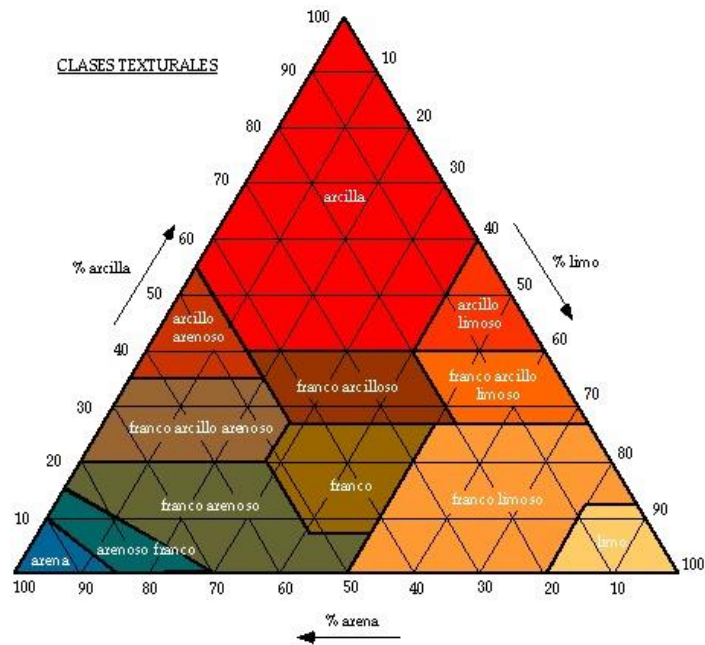
#### **2.2.2.3 Densidad Real**

Corresponde al peso de las partículas sólidas del suelo en relación con el volumen que estas ocupan. Se asume como un valor promedio adecuado de densidad real para suelos minerales, 2.65 g/ml (Jaramillo, 2002).

### 2.2.2.4 Textura

La textura del suelo se refiere a la proporción de componentes inorgánicos de diferentes formas y tamaños como arena, limo y arcilla. La textura es una propiedad importante ya que influye como factor de fertilidad y en la habilidad de retener agua, aireación, drenaje, contenido de materia orgánica y otras propiedades. Con la ayuda del diagrama triangular del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (figura 4) y de la proporción relativa a textura de un suelo, se puede determinar el tipo de suelo según su textural (Atlas y Bartha, 2002).

**Figura 4.** Triángulo de las clases texturales del suelo



**Fuente:** Soil Survey Division Staff (SSDS), 1993.

### 2.2.2.5 Granulometría

Las partículas texturales del suelo como arena, limo y arcilla se asocian para formar agregados. La estructura del suelo afecta directamente la aireación, el movimiento del agua en el suelo, la conducción térmica, el crecimiento radicular y la resistencia a la erosión. El agua es el componente elemental que afecta la estructura del suelo con mayor importancia debido a su solución y precipitación de minerales y sus efectos en el crecimiento de las plantas.

## **2.2.3 PROPIEDADES QUIMICAS DEL SUELO**

### **2.2.3.1 pH**

El pH (potencial de hidrógeno) determina el grado de adsorción de iones ( $H^+$ ) por las partículas del suelo e indica si un suelo está ácido o alcalino. Es el indicador principal en la disponibilidad de nutrientes para las plantas, influyendo en la solubilidad, movilidad, disponibilidad y de otros constituyentes y contaminantes inorgánicos presentes en el suelo. El valor del pH en el suelo oscila entre 3,5 (muy ácido) a 9,5 (muy alcalino). Los suelos muy ácidos ( $<5,5$ ) tienden a presentar cantidades elevadas y tóxicas de aluminio y manganeso. Los suelos muy alcalinos ( $>8,5$ ) tienden a dispersarse. La actividad de los organismos del suelo es inhibida en suelos muy ácidos y para los cultivos agrícolas el valor del pH ideal se encuentra en 6,5 (Portal de suelos, FAO).

### **2.2.3.2 Conductividad Eléctrica**

La conductividad eléctrica de un suelo, indica la cantidad de sales presentes en este. Todos los suelos contienen algo de sales, las cuales son esenciales para el crecimiento de todas las plantas. Las sales que se pueden encontrar en un nivel freático salino se transportan con el agua a la superficies del suelo mediante ascenso capilar y una vez que el agua se evapora se acumulan en la superficie del suelo. De acuerdo a la CE los suelos pueden clasificarse en No salinos, ligeramente salinos, moderados y fuertemente salinos, (Portal de suelos, FAO).

### **2.2.3.3 Capacidad de Intercambio Catiónico**

La Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) es una medida de cantidad de cargas negativas presentes en las superficies de los minerales y componentes orgánicos del suelo (arcilla, materia orgánica o sustancias húmicas) y representa la cantidad de cationes que las superficies pueden retener (Ca, Mg, Na, K,  $NH_4$  etc.). Estos serán intercambiados por otros cationes o iones de hidrogeno presentes en la solución del suelo y liberados por las raíces. El nivel de CIC indica la habilidad de suelos a retener cationes, disponibilidad y cantidad de nutrientes a la planta, su pH potencial entre otras. Un suelo con bajo CIC indica baja habilidad de retener nutrientes, arenoso o pobre en materia orgánica. La unidad de medición de CIC es en centimoles de carga por kg de suelo  $cmolc/kg$  o  $meq/100g$  de suelo, (Portal de suelos, FAO).

#### 2.2.3.4 Materia Orgánica

La vegetación fija el carbono de la atmósfera por fotosíntesis transportándolo a materia viva y muerta de las plantas. Los organismos del suelo descomponen esta materia transformándola a Materia Orgánica del Suelo (MOS). El carbono se libera de la biomasa para la MOS, en organismos vivos por un cierto tiempo o se vuelve a emitir para la atmósfera por respiración de los organismos (organismos del suelo y raíces) en forma de dióxido de carbono,  $\text{CO}_2$ , o metano  $\text{CH}_4$ , en condiciones de encharcamiento en el suelo.

La materia orgánica del suelo (MOS) está constituida por los desechos de origen animal y vegetal; los cuales contienen diferentes sustancias químicas que contribuyen a mejorar la composición del suelo y el crecimiento de las plantas. La Tabla 2, contiene las propiedades de la materia orgánica y el efecto de estos en el suelo.

Los efectos benéficos de la materia orgánica tanto en la planta como en el suelo son la reducción de escorrentía superficial y la erosión, actúa como depósito de nutrientes y como fuente de energía y alimento para los microorganismos. El contenido de materia orgánica en los suelos varía dentro de un rango amplio. De acuerdo a lo anterior, los suelos se pueden clasificar en Orgánicos cuando su contenido de materia orgánica es superior al 20% y en Minerales cuando su porcentaje de materia orgánica es inferior a 20%.

**Tabla 2.** Propiedades de la materia orgánica y el efecto de estos en el suelo.

Propiedades	Observaciones	Efectos en el suelo
Color	El tipo de color oscuro de muchos suelos es causado por la materia orgánica.	Puede facilitar el calentamiento.
Retención de agua	La materia orgánica puede contener hasta 20 veces su peso en agua.	Mejora las propiedades de retención de agua, principalmente en suelos arenosos.

<b>Combinación de minerales de arcilla</b>	Formación de unidades estructurales, llamado agregados.	Permite el intercambio de gases, estabiliza la estructura, aumenta la permeabilidad.
<b>Quelacion</b>	Forma complejos estables con $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Mn}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ y otros cationes polivalentes.	Mejora la disponibilidad de nutrientes para las plantas superiores.
<b>Solubilidad en agua</b>	La insolubilidad de la materia orgánica es debido a su asociación con la arcilla.	No ocurre pérdida de materia orgánica por lixiviación.
<b>Acción Buffer</b>	Efecto buffer en rangos ligeramente ácidos, neutros y alcalinos.	Ayuda a mantener el pH del suelo.
<b>Intercambio catiónico</b>	La acidez total de la materia orgánica va desde 300 a 1400 cmol/Kg.	Incrementa la capacidad de intercambio catiónico del suelo.
<b>Mineralización</b>	Descomposición de los productos de la materia orgánica $\text{CO}_2$ , $\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_3^+$ , $\text{PO}_4^{3-}$ y $\text{SO}_4^{2-}$ .	Fuente de nutrientes para el crecimiento de las plantas.

**Fuente:** PIERZYNSKY Gray M; THOMAS SIMS, J y VANCE, George F. Soils and environmental Quality, 2015.

### 2.2.3.5 Nutrientes

La cantidad de nutrientes presente en el suelo determina su potencial para alimentar organismos vivos. Los 16 nutrientes esenciales para el desarrollo y crecimiento de las plantas se suelen clasificar entre macro y micro nutrientes dependiendo de su requerimiento para el desarrollo de las plantas. Los macronutrientes se requieren en grandes cantidades e incluyen Carbono(C), Hidrógeno (H), Nitrógeno(N), Fósforo (P), Potasio (K), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Azufre(S). Los micronutrientes por otro lado se requieren en pequeñas, su insuficiencia puede dar lugar a carencia

y su exceso a toxicidad, se refieren a Hierro (Fe), Zinc (Zn), Manganeseo (Mn), Boro (B), Cobre (Cu), Molibdeno (Mo), Cloro (Cl).

El nitrógeno del suelo es uno de los elementos de mayor importancia para la nutrición de las plantas y más ampliamente distribuido en la naturaleza. Se asimila por las plantas en forma catiónica de amonio  $\text{NH}_4^+$  o anionica de nitrato  $\text{NO}_3^-$ . A pesar de su amplia distribución en la naturaleza se encuentra en forma inorgánica por lo que no se pueden asimilar directamente. Por otra parte, se encuentra el fósforo, quien participa en reacciones de fosforilación, fotosíntesis, respiración y síntesis de carbohidratos. Su reserva en la naturaleza es la corteza terrestre. Por meteorización de las rocas o sacado de las cenizas volcánicas, queda disponible para que las plantas lo puedan tomar. Es arrastrado por las aguas y llega al mar, parte de estas se sedimenta y forma rocas en el mar.

#### **2.2.4 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DEL SUELO**

La biota del suelo la compone el conjunto de la fauna y la flora que viven en él; la gran mayoría de los organismos del suelo vive en las capas superficiales del litter (residuos vegetales frescos), donde las condiciones de humedad, temperatura, ventilación y luminosidad, así como el espacio disponible, satisfacen sus necesidades.

##### **2.2.4.1 Microbiología del Suelo**

La microbiota del suelo se establece, preferencialmente, en la rizosfera: región del suelo bajo la influencia inmediata de la raíz, la cual se caracteriza por tener alta cantidad de carbono disponible. En ella la cantidad de microorganismos disminuye al aumentar la distancia a partir de la superficie de la raíz de las plantas y al aumentar la profundidad en el suelo (Paul y Clark, 1989; Pritchett, 1991). Los microorganismos del suelo incluyen bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoos (Pierzynski et al, 2005). Siendo las bacterias, quienes exceden la población de todos los otros grupos de microorganismos. Encontramos todo tipo de bacterias desde autotróficas, heterotróficas, aerobias y anaerobias. Las bacterias que proliferan en la rizósfera compiten por nitrógeno y además utilizan los materiales orgánicos liberados por las raíces (Gosz y Fisher, 1984, citados por Tisdall, 1996).

A continuación se describen los principales grupos de microorganismos del suelo y sus características más sobresalientes.

## Bacterias

Son los microorganismos más numerosos y más pequeños del suelo; la mayoría son heterótrofos y son organismos importantes en los procesos de descomposición de la materia orgánica y en el reciclaje de energía y de nutrientes como N, P, S, Fe y Mn; el tipo más importante, desde el punto de vista de los suelos, es el de las Eubacterias. La relación entre los ciclos del C, N, P y los grupos funcionales de microorganismos, y su influencia sobre el crecimiento vegetal, son un indicador potencial en la evaluación de disturbios medioambientales en el suelo (Anderson 2003; Brigatto U. y Andrade G. 2003 Matsumoto L S. et al., 2005). En la tabla 3, se clasifican las bacterias teniendo en cuenta las etapas de los ciclos biogeoquímicos en las que participan.

**Tabla 3.** Clasificación de grupos funcionales de bacterias

CICLOS BIOGEOQUIMICOS	
CICLO DEL CARBONO	El mayor depósito de carbono se encuentra en la materia orgánica muerta llamado humus (Madigan <i>et al</i> , 2000). Los grupos funcionales de microorganismos que pertenecen al ciclo del carbono son: Celulolíticos, Amilolíticos y Proteolíticos. Los microorganismos celulolíticos producen exoenzimas llamadas celulasas; los Amilolíticos por medio de las amilasas hidrolizan almidones los cuales son una reserva común de polisacáridos que sirven como reservas de energía producidas en las plantas; y el grupo de los Proteolíticos los cuales pueden actuar en los ciclos del Carbono y Nitrógeno, producen enzimas extracelulares llamadas proteinasas y peptidasas, las proteinasas degradan proteínas liberando péptidos los cuales retornan para ser atacadas por las peptidasas para así liberar aminoácidos los cuales son transportados al interior de las células, los aminoácidos sirven como fuente de carbono o nitrógeno (Andrade G. 2004)
	El Nitrógeno es un elemento limitante para el crecimiento de la planta, algunas bacterias de la rizosfera tienen la habilidad de fijar N <sub>2</sub> y transformarlas a formas orgánicas que puedan ser usadas por las plantas. Las bacterias

<p>CICLO DEL NITROGENO</p>	<p>fijadoras de nitrógeno son un pequeño grupo de bacterias Gram positivas y Gram negativas, las cuales pueden interactuar con las raíces de las plantas de dos formas: de vida libre o simbiótica; las bacterias libres fijadoras de N utilizan glucosa como fuente de C y las bacterias fijadoras de N que malato como fuente de carbono. Estos grupos fijadores de Nitrógeno son responsables en la adición de NH<sub>3</sub> al suelo directamente sobre la raíz o la rizósfera, dependiendo de la asociación establecida entre bacterias y las raíces.</p>
<p>CICLO DEL FOSFORO</p>	<p>Bacterias que son capaces de solubilizar P que se encuentra de forma insoluble (Rao 1992), entre ellos bacterias del género Pseudomonas, Enterobacter y Bacillus. Las bacterias solubilizadoras de P liberan sustancias que promueven el crecimiento radicular como hormonas, enzimas, antibióticos, que aumentan la disponibilidad de nutrientes y actúan como biocontrol de patógenos de plantas (Andrade G. 2004: Rao 1992. Premono et al. 1994. Toro et al. 1996, Bashan y Holguin 1998, Azoon y Barea 1996. Kopler, Lifshitz y Schroth 1988, Frankenberg and Arshad 1995 Osorio V.N. 2007).</p> <p>La mayoría de suelos agrícolas contienen altas reservas de P debido a su acumulación por la aplicación de fertilizantes de P, sin embargo una gran porción de fosfatos inorgánicos son aplicados al suelo por medio de fertilización química y son rápidamente inmovilizados tan pronto se aplica y empiezan a ser no disponibles para las plantas, fenómeno de fijación y precipitación del P en el suelo es generalmente rápida dependiendo del pH y tipo de suelo.(Rodríguez H. y Fraga R. 1999: Brigatto y Andrade G. 2003: Sylvia et al. 1998 Osorio N.v. 2007)</p>

## Hongos

Son organismos que participan activamente en la descomposición del litter en los suelos ácidos y en la humificación en ellos; son heterótrofos y muy eficientes en la

descomposición de compuestos resistentes a las bacterias, como celulosa, hemicelulosa, lignina, grasas y almidones (Pritchett, 1991).

Aparte de lo anterior, los hongos juegan un importante papel en la nutrición de las plantas, porque forman asociaciones con sus raíces llamadas micorrizas. Cochran et al (1994) sostienen que por lo menos en el 85% de las plantas se presentan asociaciones micorrícicas; además, compiten activamente con la planta por nitratos y amonio. El micelio de algunos de ellos puede causar hidrofobicidad en el suelo. Son abundantes las especies fitopatógenas.

## **Algas**

Son organismos fotoautótrofos importantes en el proceso de colonización del material parental. Ellas inician el proceso de formación de suelo. Además, en suelos ya formados, son una fuente importante de materia orgánica (Burbano, 1989). Las condiciones ambientales óptimas para su desarrollo son:

Humedad: Debe estar entre 60 y 80 % de la capacidad de campo del suelo, aunque soportan bien la inundación. Temperatura: Se han encontrado en el rango extremo comprendido entre - 11.5 y 87 °C. pH: Entre 5.5 y 8.5, aunque hay variaciones importantes entre los diferentes grupos; así, las verdes se adaptan bien a suelos ácidos; las verde-azules a suelos neutros ó alcalinos y prácticamente no se presentan en suelos con pH < 5.2 y las diatomeas prefieren suelos neutros y alcalinos. En términos generales las algas no se presentan en suelos con pH < 5.0. Luz: Es indispensable para que puedan realizar la fotosíntesis. q Sales: Resisten altas concentraciones en el medio.

## **Protozoarios**

Son animales que digieren partículas de materia orgánica no soluble, transformándola en soluble. Además, controlan poblaciones de microorganismos en el suelo, ya que se alimentan de bacterias y de algas (Burbano, 1989; Pritchett, 1991). Las condiciones ambientales más adecuadas para su desarrollo, según Burbano (1989) son: Humedad: Requieren suelo húmedo a saturado. Temperatura: Próxima a los 30 °C. pH: Entre 3.5 y 9.7, con un rango óptimo comprendido entre 6 y 8. 55.

## 2.3 PALMA AFRICANA

Según las investigaciones y datos históricos, la palma africana es originaria de las costas del golfo de Guinea en el África Occidental, el cual se ha expandido de forma natural a lo largo de las márgenes de los ríos. Desde tiempos remotos la planta crece de forma silvestre, siendo su fruto utilizado para la extracción del aceite para consumo humano. (Bernal, 2001).

Botánicamente la palma de aceite se conoce con el nombre de *Elaeis guineensis*. Nombre dado por Jacquin en 1763, con base en la palabra griega ελαια, de olivo, debido a sus frutos ricos en aceite y guineensis que hace honor a la región de Guinea de donde se considera originaria (CIRAD, 2009). La tabla 4. Presenta la taxonomía de la planta perenne.

**Tabla 4.** Clasificación taxonómica de *Elaeis guineensis*

Taxonomía <i>Elaeis guineensis</i>	
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Liliopsida</i>
Subclase	<i>Commelinidae</i>
Orden	<i>Arecales</i>
Familia	<i>Arecaceae</i>
Subfamilia	<i>Coryphoideae</i>
Genero	<i>Elaeis</i>

**Fuente:** Moreno, 2014. Caracterización de la sintomatología y evaluación de la incidencia y severidad del complejo pudrición del cogollo de la palma aceitera.

La palma africana llegó a América tropical debido a los colonizadores y comerciantes de esclavos portugueses, quienes utilizaron los frutos de la palma africana como alimento en los viajes transatlánticos, según la historia en el siglo XVI, de esta manera se estableció la palma africana por primera vez de forma

antrópica, detrás de la línea costera, en la región de San Salvador, antigua capital de Brasil (Bernal, 2001).

La palma llegó a Colombia en 1945 cuando la United Fruit Company estableció una plantación en el Magdalena, en 1960 existían 18.000 hectáreas, hoy día Colombia es el primer productor latinoamericano y el cuarto productor mundial, con algo más de 420.000 hectáreas de palma sembrada; el 70% de la producción de aceite de palma se consume en el país. En Colombia, 116 municipios en 16 departamentos dependen socioeconómicamente del cultivo que genera 128.000 empleos directos y cerca de 200.000 empleos indirectos; de la palma de aceite dependen 130.000 familias.

La producción de palma se ha visto afectada desde hace unos años, por la influencia del hongo *phytophthora palmivora* comúnmente conocido como PC, la cual ha impactado de forma significativa, entre 8 y 29% en la disminución del número de racimos por palma, entre 18 y 29% del peso medio por racimo y entre 35 y 39% en rendimiento por palma. Las primeras manifestaciones de la PC se dieron en el año 1965, en una plantación ubicada en la región de Turbo en el norte de Colombia. El avance de esta enfermedad provocó que casi toda la plantación de *Elaeis guineensis* fuese destruida (Ospina, 1998).

### 3. METODOLOGIA

Con el fin de alcanzar los objetivos planteados del presente proyecto, se llevó a cabo la siguiente metodología basada en el desarrollo de tres fases principales ilustradas en la figura 5.

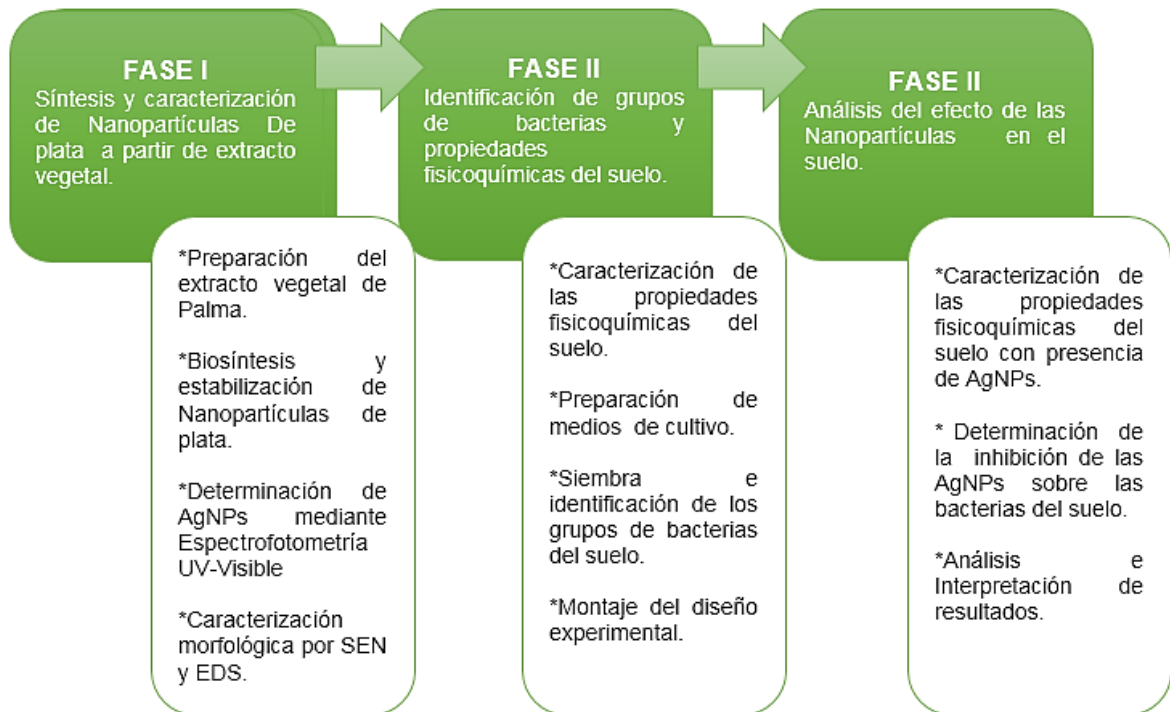


Figura 5. Fases del proyecto

Fuente: Autor

#### 3.1 SÍNTESIS Y CARACTERIZACION DE NANOPARTICULAS DE PLATA A PARTIR DE EXTRACTO VEGETAL

Para la obtención de un extracto natural que facilitara el proceso de reducción del nitrato de plata y la formación de las nanopartículas de plata, evitando la producción de contaminantes tóxicos secundarios, se seleccionó las hojas de palma africana (*Elaeis guineensis*). Las cuales se lavaron y cortaron. Se prosiguió a adicionar 100 gramos de hojas a un Beaker con 1000 ml con agua destilada; la mezcla fue hervida a 95°C en una plancha de calentamiento con agitación magnética durante 20

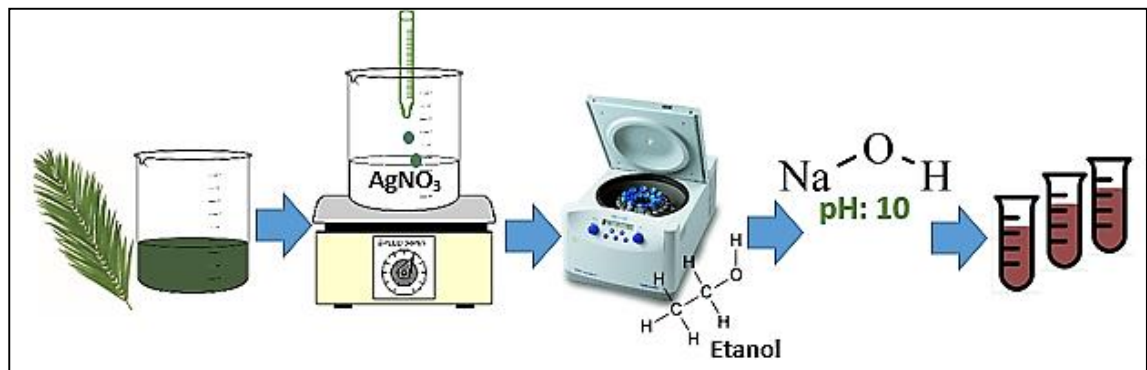
minutos. Se dejó reposar hasta que su temperatura llegara aproximadamente a 60 °C.

La mezcla obtenida se filtró y se calentó nuevamente con el fin de reducir el volumen y conseguir una infusión más concentrada. Finalmente se dejó reposar a temperatura ambiente.

La síntesis de nanopartículas de plata se llevó a cabo mediante el método biológico usando el extracto vegetal de hojas de palma como solvente tal como lo evidencia la figura 6. La síntesis inicio con la adición de 1,7 gramos de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) a un Beaker con 50 mililitros de agua destilada. Se mantuvo en constante agitación y gradualmente se le agrego 5 ml del extracto vegetal preparado. La nueva solución fue agitada durante 60 minutos para la formación exitosa de las nanopartículas. Posteriormente a la formación de estas, se procedió a la limpieza de la solución obtenida, se les proporciono un lavado con agua destilada y se agitó durante 10 minutos en centrifuga a 4000rpm. Posterior a la centrifugación, se retiró el sobrenadante de agua y se agregó 5 mL de Etanol para completar un segundo lavado y se centrifuga por 10 minutos más.

Las nanopartículas fueron estabilizadas agregándoles Hidróxido de Sodio ( $\text{NaOH}$ ), con el objetivo de llevarlas a un pH de 10. El procedimiento anterior, se repitió pero con 3,4 gramos de Nitrato de plata, con el fin de obtener una segunda muestra con nanopartículas de mayor concentración.

**Figura 6.** Procedimiento de Síntesis de AgNPs



**Fuente:** Autor

Antes de ser adicionadas al suelo, fue necesario verificar la formación de las nanopartículas de plata. Para ello se diluyeron en agua destilada las dos muestras de nanopartículas, con el fin de obtener dispersiones coloidales para su caracterización respectiva mediante espectrometría UV-VIS. Por medio de esta

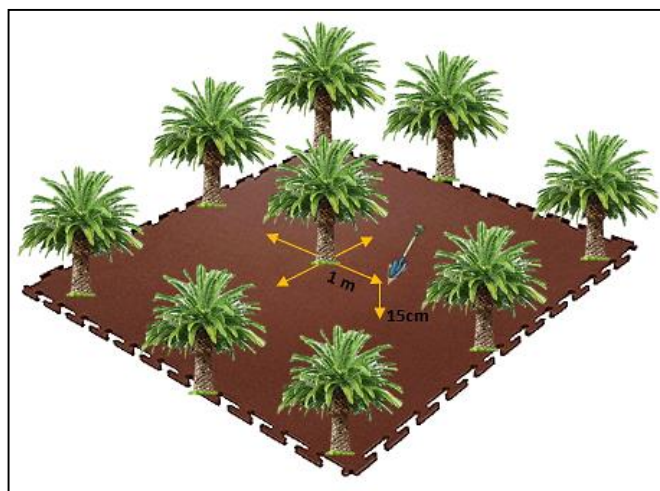
técnica se determinó la longitud de onda característica de las nanopartículas de plata, estas bandas se deben a la absorción por resonancia de los plasmones superficiales.

Al confirmar la presencia de AgNPs en las soluciones, se continuó con la caracterización de las dos muestras identificadas como: inicial y concentrada, este se llevó a cabo por medio de Microscopía electrónica de barrido SEM y el Análisis químico EDS en el Laboratorio de Nanociencia y Nanotecnología de la Universidad Pontificia Bolivariana.

### 3.2 IDENTIFICACION DE LOS GRUPOS DE BACTERIAS Y PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DEL SUELO

Para dar inicio a esta fase del proyecto, se llevó a cabo la toma de muestras de suelo. El sitio de muestreo correspondió a la finca La Aurora, localizada en jurisdicción del municipio de Puerto Wilches, del departamento de Santander; la cual hace 10 años está dedicada a la actividad palmera, cuenta con aproximadamente 26.300 hectáreas de plantaciones distribuidas en 19 lotes. Para este proyecto, se seleccionaron tres lotes identificados como el 1, 5 y 10. El tipo de muestreo realizado fue al azar en forma diagonal. Se seleccionaron en total 7 palmas por cada lote, Para cada palma se tomaron 4 submuestras correspondientes a los puntos cardinales de estas, a una distancia de un metro del estípote y a una profundidad de 15 - 20centímetros (Figura 7).

**Figura 7.** Metodología para la toma de muestras de suelo.



**Fuente:** Autor

Finalmente, las submuestras fueron rotuladas, conservadas y llevadas al laboratorio de suelos de la Universidad Pontificia Bolivariana, donde se secaron a temperatura ambiente, se tamizaron y se homogenizaron para conformar la muestra compuesta representativa del área de cultivo de la finca.

Una vez preparado el suelo de estudio, se prosiguió a identificar sus características fisicoquímicas. Las propiedades fisicoquímicas determinadas y los métodos empleados en la determinación se presentan en la tabla 5.

**Tabla 5.** Propiedades determinadas en el suelo

Propiedad	Método
Color	Comparación del suelo del estudio con el Catálogo de colores de Munsell.
Humedad	Método Gravimétrico, diferencia entre el peso seco y húmedo.
Densidad real	Principio de Arquímedes
Textura	Método de Bouyoucos (Bouyoucos, 1962)
Granulometría	Método de prueba estándar para el análisis de tamaño de partícula de Suelos ASTM D-422
pH	Potenciómetro en Solución con KCl y agua destilada
Conductividad Eléctrica	Conductímetro
Capacidad de Intercambio Catiónico	Titulación
Materia Orgánica	Método de oxidación húmeda de la Norma técnica Colombiana
Nitrógeno total	SM 4500-Norg B - SM 4500- NH <sub>3</sub> B, C
Fosforo total	SM 4500-P B, E

**Fuente:** Manual de Laboratorio de Análisis de Suelos, Universidad Pontificia Bolivariana 2009.

La determinación de cada uno de los parámetros de la tabla 5, fueron realizados por triplicado en el Laboratorio de Suelos de la Universidad Pontificia Bolivariana seccional Bucaramanga, a excepción de la determinación de Nitrógeno y fosforo total, los cuales fueron analizados por el Laboratorio de Estudios Ambientales de la Universidad Pontificia Bolivariana – Bucaramanga.

La identificación de microorganismo tuvo lugar en la Facultad de Bacteriología y Laboratorio Clínico de la Universidad de Santander (UDES). Allí se llevó a cabo el recuento inicial de células viables. Esta etapa comprendió la preparación de ocho medios de cultivos selectivos y el extracto de suelo necesario para 3 de ellos, esta solución se preparó con 960 ml de agua destilada y 40 gramos de suelo. La Tabla 6 muestra los medios de cultivo empleados y su respectiva preparación.

**Tabla 6.** Preparación de medios de cultivo selectivo

Medio de cultivo	Composición
<p><b>Agar Burk</b></p> <p>Este medio contiene sales inorgánicas, junto con fuente de carbohidratos, pero carece de fuente de nitrógeno. Las bacterias fijadoras de nitrógeno son capaces de fijar el nitrógeno atmosférico y crecer cuando se cultivan en este medio libre de nitrógeno. Se utiliza para el aislamiento y cultivo de bacterias fijadoras de nitrógeno que utilizan glucosa como fuente de carbono, tales como especies de Azotobacter de suelo.</p>	<p><b>Solución A:</b> <math>K_2HPO_4</math> 6.4 gr, <math>KH_2PO_4</math> 1.6gr en agua destilada 1000 mL.</p> <p><b>Solución B:</b> NaCl 2 gr, <math>MgSO_4</math> 2gr, <math>CaSO_4 \cdot 2H_2O</math> 0.5 gr en agua destilada 1000 mL.</p> <p><b>Solución C:</b> <math>NaMoO_4</math> 0.01 gr, <math>FeSO_4</math> 0.03 gr en agua destilada 1000 mL.</p> <p>100 mL solución A + 100 mL solución B + 100 mL solución C + Glucosa 5 gr en 700 mL de agua destilada. Ajustar pH de 7.2 y luego agregar el Agar-Agar 14 gr.</p>
<p><b>Agar King B</b></p> <p>Medio de cultivo utilizado para el aislamiento, la detección y la diferenciación de especies de Pseudomonas sp. en base a la producción de fluoresceína. En el medio de cultivo, la glicerina favorece la producción de pigmentos, la concentración de fosfatos estimula la producción de fluoresceína e inhibe la producción de piocianina y piorrubina.</p>	<p>Peptona 20gr, <math>K_2HPO_4</math> 1.5 gr, <math>MgSO_4 \cdot 7H_2O</math> 1.5 gr, Glicerol 10mL en 1000 mL de agua destilada. Ajustar pH de 6.8 y luego agregar el Agar-Agar 15 gr.</p>

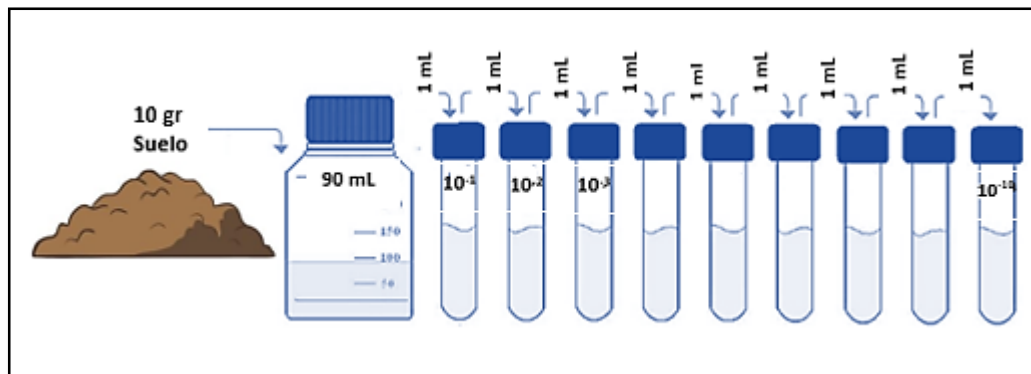
<p><b>Agar Almidón – Caseína o KNO<sub>3</sub></b></p> <p>Este medio se emplea para el aislamiento y cultivo de Actynomyces sp. Streptomyces sp.</p>	<p>Almidón soluble 10gr, KNO<sub>3</sub> 2gr, caseína 0.3 gr, NaCl 2 gr, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2gr, MgSO<sub>4</sub> * 7H<sub>2</sub>O 0.05gr, CaCO<sub>3</sub> 0.03gr, FeSO<sub>4</sub> * 7H<sub>2</sub>O 0.01 gr en 1000 mL de agua destilada. Ajustar pH de 7.0 y luego agregar el Agar-Agar 18 gr.</p>
<p><b>Agar PK</b></p> <p>Medio de cultivo utilizado para el aislamiento y la detección de bacterias Solubilizadoras de fosfato.</p>	<p>Glucosa 10gr, Fosfato de calcio tribásico 5gr, sulfato de amonio 0.5gr, KCl 0.2 gr, MgSO<sub>4</sub> * 7H<sub>2</sub>O 0.3gr, MgSO<sub>4</sub> 0.004gr, FeSO<sub>4</sub> 0.002 gr, NaCl 2 gr, Extracto de levadura 0.5 gr, Purpura de bromocresol 0.1gr, Agar-Agar 13 gr en 1000 mL de agua destilada.</p>
<p><b>Agar Celulíticos</b></p> <p>Contiene celulosa como única fuente de carbono. Sólo bacterias capaces de utilizar este compuesto se pueden desarrollar. Se emplea para el aislamiento de Bacterias celulíticas.</p>	<p>Carboxilmetil-celulosa 5gr, NO<sub>3</sub>NH<sub>4</sub> 1GR, Solución salina 50 mL, extracto de suelo 950 mL en 1000 mL de agua destilada. Ajustar pH de 6.8 – 7.0 y luego agregar el Agar-Agar 15 gr.</p>
<p><b>Agar Amilolíticos</b></p> <p>El objetivo de este medio es comprobar qué bacterias producen amilasa y son por tanto capaces de utilizar el almidón como nutriente.</p>	<p>Almidón soluble 10gr, caseína 10 gr, Glucosa 1 gr, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3gr, MgSO<sub>4</sub> * 7H<sub>2</sub>O 0.1 gr, extracto de suelo 950 mL en 1000 mL de agua destilada. Ajustar pH de 7.0 y luego agregar el Agar-Agar 15 gr.</p>
<p><b>Agar Proteolíticos</b></p> <p>Medio empleado para el aislamiento de bacterias que utilizan aminoácidos como fuente primaria de obtención de energía.</p>	<p>Caseína 10 gr, extracto de levadura 0.1 gr, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.5 gr, MgSO<sub>4</sub> * 7H<sub>2</sub>O 0.58 gr, Solución salina 0.85% 50 mL, extracto de suelo 950 mL en 1000 mL de agua destilada. Ajustar pH de 6.8 y luego agregar el Agar-Agar 15 gr.</p>

Agar NFB	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.4 gr, K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0.1 gr, MgSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O 0.2 gr, NaCl 0.1 gr, CaCl <sub>2</sub> 0.02 gr, FeCl <sub>3</sub> 0.01 MoO <sub>4</sub> Na * 2H <sub>2</sub> O 0.002 gr, ácido málico 5gr, solución alcohólica 0.5% 5 mL en 1000 mL de agua destilada. Ajustar pH de 6.8 (KOH) y luego agregar el Agar-Agar 15 gr.
Agar donde las bacterias fijadoras de nitrógeno que usan malato como fuente de carbono, se reconocen por una película blanquecina bajo la superficie y el viraje de verde al azul.	

**Fuente:** Manual de Medios de Cultivos, Facultad de Microbiología Industrial. Universidad de Santander.

Al finalizar la preparación de los medios, estos fueron esterilizados durante 15 minutos a 150°C en autoclave para posteriormente ser servidos en las cajas Petri. Luego, se realizó la suspensión de 10 gramos de suelo en 90 mL de agua peptona, a partir de esta solución se llevó a cabo diluciones seriadas de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-9</sup> con el fin de garantizar que el número de colonias que tengan lugar en cada medio de cultivo, no sean muy pequeños o por el contrario demasiado grande (figura 8).

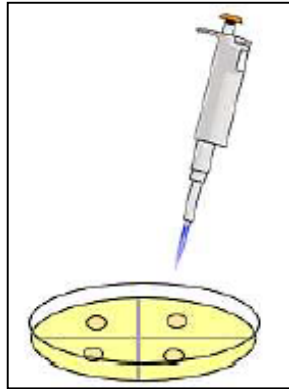
**Figura 8.** Procedimiento para obtención de diluciones seriadas aplicadas en el recuento en placa.



**Fuente:** Autor

El líquido estéril usado para las diluciones fue agua peptona. El método de siembra usado en este estudio, fue el propuesto por Miles y Misra (Figura 9), el cual consiste en dividir en 4 partes la caja Petri en donde en cada sector se lleva a cabo la inoculación de un volumen conocido de la diluciones mediante una micropipeta, en este caso se inoculo 0.01 ml.

**Figura 9.** Método de recuento en placa por siembra de gota en superficie de Miles y Misra 1938.



**Fuente:** WACHSMAN, Mónica y DREGROSSI María. Microbiología: Guía de trabajos prácticos de laboratorio 2012.

Para este proyecto, se realizó la siembra de las diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$  y  $10^{-9}$  para observar la opción más acertada del crecimiento de las bacterias para su posterior conteo. Todas las siembras fueron realizadas por triplicado, e incubadas a temperatura ambiente. Luego de 48 y 72 horas de incubación para algunos medios, se realizó el recuento de unidades formados de Colonias.

Este procedimiento se repitió con cada una de las muestras existentes por triplicado de las 3 concentraciones de nanopartículas planteadas en el diseño experimental, con el objetivo de identificar la inhibición de las nanopartículas en las células de los diferentes grupos funcionales de bacterias presentes en el suelo.

### 3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se establecieron tres concentraciones experimentales para llevar a cabo la evaluación antimicrobial de las nanopartículas de plata en el suelo, las concentraciones fueron basadas en estudios anteriores. La tabla 7. Especifica las concentraciones de AgNPs empleadas en el ensayo.

**Tabla 7.** Concentraciones para el análisis del efecto de AgNPs en el suelo.

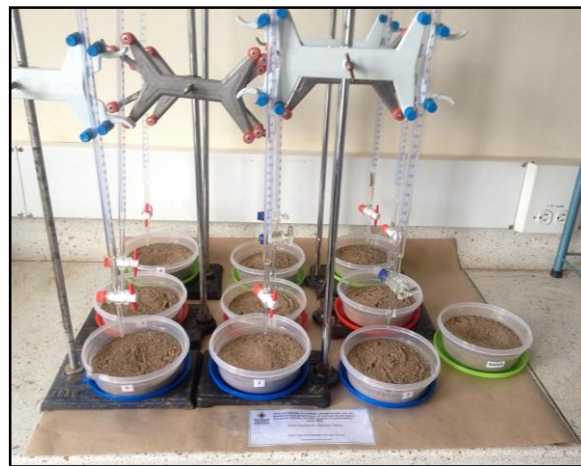
Muestra	Concentración (mg/ml)
Muestra 1	0,01
Muestra 2	0,03
Muestra 3	0,06

Cabe mencionar, que las concentraciones de la muestra 1 y 2 fueron realizadas por medio de diluciones a partir de la muestra inicial de Nanopartículas, mientras la concentración de la muestra 3 se llevó a cabo con la muestra concentrada, es decir con las nanopartículas sintetizadas con el doble de la cantidad de Nitrato de plata.

Para cada una de las concentraciones evaluadas, se realizó el montaje por triplicado en bioreactores plásticos de 0.8 L de volumen. Cada uno de los recipientes contenía 500 gramos de suelo homogenizado a los cuales se les adiciono por medio de una bureta, un volumen de 20 mililitros de la solución de nanopartículas, tal como lo muestra la figura 10.

El proceso se inició bajo condiciones aerobias a temperatura ambiente, la determinación del tiempo estipulado para esta fase, se tomó con base a los resultados reportados por la literatura, en este caso el tiempo de contacto del suelo con las nanopartículas fue de 48 horas.

**Figura 10.** Montaje experimental



**Fuente:** Autor

Tras las 48 horas, cada bioreactor fue mezclado durante 5 minutos con el fin de homogenizar la muestra. Una vez realizado esto, se inició la determinación de las propiedades fisicoquímicas del suelo, con el objetivo de identificar y analizar los cambios que dieron lugar a la adición de las nanopartículas.

## 4. RESULTADOS Y ANALISIS

### 4.1 IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION DE NANOPARTICULAS DE PLATA DE PLATA

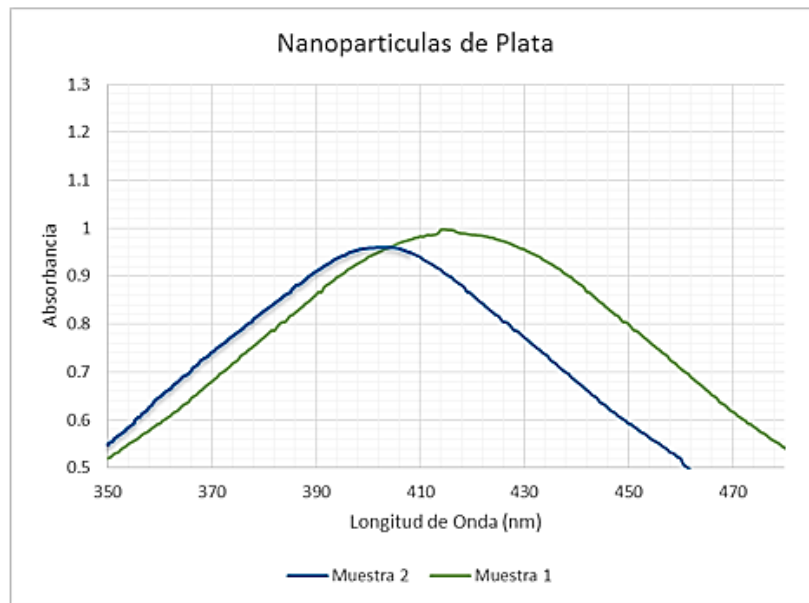
En esta sección se presentan los resultados de la síntesis de las nanopartículas de plata a partir del extracto vegetal de hojas de palma; las cuales para confirmar su formación, fueron identificadas por medio de espectrofotometría visible, caracterizadas mediante microscopía electrónica de barrido y analizadas por espectroscopia de energía dispersiva para determinar y cuantificar la composición de las muestras.

#### 4.1.1 IDENTIFICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA POR ULTRAVIOLETA VISIBLE

La energía de la luz para producir la banda de plasmón en una nanopartícula metálica depende de diversos factores, tales como la naturaleza del metal, el tamaño, la forma de la partícula y la composición del medio circundante de la misma.

Las nanopartículas de plata sintetizadas se analizaron a partir del espectrofotómetro UV-visible DR5000 HACH. Realizando un barrido espectral de 350 a 500 nm, donde se evidencio la ampliación de la banda de absorción relacionada con las nanopartículas de plata de cada una de las muestras. Los espectros UV- visibles obtenidos, demostraron el comportamiento esperado para las AgNPs en interacción con la luz, ya que como lo evidencia la gráfica 2. Las muestras presentaron un espectro alrededor de 420 nm lo que confirma la presencia de nanopartículas metálicas, de según lo descrito por Murray & Barnes 2007. La longitud de onda característica de la muestra 1 fue de 417 nm, mientras la de la muestra 2 fue de 405.

**Grafica 2.** Espectro UV-VIS de las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de hoja de palma africana.



**Fuente:** Autor

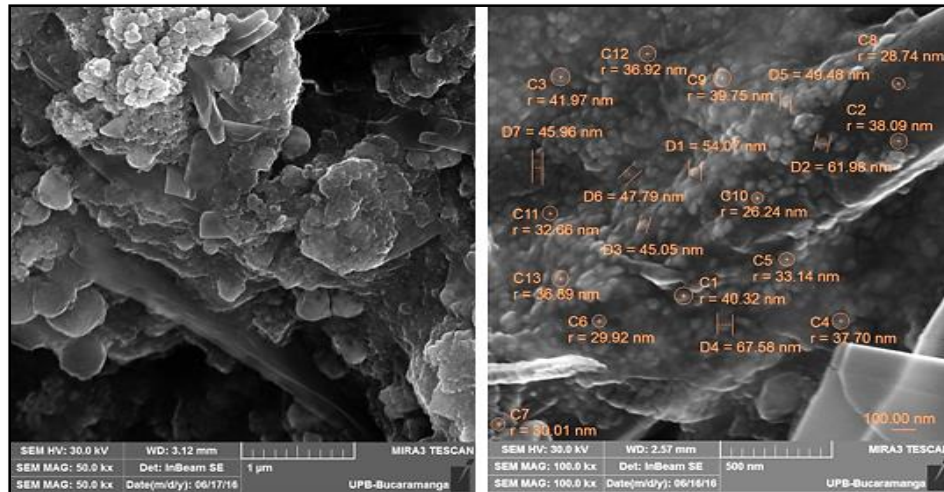
En la gráfica se observa que la muestra 2 posee una menor longitud de onda respecto a la muestra 1, esto indica una disminución en el tamaño promedio de las nanopartículas. Al igual, el ancho de la banda refleja la dispersión del grupo de nanopartículas, es decir, entre más estrecho sea el pico, las nanopartículas presentan grupos de tamaño promedio cercanas entre sí. Lo anterior fue comprobado con las imágenes que se generaron en el microscopio electrónico de barrido.

#### **4.1.2 CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.**

Para iniciar la caracterización, fue necesario secar las muestras a temperatura ambiente y posteriormente recubrirlas con oro de aproximadamente 30 nm de espesor, debido a que estas se encontraban líquidas.

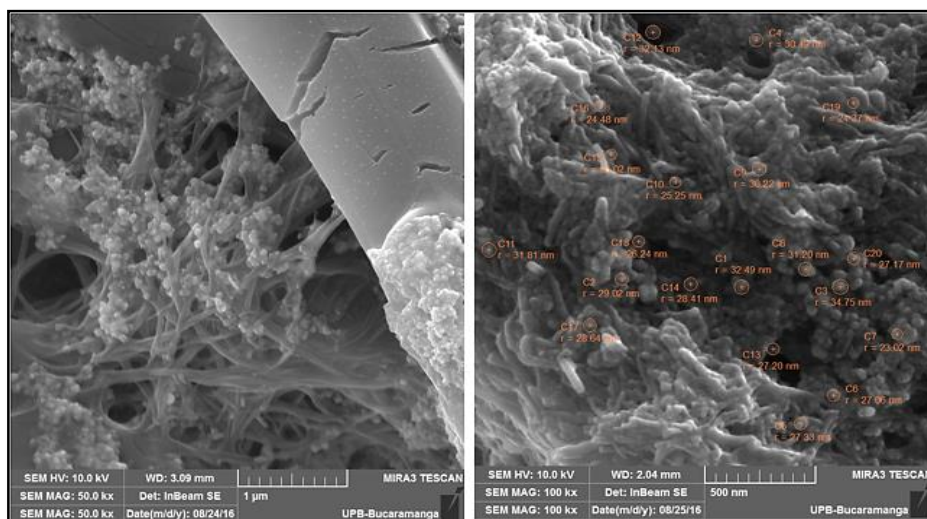
Las imágenes fueron obtenidas con los aumentos 1.000 X, 5.000 X, 50.000 X, 100.000 X, 150.000X y 200.000X con el fin de que estas pudieran ser comparadas posteriormente. En todos los casos, se obtuvieron imágenes con un voltaje de aceleración de electrones de hasta 10 KV con una buena resolución. La grafica 11 y 12 presentan las micrografías de las muestras analizadas.

**Figura 11.** Microcopias electrónicas de barrido de la muestra 1 de nanopartículas de plata a 50.000 X y 100.000 X



**Fuente:** Laboratorio de Nanociencia y Nanotecnología. Universidad Pontificia Bolivariana – Bucaramanga

**Figura 12.** Microcopias electrónicas de barrido de la muestra 2 de nanopartículas de plata a 50.000 X y 100.000 X



**Fuente:** Laboratorio de Nanociencia y Nanotecnología. Universidad Pontificia Bolivariana – Bucaramanga

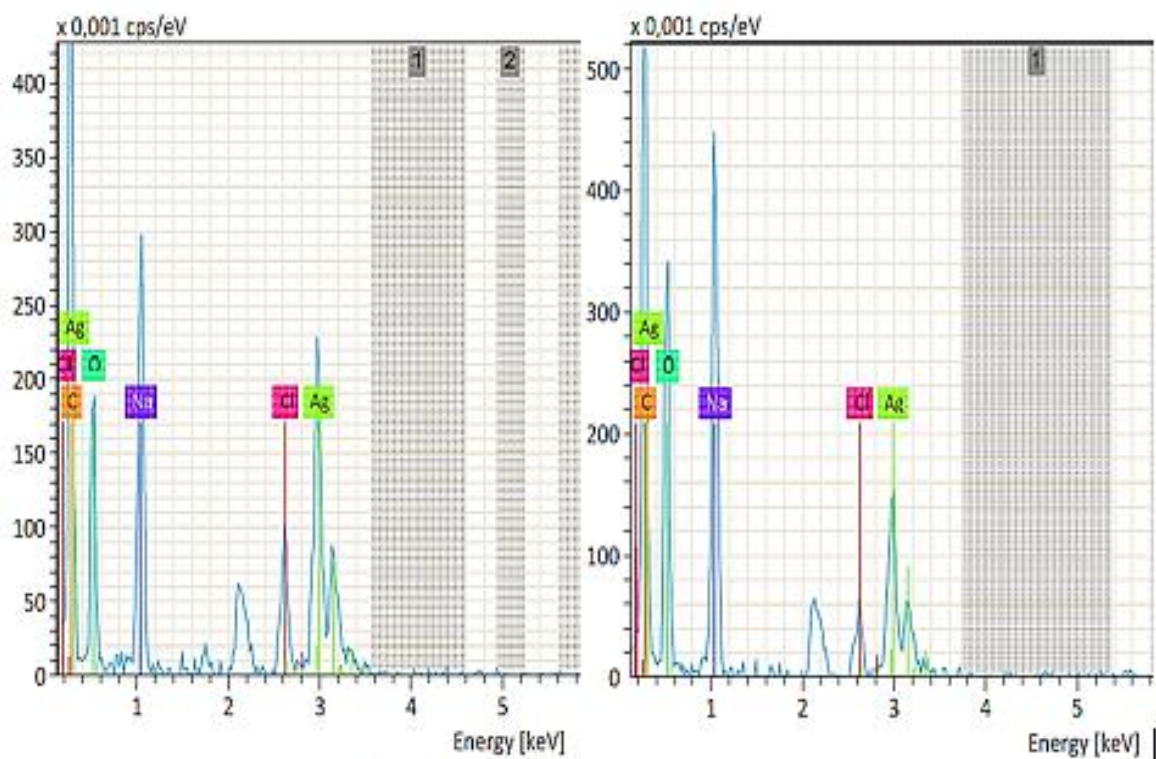
El análisis de la muestra 1, permitió observar la variación en el tamaño y la forma de las nanopartículas. En su mayoría se presentan nanopartículas semiesféricas con tamaños que oscilan entre 22.98 a 41,97 nm, con un promedio en tamaño de 32 nm aproximadamente. En el modo de resolución 50.000X se pudo observar que las AgNPs forman aglomeraciones en la superficie de la microfibras posiblemente del material vegetal empleado, lo cual representa la interacción entre las nanopartículas. Esta característica podría generar un mayor efecto antifúngico, debido al “ataque” simultaneo de AgNPs aun aunque esta condición de interacción afecte la estabilidad de la suspensión coloidal (Khan *et al*, 2009; Cheow *et al*, 2010; Zgang *et al*, 2010).

La muestra 2 también posee nanopartículas semiesféricas y aglomeradas; pero a diferencia de la muestra 1, estas presentan un tamaño menor, ya que oscilan entre 23 a 34.75 nm, obteniendo un promedio en tamaño de 27.98 nm. Lo anterior confirma la relación existente entre el tamaño de la longitud de onda, la abertura de su pico y el tamaño de las nanopartículas. A menor longitud de onda, menor será el tamaño de las nanopartículas y por otro lado, entre más estrecho sea el pico del espectro, menor será la variación de tamaño que presentan las nanopartículas, es decir que se caracterizaran por tener un distribución de tamaño más homogénea.

#### **4.1.3 ANÁLISIS CON ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSIVA EDS**

El análisis por EDS realizado a las muestras de AgNPs incluyó la generación de espectros de energía cuántica para identificación de elementos, cuantificación porcentual para determinar cantidades de dichos materiales presentes en los puntos de interés de la superficie de la muestra. En la figura 13, se representa el espectro EDS obtenidos para la muestra 1 y 2 con su caracterización respectiva en porcentaje de peso y porcentaje atómico de los elementos encontrados

**Figura 13.** Espectros EDS y caracterización respectiva en porcentaje de peso y porcentaje atómico de los elementos encontrados.



Element	At. No.	Line s.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]
Carbon	6	K-Serie	2113	19,95	23,96	50,41
Oxygen	8	K-Serie	850	11,59	13,91	21,98
Sodium	11	K-Serie	1603	9,97	11,97	13,16
Chlorine	17	K-Serie	681	4,68	5,62	4,01
Silver	47	L-Serie	2766	37,09	44,54	10,44
			Sum	83,27	100,00	100,00

Element	At. No.	Line s.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]
Carbon	6	K-Serie	1556	19,88	26,61	47,11
Oxygen	8	K-Serie	1005	16,62	22,25	29,57
Sodium	11	K-Serie	1543	12,19	16,31	15,09
Chlorine	17	K-Serie	270	2,53	3,39	2,03
Silver	47	L-Serie	1295	23,48	31,43	6,20
			Sum	74,70	100,00	100,00

**Fuente:** Laboratorio de Nanociencia y Nanotecnología. Universidad Pontificia Bolivariana – Bucaramanga

Los elementos detectados mediante el EDS se rastrearon en los puntos de interés de la muestra, los cuales indicaron la presencia de elementales tales como Oxígeno (O), Carbono (C), Sodio, Cloro (Cl) y Plata (Ag). Se evidencia un mayor porcentaje de plata proveniente de la síntesis de las nanopartículas, con esto se confirmó la presencia de compuestos de plata deseados en las muestras. El contenido de C y O provienen de los composición de las hojas de palma, por otro lado la obtención de Na se debe a la sustancia empleada para estabilizar las nanopartículas.

## 4.2 CARACTERIZACION FISICOQUIMICA Y MICROBIOLOGICA INICIAL DEL SUELO

Al suelo proveniente del municipio de Puerto Wilches – Santander, se le realizo el análisis de las características fisicoquímicas y microbiológicas presentadas en las tabla 7.

### 4.2.1 PROPIEDADES FÍSICAS

#### 4.2.1.1 Determinación de Color

El método usado para la determinación de color fue la Comparación del suelo analizado con el Catálogo de colores de Munsell. La figura 14. Muestra el resultado obtenido.

**Figura 14.** Tabla de Munsell



**Fuente:** Autor

De acuerdo a la figura anterior, el resultado obtenido en la tabla de Munsell es de 10 YR 4/3, indicando un color marrón. El color del suelo depende de sus componentes y varía con el contenido de humedad, materia orgánica presente y grado de oxidación de minerales. Cuando los suelos son de color oscuro es porque cuentan con mayor cantidad de materia orgánica. Si su textura es de tonalidades rojizas, pardas o amarillentas, quiere decir que poseen una ventilación mayor y no se saturan (Moreno Ramón, Blanquer, & Ibáñez Asensio, 2005).

#### 4.2.1.2 Determinación de la Densidad real (Dr)

La densidad real obtenida en el suelo objeto de estudio se midió mediante el método del principio de Arquímedes y se presentan los resultados en la tabla 8. La ecuación usada para determinar la densidad real es:

$$Dr = \frac{\text{masa del suelo seco}}{\text{volumen del suelo seco}}$$

**Tabla 8.** Determinación de la densidad real del suelo

Muestra	Peso muestra de suelo (g)	Volumen del líquido desplazado (ml)	Densidad real (g/ml)
1	20	12	1.7
2	20	12	1.7
3	20	12.5	1.6
Promedio	20	12.17	<b>1.66</b>

**Fuente:** Autor

Para fines prácticos, se asume como un valor promedio adecuado de densidad real para suelos minerales, 2.65 g/ml. Este valor será apropiado para un suelo cuya composición mineralógica esté equitativamente distribuida entre los filo y tectosilicatos como cuarzo, ortoclasa, plagioclasa, montmorillonita y caolinita, por ejemplo (Jaramillo 2002).

La densidad real promedio obtenida en el suelo fue de 1.66g/ml. Lo cual puede indicar la presencia de altos contenidos de materia orgánica y/o de aluminosilicatos no cristalinos en el suelo (Jaramillo 2002).

#### 4.2.1.3 Determinación del Contenido de Humedad (HG)

La determinación del contenido de humedad se halló relacionando el peso del suelo húmedo y una vez secado al horno por 24 horas a 105 °C, expresando el resultado en porcentaje, tal como muestra la tabla 9.

$$\%HG = \frac{\text{Peso muestra húmeda} - \text{peso muestra seca}}{\text{peso muestra seca}} * 100$$

**Tabla 9.** Determinación del contenido de humedad

Muestra	Peso de la muestra de suelo húmedo (g)	Peso de la muestra de suelo seco (g)	% Humedad Gravimétrica
1	10	9.6	4.16
2	9.9	9.6	3.13
3	10	9.6	4.16
Promedio	9.97	9.6	<b>3.81</b>

**Fuente:** Autor

El resultado promedio de humedad en el suelo fue de 3.81% lo cual indica que la humedad del suelo es baja. Este resultado está directamente relacionado con el tipo de partículas que predominan en el suelo. En caso de suelos arenosos se presenta una alta capacidad de infiltración y drenaje rápido, lo cual impide la retención de agua en el suelo.

#### 4.2.1.4 Determinación de Textura: Método de Bouyoucos.

Consistió en determinar los porcentajes de partículas de arena, limo y arcilla en el suelo. La tabla 10 muestra los resultados registrados de las tres lecturas de tres lecturas del hidrómetro.

**Tabla 10.** Resultados de lecturas del hidrómetro en la determinación de textura.

Muestra	Lectura a los 40 segundos			Lectura a las 2 horas		
	Hidrómetro (g/L)	Termómetro (°C)	Hidrómetro Corregido (g/L)	Hidrómetro (g/L)	Termómetro (°C)	Hidrómetro Corregido (g/L)
1	14	22	7.33	13	22	6.33
2	16	22	9.33	12.5	22	5.83
3	15	22	8.33	12	22	5.33

**Fuente:** Autor.

A partir de los datos anteriores, se calculó los porcentajes correspondientes aplicando las siguientes formulas.

$$\% \text{Arena} = 100 - \frac{\text{lectura corregida a 40 segundos} * 100}{\text{peso de la muestra}}$$

$$\% \text{Arcilla} = \frac{\text{lectura corregida a las 2 horas} * 100}{\text{peso de la muestra}}$$

$$\% \text{Limo} = 100 - (\% \text{Arena} + \% \text{Arcilla})$$

**Tabla 11.** Determinación de la textura por el método de Bouyoucos.

Muestra	% Arena	% Arcilla	% Limo	TIPO DE SUELO
1	85.34	12.7	1.96	<b>Arenoso franco</b>
2	81.34	11.66	7.6	
3	83.34	10.66	6	
Promedio	<b>83.34</b>	<b>11.66</b>	<b>5.2</b>	

**Fuente:** Autor

Haciendo uso del diagrama triangular de clasificación de suelos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (véase figura 4) y la proporción relativa de partículas, se determinó el tipo de suelo. Como resultado, se clasificó el suelo como Arenoso franco; por lo cual se le atribuye características como la alta capacidad de infiltración y drenaje rápido; lo cual genera el contenido bajo de humedad que posee el suelo.

#### 4.2.1.5 Determinación de Granulometría: Método ASTM D422

El análisis de granulometría permitió determinar la proporción de granos del suelo en función de su tamaño.

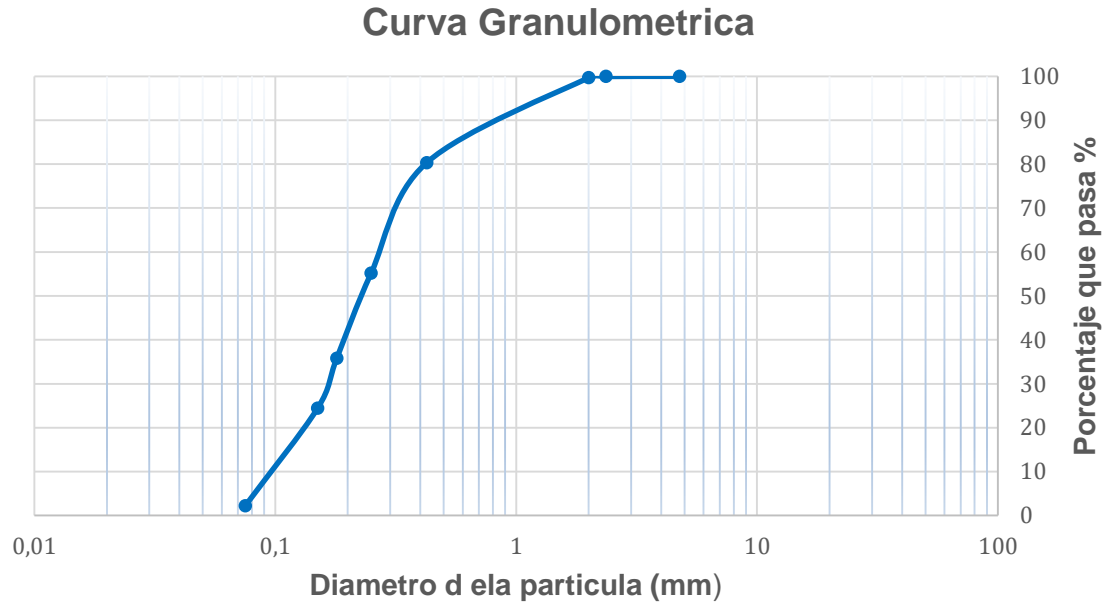
Esta determinación se llevó a cabo por medio del cribado del suelo mediante el paso de las muestras por una serie de tamices con diámetros conocidos, decrecientes y el peso correspondiente de cada porción. La tabla 12 muestra los porcentajes de las partículas presentes en el suelo.

**Tabla 12.** Porcentajes tamizados para la determinación de la granulometría del suelo.

Muestra	Limo y arcilla	Arena fina			Arena media		Arena gruesa	Gravas	
Tamiz	Fondo	200	100	80	60	40	10	8	4
Diámetro de malla (mm)	<0.075	0.075	0.15	0.18	0.25	0.425	2	2.36	4.76
Porcentaje en masa de la fracción retenida (%)	2.22	22.24	11.32	19.37	25.17	19.36	0.28	0.039	0

**Fuente:** Autor

Se relacionó el tamaño de las partículas con el porcentaje que representan en el suelo. La grafica 3 ilustra la curva de granulometría generada.



Arcilla	Fina	Media	Gruesa	Fina	Media	Gruesa
	Arena			Grava		

**Grafica 3.** Curva de granulometría del suelo.

La gradación del suelo se expresa numéricamente a través de la determinación del coeficiente de uniformidad y el coeficiente de curvatura, a partir de las siguientes ecuaciones:

$$\text{Coeficiente uniformidad } (Cu) = \frac{D60}{D10}$$

$$\text{Coeficiente curvatura } (Cc) = \frac{(D30)^2}{D10 * D60}$$

Donde D60, D30 y D10 corresponden al diámetro de la partícula en los porcentajes 60%, 30% y 10% respectivamente.

El coeficiente de uniformidad representa el grado de distribución de las partículas en el suelo, mientras el coeficiente de curvatura hace referencia al equilibrio entre los diferentes tamaños de partículas y su homogeneidad.

Los coeficientes obtenidos para el suelo estudiado fueron:

$$\text{Coeficiente uniformidad } (Cu) = \frac{0.28}{0.098} = 2.85$$

$$\text{Coeficiente curvatura } (Cc) = \frac{(0.17)^2}{0.098 * 0.28} = 1.05$$

El valor de 2.85 en el coeficiente de uniformidad, indica que el suelo no presenta una distribución equitativa, por tal razón, este no está bien gradado, ya que un suelo bien gradado se caracteriza cuando su  $C_u > 4$  a 6. El valor de 1.05 obtenido en el coeficiente de curvatura, Indica que el suelo presenta un nivel considerable de homogeneidad, debido a que este valor se encuentra en el rango de 1 a 3. Finalmente, los resultados obtenidos en el análisis granulométrico del suelo, guardan relación con los obtenidos en la determinación de textura por el método de Bouyoucos; donde se clasifico al suelo como arenoso franco, debido a que las partículas que predominan en el suelo, son las arenas con un 83%. Con lo cual se evidencia la ausencia de una distribución equitativa de partículas.

## 4.2.2 PROPIEDADES QUÍMICAS

### 4.2.2.1 Determinación del pH

El pH del suelo se determinó por el método potenciométrico, el cual comprende una solución suelo-agua y otra de suelo-KCl, cuyos resultados se reportan en la tabla 13. La variación del pH se halló para la identificación del tipo de cargas de los coloides, donde  $\Delta pH = pH \text{ en KCl} - pH \text{ en agua}$ .

**Tabla 13.** Determinación del pH del suelo.

Muestra	pH en agua	pH en KCl	$\Delta pH$
1	5.77	4.00	-1.77
2	5.89	4.05	-1.84
3	5.84	4.03	-1.801
Promedio	<b>5.83</b>	<b>4.03</b>	<b>-1.80</b>

**Fuente:** Autor

La determinación de pH en agua, define al suelo como moderadamente ácido y el pH obtenido en KCl lo muestra fuertemente ácido; por lo anterior se puede clasificar como un suelo ácido. Suelo mineral con formas de aluminio intercambiable  $Al(OH)^{2+}$  y  $Al^{3+}$ .

El resultado de  $\Delta pH$  negativo en el triplicado de la muestra, indica que en este suelo predomina la carga negativa y por lo tal, es un suelo intercambiador catiónico; es decir intercambia cationes con la fase acuosa del mismo (Jaramillo, 2002).

### 4.2.2.2 Determinación de la Conductividad Eléctrica (CE)

La conductividad eléctrica se analizó por el método del conductímetro a partir de una solución suelo-agua, con la finalidad de conocer la cantidad de sales presentes en el suelo. La tabla 14 muestra los resultados obtenidos.

**Tabla 14.** Determinación de la conductividad eléctrica del suelo.

Muestra	Conductividad eléctrica (ds/m)
1	0.18
2	0.14
3	0.17
Promedio	<b>0.16</b>

**Fuente:** Autor

La conductividad eléctrica en una mezcla de suelo-agua indica la cantidad de sales que posee el suelo. Las sales son esenciales para el crecimiento de las plantas pero sin embargo el exceso de sales inhibe el crecimiento de estas. La CE promedio del suelo de estudio es de 0.16 ds/m, lo cual le confiere al suelo características de no salino, por lo cual la cantidad de microorganismo afectados es baja y sus efectos en cultivos son despreciable, según (Soil Survey Staff (1993), Janzen (1993); Smith y Doran (1996)).

#### 4.2.2.3 Determinación de la Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)

Esta determina la capacidad del suelo para adsorber e intercambiar cationes importantes para la nutrición de las plantas. La tabla 15 muestra los resultados obtenidos del suelo.

**Tabla 15.** Determinación de la capacidad de intercambio catiónico.

Muestra	CIC (meq/100g)
1	9.8
2	7.4
3	6.5
Promedio	<b>7.8</b>

**Fuente:** Autor

El resultado promedio obtenido fue de 7.8 meq/100g. Según el Instituto Geográfico Agustín Codazzi, un suelo con un resultado menor a 10 meq/100g se clasifica con baja capacidad de intercambio catiónico, es decir que logra retener una pequeña porción de las bases del suelo y las demás se estarían perdiendo por lixiviación, ocasionando que el suelo quede con poca reserva de cationes intercambiables. Este resultado guarda relación con la textura que presenta el suelo; los suelos donde predominan las arenas y el contenido de arcilla es bajo, poseen poca capacidad de intercambio catiónico ya que las arcillas son las partículas más finas del suelo que atraen y absorben los cationes (González *et al*,2010).

#### 4.2.2.4 Determinación de Carbono y la Materia Orgánica

Se determinó mediante el método de oxidación húmeda de la Norma técnica Colombiana

**Tabla 16.** Determinación del contenido de materia orgánica y porcentaje de Carbono.

Muestra	%MO	%C
1	1.08	0.625
2	1.08	0.625
3	1.08	0.625
Promedio	<b>1.08</b>	<b>0.625</b>

Fuente: Autor

Para el análisis obtenido del porcentaje de materia orgánica, se tuvo en cuenta el resultado promedio del %MO y la interpretación señalada en la tabla 17.

**Tabla 17.** Interpretación contenido de materia orgánica

Interpretación	%MO
<b>Extremadamente pobre</b>	0 – 0.2
<b>Pobre</b>	0.8 – 2
<b>Regular</b>	2 - 4
<b>Medianamente rico</b>	4 - 8
<b>Rico</b>	8 - 15
<b>Muy rico</b>	15 - 30
<b>Extremadamente rico</b>	>30

Fuente: Ríos, 2005

Según los resultados obtenidos y a la literatura, el suelo tiene un contenido pobre de materia orgánica y bajo porcentaje de Carbono (Ruiz, 2012), lo cual es característico de suelos con poca capacidad de retener agua y con baja capacidad de intercambio catiónico; lo cual está acorde con los resultados expuestos anteriormente. El suelo de estudio se puede clasificar como suelo Mineral, ya que su el porcentaje de materia orgánica es inferior a 20%.

#### 4.2.2.5 Determinación de Nitrógeno Total

La tabla 18 muestra la cantidad de Nitrógeno que contiene el suelo de estudio

**Tabla 18.** Determinación del porcentaje de Nitrógeno.

Muestra	Nitrógeno (mgNTK / Kg)	%Nitrógeno
Promedio	696	0.0696

Fuente: Autor

**Tabla 19.** Interpretación del porcentaje de Nitrógeno total en el suelo.

Interpretación	%Nitrógeno
<b>Extremadamente pobre</b>	<0.032
<b>Pobre</b>	0.032 - 0.063
<b>Regular</b>	0.064 - 0.095
<b>Medianamente rico</b>	0.096 - 0.126
<b>Rico</b>	0.127 - 0.158
<b>Muy rico</b>	0.159 - 0.221
<b>Extremadamente rico</b>	>0.221

Fuente: Ríos, 2005

El nitrógeno es necesario para la descomposición de la materia orgánica por los microorganismos heterótrofos del suelo; de acuerdo a los resultados reportados por el Laboratorio de Estudios Ambientales de la Universidad pontificia Bolivariana y de la tabla 19; el suelo se caracteriza por contener un nivel regular de Nitrógeno. Probablemente, parte del contenido de Nitrógeno hallado es proveniente de los diferentes fertilizantes usados durante el tiempo de cultivo.

#### 4.2.2.5 Determinación de Fosforo Total

**Tabla 20.** Resultado de la determinación de Fosforo total.

Muestra	Fosforo (mg $Po_4$ / Kg)
Promedio	71.1

Fuente: Autor

**Tabla 21.** Clasificación de la deficiencia de fosforo y su corrección.

Nivel	Clasificación	Dosis corrección Deficiencia ( $P_2O_5$ Kg/Ha)
<5	Muy bajo	180
5 - 10	Bajo	135
11 - 15	Medio bajo	90
16 - 30	Norma	45
>30	Alto	0

Fuente: Hugo Eduardo Castro franco, 1998

Con base a los resultados entregados por el Laboratorio de Estudios Ambientales de la Universidad pontificia Bolivariana y de la tabla 21. El suelo posee un alto nivel de Fosforo por lo cual, no es necesario realizar una corrección de deficiencia para estimular el desarrollo de las raíces y el crecimiento aéreo de la planta.

Fassbender (1978) menciona que la relación existente entre el Carbono/Nitrogeno y Carbono/Fosforo son criterios muy importantes de características de la materia orgánica de los suelos. El carbono se incorpora a la biomasa de las plantas a partir del CO<sub>2</sub> atmosférico, por medio de la fotosíntesis, mientras que el N puede ser absorbido del suelo o bien en algunas plantas, ser fijado biológicamente a partir del N<sub>2</sub> atmosférico (Porta et al., 2003). La relación C/N, determina la tasa a la cual el nitrógeno esta disponible para las plantas, por lo que se puede utilizar como indicador de calidad de la Materia Orgánica de medios aerobios, si sólo se atiende a la facilidad de descomposición (Porta et al., 2003).

La MO con una relación C/N muy alta (>15), suministra mucha energía y poco nitrógeno, mientras que con una relación C/N muy baja (<10), suministra poca energía y mucho nitrógeno. En ambos casos los microorganismos desintegradores se multiplican poco activamente y la MO se descompone con lentitud. En cambio los residuos vegetales con una relación C/N equilibrada (10-12), favorecen la proliferación de los microorganismos y la descomposición rápida de la MO (Fuentes, 1994).

### **Relación C/N**

$$\frac{0.625\%}{0.0696\%} = 8.98$$

La relación C/N no cumple con el rango óptimo sugerido por la literatura, debido al suministro bajo de energía y al alto nivel de Nitrógeno respecto a la cantidad de carbono que posee al suelo, indicando una relación excesiva entre el carbono y el nitrógeno del suelo. No es necesario suministrar nitrógeno, ya que se posee suficiente nitrógeno para satisfacer las necesidades de los microorganismos degradantes. Por lo tanto a medida que los residuos se descomponen, habrá nitrógeno en exceso con relación al que necesitan, el cual se libera como amoníaco (Navarro, 2003).

Por otro lado, los compuestos fosfatados más importantes de la materia orgánica son nucleoproteínas, fosfolípidos y fosfoazúcares. El proceso de mineralización está regido por la relación C/P de la materia orgánica, cuyo valor crítico es aproximadamente 200. Por encima de este valor se produce depresión del fosfato inorgánico Sanzano, 2012).

Fuentes (1999) explica que al igual que al nitrógeno, el fósforo orgánico tiene un ciclo de mineralización e inmovilización. Carbono, nitrógeno, fósforo orgánico se encuentra en el suelo en una proporción media de 100:10:1. La relación C/P condiciona la mineralización del fósforo orgánico, de tal forma que se produce liberación de fósforo cuando esa relación es inferior a 300.

## Relación C/P

$$\frac{0.625\%}{0.00711\%} = 87$$

De acuerdo a lo reportado por Sanzano y Fuentes, el suelo de estudio posee una relación C/P normal ya que se encuentra por debajo de 200 y 300 respectivamente a lo establecido por los autores. Lo cual indica que el suelo lleva a cabo un proceso de mineralización bueno, lo cual se vio reflejado con su alto contenido de Fosforo, esto guarda relación al considerar el suelo como altamente mineral luego de determinar su porcentaje de materia orgánica.

De acuerdo a las propiedades fisicoquímicas analizadas del suelo y a las relaciones anteriores, se observó que debido a los bajos niveles de materia orgánica, se ve afectado directamente el suelo, ya que esta influye sobre otras propiedades, ocasionando la disminución de la capacidad de intercambio catiónico, la reducción en disponibilidad de nutrientes para las plantas, el aumento en la susceptibilidad del suelo a la erosión, la disminución de la capacidad de retener agua, entre otras.

### 4.3 IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES DE BACTERIAS EN EL SUELO

En ecosistemas perturbados, un estudio microbiológico de suelo es crucial debido a que los microorganismos juegan un papel fundamental en gran parte de los ciclos globales de nutrientes, y como bioindicadores pueden arrojar un diagnóstico acerca de la calidad actual del suelo. El equilibrio dinámico de la acción microbiana genera cambios en la composición de la Materia Orgánica (Dick, 1983).

Luego de 72 horas de la inoculación, se procedió a realizar el recuento de las colonias que mostraron la actividad cualitativa representativa. Las colonias que se consideraron positivas fueron las que mostraron características propias de cada grupo de bacterias. Para las fijadoras de nitrógeno, se consideran como positivas todas las colonias, ya que el medio selectivo empleado, no cuenta con una fuente de nitrógeno y se asume que si un microorganismo crece en él, es porque puede tomar el nitrógeno atmosférico por medio de la fijación, para su óptimo crecimiento y metabolismo. La Tabla 22 contiene el recuento de células viables en placa que permitieron determinar el valor de unidades formadoras de colonias.

**Tabla 22.** Recuento de células viables

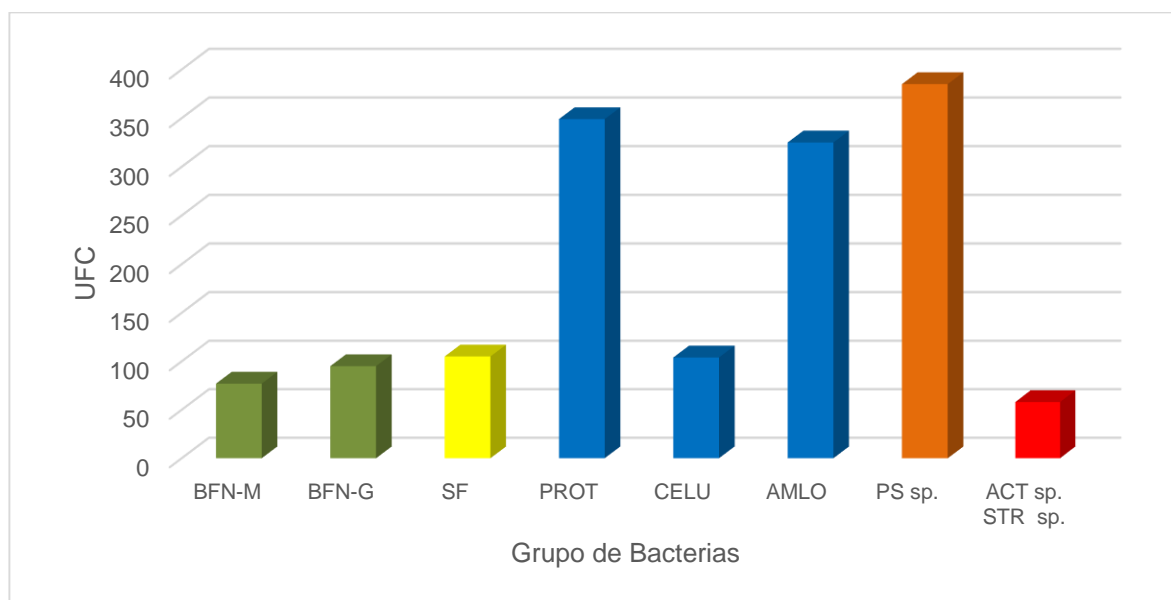
GRUPO DE BACTERIAS	DILUCIONES			
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-9</sup>
Bacterias fijadoras de Nitrógeno - Malato	18	1	0	2
Proteolíticas	>100	3	1	3

<i>Actynomyces sp. Streptomyces sp.</i>	16	2	0	0
Celulíticas	10	3	2	5
Aminolíticas	>100	5	0	0
Bacterias fijadoras de Nitrógeno-Glucosa	18	5	1	1
Solubilizadoras de Fosfatos	30	3	0	0
<i>Pseudomonas sp.</i>	>100	17	0	0

Fuente: Autor

Se observó que en las diluciones  $10^{-3}$  y  $10^{-5}$  obtuvieron mayor número de células viables y que estas fueron disminuyendo a medida que aumentaba la dilución. De acuerdo a la tabla 21 se determinó las unidades formadoras de Colonias para su respectivo análisis, el grafico 4. Representa las unidades formadoras de colonias para cada grupo de bacteria.

**Grafico 4.** UFC de los grupos de bacterias



**BFN-M:** fijadoras de nitrógeno a base de Malato, **BFN-G:** fijadoras de nitrógeno a base de glucosa, **SF:** solubilizadoras de Fosfatos, **PROT:** proteolíticas, **CELU:** celulíticas, **AMNO:** amilolíticas, **PS sp:** *Pseudomonas sp.* **ACT Sp STR sp:** *Actynomyces sp. Streptomyces sp.*

Fuente: Autor

El grupo de bacterias presente en mayor cantidad en el suelo son las *Pseudomonas sp.* Ya que corresponden al 25.7% de la población total de bacterias identificadas. Seguido se encuentran las proteolíticas con 23.3% y Aminolíticas con 21.7%; es importante destacar que las poblaciones de bacterias proteolíticas exhibieron los

promedios poblacionales más altos en relación a los otros dos grupos funcionales de microorganismos asociados al ciclo de carbono, lo que indica que el material vegetal que prevalece en la zona, brinda aminoácidos que son reserva energética de las plantas y que se descomponen más rápido que la celulosa y el almidón. La causa por la cual, la población de bacterias celulíticas presento una tasa baja de crecimiento se debe a que estos microorganismos se presentan en mayor proporción en pHs no muy ácidos (5,5 - 6,0), según Fuentes et al., (2006).

Por otro lado, las bacterias implicadas en el ciclo de nitrógeno presentaron los promedios poblacionales más bajos en el suelo, lo cual se vio reflejado con los resultados obtenidos en el contenido de nitrógeno total en el suelo. Este descenso podría explicarse ya que, según Padrón et ál., (2012) los diferentes tipos de disturbio que afectan los suelos, pueden crear condiciones adversas como la anaerobiosis, compactación del suelo y ausencia de cobertura vegetal que son características que pueden reducir la biodiversidad y la actividad de los microorganismos fijadores de nitrógeno. Además, se observó que los recuentos poblacionales más bajos son los de BFN que usan malato como fuente de C con respecto a las que usan glucosa, esto puede ser debido a que el desarrollo de comunidades de bacterias fijadoras de nitrógeno que usan el malato, resulta ser más compleja ya que dicho sustrato no es tan abundante como la glucosa en los suelos.

Se registró que las bacterias solubilizadoras de fosfato representan el 7% de la población total del suelo. Encontrándose en densidades comparables con los grupos funcionales de bacterias fijadoras de nitrógeno, a diferencia de lo reportado por Torres et ál., 2006, quienes indican que los recuentos del grupo funcional de solubilizadoras de fosfato en suelos son bajos en relación a los reportados para los grupos funcionales del N. Finalmente, las bacterias *Actynomyces sp.* *Streptomyces sp.* , reportan la menor población en el suelo analizado.

La cantidad y diversidad de microorganismo en un suelo se ve alterado por factores como distribución vertical de los nutrientes, el pH, la presencia de sustancias antimicrobianas. También la elevación de la humedad del suelo sobre un cierto nivel puede modificar considerablemente el equilibrio microbiano (Carrillo, 2003).

## **4.4 ANÁLISIS DEL EFECTO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN EL SUELO**

### **4.4.1 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DEL SUELO**

Tras la adicción de las nanopartículas al suelo, se espera que estas modifiquen algunas de las propiedades fisicoquímicas determinadas en la fase 2 del proyecto. En esta sección se presentaran los resultados del contenido de humedad, textura, pH, conductividad eléctrica, Capacidad de intercambio catiónico y materia orgánica.

#### 4.4.1.1 Determinación del contenido de humedad (HG)

La determinación del contenido de humedad del suelo, aumento insignificativamente luego de las 48 horas en contacto con las diferentes concentraciones de nanopartículas plata, la tabla 23. Presenta los cambios obtenidos en esta propiedad física en el suelo.

**Tabla 23.** Determinación del contenido de humedad a partir de las diferentes concentraciones de AgNPs.

Concentraciones	Muestras	% Humedad Gravimétrica	% Humedad Gravimétrica promedio
[ ] <sub>1</sub>	1	3.85	<b>3.84</b>
	2	3.84	
	3	3.83	
[ ] <sub>2</sub>	4	3.84	<b>3.83</b>
	5	3.82	
	6	3.85	
[ ] <sub>3</sub>	7	3.86	<b>3.84</b>
	8	3.84	
	9	3.82	

Fuente: Autor

El resultado promedio de humedad en el suelo con las tres concentraciones de AgNPs es muy similar al del suelo inicial, por tal razón no se observó un cambio considerable ya que el suelo continua caracterizándose por poseer un contenido de humedad bajo.

#### 4.4.1.2 Determinación de Textura

El efecto de las Nanopartículas en el suelo, se determinó mediante el Método de Bouyoucos. La tabla 24, presenta los resultados obtenidos en las diferentes muestras.

**Tabla 24.** Determinación de la textura por el método de Bouyoucos.

Concentraciones	Muestra	% Arena	% Arcilla	% Limo	Tipo de suelo
[ ] <sub>1</sub>	1	88.88	6.27	4.85	Arenoso
	2	87.80	7.07	5.13	Arenoso
	3	88.79	6.40	4.81	Arenoso

[ ] <sub>2</sub>	4	88.72	6.86	4.42	Arenoso
	5	89.68	6.50	3.82	Arenoso
	6	88.56	7.59	3.85	Arenoso
[ ] <sub>3</sub>	7	90.31	7.36	2.33	Arenoso
	8	89.98	7.24	2.78	Arenoso
	9	90.18	7.41	2.41	Arenoso

Fuente: Autor

Haciendo uso del diagrama triangular de clasificación de suelos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (véase figura 4) y la proporción relativa de partículas, se determinó que el suelo paso de ser un suelo arenosos franco a un suelo netamente arenoso, cabe destacar que la adición de las nanopartículas, aumento el porcentaje de arena en un 5.87%, ocasionando la disminución en el porcentaje de arcilla y de limo respecto al suelo inicial. Por tal razón se deduce que la concentración de las nanopartículas y su adición al suelo conllevan a cambios significativos en la clase textural del suelo, lo cual atribuye efectos poco deseados para en el suelo.

#### 4.4.1.3 Determinación de pH

El pH del suelo se determinó por el método potenciométrico, el cual comprende una solución suelo-agua y otra de suelo-KCl, cuyos resultados se reportan en la tabla 25.

**Tabla 25.** Determinación del pH del suelo.

Concentraciones	Muestra	pH en agua	pH en KCl	$\Delta$ pH
[ ] <sub>1</sub>	1	5.76	3.95	-1.81
	2	5.65	3.98	-1.67
	3	5.69	3.93	-1.76
	<b>Promedio</b>	<b>5.7</b>	<b>3.95</b>	<b>-1.74</b>
[ ] <sub>2</sub>	4	5.48	3.89	-1.6
	5	5.53	3.85	-1.68
	6	5.5	3.86	-1.64
	<b>Promedio</b>	<b>5.5</b>	<b>3.87</b>	<b>-1.64</b>
[ ] <sub>3</sub>	7	5.35	3.74	-1.61
	8	5.29	3.8	-1.5
	9	5.41	3.79	-1.62
	<b>Promedio</b>	<b>5.35</b>	<b>3.78</b>	<b>-1.58</b>

Fuente: Autor

La determinación de pH se vio disminuido a medida de que aumentaban las concentraciones de nanopartículas en el suelo. El pH en agua del suelo en presencia de la concentración menor usada de AgNPs se mantiene en la clasificación como moderadamente ácido, mientras que con la concentración 2 y 3

paso a ser considerado como fuertemente ácido. Por otro lado, el pH en KCl del suelo con las tres concentraciones de AgNPs pasó inmediatamente a ser extremadamente ácidos. Finalmente se pudo comprobar que las nanopartículas acidifican el suelo, tal como lo demuestra el  $\Delta$ pH, el cual paso de -1.8 a -1.58, manteniéndose como un suelo mineral con formas de aluminio intercambiable  $Al(OH)^{2+}$  y  $Al^{3+}$ . Donde predomina la carga negativa y por lo tal, sigue siendo un suelo intercambiador catiónico.

#### 4.4.1.4 Determinación de la Conductividad Eléctrica (CE)

La conductividad eléctrica se analizó por el método del conductímetro a partir de una solución suelo-agua. La tabla 26, posee los resultados obtenidos tras la adición de las nanopartículas al suelo.

**Tabla 26.** Determinación de la conductividad eléctrica del suelo.

Concentraciones	Muestra	Conductividad eléctrica (ds/m)
[ ] <sub>1</sub>	1	0.24
	2	0.28
	3	0.25
	<b>Promedio</b>	<b>0.26</b>
[ ] <sub>2</sub>	4	0.42
	5	0.45
	6	0.4
	<b>Promedio</b>	<b>0.42</b>
[ ] <sub>3</sub>	7	0.68
	8	0.64
	9	0.67
	<b>Promedio</b>	<b>0.66</b>

**Fuente:** Autor

La conductividad eléctrica en una mezcla de suelo-agua indica la cantidad de sales que posee el suelo. Las sales son esenciales para el crecimiento de las plantas pero sin embargo el exceso de sales inhibe el crecimiento de estas. La relación existente entre la concentración de nanopartículas y la conductividad eléctrica es directamente proporcional, cabe mencionar que esta aumenta pero no lo suficiente para cambiar su tipo de salinidad, el suelo permanece como no salino al igual que antes, al no poseer AgNPs.

#### 4.4.1.5 Determinación de la Capacidad de intercambio catiónico (CIC)

Esta propiedad química, es de gran interés ya que da a conocer la variación en la capacidad del suelo para adsorber e intercambiar cationes, tras el contacto con las tres concentraciones de nanopartículas. La tabla 27, reporta los resultados obtenidos.

**Tabla 27.** Determinación de la capacidad de intercambio catiónico.

Concentraciones	Muestra	CIC (meq/100g)
[ ] <sub>1</sub>	1	6.3
	2	6.5
	3	6.1
	<b>Promedio</b>	<b>6.3</b>
[ ] <sub>2</sub>	4	5.2
	5	4.9
	6	4.3
	<b>Promedio</b>	<b>4.8</b>
[ ] <sub>3</sub>	7	3.9
	8	4.5
	9	4.3
	<b>Promedio</b>	<b>4.2</b>

**Fuente:** Autor

Se observó que las capacidades de intercambio catiónico en el suelo a diferentes concentraciones, disminuye notoriamente a medida que aumenta la concentración de nanopartículas de plata. De acuerdo a la literatura, las AgNPs se caracterizan por poseer una carga positiva; lo cual afecta la capacidad del suelo para retener e intercambiar cationes ya que esto depende del número de cargas negativas existentes en la superficie de la arcilla y de la materia orgánica. Por otro lado, se confirma el efecto que causó las nanopartículas de plata en la textura, donde el porcentaje de partículas de arcilla disminuyó mientras que los porcentajes de arena aumentaron luego de la adición de las AgNPs al suelo. Las arenas no poseen reactividad ya que a su vez poseen menor cantidad de materia orgánica y provocan una disminución del intercambio catiónico en el suelo.

El suelo continúa clasificándose como bajo referente a la capacidad de intercambio catiónico, debido a que posee un CIC menor a 10 meq/100g.

#### 4.4.1.5 Determinación de la Materia Orgánica

Se determinó mediante el método de oxidación húmeda de la Norma técnica Colombiana, la tabla 28 presenta los cambios ocasionados por las nanopartículas en esta propiedad.

**Tabla 28.** Determinación del contenido de materia orgánica.

Concentraciones	Muestra	%MO
[ ] <sub>1</sub>	1	0.6
	2	0.4
	3	0.5
	<b>Promedio</b>	<b>0.5</b>
[ ] <sub>2</sub>	4	0.7
	5	0.6
	6	0.6
	<b>Promedio</b>	<b>0.63</b>
[ ] <sub>3</sub>	7	0.9
	8	0.7
	9	0.8
	<b>Promedio</b>	<b>0.8</b>

**Fuente:** Autor

El suelo con nanopartículas de plata presento una disminución pequeña pero importante en su contenido de materia orgánica, ya que se evidencio que el efecto causado por las AgNPs es negativo, generando una pérdida de materia orgánica lo que trae como consecuencia el deterioro de la calidad del suelo. Según los resultados obtenidos a diferentes concentraciones de AgNPs y a la literatura, el suelo continúa caracterizándose por poseer un contenido pobre de materia orgánica, lo cual es característico de suelo con poca capacidad de retener agua y disminución de la capacidad de intercambio catiónico que inicialmente tenia y que se vio afectado luego de la adición de las nanopartículas. Este resultado se evaluara con los obtenidos a continuación al analizar la identificación de los grupos funcionales de bacterias presentes en el suelo con AgNPs.

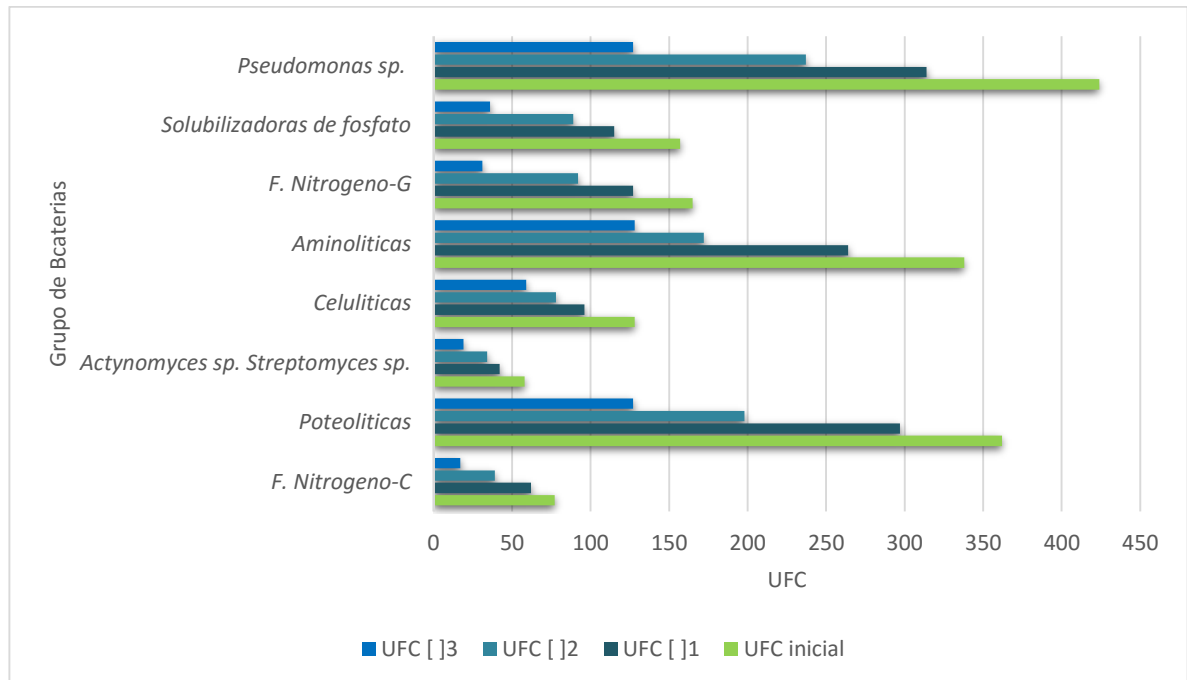
#### **4.5 EFECTO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN LAS PROPIEDADES MICROBIOLÓGICAS DEL SUELO**

La identificación y el análisis de los resultados en las poblaciones de bacterias tras la adición de las nanopartículas, es el aspecto más relevante, ya que se pudo observar y comprobar el efecto antimicrobial de las nanopartículas de plata en el suelo.

En esta sección se comparara los cambios que dieron lugar las tres concentraciones evaluadas, respecto a la reducción en las poblaciones de bacterias identificadas

en el suelo inicial. Al igual que en la identificación inicial del suelo, se obtuvo resultados representativos en las diluciones  $10^{-3}$  y  $10^{-5}$ . Se evidenció una significativa reducción en todas las poblaciones de bacterias. La grafica 5. Muestra las unidades formadoras de Colonias promedio que crecieron ante la presencia de las nanopartículas de plata comparada con las colonias del suelo inicial.

**Grafica 5.** Cambios en las UFC en las tres concentraciones de suelo con AgNPs.



**Fuente:** Autor

Es necesario aclarar que los microorganismos se distribuyen aleatoriamente en el suelo y dependen de muchos factores para estar presentes o no en el (Carrillo, 2003); por lo tanto los análisis y comparaciones hechas son para las muestras analizadas y no se está generalizando para todo suelo empleado en el cultivo de palma, ya que se incurriría en un grave error.

Los cambios en las comunidades pueden obedecer a cambios en propiedades fisicoquímicas del suelo por disturbios de origen antropogénico o natural, (Wu et al., 2008). El suelo de estudio presentó modificaciones en sus propiedades fisicoquímicas, debidas a la adición de las nanopartículas de plata; por tal razón esto contribuyó al efecto que causaron las AgNPs en las poblaciones bacterianas, Al aumentar la cantidad de partículas de arena en el suelo, permitió una mejor movilidad de las AgNPs. En suelos arenosos resulta una mayor pérdida de la

población microbiana, mientras en suelos francos no se observa muerte celular (Britt *et al*, 2011)

Se pudo observar que el porcentaje de unidades formadoras de colonias, se redujo a medida que aumenta la concentración de Nanopartículas de plata en el suelo, con la concentración de 0.01 mg/ml se obtuvo una reducción del 24% en las UFC, respecto al número de UFC que tenía el suelo inicialmente, mientras que con la concentración de 0.06 mg/ml dicha población se vio reducida en un 69%. Cabe mencionar que las nanopartículas de esta última concentración, poseían tamaños inferiores comparados con los de las otras dos concentraciones empleadas. Lo cual guarda relación con lo publicado por los diferentes autores; que el efecto antibacteriano de las AgNPs depende, entre otros factores, del tamaño de las mismas (Morones *et al.*, 2005; Baker *et al.*, 2005; Lok *et al.*, 2007; Martinez *et al.*, 2010). Así pues se han establecido que las nanopartículas de tamaños más pequeños tienen mayor superficie disponible para la interacción con la superficie de la membrana, lo que podría generar una alteración de algunas funciones primarias como la permeabilidad y la respiración de las bacterias (Panacek *et al.*, 2006) Otro factor que influye significativamente sobre las propiedades antibacterianas de las AgNPs es la carga superficial. Existen publicaciones en la literatura que muestran que la atracción electrostática entre la carga negativa de la membrana exterior de la bacteria y la carga positiva de las nanopartículas es crucial para la actividad antibacteriana (Stoimenov *et al.*, 2002; Hamounda y Baker, 2000; Sondi y Salopek-Sondi, 2004).

## 5. CONCLUSIONES

- ✓ Se logró exitosamente Biosintetizar nanopartículas de plata (AgNPs) a partir del Nitrato de plata, como sal precursora con extracto vegetal de hojas de palma. Las nanopartículas obtenidas fueron identificadas por espectrofotometría UV-Vis con unas bandas características a longitudes de onda de 405 y 417nm, presentando forma semiesférica distribuidas en pequeñas aglomeraciones, con tamaños promedio de 32 y 27.9 nm respectivamente obtenidos por SEM y una composición donde predominan elementos como el carbono, oxígeno, sodio, cloro y plata en mayor proporción, confirmando la presencia de compuestos de plata deseados en las muestras.
- ✓ El análisis fisicoquímico inicial clasificó el suelo como Arenoso franco debido a predominancia de arenas y arcillas. Caracterizándose con un bajo contenido de materia orgánica, generando al suelo tan solo una pequeña reserva de cationes intercambiables y porcentajes aceptables en el contenido de nitrógeno y fósforo necesarios para el crecimiento de la plantas. El suelo analizado presenta un pH ácido y una conductividad de 0.16 ds/m, que lo convierte en un suelo no salino. La identificación de grupos de bacterias funcionales permitió realizar el conteo de colonias, donde se evidencio mayor cantidad de bacterias relacionadas al ciclo del Carbono.
- ✓ La adición de las nanopartículas de plata, genero cambios en las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas del suelo, a medida en que aumentaba las concentraciones. Las AgNPs incidieron sobre las partículas de arena, provocando una mayor dispersión de estas. También acidifico el suelo de forma significativa. Pero sin duda la mayor afectación fue sobre la materia orgánica, las AgNPs redujeron el porcentaje de materia orgánica inicial del suelo , ocasionando el deterioro de su calidad, lo cual guarda relación con la disminución de UFC obtenidas tras la adición de las AgNPs.
- ✓ Se comprobó el efecto antimicrobial que poseen las nanopartículas de plata, al evidenciarse la reducción del 24%, 44% y 69% en la población microbiana de cada muestra de suelo analizada. Se confirmó la importancia que tiene el tamaño de las nanopartículas respecto al efecto inhibitor en las células bacterianas; ya que con las muestras que contenían nanopartículas de menor tamaño y mayor concentración, se obtuvieron los mejores resultados.

- ✓ Debido a los resultados y cambios obtenidos en el suelo, las nanopartículas pueden ser de gran ayuda en procesos de decadencia en cultivos causados por microorganismos patógenos, pero al mismo tiempo puede afectar al suelo al inmovilizar y causar la muerte celular de las bacterias benéficas presentes en el.

## 6. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar la caracterización fisicoquímica y microbiológica del suelo, en el menor tiempo posible tras el muestreo, para garantizar que los resultados no sean afectados por el cambio de temperatura y ambiente.
- Se recomienda la esterilización y óptima limpieza de los utensilios empleados al momento de realizar la preparación y servido de medios, siembra e inoculación de las diluciones en la superficie, con el fin de minimizar las posibles contaminaciones.
- Se recomienda realizar la siembra de las diluciones a partir de  $10^{-1}$  para observar la opción más acertada del crecimiento de las bacterias para su posterior conteo.
- Se recomienda continuar la búsqueda para obtener nanopartículas de tamaños inferiores a 10 nm, con el fin de aumentar su efectividad y de esta forma disminuir el uso de altas las concentraciones y con ello evitar la inhibición en el crecimiento de bacterias y demás microorganismo importantes en los procesos importantes del suelo.
- Se recomienda tener precaución al momento del manipular el Nitrato de Plata, debido a que este reactivo y cualquier otro compuesto de plata, causa coloraciones grises e irritaciones en la piel.

## 7. BIBLIOGRAFIA

ALYSSA J, DIMKPA C, MCLEAN J, BRITT D, WILLIAM JOHNSON C, ANDERSON A, Soil components mitigate the antimicrobial effects of silver nanoparticles towards a beneficial soil bacterium, *Pseudomonas chlororaphis* O6. *Science of the Total Environment*, 2011

ARTUNDUAGA. J. Estudio del efecto antifúngico de Nanopartículas de Plata frente a especies patógenas de *Candida*. Escuela de Microbiología y Escuela de Ciencias Básicas. Universidad Industrial de Santander, 2014.

ARTUNDUAGA. J, PAREDES. D, SÁNCHEZ. C, ORTIZ. C, TORRES. R. In vitro antifungal activity of silver nanoparticles against fluconazole-resistant *Candida* species. *World J Microbiol Biotechnol*. 2015.

ARAUJO. E, ANDRADE. N, DA SILVA. L, BERNARDES. P, TEIXEIRA. A, SÀ. J. PAULO, JOSE FELICIO Q. F. JUNIOR, FERNANDES. P. Antimicrobial Effects of Silver Nanoparticles against Bacterial Cells Adhered to Stainless Steel Surfaces. *International Association for Food Protection*, 2011.

ÁVALOS, A. H. (2013). Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 2013, 1-2. Madrid, 2016.

AYALA. N. Nanopartículas de plata como microbicidas: actividad y mecanismos de acción contra la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y diferentes bacterias resistentes a antibióticos. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. México, 2010.

BALAKUMARANA. M, RAMACHANDRANA. R, BALASHANMUGAMA. P, MUKESHKUMARB. D, KALAICHELVANA. P. Mycosynthesis of silver and gold nanoparticles: Optimization, characterization and antimicrobial activity against human pathogens. *Microbiological Research*, volume 182, 2016.

BELTRAN. M, LIZARAZO. L. Grupos funcionales de microorganismo en suelos de paramo perturbados por incendios forestales. Facultad de ciencias naturales y exactas, Universidad del Valle, Colombia, 2013.

BENAVIDES. O, Síntesis y caracterización de Nanopartículas anisotropicas de plata sobre fibras de fique. Escuela de Química, Universidad industrial de Santander, 2013.

CALDER. AJ, DIMKPA. CO, MCLEAN. JE, BRITT. DW, JOHNSON. W, ANDERSON. AJ. Soil components mitigate the antimicrobial effects of silver

nanoparticles towards a beneficial soil bacterium, *Pseudomonas chlororaphis* O6, 2012.

CAMACHO. J, DESCHAMPS L. Síntesis de nanopartículas de plata y modificación con pulpa de papel para aplicación antimicrobial. Facultad de Ingeniería, Universidad de Cartagena, 2013.

CRUZ. J. Síntesis de Nanopartículas de plata funcionalizadas con péptidos análoga de la Lactoferrampina con potencial antibiótico contra *Escherichia coli* O157:H7. Escuela de Química, Universidad industrial de Santander, 2012.

DIEZ. E, MONTOYA L. Estandarización de las metodologías para determinar el índice de enalado e identificación de tres grupos funcionales de microorganismos: degradadores de urea, proteolíticos y celulolíticos en suelos. Escuela de Química, Universidad Tecnológica de Pereira. 2009.

FAO. (2.009). Propiedades químicas y físicas del suelo. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

FERRARO, M. J. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eleventh Informational Supplement. Vol 21, .Nº 1 M100-S11 NCCLS.

FLORES. C. Nanopartículas de plata con potenciales aplicaciones en materiales implantables: síntesis, caracterización fisicoquímica y actividad bactericida. Facultad de ciencias exactas, Departamento de Química. Universidad de la plata. Argentina, 2014.

JARAMILLO, D. Introducción a la Ciencia del Suelo. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, 2002.

KATHIRESAN. K, ALIKUNHI. N, PATHMANABAN. S, NABIKHAN. A, KANDASAMY. S. Analysis of antimicrobial silver nanoparticles synthesized by coastal strains of *Escherichia coli* and *Aspergillus niger*. Centre of advanced study in Marine Biology, Annamalai University, Parangipettai, 608502 Tamil Nadu, India, 2010.

KI-YOUNG YOON, JEONG HOON BYEON, JAE-HONG PARK, JUN HO JI, GWI NAM BAE, JUNGHO HWANG. Antimicrobial Characteristics of Silver Aerosol Nanoparticles against *Bacillus subtilis* Bioaerosols. Environmental engineering science, 2008.

LEYVA. Gerardo. Nanopartículas de plata: tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica. México, 2013.

LIRA, R.H., HERNÁNDEZ, M., CORRALES J. Nanotecnología para la agricultura sustentable, Centro de Investigación en Química Aplicada. Saltillo, Coah. 2014.

MADIGAN, Michael, *et al* Brock. Biología de los Microorganismos. Edición 12, Person Educación. Madrid, 2009.

MARTÍNEZ L., Gerardo., SARRIA, Greicy A., TORRES L., GABRIEL A., VARÓN, Francia., ROMERO A., Hernán M., Sáenz S., José I. 2010. Avances en la investigación de *Phytophthora palmivora*, el agente causal de la Pudrición del cogollo de la palma de aceite en Colombia. Revista Palmas. Vol. 31 No. 1. 55-63p.

MIKICIUK J, MIKICIUK E, WROŃSKA A, SZTERK A. Antimicrobial potential of commercial silver nanoparticles and the characterization of their physical properties toward probiotic bacteria isolated from fermented milk products, 2016.

MUSKUS, Angelica. Manual de laboratorio de análisis de suelos. Facultad de Ingeniería Ambiental, Universidad Pontificia Bolivariana. Bucaramanga, 2001.

MONGE, Miguel. Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. Departamento de Química, Universidad de la Rioja, España.

MORENO, Fabricio. Caracterización de la sintomatología y evaluación de la incidencia y severidad del complejo pudrición del cogollo de la palma aceitera en San Lorenzo. Facultad de Recursos Naturales, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador, 2014.

NORMA TÉCNICA NTC COLOMBIANA 5403. Calidad de suelo. Determinación del carbono orgánico. Bogotá D.C. 2006.

QUINTANA, M., Hirschbein, L., Pérez, E. (2008). Nanopartículas, Principios y Aplicaciones. Revista de Ciencia y Desarrollo, México. Zanella, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas. UNAM.

ROJAS Lema, S. P. Evaluación de las propiedades bactericidas de tejidos impregnados con nanopartículas de plata. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, Escuela Politécnica Nacional.

SORIANO Corral F, A. P. (2011). Incorporación de nanopartículas de plata en poliestireno de alto impacto. Revista Iberoamericana de Polímeros, 116-124.

USDA. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica. Guía para la Evaluación de la Calidad y Salud del Suelo. Agosto, 1999.

PAREDES. D. Estudio del efecto antibacteriano de Nanopartículas de plata sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Escuela de Química, Universidad industrial de Santander, 2011.

PORTILLO. D, Potencial de nanopartículas de plata Inmovilizadas mediante la técnica de ultrasonido recubiertas en corcho granular como agente microbiano. Instituto de sostenibilidad. Universidad Politécnica de Barcelona, 2015.

PARDO. M. Manual de Medios de Cultivos, Facultad de Microbiología Industrial. Universidad de Santander.

PRADA. Y. funcionalización de Nanopartículas de plata (AgNP) con L-Cistena. Escuela de Química, Universidad industrial de Santander, 2012

RAI. M, KON. K, INGLE. A, DURAN. N, GALDIERO. S, GALDIERO. M. Broad-spectrum bioactivities of silver nanoparticles: the emerging trends and future prospects, 2013.

R.K. BERA, S.M. MANDAL, C.R. RAJ. Antimicrobial activity of fluorescent Ag nanoparticles. Letters in Applied Microbiology ISSN 0266-8254. 2013.

RUIZ, A. Cambios del uso del suelo y su efecto en el contenido químico de M.O., C/N Y C/P, en el Tejido "el conejo", perote, Veracruz. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana, México, 2012.

SINGH P, SINGH H, KIM YJ, MATHIYALAGAN R, WANG C1, YANG DC. Extracellular synthesis of silver and gold nanoparticles by *Sporosarcina koreensis* DC4 and their biological applications, 2016.

TAMBOLI DP, LEE DS. Mechanistic antimicrobial approach of extracellularly synthesized silver nanoparticles against gram positive and gram negative bacteria. Department of Environmental Engineering, Kyunpook National University, 2013.


WING, C. E. Las nanopartículas: Pequeñas estructuras con gran potencial. Contacto nuclear, 2010.

ZANELLA R, Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. Mundo Nano, UNAM 2012

ZIA-UR-REHMAN MASHWANI, TARIQ KHAN, MUBARAK ALI KHAN, AKHTAR NADHMAN. Synthesis in plants and plant extracts of silver nanoparticles with potent antimicrobial properties: current status and future prospects. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015.

## 8. ANEXOS

### Anexo 1. Análisis Químico Nitrógeno total y Fosfato Total

	<b>FORMATO REPORTE DE RESULTADOS DE ENSAYO LABORATORIO DE ESTUDIOS AMBIENTALES</b> Código: II-FO-070 Versión: 03
-----------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

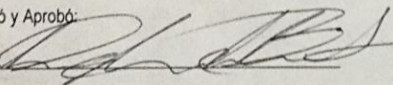
Reporte No: 144-016

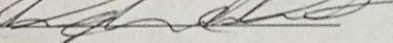
1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	
Cliente:	Proyecto de investigación – Docente Sandra Natalia Correa
Dirección:	Universidad Pontificia Bolivariana – Seccional Bucaramanga Oficina K-406
Código:	144
Tipo de muestra:	SUELO PALMERA PUERTO WILCHES
Lugar de Muestreo:	N/A
Fecha de Muestreo:	N/A
Fecha de Recepción:	2016-06-15
Fecha de Reporte:	2016-07-13

2. REPORTE DE RESULTADOS				
VARIABLE	UNIDADES	RESULTADO	FECHA DE ANALISIS	METODO
Fosforo Total*	mg PO <sub>4</sub> / Kg	71.1	2016-06-28	SM 4500-P B, E
Nitrógeno Total*	mg NTK / Kg	696	2016-06-28	SM 4500-Norg B - SM 4500 NH <sub>3</sub> B, C


\*Parámetro no acreditado

3. OBSERVACIONES
El muestreo fue realizado por el Cliente.
Condiciones de la muestra: Las muestras llegaron empacadas y etiquetadas por el cliente, a temperatura ambiente.

Revisó y Aprobó: 

Firma: 

Nombre: Qco. Diego Leonardo Blanco Arenas  
Tarjeta Profesional: PQ-4230  
Coordinador Laboratorio de Estudios Ambientales



**Universidad Pontificia Bolivariana**  
SECCIONAL BUCARAMANGA  
LABORATORIO DE ESTUDIOS AMBIENTALES  
ACREDITADO ISO 17025

\*Los resultados reportados corresponden únicamente a las muestras analizadas\*  
\*El contenido del reporte no se puede reproducir parcialmente, solo en forma total previa autorización del Laboratorio de Estudios Ambientales\*.

1 de 1

LABORATORIO DE ESTUDIOS AMBIENTALES - UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA SECCIONAL BUCARAMANGA  
Autopista Piedecuesta Km 7 / Edificio K / Oficina 614 / Teléfono (057) (7) 6796220 ext.: 172-570 / Celular: 301 2409312 / E-mail: lea.bga@upb.edu.co  
[www.upb.edu.co](http://www.upb.edu.co) / Colombia / Suramérica

