

EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN DE NANOPARTÍCULAS
DE PLATA EN SUELOS DE CULTIVO DE PALMA DE ACEITE, UTILIZANDO LA
TÉCNICA DE LAVADO FLUSHING

ANGELICA MARIA BOHORQUEZ GONZALEZ

JHON JUAN SEBASTIAN MARTINEZ GOMEZ

Universidad Pontificia Bolivariana – Seccional Bucaramanga

Escuela de Ingeniería

Facultad de Ingeniería Ambiental

Bucaramanga

2018

EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN DE NANOPARTÍCULAS
DE PLATA EN SUELOS DE CULTIVO DE PALMA DE ACEITE, UTILIZANDO LA
TÉCNICA DE LAVADO FLUSHING

Angélica María Bohórquez González

Id. 000245002

Jhon Juan Sebastián Martínez Gómez

Id. 000223360

Proyecto de grado presentado como requisito para optar al título de:

INGENIERO AMBIENTAL

Director del Proyecto

Sandra Natalia Correa

Universidad Pontificia Bolivariana – Seccional Bucaramanga

Escuela de Ingeniería

Bucaramanga

2018

Nota de aceptación

Firma del Presidente del Jurado

Firma del Jurado

Firma del Jurado

Bucaramanga, abril de 2018

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, doy infinitas gracias a Dios, por su amor y misericordia, por iluminarme y guiarme en mi vida personal y profesional

A mi familia, por ser un apoyo incondicional en todas las etapas de mi vida, en especial a Josefina Duran de Bohórquez, por ser más que mi abuela, mi ángel; a mi padre Ciro Alberto Bohórquez por nunca cortarme las alas en cada sueño y meta propuesta, a mi madre Nubia del Carmen González por sus sabios y oportunos consejos, a mis hermanas Johanna Julieth y Yesenia por ser mi orgullo y mi ejemplo más cercano de lucha y perseverancia, y por último y no menos importante, a mi sobrino Mathias Amaya Bohórquez por ser mi motivo de lucha

A la doctora Sandra Natalia Correa por motivarme y brindarme todos los conocimientos necesarios para desarrollarme como Ingeniera Ambiental

A mi compañero de tesis, amigo y colega, Jhon Juan Sebastián Martínez Gómez por acompañarme en esta investigación y hacer de este trabajo de grado una experiencia amena e inolvidable

A mis amigos por su acompañamiento y valiosa amistad a lo largo de mi vida y mi carrera, por ser un apoyo constante

Por último, a mis calificadores y maestros, Yolanda Gamarra y Álvaro Andrés Cajigas, por siempre ser tan exigentes en nuestra formación, para dar lo mejor de nosotros y demostrar que somos merecedores del sello UPB

Angélica María Bohórquez González

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, le agradezco a Dios por ser mi guía, por darme salud y fortaleza de poder cumplir una meta más, en mi ciclo de vida.

A mis padres, porque han sido mi apoyo incondicional en cada una de mis metas propuestas, por ser una guía para seguir adelante y estar atentos en los momentos difíciles de mi vida. Sin ellos no sería esto posible.

A mi nonita Myriam Herrera que siempre me ha guiado por el camino correcto y por ser un apoyo importante en mi vida; a mis tías que constantemente me han acompañado en mis proyectos de vida y me han aconsejado.

A la directora de proyecto Sandra Natalia Correa, quien con sus conocimientos y tiempo contribuyo de manera muy amena en el desarrollo de la investigación.

A mi compañera de tesis, Angélica Bohórquez por su acompañamiento y compartir sus conocimientos, para cumplir esta gran meta en nuestras vidas.

Jhon Juan Sebastian Martinez Gómez

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCION	14
2. OBJETIVOS	16
2.1. Objetivo General	16
2.2. Objetivo Específicos	16
3. MARCO TEORICO	17
3.1. Palma africana de aceite (<i>Elaeis guineensis</i>).	17
3.1.1. Pudrición de cogollo en la palma de aceite.	19
3.2. Hongo <i>Fusarium solani</i> presente en la palma de aceite.	20
3.2.1. Proceso de contaminación de la palma por el hongo <i>Fusarium solani</i> .	23
3.3. Nanopartículas.	24
3.3.1. Aplicación de las nanopartículas de plata (AgNPs).	29
3.4. Técnicas de caracterización nanopartículas	30
3.4.1. Espectroscopia (UV-Vis).	30
3.4.2. Microscopio de Barrido Electrónico (SEM).	31
3.5. Técnica de lavado por presión o Flushing.	31
4. METODOLOGIA	35
4.1. Fase I. Determinación de la concentración de nanopartículas de plata que inhiben el hongo <i>Fusarium solani</i> en medios de cultivos.	36
4.1.1. Síntesis de nanopartículas de plata a partir de extracto de palma.	37
4.1.2. Caracterización de las nanopartículas de plata.	39
4.1.3. Aplicación de las nanopartículas de plata sintetizadas a partir de hoja de palma en medio de cultivo.	39

4.2.	Fase II. Analizar la capacidad de inhibición de las nanopartículas de plata sobre el hongo <i>Fusarium solani</i> presente en el suelo.	41
4.2.1.	Muestreo del suelo de cultivo de palma africana.	43
4.2.2.	Características fisicoquímicas del suelo.	44
4.2.2.1.	Textura del suelo.	44
4.2.2.2.	pH del suelo.	45
4.2.2.3.	Conductividad.	45
4.2.2.4.	Materia orgánica.	46
4.2.3.	Aplicación de nanopartículas de plata en el suelo.	46
4.2.3.1.	Aplicación de nanopartículas en etapa de prevención.	46
4.2.3.2.	Aplicación de nanopartículas en etapa de mitigación.	48
4.2.4.	Determinación de la capacidad de inhibición del hongo en el suelo	50
4.3.	Fase III. Aplicación de la técnica de recuperación por lavado con presión (Flushing).	51
4.3.1.	Síntesis de Nanopartículas de Magnetita.	51
4.3.2.	Modificación de las nanopartículas magnéticas con nanopartículas de plata AgNPs usando una matriz de sílice.	52
4.3.3.	Recuperación de las nanopartículas de plata magnetizadas por medio de la aplicación de la técnica Flushing.	53
5.	RESULTADOS Y ANALISIS	57
5.1.	Fase I. Determinación de la concentración de nanopartículas de plata.	57
5.1.1.	Caracterización de las nanopartículas de plata.	57
5.1.2.	Identificación del crecimiento del hongo <i>Fusarium solani</i> en diferentes concentraciones de nanopartículas de plata en medios de cultivo.	60
5.2.	Fase II. Analizar la inhibición de las nanopartículas de plata sobre las etapas de prevención y mitigación del hongo <i>Fusarium solani</i> presente en el suelo.	64

5.2.1. Propiedades fisicoquímicas analizadas en suelo de Palma.	64
5.2.1.1. Textura del suelo.	67
5.2.1.2. Materia orgánica.	68
5.2.2. Diluciones seriales del suelo infestado con hongo.	69
5.3. Fase III. Aplicación de la técnica de recuperación por lavado con presión (Flushing).	71
6. CONCLUSIONES	75
7. RECOMENDACIONES	76
8. BIBLIOGRAFIA	77

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Características del suelo de palma de aceite.	18
Tabla 2: Diferentes tipos y aplicaciones de las nanopartículas en todas las áreas.	24
Tabla 3: Diferentes métodos de síntesis de nanopartículas de plata.	26
Tabla 4: Ventajas y desventajas de la técnica Flushing.	33
Tabla 5: Diseño factorial de las variables a evaluar.	39
Tabla 6: Inhibición de las nanopartículas de plata ante las variables de concentración y tiempo en el hongo <i>Fusarium solani</i> .	61
Tabla 7: Inhibición del hongo <i>Fusarium solani</i> a un tiempo de 30 días.	63
Tabla 8: Tipos de suelos identificados del cultivo palma africana.	64
Tabla 9: pH del suelo de palma en medio acuoso y en KCL.	65
Tabla 10: Δ pH para suelos provenientes del cultivo de palma.	66
Tabla 11: Conductividad para suelos provenientes del cultivo de palma.	67
Tabla 12: Textura del suelo proveniente del cultivo de palma.	67
Tabla 13: Materia orgánica para los suelos provenientes de cultivo de palma.	68
Tabla 14: Diluciones seriales del suelo con AgNPs en etapas de prevención y mitigación.	69
Tabla 15: variables de la técnica Flushing.	71
Tabla 16: Recuperación de nanopartículas de plata en medio acuoso mediante el método de Flushing.	72
Tabla 17: Porcentaje de retención de nanopartículas de plata magnetizadas en medio solido (suelo).	73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Aspecto de palma afectada por pudrición de cogollo (PC).	20
Figura 2: Hongos presentes en la pudrición de cogollo (PC), según la etapa de crecimiento de la palma.	21
Figura 3: <i>Fusarium sp.</i>	22
Figura 4: Metodología para la recuperación de nanopartículas de plata por la técnica Flushing.	36
Figura 5: Síntesis de AgNPs a partir de extracto de hoja de palma.	38
Figura 6: Técnica del sándwich para la aplicación de las nanopartículas e inoculación del hongo.	40
Figura 7: Evaluación del crecimiento del hongo en medio de cultivo a diferentes concentraciones y tiempo.	41
Figura 8: Georreferenciación de “La Aurora” Puerto Wilches-Santander.	43
Figura 9: Evaluación del efecto funguicida de las AgNPs en etapa de prevención.	47
Figura 10: Pasos en la etapa de prevención para la aplicación de las AgNPs con efectos inhibidores del crecimiento del hongo en un suelo.	48
Figura 11: Evaluación del efecto funguicida de las AgNPs en etapa de mitigación.	49
Figura 12: Pasos para la etapa de mitigación en la evaluación del desempeño de las AgNPs en suelo esterilizado.	49
Figura 13: Proceso de diluciones seriales del suelo utilizado en etapa de prevención y mitigación.	51
Figura 14: Vista frontal del proceso Flushing.	54
Figura 15: Vista superior del proceso Flushing.	55
Figura 16: Muestreo de suelo después de la aplicación de la técnica	56

Flushing.

Figura 17: Espectro de absorción de las nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto de hoja de palma. **58**

Figura 18: Micrografía de nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto de hoja de palma. **59**

Figura 19: Distribución de tamaño de las nanopartículas de plata (AgNPs). **60**

RESUMEN GENERAL DE TRABAJO DE GRADO

TITULO: EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN SUELOS DE CULTIVO DE PALMA DE ACEITE, UTILIZANDO LA TÉCNICA DE LAVADO FLUSHING

AUTOR(ES): ANGELICA MARIA BOHORQUEZ
JHON JUAN SEBASTIAN MARTINEZ GOMEZ

PROGRAMA: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR(A): SANDRA NATALIA CORREA TORRES

RESUMEN

En este estudio se empleó la técnica de lavado (Flushing), la cual consiste en realizarle un lavado por medio de la inyección de agua a presión en el suelo proveniente de la finca \\\\\"La Aurora\\\\\\" ubicada en Puerto Wilches-Santander, para la recuperación de nanopartículas de plata adicionadas previamente. El objetivo de este estudio fue la recuperación de las nanopartículas de plata adicionadas al suelo por medio de la técnica de Flushing, con este propósito se realizaron tres fases. La primera fase se basó en la determinación de la concentración inhibidora de nanopartículas de plata sintetizadas biológicamente, sobre el crecimiento del hongo *Fusarium solani* en medios de cultivos. Para llevar a cabo esta fase se realizó la síntesis biológica de las nanopartículas de plata a partir de extractos de hoja de Palma Africana, su respectiva caracterización y por último la aplicación de estas en medio de cultivo. La fase dos consiste en analizar la capacidad de inhibición de las nanopartículas de plata sobre las etapas de prevención y mitigación del hongo *Fusarium solani* presente en el suelo. La última fase consiste en la aplicación de la técnica de recuperación por lavado con presión (Flushing) para calcular la eficiencia de esta técnica al momento de la recuperación de metales como lo son nanopartículas de plata, con lo cual se logró un porcentaje de remoción promedio de 99.52%.

PALABRAS CLAVE:

Síntesis, Nanopartículas, AgNPs, Medio, Flushing, Hongo, Técnica, Suelo, Recuperación.

V° B° DIRECTOR DE TRABAJO DE GRADO

GENERAL SUMMARY OF WORK OF GRADE

TITLE: EVALUATION OF THE PERCENTAGE OF RECOVERY OF SILVER NANOPARTICLES IN OIL PALM CULTIVATION SOILS USING THE FLUSHING LAUNDRY TECHNIQUE

AUTHOR(S): ANGÉLICA MARÍA BOHÓRQUEZ GONZÁLEZ
JHON JUAN SEBASTIÁN MARTÍNEZ GÓMEZ

FACULTY: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR: SANDRA NATALIA CORREA TORRES

ABSTRACT

In this study, the washing technique (Flushing) was used, which consists in washing it by means of the injection of water under pressure in the soil from the farm "La Aurora" located in Puerto Wilches-Santander, for the recovery of silver nanoparticles previously added. The objective of this study was the recovery of the silver nanoparticles added to the soil by means of the Flushing technique, for this purpose three phases were carried out. The first phase was based on the determination of the inhibitory concentration of biologically synthesized silver nanoparticles, on the growth of the fungus *Fusarium solani* in culture media. To carry out this phase, the biological synthesis of the silver nanoparticles was carried out from African palm leaf extracts, their respective characterization and finally the application of these in culture medium. Phase two consists of analyzing the capacity of inhibition of silver nanoparticles on the stages of prevention and mitigation of the fungus *Fusarium solani* present in the soil. The last phase consists of the application of the technique of recovery by washing with pressure (Flushing) to calculate the efficiency of this technique at the time of the recovery of metals such as silver nanoparticles, with which an average removal percentage was achieved of 99.52%.

KEYWORDS:

Synthesis, Nanoparticles, AgNPs, Medium, Flushing, Fungus, Technique, Soil, Recovery

V° B° DIRECTOR OF GRADUATE WORK

1. INTRODUCCIÓN

Colombia se ha catalogado como un país diverso, su economía se centra en el sector minero energético y agrícola. Este último sector se ha centrado en la siembra y producción de palma de aceite africana, justificando su gran valor comercial, aumentando la economía del país.

Desde hace 15 años, el cultivo de palma está siendo afectado por una enfermedad comúnmente conocida como: Pudrición de cogollo (PC), causada principalmente por la invasión de varios hongos. Según (Gerardo Martínez, Greicy A. Sarria, Gabriel A. Torres L., Héctor A. Aya, Josué G. Ariza, Jessica Rodríguez 2008) investigaciones realizadas por el Centro de Investigación de Palma de Aceite (Cenipalma) de Colombia desde el 2012, se logró identificar a *Phytophthora palmivora* butl, como principal atacante de la palma, posteriormente se presentan hongos oportunistas como los son: *Fusarium spp.* y el *Rhizoctonia sp*, entre otros (André Drenth, Andrés Torres, Gerardo López 2013), (Gerardo Martínez L. 2010), (Cenipalma,2012).

El estudio de la enfermedad del PC ha llamado la atención de científicos y químicos especialistas en el tema, al punto de generar especulaciones sobre la creación de una sustancia química que logre inhibir el crecimiento y propagación del hongo causante de la enfermedad, y que, a su vez, no genere alteraciones en las propiedades naturales de la palma y el suelo de siembra (Alfonso López, Sandra López-Betancourt, Ernesto Vázquez, Alfredo Rodríguez-Herrera 2005).

Por otro lado, se han realizado estudios (Maria C. Llinàs, David Sánchez-García 2013), (Dra. Patricia C. Cardoso 2016) donde la aplicación de nanopartículas metálicas como Oro, Plata, Zinc, actúan como agentes fungicidas y antimicóticos,

en el campo agrícola, para la inhibición de plagas causadas principalmente por hongos.

En el presente estudio se aplicaron nanopartículas de plata para inhibir el crecimiento del hongo *Fusarium solani*. Estas nanopartículas de plata fueron sintetizadas a partir de extractos vegetales con la adición de un agente precursor como nitrato de plata. Las nanopartículas de plata fueron identificadas mediante la técnica ultravioleta visible (UV-Vis) y caracterizadas morfológicamente por la técnica de microscopia electrónica de barrido (por sus siglas en inglés-SEM). Luego las nanopartículas de plata fueron aplicadas en medios de cultivo (Sabouraud), el cual fue escogido mediante un análisis previo a estudios realizados anteriormente (García, M., Ríos, A., 2017) (Castellares, R., López, M., 2017) evaluando las variables de concentración y tiempo de contacto. Al seleccionar las variables óptimas de inhibición de las nanopartículas de plata, se aplicaron en suelos de cultivo de palma para dos fines: prevenir y mitigar el crecimiento del hongo. Finalmente, las nanopartículas de plata previamente aplicadas en el suelo fueron recuperadas mediante la técnica de lavado o Flushing.

1. OBJETIVOS

a. Objetivo General

Evaluar el porcentaje de recuperación de nanopartículas de plata en suelos de cultivo de palma de aceite, utilizando la técnica de lavado Flushing.

b. Objetivos Específicos

- Determinar la concentración inhibidora de nanopartículas de plata sintetizadas biológicamente en el crecimiento del hongo *Fusarium solani* en medios de cultivos.
- Analizar en el suelo de cultivo de palma *Elaeis guineensis* la capacidad de inhibición de las nanopartículas de plata sobre el crecimiento del hongo *Fusarium solani*.
- Establecer la recuperación de nanopartículas de plata aplicadas con fines antimicrobiales en suelo de palma de aceite.

3. MARCO TEORICO

3.1. Palma africana de aceite (*Elaeis guineensis*)

La palma africana es de la región tropical templada (selva húmeda tropical cálida), es considerada como una productora de aceite de origen vegetal, se obtiene de la fruta de la palma, crece a altitudes por debajo de los 500 msnm (metros sobre el nivel del mar) y se desarrolla bien en regiones pantanosas (Rodríguez, 2010).

En Colombia, el cultivo de palma de aceite es uno de los sectores que más genera empleo y mejora la economía debido a la cantidad de siembra. El país cuenta con 58 núcleos palmeros distribuidos en las cuatro zonas palmeras; la zona norte que la componen la Costa y el Cesar posee alrededor de 97.881 hectáreas, la zona central se encuentran el Sur del Cesar, Santander y Norte de Santander con 77.594 hectáreas, la zona oriental está compuesta por el Meta y Casanare con 106.317 hectáreas, y la última zona, el suroccidente abarca Tumaco y Caquetá con 34.610 hectáreas aproximadas. (Fedepalma, 2016)

Las características físicas y químicas del suelo influyen en el desarrollo, crecimiento y producción de la palma de aceite, particularmente en zonas climáticas marginales, las características a tener en cuenta para el óptimo desarrollo de la planta se pueden observar en la tabla 1, en la cual se tienen en cuenta parámetros como el clima, el tipo de suelo, pH, la precipitación pluvial, entre otros (MAGFOR, 2005).

Tabla 1. Características del suelo de palma de aceite

Clima	Tropical húmedo
Suelo	Los suelos son los limosos, profundos y franco limoso. Se deben evitar suelos con texturas extremas especialmente arcillosos y arenosos. Requiere de suelos bien drenados que eviten que se lave el terreno y produzcan lixiviación de nutrientes
pH	El pH óptimo del cultivo está en un rango de 4.5- 7.5, pero se adapta desde 3 a 8.2 niveles altos de calcio intercambiables puede ocasionar problemas en la absorción de cationes.
Precipitación pluvial	Óptimo 1700 - 2000 mm al año. 150 mm al mes. Precipitaciones mayores a 400 mm al mes durante julio a octubre, en precipitaciones menores a 1500 mm anuales se deben efectuar riegos complementarios en los meses más secos.
Altitud	3 msnm - 700 msnm
Pendientes	Hasta el 25%
Temperaturas	23- 27 °C óptima, adaptable de 20-35°C.
Humedad relativa	70-90%
Luminosidad	1500-2000 horas luz por año.

Fuente: MAGFOR, 2005

La palma africana aceitera (*Elaeis guineensis*), es un vegetal perenne (Corley y Tinker, 2009). Cuando se cultiva con propósitos comerciales tiene en promedio de vida útil entre 24 y 28 años, de acuerdo con el tipo de material sembrado (Bernal,

2001). En los frutos se extraen dos tipos de aceite: uno que se sustrae de la pulpa, el aceite de palma y otro de la almendra, conocido como aceite de palmiste.

En la fase industrial del cultivo se retiran y se fraccionan los aceites, para producir las oleínas y las estearinas de palma y de palmiste (Bernal, 2001). El aceite de palma es una materia prima importante y versátil, que puede utilizarse en productos como aceite vegetal de cocina, margarinas, detergentes, jabones, champús, cosméticos, ceras, pulimentos, entre otros (Clay, 2004).

Desde el 2006 el aceite de palma se convirtió en la primera fuente de aceite vegetal en el mundo, con 37 millones de toneladas en contraste con 36.25 millones de toneladas que produjo la soya, para el 2007 se produjeron 40.7 millones de toneladas de aceite de palma versus 38.08 millones de toneladas de aceite de soya (Fairhurst y Hårdter, 2012), cuando se trabaja con este tipo de palma se debe tener en cuenta que la Palma africana de aceite (*Elaeis guineensis*) es propensa a sufrir enfermedades que la marchitan, sufre la invasión de plantas parásitas, especialmente enredaderas que logran estrangularla hasta matarla.

Una de las enfermedades que acatan a este tipo de palma (*Elaeis guineensis*) se llama pudrición de cogollo (PC), causada principalmente por la invasión de varios hongos. Según los recientes estudios realizadas por el Centro de Investigación de Palma de Aceite (Cenipalma) de Colombia, lograron identificar a *Phytophthora palmivora* butl, como principal atacante de la palma. Posteriormente invaden hongos oportunistas como los son: *Fusarium spp*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Verticillium sp*, *Rhizoctonia sp*, *Curvularia spp*, entre otros.

3.1.1. Pudrición de cogollo en la palma de aceite.

La pudrición del cogollo (PC) se considera la enfermedad de mayor importancia en la producción de palma aceitera en América del Sur y Central. En la zona Occidental de Colombia, entre los años 2007 y 2008 causó pérdidas en la producción de 16,700 hectáreas (Alvarez et al., 2010; Silva y Martínez, 2009). Los

síntomas se caracterizan por amarillamiento de las hojas jóvenes y pudrición descendente de la hoja bandera extendiéndose por contacto físico que avanza hasta el meristemo apical causando la muerte de la palma.

En la figura 1 se puede apreciar una imagen de la planta afectada por la enfermedad del “PC” en la zona de Puerto Wilches, Santander.



Figura 1. Aspecto de palma afectada por pudrición cogollo (PC)

Fuente: Autores

3.2. Hongo *Fusarium solani* presente en la palma de aceite

La presencia del hongo *Fusarium solani* puede ser evidenciado en la mayoría de los suelos, su método de infección a los cultivos inicia con el contacto directo de las semillas y plántulas recién nacidas, en el caso de la palma, también puede ser ocasionado por el contacto de este hongo con la flecha (Ronquillo Narváez, Mayra Patricia 2012).

Los síntomas que evidencian la aparición del *Fusarium solani* están asociados a una leve decoloración rojiza al extremo de las raíces de las plantas infestadas de éste. Con respecto a las hojas, inician a modificar su color verde a un amarillo, este

cambio sucede gradualmente de las hojas inferiores a las superiores otros (Gerardo Martínez L. 2010).

En cuanto a su morfología y desarrollo, el hongo *Fusarium solani* posee un crecimiento rápido en colonias de medio de cultivo de tipo PDA. Este crecimiento varía de unos 70 a 85 mm de diámetro en una semana. En su morfología presenta un aspecto afelpado, algodonoso, de color blanco, blanco grisáceo o acre, adicionalmente, el hongo produce pigmentos de color crema a tono café. (López, López, 2004)

Como se puede apreciar en la figura 2. Las etapas del crecimiento de la palma correspondiente a la germinación, vivero, plantación definitiva y producción, el género de hongo más persistente y existente es el *Fusarium*, abarcando todas y cada una de las etapas de la palma en sus diferentes especies.

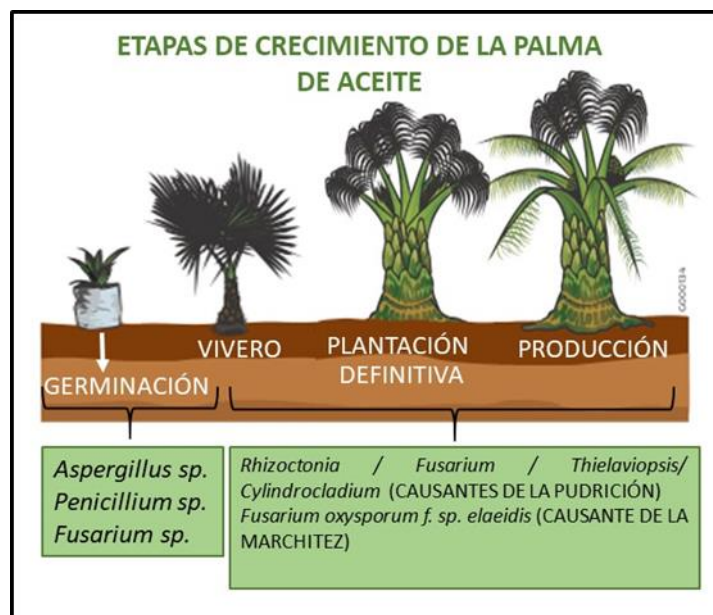


Figura 2. Hongos presentes en la pudrición de cogollo (PC), según la etapa de crecimiento de la palma

Modificado de: Fase Fenológica Palma de Aceite (Cosmoagro); Enfermedades en palma aceitera (Cabezas, Oscar)

El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y plantas, debido a su capacidad de crecer a 37°C, son considerados oportunistas. Al microscopio, la fiálide es generalmente fina, con forma de botella, simple o ramificada, cortas o largas, monofialídica (que emergen esporas de un poro de la fiálide) o polifialídica (de varios poros). La temperatura óptima de multiplicación del hongo es del orden de 28°C, incluso si es capaz de infestar a temperaturas más bajas (Tapia y Amaro, 2014).

Los agares PDA y Sabouraud permiten observar el diámetro de la colonia, morfología y pigmento (café, rojo, violeta, naranja, gris, blanco) difusible al medio. En la figura 3 comprendidas por las 3a, 3b y 3c se pueden identificar las características morfológicas anteriormente mencionadas como lo son los macroconidios los cuales presentan forma de medialuna (figura 3a).

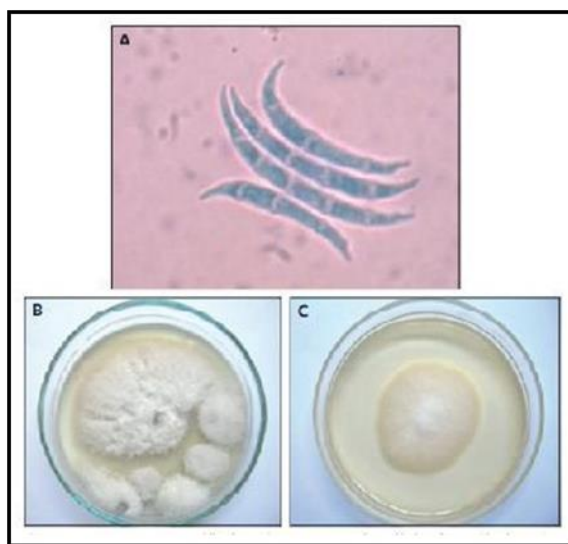


Figura 3. *Fusarium* sp. 3A: Macroconidios de *Fusarium* sp. (100x). 3B: Cultivo de *Fusarium* en agar PDA. 3C: Cultivo de *Fusarium proliferatum* en agar Sabouraud

Fuente: Laboratorio de Micología Médica de la Universidad de Chile

3.2.1. Proceso de contaminación de la palma por el hongo *Fusarium solani*

El período de incubación es de 2 a 13 semanas en la palma, las esporas después del transporte se depositan sobre los sustratos de cultivo, luego el micelio se desarrolla para que de esta manera pueda crecer dentro de la planta. La contaminación se hace a nivel de la raíz, por heridas o aperturas naturales. El hongo se desarrolla en primer lugar en los vasos vasculares del tubérculo antes de llegar a toda la planta (Reyes, A., Cristobal, J., Ruiz, E., Tun, J., 2012)

Existen medidas de prevención y propagación del hongo *Fusarium solani* como lo son:

- Mantener un excelente higiene del invernadero
- Mantener un pH de 5.8 para no favorecer al patógeno
- Mantener los acolchados bien ventilados, evitar el abono negro y los sustratos demasiados pesados.
- Utilizar nuevos sustratos, nuevas bandejas de siembra.
- Mantener las plantas lejos del contacto del suelo del invernadero o el exterior del invernadero.
- Mantener una vigilancia regular y quemar toda plántula afectada.
- Realizar una desinfección de todo el material que se utilizó al finalizar cada ciclo de cultivo.
- Mantener en el invernadero una temperatura que no sobrepase los 23°C.
- Mantener un balance entre las contribuciones de nitrógeno, potasio y calcio.
- Utilizar un riego adecuado, debido a que la pulverización causa salpicaduras que proyectan esporas del hongo o partículas de sustrato infestado, ayudando a que las esporas lleguen a las raíces donde se producirá la contaminación.

3.3. Nanopartículas

Una nanopartícula es una partícula microscópica con un tamaño o dimensión menor que 100 nm. En la actualidad, las nanopartículas son un área muy importante de investigación científica, debido a su amplia variedad de aplicaciones en los diferentes campos como lo son biomédicos, ópticos, electrónicos, nanoquímica o agricultura. Por su tamaño, estos materiales pueden interactuar de forma específica con las células y tejidos humanos.

Las partículas se diferencian por su tamaño medido por el diámetro, las partículas ultrafinas (nanopartículas) entre 1 y 100 nanómetros, las partículas finas entre los 100 y 2,500 nanómetros y las partículas gruesas entre 2,500 y 10,000 nanómetros (A. Cuadros-Moreno, R. Casañas Pimentel, E. San Martín-Martínez, J. Yañes Fernandez 2014).

Las nanopartículas se utilizan en diferentes campos o materiales como lo son la electrónica, ropa, pinturas, cosméticos, bactericidas, biofungicidas, aplicaciones biomédicas, en la industria médico-farmacéutica, industria alimentaria y con fines antimicrobiales (Ávalos, A, Haza, AI, Mateo, D y Morales 2013). Estas nanopartículas se realizan con diferentes métodos de síntesis ya sea síntesis biológica o síntesis química, para su realización se utilizan diferentes tipos de materiales como lo son; la hoja de palma, las cascarras de mango, las plantas de limonaria, entre otras. Basándose en su aplicación o necesidad como se muestra en la tabla 2. (Camacho, Deschamps 2013).

Tabla 2. Diferentes tipos y aplicaciones de las Nanopartículas en todas las áreas

CAMPO	APLICACIÓN	TIPO DE NANOPARTÍCULA
POTENCIA/ENERGÍA	Celdas solares sensibilizadas por Colorante	TiO ₂ es el más empleado. ZnO y Au
	Almacenamiento de hidrógeno	Nanopartículas Híbridas Metálicas

	Mejora de los materiales para Ánodo y Cátodo para Pilas de Combustible	Nanoarcillas, CNTs y NPs en CNTs
	Catalizadores Ambientales	TiO ₂ , Cerio
	Catalizadores para Vehículos	NPs Cerámicas Óxidos Metálicos (Cerio, Zirconio) y Metales (Pt, Rh, Pd y Ru).
SALUD/MEDICINA	Promotores de crecimiento óseo.	Hidroxiapatita (HAp) Cerámica.
	Los Protectores Solares.	ZnO y TiO ₂ .
	Apósitos para heridas antibacterianos.	Ag
	Fungicidas.	Nanopartículas Cu ₂ O.
	Biomarcaje y detección.	Nanopartículas de Plata y Coloides de Oro.
	Agentes de contraste de MRI.	Óxidos de Hierro ultra pequeños: Fe ₃ O ₄ y Fe ₂ O ₃ .
INGENIERÍA	Herramientas para cortar.	ZrO ₂ y Al ₂ O ₃ , Cerámicos No-Óxidos (WC, TaC, TiC) y Co.
	Sensores Químicos	Diversas NPs válidas.
	Resistentes al Desgaste / Recubrimientos resistentes a la abrasión.	Nanopartículas de Alúmina y Y-Zr ₂ O ₃ .
	Nanoarcilla Polímero reforzado con Materiales Compuestos.	Organoarcillas (Sepiolite, Laponite y Smectite). Silicagels y POSS.
	Pigmentos.	Pb, Zn, Mg y Ag. Otras NPs Metálicas incluyendo ViO, AlO, CdO.
	Tintas: Conductores, Magnéticos, entre otras (utilizando polvos de metal)	Buenos conductores como la Plata
	Mejora estructural y física de Polímeros y Materiales Compuestos.	Nanoarcillas, NanoÓxidos y NanoHidróxidos de Metales. Montmorillonita modificada orgánicamente, TiO ₂ , Y ₂ O ₃ o

		SiO ₂ .
UTENSILIOS DE CONSUMO	Barrera de embalaje utilizando Silicatos.	Nanoarcillas, en particular Bentonita y Kaolinita.
	Vidrio autolimpiable.	TiO ₂
MEDIO AMBIENTE	Tratamientos de agua (Fotocatálisis).	Cerámicas Óxidos Metálicos, TiO ₂ .
ELECTRÓNICA	Nanoescala partículas magnéticas para la alta densidad de almacenamiento de datos.	Fe solo o en combinación con otros Metales (o no metales), CoPt o FePt.
	Circuitos electrónicos.	Plata, Cobre y Nanopartículas de Al.
	Ferro-líquido (utilizando materiales magnéticos).	Fe (posiblemente recubiertas con una capa de Carbono), Co, FeCo y Fe ₃ O ₄ .
	Optoelectrónica dispositivos tales como interruptores	Gd ₂ O ₃ o Y ₂ O ₃ dopados con Eu, Tb, Er, Ce
	Química Mecánica	Alúmina, Sílica y Cerio

Fuente: Red para la transferencia de conocimientos en Nanomateriales.

<http://www.scielo.org.ve/pdf/uct/v19n74/art05.pdf>

En la tabla 3, se encontrarán los diferentes métodos de síntesis que pueden ser manejados para la realización de nanopartículas, especialmente de plata. Esta información fue analizada y tomada en cuenta para la selección y definición de la metodología a usar para la síntesis de nanopartícula, el criterio tomado en cuenta para la selección del método fue la minimización de residuos generados.

Tabla 3. Diferentes métodos de síntesis de nanopartículas de plata

Método síntesis	Procedimiento nanopartículas de plata	Referencia
Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata	Se realizó la síntesis de nanopartículas de plata por medio del método sol-gel, en el cual se realizó	Morales J, Morán J, Quintana M, Estrada W. (2009). Síntesis y

por la ruta Sol-Gel a partir de nitrato de plata	una reducción de nitrato de plata por etilenglicol en un proceso denominado poliol. Se analizaron las muestras con medidas de espectrofotometría UV-vis en donde los resultados muestran que entre 400 – 450 nm se forma el típico pico de la resonancia de plasmón superficial.	caracterización de nanopartículas de Plata por la ruta Sol-Gel a partir de Nitrato de plata. Revista Soc Quim. Perú. Obtenido de: http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v75n2/a04v75n2.pdf
Síntesis de nanocompositos de plata con almidón	Se discutió la reducción de la plata in-situ mediante el almidón como agente reductor. Las nanopartículas de plata fueron obtenidas por la reducción de AgNO ₃ en una dispersión acuosa de almidón a una temperatura de 55 y 85 °C. La reducción fue monitoreada usando la espectroscopia de UV-Vis	Torres A, González V, Garza M, Gauna E (2011). Síntesis de nanocompositos de plata con almidón. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. http://eprints.uanl.mx/10453/1/50_Sintesis_de_nanocompositos.pdf
Preparación de nanopartículas de plata en ausencia de polímeros estabilizantes	Las nanopartículas de plata (AgNP) se prepararon mediante el método del poliol en ausencia de polímeros estabilizantes. Para lograr este objetivo, se añadió AgNO ₃ a etilenglicol en presencia de NaOH (1 mol.L-1), la suspensión formada se irradió con una fuente de microondas durante 60 segundos a una potencia de 465 vatios. Se encontró que bajo estas condiciones se forman AgNP de tamaños entre 4 - 18 nm. Además, los resultados indican que una parte del etilenglicol se oxida a compuestos carbonílicos que reducen el Ag ⁺ . Estos compuestos orgánicos se adsorben en las superficies de los AgNP, formando una película	Sifontes A, Melo L, Maza C, Méndez J, Mediavilla M, Brito J, Zoltan T, Albornoz A (2010). Preparación de nanopartículas de plata en ausencia de polímeros estabilizantes. Quím. Nova. Vol.33. São Paulo 2010. Consultado en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000600009

	protectora que impide su agregación	
Síntesis de nanopartículas de plata y modificación con pulpa de papel para aplicación antimicrobial	La síntesis eco-amigable de nanopartículas de plata se llevó a cabo a partir de una solución de nitrato de plata (AgNO ₃) preparado en concentraciones de 1, 10, y 100 mM. En esta metodología se utilizó como agente de reducción un extracto natural obtenido a partir de las hojas del cilantro (<i>Coriandrum sativum</i>), el cual facilitó la formación de las nanopartículas sin residuos de contaminantes tóxicos. Las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas se caracterizaron usando espectroscopía UV-vis donde se determinó absorción en el rango de 430 a 455 nm ⁻¹ que corresponde a la resonancia de plasmón superficial de las nanopartículas de plata	Camacho J, Deschamps L. (2013). Universidad de Cartagena. Programa de Ingeniería Química. Cartagena, Colombia (2012) Consultado en: http://190.242.62.234:8080/jspui/bitstream/11227/73/1/Tesis%20Entrega%20Final.pdf
Síntesis acuosa de nanopartículas de plata	Se reporta la síntesis de las nanopartículas de plata a través del método de reducción química del nitrato de plata (AgNO ₃) en agua, empleando como agente reductor y para la estabilización y control del tamaño de partícula la poli(vinilpirrolidona). Las nanopartículas de plata obtenidas se caracterizaron por microscopia electrónica de transmisión (TEM). El diámetro de las nanopartículas de plata es de alrededor de 30 nm	Sáenz G, Hernández M, Martínez L (2011). Síntesis acuosa de nanopartículas de plata. Rev. LatinAm. Metal. Mat (2011) http://www.rlmm.org/ojs/index.php/rlmm/article/viewFile/215/176

3.3.1. Aplicación de las nanopartículas de plata (AgNPs)

La plata (Ag) ha sido utilizada hace muchos años en la historia de la humanidad, en aplicaciones como la joyería, utensilios, fotografía entre otros (Chen y Schluesener, 2008). Las civilizaciones antiguas utilizaban la plata para cocinar y mantener la seguridad del agua (Behera et al., 2011). En los últimos años, la plata ha ganado mucho interés debido a su buena conductividad, estabilidad química, su actividad catalítica y antibacteriana.

Las nanopartículas de plata (AgNPs) se han convertido en un producto de mayor crecimiento e interés en la industria de la nanotecnología. Su fuerte actividad antimicrobiana es la principal característica para el desarrollo de productos con nanopartículas de plata (AgNPs).

En el ámbito médico, existen apósitos para heridas, dispositivos anticonceptivos, instrumental quirúrgico y prótesis óseas, todos ellos recubiertos o integrados con AgNPs para así evitar el crecimiento bacteriano (Cheng et al., 2004; Cohen et al., 2007).

Además, se está evaluando la utilización de las AgNPs contra el tratamiento de enfermedades que requieren una concentración mantenida de fármaco en sangre o con un direccionamiento específico a células u órganos (Panyman et al., 2003), como ocurre con el virus del VIH-1, ya que ha sido demostrado que el tratamiento in vitro con AgNPs interacciona con el virus e inhibe su capacidad para unirse a las células del huésped (Elechiguerra et al., 2005).

En la cotidianidad, los consumidores pueden tener contacto con las AgNPs contenidas en aerosoles, detergentes, lavadoras, sistemas de purificación de aguas, pinturas para paredes y productos cosméticos (Zhang y Sun, 2007).

Las nanopartículas de plata (AgNPs) también tienen una aplicación en el sector alimentario, agrícola y en el envasado de los alimentos. Dentro del campo de la agricultura, las AgNPs se emplean para optimizar la conservación de frutos, ya que su actividad antibacteriana presenta un efecto fungistático que retarda el

crecimiento de hongos fitopatógenos. Estas NPs pueden aplicarse junto con un recubrimiento biodegradable en los frutos, mediante la inmersión de estos en la solución formadora de recubrimiento (Aguilar, 2009).

3.4. Técnicas de Caracterización nanopartículas

3.4.1. Espectroscopia (UV-Vis)

La espectroscopia ultravioleta-visible o espectrofotometría ultravioleta-visible (UV/VIS), es una técnica que permite comparar y/o la radiación absorbida o transmitida por una solución, basada en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta-visible (radiación con longitud de onda comprendida entre los 160 y 780 nm) por una molécula, para el caso de las nanopartículas de plata se encuentra en una longitud de onda entre 350-500 nm. Los encargados de absorber la radiación de la frecuencia emitida por el ultravioleta visible (UV-Vis) son los electrones de enlace, característicos de cada molécula por lo que los picos de absorción se pueden correlacionar con los distintos tipos de enlace presentes en el compuesto. Debido a ello, la espectroscopía UV-Vis se utiliza para la identificación de los grupos funcionales presentes en una molécula (Barros, Castro de Esparza, Wong Nonato, & Mori, 2009).

Las bandas que aparecen en un espectro UV-Vis son anchas debido a la superposición de transiciones vibracionales y electrónicas. La absorción de las radiaciones UV, visibles e infrarrojo (IR) depende de la estructura de las moléculas, y es característica para cada sustancia química (Barros, Castro de Esparza, Wong Nonato, & Mori, 2009).

3.4.2. Microscopio de Barrido Electrónico (SEM)

La microscopia electrónica de barrido o SEM se basa en el principio de la microscopia óptica en la que se sustituye el haz de luz por un haz de electrones. Con esto conseguimos hasta los 100 Å, resolución muy superior a cualquier instrumento óptico.

Su funcionamiento consiste en hacer incidir un barrido de haz de electrones sobre la muestra. La muestra (salvo que ya sea conductora) está generalmente recubierta con una capa muy fina de oro o carbón, lo que le otorga propiedades conductoras. La técnica de preparación de las muestras se denomina “sputtering” o pulverización catódica (Lozano, 2014).

Las aplicaciones del SEM son muy variadas en diferentes campos de estudios e investigación, por ejemplo, este equipo y/o técnica es usado usualmente para análisis de fracturas en distintos materiales, determinación de espesores, composición mineralógica, petrología, estudio de composición de arcillas, y cómo es en el caso de esta investigación, el análisis morfológico de componentes metálicos como lo son las nanopartículas de plata (Lozano, 2014).

3.5. Técnica de lavado por presión o Flushing

Existen diferentes tipos de tratamientos fisicoquímicos con aplicabilidad en recuperación de suelos como los son las siguientes técnicas: Stripping por aire o inyección de aire comprimido, Desorción atómica, Barreras permeables activas, Lavados a presión o Flushing, Extracción, Oxidación ultravioleta, entre otros. Dentro de estos tratamientos y/o técnicas, el Flushing, es aplicable para la recuperación de compuestos inorgánicos como lo son las nanopartículas de plata.

La técnica de lavado con presión o Flushing, es una técnica que consiste en lavar los compuestos químicos absorbidos en los suelos mediante el empleo de agentes surfactantes, co-solventes, bioestimulantes u oxigenantes. Este método de limpieza

es más efectivo en terrenos de relativa alta permeabilidad, como en el caso de gravas y arenas, aunque se han obtenido buenos resultados en terrenos más impermeables.

Para esta técnica, la principal característica de los surfactantes (tensoactivos) y co-solventes (etanol y metanol) relacionada con la remediación de suelos y aguas subterráneas es la de favorecer el aumento de la capacidad de desorber selectivamente los compuestos inorgánicos alojados en el suelo (Geotecnia2000).

El tipo de solución que se necesita para el tratamiento depende de los contaminantes que se presenten en el suelo. La solución de enjuague generalmente es uno de los siguientes líquidos: agua natural o agua con aditivos tales como ácidos (pH bajo), bases (pH alto) o agentes tensos activos (como detergentes). El agua se usa para tratar contaminantes que se disuelven fácilmente en el agua, Las soluciones acídicas se utilizan para extraer metales y contaminantes orgánicos, una solución acídica es una mezcla de agua y ácido, como ácido nítrico o ácido clorhídrico.

El lavado de suelos es un tratamiento generalmente ex-situ en el que el suelo es previamente separado físicamente por tamizado, densidad o gravedad para eliminar las partículas de grava más gruesas, con poca capacidad de adsorción, de la fracción fina y seguidamente lavado con extractantes químicos que permitan desorber y solubilizar los contaminantes (van Benschoten et al., 1997). Después del tratamiento químico, el suelo se vuelve a lavar con agua para eliminar los contaminantes y agentes extractantes residuales y se devuelve a su lugar de origen (Peters, 1999). La eficacia de esta técnica depende del grado de adsorción del contaminante, controlado por una serie de propiedades del suelo como el pH, la textura, la capacidad de intercambio catiónico, la mineralogía o el contenido en materia orgánica y otros factores como el tiempo que hace que el suelo está contaminado o la presencia de otros elementos tóxicos (Reed et al., 1996)

El lavado por presión (Flushing) posee un modo de acción que consiste en liberar, mediante un emulsionado, los contaminantes adsorbidos en los suelos, o aquellos presentes en el agua subterránea en forma de fase libre, haciéndolos más “disponibles hidráulicamente” para su extracción por medio de bombeo y tratamiento (Geotecnia2000).

En la tabla 4 se observan algunas ventajas y desventajas de su implementación de la técnica Flushing para la descontaminación de suelos con metales

Tabla 4. Ventajas y desventajas de la técnica de lavado ó Flushing

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Remueve contaminantes inorgánicos, metales, fenoles, compuestos orgánicos, contaminantes oleosos y solubles en agua.	Es necesario tener un control de vigilancia y monitoreo constante, ya que es probable que durante el proceso de Flushing ocurra la migración de los contaminantes en una dirección no deseada.
Reduce la cantidad de suelo que requiere limpieza más profunda.	No es recomendable en costos utilizar esta técnica cuando la contaminación es muy poca.
La técnica es llevada a cabo in situ y ex situ.	Cuando se emplea en suelos arcillosos o limo el porcentaje de remoción no es efectivo.
La técnica representa bajos costos.	Requiere post-tratamiento de los residuos líquidos del proceso.
La velocidad del tratamiento es rápida comparada con la de otras técnicas de remoción.	Es posible que el aditivo empleado sea absorbido y en este proceso cambie su función, pasando de ser un aditivo a un contaminante más en el suelo.
Se puede utilizar para diferentes tipos de contaminantes.	No utilizar en suelos con baja permeabilidad o heterogéneos.
Si esta técnica es aplicada ex situ no necesita una técnica de contención para el contaminante.	Si los desechos tienen un alto porcentaje de limo y arcilla, una parte deberá ser sometida a otro tratamiento generando más costos.

Esta técnica reduce el volumen del material tratado en un 90% (lo cual significa que sólo el 10% del volumen original necesitaría de un tratamiento posterior.	En ocasiones se puede contaminar el suelo circundante.
--	--

Fuente: (Dorronsoro, Carlos)

4. METODOLOGIA

El desarrollo experimental fue basado en los objetivos expuestos, los cuales se centran en el estudio y evaluación de la inhibición del hongo *Fusarium solani* empleando la síntesis biológica de nanopartículas de plata en medio acuoso, a partir de extractos vegetales. Las nanopartículas de plata sintetizadas se aplicaron en medios de cultivo para evaluar la capacidad de inhibir el hongo en diferentes concentraciones y tiempos. Después de obtener los resultados óptimos en las variables analizadas, las nanopartículas de plata fueron aplicadas en suelos de cultivo de palma, mediante la simulación de las fases de prevención y mitigación.

La fase de prevención correspondió a la aplicación de las nanopartículas de plata antes de que sea inoculado el hongo. La fase de mitigación se basó en la inoculación del hongo para luego ser aplicadas las nanopartículas. Finalmente, la última fase fue la recuperación de las nanopartículas aplicadas en el suelo de palma mediante la técnica Flushing. Este desarrollo experimental se llevó a cabo en los laboratorios de suelos y microbiología de la Universidad Pontificia Bolivariana Seccional Bucaramanga.

En figura 4 se observa la metodología para llevar a cabo el objetivo general y los objetivos específicos.

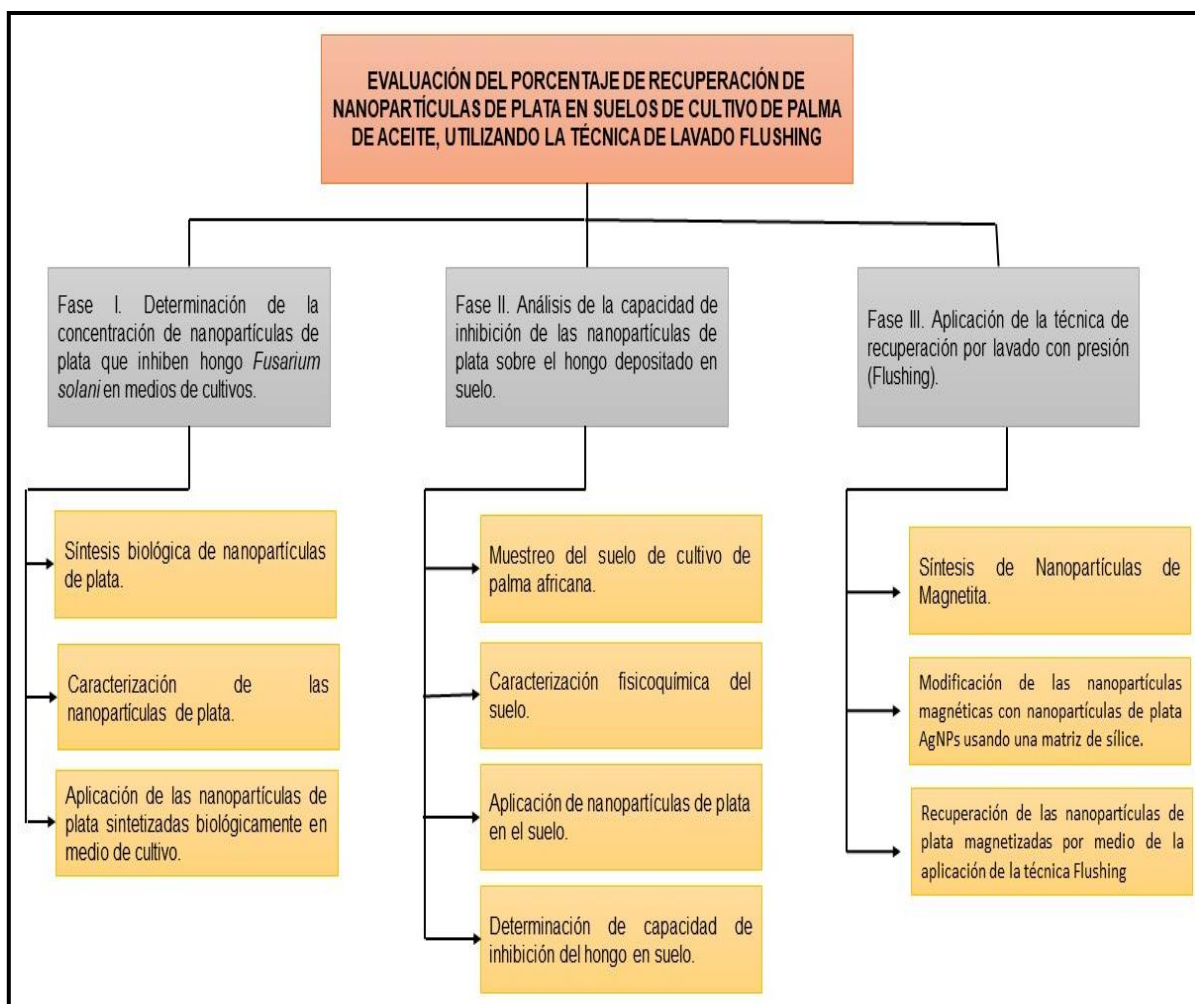


Figura 4. Metodología para la recuperación de nanopartículas de plata por la técnica Flushing.

Fuente: Autor

4.1. Fase I. Determinación de la concentración de nanopartículas de plata que inhiben el hongo *Fusarium solani* en medios de cultivos.

La evaluación de concentración de Nanopartículas (AgNPs) para el crecimiento de hongo *Fusarium solani* se realizó en el laboratorio de suelos de la Universidad Pontificia Bolivariana Seccional Bucaramanga y en el laboratorio de microbiología.

Para este desarrollo se prepararon medios de cultivo con Agar glucosa 4% Sabouraud (basados en estudios anteriores) y las diferentes concentraciones de las nanopartículas presentes en la solución inicialmente formada (100 ppm, 200ppm, 300ppm, 400ppm y 500 ppm), estas concentraciones se abarcaron desde una inicial de 100 y 200 ppm hasta llegar a los 500 ppm ya que existen precedentes en los cuales se afirman que la inhibición en una concentración de 100 ppm no es significativa. Las concentraciones para experimento de inhibición en medios de cultivo se basaron en Castellares y López (2017) que afirman: “El efecto antimicótico de las nanopartículas de plata en el hongo *Fusarium solani* a una concentración alta (200 ppm) y un periodo de contacto de 72 horas, se evidenció en comparación con la concentración baja (100 ppm) en la cual no se registró resultados significativos”

En el presente estudio se le realizó seguimiento a la inhibición del hongo *Fusarium solani* a las 24 horas de aplicación (1 día), 48 horas (2 días) y 72 horas (3 días) y a los 30 días (se verifico la inhibición), registrando fotográficamente.

4.1.1 Síntesis de nanopartículas de plata a partir de extractos de palma

La síntesis de nanopartículas se llevó a cabo usando el extracto vegetal de hojas de palma como agente reductor del nitrato de plata, ya que contienen terpenos y flavonoides que facilitan esta reducción y formación de las nanopartículas de plata (Castellares y López 2017). Además, esta síntesis con extractos vegetales no genera residuos tóxicos, ni peligrosos. Las hojas de palma fueron colectadas en la Finca La Aurora ubicada en Puerto Wilches, Santander. El extracto de hojas se realizó con 100 g de cortes de hojas de palma y 500 mL de agua destilada, en calentamiento a 100 °C durante 2 horas, hasta reducir el volumen a 200mL. Este procedimiento inicio con la adición de 1,7 g de nitrato de plata (AgNO_3) a un beaker con 50 mL de agua destilada. La solución reductora de nitrato de plata se mantuvo en constante agitación (durante 1 hora) y gradualmente se le agregaron 5 mL del extracto vegetal de hojas anteriormente preparado.

Posteriormente a la reducción del nitrato de plata en medio acuoso mediante el extracto de hoja de palma, se realizó el proceso de co-precipitación donde se le realizaron lavados con 5mL de agua destilada mediante el uso de la centrifuga durante 10 minutos a 4000rpm. Después de la centrifugación, se retiró el sobrenadante de agua y se agregaron 5 mL de etanol para completar un segundo lavado y se centrifugó por 10 minutos adicionales. El proceso de co-precipitación se repitió hasta completar 4 lavados, intercalando entre agua destilada y etanol.

En la figura 5, se presenta de forma visible y esquematizada el proceso que se llevó a cabo para realizar la síntesis por extractos de hojas de nanopartículas de plata.

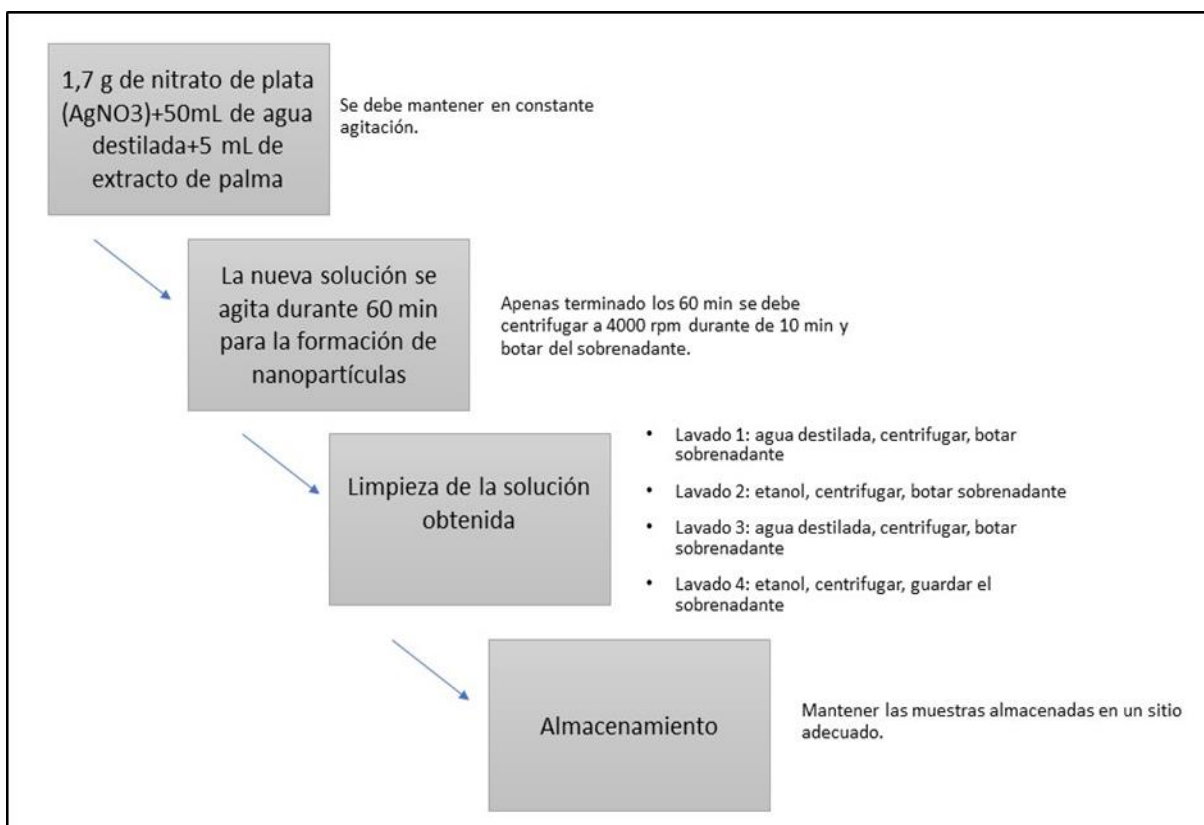


Figura 5. Síntesis de AgNPs-a partir de extractos de hoja de palma

4.1.2 Caracterización de las nanopartículas de plata

Las nanopartículas de plata sintetizadas se caracterizaron mediante la técnica de Microscopia de Barrido Electrónico (SEM) lo cual permite observar y analizar la morfología, distribución y tamaño de las nanopartículas de plata formadas. Por otro lado, la técnica de espectroscopia UV-Vis, permitió identificar las nanopartículas sintetizadas ya que presentan bandas características entre 400 – 450 nm donde se forma el típico pico de la resonancia de plasmón superficial característico de la plata.

Para la caracterización de las nanopartículas de plata mediante su tamaño y morfología en el SEM, fue necesaria una previa preparación en la que consiste en extraer la humedad en un equipo de secado y hacerle un recubrimiento con oro a la muestra.

4.1.3 Aplicación de las nanopartículas de plata sintetizadas a partir de hoja de palma en medio de cultivo

Para la aplicación de nanopartículas de plata (sintetizadas a partir de extracto vegetal) se aplicó un análisis factorial 2⁵, donde se evaluaron variables como concentración y tiempo, distribuidos como se presenta en la tabla 5.

Tabla 5. Diseño factorial de las variables a evaluar

Concentraciones nanopartículas (ppm)	Tiempo (horas)
100	24 48 72 720
200	
300	
400	
500	

Para llevar a cabo la aplicación de nanopartículas de plata sintetizadas biológicamente en medio de cultivo, debió ser preparado con anterioridad el medio agar Sabouraud dextrosa, tomando agua destilada en un erlenmeyer y agar Sabouraud, manteniendo esto en constante agitación y una temperatura durante 10 minutos.

Luego de haber sido preparado el medio, se sirvió en cada una de las cajas Petri de material desechable. Los medios de cultivos en las cajas Petri se dejaron enfriar y fueron guardados hasta cumplir el tiempo de solidificación.

Ya cumplido el tiempo para la solidificación de los medios, se dispuso a realizar la aplicación de nanopartículas de plata en el medio de cultivo en forma de “sándwich” (Rios y Garcia, 2017), que consta de adicionar una primera capa de medio Sabouraud (como se explica en la preparación del medio anterior), después se aplicaron las nanopartículas de plata en el centro del medio de cultivo, luego se realizó la inoculación del hongo en la mitad del medio donde se encuentran las nanopartículas de plata, por último se adicionó una segunda capa de medio Sabouraud y se dejó que se solidificara para ser guardados en la incubadora por 8 días.

En la figura 6 y 7 se representa de forma esquemática el procedimiento del método del “sándwich” y la aplicación de las nanopartículas de plata sintetizadas biológicamente, en el medio de cultivo a diferentes concentraciones.

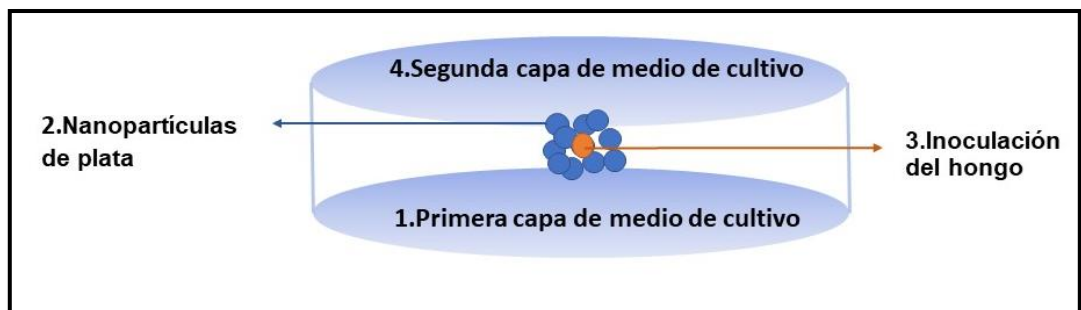


Figura 6. Técnica de sándwich para la aplicación de las nanopartículas e inoculación del hongo.

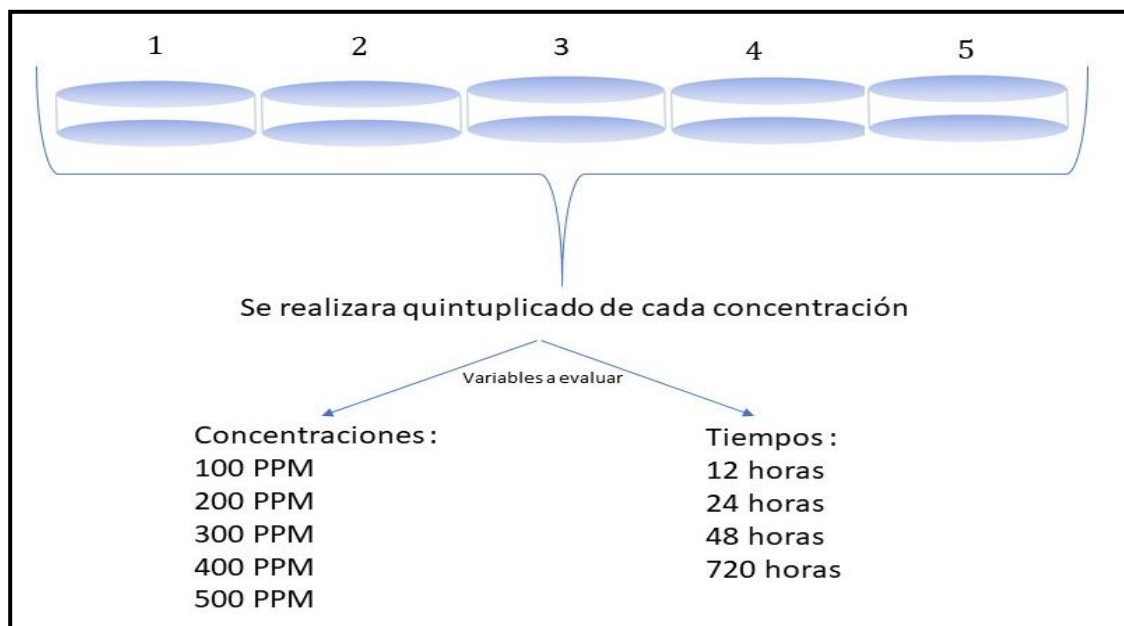


Figura 7. Evaluación del crecimiento del hongo en medio de cultivo a diferentes concentraciones y tiempo.

Luego de realizar el montaje correspondiente, se analizó y evaluó el crecimiento del hongo en los cultivos durante 24, 48, 72 y 720 horas. Para continuar a la fase II de la investigación fue necesario realizar el estudio a un tiempo de 30 días, donde los resultados permitieron establecer una sola concentración de nanopartículas de plata.

4.2. Fase II. Análisis de la capacidad de inhibición de las nanopartículas de plata sobre el hongo depositado en suelo.

Para realizar el análisis de la capacidad inhibidora del hongo *Fusarium solani* en el suelo se realizaron las siguientes fases: muestreo del suelo, caracterización

fisicoquímica del suelo y finalmente la aplicación de las nanopartículas al suelo en etapas de prevención y mitigación.

La toma de muestras de suelo correspondiente a los cultivos de palma de aceite (*Elaeis guineensis*) con afectación de la enfermedad PC se realizaron en la Finca La Aurora. Esta finca se encuentra localizada en el municipio de Puerto Wilches, del departamento de Santander, en la posición 73° 39 26,49 (longitud) y 7° 17 31,52 (latitud) (georreferenciación).

Esta finca está dedicada a la actividad palmera hace 10 años, cuenta con aproximadamente 26.300 hectáreas de plantaciones distribuidas en 20 lotes. Para este proyecto, se realizó un muestreo en tres diferentes lotes, correspondientes a cultivo de Palma sin ningún tipo de enfermedad (Lote 10 y 17), y cultivo con PC (lote 18). En estos se tomaron cuatro muestras de cada lote respectivamente, para un total de 12 muestras.

La primera muestra de suelo de palma corresponde al lote 18 y línea 7, en el cual, al momento de realizar la toma, la palma se encontraba en estado de adultez y libre de la enfermedad de PC. La segunda muestra fue tomada del lote 10 y línea 49, al igual que en la primera muestra, la palma se encontraba en estado de adultez y sin presencia de la enfermedad del PC, estas dos palmas fueron sembradas en los años 2008 y 2006 respectivamente.

El tercer muestreo de suelo correspondió al lote 17 y línea de cultivo 12, la palma se encontraba en estado de adultez y con presencia de la enfermedad PC, además los agricultores responsables de la plantación adicionaron durante dos (2) meses fertilizantes compuestos por K, Nitrato, Boro y materia orgánica, adicionalmente al suelo le fue aplicado “Abimgra fosforado” el cual es un abono orgánico mineralizado 100% natural, con un alto contenido de fósforo de rápida asimilación con la solución del suelo.

Para el análisis de muestras, se realizó la mezcla de las cuatro muestras de cada palma para formar una muestra compuesta de cada toma y/o palma.

4.2.1. Muestreo del suelo de cultivo de palma africana

El muestreo se realizó sistemático al azar, ubicando las muestras en plantas afectada por el PC y en plantas si afectación de la enfermedad. El número de muestras tomadas por planta afectada fue de 4, ubicadas en los cuatro puntos cardinales alrededor de la palma afectada o sin afecta. (Sosa, Domingo)

En la figura 8 podemos observar la georreferenciación de la finca “La Aurora” Puerto Wilches-Santander.

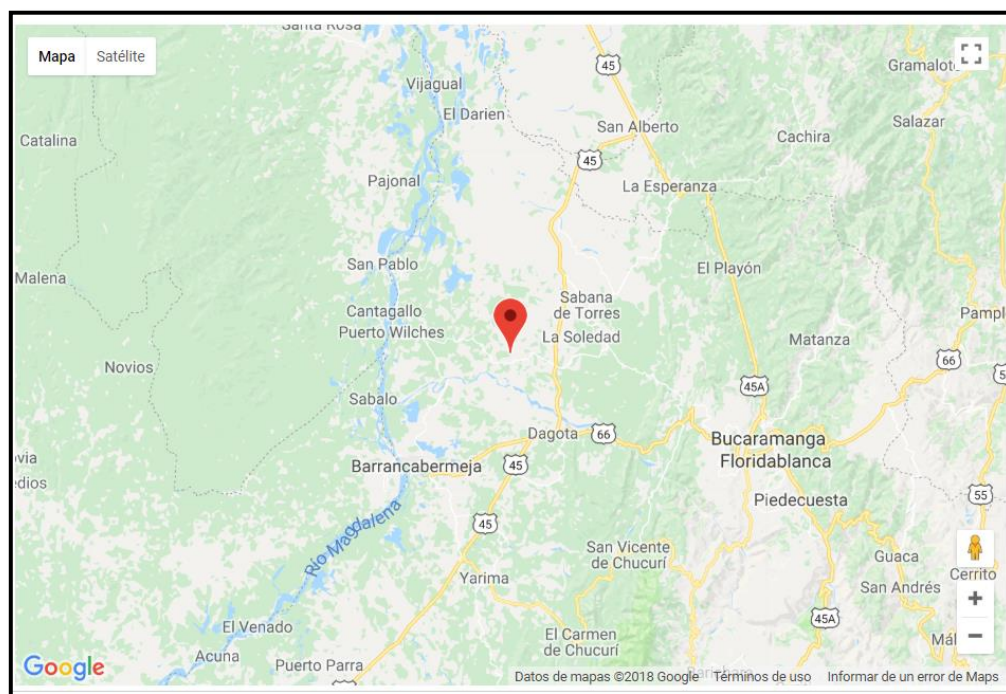


Figura 8. Georreferenciación de “La Aurora” Puerto Wilches-Santander

La localización vertical o profundidad del hueco para la toma de muestras fue de 10-15 cm. Para la toma de muestras del suelo se utilizaron calicatas, sondeos manuales y sondeos ligeros. En cada sitio de muestreo se removieron las plantas y hojarascas en un área de 20cm x 20cm, luego se introdujo la paladraga y pala a la

profundidad requerida, se transfirió de 200-300 g de muestra de suelo a las bolsas ziploc debidamente. En el muestreo se realizó un registro de datos donde la información que se recogió durante la toma de muestra fue registrada en el campo, anotando la descripción del perfil del sondeo, registro de la posición, horizontal o vertical a la que se tomó cada muestra, incluyendo una descripción detallada de la muestra (color, olor, apariencia, entre otros) y se realizó un reporte fotográfico de cada perforación donde se tomó la muestra (Muskus, 2013).

4.2.2. Caracterización fisicoquímica del suelo.

Para realizar la evaluación de la capacidad inhibidora de las nanopartículas de plata sobre el hongo *Fusarium solani* en suelos provenientes de cultivos de palma de aceite africana, fue necesaria la caracterización fisicoquímica de las siguientes propiedades: textura, pH, conductividad eléctrica y materia orgánica del suelo.

4.2.2.1. Textura del suelo

La textura del suelo es una propiedad que establece las cantidades porcentuales en que se encuentran las partículas de diámetro menor a 2mm, es decir, que ayuda a identificar qué clase de partículas están presente en el suelo como puede ser limo (L), arena (A) o Arcilla (Ar) (Muskus, 2013). La textura del suelo fue realizada por el método del densímetro o hidrómetro, regido por la norma ASTM-152H (Muskus, 2013).

Para el análisis de textura del suelo, se adicionó suelo muestreado, en un beaker de con agua destilada donde se aplicó una agitación mecánica durante 10 minutos. Luego, al suelo agitado se le adicionó agente dispersante $(\text{NaPO}_3)_6(\text{Na}_2\text{CO}_3)$ (calgón) y se traspasó a una probeta. Para la determinación de la textura de utilizo el hidrómetro (densímetro), se realizó la lectura del hidrómetro a los 40 segundos después de la agitación para realizar la primera lectura, además se registró la temperatura de la muestra. Por último, se registró la lectura del hidrómetro a las 2 horas. La lectura realizada en el densímetro a los 40 segundos correspondió a las partículas más densas que son las arenas; la lectura a las 2 horas corresponde a

las partículas menos densas que son las arcillas. Las fórmulas que fueron utilizadas para conocer el porcentaje de arenas, arcillas y limos son: se muestran a continuación:

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

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

$$\% \text{ Limo} = 100 - (\% \text{ Arenas} - \% \text{ Arcillas})$$

4.2.2.2. pH del suelo

El pH es una de las propiedades fisicoquímicas más importantes de los suelos, influyen sobre algunos aspectos tales como: disponibilidad y solubilidad de nutrientes para las plantas, controla la clase y el tipo de actividad microbiana presente en el suelo, por último, controla el intercambio catiónico en el suelo (Muskus, 2013). El método por el cual se realizó la determinación del pH es regido por la norma técnica colombiana NTC 5264

El procedimiento fue realizado utilizando agua destilada y KCL, con el mismo volumen para la determinación del ΔpH .

La siguiente ecuación se utilizó para hallar el ΔpH

$$\Delta\text{pH} = \text{pH del KCL} - \text{pH del agua}$$

4.2.2.3. Conductividad

La conductividad eléctrica (CE) de los suelos es la medida de la capacidad de un material para conducir la corriente eléctrica, el valor será más alto cuanto más fácil se mueve la corriente a través del mismo. Esto significa que, a mayor CE, mayor es la concentración de sales (Barbaro, L). Para la determinación de la conductividad eléctrica CE se llevó a cabo el procedimiento descrito por la Norma Técnica Colombiana NTC 5596

4.2.2.4. Materia orgánica

La materia orgánica es uno de los componentes del suelo más importantes. Cuando son agregados restos orgánicos de origen vegetal o animal, los microorganismos del suelo transforman los compuestos complejos de origen orgánico en nutrientes de forma mineral que son solubles para las plantas; pero este proceso es lento, por lo tanto, la materia orgánica no representa una fuente inmediata de nutrientes para las plantas, sino más bien una reserva de estos nutrientes para su liberación lenta en el suelo (Muskus, 2013).

Para calcular el porcentaje de materia orgánica presente en el suelo se utilizó el método por calcinación (Norma Técnica Colombiana 5403).

La siguiente ecuación se utilizó para hallar el porcentaje de materia orgánica

$$\%M.O = \frac{(P1 - P2)}{(P2 - C)} * 100$$

P1: peso del suelo salido del horno

P2: peso del suelo salido de la calcinación

C: peso del crisol

4.2.3. Aplicación de nanopartículas de plata en el suelo.

Para evaluar el desempeño inhibitorio de las nanopartículas de plata se realizaron dos etapas: la primera etapa se trata de la prevención y la segunda etapa fue la de mitigación sobre el suelo de cultivo de palma

4.2.3.1. Aplicación de nanopartículas en etapa de prevención

Para la etapa de prevención se realizó la esterilización del suelo, la aplicación de nanopartículas y la inoculación del hongo en el suelo.

a. Esterilización del suelo

Para la esterilización del suelo se recolectó suelo procedente del cultivo de palma y se realizó la respectiva limpieza para optimizar la esterilización de este. Luego se llevó a un horno a una temperatura de 180°C con duración de cuatro horas, posteriormente se dejó enfriar el suelo a temperatura ambiente y se sirvieron en recipientes.

b. Aplicación de nanopartículas

La aplicación de nanopartículas de plata se llevó a cabo mediante la dilución de estas en medio de cultivo líquida. La concentración diluida de nanopartículas de plata correspondió a 500ppm y fueron aplicadas al suelo por medio de un esparcimiento aleatorio.

c. Inoculación del hongo en el suelo

Después de 72 horas de la adición de las nanopartículas de plata al suelo, se inoculó el hongo *Fusarium solani* aislado previamente en el medio de cultivo y se aplicó al suelo realizando un raspado del hongo directamente.

En la figura 9 se puede observar un esquema general del proceso de inhibición del hongo, por la aplicación de las nanopartículas de plata en el suelo en etapa de prevención.

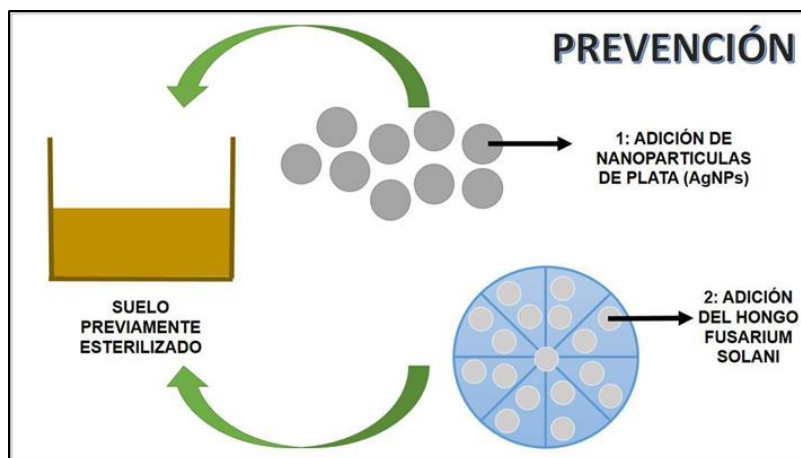


Figura 9. Evaluación del efecto fungicida de las AgNPs en etapa de prevención

En la figura 10 se presenta los pasos para el proceso de aplicación de nanopartículas en la etapa de prevención del suelo.

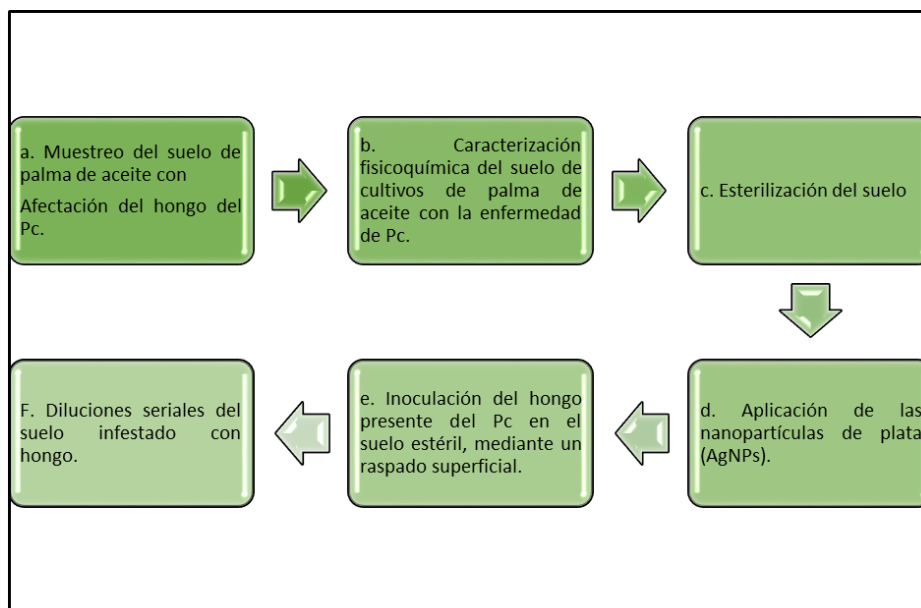


Figura 10. Pasos en la etapa de Prevención para la aplicación de las AgNPs con efectos inhibidores del crecimiento del hongo en un suelo.

4.2.3.2. Aplicación de nanopartículas de plata en etapa de Mitigación

La etapa de Mitigación se llevó a cabo mediante el muestreo, caracterización y esterilización del suelo como se describe en la sección anterior. Posterior a esto se realizó la inoculación del hongo por medio de un raspado superficial, se manejó un tiempo para la reproducción y esporulación del *Fusarium solani* en el suelo de 72 horas. Después de inoculado el hongo en el suelo, se procedió a la aplicación de las nanopartículas de plata. Finalmente, se desarrollaron diluciones seriales del suelo para corroborar el efecto inhibitor de las nanopartículas de plata en fase de mitigación.

En la figura 11 se presenta el esquema general para el proceso de aplicación de nanopartículas en la etapa de Mitigación del suelo.

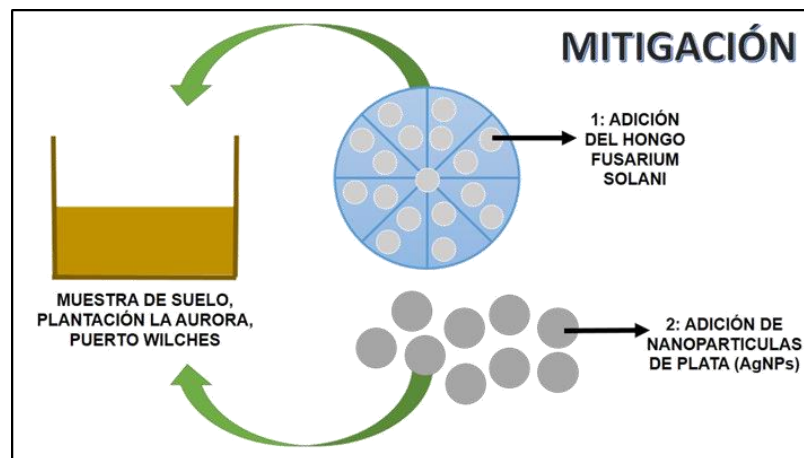


Figura 11. Evaluación del efecto fungicida de las AgNPs en etapa de mitigación

En la figura 12 se presenta los pasos para la Mitigación en la evaluación de la aplicación de nanopartículas de plata, con fines fungicidas en un suelo de palma.

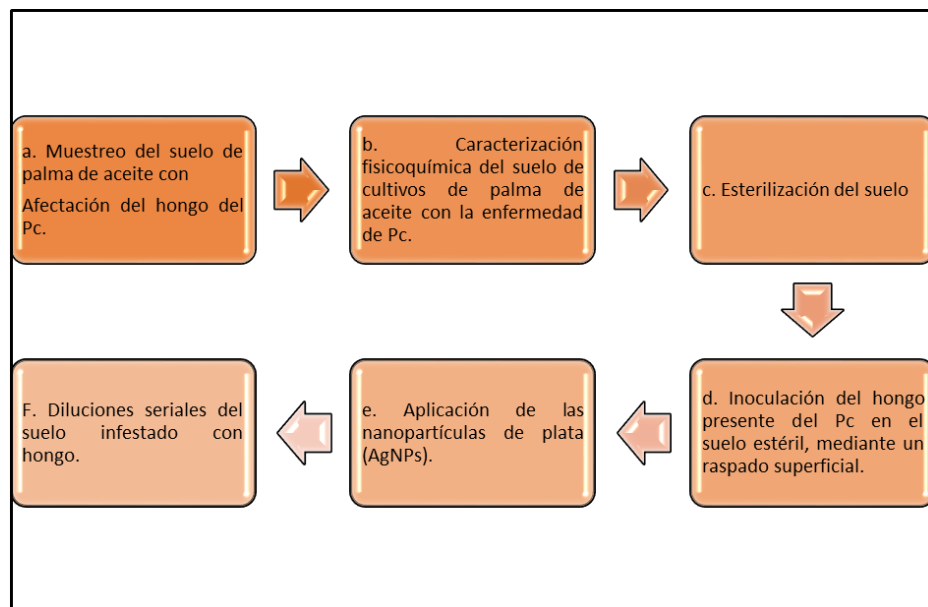


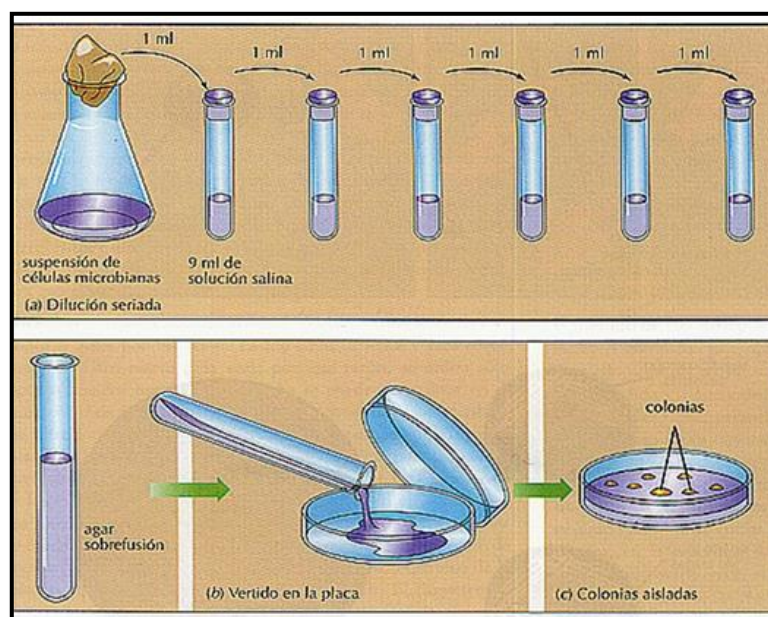
Figura 12. Pasos para la etapa de Mitigación en la evaluación del desempeño de las AgNPs en suelo esterilizado.

4.2.4. Determinación de la capacidad de inhibición del hongo en suelo

Para la determinación de la capacidad de inhibición del hongo *Fusarium solani* en un suelo en etapas de prevención y mitigación se realizaron diluciones seriales del suelo infestado con hongo.

En las diluciones, previamente se preparó un medio de cultivo con peptona, donde se pesó 15 g de ésta en un erlenmeyer de 1000 mL y agua destilada hasta completar el volumen del erlenmeyer, luego fue autoclavado por 15 minutos a 121°C. Adicionalmente, se preparó una solución patrón 1:10 donde se usó 90mL de medio peptona y 10 g de suelo agitados por 10 minutos (Medina, 2010).

De la solución patrón se extrajo 1mL y se mezcló con 9mL de agua peptona en un tubo de ensayo para ser agitado por 10 minutos, esta solución corresponde a una relación 1:100. Este proceso se realizó repetitivamente hasta llegar a una dilución de 10^{-5} ; luego de tener la dilución a la escala deseada, se procedió a servir por medio de un vertido en placa. En la figura 13 se presenta el proceso de diluciones seriales del suelo (Echegaray, 1993), Castellares y López (2017).



**Figura 13. Proceso de diluciones seriales del suelo utilizado en etapas de
Prevención y Mitigación**

Tomado de: Soto, Sara (2016)

4.3. Fase III. Aplicación de la técnica de recuperación por lavado con presión (Flushing).

Las nanopartículas de plata fueron magnetizadas previo a su aplicación en el suelo de palma, para poder ser recuperadas por medio de la técnica Flushing.

4.3.1. Síntesis de Nanopartículas de Magnetita

Para la magnetización de las nanopartículas de plata, estas fueron sintetizadas a partir de extractos vegetales, descrito en la sección 4.1.1.

La magnetización de las nanopartículas de plata se inició preparando una solución de Fe^{+3} a una concentración de 0.4 M, mezclando 10.8 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ con 100mL de agua destilada, para lo cual se aplicó la ecuación para efectos de molaridad. (Herrera et al., 2008)

$$M = \frac{n}{V} = \frac{m}{PM * V}$$

Luego se preparó una solución de Fe^{+2} con una concentración de 0.2M la cual se obtiene mezclando 4.69 g de $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ con 100 mL de agua destilada.

Al obtener las dos soluciones se mezclaron y se agitaron vigorosamente en una manta de calentamiento y se llevó a una temperatura de 70°C (máximo 75°C), luego se le agregó una solución de hidróxido de sodio 6M.

La solución de magnetita presentó un cambio a un color negro durante este proceso de precipitación, característico de este material; fue necesario tener en cuenta que una vez se lleva a cabo la reacción se debió agregar agua destilada cada 10 minutos y solución de NaOH (100mL / 6M) como agente precipitante cada 13 minutos. Luego de la precipitación, se dejó enfriar la solución a temperatura ambiente. Después de enfriada la solución, se inició con el proceso de lavado y decantación magnética.

El lavado se realizó para obtener partículas libres de compuestos de sodio y cloro, la solución de magnetita que precipitó fue lavado dos veces con agua destilada y después con etanol para luego secar el precipitado a 50°C en una plancha de calentamiento de un día para otro.

4.3.2. Modificación de las nanopartículas magnéticas con nanopartículas de plata usando una matriz de sílice

Para realizar la modificación de las nanopartículas de magnetita con las de plata, se preparó una suspensión con nanopartículas de magnetita y dimetilsulfoxido (DMSO), se dejó en un agitador mecánico, luego fue llevada la suspensión al ultrasonido con el fin de desintegrar los aglomerados de nanopartículas y facilitar

su suspensión. Se agregó tetra-etil-orto-silicato (TEOS) y se mantuvo en agitación mecánica a temperatura ambiente.

Luego de obtener las nanopartículas modificadas, se precipitaron por medio de centrifugación y se suspendieron en el solvente DMSO al 1% p/v usando el ultrasonido, se agregaron las nanopartículas de plata a la suspensión de nanopartículas magnéticas encapsuladas en la matriz de sílice y suspendidas en el DMSO, luego se sometió a agitación mecánica.

El nanomaterial multifuncional ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Ag}$) se separó por centrifugación, se lavó con etanol y se retiraron las nanopartículas de la solución usando magneto.

4.3.3. Recuperación de las nanopartículas de plata magnetizadas por medio de la aplicación de la técnica Flushing

Para la recuperación de las nanopartículas de plata magnetizadas se realizó el lavado por Flushing y fue necesario realizar reactores a escala laboratorio a los cuales se les adicionó suelo muestreado de cultivos de palma, luego fueron añadidas las nanopartículas de plata magnetizadas en concentraciones de 70.73 y 35.37 ppm, para un lavado con un volumen de 1500 y 3000 mL respectivamente. La aplicación de las nanopartículas de plata se realizó 3 días antes de la ejecución de la técnica, para optimizar la penetración de las nanopartículas de plata magnetizadas en el suelo.

Para la ejecución de la técnica Flushing se utilizó un compresor de aire Marca Karson 1.5 HP, con el cual, se controló el flujo de presión a 30psi y se mantuvo un caudal de 46.88 mL/s para un volumen de 1500mL y un caudal de 46.15 mL/s para un volumen de 3000mL. Para el desarrollo de la técnica de Flushing se basó en las variables estudiadas por Hernández y Suarez (2017) donde las presiones utilizadas fueron de 15, 35 y 50psi.

En el desarrollo experimental de este proyecto se realizó una variación en la presión utilizando 30psi para mayor estabilidad del flujo de agua.

Luego del lavado se obtuvieron las nanopartículas de plata magnetizadas en una solución de agua-suelo depositadas en un beaker, se llevaron a un campo magnético (utilizando un imán industrial sobre la muestra del lavado del suelo), logrando así que las nanopartículas en suspensión se aglomerasen en un punto específico.

Las muestras de suelo obtenidas fueron llevadas al laboratorio de análisis químico de la Universidad Pontificia Bolivariana seccional Bucaramanga, en donde fueron analizadas por medio de la Espectrofotometría de Absorción Atómica con Flama, permitiendo determinar el porcentaje de nanopartículas de plata magnetizadas recuperadas del suelo por medio de la técnica Flushing.

El análisis de las muestras se llevó a cabo por medio un proceso de digestión a 50mL de la mezcla agua-suelo producto de lavado a presión de la técnica Flushing, con el propósito de preparar la muestra para el análisis anteriormente mencionado.

En las figuras 14 y 15 se puede observar el proceso de lavado Flushing.



Figura 14. Vista frontal del proceso Flushing

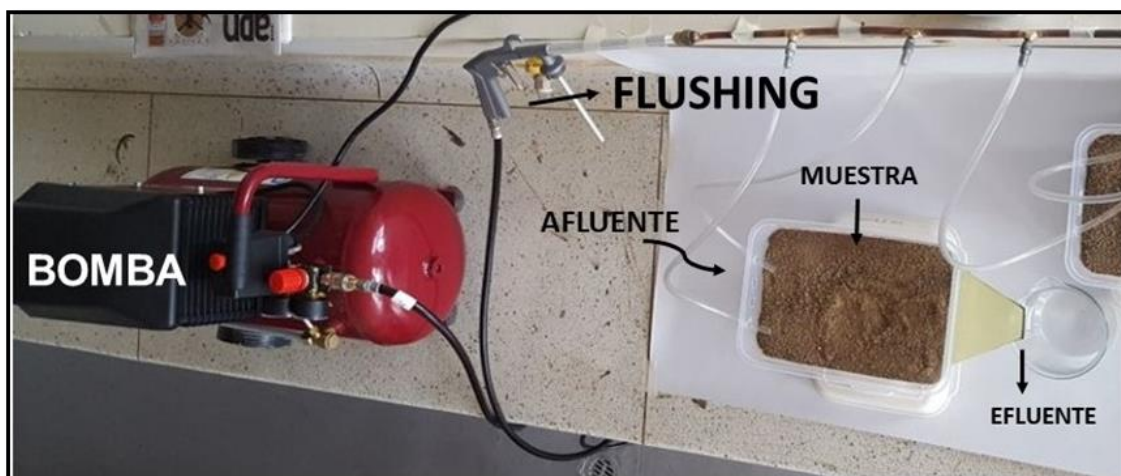


Figura 15. Vista superior del proceso Flushing.

Adicionalmente, a las muestras recogidas en el efluente, fueron tomadas muestras solidas en el suelo al cual se le fue aplicado el proceso de Flushing. Luego de ser recolectadas las muestras, fueron llevadas al laboratorio de análisis químico de la Universidad Pontificia Bolivariana seccional Bucaramanga donde fueron analizadas mediante el proceso de absorción atómica por flama (cantidad aproximada).

Se realizaron 3 puntos de muestreo del suelo en el reactor a escala laboratorio: El punto A corresponde a una muestra tomada a 1 cm de profundidad con un diámetro de 3 cm, la muestras B fue extraída a 1 cm de profundidad con un diámetro de 4 cm, y la muestra C correspondió a 1 cm de profundidad con un diámetro de 2 cm.

Esto se llevó a cabo para determinar el porcentaje de nanopartículas retenido por el suelo, en la figura 16 se puede observar el muestreo del suelo después de la aplicación del Flushing.

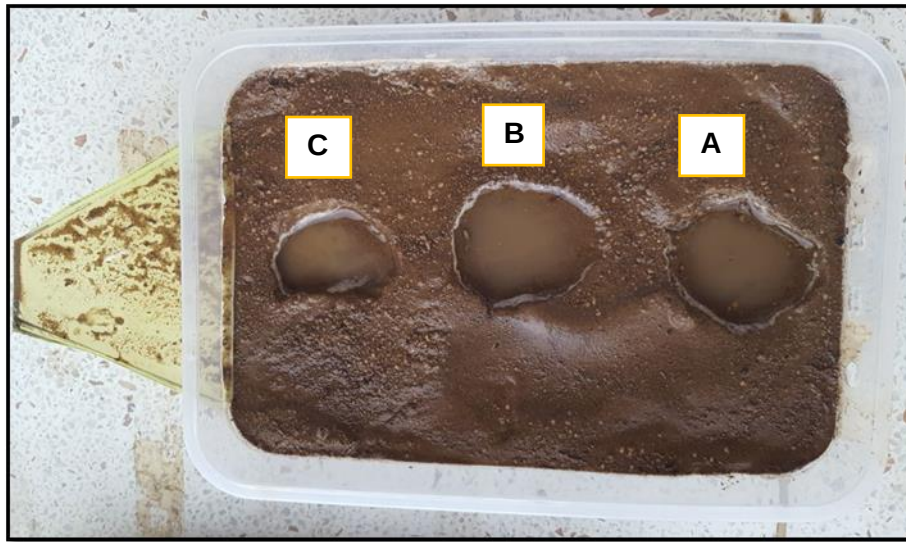


Figura 16. Muestreo de suelo después de la aplicación de la técnica Flushing.
A) 7cm³, B) 13cm³, C) 3cm³.

Para hallar el valor de la concentración recuperada en mg/L, se tuvo en cuenta el volumen recogido al final de la técnica de Flushing, para los lavados realizados con un volumen de 1500mL y 3000mL y el valor obtenido por el espectrofotómetro de absorción atómica de flama (concentración recuperada), se calculó por la siguiente ecuación:

$$\text{Concentracion recuperada (mg)} = \text{Concentracion recuperada} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) * \text{Volumen recogido (L)}$$

El porcentaje de recuperación fue hallado mediante la fórmula:

$$\text{Porcentaje de recuperaci3n(\%)} = \frac{\text{Concentraci3n aplicada (mg)} - \text{Concentraci3n recuperada (mg)}}{\text{Concentraci3n aplicada (mg)}} * 100$$

5. RESULTADOS Y ANALISIS

En esta sección se anunciarán los resultados obtenidos en las pruebas expuestas en la metodología, donde se busca evidenciar la determinación de la concentración inhibidora de las nanopartículas de plata, en el crecimiento del hongo *Fusarium solani* en suelos de cultivo de palma y la inhibición de las nanopartículas de plata sobre las etapas de prevención y mitigación del hongo presente en el suelo. El estudio se relacionó con la capacidad de remoción de nanopartículas de plata por medio de la técnica de lavado de suelo Flushing.

5.1. Fase I. Determinación de la concentración inhibidora de nanopartículas de plata

Para la determinación de la concentración inhibidora del crecimiento del hongo *Fusarium solani* en cultivos, fueron sintetizadas las nanopartículas de plata por medio del extracto de hojas de palmas y fueron caracterizadas por UV-Vis y SEM.

5.1.1. Caracterización de las nanopartículas de plata

Las nanopartículas de plata fueron sintetizadas mediante el método de co-precipitación explicado en la sección 4.1.2. Las nanopartículas de plata fueron caracterizadas por la técnica microscopia electrónica (SEM) y se confirmó la presencia de plata por la técnica espectroscopia de ultravioleta visible (UV-Vis).

a.) Análisis espectroscopia de ultravioleta visible (UV-Vis)

La aparición de bandas de absorción fueron encontradas con forma de campana de Gauss en el espectro ultravioleta visible (UV-Vis) ya que se observó que la oscilación y la longitud de onda de las nanopartículas de plata están presentes en un rango entre 350 a 500nm (A.Slistan, 2004). El análisis en el UV-Vis confirma la

presencia de nanopartículas de plata con una banda con máximo de absorción de 0.6 a una longitud de onda de 420nm. En la figura 17 se representa el espectro de absorción obtenido por UV-Vis para las nanopartículas de plata sintetizadas por medio de extractos de hojas.

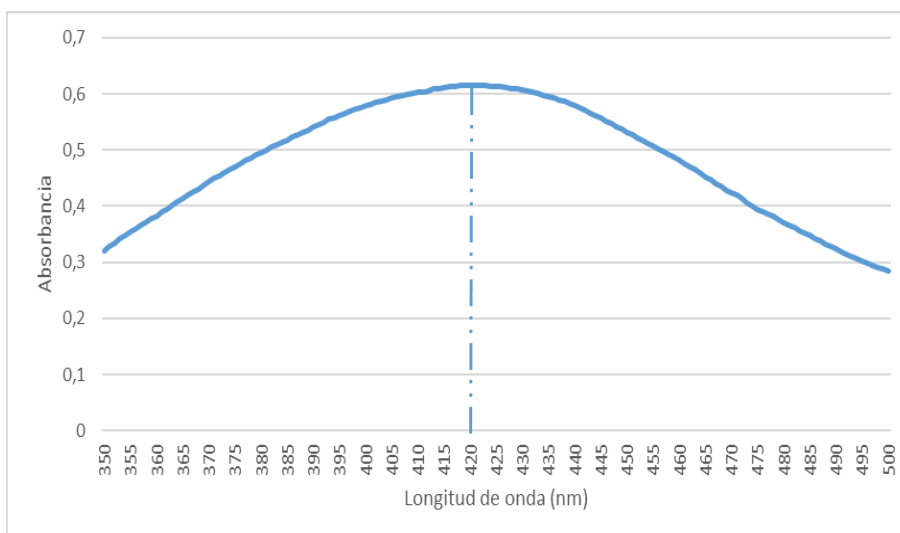


Figura 17. Espectro de absorción de las nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto de hoja de palma.

Fuente: Autores

b) Análisis de microscopia electrónica por barrido (SEM)

El análisis del microscopio de barrido electrónico SEM, permite determinar la variación en el tamaño y la forma de las nanopartículas. En su mayoría presentan una forma semiesférica, implementando aumentos de 100.000X y 250.000X con un voltaje de aceleración de 30.0 KV. De igual forma se observó que las nanopartículas de plata forman aglomeraciones en las superficies y que su tamaño promedio es de aproximadamente 23.97nm. Las nanopartículas semiesféricas mostraron una resolución y calidad óptima como se muestra en la figura 18.

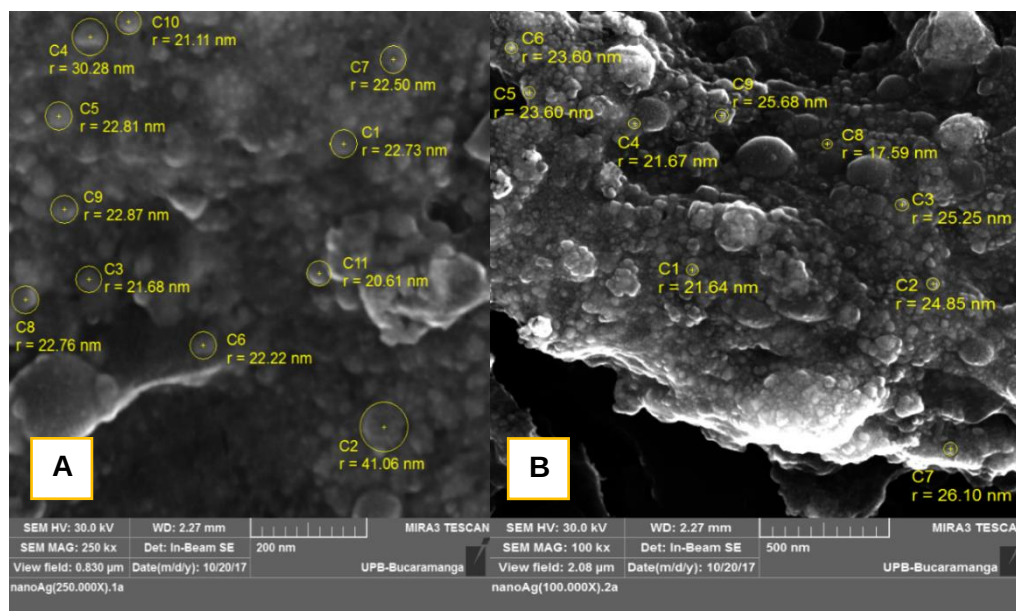


Figura 18. Micrografía de nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto de hojas de palma. A) Nanopartículas visualizadas a 250Kx, B) Nanopartículas visualizadas a 100Kx

Fuente: Laboratorio de Nano Ciencia y Nanotecnología de la Universidad Pontificia Bolivariana seccional Bucaramanga.

Adicionalmente fue calculada la distribución de tamaño de las AgNPs, esto se realizó para determinar la homogeneidad del tamaño de las nanopartículas de plata encontrando que el tamaño oscila entre 41.22 y 52.20 nm.

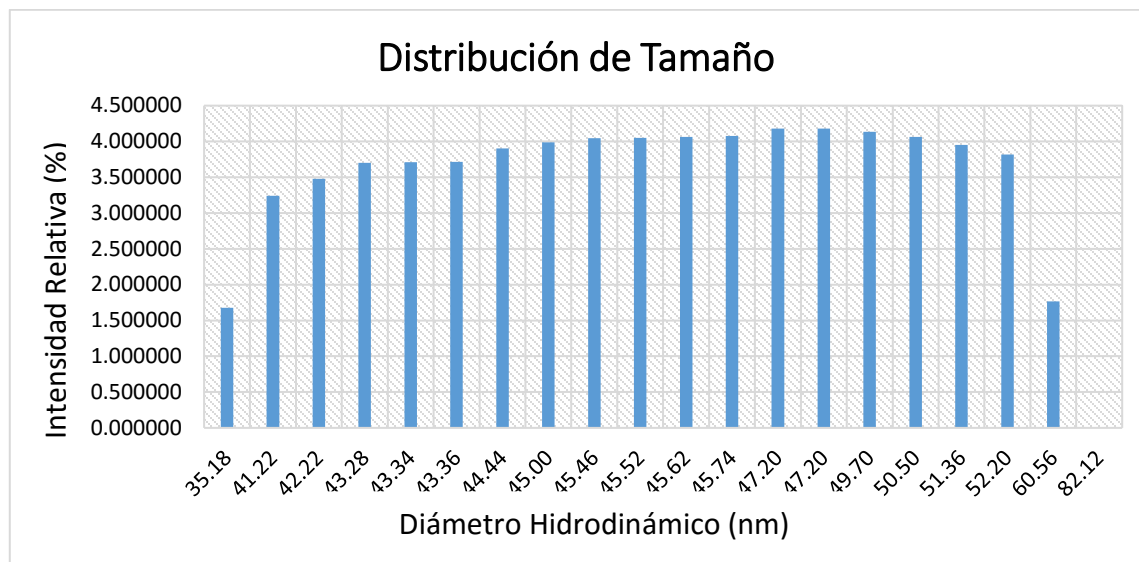


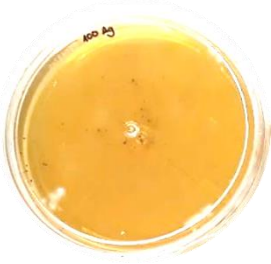
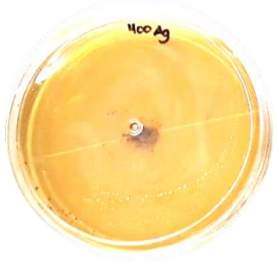
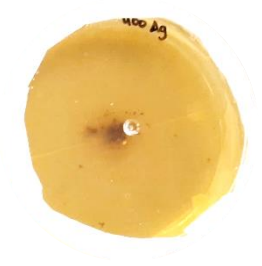
Figura 19. Distribución de tamaño de las nanopartículas de plata (AgNPs)

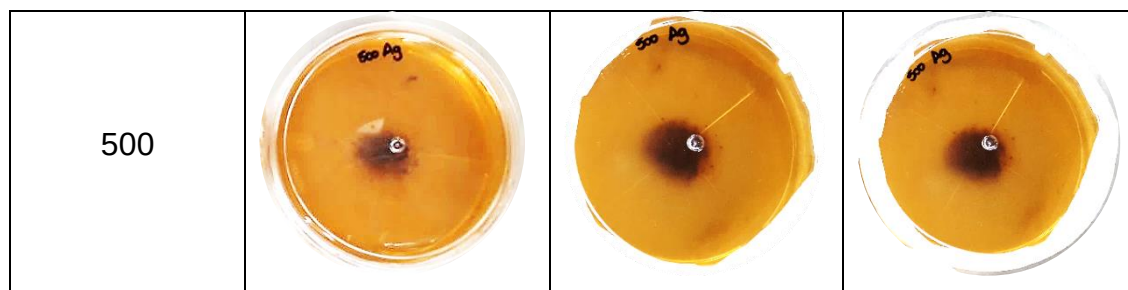
Fuente: Autor

5.1.2. Identificación del crecimiento del hongo *Fusarium solani* en diferentes concentraciones de nanopartículas de plata en medios de cultivo

Para el análisis de la capacidad de inhibición de las nanopartículas de plata en el hongo *Fusarium solani* se manejaron las variables de tiempo y concentración. Las concentraciones medidas fueron de 100, 200, 300, 400 y 500 ppm en un rango de tiempo de aproximadamente 72 horas, en las cuales se registró el proceso de manera fotográfica con intervalos de 24 horas como se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Inhibición de las nanopartículas de plata ante las variables de concentración y tiempo en el hongo *Fusarium solani*

Concentración (PPM)	Tiempos (Horas)		
	24	48	72
100			
200			
300			
400			



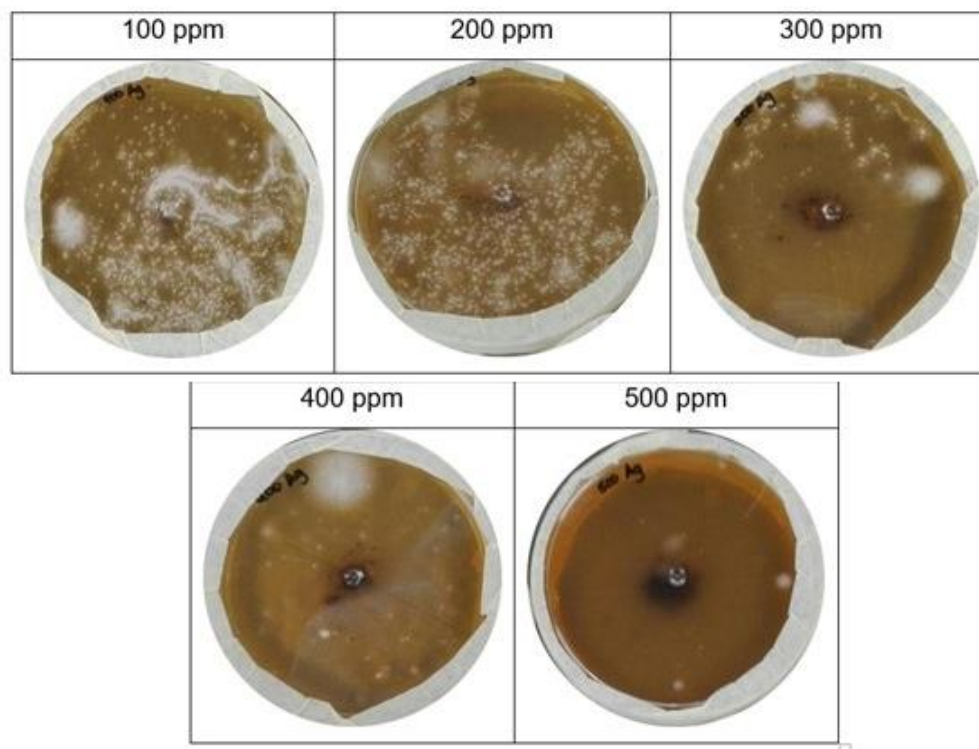
Como se puede observar en la tabla 6, hubo una inhibición total por parte de las nanopartículas de plata en el hongo *Fusarium solani* en las concentraciones de 100 ,200, 300, 400 y 500 ppm, evaluados en los intervalos de 24, 48, 72 y 720 horas. La aplicación de las nanopartículas de plata se llevó a cabo de manera puntual, siendo aplicadas en el centro de la caja Petri. La inoculación del hongo, de igual manera se realizó de manera puntual abarcando el área de aplicación de las nanopartículas.

Con estos resultados se puede establecer que, a mayor contacto superficial de las nanopartículas con el medio y el hongo, se obtiene mayor eficiencia de inhibición, anulando así el crecimiento natural del hongo *Fusarium solani*.

En la tabla 7 se evidencia el crecimiento del hongo *Fusarium solani* al cabo de un mes (30 días), las cajas Petri con concentración de 100 y 200 ppm muestran un crecimiento aleatorio. En las cajas Petri de 300 y 400 ppm, por el contrario, el crecimiento fue menor comparado con las concentraciones anteriores, la concentración correspondiente a 500ppm evidenció un crecimiento muy mínimo del hongo.

El crecimiento, en general, se dio alrededor del lugar de aplicación de las nanopartículas, demostrando el carácter inhibidor de estas frente a los fitopatógenos de forma puntual, en este caso, el hongo *Fusarium solani*.

Tabla 7. Inhibición del hongo *Fusarium solani* a un tiempo de 30 días



Los resultados de la tabla 7, permitieron establecer que las nanopartículas de plata crean un efecto inhibitor sobre el crecimiento de hongos, como el caso del crecimiento del hongo *Fusarium solani*. En estudios como Mosquera (2016), las nanopartículas atacan la pared celular del hongo, la cual es la encargada de controlar su crecimiento.

Debido a los óptimos resultados en la inhibición del hongo *Fusarium solani* presentados a una concentración de 500ppm de nanopartículas de plata en un tiempo de análisis de 30 días, se utilizó esta concentración para llevar a cabo las fases de prevención y mitigación correspondiente a la Fase II.

5.2. Fase II. Analizar la inhibición de las nanopartículas de plata sobre las etapas de prevención y mitigación del hongo *Fusarium solani* presente en el suelo.

El suelo de cultivo de palma fue caracterizado en sus propiedades fisicoquímicas para el análisis de mitigación y prevención de la propagación del hongo en matriz sólida. Se prepararon diluciones seriales del suelo infestado con hongo, para su posterior análisis.

5.2.1. Propiedades fisicoquímicas analizadas en suelo de Palma

Las propiedades fisicoquímicas evaluadas en el suelo de palma fueron: pH y conductividad, textura mediante el método de Bouyoucos, materia orgánica y capacidad de intercambio catiónico. Estas propiedades fueron evaluadas en tres tipos de suelos, como se observa en la tabla 8.

Tabla 8. Tipos de suelos identificados del cultivo palma africana

Suelo de palma	Tipo de suelo identificado
1	Ausencia del hongo <i>Fusarium Solani</i>
2	Ausencia del hongo <i>Fusarium Solani</i>
3	Muestra de suelo tomada del cultivo infestado por <i>Fusarium Solani</i>

Los resultados presentados corresponden al promedio obtenido de quintuplicados de las muestras de suelo de palma.

5.2.1.1. Determinación de pH y conductividad

Para el análisis de pH se empleó la metodología aplicada en el Manual de Laboratorio de Caracterización de Suelos (Muskus, 2015) con lectura por medio del multiparámetro. El pH se evaluó en tres tipos de suelo, clasificados como 1,2 y 3.

En la tabla 9, se presenta los resultados obtenidos de pH del suelo en H₂O y en KCl para un suelo de palma.

Tabla 9. pH del suelo de palma en medio acuoso y en KCL

Tipo de suelo	pH en H ₂ O			pH en KCL		
	Suelo 1	Suelo 2	Suelo 3	Suelo 1	Suelo 2	Suelo 3
1	4.68	4.43	5.71	3.58	3.79	4.59
2	4.69	4.40	5.75	3.57	3.82	4.51
3	4.44	4.33	5.28	3.54	3.88	4.53
4	4.68	4.45	4.99	3.59	3.82	4.54
5	4.62	4.46	4.58	3.56	3.82	4.54
promedio	4.6	4.4	5.3	3.6	3.8	4.5

El pH del suelo correspondiente a las muestras de suelo 1 y 2 con ausencia del hongo se cataloga como muy fuertemente ácido y con una deficiencia de nutriente altos. Estas muestras corresponden a la locación del cultivo que en el momento del muestreo estaban exentas de la enfermedad PC, este resultado puede ser relacionado con los tipos de pesticidas y fertilizantes utilizados en los cultivos. Si los fertilizantes utilizados fueron nitrogenados que contienen o forman amonio NH_4^+ incrementan la acidez del suelo. Los fertilizantes más utilizados en la industria agropecuaria del cultivo de palma son: sulfato de amonio, nitrato de amonio y la urea. Al aplicar estos fertilizantes al suelo, el amonio NH_4^+ se transforma en Nitrato NO_3^- debido a la acción biológica y libera hidrógeno que acidifica el suelo. Esta reacción es necesaria y se da de manera natural, ya que la mayor parte del nitrógeno que absorbe la planta es en forma de nitrato. Por cada molécula de NH_4^+ que se transforma a NO_3^- , se liberan dos moléculas de H^+ , que acidifican el suelo

(J. Z. Castellanos). La muestra de suelo de palma 3 se cataloga como fuertemente ácido, menos que las anteriores muestras.

Los valores de pH en KCl respaldan los anteriormente nombrados, ya que para el estudio de los suelos 1 y 2, el resultado corresponde a los de un suelo extremadamente ácido y el pH de la muestra 3, a un suelo fuertemente ácido.

En la tabla 10, se presenta el ΔpH para los suelos provenientes de cultivo de Palma. En las muestras de suelo de Palma de la zona de Puerto Wilches, se obtuvo un valor de ΔpH negativo demostrando que el suelo permite el intercambio catiónico

Tabla 10. ΔpH para suelos provenientes del cultivo de Palma.

Tipo Suelo	ΔpH Suelo (Muestra)					Prom	Desviación
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5		
1	-1,1	-0,92	-0,9	-1,09	-1,06	-1,014	0,0963
2	-0,64	-0,58	-0,45	-0,63	-0,64	-0,588	0,0811
3	-1,12	-1,24	-0,75	-0,45	-0,04	-0,720	0,4916

La conductividad eléctrica es la medida de la capacidad de un material para conducir la corriente eléctrica, el valor será más alto cuanto más fácil se mueve la corriente a través del mismo. Esto significa que, a mayor CE, mayor es la concentración de sales (Barbaro, L). Según los resultados obtenidos y evidenciados en la tabla 11, se puede analizar que los suelos muestreados son suelos no salinos, esto facilita el manejo de la fertilización y se evitan problemas por fitotoxicidad en el cultivo.

Tabla 11. Conductividad de suelos provenientes del cultivo de Palma

Suelo	Conductividad (dS/m)					Prom	Desviación
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5		
1	0,0859	0,0865	0,1065	0,0955	0,1076	0,096	0,010
2	0,0807	0,0705	0,0714	0,0807	0,0817	0,077	0,006
3	0,1015	0,0379	0,0303	0,0585	0,0429	0,054	0,028

5.2.1.2. Textura del suelo

De acuerdo con el análisis de los cálculos obtenidos el porcentaje de limo, arcillas y arenas en las muestras de los suelos 1,2 y 3 se pudo observar que presentan mayor dominio las arenas con un 88,68%, en segundo lugar, las arcillas con un 6,82% y por último limo con un 4,60%. Al comparar los resultados obtenidos con el triángulo de textural de la USDA (Muskus, 2015), se puede analizar que los suelos muestreados son de textura arenosa.

En la tabla 12, se presenta la textura obtenida para cada tipo de muestra de suelo proveniente del cultivo de palma.

Tabla 12. Textura del suelo proveniente del cultivo de palma.

Tipo de Suelo	Textura del Suelo																	
	Arenas (%)						Arcillas (%)						Limos (%)					
	M 1	M 2	M 3	M 4	M 5	Prom A	M1	M 2	M 3	M 4	M 5	Prom	M1	M 2	M 3	M 4	M 5	Prom
1	85,72	85,72	84,72	83,72	83,72	84,72	6,00	9,00	9,00	8,00	8,00	8,00	8,28	7,28	6,28	8,28	8,28	7,68
2	88,72	87,72	87,72	86,72	94,72	89,12	6,00	5,00	6,00	6,00	6,00	5,80	5,28	7,28	6,28	7,28	0,00	5,22
3	93,28	92,36	93,00	93,36	91,00	92,60	5,84	6,20	6,76	7,38	7,12	6,66	0,88	1,44	0,24	0,00	1,88	0,89

Debido al alto porcentaje de arenas, esta incide en la porosidad del suelo, principalmente en la macro-porosidad ya que el tamaño de las partículas es grande; a su vez influye en el drenaje, la aireación, la capacidad de infiltración es alta y la capacidad de retención de agua es baja. Por ser un suelo arenoso, los porcentajes de limo y arcilla van a permitir una mayor cohesión de partículas a pesar de que haya mayor porcentaje de arena.

5.2.1.3. Materia orgánica

En la tabla 13, se presentan los resultados obtenidos para materia orgánica (% MO), en la muestra de suelo 1 analizada en el laboratorio presentó un resultado de % MO de 0.78%, se puede interpretar que el suelo es bajo en materia orgánica y debido a su clima cálido se encuentra en el porcentaje de mineral bajo. Según la tabla Clasificación de la cantidad de materia orgánica con respecto al clima que se encuentra en el Manual de Laboratorio de Características de Suelos; en la muestra de suelo 2 el % MO es de 1.85%, con el cual se puede interpretar que el suelo es medio en materia orgánica y en la muestra de suelo 3 el valor de % MO es del 0.41%, se puede interpretar que el suelo es muy bajo en materia orgánica.

Tabla 13. Materia orgánica para los suelos provenientes de cultivo de palma

Tipo de suelo	Materia Orgánica (%)					Promedio (%)
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	
1	1.20	1.50	0.50	0.40	0.30	0.78
2	2.04	2.04	2.06	1.02	2.10	1.85
3	1.01	0.00	0.00	0.00	1.02	0.41

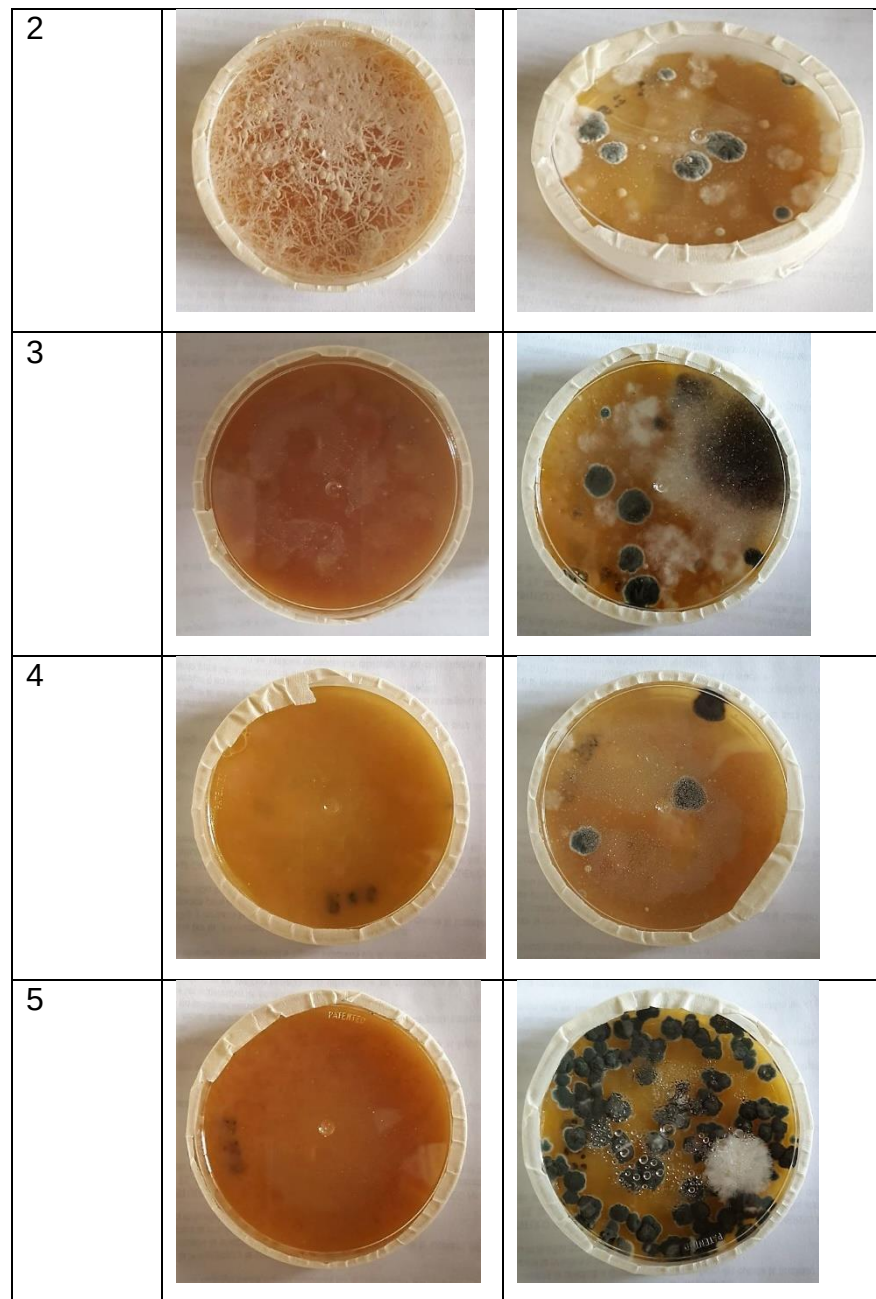
En las muestras de suelo analizadas, el porcentaje de materia orgánica es bajo, esto dificulta la retención de nutrientes, la fertilidad y las condiciones físicas de retención de humedad del suelo.

5.2.2. Diluciones seriales del suelo infestado con hongo

Al realizar las diluciones seriales del suelo en los procesos de prevención y mitigación, se pudo observar que, en el proceso correspondiente a la prevención, el crecimiento del hongo *Fusarium solani* fue inhibido totalmente a una concentración de 500ppm, ya que se realizó un proceso de réplicas por medio de quintuplicado y en ninguna se evidenció el crecimiento de este hongo. Por el contrario, en el proceso de mitigación, se pudo evidenciar el crecimiento parcial del hongo *Fusarium solani* en las réplicas correspondientes a las Figuras 1, 2 y 5. En las Figuras 3 y 4 se evidencia el crecimiento de un hongo blanco el cual no corresponde a la descripción física del hongo *Fusarium solani*, que se pueden observar en la tabla 14.

Tabla 14. Diluciones seriales del suelo con AgNPs en etapas de prevención y mitigación.

Replica	Prevención	Mitigación
1		



En el proceso de prevención se evidencia una mayor inhibición del hongo debido a que las nanopartículas tienen una mayor área y tiempo de contacto con el suelo, ya que se aplicó antes de la inoculación del hongo, mientras que en el proceso de mitigación se inoculó el hongo primero abarcando el área de contacto, favoreciendo

así su propagación por toda la superficie del suelo, impidiendo la adhesión de las nanopartículas al suelo afectando su efecto antimicótico.

5.3. Fase III. Aplicación de la técnica de recuperación por lavado con presión (Flushing).

En la tabla 15 se puede evidenciar las variables usadas y los parámetros tenidos en cuenta como lo son: volumen medido en mililitros (mL), presión en psi, tiempo de vaciado en segundos (s) y caudal en mililitros por segundo (mL/s).

Tabla 15. Variables de la técnica de Flushing

Volumen inicial (mL)	Presión (psi)	Tiempo (s)	Caudal (mL/s)
1500	30	32	46.88
3000	30	65	46.15

La técnica de Flushing permitió determinar la recuperación de nanopartículas de plata magnetizadas aplicadas en un suelo de palma, con un caudal de 46.88 y 46.15 mL/s. Esto permitió tener un volumen de muestra a analizar en el efluente de 1000mL y 2500mL obtenidos de los volúmenes aplicados inicialmente, la técnica fue aplicada por medio de duplicado para cada volumen inicial.

En la tabla 16 se muestran los valores correspondientes a las concentraciones recuperadas de nanopartículas de plata magnetizadas en mg/L, la concentración de nanopartículas aplicadas y el porcentaje de recuperación.

Tabla 16. Recuperación de nanopartículas de plata en medio acuoso mediante el método de Flushing

Volumen Flushing (Litros)	Número del Lavado	Concentración recuperada (mg/L)	Concentración aplicada (mg/L)	Porcentaje de AgNPs recuperadas (%)	Promedio (%)
1,5	1	0,1961	70,73	99,7227	99,6670
	2	0,2748	70,73	99,6114	
3,0	1	0,1794	35,37	99,4927	99,1233
	2	0,4402	35,37	98,7554	

Fue posible evidenciar que con el manejo de un volumen de 1500mL se tuvo un porcentaje promedio de recuperación del 99,6670% y para las muestras de 3000mL se obtuvo un promedio de 99,1233%, lo cual muestra la efectividad de esta técnica en cuanto a la recuperación de metales (nanopartículas de plata) en suelo.

La técnica de lavado Flushing se considera una técnica de gran eficiencia ya que remueve la mayor cantidad de contaminantes en el suelo, y se considera como una técnica de bajo costo además de reducir al mínimo, la cantidad de desechos que se requiere para un tratamiento ulterior. Como fue observado en la tabla 16, esta técnica alcanzó un porcentaje de recuperación superior al 90%, demostrando así la efectividad que posee como técnica de recuperación de suelos en una alta gama de contaminantes como lo son los metales, en este caso, las nanopartículas de plata. Esta técnica, además de su efectividad, pudo ser manejada de forma ex-situ, asegurando la mayor contención de las nanopartículas de plata en un sistema cerrado, evitando la pérdida o propagación de las mismas.

Las muestras solidas del suelo en diferentes puntos del reactor fueron llevadas al espectrofotómetro de absorción atómica con flama, al igual que las muestras liquidas anteriormente analizadas, para determinar la concentración de

nanopartículas de plata. Este análisis se llevó a cabo para afirmar la eficiencia de la técnica lavado por Flushing, como se evidencia en la tabla 17.

En la tabla 17 se evidencia la concentración y el porcentaje de retención de nanopartículas de plata en el suelo, al finalizar la aplicación de la técnica de lavado Flushing.

Tabla 17. Porcentaje de retención de nanopartículas de plata Magnetizadas en medio sólido (suelo)

Volumen (Litros)	Lavado Flushing	Puntos de suelo en Reactor	Concentraci ón AgNPs (mg/L)	Concentración AgNPs Total (mg/L)	Porcentaje AgNPs retenido en el suelo (%)	Prom (%)
1,5	1	1	0,0155	0,1398	0,1318	0,1928
		2	0,0310			
		3	0,0933			
	2	1	0,0062	0,5725	0,2539	
		2	0,5202			
		3	0,0461			
3,0	1	1	0,0212	0,2614	0,4159	0,7163
		2	0,1413			
		3	0,0989			
	2	1	0,0119	0,6989	1,0167	
		2	0,6027			
		3	0,0843			

En comparación con los trabajos anteriormente realizados con esta técnica Flushing; como lo fue el trabajo Hernández y Suarez en 2017, se puede evidenciar que el porcentaje de remoción y eficacia de la técnica Flushing tiene mejor funcionamiento al ser aplicadas en procesos con menor volumen de suelo o en reactores pequeños. El reactor utilizado por Hernández y Suarez manejó unas dimensiones de 25cm altura, 23,50cm ancho y 28,56cm de largo utilizando un

volumen de 16.779 cm^3 , medidas más amplias, que posiblemente dispersaron las nanopartículas de plata magnetizadas y no pudieron ser recuperadas con altos porcentajes en comparación con las obtenidas en este trabajo.

Este trabajo demostró mejores porcentajes de recuperación de nanopartículas de plata magnetizadas con valores promedio de 99.4%; al ser aplicadas en un suelo y removidas utilizando la técnica Flushing. Adicionalmente los porcentajes de retención de nanopartículas de plata magnetizadas en el suelo hasta la zona donde se colocó la geomembrana fueron aceptables con valores entre 0.1 a 1.0%, demostrando que en el suelo quedaron pocas nanopartículas de plata magnetizadas.

Fue posible evidenciar que las muestras solidas de suelo con un volumen de 1500mL se tuvo un porcentaje promedio retenido de 0,1928% y para las muestras de 3000mL se obtuvo un promedio retenido de 0,7163%, lo cual muestra la efectividad de esta técnica en cuanto a la recuperación de metales en específico nanopartículas de plata.

La técnica de Flushing debe seguir en estudio para evitar dejar depositadas en el suelo nanopartículas de plata magnetizadas.

6. CONCLUSIONES

- ✓ El efecto antimicótico de las nanopartículas de plata se evaluó mediante el método del sándwich en medio de cultivo con el hongo *Fusarium solani*, concluyendo que para una total inhibición en fitopatógenos el contacto de las nanopartículas debe ser directo, abarcando la mayor área superficial posible.
- ✓ La eficiencia de las nanopartículas de plata aplicadas en suelo, como agente inhibidor del hongo *Fusarium solani*, se puede evidenciar en el método de prevención, en donde no se observó ningún crecimiento de hongo de las diluciones seriales realizadas al suelo en medio de cultivo.
- ✓ La técnica de lavado Flushing permitió la recuperación de nanopartículas de plata aplicadas a suelos usados para cultivos de palma, alcanzando un porcentaje de recuperación de hasta el 99.7780% y 99.2700%, evidenciando el potencial de la técnica para remover sustancias del suelo como en este caso lo fueron las nanopartículas de plata y recuperar las propiedades originales del suelo.

7. RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda plantear una técnica o el uso de un accesorio de mayor eficiencia en el proceso de raspado de las nanopartículas al finalizar el secado y calcinación de éstas.
- ✓ Indagar o proponer una técnica de verificación de la funcionalidad de las nanopartículas de plata luego de ser recuperadas del suelo.
- ✓ Se recomienda que, para la implementación del método del sándwich en medios de cultivo, las nanopartículas de plata sean diluidas en ambas capas de medio de cultivo, ya que, a mayor contacto superficial con el hongo, mayor inhibición de éstas.
- ✓ Se recomienda investigar profundamente el efecto de las nanopartículas de plata, en el método de prevención aplicado al suelo para optimizar la relación gasto beneficio.

8. BIBLIOGRAFIA

Alicante, Espectroscopía Ultravioleta Visible, Universidad de Alicante, servicios tecnicos de investigación. Disponible en: <https://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-rayos-x-de-monocristal-y-espectroscopias-vibracional-y-optica/espectroscopia-ultravioleta-visible.html>. 2012.

Arriaga C.I., Paramo J.C., Sanchez P.F., Chavez M.G., Baena B.H., Vazquez A.G., Uso del espectrofotometro de UV-Visible, Ingenieria Agroindustrial, Universidad Politecnica de Guanajuato. 2015.

Castellanos, J. Z. 2014. Acidez del Suelo y su Corrección. Hojas Técnicas de Fertilab, México. 4 p. Extraído de <https://www.intagri.com/articulos/suelos/manejo-y-correccion-de-acidez-de-suelo#..>

Cenipalma. Líneas de tiempo Fitopatología y Entomología. Julio del 2012. Colombia On-line.

Comisión Europea. ¿Son seguras las nanopartículas de plata? Consecuencias para la salud, el medio ambiente y la resistencia microbiana. Página Web: https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/docs/citizens_silvernanoparticles_es.pdf

Cristancho, J., O. Alfonso y D. Molina. 2012. Revisión de literatura sobre el papel del suelo y la nutrición de plantas en la Pudrición del cogollo de la palma de aceite. Revista Palmas Vol. 33 N°2. 9-22p. FEDEPALMA

Dinero.com. (2017). Panorama desalentador para la palma africana. [online] Available at: <http://www.dinero.com/edicion-impres/negocios/articulo/en-que-esta-palma-africana-2015/208957> [Accessed 14 Jun. 2017].

Dorronsoro Fernandez, Carlos; Descontaminación de suelos; Universidad de Granada; Recuperado de: <http://www.edafologia.net/desconta/quimicas2.pdf>

Esparza Rivera, Elda; Lira Saldivar, R. Hugo; Hernández Suárez, Marcela; Betancourt Galindo, Rebeca; Garcia Cerda, Luis A; Puente Urbina, Bertha. (19 de Diciembre de 2014). *Researchgate*. Recuperado el 02 de Febrero de 2018, de Researchgate: https://www.researchgate.net/profile/Ricardo_Lira-Saldivar/publication/269708645_Actividad_antimicrobial_de_nanoparticulas_de_cobre_y_oxido_de_zinc_contra_bacterias_y_hongos_fitopatogenos/links/549469130cf2ec133755c91f/Actividad-antimicrobial-de-nanoparti

Fedepalma.org. (2017). La palma de aceite en Colombia. [online] Available at: <http://web.fedepalma.org/sites/default/files/files/Infografi%CC%81a%20General%20de%20COLOMBIA.pdf> [Accessed 14 Jun. 2017].

Herrera, A., & Rinaldi, C. (3 de Julio de 2008). Synthesis and functionalization of magnetite nanoparticles with aminopropylsilane and carboxymethyldextran. *Journal of Materials Chemistry*

Herrera, A. P. (2008). Aplicaciones e Implicaciones de la Nanotecnología en el Medio Ambiente. Cartagena, Colombia.

Infoagro. El cultivo de palma africana; Industria de los cereales y derivados.http://www.infoagro.com/herbaceos/oleaginosas/palma_africana_aceitera_coroto_de_guinea_aabora.htm. Consultada el 14 de enero del 2017.

Johnston, HJ, Hutchison, G, Christensen, FM, Peters, S, Hankin, S y Stone V. 2010. A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: Particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity

Kim, S, Choi, JE, Choi, J, Chung, K, Park, K, Yi, J y Ryu D. 2009. Oxidative stressdependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicol In Vitro*

Leslie J F, Summerell B A. The Fusarium Laboratory Manual. Ed. Wiley- Blackwell. 2006.

López Mejía Rafael. Página web: Fedepalma <http://www.sac.org.co/es/quienes-somos/nuestros-afiliados/76-fedepalma.html>. Consultada 5 de enero del 2017.

López Mejía Rafael. Fedepalma. Disponible en: <http://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmicultor/article/viewFile/7275/7266>. Consultada 5 de enero de 2017

Los hongos. Fusarium. Página Web: <http://www.cyclamen.com/es/profesional/enfermedades/8/25>

Lucioni Cozo Alberto. Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de H [AuCl₄]. 2012.. Consultada el 22 de enero del 2017

Manual técnico de palma africana. San Pedro Sula, Cortez, Abril del 2009.PDF. Consultado el 10 de enero del 2017.

Martínez L., Gerardo., Sarria, Greicy A., Torres L., Gabriel A., Varón, Francia., Romero A., Hernán M., Sáenz S., Jose 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.

Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts . Biotechnology Advances , 346-356.

Piontelli, E. Manual de Microhongos filamentosos comunes

Ramirez, L. Nanopartículas de plata contra el cáncer de mamá. Página web: <http://www.actitudfem.com/entorno/genero/mujeres/nanoparticulas-de-plata-contra-cancer-de-mama>

Rodriguez, G. Palma Aceitera. Salva la selva. Febrero 2010. Obtenido de: <https://www.salvalaselva.org/temas/bioenergia/palma-aceitera>

Sedici.unlp.edu.ar. (2014). Nanopartículas de plata con potenciales aplicaciones en materiales implantables: síntesis, caracterización fisicoquímica y actividad bactericida. [online] Available at: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/34946/Documento_completo.%20Flores%20-%20Area%20Qu%C3%ADmica.pdf?sequence=1 [Accessed 15 Jun. 2017].

Tapia C, Amaro J. Genero fusarium. Programa de Microbiología y Micología. Instituto de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Página Web: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v31n1/art12.pdf>

Wadhera, A y Fung M. 2005. Systemic argyria associated with ingestion of colloidal silver. Dermatol Online. Disponible en [http:// dermatology.cdlib.org](http://dermatology.cdlib.org).

Widmer, T. (2017). Phytophthora palmivora. [online] Journals.library.oregonstate.edu. Available at: <http://journals.library.oregonstate.edu/ForestPhytophthora/article/view/3557/3332> [Accessed 14 Jun. 2017].

Zhang, Y Sun J. 2007. A study on the bio-safety for nano-silver as anti-bacterial materials.

Camacho, J., Deschamps, L. (2013). Síntesis de nanopartículas de plata y modificación con pulpa de papel para aplicación antimicrobial. Universidad de Cartagena. Recuperado de: <http://190.242.62.234:8080/jspui/bitstream/11227/73/1/Tesis%20Entrega%20Final.pdf>

Martínez, G., Sarria, G. A., Torres L., G. A., Aya, H. A., Ariza, J. G., & Rodríguez, J. (2008, enero 1). Microorganismos asociados a la Pudrición del cogollo de la palma de aceite y su inoculación en palmas de vivero. *Revista Palmas*, 29(3), 19-30. Recuperado a partir de <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/1354>

López-Benítez, Alfonso, López-Betancourt, Sandra Roxana, Vázquez-Badillo, Mario Ernesto, Rodríguez-Herrera, Sergio Alfredo, Mendoza-Elos, Mariano, Padrón-Corral, Emilio, Inhibición del Crecimiento Micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. Mediante Extractos Vegetales Acuosos. *Revista Mexicana de Fitopatología* [en línea] 2005, 23 (julio - diciembre) : [Fecha de consulta: 6 de junio de 2018] Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61223212> ISSN

Martínez L., G. (2010, enero 1). Pudrición del cogollo, Marchitez sorpresiva, Anillo rojo y Marchitez letal en la palma de aceite en América. *Revista Palmas*, 31(1), 43-53. Recuperado a partir de <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/1471>

Drenth, A., Torres, G., & Martínez López, G. (11). *Phytophthora palmivora*, la causa de la Pudrición del cogollo en la palma de aceite. *Revista Palmas*, 34, 87-94. Recuperado a partir de <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/10671>

Ronquillo Narváez, Mayra Patricia (2012). Etiología de la pudrición del cogollo de la palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.) en el Ecuador. *Protección de Cultivos*. Universidad de Puerto Rico. 121 p. <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/handle/28000/233>

Cardoso, P. Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud. (2016). Revista Hosp. Niños. Tomado de:<http://revistapediatria.com.ar/wp-content/uploads/2016/04/260-Nanoparti%CC%81culas-de-plata.pdf>

Medina, Y. E. (2010). Phythophthora: Características, diagnósticos y daños provoca en algunos cultivos tropicales. Medida de control. Instituto de investigaciones en fruticultura tropical.

Echegaray, A. (1993). Microbiología de suelos . Chapingo. Mexico.

Lozano, V. S. (2014). Avances en la tecnología de microscopía electrónica de barrido. En A. M. Viviana Sorribas de Lozano, Principios y práctica de la Microscopía Electrónica. 1ra. Edición (pág. 499). E-book.

Barros, H., Castro de Esparza, M. L., Wong Nonato, M., & Mori, V. (2009). Espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado. En M. I. Maria luisa Castro de Esparza, Métodos espectrofotométricos Uv-Vis (págs. 113-138). buenos aires: capítulo 3 .