Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Odontología

Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología "Dr. Keisaburo Miyata"

"Evaluación antibacteriana de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de *Hibiscus sabdariffa* en presencia de *Enterococcus faecalis*"

TESIS

Que para obtener el Grado de
Maestra en Ciencias Odontológicas

Presenta
C.D.E.E Tania Montserrat Sánchez Meza

Director
Dr. en O. Rogelio José Scougall Vilchis

Co-Director
Dr. en C.S. Ulises Velázquez Enríquez

Tutor
Dr. en C.I.M. Oscar Fernando Olea Mejía

Toluca, Estado de México, Octubre 2025

2022-2026

ÍNDICE

1. Antecedentes 5

1.1. Nanotecnología y nanopartículas 5

1.1.1 Métodos convencionales de síntesis de nanopartículas de plata 6

1.1.2 Síntesis verde 6

1.1.3 Ventajas de la síntesis verde 8

1.2 *Hibiscus sabdariffa* 9

1.2.2 Usos tradicionales y aplicaciones actuales. 10

1.2.3 Actividad antioxidante y potencial terapéutico. 10

1.2.4 Potencial como agente en síntesis verde de nanopartículas. 11

1.3 *Enterococcus Faecalis.* 12

2. Planteamiento del problema 14

3. Justificación 16

4. Hipótesis 18

5. Objetivos 19

6. Materiales y Métodos 20

6.1 Diseño del estudio 20

6.2 Tipo de muestreo 20

6.3 Universo 20

6.4 Muestra. 20

6.5 Criterios de Inclusión 20

6.6 Variables 21

6.7 Procedimiento. 23

6.8 Procedimiento 24

6.9 Consideraciones Bioéticas 27

6.10 Análisis estadístico 28

8. Discusión 30

9. Conclusiones 35

10. Referencias 36

Resumen

La resistencia creciente de los microorganismos a los tratamientos antibóticos convencionales ha motivado el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. Entre ellas, las nanopartículas de plata (AgNPs) sintetizadas mediante métodos sostenibles han demostrado una capacidad antimicrobiana notable.

Esta investigación se enfoca en evaluar el efecto antibacteriano de AgNPs obtenidas a partir del extracto acuoso de Hibiscus sabdariffa, una planta reconocida por su abundancia en compuestos bioactivos. El estudio se dirige específicamente a Enterococcus faecalis, un microorganismo gran positivo relacionado con infecciones endodónticas persistentes y con una elevada resistencia antimicrobiana.

Para la obtención de las AgNPs, se utilizaron distintas concentraciones tanto del extracto vegetal como de nitrato de plata, y se confirmó su formación mediante electroscopia UV-Vis. La actividad antibacteriana se analizó a través del método de difusión en agar (Kirby-Bauer), evaluando el tamaño de los halos de inhibición con el software Image J.

Los resultados mostraron halos de inhibición en todas las muestras, con un promedio de 0.93 mm, lo que demuestra un efecto positivo en la inhibición bacteriana. Esto sugiere que las AgNPs sintetizadas con Hibiscus sabdariffa podrían representar una alternativa ecológica, accesible y efectiva en el desarrollo de materiales antimicrobianos aplicables a la odontología.

1. Antecedentes

1.1. Nanotecnología y nanopartículas

La nanotecnología se ha convertido en uno de los campos más dinámicos de la ciencia moderna, al permitir la manipulación de la materia en dimensiones inferiores a los 100 nanómetros. A esta escala, los materiales exhiben comportamientos únicos en comparación con sus formas convencionales, lo que ha ampliado su aplicación en áreas tan diversas como la biomedicina, la electrónica y la ingeniera ambiental.[1,2]

Entre los nanomateriales mas utilizados destacan las nanopartículas metálicas, como las de oro, plata y cobre por su versatilidad funcional. En particular, las nanopartículas presentan tres zonas estructurales: una capa superficial, una capa con propiedades fisicoquímicas y un núcleo. Estas estructuras poseen propiedades ópticas distintivas, como el cambio de color ante la exposición a luz visible, fenómeno que se explica por el efecto de resonancia plasmónica.[3–5]

La plata, en forma nanométrica, se ha consolidado como un agente antimicrobiano no tóxico con efectos antifúngicos, antiinflamatorios y cicatrizantes, incluso a concentraciones bajas. Las AgNPs han destacado por su capacidad de conducción eléctrica, interacción con luz y notable actividad bactericida, lo que las hace atractivas para aplicaciones médicas, sensores y recubrimientos funcionales.[2,3,6–8]

1.1.1 Métodos convencionales de síntesis de nanopartículas de plata

La producción convencional de AgNPs emplea procesos físicos como la ablación láser y la evaporación-condensación, así como técnicas químicas que utilizan agentes reductores como borohidruro de sodio. Aunque permiten un buen control sobre el tamaño y la morfología de las nanopartículas, estas técnicas conllevan el uso de reactivos nocivos y altos requerimientos energéticos, generando residuos contaminantes que representan riesgos para la salud y el medio ambiente.[2,9,10]

Esto ha impulsado la búsqueda de métodos alternativos, dando lugar a la llamada síntesis verde, en la que se emplean agentes biológicos para reducir iones metálicos y estabilizar las nanopartículas, con menor impacto ambiental.[9,11]

Existen diversos mecanismos de acción de las nanopartículas, los cuales se dan se mediante la absorción de metales por bacterias gram (+) o gram (-).

1. Las nanopartículas liberan iones de plata y penetran la membrana celular hasta producir muerte celular.[3,12,13]
2. Penetran a la célula y se adhieren al ADN, interrumpiendo la reproducción celular y funciones metabólicas.[3,12,13]
3. Generan reacciones de oxígeno dentro de los microorganismos, lo que causa estrés oxidativo, dañando las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. [3,12,13]

1.1.2 Síntesis verde

La síntesis verde se inscribe dentro de los principios de la química verde, la cual propone diseñar procesos que minimicen el uso de sustancias peligrosas. En este enfoque, los extractos vegetales, bacterias, hongos y algas sirven como reductores y

estabilizantes naturales. Las plantas, en especial, contienen metabolitos como flavonoides, alcaloides, terpenos y ácidos fenólicos, capaces de mediar la formación y conservación de AgNPs.[6,14,15]

En el caso de las nanopartículas de plata, los extractos vegetales se han consolidado como una de las opciones más viables para su síntesis verde. Las plantas contienen una amplia gama de compuestos bioactivos; como flavonoides, terpenos, alcaloides, azúcares, proteínas y ácidos fenólicos, que pueden reducir los iones Ag^+ y facilitar la formación y estabilización de las nanopartículas.[8]

Este método biogénico ofrece múltiples ventajas: es simple, de bajo costo, energéticamente eficiente, amigable con el medio ambiente y escalable para aplicaciones industriales.[15] Además, el uso de extractos naturales puede conferir propiedades funcionales adicionales a las nanopartículas, dependiendo de la especie vegetal utilizada.[16]

En la última década, numerosos estudios han documentado la viabilidad de la síntesis verde de nanopartículas de plata utilizando una amplia variedad de plantas. Por ejemplo, extractos de *Azadirachta indica* (neem), *Camellia sinensis* (té verde), *Ocimum sanctum* (albahaca sagrada), *Allium sativum* (ajo) y *Pelargonium graveolens* (geranio) han sido ampliamente estudiados por su eficacia como agentes reductores y estabilizantes.[2,6]

En estos estudios, se ha observado que variables como el pH, la temperatura, la concentración del extracto vegetal y la proporción extracto/sal metálica influyen de manera significativa en las características de las nanopartículas formadas, tales como su tamaño, forma y distribución. Por lo tanto, el control preciso de estas

condiciones experimentales es crucial para obtener productos con propiedades reproducibles y deseadas.[17]

Se han reportado nanopartículas de plata con tamaños que oscilan entre los 10 y 100 nm, con morfologías esféricas, cúbicas o irregulares, y con excelente estabilidad coloidal. Además, las AgNPs obtenidas por métodos verdes han mostrado notable actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, lo que confirma su potencial en aplicaciones biomédicas y sanitarias.[15]

1.1.3 Ventajas de la síntesis verde

La síntesis verde de nanopartículas no solo representa una alternativa ecológica a los métodos tradicionales, sino que también permite una integración más eficiente en el desarrollo de tecnologías sostenibles. En particular, este enfoque contribuye a la reducción de la huella ecológica de los procesos de producción, minimiza la generación de residuos tóxicos y promueve el uso de recursos renovables.

Desde el punto de vista económico, el uso de extractos vegetales provenientes de residuos industriales (como cáscaras de frutas, hojas o tallos descartados) puede representar una estrategia de valorización de subproductos, mejorando la economía y reduciendo los costos de producción. [6,16,18]

Además, las nanopartículas de plata sintetizadas de forma biológica presentan una mejor biocompatibilidad, lo que las hace más seguras para aplicaciones en medicina, como la fabricación de apósitos, dispositivos implantables, agentes de liberación controlada de fármacos y sistemas de diagnóstico.[3,19]

1.2 *Hibiscus sabdariffa*

Hibiscus sabdariffa, conocida comúnmente como flor de jamaica, roselle o karkadé, es una especie herbácea de la familia *Malvaceae*, originaria de África tropical. Su cultivo se ha expandido hacia Asia, América y el Caribe, gracias a su adaptabilidad a climas cálidos y áridos, y al valor nutricional y comercial de sus cálices. En México, esta planta adquiere importancia económica y social, especialmente en estados como Guerrero, Michoacán y Oaxaca, donde su producción contribuye a la actividad agrícola regional.[20]

El cáliz es la parte más utilizada de la planta, destacando por su concentración de compuestos fitoquímicos activos, entre los que se incluyen flavonoides, antocianinas, ácidos orgánicos, polisacáridos y sustancias fenólicas. Estos metabolitos secundarios le otorgan a *H. sabdariffa* propiedades farmacológicas notables, como actividad antioxidante, antihipertensiva, antiinflamatoria, hepatoprotectora y antimicrobiana, además de mostrar potencial anticancerígeno.[21,22]

1.2.1 Composición química y propiedades bioactivas

Diversas investigaciones han evidenciado la riqueza fitoquímica de esta especie. Algunos de sus compuestos más representativos son:

- **Antocianinas**, como la delfinidina-3-sambubiósido y cianidina-3-sambubiósido, responsables de su color rojo intenso.
- **Ácidos orgánicos** (hibíscico, málico, cítrico y tartárico), que aportan acidez y propiedades quelantes.

- **Polifenoles y flavonoides** como quercetina, catequinas y ácido gálico, con acción antioxidante y moduladora de procesos inflamatorios.

Estos compuestos ejercen efectos biológicos al neutralizar especies reactivas de oxígeno, inhibir enzimas inflamatorias, y proteger tejidos cardiovasculares, hepáticos y neuronales, lo que fortalece el potencial terapéutico de la planta.[13,16]

1.2.2 Usos tradicionales y aplicaciones actuales.

En la medicina ancestral de varias culturas*, H. sabdariffa* se ha utilizado en forma de infusiones para tratar afecciones como hipertensión, fiebre, disfunciones hepáticas y digestivas. En el contexto mexicano, su uso más difundido es como bebida refrescante (agua de jamaica), preparada mediante la infusión de cálices secos.

En la actualidad, sus extractos se aplican ampliamente en:

- La industria alimentaria: como colorante, saborizante y componente funcional de productos como mermeladas, tés y suplementos.
- Cosméticos: en formulaciones con efectos astringentes, revitalizantes y antioxidantes.
- Farmacéutica: como ingrediente bioactivo en terapias naturales.[23]

1.2.3 Actividad antioxidante y potencial terapéutico.

La capacidad antioxidante de *H. sabdariffa* ha sido atribuida a sus altos niveles de antocianinas y fenoles. Estudios preclínicos y clínicos han demostrado que su

consumo ayuda a reducir el estrés oxidativo, mejorar parámetros cardiovasculares, y prevenir el envejecimiento celular prematuro.[4]

Particularmente, se ha observado que la ingesta habitual de su infusión puede disminuir la presión arterial en pacientes con hipertensión leve a moderada. Este efecto se relaciona con la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), la mejora de la vasodilatación y la excreción de sodio. También ha sido vinculada a beneficios hepatoprotectores y al control de lípidos en sangre, lo que consolida su perfil nutracéutico.[22,24,25]

1.2.4 Potencial como agente en síntesis verde de nanopartículas.

En años recientes, *H. sabdariffa* ha cobrado interés en el campo de la nanotecnología verde, especialmente en la síntesis biogénica de nanopartículas metálicas, como las de plata (AgNPs). Gracias a su alta concentración de compuestos reductores y estabilizantes naturales, los extractos acuosos de jamaica pueden reducir iones metálicos a su forma elemental, generando nanopartículas de forma ecológica, sin necesidad de compuestos químicos tóxicos.[20,22,25,26]

Investigaciones han demostrado que las nanopartículas de plata sintetizadas mediante extractos de *H. sabdariffa* presentan características deseables como tamaño pequeño, buena dispersión y alta estabilidad, además de conservar una potente actividad antibacteriana. Esto sugiere que la jamaica no solo representa una alternativa verde a los métodos tradicionales de síntesis de nanomateriales, sino que también potencia sus aplicaciones en el ámbito biomédico, agrícola y ambiental.[11,13,27]

1.3 *Enterococcus Faecalis.*

Bacterias gram positivas, de forma esférica, anaerobias facultativas y pueden crecer en condiciones extremas de pH, temperatura y concentración salina, lo que les permite sobrevivir en diversos ambientes. Aunque muchas especies de este género forman parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal humano y animal, algunas, como *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, han adquirido notoriedad clínica por su papel como agentes causantes de infecciones oportunistas.[7,28]

En las últimas décadas, los enterococos se han posicionado como patógenos importantes en entornos hospitalarios, donde son responsables de infecciones del tracto urinario, bacteriemias, endocarditis, infecciones de heridas y meningitis, especialmente en pacientes inmunocomprometidos o sometidos a tratamientos médicos invasivos. Su capacidad para desarrollar y transferir resistencia a múltiples antibióticos ha convertido a este género en un serio desafío terapéutico, situándolo entre los principales patógenos multirresistentes de importancia clínica.[29,30]

Las infecciones más comunes asociadas a *E. faecalis* se encuentran las infecciones del tracto urinario en pacientes con sondas urinarias prolongadas, endocarditis bacteriana, bacteriemias, infecciones intraabdominales y de heridas quirúrgicas: especialmente tras procedimientos digestivos, infecciones orales y endodónticas, particularmente en casos de fracasos en tratamientos de conducto radicular, donde *E. faecalis* puede persistir por largos periodos en los túbulos dentinarios.[14,31,32]

La virulencia de *E. faecalis* está mediada por varios factores, entre ellos enzimas como gelatinasa y hialuronidasa, proteínas de adhesión y la capacidad de evadir la respuesta inmune del huésped. Su presencia en infecciones severas y su creciente

resistencia a los antibióticos convierten a esta bacteria en un objetivo prioritario de estudio. [14,32]

2. Planteamiento del problema

La resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales representa uno de los desafíos más críticos para la salud pública a nivel mundial. *Enterococcus faecalis*, una bacteria grampositiva oportunista, se ha identificado como uno de los principales patógenos nosocomiales, responsable de infecciones persistentes y difíciles de tratar, particularmente en conductos radiculares y en pacientes inmunocomprometidos. Su creciente resistencia a múltiples antibióticos, incluyendo vancomicina y ampicilina, ha impulsado la necesidad de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas efectivas. En este contexto, las nanopartículas metálicas, especialmente las de plata (AgNPs), han emergido como una alternativa prometedora debido a sus propiedades antimicrobianas de amplio espectro. Sin embargo, los métodos tradicionales de síntesis de nanopartículas suelen implicar el uso de reactivos tóxicos y condiciones ambientales poco sostenibles. La síntesis verde, que utiliza extractos de plantas como agentes reductores y estabilizantes, ha ganado atención por su bajo impacto ambiental y su potencial para mejorar la biocompatibilidad de las nanopartículas.

Hibiscus sabdariffa, una planta ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales, la cual es rica en compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas, lo que la convierte en una candidata ideal para la síntesis verde de nanopartículas. No obstante, aún existe un vacío en la literatura científica respecto a la eficacia antibacteriana específica de las nanopartículas de plata sintetizadas a partir de *Hibiscus sabdariffa* contra *Enterococcus faecalis*, así como la caracterización adecuada de estas nanopartículas en términos de tamaño, forma, y concentración

óptima para su aplicación antimicrobiana. En consecuencia, surge la necesidad de evaluar la actividad antibacteriana de estas nanopartículas de plata biosintetizadas, y determinar su efectividad comparada con tratamientos convencionales, así como su potencial aplicación en el ámbito biomédico y odontológico.

Por lo cual nos lleva a plantearnos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál será el efecto antibacteriano de las nanopartículas de plata sintetizadas a partir de *Hibiscus sabdariffa* en presencia de *Enterococcus faecalis*?

3. Justificación

La síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs) ha emergido como una estrategia innovadora dentro del marco de la química verde, al prescindir del uso de compuestos químicos tóxicos y recurrir a agentes biológicos naturales como reductores y estabilizantes.

Las nanopartículas de plata son ampliamente reconocidas por su actividad antimicrobiana y biocompatibilidad, lo cual las hace útiles en múltiples sectores, como odontología, medicina, agricultura y otras. Sin embargo, los métodos tradicionales de síntesis química emplean reactivos peligrosos como el borohidruro de sodio, generando subproductos contaminantes y riesgos operativos.

Frente a esta problemática, el uso de extractos vegetales como agentes de síntesis representa una alternativa ecológica, económica y viable. Entre las plantas con alto potencial reductor y bioactivo se encuentra *Hibiscus sabdariffa*, conocida por su riqueza en compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas, los cuales poseen la capacidad de reducir iones metálicos (Ag^{+}) a plata metálica (Ag^{0}), al tiempo que estabilizan las nanopartículas generadas.

Adicionalmente, *Hibiscus sabdariffa* es una planta de amplia disponibilidad en regiones tropicales y subtropicales, como México, donde es cultivada para consumo alimenticio. El uso de sus cálices para la síntesis de nanopartículas no solo permite el aprovechamiento de un recurso natural seguro y económico, sino que también puede integrarse a esquemas de producción sostenibles y de bajo costo, con potencial de aplicabilidad local e industrial.

Por lo tanto, esta investigación propone una vía sostenible, segura y eficiente para la producción de AgNPs, al mismo tiempo que promueve el uso de recursos naturales locales como alternativa a procesos industriales contaminantes. La validación de *Hibiscus sabdariffa* como agente fitosintético contribuirá al conocimiento científico y tecnológico, y abrirá nuevas posibilidades para el diseño de materiales nanométricos aplicables en odontología, biomedicina, salud pública y otras áreas estratégicas.

Dada la creciente resistencia de *Enterococcus faecalis* a los antibióticos convencionales y su implicación en infecciones persistentes y recurrentes, es fundamental buscar nuevas estrategias terapéuticas que permitan su control efectivo. El estudio de esta bacteria resulta especialmente pertinente en el contexto de desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos, como extractos naturales, compuestos bioactivos o nanopartículas metálicas, entre las cuales destacan las nanopartículas de plata (AgNPs) por su demostrada eficacia frente a bacterias resistentes.

E. faecalis es considerado un organismo modelo en estudios de infección endodóntica, resistencia a biocidas y evaluación de nuevos materiales con actividad antimicrobiana, lo cual lo convierte en un candidato ideal para investigaciones que buscan validar nuevas alternativas terapéuticas o de desinfección.

4. Hipótesis

Hipótesis de trabajo.

Las nanopartículas de plata sintetizadas a partir de *Hibiscus Sabdariffa* tendrán un efecto antibacteriano contra *Enterococcus faecalis.*

Hipótesis nula.

Las nanopartículas de plata sintetizadas a partir de *Hibiscus Sabdariffa* no tendrán un efecto antibacteriano contra *Enterococcus faecalis.*

5. Objetivos

Objetivo general.

Analizar el efecto antibacteriano de Nanopartículas de plata sintetizadas a partir de *Hibiscus Sabdariffa* contra *Enterococcus faecalis* por medio de halos de inhibición.

Objetivos específicos.

- Obtener la concentración adecuada del extracto acuoso de *Hibiscus Sabdariffa.*
- Sintetizar las Nanopartículas de Plata por medio de síntesis verde.
- Determinar la actividad antibacteriana de las Nanopartículas de Plata obtenidas en contra de *Enterococcus faecalis.*

6. Materiales y Métodos

6.1 Diseño del estudio

Estudio experimental, transversal, *in-vitro*

6.2 Tipo de muestreo

Probabilístico por conveniencia.

6.3 Universo

Plantas con indicaciones terapéuticas.

Bacterias inoculadas de uso experimental.

6.4 Muestra.

Se dividió en 6 grupos:

Grupo 1. Proporción 5 ml de Ag y 1 ml de extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

Grupo 2. Proporción 1 ml de Ag y 2 ml de extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

Grupo 3. Proporción 1 ml de Ag y 10 ml de extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

Grupo 4. Proporción 2 ml de Ag y 1 ml de extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

Grupo 5. Proporción 1 ml de Ag y 5 ml de extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

Grupo 6. Proporción 10 ml de Ag y 1 ml de extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

6.5 Criterios de Inclusión

Cepas de *Enterococcus Faecalis.*

Extracto de *Hibiscus Sabdariffa.*

Nanopartículas de Plata de 10 a 100nm de tamaño

.

Criterios de Exclusión.

Cepas contaminadas de *Enterococcus Faecalis.*

Concentraciones no estandarizadas del extracto de *Hibiscus Sabdariffa.*

Criterios de Eliminación.

Muestras contaminadas durante el procedimiento

Nanopartículas de plata aglomeradas

Concentraciones inadecuadas del extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

6.6 Variables

Variable dependiente.

Efecto antibacteriano de Nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

Variable independiente.

Nanopartículas de plata obtenidas por síntesis verde

Extracto de *Hibiscus Sabdariffa*.

Cepas de *Enterococcus Faecalis*

Tabla 1. Operacionalización de Variables.

Variable	Tipo de Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición
Efecto antibacteriano	Dependiente	Capacidad que posee una sustancia, compuesto o	Halos de inhibición medidos por el	Variable cuantitativa continua (mm)

		agente fisicoquímico para inhibir el crecimiento, proliferación o eliminar bacterias	programa Image J	
Nanopartículas de Plata	Independiente	Estructuras metálicas con dimensiones nanométricas compuestas por átomos de Plata.	Espectroscopia UV-VIS como método de caracterización	Variable cuantitativa discreta (nm)
Extracto de *Hibiscus sabdariffa*	Independiente	Solución acuosa que se obtiene por la inmersión de las flores de Jamaica en agua.	Solución acuosa utilizada como agente reductor para la formación de nanopartículas de plata.	Variable cuantitativa continua Mililitros (ml)
Cepas de *Enteroccocus Faecalis*	Independiente	Grupo de microorganismos de una misma	Cepa certificada para medir efecto	Variable cuantitativa discreta

		especie que descienden de una única célula o muestra específica.	antibacteriano por medio de halos de inhibición.	UFC

6.7 Procedimiento.

Materiales.

- Balanza analítica (Explorer Pro Model EP213C,OHAUS Co)
- Parrillas electromagnéticas (Thermo Scientific Cimarec)
- Sales de nitrato de plata AgNO3
- Hojas de Jamaica marca Camino de Santiago
- Matraz aforado de 100 ml
- Agua bidestilada
- Vaso de precipitado
- Matraz Kitazato
- Papel filtro Whatman No. 5
- Pipetas de 10 ml
- Perilla
- Tubos de diluciones de 10 ml
- Espectrofotómetro (CARY 5000 Conc. UV-Vis spectrophotometer, Varían, Inc., Palo Alto, California)
- Guantes

- Cubrebocas
- Jeringas desechables de 2ml BD
- Cabina de flujo laminar
- Cepas de *Enterococcus faecalis* proporcionadas por el Laboratorio de la Facultad de Ciencias UAEMex.
- Agar Muller Hinton, (BD-Difco; Dublín, Irlanda)
- Matraz 500 ml
- Cajas de Petri cristal 10 cm
- Tubos estériles y tubos de centrifuga
- Asas de platino
- Hisopos estériles 3M
- Pinzas de curación
- Espátulas
- Gradillas
- Cinta testigo
- Papel de aluminio
- Discos de papel filtro estériles

6.8 Procedimiento

El proyecto se realizó en el Laboratorio de Nanotecnología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma del Estado de México.

1. Obtención del extracto acuoso

Se realizó el extracto de *Hibiscus Sabdariffa,* pesando 2 g de la planta en la balanza analítica, y se agregó a un vaso de precipitado 50 ml de agua bidestilada, se calentó en la parrilla electromagnética hasta su punto de ebullición, y se realizó una reducción de volumen por 5 minutos. Se filtró con papel Whatman No. 5. Se realizaron varias pruebas para estandarizar la dosis adecuada de la planta de Jamaica, siendo la mejor de 2 g por 50 ml de agua bidestilada. Dicha concentración se comprobó con un medio de cultivo de *Enterococcus faecalis*, corroborando la actividad antibacteriana por medio de halos de inhibición, se probaron concentraciones de 0.5 g/ 50 ml, 1.0 g/ 50 ml, 1.5 g/ 50 ml, 2.0 g/ 50 ml y 2.5 g /50 ml, incubándolos a 37 ° C por 24 hrs.

2. Obtención de las Nanopartículas de Plata

Se prepararon 10 gramos de hidróxido de sodio con 100 ml de agua desionizada y 0.1698 gr de nitrato de plata a una concentración de 10^{-2} M.

3. Síntesis verde de las Nanopartículas de plata con el extracto de *Hibiscus sabdariffa.*

En 6 tubos de ensayo se colocaron las diferentes concentraciones del extracto de Hibiscus sabdariffa y del nitrato de plata, en el siguiente orden:

Grupo 1. Proporción 5 ml de Ag y 1 ml de extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

Grupo 2. Proporción 1 ml de Ag y 2 ml de extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

Grupo 3. Proporción 1 ml de Ag y 10 ml de extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

Grupo 4. Proporción 2 ml de Ag y 1 ml de extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

Grupo 5. Proporción 1 ml de Ag y 5 ml de extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

Grupo 6. Proporción 10 ml de Ag y 1 ml de extracto de *Hibiscus Sabdariffa*

Posteriormente, se expusieron a la luz solar durante 5 minutos para la fotoactivación de las nanopartículas de plata, corroborando el cambio de color marrón en las muestras.

4. Caracterización de las nanopartículas de plata por medio de espectrofotometría UV-VIS, se midió el plasmón superficial y se corroboró la presencia de plata (Figura 1). Se realizo una deconvolución ya que las antocianinas presentes en el extracto oscilan entre los 400 nanómetros, así mismo como las nanopartículas de plata.

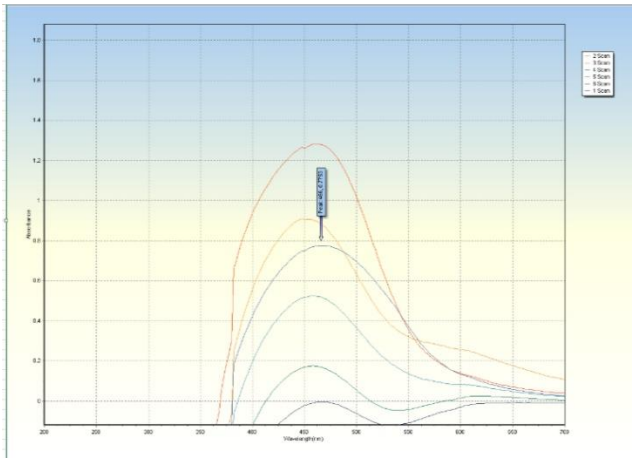


Figura 1. Pico de plasmón superficial. Espectroscopía UV-Vis.

5. Cultivos de *Enterococcus faecalis.*

Se procedió a hacer los cultivos de *Enterococcus faecalis*, utilizando agar Muller Hilton como medio de cultivo y se dejaron inocular a 37° C por 24 horas, utilizando el método de difusión simple, realizando el hisopado en el agar y colocando los

papeles filtro inmersos en las muestras dejando un secado cada 3 minutos en la incubadora. Se verificó la escala de Mcfarland por medio del espectrofotómetro UV-VIS.

6. Medición del efecto antibacteriano

Se realizó la medición de los halos en el programa Image J softonic donde se colocaron los parámetros de las cajas Petri y se obtuvieron las medidas para el análisis estadístico.

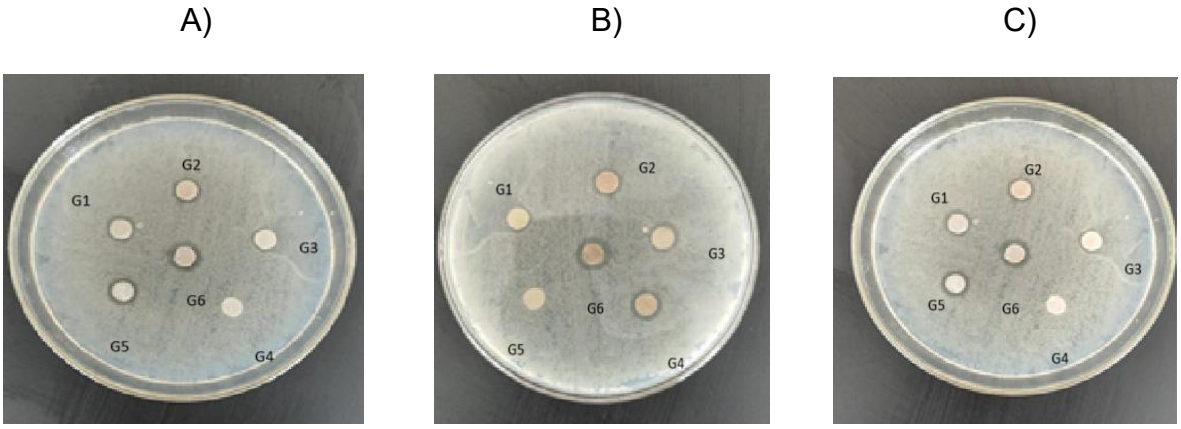


Figura 2. Cajas Petri con halos de inhibición presentes para todos los grupos. A). Caja Petri con las 6 muestras a diferentes concentraciones. B). Caja Petri por duplicado. C). Caja Petri por triplicado.

6.9 Consideraciones Bioéticas

El presente trabajo cumplió con lo dispuesto en las normas oficiales mexicanas, Código de Nuremberg, Declaración de Helsinki y las medidas de bioseguridad que establece el reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación

para la salud, y se consideró un estudio de nivel sin riesgo ya que fue un estudio *in vitro.*

Se aprobó por el Comité de Bioética del Centro de Investigación en Estudios Avanzados de la Universidad Autónoma del Estado de México, obteniendo la clave de registro CEICIEAO-2024-002.

6.10 Análisis estadístico

Se realizó la comparación entre grupos mediante un análisis de varianza (ANOVA) en el programa estadístico SPSS IBM versión 18. Se consideró un valor de $p \leq 0.05$ como estadísticamente significativo.

7. Resultados

[Nanomaterials] Manuscript ID: nanomaterials-3944363 - Submission Received

EO

susy@mdpi.com en nombre de Editorial Office

Para: Rogelio Jose Scougall Vilchis; **y 1 más**

CC: Sanchez Meza Tania Montserrat; **y 3 más**

Mar 07/10/2025 12:08 PM

Dear Dr. Scougall Vilchis,

Thank you very much for uploading the following manuscript to the MDPI submission system. One of our editors will be in touch with you soon.

Journal name: Nanomaterials
Manuscript ID: nanomaterials-3944363
Type of manuscript: Article
Title: Antibacterial Evaluation of Silver Nanoparticles Synthesized from Hibiscus sabdariffa Against Enterococcus faecalis: An In Vitro Study
Authors: Tania Montserrat Sanchez Meza, Rogelio José Scougall Vilchis *, Oscar Fernando Olea Mejía, Ulises Velázquez-Enríquez, María Guadalupe González Pedroza
Received: 7 Oct 2025
E-mails: tsanchezm402@alumno.uaemex.mx, rscougallv@uaemex.mx, oleaoscar@yahoo.com.mx, uvelazqueze@uaemex.mx, mggonzalezp@uaemex.mx
Environmental Nanoscience and Nanotechnology
https://www.mdpi.com/journal/nanomaterials/sections/environmental_nanoscience_nanotechnology

8. Discusión

La síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs) utilizando extractos de *Hibiscus sabdariffa* constituye una alternativa prometedora para el desarrollo de agentes antimicrobianos sustentables, especialmente en odontología, donde *Enterococcus faecalis* representa uno de los mayores retos clínicos.[33]

En este estudio, se observó un promedio de halos de inhibición de 0.93 mm en todas las muestras analizadas, lo que evidencia la actividad antibacteriana de las AgNPs biosintetizadas. Este hallazgo reafirma el potencial de la flor de jamaica como agente fitosintético eficaz y clínicamente relevante.

La composición fitoquímica de *H. sabdariffa* incluye antocianinas como la delfinidina-3-sambubiósido, flavonoides como la quercetina, y ácidos orgánicos como el cítrico y el gálico, todos ellos con acción antioxidante, antibacteriana y estabilizante. Estos compuestos permiten la reducción de los iones de plata (Ag^{+}) a su forma metálica (Ag^{0}), actuando además como agentes estabilizadores que evitan la aglomeración de las nanopartículas.[13,22]

Esta sinergia vegetal-metal amplifica la eficacia de las AgNPs al crear estructuras con alta superficie específica y elevada reactividad frente a las membranas bacterianas.

Diversos estudios han validado el uso de *H. sabdariffa* en la síntesis de nanomateriales. Pacheco-Coello demostró la capacidad del extracto acuoso de

cálices, hojas y semillas para sintetizar AgNPs de entre 12 y 32 nm, con actividad antimicrobiana frente a bacterias bucales.[11,34]

Los resultados concuerdan con la presente investigación tanto en el rango de tamaño como en la eficacia antibacteriana, aunque este trabajo se enfoca directamente en *E. faecalis*, lo que representa una contribución específica en el campo de la endodoncia.

En otro estudio, Abdelsattar *et al*. utilizaron extracto de hoja de *H. sabdariffa* para sintetizar nanopartículas de plata, comprobando su actividad frente a diversas bacterias patógenas y caracterizándolas mediante UV-Vis, TEM y FTIR.[35]

Esta investigación refuerza la aplicabilidad del extracto vegetal como agente reductor, estabilizante y antimicrobiano, y coincide con los parámetros empleados en el presente trabajo.

En cuanto a la caracterización, se utilizó espectrofotometría UV-Vis para detectar el plasmón superficial de las AgNPs, observando picos alrededor de los 410 nm. Este resultado es congruente con lo reportado por Rahuman *et al*., quienes indican que los picos entre 400–430 nm corresponden a nanopartículas de plata bien dispersas, pequeñas y con alta estabilidad coloidal.[3]

Aunque este método es accesible y respetuoso con la química verde, Xu *et al*. recomiendan su complementación con TEM y DLS para obtener imágenes directas y mediciones precisas del tamaño y forma de las partículas.[17]

Esto representa una oportunidad para futuras líneas de investigación que busquen profundizar en el análisis fisicoquímico de las AgNPs obtenidas.

Los resultados del presente estudio fueron validados estadísticamente mediante pruebas de normalidad y ANOVA, utilizando el programa SPSS. Se confirmó la distribución homogénea de los datos y la existencia de diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.05$), lo que permite rechazar la hipótesis nula. Este análisis riguroso fortalece la confiabilidad de los datos y su reproducibilidad, alineándose con prácticas metodológicas reconocidas en la literatura científica.[16]

Desde el punto de vista clínico, *E. faecalis* ha demostrado ser un microorganismo difícil de erradicar en tratamientos endodónticos, debido a su capacidad para formar biopelículas, resistir condiciones extremas y evadir la respuesta inmunológica.[29]
La actividad antibacteriana observada en las AgNPs biosintetizadas podría representar una solución viable en la formulación de irrigantes o recubrimientos dentales que inhiban la recolonización de conductos radiculares, especialmente en pacientes con infecciones recurrentes.

El valor terapéutico de *Hibiscus sabdariffa* también ha sido documentado en la literatura científica. Guardiola y Mach revisaron múltiples estudios clínicos y preclínicos que avalan sus efectos antihipertensivos, antioxidantes, hipolipemiantes y antiinflamatorios, atribuidos principalmente a sus antocianinas y flavonoides. Estos compuestos no solo confieren propiedades médicas al extracto vegetal, sino que también podrían potenciar la acción bactericida de las nanopartículas de plata.[13]
Su perfil farmacológico favorable respalda la incorporación de jamaica en formulaciones biomédicas, especialmente en aplicaciones orales donde se requiere seguridad, eficacia antimicrobiana y biocompatibilidad.

Además, investigaciones como la de Palomo-Martínez *et al*. han explorado el uso de extractos de *H. sabdariffa* encapsulados en liposomas, demostrando una mejora en la biodisponibilidad y estabilidad de los compuestos activos.[36]

Esta tecnología de liberación sostenida podría aplicarse para desarrollar productos odontológicos con AgNPs, como recubrimientos antibacterianos con efecto prolongado o pastas endodónticas enriquecidas con extractos naturales.[37,38]

Una ventaja adicional es el enfoque ecológico del método utilizado. A diferencia de las rutas sintéticas tradicionales, que emplean agentes tóxicos como el borohidruro de sodio, la síntesis verde propuesta evita compuestos peligrosos y reduce los residuos contaminantes, minimizando así la huella ambiental.[9]

Esto resulta particularmente importante en el contexto de la odontología moderna, donde se buscan soluciones terapéuticas sostenibles y biocompatibles.[27]

No obstante, este estudio reconoce ciertas limitaciones. La variabilidad en la composición del extracto vegetal puede influir en la reproducibilidad de los resultados. Por ello, se recomienda en futuras investigaciones realizar análisis fitoquímicos mediante HPLC o cromatografía de gases, con el objetivo de identificar los compuestos responsables de la reducción metálica y evaluar su interacción directa con las bacterias[12].

Asimismo, es necesario realizar estudios in vivo y pruebas de citotoxicidad en líneas celulares humanas para asegurar la viabilidad clínica de las AgNPs obtenidas.

En conclusión, este estudio demuestra que las nanopartículas de plata sintetizadas con *Hibiscus sabdariffa* tienen una actividad antimicrobiana efectiva frente a

Enterococcus faecalis, y que la metodología aplicada es reproducible, ecológica y clínicamente relevante. La integración de estos hallazgos con la literatura científica confirma el valor de la jamaica como agente fitosintético y terapéutico, y proyecta nuevas aplicaciones en el desarrollo de productos odontológicos sostenibles, seguros y eficaces.

9. Conclusiones

La síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs) utilizando extractos de *Hibiscus sabdariffa* resultó ser un método efectivo, sustentable y ambientalmente amigable, debido a la presencia de compuestos bioactivos como flavonoides, antocianinas y ácidos orgánicos, que actuaron como agentes reductores y estabilizantes durante el proceso de formación de nanopartículas.

Las AgNPs sintetizadas demostraron una actividad antibacteriana significativa contra *Enterococcus faecalis*, evidenciada por la inhibición del crecimiento bacteriano en pruebas in vitro. La efectividad fue dependiente de la concentración de nanopartículas, observándose una mayor inhibición a mayores concentraciones.

La aplicación de nanopartículas sintetizadas a partir de *Hibiscus sabdariffa* representa una estrategia prometedora para el desarrollo de agentes antimicrobianos en el campo biomédico y odontológico, especialmente en el tratamiento de infecciones persistentes como las infecciones endodónticas.

10. Referencias

1. Nicolae-Maranciuc, Alexandra Chicea, Dan Chicea LM. Approche de la composition biochimique de la menthe verte (Mentha spicata Z) dans la région de Ouargla. Univ Ouargla. 2022;7–8.
2. Rónavári A, Igaz N, Adamecz DI, Szerencsés B, Molnar C, Kónya Z, et al. Green silver and gold nanoparticles: Biological synthesis approaches and potentials for biomedical applications. Molecules. 2021;26(4):1–39.
3. Habeeb Rahuman HB, Dhandapani R, Narayanan S, Palanivel V, Paramasivam R, Subbarayalu R, et al. Medicinal plants mediated the green synthesis of silver nanoparticles and their biomedical applications. IET Nanobiotechnology. 2022;16(4):115–44.
4. Sadat-Hosseini M, Naeimi A, Boroomand N, Aalifar M, Farajpour M. Alleviating the adverse effects of salinity on Roselle plants by green synthesized nanoparticles. Sci Rep [Internet]. 2022;12(1):1–12. Available from: https://doi.org/10.1038/s41598-022-22903-9
5. Logaranjan K, Raiza AJ, Gopinath SCB, Chen Y, Pandian K. Shape- and Size-Controlled Synthesis of Silver Nanoparticles Using Aloe vera Plant Extract and Their Antimicrobial Activity. Nanoscale Res Lett [Internet]. 2016;11(1). Available from: http://dx.doi.org/10.1186/s11671-016-1725-x
6. Dubey RK, Shukla S, Hussain Z. Green Synthesis of Silver Nanoparticles; A Sustainable Approach with Diverse Applications. Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi. 2023;39:e20230007.
7. Selvakumar G, Raveendran A, B S, S G, E PK, Sanyal GC. Evaluation of the

Anti-microbial Efficacy of a Novel Endodontic Irrigant Against Enterococcus faecalis: An In Vitro Study. Cureus. 2023;15(10).

8. Jain AS, Pawar PS, Sarkar A, Junnuthula V, Dyawanapelly S. Bionanofactories for green synthesis of silver nanoparticles: Toward antimicrobial applications. Int J Mol Sci. 2021;22(21).

9. Mustapha T, Misni N, Ithnin NR, Daskum AM, Unyah NZ. A Review on Plants and Microorganisms Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles, Role of Plants Metabolites and Applications. Int J Environ Res Public Health. 2022;19(2).

10. Camarena-Chávez VA, Reynoso De La Cruz HM, Álvarez-Martínez JU, Martínez-Bórquez A, Gutiérrez-Juárez G, Ramos-Ortiz G, et al. Fabricación de nanoestructuras por ablación láser y su uso en SERS con bajo umbral de detección: el caso de Ag-Nps. Mundo Nano Rev Interdiscip en Nanociencias y Nanotecnología. 2019 Dec 3;13(24):1e-12e.

11. Pacheco-Coello F. Synthesis and Size Estimation of Silver Nanoparticles, By Reduction With Aqueous Extracts of Calyces Leaves and Seeds of Hibiscus Sabdariffa Linn: Promotion of Green Synthesis. Vol. 38, Revista Boliviana de Química. 2021.

12. Ordinola-Zapata R, Noblett WC, Perez-Ron A, Ye Z, Vera J. Present status and future directions of intracanal medicaments. Vol. 55, International Endodontic Journal. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 613–36.

13. Guardiola S, Mach N. Potencial terapéutico del Hibiscus sabdariffa: Una revisión de las evidencias científicas. Endocrinol y Nutr. 2014;61(5):274–95.

14. Jose J, Teja KV, Janani K, Alam MK, Khattak O, Salloum MG, et al.

Preparation of a Novel Nanocomposite and Its Antibacterial Effectiveness against Enterococcus faecalis—An In Vitro Evaluation. Polymers (Basel). 2022;14(8).

15. Arshad F, Naikoo GA, Hassan IU, Chava SR, El-Tanani M, Aljabali AA, et al. Bioinspired and Green Synthesis of Silver Nanoparticles for Medical Applications: A Green Perspective. Appl Biochem Biotechnol. 2024;196(6):3636–69.
16. Aljeldah MM, Aboul-Soud MAM, Yassin MT, Mostafa AAF. Synergistic Antibacterial Potential of Greenly Synthesized Silver Nanoparticles with Fosfomycin Against Some Nosocomial Bacterial Pathogens. Infect Drug Resist. 2023;16(January):125–42.
17. Xu L, Wang YY, Huang J, Chen CY, Wang ZX, Xie H. Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. Theranostics. 2020;10(20):8996–9031.
18. Flieger J, Franus W, Panek R, Szymańska-Chargot M, Flieger W, Flieger M, et al. Green synthesis of silver nanoparticles using natural extracts with proven antioxidant activity. Molecules. 2021;26(16).
19. Asefian S, Ghavam M. Green and environmentally friendly synthesis of silver nanoparticles with antibacterial properties from some medicinal plants. BMC Biotechnol [Internet]. 2024;24(1):1–22. Available from: https://doi.org/10.1186/s12896-023-00828-z
20. Riaz G, Chopra R. A review on phytochemistry and therapeutic uses of Hibiscus sabdariffa L. Vol. 102, Biomedicine and Pharmacotherapy. Elsevier Masson SAS; 2018. p. 575–86.

21. Abass AA, Al-Magsoosi MJN, Kadhim WA, Mustafa R, Ibrahim SA, Aljdaimi AI, et al. Antimicrobial effect of Red Roselle (Hibiscus Sabdariffa) against different types of oral bacteria. J Med Life. 2022;15(1):89–97.

22. Da-Costa-Rocha I, Bonnlaender B, Sievers H, Pischel I, Heinrich M. Hibiscus sabdariffa L. - A phytochemical and pharmacological review. Vol. 165, Food Chemistry. Elsevier Ltd; 2014. p. 424–43.

23. Suniarti DF, Suwandi T, Putri SA, Kurnia D. Potential of Hibiscus sabdariffa L. Calyx (Rosella) extract as antibacterial agent in dental disease: Phytochemical and chemical components profiling. J Adv Pharm Technol Res. 2022 Jul 1;13(3):202–6.

24. Ghosh P, Priyadarshini S, Munshi M, Beula P, Atthoti L, Kruthi GS, et al. Physicochemical characterization and mass modelling of Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) calyx and seeds. Food Chem Adv. 2023 Dec 1;3.

25. Edo GI, Samuel PO, Jikah AN, Oloni GO, Ifejika MN, Oghenegueke O, et al. Proximate composition and health benefit of Roselle leaf (Hibiscus sabdariffa). Insight on food and health benefits. Vol. 3, Food Chemistry Advances. Elsevier Ltd; 2023.

26. Ali BH, Al Wabel N, Blunden G. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of Hibiscus sabdariffa L.: A review. Vol. 19, Phytotherapy Research. 2005. p. 369–75.

27. Narkedamalli RK, Muliya VS, Pentapati KC. Staining ability of herbal tea preparations on a nano-filled composite restorative material – an in-vitro study. F1000Research. 2022;11:1376.

28. Gaeta C, Marruganti C, Ali IAA, Fabbro A, Pinzauti D, Santoro F, et al. The

presence of Enterococcus faecalis in saliva as a risk factor for endodontic infection. Front Cell Infect Microbiol. 2023;13(April):1–10.

29. Yang S, Meng X, Zhen Y, Baima Q, Wang Y, Jiang X, et al. Strategies and mechanisms targeting Enterococcus faecalis biofilms associated with endodontic infections: a comprehensive review. Front Cell Infect Microbiol. 2024;14(July):1–15.

30. Mosaddad SA, Tahmasebi E, Yazdanian A, Rezvani MB, Seifalian A, Yazdanian M, et al. Oral microbial biofilms: an update. Vol. 38, European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Springer Verlag; 2019. p. 2005–19.

31. Barbosa-Ribeiro M, Arruda-Vasconcelos R, Louzada LM, Lima AR, Marciano MA, Almeida JFA, et al. Microbiological investigation in teeth with persistent/secondary endodontic infection in different stages of root canal retreatment. Eur Endod J. 2020;5(3):219–25.

32. Wong J, Manoil D, Näsman P, Belibasakis GN, Neelakantan P. Microbiological Aspects of Root Canal Infections and Disinfection Strategies: An Update Review on the Current Knowledge and Challenges. Front Oral Heal. 2021 Jun 25;2.

33. Bhandi S, Mehta D, Mashyakhy M, Chohan H, Testarelli L, Thomas J, et al. Antimicrobial efficacy of silver nanoparticles as root canal irrigant's: A systematic review. Vol. 10, Journal of Clinical Medicine. MDPI; 2021. p. 1–11.

34. Pacheco Coello F, Orosco-Vargas C, Peraza-Marrero M, Pinto-Catari I, Ramirez-Azuaje D. Effect of an extract of Hibiscus sabdariffa L., on oxidative stress induced in Saccharomyces cerevisiae. Ciencia, Ambient y Clima.

2020;3(1):41–6.

35. Abdelsattar AS, Hakim TA, Rezk N, Farouk WM, Hassan YY, Gouda SM, et al. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Ocimum basilicum L. and Hibiscus sabdariffa L. Extracts and Their Antibacterial Activity in Combination with Phage ZCSE6 and Sensing Properties. J Inorg Organomet Polym Mater [Internet]. 2022;32(6):1951–65. Available from: https://doi.org/10.1007/s10904-022-02234-y

36. Palomo-Martinez LE, N PC, Escalona-Cardoso GN, Leyva-Daniel DE, Ibañez-Hernandez MAA. Anti-Obesity effect of liposomal suspension and extracts of hibiscus sabdariffa and Zingiber officinale in a Murine Model Fed a Hypercaloric Diet. Nutrients. 2025;17(14):2275.

37. Ordinola-Zapata R, Costalonga M, Nixdorf D, Dietz M, Schuweiler D, Lima BP, et al. Taxonomic abundance in primary and secondary root canal infections. Int Endod J. 2023 Feb 1;56(2):278–88.

38. Boutsioukis C, Arias-Moliz MT. Present status and future directions – irrigants and irrigation methods. Vol. 55, International Endodontic Journal. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 588–612.