

BARUA, Celeste^{ab*}; DUARTE CAMARGO, Sabrina^c; DO NASCIMENTO, Lucas H.^c; BRUEL, Gabriela^c; DALLAGO, Rogerio M.^c; CONIGLIO, Romina^{ab}; ZAPATA, Pedro D.^{ab}; FONSECA, María^{ab}; STEFFENS, Clarice^c

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones “Dra. María Ebe Reca”. Laboratorio de Biotecnología Molecular. Posadas, Misiones, Argentina

b) CONICET, Buenos Aires, Argentina

c) Food Engineering, URI - Erechim, Av. Sete de Setembro 1621, 99709-910 Erechim, RS, Brazil

*baruaceleste@gmail.com

INTRODUCCIÓN

- Las AgNPs poseen actividad antimicrobiana por alteración de membranas celulares por estrés oxidativo y liberación de iones Ag^+ con efecto biocida.
- Síntesis tradicional: métodos fisicoquímicos, altos costos y consumo energético, uso de reactivos potencialmente tóxicos.
- Síntesis verde: alternativa sustentable con extractos biológicos capaces de reducir y estabilizar iones metálicos permitiendo obtener AgNPs.

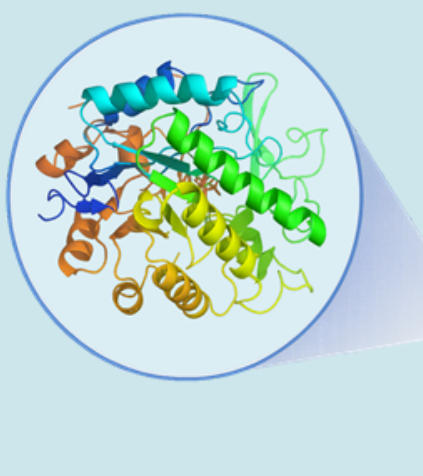
OBJETIVO

En el presente trabajo se evaluó la síntesis verde de AgNPs utilizando un cóctel enzimático enriquecido en actividad endo-1,4- β -xilanasa (EX) producido por el hongo comestible *Lentinus sajor-caju* LBM266 determinándose la actividad antimicrobiana de las AgNPs obtenidas frente a bacterias y hongos de interés sanitario y alimentario.

METODOLOGÍA

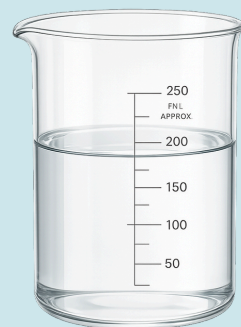
1 Reacción:

1,6 mL de cóctel enzimático de *L. sajor-caju* LBM266



(6 U. de actividad EX)

48,4 mL de Solución AgNO_3



Cf: 2 mM

Incubación 72 h a T° ambiente



Irradiación luz blanca artificial

2 Verificación de formación de AgNPs:

Observación de cambio de coloración



Ámbar claro a marrón oscuro

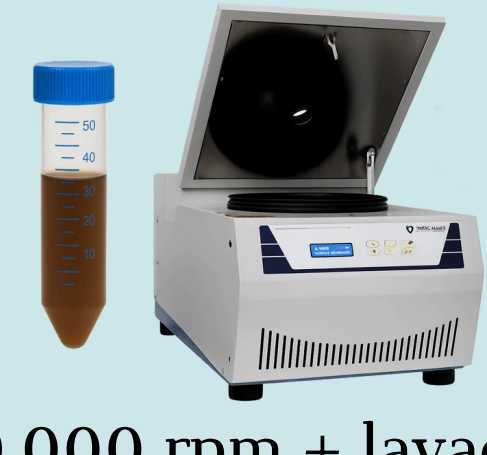
Barrido espectrofotométrico



Banda de resonancia plasmónica superficial 430 - 440 nm.

3 Recuperación de AgNPs:

Recuperación por centrifugación



10.000 rpm + lavados con agua destilada

AgNPs en forma de polvo seco



Por congelación y liofilización

4 Evaluación de actividad antimicrobiana de AgNPs:

Determinación de concentración mínima inhibitoria (CMI) y bactericida (CMB):

•*Enterococcus faecalis*
•*Staphylococcus aureus*

•*Escherichia coli*
•*Salmonella* Thypimurium

Actividad antifúngica por CMI por difusión en agar:

•*Aspergillus niger*
•*Penicillium crustosum*

•*Alternaria alternata*

RESULTADOS

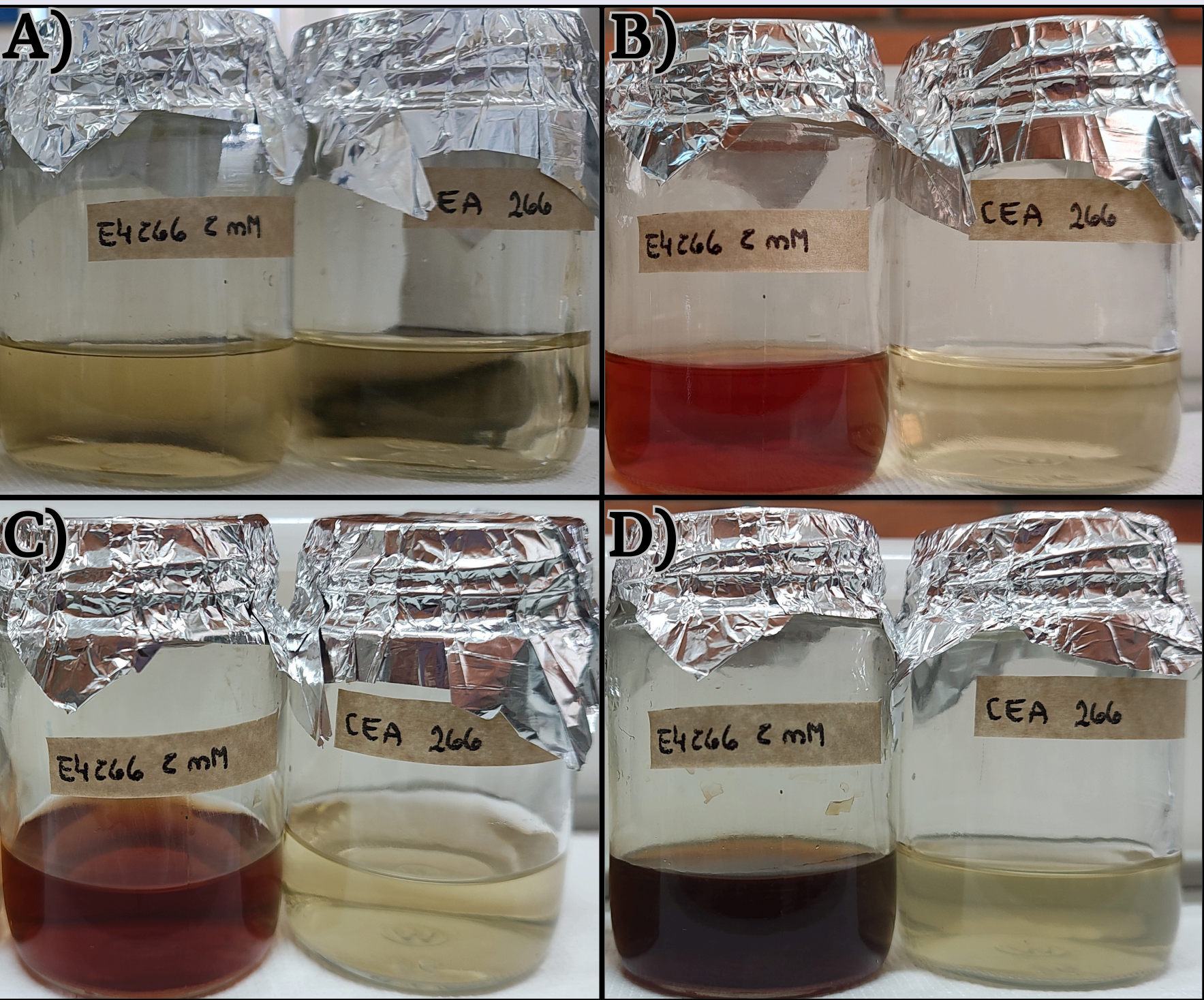


Fig. 1: Cambios de color observados durante la síntesis de AgNPs utilizando el cóctel enzimático LBM266. A) 0 h, B) 24 h, C) 48 h y D) 72 h de incubación. En cada panel, el frasco de la izquierda (E4 266) corresponde al tratamiento que contiene AgNO_3 + cóctel enzimático, mientras que el frasco de la derecha (CEA 266) corresponde al control del cóctel enzimático sin adición de AgNO_3 . El desarrollo progresivo de una coloración marrón rojiza en el tratamiento E4 266 es indicativo de la formación de AgNPs.

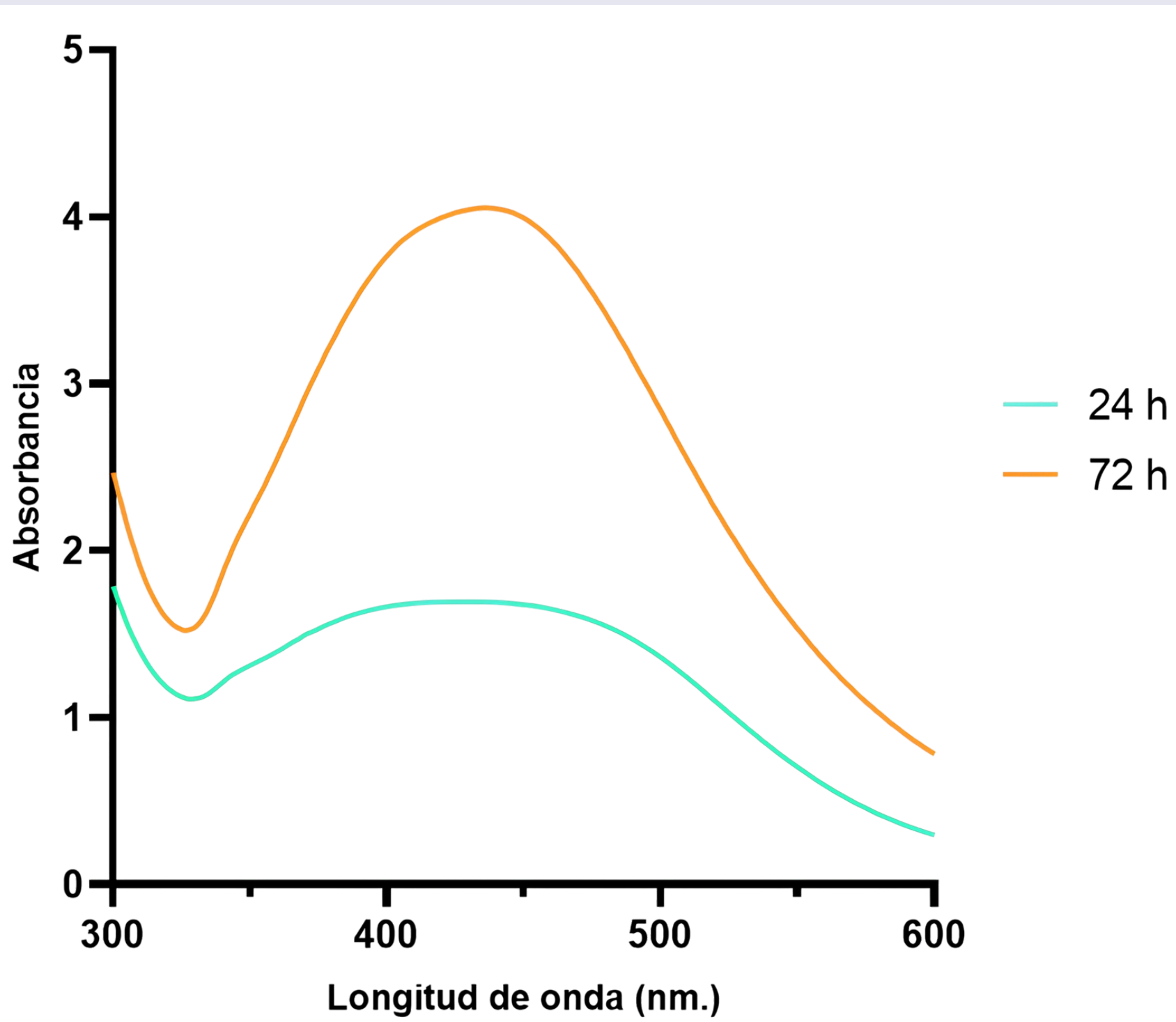


Fig. 2: Espectros UV-Visible de las AgNPs sintetizadas utilizando el cóctel enzimático LBM266 tras 24 h y 72 h de incubación. La banda de resonancia plasmónica superficial (SPR) observada alrededor de 430-440 nm confirma la formación de AgNPs. La muestra correspondiente a 72 h fue diluida 1:3 antes del análisis espectrofotométrico y los valores de absorbancia fueron corregidos utilizando el factor de dilución correspondiente.

Tabla 1: Actividad antimicrobiana de las AgNPs sintetizadas frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas. Se presentan los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB).

Cepa	CMI ($\mu\text{g/mL}$)	CMB ($\mu\text{g/mL}$)
<i>S. aureus</i>	≤ 10	≤ 10
<i>E. coli</i>	40	60
<i>S. typhimorium</i>	≤ 10	40
<i>E. faecalis</i>	≤ 10	60

Tabla 2: Actividad antifúngica de las AgNPs sintetizadas frente a hongos filamentosos. Se presentan los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) y los diámetros de halo de inhibición en placa.

Cepa	CMI (mg/mL)	Halo (mm)
<i>A. alternata</i>	≤ 10	5,21
<i>P. crustosum</i>	40	6,63
<i>A. niger</i>	≤ 10	6,80

CONCLUSIONES

Estos resultados demuestran que el cóctel enzimático de *Lentinus sajor-caju* LBM266 constituye una alternativa eficaz para la síntesis verde de AgNPs con actividad antimicrobiana. Asimismo, respaldan su potencial aplicación en el desarrollo de productos y formulaciones con propiedades biocidas destinados al control de microorganismos de relevancia sanitaria y ambiental.