

Nanopartículas de plata obtenidas a partir del extracto residual de la hidrodestilación de *Thymus vulgaris* L. y su efecto sobre *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*



<http://opn.to/a/j0pZI>

Silver nanoparticles obtained from the residual extract of the hydro distillation of *Thymus vulgaris* L. and its effect on *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*

María del Carmen Travieso ^{1*}, Annie Rubio ¹, Mylene Corzo ², Oriela Pino ¹

¹Laboratorio de Ecología- Química. Dirección de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Apartado 10, San José de la Lajas; Mayabeque, Cuba.

²Laboratorio de Bacteriología Vegetal. Dirección de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Apartado 10, San José de la Lajas; Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: La síntesis de nanopartículas de plata (NPP), a partir de plantas, constituye una vía de obtención sencilla, rápida y ambientalmente segura. En el presente trabajo se evaluó el extracto acuoso residual del proceso de hidrodestilación del aceite esencial de *Thymus vulgaris* L., como posible fuente de agentes reductores y estabilizantes para la obtención de NPP, y se determinó la actividad antimicrobiana del producto obtenido sobre *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* mediante el método de difusión en agar. Los resultados mostraron que el extracto evaluado fue promisorio para la síntesis verde de las NPP, las cuales se identificaron visualmente por la formación de un complejo de color marrón oscuro y, por espectrofotometría UV-VIS, por la presencia de un pico de máxima absorción a 470 nm. La actividad antimicrobiana de las NPP fue similar a la mostrada por la forma iónica de plata, y superior a las formas de cobre evaluadas como controles positivos, lo que sugiere la necesidad de profundizar en los estudios de caracterización físico-químicas y la evaluación biológica que posibiliten el aprovechamiento de este residual.

Palabras clave: actividad antibacteriana, nanopartículas de plata, residuales acuosos, valorización.

ABSTRACT: The synthesis of silver nanoparticles (SNP) from plants is a simple, fast and environmentally safe route. In the present work, the residual aqueous extract of the hydrodistillation process of the essential oil from *Thymus vulgaris* L. was evaluated as a possible source of reducing and stabilizing agents to obtain SNP, and the antimicrobial activity of the obtained product was evaluated against *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* using the agar well- diffusion method. The results showed that the evaluated extract was promising for the green synthesis of the SNP, which were visually identified by the formation of a dark brown complex and by the presence of a peak of maximum absorption at 470 nm by using UV-VIS spectrophotometry. The antimicrobial activity of the SNP was similar to that shown by the ionic form of silver, and superior to the copper forms evaluated as positive controls, which suggests the need to go deeper in the physical-chemical characterization studies and the biological evaluation making possible the use of this residual.

Key words: antibacterial activity, aqueous residuals, silver nanoparticles, valorization.

*Autor para correspondencia: María del Carmen Travieso. E-Mail: mcarmen@censa.edu.cu

Recibido: 01/08/2018

Aceptado: 04/12/2018

INTRODUCCIÓN

Las bacterias fitopatógenas provocan un impacto negativo en los sistemas de producción agrícola, disminuyen los rendimientos y aumentan las pérdidas económicas (1). El género *Xanthomonas* (Proteobacteria) es un grupo diverso de bacterias Gram negativas que afecta numerosos cultivos (1,2). La enfermedad conocida como Bacteriosis común o Tizón común, ampliamente distribuida en el mundo, es causada por *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (Smith) Vauterin y *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans* (Burkholder) Starr & Burkholder (2) y constituye el principal factor biótico que afecta los rendimientos del cultivo de *Phaseolus vulgaris* (frijol), leguminosa de mayor importancia a nivel mundial, pues causa pérdidas en este cultivo que oscilan entre 10-40 %, en dependencia de la susceptibilidad del cultivar y las condiciones medioambientales (1,2,3).

Por otra parte, estudios anteriores sugieren a algunos tipos de nanopartículas (NP), específicamente las metálicas (NPM), como alternativas prometedoras en diferentes campos de la biotecnología agrícola para la obtención de nuevos agentes antibacterianos (4,5). La síntesis de nanopartículas de plata (NPP), a partir de plantas, constituye una vía de obtención sencilla, rápida y ambientalmente segura (6), en la que se informan numerosas especies de plantas con resultados positivos para este fin (6).

Además, los estudios de gestión y valorización de los residuales, tanto líquidos como sólidos, constituyen una prioridad de numerosos grupos de investigación a nivel global (7), con vistas al aprovechamiento de los mismos en la obtención de productos de alto valor agregado y ayudar a la disminución del impacto ambiental generado por el vertimiento de estos al medio ambiente (7,8).

Específicamente, los procesos de destilación de aceites esenciales, a partir de plantas aromáticas, involucran altos volúmenes residuales de extractos acuosos del material vegetal, los cuales pueden constituir fuentes potenciales de compuestos de valor para diferentes fines (8), entre ellos la síntesis de nanopartículas metálicas.

Thymus vulgaris es una especie botánica de la familia Lamiaceae, muy estudiada por sus

propiedades medicinales y culinarias (9,10). El aceite esencial obtenido de esta planta aromática presenta fuerte actividad antimicrobiana frente a bacterias como *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, entre otras (11); y frente a bacterias fitopatógenas como *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (12,13), *Pseudomonas syringae* aislada de soya (14), y especies de *Xanthomonas* como *X. euvesicatoria* y *X. vesicatoria* (15,16).

Los objetivos del presente trabajo fueron evaluar el extracto acuoso residual del proceso de hidrodestilación del aceite esencial, a partir de la planta aromática *Thymus vulgaris* L., como posible fuente de agentes reductores y estabilizantes para la obtención de NPP, así como determinar las potencialidades de estas NP como agente antibacteriano frente a *X. phaseoli* pv. *phaseoli*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de las nanopartículas

El extracto acuoso residual se obtuvo del proceso de hidrodestilación (ERH) del aceite esencial de la planta aromática *T. vulgaris*, extraído del material vegetal fresco (17). Se determinó el contenido de sólidos totales mediante la medición del peso seco en balanza infrarroja (Sartorius MA35) y se conservó en refrigeración (0-4°C) hasta su evaluación.

Para la síntesis de las NPP se usó la solución de nitrato de plata (4 mM) como agente reductor, que se mezcló con el extracto vegetal (9:1) (18). La solución se homogenizó con un agitador mecánico (IKA-VF2) y se dejó en reposo a temperatura ambiente (27- 30°C) durante 24 horas.

La reacción de biorreducción se monitoreó mediante observación visual a diferentes tiempos (5 minutos, 1 hora y 24 horas). La ocurrencia de un cambio brusco de coloración (solución de ion metálico + extracto del material vegetal), indicativa de la formación de la suspensión coloidal de las partículas de interés, se confirmó mediante el análisis espectral UV-Vis en el rango 200-800 nm, en un espectrofotómetro (RAY Light UV- 2601), a las 24 horas de iniciada la reacción, determinándose la longitud de onda de máxima absorción (19). La solución de las

nanopartículas se conservó a temperatura ambiente hasta su evaluación.

Evaluación de la actividad antimicrobiana

La actividad antibacteriana de las NPP, sobre *X. phaseoli* pv. *phaseoli*, se evaluó mediante el método de difusión en agar en pocillos de 5 mm (20). Se preparó un inóculo a la concentración de 7×10^8 UFC. ml⁻¹, en solución de cloruro de sodio (0,9 %), a partir de un cultivo de 24 horas de incubación a la temperatura de 28°C en placas de agar nutriente, según la escala de McFarland. La cepa utilizada fue la Xap1, perteneciente al cepario del Laboratorio de Bacteriología Vegetal del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Cuba (1).

Se aplicaron, en cada pocillo, 100 µl de la solución de NPP y de los controles positivos y negativos. Como controles positivos se emplearon el sulfato de estreptomicina AppliChem (1 mg.ml⁻¹), el sulfato de cobre (II) Merck (1 mg. ml⁻¹) y un plaguicida comercial a base de cobre (PC Cu) (1 mg. ml⁻¹). Como control negativo se utilizó agua estéril. Se realizaron, como mínimo, cuatro réplicas del tratamiento y de los controles. Las placas se incubaron a 28°C durante 24 horas. Transcurrido

este tiempo se midieron, con regla graduada, los halos de inhibición del crecimiento bacteriano.

Los datos obtenidos se procesaron estadísticamente mediante un análisis de varianza simple y las medias se compararon mediante la prueba de comparación de rangos múltiples de Duncan, con un nivel de significación del 5 %, usando el paquete estadístico InfoStat/L (Versión 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La reacción de biorreducción entre los cationes Ag⁺ y los compuestos fitoquímicos presentes en el extracto ocurrió instantáneamente (antes de los cinco minutos), evidenciada por la presencia de un complejo coloreado marrón oscuro (Fig. 1), indicativo de la formación de las nanopartículas (4,6,18,19). El espectro UV-Vis mostró una longitud de onda máxima entre 460 y 480 nm, lo que coincide con los resultados informados por otros autores, acerca de la síntesis de NPP a partir de *T. vulgaris* (21).

Los estudios sobre la composición química del aceite esencial y extractos de las hojas de *T. vulgaris* coinciden en la presencia del p-cimeno (8,41 %), γ-terpineno (30,90 %) y timol (47,59 %), entre sus componentes principales (11).

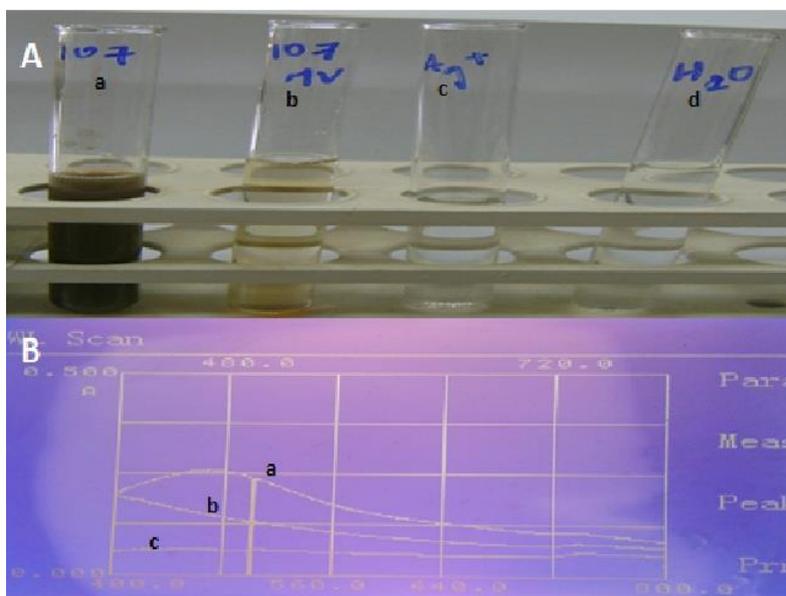


FIGURA 1. Identificación de la formación de las nanopartículas de plata a partir de *Thymus vulgaris* (Tv): visual (A) y espectrofotométrica (B). a: reacción positiva del Extracto Residual Hidrodestilación (ERH): solución de plata 4 mM (1:9); b: Reacción negativa del ERH: agua destilada (1:9); c: solución de plata 4 mM: agua destilada (9:1); d: agua destilada. / Identification of the formation of silver nanoparticles from *Thymus vulgaris* (Tv): visual (A) and spectrophotometric (B). a: positive reaction of Hydro-distillation Residual Extract (HRE): silver solution 4 mM (1:9); b: negative reaction of HRE: distilled water (1:9); c: silver solution 4 mM: distilled water (9:1); d: distilled water.

También se informó otro monoterpeno, el carvacrol (22), así como otros compuestos polifenólicos, como los ácidos rosmarínico y vanílico (22,23). La presencia de estos compuestos en el ERH pudiera aportar los grupos funcionales para la formación de las NNP.

En los últimos años, se amplió el estudio de *T. vulgaris* para la síntesis ecológica de NPM, como fuentes de agentes reductores y estabilizantes para diferentes fines. Se obtuvieron nanopartículas de óxido de cobre (NP- OCu) de esta fuente y se evaluaron como catalizador químico con buenos resultados (24). Otros estudios informaron la síntesis de NPP y sus propiedades antimicrobianas (25).

Los resultados obtenidos con el ERH confirman la posibilidad de obtención de NPP a partir de los compuestos presentes en este residual de tomillo, mediante un método simple, con el uso de precursores naturales y baratos, y bajo condiciones respetuosas con el medio ambiente.

Las NPP evidenciaron actividad antimicrobiana frente a la bacteria fitopatógena *X. phaseoli* pv. *phaseoli* (Fig. 2), similar a la actividad de la plata iónica (AgNO_3). Los extractos acuosos residuales no inhibieron el crecimiento del microorganismo. Por otra parte, las actividades antimicrobianas de las formas de cobre evaluadas mostraron halos de inhibición

difusos e inferiores a las formas de plata estudiadas. (Tabla 1)

Numerosos estudios demostraron que el principal impacto biológico de las NPP ocurre a nivel celular, de ahí la actividad antibacteriana demostrada. Diversos autores apuntan hacia la función del metal en esta actividad (26,27), debido a que la liberación de los cationes metálicos posibilita la interacción con los grupos tiol de muchas enzimas vitales y las inactiva. De hecho, el uso de compuestos metálicos como agente antimicrobiano, específicamente la plata, se remonta a miles de años (28). Sin embargo, aunque la plata se considera un agente antibacteriano con un modo de acción conocido, e incluso los mecanismos de resistencia a este elemento están descritos (29,30), con la nanotecnología, la estructura química y las propiedades físicas de la plata se modifican, lo que puede aumentar su potencial antibacteriano (30,31).

Otros estudios demostraron que las propiedades fisicoquímicas de las NPP y su interacción con las células vivas difieren sustancialmente de las de los iones de plata (31). Además, la variedad de las formas y características de varias NPP son responsables de las diferencias en el modo de acción y probablemente en el mecanismo bacteriano de resistencia (30,31).

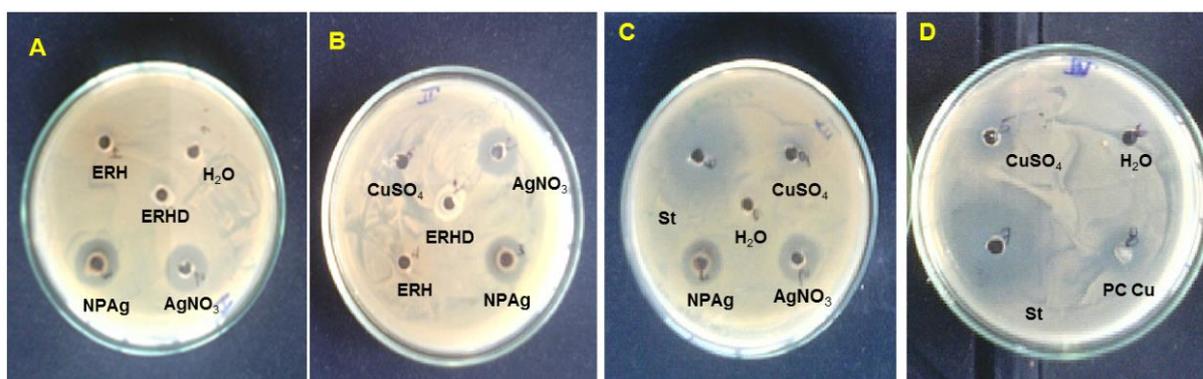


FIGURA 2. Actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata obtenidas de *Thymus vulgaris* frente a *Xanthomonas phaseoli* pv *phaseoli*. ERH: Extracto Residual Hidrodestilación; NPAg: nanopartículas de plata; ERHD: Extracto Residual Hidrodestilación: agua (1:9); AgNO_3 : Nitrato de plata 4 mM: agua (9:1); CuSO_4 : sulfato de cobre (II) (100 μg); St: sulfato de estreptomicina (100 μg); PC Cu: plaguicida comercial de cobre (100 μg)./ *Antimicrobial activity of silver nanoparticles obtained from Thymus vulgaris against Xanthomonas phaseoli pv phaseoli. ERH: Hydro-distillation Residual Extract; NPAg: Silver nanoparticles; ERHD: Hydro-distillation Residual Extract: water (1:9); AgNO_3 : Silver nitrate 4 mM: water (9:1); CuSO_4 : Copper sulphate (II) (100 μg); St: Streptomycin sulphate (100 μg); PC Cu: Commercial copper-based pesticide (100 μg).*

TABLA 1. Actividad antimicrobiana de las NPP obtenidas a partir del extracto residual de la destilación del aceite esencial de *Tymus vulgaris* sobre *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*. / *Antimicrobial activity of SNP obtained from hydro-distillation residual extract of the essential oil of Tymus vulgaris against Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*.

Muestra	N	Halo de inhibición (mm) a las 24 h (Media ± DS)
Ag ⁺	11	15,55 ± 0,93 b
NPP	11	14,91 ± 1,04 b
ERH	6	NI
ERHD	6	NI
Cu ²⁺ p.a	5	7,80 ± 0,84 d
Cu ²⁺ comercial	4	10,00 ± 2,83 c
Agua	6	NI
St	6	21,17 ± 1,60 a

Media ± DS: Desviación estándar de la media; NI: No inhibición; N: número de réplicas de cada tratamiento; AgNO₃: Solución de nitrato de plata 4 mM: agua (9:1); NPP: Nanopartículas de plata; ERH: Extracto Residual de Hidrodestilación; ERHD: Extracto Residual de Hidrodestilación diluido (ERH: agua 1:9); Cu²⁺ p.a: solución de sulfato de cobre (II) calidad puro para análisis (1mg/ mL); Cu²⁺ comercial: solución de bioplaguicida comercial de cobre (1 mg/ mL); St: sulfato de estreptomycin (1 mg/ mL).

Recientemente se informó la actividad antimicrobiana de NPP sintetizadas a partir de caldo de algas rojas (*Hypnea musciformis*) sobre *Xanthomonas campestris*. En este caso, la actividad antimicrobiana fue dependiente de la concentración; alcanzó la mejor actividad a 150 µg/ ml (17 ± 0,33 mm) (6). Similares resultados se informaron con NP de cobre obtenidas a partir de *Ocimum sanctum* frente a *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* (17,25 ± 0,95 mm) (5).

A diferencia de las NPM obtenidas por métodos físicos y químicos, en el caso de las NPM que se logran a partir de plantas, es necesario esclarecer la función de los compuestos fitoquímicos presentes. Los informes recientes demostraron la contribución de los componentes del material vegetal de partida y queda esclarecido que este es fundamental y determina las características físicas y químicas de las NPM obtenidas, y se observan comportamientos biológicos diferentes al variar el extracto vegetal inicial (32). Diferentes condiciones de la síntesis de las NPM, a partir de una misma planta, conllevan a diferente composición de compuestos y, por consiguiente, variación en la actividad antimicrobiana (33).

Actualmente es un tema muy debatido el/ los mecanismo(s) que emplean estas NPM para causar efecto antimicrobiano y, aunque en el caso

de las bacterias fitopatógenas estos estudios recién inician, de forma general se conocen varias teorías que explican el modo de acción de las NPM sobre las células bacterianas, tanto a nivel de la membrana celular, de la cadena respiratoria, o mediante la afectación de rutas metabólicas y activación de los mecanismos oxidativos, así como la modulación de la señalización celular (29,30,31).

CONCLUSIONES

El extracto residual de la hidrodestilación del aceite esencial de *Thymus vulgaris* es promisorio para la síntesis verde de las NPP, lo cual contribuye con el desarrollo de procesos limpios y seguros para el medio ambiente. Las NPP obtenidas demostraron actividad antimicrobiana similar a otra forma iónica de plata y superior a las formas de cobre evaluadas, lo que sugiere la necesidad de continuar los estudios de optimización de la tecnología, la caracterización físico-química y del modo de acción, así como las evaluaciones biológicas que posibiliten el aprovechamiento de este tipo de residual.

AGRADECIMIENTOS

A los técnicos Cecil González y Dreymsy Romero por su colaboración en la ejecución del estudio. La presente investigación se realizó en el

marco del proyecto “Productos basados en aceites esenciales para el control de plagas en semillas de interés económico”, financiado por el Programa Nacional de Salud Animal y Vegetal del Ministerio de la Agricultura, Cuba.

REFERENCIAS

1. Corzo M, Rivero GD, Martínez ZY, Martínez B. Detección e identificación de nuevos aislados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* en cultivares de frijol común. *Rev. Protección Veg.* 2015; 30 (2): 97-103.
2. Constantin EC, Cleenwerck I, Maes M, Baeyen S, Malderghem CV, De Vos P, et al. Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. *Plant Pathology.* 2016; 65 (5): 792-806.
3. Francisco FN, Gallegos MG, Ochoa FYM, Hernández CFD, Benavides MA, Castillo RF. Aspectos fundamentales del tizón común bacteriano (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* Smith): Características, patogenicidad y control. *Rev. Mex. Fitopatol.* 2013; 31 (2): 147-160.
4. Rajesh S, Raja DP, Rathi JM, Sahayaraj K. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ulva fasciata* (Delile) ethyl acetate extract and its activity against *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. *J. Biopest.* 2012; 5: 119-128.
5. Shende SS, Gaikwad ND, Bansod SD. Synthesis and evaluation of antimicrobial potential of copper nanoparticle against agriculturally important phytopathogens. *International Journal of Biology Research.* 2016; Volume 1; Issue 4: 41-47.
6. Vadlapudi V y Amanchy R. Synthesis, characterization and antibacterial activity of Silver Nanoparticles from Red Algae, *Hypnea musciformis*. *Advances in Biological Research.* 2017; 11 (5): 242-249. DOI: 10.5829/idosi.abr.2017.242.249
7. Yates M, Ramos M, Martin LMA, Zurdo V, Martinez AM. MultivalORIZATION of apple pomace towards materials and chemicals. Waste to wealth. *Journal of Cleaner Production.* 2017; 143: 847e853.
8. Karneva KB, Vasileva IN, Denev PN, Denkova RS, Shikov VT, Manolova MN, et al. Valorization of lavender waste - obtaining and characteristics of polyphenol rich extracts. *Food Science and Applied Biotechnology* 2018; Vol. 1., Iss. 1.
9. Mercado MG, Carrillo L, Wall-Medrano A, López DJ, Álvarez EP. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutr Hosp.* 2013; 28 (1):36-46.
10. Hosseinzadeh S, Jafari AK, Hosseini A, Armand R. The application of *Thymus vulgaris* in Traditional and modern medicine: A Review. *Global Journal of Pharmacology.* 2015; 9 (3): 260-266.
11. Boruga O, Jianu C, Misca C, Golet I, Gruia AT, Horhat FG. *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. *J Med Life.* 2014; 7(3): 56-60.
12. Rojas MF, Corzo ML, Sánchez YP, Brito D, Montes de Oca R, Martínez Y, et al. Actividad antibacteriana de aceites esenciales sobre *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. *Rev. Protección Veg.* 2014; 29 (3): 197-203.
13. Mehrsorosh H, Gavanji S, Larki B, Mohammadi MD, Karbasiun A, Bakhtari A, et al. Essential oil composition and antimicrobial screening of some iranian herbal plants on *Pectobacterium carotovorum*. *Global NEST Journal.* 2014; 16(2): pp 240-251.
14. Carezzano ME, Sotelo JP, Primo E, Reinoso EB, Paletti RMF, Demo MS, et al. Inhibitory effect of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* essential oils on virulence factors of phytopathogenic *Pseudomonas syringae* strains. *Plant Biology.* 2017; 19 (4): 599-607.
15. Oliva M, Carezzano ME, Giuliano M, Daghero J, Zygadlo J, Bogino P, et al. Antimicrobial activity of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on phytopathogenic strains isolated from soybean. *Plant Biology.* 2015; 17 (3): 758-765.
16. Vancheva T, Encheva MM, Tatyozova M, Gochev V, Stoyanova M, Moncheva P, et al. Antimicrobial activity of essential oils against pepper bacterial spot agents. *Annuaire de l'Université de Sofia "St. Kliment Ohridski".* 2015; 100(4): 200-207.
17. Pino O, Sánchez Y, Rojas M, Abreu Y, Correa T, Martínez D, et al. Composición química y actividad antibacteriana del aceite

- esencial de *Ruta chalepensis* L. Rev. Protección Veg. 2014; 29(3): 220-225.
18. Sarkar D y Goutam P. Green Synthesis of silver nanoparticles using *Mentha asiatica* (Mint) extract and evaluation of their antimicrobial potential. Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol. 2017; 4(1): 77-82.
 19. Khan MZH, Tareq FK, Hossen MA, Roki AM. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Coriandrum sativum* leaf extract. Journal of Engineering Science and Technology. 2018; 13(1): 158-166.
 20. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standard. Ed. 12. 2015; 35(1): pp.15.
 21. Khalilnezhad F, Torabi S, Larijany K, Khosrowshahli M. Nano silver particle synthesis using leaf extract of pharmaceutical plant *Thymus vulgaris*. International Journal of Biosciences. 2015; 6(4): 192-196.
 22. Hamed SE, Al Shahwany AW. Increasing antimicrobial activity of some plant extracts against antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* by using silver nanoparticles. World J Exp Biosci. 2016; 4(1): 7-14.
 23. Chizzola R, Michitsch H, Franz C. Antioxidative properties of *Thymus vulgaris* leaves: Comparison of different extracts and essential oil chemotypes. J. Agric. Food Chem. 2008; 56(16): 6897-6904.
 24. Nasrollahzadeh M, Sajadi SM, Rostami AV, Mamand SH. Green synthesis of CuO nanoparticles using aqueous extract of *Thymus vulgaris* L. leaves and their catalytic performance for N-arylation of indoles and amines. Journal of Colloid and Interface Science. 2016; Vol. 466: 113-119.
 25. Manukumar HM, Yashwanth B, Umesha S, Rao JV. Biocidal mechanism of green synthesized thyme loaded silver nanoparticles (GTAgnPs) against immune evading tricky methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* 090 (MRSA090) at a homeostatic environment. Arabian Journal of Chemistry. 2017; Doi: 10.1016/j.arabjc.2017.09.017.
 26. Moodley SJ, Krishna SBN, Pillay K, Sershen, Govender P. Green synthesis of silver nanoparticles from *Moringa oleifera* leaf extracts and its antimicrobial potential. Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol. 2018; 9(1):9pp. <https://doi.org/10.1088/2043-6254/aaabb2>.
 27. Vélez E, Campillo G, Morales G, Hincapié C, Osorio J, Arnache O. Nanoparticles obtained by aqueous or Ethanolic *Aloe vera* extracts: An assessment of the antibacterial activity and mercury removal capability. Journal of Nanomaterials. 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7215210>.
 28. Turner RJ. Metal based antimicrobial strategies. Review. Microb Biotechnol. 2017; 10(5): 1062-1065.
 29. Kedziora A, Speruda M, Krzyżewska E, Rybka J, Lukowiak A, Bugla-Plosko G. Similarities and differences between silver ions and silver in nanoforms as antibacterial agents. Review. Int. J. Mol. Sci. 2018; 19: 444. Doi:10.3390/ijms19020444.
 30. Randall CP, Gupta A, Jackson N, Busse D, O'Neill AJ. Silver resistance in Gram-negative bacteria: A dissection of endogenous and exogenous mechanisms. J. Antimicrob. Chemother. 2015; 70: 1037-1046.
 31. Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Tapia JR, et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology. 2005; 16: 2346-2353
 32. Ronavari A, Kovacs D, Igaz N, Vagvolgyi C, Miklos I, Boros IM, et al. Biological activity of green synthesized silver nanoparticles depends on the applied natural extracts: a comprehensive study. Internatioanl Journal of Nanomedicine 2017; 12: 871- 883.
 33. Tippayawat P, Phromviyo N, Bouero P, Chompoosor A. Green synthesis of silver nanoparticles in *aloe vera* plant extract prepared by a hydrothermal method and their synergistic antibacterial activity. Peer J. 2016; 4:e2589. DOI 10.7717/peerj.2589.

Los autores de este trabajo declaran no presentar conflicto de intereses.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

La mención de marcas comerciales de equipos, instrumentos o materiales específicos obedece a propósitos de identificación, no existiendo ningún compromiso promocional con relación a los mismos, ni por los autores ni por el editor.