



Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

---

---

**“Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata  
utilizando el extracto acuoso de *Mentha x piperita* L.  
LAMIACEAE (Menta negra)”**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO

PRESENTAN:

SARA LESCAS NAVA  
SERGIO ESTEBAN MORENO VÁZQUEZ

Asesora:

Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enríquez

Coasesores:

Dra. Flora Adriana Ganem Rondero

Dr. Enrique Salas Téllez

CUAUTITLÁN IZCALLI, 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de Tesis

Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata utilizando el extracto acuoso de *Mentha x piperita* L. LAMIACEAE (Menta Negra).

Que presenta la pasante: **Sara Lescas Nava**

Con número de cuartel: **305109956** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura de Química**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 02 de Septiembre de 2016.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	<u>Dr. Juan Manuel Aceves Hernández</u>	
<b>VOCAL</b>	<u>Dra. María Guadalupe Pérez Caballero</u>	
<b>SECRETARIO</b>	<u>Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enriquez</u>	
<b>1er. SUPLENTE</b>	<u>Dr. Enrique Ramón Ángeles Arguiano</u>	
<b>2do. SUPLENTE</b>	<u>Dra. Yolanda Marina Vargas Rodríguez</u>	

NOTA: Los miembros del jurado están obligados a presentarse a la hora del examen Profesional (art. 127).

IMP/2016



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: LA. LAURA MARGARITA CORJAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

**Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata utilizando el extracto acuoso de *Montha x piperita* L. LAMIACEAE (Menta Negra).**

Que presenta el pasante: **Sergio Esteban Moreno Vázquez**

Con número de cuenta: 307225081 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura de Química

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 02 de Septiembre de 2016

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	<u>Dr. Juan Manuel Aceves Hernández</u>	
<b>VOCAL</b>	<u>Dra. María Guadalupe Pérez Caballero</u>	
<b>SECRETARIO</b>	<u>Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enriquez</u>	
<b>1er. SUPLENTE</b>	<u>Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano</u>	
<b>2do. SUPLENTE</b>	<u>Dra. Yolanda Marina Vargas Rodríguez</u>	

NOTA: los suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional [art. 127].



# AGRADECIMIENTOS

## DE NOSOTROS

Primero, agradecemos al Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza PAPIME. Clave del proyecto: PE204814. Actualización y fortalecimiento de la enseñanza experimental de las asignaturas de Farmacognosia y Fitoquímica de la carrera de Licenciado en Farmacia y Licenciatura en Bioquímica diagnóstica.

Queremos agradecer a la Dra. Ganem por su apoyo y asesoramiento en la realización de este trabajo, así como a la Dra. Lupita.

Al Dr. Ángeles, a la Dra. Anita, a la Dra. Gaby Vargas y al Dr. Roberto por habernos proporcionado su tiempo y el acceso a los equipos de laboratorio.

Al Dr. Téllez por permitirnos utilizar su laboratorio para realizar las pruebas biológicas de las nanopartículas, así como su conocimiento en el área.

Al técnico Rodolfo Robles por brindarnos su gran apoyo en el área de Microscopía Electrónica de Barrido, así como su amistad.

A nuestros amigos del laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica: Lidia, Irene, Raúl, Ceci, Mario, Heriberto, Rebeca, Daniel y Tonatiuh por toda su amistad, apoyo, convivios (que no fueron pocos), juegos, e interés; así como, su gran compañía en el tiempo que estuvimos con ustedes. También agradecemos en especial a Alejandra por toda su amistad, apoyo y ayuda en la experimentación de nuestro trabajo, en verdad agradecemos el tiempo que invertiste, no lo olvidaremos. A Mary Carmen por la gran ayuda en el laboratorio del Dr. Téllez, así como su amistad. A Imelda por el apoyo en la cromatografía y su amistad. A Miguel e Issac por su amistad y toda la locura que desatan (en especial Issac), y por el asesoramiento en los equipos del LEM de Farmacia.

A los profesores Mario y Brígida. Agradecemos todo el apoyo que nos dieron, así como su confianza y amistad durante todo el tiempo que estuvimos bajo su asesoramiento y orientación en nuestra formación como profesionistas. Gracias por ser un ejemplo para nosotros.

A la Profesora Brígida le agradecemos el habernos recibido en su laboratorio y por permitirnos ser parte de su equipo de trabajo. Gracias por transmitirnos su conocimiento, por su enseñanza y por su cariño brindado, gracias por confiar en nosotros. Nunca la olvidaremos.

DE SARA

*“Detrás y delante me rodeaste, y sobre mí pusiste tu mano. Has escudriñado mi andar y mi reposo, y todos mis caminos te son conocidos. Si tomaré las alas del alba y habitaré en el extremo del mar, aún allí me guiará tu mano. Despierto y aún estoy contigo. Te alabaré; porque formidables, y maravillosas son tus obras; estoy maravillado, y mi alma lo sabe muy bien.” Salmo 139...*

Gracias mi Dios por tu gran amor y misericordia, gracias por cumplir un anhelo de mi corazón y por sostenerme en tus brazos. Sin ti, nada de esto sería posible.

Papá gracias por apoyarme en todo, por alentarme, por enseñarme que todo es posible, gracias por confiar en mí, por tu cuidado, por darme consejos sabios y gracias por darme la oportunidad de estudiar una carrera. Este logro es tuyo. Te amo.

Mamá gracias por tus desvelos, por preocuparte siempre por mí, por tus oraciones, por tu apoyo, tus palabras de aliento y por todo tu amor hacia mí. Gracias por darme el ejemplo de una mujer piadosa. No sabré como pagarte por todo esto.

Isaac, Vero y Margarita: ¡Cuán agradecida estoy por sus vidas!, gracias por ser mi apoyo incondicional, por cuidar de mí y procurarme, gracias por su amor, y por enseñarme que El Señor es todo lo que necesito, gracias por hacerme ver dicha y alegría en los días difíciles. Isaac gracias por recordarme esto: “Mientras haya vida, hay esperanza”.

Eduardo, mi ser amado, gracias por tomar mi mano y por haber decidido acompañarme en este largo viaje, gracias amor por tus abrazos, por acompañarme en los desvelos, por tus palabras de aliento y por hacer mis días extremadamente divertidos. Dios me bendijo con tu hermosa vida. Te amo por siempre.

A mis sobrinos: Vale, Eliú, Dana, Anita, Caleb, Lalis, Pablo y Abi, gracias por llenarme de sonrisas cada día, les veo y soy sumamente dichosa.

Raquel y Nancy, ¡qué hermoso es saber que ustedes existen!, gracias por su amor, por preocuparse siempre por mí, por alentarme, por animarme, por ser tan lindas conmigo y por ser un ejemplo para mí.

A mis abuelos, a Fer, a mi tía Paty, a Tavo, a mis tíos y primos: gracias por su amor y cariño.

A mi hermosa familia en Cristo, gracias por su apoyo incondicional, y por sus palabras alentadoras, gracias por velar por mí durante todos estos años, gracias por todo su amor y bondad. Ustedes son una bendición para mí.

Mony, eres un pilar para mi vida, eres una mujer maravillosa, gracias por alentarme cuando me daba por vencida, por confiar en mí, por hacerme reír, por ser mi hermana y confidente, y por ser un bello sol en mi vida. Te amo lorencita.

Ale, gracias por permitirme ser parte de tu familia, por darme consejos sabios, por tus regaños oportunos y por apoyarme en todo, gracias por ser una hermana para mí, en definitiva tú eres una gran bendición. Gracias por apoyarme en este trabajo, por todo tu amor. Te amo Alets.

Cecy y Mary les amo grandemente, les agradezco por permitirme ser parte de ustedes, por apoyarme en este trabajo y por contagiarme con sus risas, por las largas pláticas llenas de sazón, ustedes siempre serán especiales para mí.

A mis amigos: Jonathan, Toño, Emir, Yair, Caro, Pilar, Isabel, Tony, Mario, Juan Manuel, Ely y Yare, les quiero en demasía, gracias por hacer mis días divertidos y amenos. Gracias por compartir sus vidas conmigo y por su bondad hacia mi persona.

Ale, te agradezco por todo lo que has hecho por mí, por ser mi hermana y amiga durante estos veintitantos años, por acompañarme en esto y más. Te amo y lo sabes muy bien.

A mi familia de la CNSNS, Ligia, Lalo, Arturo, Eva e Isaura, gracias por permitirme trabajar con ustedes, por transmitirme sus conocimientos y por enseñarme como tiene que desempeñarse un profesionista. Ustedes son excepcionales.

Profesor Marcial, gracias por motivarme a seguir estudiando, gracias por su ejemplo, le admiro.

Señor Rodolfo, ¡qué bendición fue conocerlo!, gracias a Dios por su vida, por su cariño y por enseñarme cosas que desconocía, gracias por cuidar de mí y por aconsejarme, le quiero.

Sergio, eres pieza fundamental de este trabajo, gracias por haber compartido conmigo momentos inolvidables, por tu esfuerzo puesto para realización de este proyecto, gracias por ser un amigo y compañero. Gracias por tu confianza puesta en mí y gracias por reír a mi lado aún en los días grises.

*“Respetar y quiere a tu maestro, hijo mío. Quiérello porque consagra su vida al bien de tantos que luego lo olvidan; quiérello porque te abre e ilumina la inteligencia y te educa el corazón.*

*Quiere a tu maestro, porque pertenece a esa gran familia de cincuenta mil profesores elementales esparcidos, y que son como padres intelectuales de millones de muchachos que contigo crecen; trabajadores mal comprendidos y mal recompensados, que preparan para nuestra patria una generación mejor que la presente.*

*No estaré satisfecho de tu cariño hacia mí si no lo tienes igualmente para todos los que te hacen bien. Quiérello como querías a un hermano mío; quiérello cuando te acaricie y cuando te regañe; cuando es justo contigo y cuando te parezca injusto; quiérello cuando esté alegre y afable, y quiérello más aún cuando lo veas triste. Quiérello siempre.*

*Pronuncia perpetuamente con respeto el nombre de maestro, que, después del padre, es el nombre más dulce que puede dar un hombre a un semejante suyo.”* Edmundo de Amicis

Maestra Brígida, gracias por enseñarme mucho, por su confianza, por su cariño, por tanto...

Gracias a mi amada casa de estudios por permitirme desarrollarme como persona y como profesional, gracias por acogerme y ser mi segundo hogar. Gracias por todo lo recibido.

DE SERGIO

A mis Padres. Agradezco el gran esfuerzo que tuvieron que hacer desde el día que nació. Agradezco el estar a mi lado todo el tiempo. Agradezco por toda la educación que me han dado hasta el día de hoy, tanto dentro de casa como fuera de ella. Agradezco por todas las cosas me han dado con tanto trabajo, esfuerzo y sacrificio; créanme que lo sé. Y lo más importante, les agradezco la confianza que depositaron en mí, por las decisiones que he tomado hasta este momento. Espero que se sientan orgullosos de mí.

Papá. En verdad te agradezco todo. Sé que he sido difícil, y hasta la fecha todavía lo soy. Quiero que sepas que admiro el enorme esfuerzo haz hecho por sacarnos adelante. Sé que no ha sido fácil para ti, pero quiero que sepas que debes de sentirte orgulloso de lo que has logrado como padre. Nunca lo olvides.

Mamá. No tengo palabras que decirte (en verdad que no), tal vez pueden ser las mismas que he escrito para mi papá, pero a pesar de que es difícil de encontrarlas quiero decirte nada más esto: Gracias por todo. En verdad agradezco el que seas mi mamá.

A mis Hermanos: Omar y Edgar. Lo que escribiré para ustedes no es un agradecimiento (o no suena como uno para mí). Solo quiero que sepan que todo lo que se propongan se puede lograr si se tiene la determinación. Créanme cuando les digo que nunca me ha gustado ser el punto de referencia para ustedes (porque somos muy distintos, los tres), pero en este momento quiero serlo, tómenme como el ejemplo de que si se pueden alcanzar los sueños, por más descabellados que sean.

A mis grandes amigos: Adrián y Carmen. En verdad les agradezco su amistad, así como su gusto por las reuniones con galletas y café. Siempre los recordaré cuando escuche "Crazy in Love" o vea "White Chicks". No lo olviden.

A mis compadres. A dos amigos que fueron (y los considero) parte de mi familia: Yol Tan y Oyuki. En verdad les agradezco los cuatro años que compartí y viví (literal) con ustedes. Todas las experiencias (por muy buenas o malas) dentro y fuera de la Cuautitlán nunca las olvidaré (nunca, ja). Vivir con ustedes fue una de las aventuras más grandes de mi vida, así como una locura. Incluyo también a Pam, que a pesar del poco tiempo de convivencia, me hacía reír con sus ocurrencias e ideas (como la Fiesta, por ejemplo).

A Cecilia y Selene. Por todas esas noches que compartimos comiendo pan (muy bueno por cierto). Cecilia gracias por tu amistad, única. Nunca olvidaré la lista negra y tu forma de cobrar (como "Judía") las deudas. Selene, si hubiéramos sido hermanos, me cae que nunca pararía de reír de tanta "i/%@#!z" junto contigo. También, nunca olvidaré el "saludo de buenos días" de aquel día.

A "Las Manas": Montse, Ely, Gaby y Miri. En verdad son ÚNICAS. Pasar el tiempo con ustedes (en verdad) no es tiempo perdido. Hablar con ustedes siempre fue (y lo es todavía) entretenido e informativo.

A Armando. Por ser un gran amigo y una de las pocas personas que tienen una "chispa" (por decirlo de alguna manera) sin igual. Nunca olvidaré los momentos de cuando nos juntábamos con Montse o con Selene (o ambas). Juntos éramos la pura onda.

A Fernando. Por ser el primer amigo que hice en la Universidad. Considero que ese recuerdo nunca se debe de olvidar.

A la Generación 38 de Química. Pude conocer a varios y frecuenté poco con otros, pero el hecho es que formación parte de mi desarrollo profesional y personal dentro de la FES. Nunca los olvidaré.

A mis amigos de la grandiosa Prepa 5: Andrea, Omar, Roxana, Irving, Jibran, Jimena y Rodrigo; al igual que Karina y Paulina. No estuvieron conmigo en la Universidad, pero agradezco su compañía por los días fuera ella.

A Priscila. Por apoyarme en los inicios de la visión que quiero alcanzar, y por aguantarme por más de 10 años.

A la Profesora Brígida. Le agradezco enormemente el haber estado bajo su tutela. Agradezco todo su apoyo y enseñanza. Nunca, nunca la olvidaré.

A la UNAM, en concreto, a la FES Cuautitlán Campo 1. Si en un principio rechazaba el estar en ella, ahora agradezco enormemente haber sido un alumno de ese plantel. Créanme que donde quiera que esté y con quien esté siempre diré con orgullo que estudié la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

A Sara. Te quiero agradecer el poder haberme permitido formar parte de esta etapa de formación de tu vida profesional. El tiempo que compartí contigo aprendí mucho de ti y de mí, y me da mucho gusto que nuestro esfuerzo, dedicación y constancia se vea reflejado en este trabajo. Me alegra el haber ganado una amiga como tú, y quiero que sepas que te deseo lo mejor a partir de este momento ya que nuestros caminos se separan. Te deseo mucha suerte y éxito en la vida que forjarás de ahora en adelante, y nunca olvides que podrás contar conmigo. Atentamente Sergio.

PD: Por cierto... ¿Te acuerdas por qué empezamos hacer esto juntos?



*Todo es por ti y para ti.  
Gracias Señor.*

*A mi padres, mis soles eternos.*

*A Eduardo, mi cielo.*

*A mis hermanos, mis dulces estrellas.*

*Para ustedes, con todo mi amor.*

*A mi familia, por ser un pilar*

*A mis amigos, por ser cómplices*

*A Campo 1, por ser mí segundo hogar*

*A Sara y a la Profesora Brígida, por su esfuerzo y compañía*

*KNM RAM*

# ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS.....	IV
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	V
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	VI
ÍNDICE DE MICROGRAFÍAS.....	VI
ÍNDICE DE SERIES FOTOGRÁFICAS.....	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
<b>1 INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2 MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>2</b>
2.1 MATERIA PRIMA VEGETAL .....	2
2.2 TAXONOMÍA.....	2
2.2.1 Descripción botánica .....	2
2.2.2 Hábitat.....	2
2.2.3 Usos.....	3
2.2.4 Partes utilizadas .....	3
2.2.5 Composición química .....	3
2.2.5.1 <i>Aceite esencial</i> .....	3
2.2.5.2 <i>Flavonoides</i> .....	3
2.2.5.3 <i>Otros</i> .....	4
2.3 NANOTECNOLOGÍA .....	5
2.3.1 Antecedente y definición .....	5
2.3.2 Características .....	5
2.3.3 Aplicación .....	5
2.3.3.1 <i>Nanomedicina</i> .....	5
2.3.3.2 <i>Vacunas</i> .....	6
2.3.3.3 <i>Nanobiosensores</i> .....	6
2.3.3.4 <i>Puntos cuánticos</i> .....	7
2.3.3.5 <i>Liberación controlada de fármacos</i> .....	7
2.3.3.6 <i>Nanotecnología y la industria</i> .....	7
2.4 PLASMÓN DE SUPERFICIE.....	7
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>10</b>
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	10
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES .....	10

<b>4</b>	<b>METODOLOGÍA</b>	<b>11</b>
4.1	SELECCIÓN DE LA MATERIA PRIMA VEGETAL	11
4.1.1	Desecación natural a la sombra	11
4.1.2	Preparación de extracto por infusión	11
4.1.3	Preparación de $\text{AgNO}_3$ $1 \times 10^{-3}$ M	12
4.1.4	Síntesis de Nanopartículas de plata: Seguimiento por cambio de color	12
4.1.5	Obtención de los espectros por Espectrofotometría Ultravioleta-Visible	12
4.1.6	Obtención de barridos de la tribu <i>Mentheae</i> y comparación taxonómica	12
4.1.7	Comparación de menta negra por lugar geográfico	12
4.2	EXTRACTO Y MARCO	13
4.2.1	Herborización e identificación del material vegetal	13
4.2.2	Determinación del tamaño de partícula óptimo	13
4.2.3	Porcentaje de humedad	13
4.2.4	Análisis fitoquímico preliminar	13
4.2.5	Cantidad de material extraíble	14
4.2.5.1	<i>Preparación del extracto por infusión</i>	14
4.2.5.2	<i>Extracción asistida por Microondas</i>	15
4.2.5.3	<i>Extracción asistida por Sonicación</i>	15
4.2.5.4	<i>Preparación de extracto por Infusión, Microondas y Sonicación sin cambio de disolvente.</i>	15
4.2.6	Análisis morfológico del marco por microscopia electrónica de barrido	15
4.3	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS	16
4.3.1	Síntesis de nanopartículas de plata	16
4.3.1.1	<i>Síntesis de Nanopartículas a temperatura ambiente</i>	16
4.3.1.2	<i>Síntesis de Nanopartículas por baño María</i>	16
4.3.1.3	<i>Síntesis de Nanopartículas asistida por sonicación</i>	16
4.3.1.4	<i>Síntesis de Nanopartículas asistida por microondas</i>	16
4.3.2	Tamaño de partícula e índice de polidispersión	16
4.3.3	Determinación y elección de método de síntesis óptimo para las nanopartículas de plata por análisis estadístico	17
4.3.4	Síntesis de nanopartículas de oro	17
4.3.5	Síntesis de nanopartículas de plata asistida por microondas	17
4.3.6	Síntesis de nanopartículas de oro asistida por microondas	17
4.3.7	Caracterización de nanopartículas de plata y oro	17

4.3.7.1	<i>Microscopía electrónica de barrido (MEB)</i> .....	17
4.3.7.2	<i>Tamaño de partícula e índice de polidispersión</i> .....	18
4.3.7.3	<i>Espectroscopia infrarroja</i> .....	18
4.3.8	Cromatografía .....	18
4.3.9	Cuantificación de polifenoles totales equivalentes a rutina .....	19
4.4	ACTIVIDAD BIOLÓGICA.....	19
4.4.1	Preparación de Antimicrobianos NP's Ag, NP's Au, Anfotericina B y Gentamicina ..	19
4.4.1.1	<i>Anfotericina B (antifúngico de referencia)</i> .....	19
4.4.1.2	<i>Gentamicina (antibacteriano de referencia)</i> .....	20
4.4.1.3	<i>Solución stock de NP's Ag y NP's Au</i> .....	21
4.4.2	Llenado de placas .....	23
4.4.3	Preparación del inóculo.....	23
4.4.3.1	<i>Inóculo de "Candida albicans"</i> .....	23
4.4.3.2	<i>Inóculo para Bacterias "Escherichia coli" y "Staphylococcus aureus"</i> .....	23
4.4.4	Inoculación de placas .....	24
4.4.5	Incubación de las placas.....	24
<b>5</b>	<b>RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS</b> .....	<b>25</b>
5.1	SELECCIÓN DE MATERIA PRIMA VEGETAL .....	25
5.1.1	Desecación natural a la sombra .....	25
5.1.2	Síntesis de Nanopartículas de plata: Seguimiento por cambio de color.....	25
5.1.3	Obtención de los espectros por Espectrofotometría Ultravioleta-Visible .....	25
5.1.4	Obtención de espectros uv-Vis de la tribu de la menta y comparación taxonómica	27
5.1.5	Comparación de menta negra por lugar geográfico .....	29
5.2	EXTRACTO Y MARCO .....	33
5.2.1	Herborización e identificación del material vegetal .....	33
5.2.2	Determinación del tamaño de partícula óptimo.....	33
5.2.3	Porcentaje de humedad .....	34
5.2.4	Análisis fitoquímico preliminar .....	34
5.2.5	Cantidad de material extraíble.....	36
5.2.6	Análisis morfológico del marco por microscopia electrónica de barrido .....	37
5.3	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS .....	41
5.3.1	Síntesis de nanopartículas de plata.....	41
5.3.2	Tamaño de partícula e índice de polidispersión .....	53



5.3.3	Determinación y elección de método de síntesis óptimo para las nanopartículas de plata por análisis estadístico .....	54
5.3.4	Síntesis de nanopartículas de oro .....	59
5.3.5	Actividad biológica de NP's Ag y NP' Au.....	60
5.3.6	Caracterización de nanopartículas de plata y oro.....	62
5.3.6.1	<i>Microscopía electrónica de barrido (MEB)</i> .....	62
5.3.6.2	<i>Dispersión dinámica de la luz: tamaño de partícula e índice de polidispersión</i> ....	64
5.3.6.3	<i>Espectroscopia infrarroja</i> .....	66
5.3.7	Cromatografía .....	71
5.3.8	Cuantificación de polifenoles totales equivalentes a rutina .....	72
5.4	ACTIVIDAD BIOLÓGICA.....	73
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>80</b>
<b>7</b>	<b>PROSPECTIVAS</b> .....	<b>81</b>
<b>8</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>82</b>
<b>9</b>	<b>APÉNDICE</b> .....	<b>94</b>
9.1	APÉNDICE A .....	94
9.2	APÉNDICE B .....	96
9.3	APÉNDICE C .....	97
<b>10</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>97</b>
10.1	ANEXO A .....	97
10.2	ANEXO B .....	98
10.3	ANEXO C .....	100
10.4	ANEXO D.....	101
10.5	ANEXO E .....	101
10.6	ANEXO F .....	103
10.7	ANEXO G.....	107
10.8	ANEXO I .....	138

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1.	Cromatografía en capa fina de estándares, extracto y sobrenadantes.....	71
Fotografía 2.	Crecimiento microbiano, al inicio del tratamiento con NP's Ag.....	74
Fotografía 3.	Crecimiento microbiano, después del tratamiento con NP's Ag.....	74
Fotografía 4.	Crecimiento microbiano, al inicio del tratamiento con NP's Ag.....	75
Fotografía 5.	Crecimiento microbiano, después del tratamiento con NP's Ag.....	75
Fotografía 6.	Crecimiento microbiano, al inicio del tratamiento con NP's Au.....	76

Fotografía 7. Crecimiento microbiano, después del tratamiento con NP's Au.....	77
Fotografía 8. Crecimiento microbiano, al inicio del tratamiento con NP's Au.....	77
Fotografía 9. Crecimiento microbiano, después del tratamiento con NP's Au.....	78

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Comparación de las especies vegetales en la formación de NP's Ag. ....	26
Gráfica 2. Comparación de las especies vegetales en la formación de NP's Ag (Dilución 1:10). ....	27
Gráfica 3. Comparación de las especies de la tribu <i>Menthae</i> . ....	29
Gráfica 4. Comparación del sistema 1 por localidad de adquisición. ....	30
Gráfica 5. Comparación del sistema 2 por localidad de adquisición. ....	31
Gráfica 6. Comparación del sistema 3 por localidad de adquisición. ....	31
Gráfica 7. Comparación del sistema 4 por localidad de adquisición. ....	32
Gráfica 8. Comparación del sistema 5 por localidad de adquisición. ....	32
Gráfica 9. Espectro UV-Vis de NP's Ag sintetizadas a 25° C. ....	43
Gráfica 10. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de baño María a 75° C en el tiempo de 1 minuto. ....	44
Gráfica 11. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de baño María a 75° C en el tiempo de 4 minuto. ....	45
Gráfica 12. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de baño María a 75° C en el tiempo de 10 minutos. ....	46
Gráfica 13. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de sonicación a 29° C en el tiempo de 1 minuto. ....	47
Gráfica 14. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de sonicación a 38° C en el tiempo de 4 minutos.....	48
Gráfica 15. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de sonicación a 38° C en el tiempo de 10 minutos. ....	49
Gráfica 16. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de microondas a 80° C en el tiempo de 30 segundos. ....	50
Gráfica 17. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de microondas a 80° C en el tiempo de 60 segundos. ....	51
Gráfica 18. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de microondas a 80° C en el tiempo de 90 segundos. ....	52
Gráfica 19. Espectro UV-Vis de nanopartículas de oro (NP's Au) a segundo 30, 60 y 90. ....	59
Gráfica 20. Espectro UV-Vis de sobrenadante obtenido del aislamiento de nanopartículas de plata NP's Ag .....	61
Gráfica 21. Espectro UV-Vis de sobrenadante obtenido del aislamiento de nanopartículas de oro NP's Au .....	61
Gráfica 22. Distribución de tamaño de nanopartículas de plata del sistema 3 sintetizadas por Microondas durante 90 segundos. ....	65
Gráfica 23. Datos de correlación y distribución de tamaño de nanopartículas de oro del sistema 3 sintetizadas por Microondas durante 90 segundos.....	65
Gráfica 24. Espectro UV-Vis para la cuantificación de polifenoles totales equivalentes a rutina, con el reactivo de Folin-Denis.....	72
Gráfica 25. Curva de cuantificación de polifenoles totales equivalentes a rutina.....	73

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Dimensiones en perspectiva. ....	6
Ilustración 2. Puntos cuánticos irradiados con luz UV. Diferentes tamaños de puntos cuánticos emiten diferente color. ....	7
Ilustración 3. Propiedades ópticas y fototérmicos de nanopartículas de metales nobles .....	8
Ilustración 4. Esquema de diluciones de la Anfotericina B. ....	20
Ilustración 5. Segundo paso de la dilución de antimicrobiano de referencia .....	20
Ilustración 6. Esquema de diluciones de la Gentamicina. ....	21
Ilustración 7. Esquema de diluciones de NP's de Ag.....	22
Ilustración 8. Esquema de diluciones de NP's de Au. ....	22
Ilustración 9. Llenado de placas .....	23
Ilustración 10. Espectro de IR/ATR de extracto acuoso de menta negra. ....	66
Ilustración 11. Espectro de IR/ATR de AgNO <sub>3</sub> . ....	67
Ilustración 12. Espectro de IR/ATR NP's Ag. ....	67
Ilustración 13. Espectro de IR/ATR Sobrenadante de NP's Ag.....	68
Ilustración 14. Espectro de IR/ATR NP's Au. ....	69
Ilustración 15. Espectro de IR/ATR Sobrenadante de NP's Au. ....	70

## ÍNDICE DE MICROGRAFÍAS

Micrografía 1. Material vegetal antes de tratamiento [200x] .....	38
Micrografía 2. Material vegetal antes de tratamiento [450x] .....	38
Micrografía 3. Material vegetal antes de tratamiento [1000x] .....	38
Micrografía 4. Extracto por infusión tiempo de 1 minuto [200x] .....	39
Micrografía 5. Extracto por infusión tiempo de 2 minuto [200x] .....	39
Micrografía 6. Extracto por infusión tiempo de 1 minuto [450x] .....	39
Micrografía 7. Extracto por infusión tiempo de 2 minuto [450x] .....	39
Micrografía 8. Extracto por infusión tiempo de 1 minuto [1000x] .....	39
Micrografía 9. Extracto por infusión tiempo de 2 minuto [1000x] .....	39
Micrografía 10. Extracto por microondas tiempo de 1 minuto [200x] .....	40
Micrografía 11. Extracto por microondas tiempo de 2 minuto [200x] .....	40
Micrografía 12. Extracto por microondas tiempo de 3 minuto [200x] .....	40
Micrografía 13. Extracto por microondas tiempo de 1 minuto [450x] .....	40
Micrografía 14. Extracto por microondas tiempo de 2 minuto [450x] .....	40
Micrografía 15. Extracto por microondas tiempo de 3 minuto [450x] .....	40
Micrografía 16. Extracto por microondas tiempo de 1 minuto [1000x] .....	40
Micrografía 17. Extracto por microondas tiempo de 2 minuto [1000x] .....	40
Micrografía 18. Extracto por microondas tiempo de 3 minuto [1000x] .....	40
Micrografía 19. Extracto por sonicación tiempo de 1 minuto [200x] .....	41
Micrografía 20. Extracto por sonicación tiempo de 2 minuto [200x] .....	41
Micrografía 21. Extracto por sonicación tiempo de 1 minuto [450x] .....	41
Micrografía 22. Extracto por sonicación tiempo de 2 minuto [450x] .....	41
Micrografía 23. Extracto por sonicación tiempo de 1 minuto [1000x] .....	41
Micrografía 24. Extracto por sonicación tiempo de 2 minuto [1000x] .....	41

Micrografía 25. NP's Ag con microscopía electrónica de barrido: [1000x].....	62
Micrografía 26. NP's Ag con microscopía electrónica de barrido: [2000x].....	63
Micrografía 27. NP's Au con microscopía electrónica de barrido: [1000x].....	63
Micrografía 28. NP's Au con microscopía electrónica de barrido: [10000x].....	64

## ÍNDICE DE SERIES FOTOGRÁFICAS

Serie Fotográfica 1. Tamiz Fitoquímico.....	36
Serie Fotográfica 2. Micrografías de menta negra (Antes de tratamiento).....	38
Serie Fotográfica 3. Micrografías de menta negra (Después de tratamiento por infusión minuto 1 y 2). .....	39
Serie Fotográfica 4. Micrografías de menta negra (Después de tratamiento por microondas minuto 3, 4 y 2).....	40
Serie Fotográfica 5. Micrografías de menta negra (Después de tratamiento por sonicación minuto 1 y 2).....	41
Serie Fotográfica 6. Síntesis de NP's Ag a temperatura ambiente. ....	42
Serie Fotográfica 7. Síntesis de NP's Ag por calor convencional (baño María) 1 min. ....	43
Serie Fotográfica 8. Síntesis de NP's Ag por calor convencional (baño María) 4 min.....	45
Serie Fotográfica 9. Síntesis de NP's Ag por calor convencional (baño María) 10 min. ....	46
Serie Fotográfica 10. Síntesis de NP's Ag por sonicación 1 min.....	47
Serie Fotográfica 11. Síntesis de NP's Ag por sonicación 4 min.....	48
Serie Fotográfica 12. Síntesis de NP's Ag por sonicación 10 min.....	49
Serie Fotográfica 13. Síntesis de NP's Ag por microondas 30 s. ....	50
Serie Fotográfica 14. Síntesis de NP's Ag por microondas 60 s. ....	51
Serie Fotográfica 15. Síntesis de NP's Ag por microondas 90 s. ....	52
Serie Fotográfica 16. Síntesis de NP's Au por microondas durante 30, 60 y 90 s. : Antes y después de tratamiento. ....	60

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de la menta negra. ....	2
Tabla 2. Compuestos químicos presentes en el aceite esencial .....	3
Tabla 3. Flavonoides presentes en menta negra .....	4
Tabla 4. Empresas líderes en nanotecnología que cotizan en la bolsa. ....	8
Tabla 5. Preparación de los sistemas de la tribu <i>Menthae</i> . ....	12
Tabla 6. Preparación de los sistemas de menta negra.....	13
Tabla 7. Preparación de los sistemas de menta negra (Vivero San Luis Tlaxialtemalco).....	16
Tabla 8. Aplicación de las muestra para TLC. ....	19
Tabla 9. Sistemas para la curva de polifenoles. ....	19
Tabla 10. Primera dilución de Anfotericina B.....	20
Tabla 11. Diluciones del stock de Gentamicina.....	21
Tabla 12. Diluciones del stock de NP's Ag y NP's Au. ....	22
Tabla 13. Síntesis de nanopartículas de plata: Seguimiento por cambio de color. ....	26
Tabla 14. Comparación de las plantas para la síntesis de NP's Ag.....	28
Tabla 15. Comparación taxonómica entre romero y otras plantas medicinales comunes.....	28

Tabla 16. Resultados del certificado de identidad de menta negra. ....	33
Tabla 17. Resultados de tamizaje de la determinación del tamaño de partícula. ....	33
Tabla 18. Porcentaje de humedad del material vegetal (menta negra). ....	34
Tabla 19. Tamiz Fitoquímico del extracto acuoso de menta negra. ....	35
Tabla 20. Cantidad de material extraíble por calor convencional. ....	36
Tabla 21. Cantidad de material extraíble por microondas.....	37
Tabla 22. Cantidad de material extraíble por sonicación.....	37
Tabla 23. Cantidad de material extraíble a temperatura ambiente, microondas y sonicación sin cambio de disolvente. ....	37
Tabla 24. Datos obtenidos por Z-SIZER para cada método de síntesis. ....	53
Tabla 25. Análisis de Varianza para longitud de onda - Suma de Cuadrados Tipo III. ....	54
Tabla 26. Pruebas de Múltiple Rangos para longitud de onda por volumen ....	55
Tabla 27. Análisis de Varianza para absorbancia - Suma de Cuadrados Tipo III. ....	56
Tabla 28. Pruebas de Múltiple Rangos para absorbancia por volumen ....	56
Tabla 29. Pruebas de Múltiple Rangos para absorbancia por método.....	57
Tabla 30. Análisis de Varianza para tamaño - Suma de Cuadrados Tipo III. ....	57
Tabla 31. Pruebas de Múltiple Rangos para tamaño por tiempo ....	58
Tabla 32. Frecuencias identificadas en espectroscopia IR del extracto de <i>Mentha x piperita</i> L. ....	66
Tabla 33. Frecuencias identificadas en espectroscopia IR del AgNO <sub>3</sub> .....	67
Tabla 34. Frecuencias identificadas en espectroscopia IR del NP's Ag.....	67
Tabla 35. Frecuencias identificadas en espectroscopia IR del sobrenadante de NP's Ag. ....	69
Tabla 36. Frecuencias identificadas en espectroscopia IR de NP's Au.....	69
Tabla 37. Frecuencias identificadas en espectroscopia IR del sobrenadante de sobrenadante NP's Au. ....	70
Tabla 38. Efecto de las nanopartículas de plata (Ag) en los microorganismos.....	75
Tabla 39. Concentración mínima inhibitoria (MIC). ....	76
Tabla 40. Concentraciones mínimas microbicidas. ....	76
Tabla 41. Efecto de las nanopartículas de Oro (Au) en los microorganismos.....	78
Tabla 42. Tamaño de partícula e índice de polidispersión de NP's Ag por microondas ....	103
Tabla 43. Tamaño de partícula e índice de polidispersión de NP's Ag por sonicación ....	104
Tabla 44. Tamaño de partícula e índice de polidispersión de NP's Ag por baño María.....	105
Tabla 45. Tamaño de partícula e índice de polidispersión de NP's Ag a infusión.....	106
Tabla 46. Tabla de Medias por Mínimos cuadrados para longitud de onda ....	138
Tabla 47. Pruebas de Múltiple Rangos para longitud de onda por método ....	138
Tabla 48. Pruebas de Múltiple Rangos para longitud de onda por tiempo ....	139
Tabla 49. Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para absorbancia ....	139
Tabla 50. Pruebas de Múltiple Rangos para absorbancia por tiempo ....	140
Tabla 51. Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para tamaño ....	140
Tabla 52. Pruebas de Múltiple Rangos para tamaño por método.....	141
Tabla 53. Pruebas de Múltiple Rangos para tamaño por volumen.....	141



# 1 INTRODUCCIÓN

En los últimos años, ha habido un aumento en las investigaciones referentes a la síntesis de nanopartículas debido a sus aplicaciones en algunos campos de la industria, como el de los sistemas de almacenamiento electrónico, la biotecnología, separación magnética y pre-concentración de los analitos de interés; una de las aplicaciones está dirigida principalmente en la administración de fármacos y vehículos para el gen (Mody, Siwale, Singh, & Mody, 2010).

Las nanopartículas tienen un rango de dimensión de 1 a 100 nm por lo que adquieren propiedades fisicoquímicas, químicas y biológicas únicas. Estas pueden entrar al cuerpo por inhalación, por inyección al torrente sanguíneo y por difusión a través de la piel. La toxicidad de las nanopartículas ha sido estudiada por un gran número de estudios tanto *in vitro* como *in vivo*; así mismo, la interacción de las nanopartículas con el medio ambiente puede depender de: su tamaño, composición química, propiedades de superficie, solubilidad, comportamiento de agregación, biocinética, etcétera (Jamuna & RaVishankar, 2014).

Muchos de los elementos metálicos y metaloides son capaces de formar estructuras a escala nanométrica. Algunas de las nanopartículas más conocidas, que actualmente se investigan incluyen las basadas en plata, que son conocidos por sus propiedades anti-microbianas y anti-inflamatorias (Edmundson, Capeness, & Horsfall, 2014).

Las nanopartículas de plata son materiales importantes que se han estudiado ampliamente. Este tipo de material se puede sintetizar por varios métodos físicos, químicos y biológicos. Aunque los métodos químicos y físicos existentes han dado buenos resultados, estos procesos generalmente son costosos e implican el uso de productos químicos tóxicos. Además, la síntesis de nanopartículas de plata utilizando métodos químicos, puede dar lugar a la presencia de algunas especies químicas tóxicas que se absorben o retienen sobre la superficie de las nanopartículas, dando lugar a efectos adversos en sus aplicaciones (Yang & Li, 2013).

Hoy en día, estos materiales pueden ser sintetizados y modificados usando diferentes grupos químicos funcionales, lo que les permite ser conjugados con anticuerpos, ligandos, y fármacos de interés, abriendo así una amplia gama de aplicaciones potenciales (Mody, Siwale, Singh, & Mody, 2010).

En los últimos años, se ha buscado que todo proceso químico sea, en primer lugar económico y compatible con el medio ambiente. Es por ello, que se busca desarrollar métodos sostenibles para la síntesis de nanopartículas, ya que su aplicación en el área de la salud, bien podría tener un papel importante como materiales antibacterianos, antioxidantes e incluso antitumorales (Dubey, Lahtinen, & Sillanpää, 2010).

## 2 MARCO TEÓRICO

### 2.1 MATERIA PRIMA VEGETAL

**Nombre:** Menta negra

**Sinonimia popular:**

**Español:** Hierba buena, hierbabuena china, hierbabuena de menta, hierbabuena de olor, malva, menta, menta inglesa, yerbabuena. Estado de México: *chits-aná* (mazahua); Guerrero: *kallowena* (náhuatl); Oaxaca: *ujts aay* (UNAM, 2009).

**Portugués:** Hortelã - pimenta (Alonso, 2007).

**Inglés:** Peppermint, mint (Alonso, 2007).

**Otros:** Menthe poivrée (Francés), Pfeffermint (Alemán), menta, menta piperita (Italiano) (Alonso, 2007).

**Nombre científico:** *Mentha x piperita* L.

### 2.2 TAXONOMÍA

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de la menta negra.

CATEGORÍA TAXONÓMICA	NOMBRE
Reino	<i>Plantae</i>
DiVisión	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Familia	<i>Lamiaceae (Labiatae)</i>
Género	<i>Mentha</i>
Especie	<i>Mentha x piperita</i> L.

Fuente: (Hoffmann, 2003)

#### 2.2.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Planta aromática, perenne, perteneciente a la familia de las lamiáceas (labiadas), cuya altura oscila entre 30-100 cm. Su tallo cuadrangular, es suavemente piloso y parcialmente ramificado en su parte superior. Las hojas, de color verde a verde púrpura, son pecioladas, dentadas y de forma ovoidal, midiendo entre 4-8 cm de largo por 1-2.5 cm de ancho. El envés presenta un gran número de glándulas puntiformes, fácilmente apreciables a contraluz. Las flores, de color lila (ocasionalmente blancas), miden unos 8 mm de largo y crecen desde fines del verano hasta mediados del otoño. Esta planta es un híbrido entre *Mentha aquatica* y *Mentha spicata*. Las semillas tienen muy poco poder germinativo debido a su carácter híbrido, pudiendo dar lugar a plantas de características diferentes entre sí (Alonso, 2007).

#### 2.2.2 HÁBITAT

Planta originaria de las zonas templadas del hemisferio norte, Europa, África del Norte y China. Actualmente, la menta piperita se encuentra distribuida, naturalizada y cultivada en todos los continentes, desarrollándose en climas templados hasta 1500 metros de altitud. Crece espontáneamente en terrenos baldíos, terraplenes, escombros y parques, sobre suelos humíferos (tierra negra). Es una planta ampliamente cultivada en huertos familiares y adaptados a diferentes condiciones climáticas y ecológicas (Alonso, 2007) y (UNAM, 2009).

### 2.2.3 USOS

Aunque son múltiples y variados los usos medicinales que se le atribuyen a la menta, la mayoría de ellos están destinados a resolver desórdenes de tipo digestivo como: acidez estomacal o agruras, bilis, infección intestinal, gastritis y mal de estómago, por mencionar algunos. Sin embargo, en Jalisco, Veracruz, Morelos, Michoacán, Estado de México, Oaxaca y Tlaxcala, es utilizada principalmente para la diarrea (UNAM, 2009).

### 2.2.4 PARTES UTILIZADAS

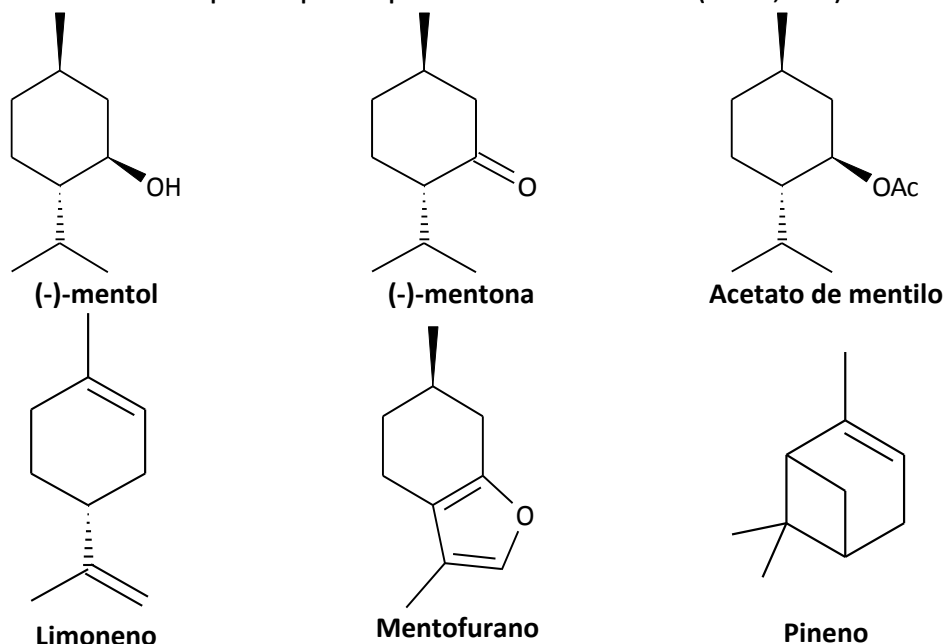
La droga está constituida por las hojas desecadas, enteras o cortadas. Secundariamente se emplean los tallos o sumidades floridas. El olor es fuertemente aromático y característico, con sabor especiado-picante y sensación de enfriamiento (UNAM, 2009).

### 2.2.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA

#### 2.2.5.1 ACEITE ESENCIAL

En la Tabla 2 se presentan los compuestos reportados en el aceite esencial de la menta.

Tabla 2. Compuestos químicos presentes en el aceite esencial (Alonso, 2007).

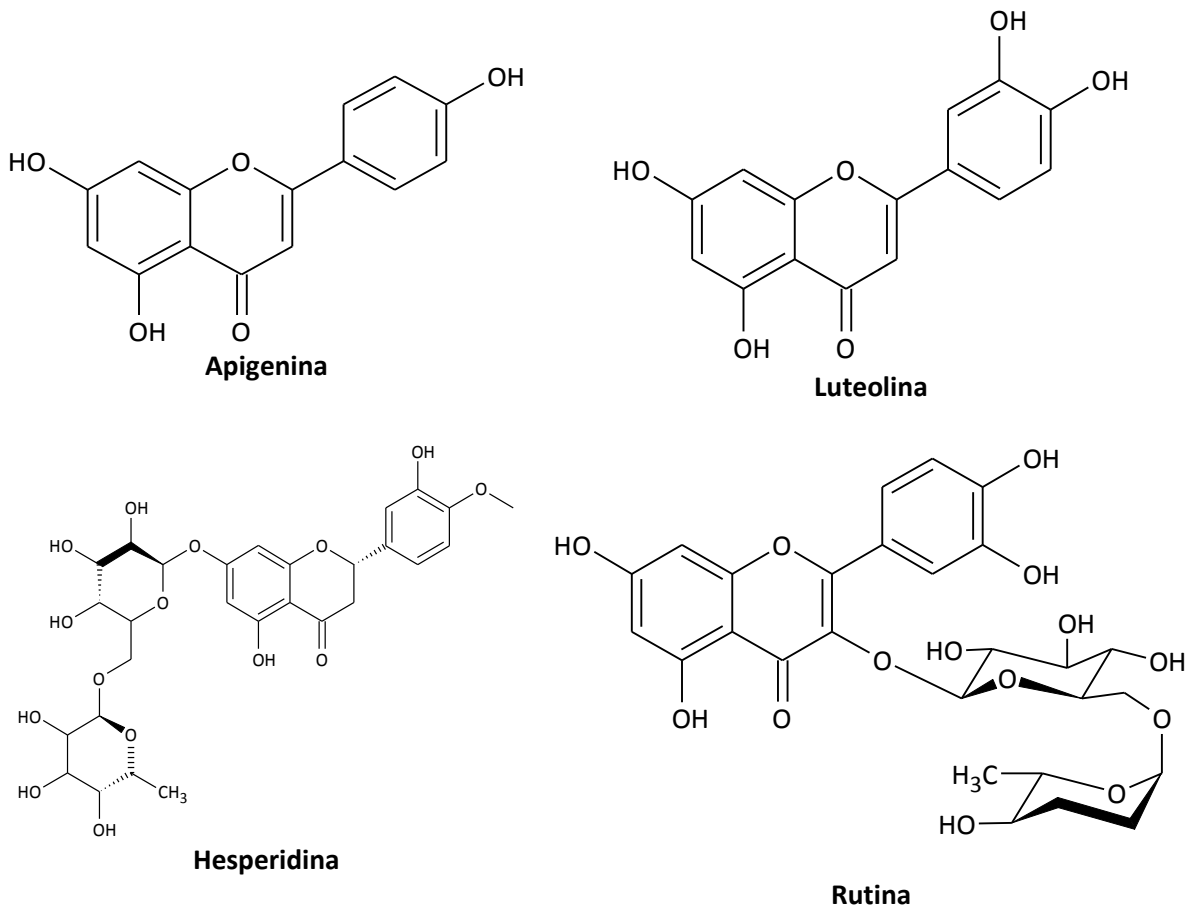


Se tendrá en cuenta que el contenido en aceites esenciales puede modificarse según la especie, la edad de la hoja y las horas de insolación a la que la planta estuvo expuesta (UNAM, 2009).

#### 2.2.5.2 FLAVONOIDES

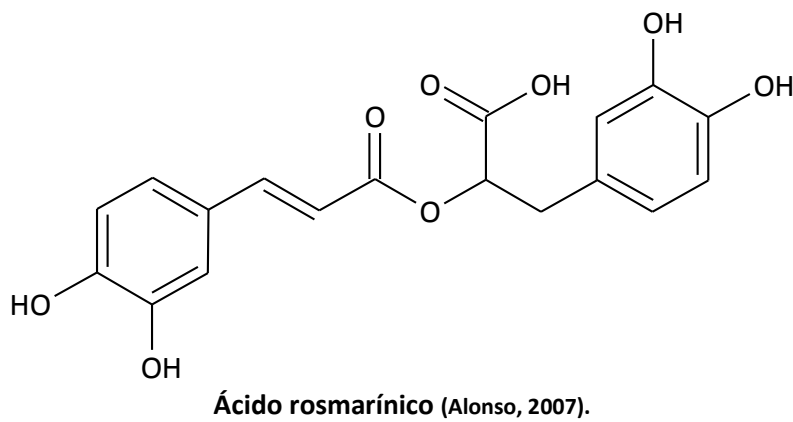
La cantidad de flavonoides reportado es del 12 % los cuales se muestran principalmente en la Tabla 3.

Tabla 3. Flavonoides presentes en menta negra (Alonso, 2007).



### 2.2.5.3 OTROS

Taninos (6-12%), principio amargo, triterpenos (ácido ursólico, ácido oleanílico), ácidos fenólicos, ácido rosmarínico (3% del peso seco), derivados hidroxycinámicos, colina, azúcares (glucosa, ramnosa), etc.



## 2.3 NANOTECNOLOGÍA

### 2.3.1 ANTECEDENTE Y DEFINICIÓN

La nanotecnología literalmente significa cualquier tecnología a nanoescala que tiene aplicaciones en el mundo real. La nanotecnología abarca la producción y aplicación de física, química, y los sistemas biológicos en escalas que van desde los átomos o moléculas, así como la integración de las nanoestructuras resultantes en sistemas más grandes. La nanotecnología tiene un profundo impacto en nuestra economía y sociedad. Algunas de las principales áreas donde se prometen avances son por ejemplo: en los materiales y su fabricación, en la nanoelectrónica, en medicina y salud, en energía, en biotecnología, en la tecnología de la información y la seguridad nacional. Se considera en general que la nanotecnología ya es una revolución industrial (Bhushan, 2010).

Las características a escala nanométrica dependen principalmente de sus constituyentes elementales. La definición de una nanopartícula es un agregado de átomos unidos juntos con un radio de entre 1 a 100 nm. Por lo general se compone de 10 a  $10^5$  átomos (Bhushan, 2010).

### 2.3.2 CARACTERÍSTICAS

El descubrimiento de nuevos materiales, procesos y fenómenos en la nanoescala, marcaron la necesidad del desarrollo de nuevas técnicas experimentales y teóricas para la investigación dando oportunidades para el desarrollo de nanosistemas innovadores y materiales nanoestructurados. Las propiedades de los materiales en la nanoescala pueden ser muy diferentes de las que se tiene a una escala mayor. Cuando la dimensión de un material se reduce de un tamaño grande, las propiedades siguen siendo los mismos al principio, luego se producen pequeños cambios, hasta que finalmente cuando el tamaño cae por debajo de 100 nm, se pueden producir cambios dramáticos en las propiedades físicas, químicas, ópticas y mecánicas (Bhushan, 2010). En la Ilustración 1 se muestra una perspectiva del tamaño mencionado anteriormente, que va desde un átomo hasta un cabello humano.

### 2.3.3 APLICACIÓN

El carácter interdisciplinario de la nanotecnología se debe a su complejidad; áreas como la física y química tienen un papel trascendental para la síntesis de estos materiales con la configuración electrónica deseada; biología molecular, bioquímica, electrónica, informática, matemáticas y medicina participan de igual manera para su aplicación (López Georme, 2011).

#### 2.3.3.1 NANOMEDICINA

La aplicación de la nanotecnología en medicina es llamada nanomedicina y es empleada para mejorar la calidad de vida de los seres humanos, combatiendo las enfermedades de una forma innovadora (López Georme, 2011); por ejemplo, contra enfermedades como el cáncer, inflamación de intestino, artritis reumatoide, enfermedades cardiovasculares, infecciones causadas por patógenos, diabetes mellitus, entre otras (Danhier et al., 2012).



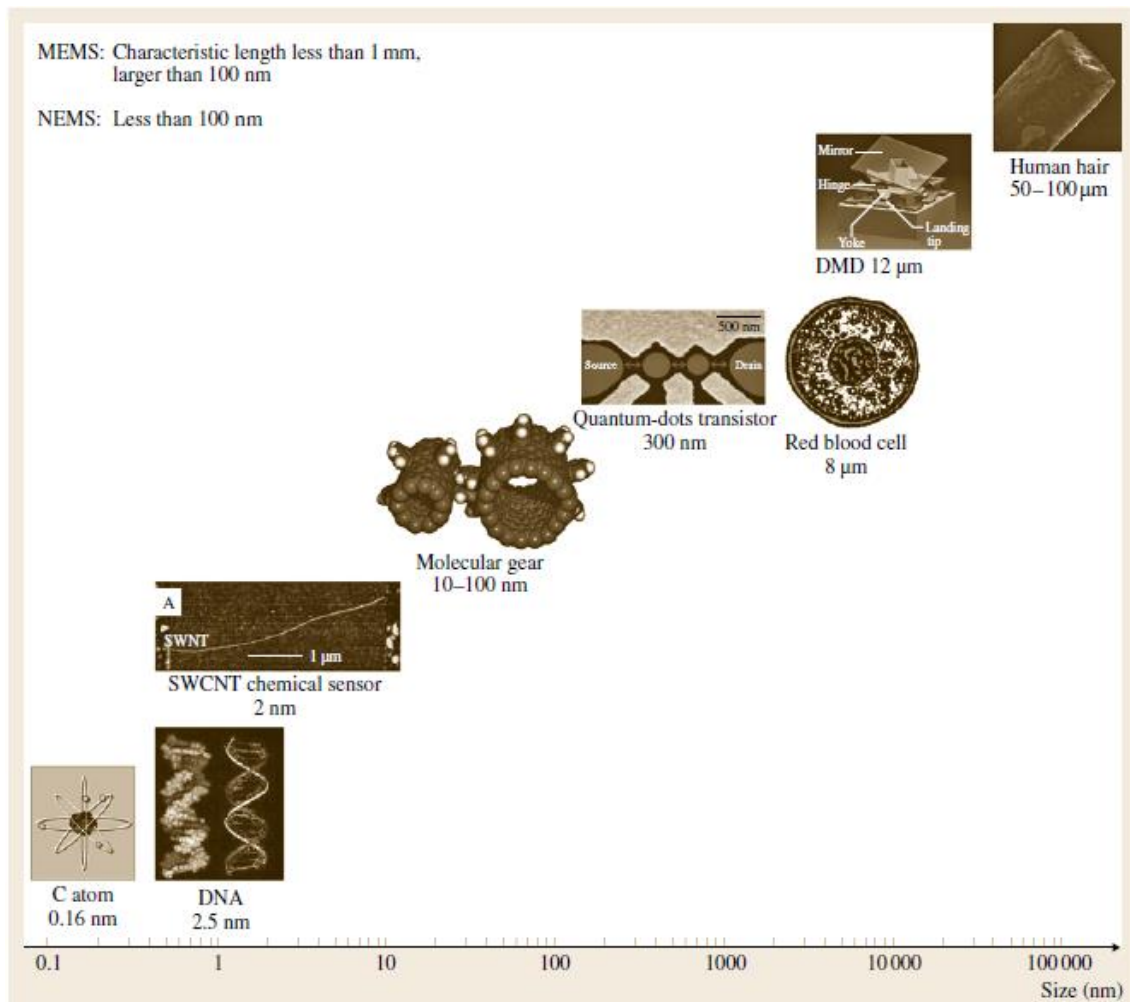


Ilustración 1. Dimensiones en perspectiva (Bhushan, 2010).

### 2.3.3.2 VACUNAS

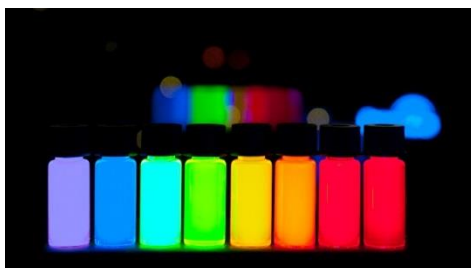
Los fabricantes de vacunas han estado experimentando con las nanopartículas como forma de “carga de turbo” para las vacunas durante varios años. En 2007, investigadores de la Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL) reportaron, en *Nature Biotechnology*, el desarrollo de unas nanopartículas que ofrecen vacunas más eficaces y con menos efectos secundarios (López Georme, 2011).

### 2.3.3.3 NANOBIOSENSORES

En diagnóstico bioquímico, el primer dispositivo portátil con componentes nanométricos que se desarrolló para la medición de glucosa en sangre, fue el glucómetro portátil, que revolucionó el sistema de salud, dado que permitió predecir rápidamente los niveles de azúcar en enfermos de diabetes. Los nanobiosensores pueden reconocer la presencia, actividad o concentración de una molécula biológica y son una herramienta esencial en el diagnóstico *in vitro* de muchos padecimientos (López Georme, 2011).

#### 2.3.3.4 PUNTOS CUÁNTICOS

Los puntos cuánticos son estructuras cristalinas a nanoescala (de 2 a 10 nm), formadas por unos cientos de átomos con propiedades semiconductoras. Se considera que el punto cuántico tiene una mayor flexibilidad que otros materiales fluorescentes (véase Ilustración 2), lo que lo hace apropiado para aplicaciones a nanoescala donde la luz es utilizada para procesar información. Se podría definir como una partícula de materia tan pequeña que la adición de un único electrón produce cambios en sus propiedades (López Georme, 2011).



**Ilustración 2. Puntos cuánticos irradiados con luz UV. Diferentes tamaños de puntos cuánticos emiten diferente color.**

Los puntos cuánticos son diminutos cristales de semiconductores, que producen mejores colores y son los responsables de la gran revolución en la iluminación LED. De esta manera, se ejemplificaría que un punto cuántico de 2 nm de diámetro emitirá una luz azul; otro de 4 nm emitirá luz verde, y uno de 6 nm emitirá luz roja (López Georme, 2011).

#### 2.3.3.5 LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS

Una de las más grandes ventajas de los nanomateriales es el tamaño de las partículas, porque con la *miniaturización* aumenta la superficie de contacto y por lo tanto, la reactividad de los elementos que los constituyen. Esta aplicación radica en la obtención de bionanomateriales orgánicos o cerámicos “bajo diseño”, que sirven como vector de medicinas para su liberación local y controlada en el sitio dañado, ya sea por el tipo de carga en la superficie del material o por reconocimiento celular utilizando biomoléculas (López Georme, 2011).

#### 2.3.3.6 NANOTECNOLOGÍA Y LA INDUSTRIA

La ciencia, la tecnología y la industria deben perseguir un objetivo común para que la nanotecnología avance (véase Tabla 4) (López Georme, 2011).

### 2.4 PLASMÓN DE SUPERFICIE

Los atributos ópticos más interesantes de las nanopartículas metálicas, se ve reflejado en sus intensos colores brillantes, que se deben a su interacción única con la luz. En presencia del campo electromagnético de la luz, los electrones libres de la nanopartícula metálica se someten a una oscilación coherente colectiva con respecto a la celosía metálica (véase Ilustración 3) (Jain, Huang, El-Sayed, & El-Sayed, 2008).

Tabla 4. Empresas líderes en nanotecnología que cotizan en la bolsa.

EMPRESA	SÍMBOLO COTIZACIÓN	ÁREA	PRODUCTOS	COMPONENTES
IBM	IBM	Computación	Chips, nanotubos.	Mayor almacenaje, nanotubos de carbono.
Intel	INTC	Computación	Polaris (microprocesador y Teraflops), chips.	Nanotubos de carbono.
L'Oreal	LRLCY	Cosmética	Lancôme	Vitamina E. Nanocápsulas.
Veeco Instruments	VECO	Instrumentos y aparatos	Microscopios de fuerza atómica y fotolitografía de avanzada.	Microscopios más precisos que permiten mapear las propiedades mecánicas de muchos materiales a nanoescala.
Flamel Technologies Inc.	FLML	Medicina	Basulin (para la insulina), Medusa.	Nanoportadores para transportar proteínas. Hacen que el medicamento tenga una eficiencia más duradera.
Gap	GPS	Ropa	Camisas, pantalones y trajes de baño.	Resisten agua, torceduras, estiramientos.

Michel Faraday fue el primero en demostrar que las partículas de metal pueden ser muchas veces más pequeñas que la longitud de onda de la luz; sin embargo, los sistemas pueden absorber y dispersar la fuerza de la luz, ocasionando que incluso las soluciones diluidas exhiben colores brillantes (Faraday, n.d.). Faraday aprendió que la oscilación colectiva de los electrones de conducción dentro de las partículas de metal permite la dispersión y la absorción de la luz a una frecuencia particular, dándoles color (en el caso de la plata y el oro). Este fenómeno observado por Faraday recibió el nombre de plasmón de superficie a finales de los años 50's por el físico Rufus Ritchie quien lo describe como una oscilación colectiva de los electrones de conducción sobre una superficie laminar (Ritchie, 1957)

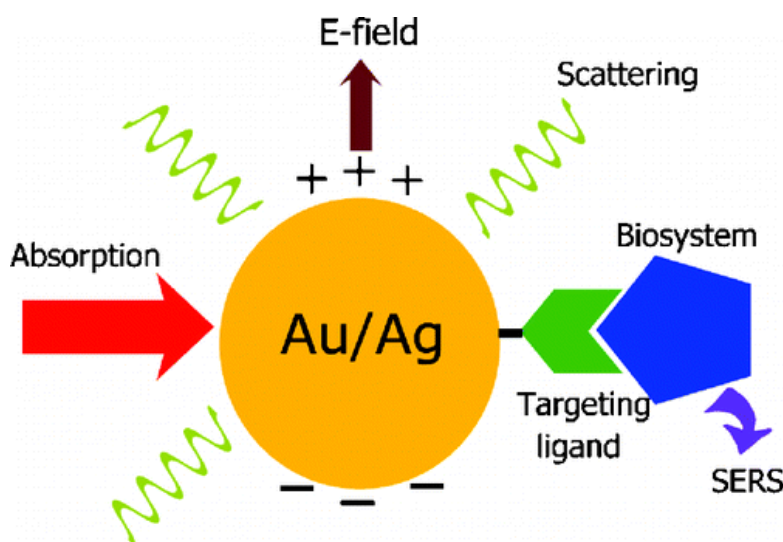


Ilustración 3. La mejora en las propiedades ópticas y fototérmicos de nanopartículas de metales nobles surge de la oscilación resonante de sus electrones libres en presencia de luz, también conocido como resonancia de plasmón de superficie localizada (Jain et al., 2008).

La *superficie* indica la polarización de cargas superficiales resultantes de las oscilaciones de electrones colectivos, y *plasmón* es en analogía a las oscilaciones de electrones colectivos dentro de plasma gaseoso (Kreibig, U., Vollmer, 1995). Es por ello que cuando el sistema es excitado por la luz, las cargas características inducen en la superficie plasmones que pueden propagarse como una onda electromagnética a lo largo de la superficie del metal. Las cargas oscilantes también pueden ser confinadas y mejoradas en la superficie de una nanopartícula, en cuyo caso se llama resonancia de plasmón de superficie localizada (LSPR) (Wiley et al., 2006).

## 3 OBJETIVOS

### 3.1 OBJETIVO GENERAL

- Sintetizar nanopartículas de plata empleando un método de síntesis alternativo y principalmente ecológico, con el propósito de poder emplearlas en los diferentes sectores de la industria e investigación, gracias a la estructura, tamaño y morfología que estas adquieran.

### 3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Seleccionar la especie vegetal adecuada dentro de un conjunto de ejemplares que sean popularmente empleadas (dentro de la medicina tradicional mexicana) en el tratamiento de enfermedades causadas por organismos patógenos, utilizando el extracto acuoso de cada una de las plantas medicinales en la formación de nanopartículas de plata por medio de ensayo y error.
- Identificar la taxonomía de la planta seleccionada por medio de los servicios de una institución que avale y proporcione un certificado de identificación, con el fin de respaldar el trabajo de tesis. Para ello se proporcionarán los datos de día de recolección de la especie vegetal, la localidad y estado donde se encuentra, las coordenadas geográficas y altitud, y por último el nombre de la persona que llevó a cabo la recolección.
- Determinar y optimizar el método de obtención del extracto acuoso vegetal por medio de la observación y evaluación del daño morfológico causado en la materia sólida, utilizando diferentes fuentes de calor de bajo costo energético. La finalidad es poder aprovechar al máximo los compuestos químicos que las plantas medicinales contienen, y que se adquieren en una solución acuosa.
- Determinar y optimizar el método de síntesis de nanopartículas de plata empleando un análisis estadístico, utilizando las respuestas de las variables que influyen en la formación de estas en cada una de las diferentes fuentes de calor que se empleen. La realización de este punto ayudará en poder tener un método de síntesis que sea bueno dentro de los términos de la “Química Verde”.
- Caracterizar las nanopartículas de plata por medio de técnicas físico-químicas como son: Microscopía Electrónica de Barrido (MED), Dispersión Dinámica de la Luz y Espectroscopia Infrarroja.
- Evaluar la bioactividad de las nanopartículas obtenidas mediante un ensayo primario y un ensayo especializado. Esto ayudará a determinar las posibles y potenciales aplicaciones dentro las áreas (en el rubro de la salud, de forma general) para su uso dentro de una perspectiva que ayude a la población.

## 4 METODOLOGÍA

### 4.1 SELECCIÓN DE LA MATERIA PRIMA VEGETAL

El primer criterio para la selección de la materia prima fue: familia, actividad antibacteriana y uso común en la medicina tradicional mexicana. La materia prima fue la siguiente:

- Epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.)
- Jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe)
- Orégano (*Lippia graveolens* Kunth)
- Romero (*Rosmarinus officinalis*)
- Toronjil azul (*Dracocephalum moldavica*)
- Toronjil blanco (*Agastache mexicana* subsp. *xolocotziana*)
- Toronjil morado (*Agastache mexicana*)

El segundo criterio para la elección de la materia prima fue: taxonomía

- Menta blanca (*Mentha x piperita* L.)<sup>1</sup>
- Menta negra (*Mentha x piperita* L.)
- Poleo (*Mentha pulegium* L.)

#### 4.1.1 DESECACIÓN NATURAL A LA SOMBRA

El material vegetal se desecó a la sombra protegido del polvo y la luz. El orégano, romero y la menta blanca se adquirieron secos. El jengibre se utilizó fresco.

MATERIA VEGETAL	TRATAMIENTO	PARTE UTILIZADA
Epazote	Desecación	Hojas
Jengibre	(Fresco)	Rizoma
Menta blanca	-	Hojas
Menta negra	Desecación	Hojas
Orégano	-	Hojas
Poleo	Desecación	Hojas
Romero	-	Hojas
Toronjil azul	Desecación	Hojas
Toronjil blanco	Desecación	Hojas
Toronjil morado	Desecación	Hojas

#### 4.1.2 PREPARACIÓN DE EXTRACTO POR INFUSIÓN

Se pesó 10 g de materia vegetal. Se añadieron 100 mL de agua desionizada llevada previamente a ebullición. Se dejó enfriar el extracto a infusión y se centrifugó a 2500 rpm.

<sup>1</sup> El nombre científico no hace distinción entre las variedades de menta negra y menta blanca. Sin embargo, ambas plantas presentan características físicas diferentes.

#### 4.1.3 PREPARACIÓN DE $\text{AgNO}_3$ $1 \times 10^{-3}$ M

Se utilizó el reactivo de nitrato de plata  $\text{AgNO}_3$  marca Sigma-Aldrich. Para la preparación de la solución véase Anexo A.

#### 4.1.4 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA: SEGUIMIENTO POR CAMBIO DE COLOR

Se tomaron 5 mL de extracto al 10% y 45 mL de  $\text{AgNO}_3$   $1 \times 10^{-3}$  M, se registró la hora de la preparación, y se monitoreó el sistema durante 24 h. Los cambios de coloración fueron registrados.

Las plantas que no tuvieron una respuesta esperada en la coloración fueron descartadas.

#### 4.1.5 OBTENCIÓN DE LOS ESPECTROS POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA-VISIBLE

Se agregaron 3 mL de extracto al 10% y 22 mL  $\text{AgNO}_3$   $1 \times 10^{-3}$  M. Media hora después se estableció un rango de longitud de onda de 350 a 800 nm, en el espectrofotómetro Beckman-Coulter DU 800.

El sistema “blanco” utilizado fue agua desionizada; esto aplica para todas las pruebas por espectrofotometría UV-Vis.

Las plantas que no tuvieron respuesta esperada en la banda de absorción fueron descartadas.

#### 4.1.6 OBTENCIÓN DE BARRIDOS DE LA TRIBU *MENTHEAE* Y COMPARACIÓN TAXONÓMICA

La preparación de los sistemas se llevó a cabo como lo indica la Tabla 5

**Tabla 5. Preparación de los sistemas de la tribu *Menthae*.**

Sistema	mL de Extracto 10%	mL de $\text{AgNO}_3$ $1 \times 10^{-3}$ M
1	1	49
2	2	48
3	3	47
4	4	46
5	5	45

Los espectros se realizaron en un rango de 350-800 nm, para lo cual se utilizó el espectrofotómetro Beckman-Coulter DU 800. Estos se realizaron al minuto 0, 5, 10, 15, 30, 60, y 24 horas después de cada sistema.

Las plantas que no tuvieron una respuesta esperada en la banda de absorción (430 a 450 nm) fueron descartadas.

#### 4.1.7 COMPARACIÓN DE MENTA NEGRA POR LUGAR GEOGRÁFICO

Como lo indica la Tabla 6, se prepararon los siguientes sistemas, utilizando el extracto acuoso al 10% de menta negra de las localidades de mercado de Sonora, mercado del centro de Xochimilco y del Vivero de San Luis Tlaxialtemalco:

Tabla 6. Preparación de los sistemas de menta negra.

Sistema	mL de Extracto 10%	mL de AgNO <sub>3</sub> 1 x 10 <sup>-3</sup> M
1	1	49
2	2	48
3	3	47
4	4	46
5	5	45

Los espectros se realizaron en un rango de 350-800 nm, para lo cual se utilizó el espectrofotómetro Beckman-Coulter DU 800. Estos se realizaron al minuto 0, 5, 10, 15, 30, 60, y 24 horas después de cada sistema.

Una vez seleccionada la materia prima vegetal para el estudio, se procedió con la siguiente metodología.

## 4.2 EXTRACTO Y MARCO

### 4.2.1 HERBORIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

La especie seleccionada se herborizó y posteriormente se mandó a identificación botánica en el Herbario Etnobotánico IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM.

### 4.2.2 DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA ÓPTIMO

Se colocó el material vegetal (menta negra, adquirida en el vivero) en la picadora (Picadora clásica 1, 2, 3 Moulinex). Se trituró por un período de 2 minutos, en intervalos de 30 segundos.

El tamizado se realizó conforme a lo establecido en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (2013). Se pesó una muestra de 100 g de menta negra.

### 4.2.3 PORCENTAJE DE HUMEDAD

Se pesó 1 g del material vegetal triturado el cual se colocó sobre la termobalanza (100° C) durante un período de 10 minutos y se registró el porcentaje de humedad de la materia vegetal.

### 4.2.4 ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

El extracto de menta negra se sometió a un proceso de tamiz fitoquímico, para describir de manera cualitativa los grupos fitoquímicos presentes en el mismo (Barba, 1997) (Lastra & Cuéllar, 1994).

Del extracto a evaluar, se pesó 2.5 g del material vegetal triturado y se agregaron 50 mL de agua desionizada previamente llevada a ebullición, el extracto se dejó enfriar a temperatura ambiente para obtener una infusión y posteriormente se centrifugó a 2500 rpm. Se realizaron las pruebas correspondientes de acuerdo al APÉNDICE A y al Diagrama 1.

Los resultados obtenidos se registraron como: abundante (+++), moderado (++) , escaso (+) y negativo (-) (Domínguez, 1998).



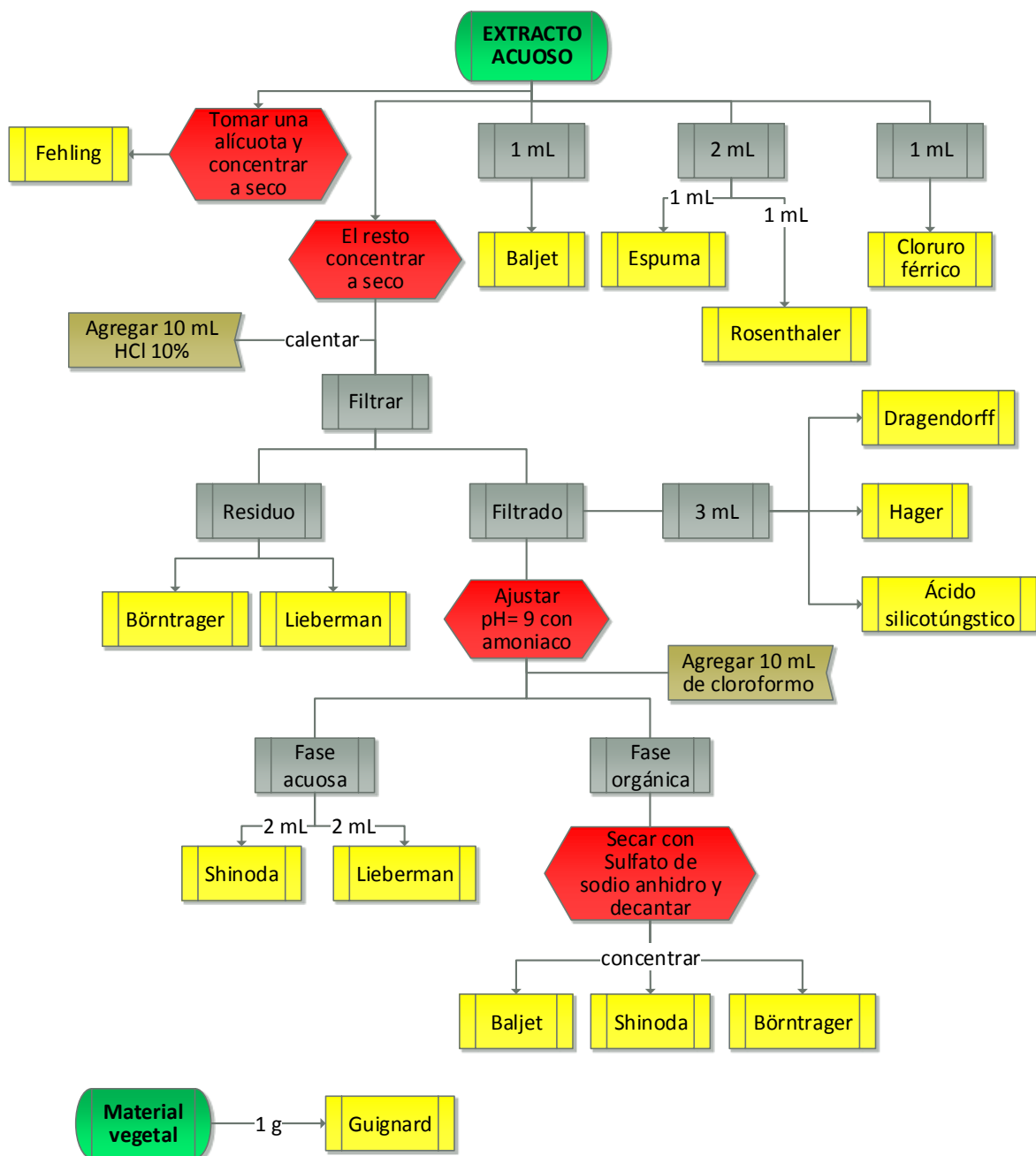


Diagrama 1. Tamizaje fitoquímico (Camacho, Morales, Sánchez, Velázquez & Ángeles; en revisión).

#### 4.2.5 CANTIDAD DE MATERIAL EXTRAÍBLE

##### 4.2.5.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO POR INFUSIÓN

Se pesó 0.5 g del material vegetal (malla 50) en un matraz Erlenmeyer de 125 mL y se agregaron a este, 40 mL de agua desionizada previamente llevada a ebullición, se cubrió el matraz. Se dejó enfriar el extracto a temperatura ambiente y posteriormente se filtró. El material vegetal se utilizó para realizar una segunda extracción por infusión, el filtrado se colocó en una caja Petri (previamente pesada).

Lo anterior se realizó para obtener cinco filtrados. Posteriormente fueron colocados en la estufa a 40° C durante 24 h, una vez secos se registró el peso de cada caja Petri. Por cada extracción se tomó una muestra del marco vegetal para realizar un análisis por microscopia electrónica de barrido.

#### *4.2.5.2 EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS*

Se pesó 0.5 g del material vegetal (malla 50) en un vaso de precipitados de 100 mL y se adicionaron 40 mL de agua desionizada, el vaso se cubrió con un vidrio de reloj. Posteriormente se colocó dentro de un frasco de vidrio el cual contenía hielo y se introdujo en el horno de microondas (marca GE, modelo JES1142SJ) a nivel 110 watts de potencia durante periodos de 20 segundos, en los cuales se controló que la temperatura del extracto fuera menor a 40° C utilizando un termómetro de mercurio, hasta completar un minuto de calentamiento. Pasado el minuto, se filtró el extracto y se realizó una segunda extracción; el filtrado se colocó en una caja Petri previamente pesada.

El procedimiento anterior se repitió hasta obtener cinco filtrados, estos se secaron a 40° C en la estufa durante 24 h, una vez secos se registró el peso de cada caja.

Por cada extracción se tomó una muestra del marco vegetal para realizar un análisis por microscopia electrónica de barrido.

#### *4.2.5.3 EXTRACCIÓN ASISTIDA POR SONICACIÓN*

Para la preparación del extracto por infusión se pesaron 0.5 g del material vegetal (malla 50), y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 125 mL, así mismo se adicionaron 40 mL de agua desionizada, el matraz se tapó y se introdujo en el sonicador (TRANSSONIC 570) durante un minuto a una temperatura de 25° C; pasado el minuto, se filtró el extracto y el filtrado se colocó en una caja Petri (previamente pesada); con el material vegetal se realizó una segunda extracción, lo anterior se llevó a cabo hasta completar un tiempo de 8 minutos.

Los filtrados se secaron en la estufa a 40° C durante 24 h, una vez secos se registró el peso de cada caja.

Por cada extracción se tomó una muestra del marco vegetal para realizar un análisis por microscopia electrónica de barrido.

#### *4.2.5.4 PREPARACIÓN DE EXTRACTO POR INFUSIÓN, MICROONDAS Y SONICACIÓN SIN CAMBIO DE DISOLVENTE.*

Se preparó el extracto por infusión, microondas y sonicación sin cambiar el disolvente; se filtró y colocó el filtrado en una caja Petri previamente pesada. El extracto se secó en la estufa y posteriormente registró el peso final de la caja.

#### **4.2.6 ANÁLISIS MORFOLÓGICO DEL MARCO POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO**

A los marcos obtenidos anteriormente se les realizó a Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), lo mismo se hizo con una muestra del material vegetal sin tratamiento.

### 4.3 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS

#### 4.3.1 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Para llevar a cabo la síntesis de nanopartículas de plata por cada método, se prepararon 5 sistemas, utilizando el extracto de menta negra al 5% con  $\text{AgNO}_3$   $1 \times 10^{-3}$  M como se muestra a continuación:

Tabla 7. Preparación de los sistemas de menta negra (Vivero San Luis Tlaxialtemalco).

Sistema	mL Extracto menta negra 5%	mL $\text{AgNO}_3$ $1 \times 10^{-3}$ M
1	1	49
2	2	48
3	3	47
4	4	46
5	5	45

##### 4.3.1.1 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS A TEMPERATURA AMBIENTE

Se prepararon los 5 sistemas y se realizaron barridos UV-Vis pasados los 1, 4 y 10 minutos.

##### 4.3.1.2 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS POR BAÑO MARÍA

Se prepararon los sistemas del 1 al 5 por triplicado, se realizó un barrido UV-Vis de los primeros 5 sistemas al minuto 1, los siguientes 5 al minuto 4 y los últimos sistemas al minuto 10. Se registró la temperatura final en cada uno de los tiempos establecidos.

##### 4.3.1.3 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS ASISTIDA POR SONICACIÓN

Utilizando el sonicador (TRANSSONIC 570), se prepararon los sistemas del 1 al 5 por triplicado, así mismo se realizó un barrido UV-Vis de los primeros 5 sistemas al minuto 1, los siguientes 5 al minuto 4 y los últimos cinco al minuto 10. Se registró la temperatura final en cada uno de los tiempos establecidos.

##### 4.3.1.4 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS ASISTIDA POR MICROONDAS

Para la síntesis de nanopartículas de plata, la potencia de trabajo del horno de microondas (marca GE, modelo JES1142SJ), fue de 550 watts. Se prepararon los sistemas del 1 al 5 por triplicado, y se realizó un barrido UV-Vis de los primeros 5 sistemas a 30 segundos, los siguientes 5 a 60 segundos y los últimos cinco a 90 segundos.

#### 4.3.2 TAMAÑO DE PARTÍCULA E ÍNDICE DE POLIDISPERSIÓN

Se tomó una alícuota de 1 mL de la solución obtenida de la de síntesis de NP's Ag de cada método y se colocó en una celda de poliestireno de 12 mm, la cual fue introducida en el Z-SIZER (marca Malvern, Nano-ZS90); los datos obtenidos (tamaño de partícula e índice de polidispersión) fueron registrados.

#### 4.3.3 DETERMINACIÓN Y ELECCIÓN DE MÉTODO DE SÍNTESIS ÓPTIMO PARA LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA POR ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un estudio estadístico multifactorial, usando el software STATGRAPHICS Centurion XVI Versión 16.1.03 para la determinación del impacto de los factores sobre la respuesta. El estudio se aplicó para la longitud de onda, absorbancia y tamaño.

#### 4.3.4 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO

Para llevar a cabo la síntesis de nanopartículas de oro por microondas, se prepararon 3 sistemas utilizando 0.3 mL de extracto de menta negra al 5% y 4.7 mL de  $\text{HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$   $1 \times 10^{-3}\text{M}$ , (véase Anexo A).

La potencia de trabajo del horno microondas (marca GE, modelo JES1142SJ), fue de 550 watts.

Se realizó un barrido UV-Vis del primer sistema a los 30 segundos, el siguiente a 60 segundos y el último sistema a 90 segundos.

#### 4.3.5 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA ASISTIDA POR MICROONDAS UTILIZADAS PARA ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Se preparó un extracto de menta negra al 5% utilizando el horno de microondas (110 watts, durante 3 minutos). Para ello, se pesó 1.25 g de menta y se añadieron 25 mL de agua desionizada, el extracto se centrifugó a 2500 rpm.

En un vaso de precipitados de 250 mL, se añadieron 12 mL de extracto y 188 mL de  $\text{AgNO}_3$   $1 \times 10^{-3}\text{M}$  y se introdujo en el horno de microondas a una potencia de 550 watts, durante 90 segundos.

#### 4.3.6 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO ASISTIDA POR MICROONDAS UTILIZADAS PARA ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Se preparó un extracto de menta negra al 5% utilizando el horno de microondas (110 watts, durante 3 minutos). Para ello, se pesó 0.75 g de menta y se añadieron 15 mL de agua desionizada, el extracto se centrifugó a 2500 rpm.

En un vaso de precipitados, se añadieron 6 mL de extracto y 94 mL de  $\text{HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$   $1 \times 10^{-3}\text{M}$  y se colocó en el horno de microondas a una potencia de 550 watts, durante 90 segundos.

#### 4.3.7 CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y ORO

##### 4.3.7.1 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)<sup>2</sup>

Para realizar la caracterización de las nanopartículas de plata y oro por MEB, estas se aislaron del medio acuoso, utilizando una ultracentrífuga (Óptima XL-100K, Beckman Coulter, rotor SW28) a 23000 rpm durante una hora 30 minutos a una temperatura de 4° C. Pasado el tiempo de centrifugación, se retiró el sobrenadante y la pastilla obtenida se re-suspendió con agua desionizada para retirar el exceso de extracto.

---

<sup>2</sup> La metodología de Microscopía Electrónica de Barrido fue realizada por el técnico Rodolfo Robles Gómez.

De la muestra obtenida finalmente, se tomó una gota la cual se colocó en un cubre objetos limpio y rotulado. Posteriormente fueron llevadas al Laboratorio de Microscopía Electrónica.

#### 4.3.7.2 TAMAÑO DE PARTÍCULA E ÍNDICE DE POLIDISPERSIÓN

Se llevó a cabo una determinación de tamaño de partícula e índice de polidispersión de las nanopartículas de plata y oro obtenidas para su uso en la prueba de actividad biológica, utilizando el Z-SIZER (marca Malvern, Nano-ZS90). Se tomó una alícuota de 1 mL de la solución de nanopartículas re-suspendidas.

#### 4.3.7.3 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

Se hizo un análisis por Espectroscopia Infrarroja con ATR de: extracto acuoso de menta negra, solución de AgNO<sub>3</sub>, nanopartículas de plata, nanopartículas de oro, y del sobrenadante obtenido del aislamiento de estas.

#### 4.3.8 CROMATOGRAFÍA

Se llevó a cabo una cromatografía de capa fina utilizando el equipo CAMAG Automatic TLC Sampler 4 (ATS4).

Los estándares utilizados fueron: rutina, hesperidina, apigenina, luteolina, kaempferol, miricetina, acetina e isorhamnetina de la marca Sigma-Aldrich. Se tomó una mínima cantidad de ellos y se disolvieron en metanol tibio. Se tomó un 1 mL del extracto acuoso de menta negra, así como una muestra del sobrenadante obtenido del aislamiento de las NP's Ag y NP's Au. Se utilizaron viales de 1 mL.

Así mismo, se recortó una placa de silica gel de dimensiones de 10 x 10 cm y se introdujo en el equipo. La aplicación de los estándares y del extracto se muestra en la Tabla 8.

Para la identificación de los estándares utilizados se empleó 15 mL del sistema de elución BAW<sup>3</sup> con las proporciones 5:4:5. La placa se colocó dentro de la cámara de elución de manera perpendicular a la base. Se dejó correr la fase móvil (sistema de elución) sobre la placa de silica gel (fase estacionaria) el tiempo necesario, procurando que el eluyente no llegara a la arista de la placa. Posteriormente la placa se retiró y se dejó secar.

Finalmente, a la placa se le aplicó por aspersión dos reveladores: Natural Products y polietilenglicol (NP/PEG No. 28), ambos de Sigma-Aldrich, la cual se dejó secar y se observó por luz UV.

---

<sup>3</sup> BAW: (B: n-butanol, A: ácido acético, W: agua).

Tabla 8. Aplicación de las muestra para TLC.

NÚMERO	POSICIÓN DE APLICACIÓN	VOLUMEN DE APLICACIÓN	COLUMNA RACK	FILA RACK	NOMBRE DE LA MUESTRA
1	9.0 mm	2.0 µL	B	1	Rutina
2	20.7 mm	2.0 µL	B	2	Apigenina
3	32.4 mm	2.0 µL	B	3	Kaempferol
4	44.1 mm	2.0 µL	B	4	Extracto acuoso de menta negra
5	55.8 mm	2.0 µL	B	5	Miricetina
6	67.5 mm	2.0 µL	B	6	Isorhamnetina
7	79.2 mm	2.0 µL	B	7	Sobrenadante de NP's Ag
8	90.9 mm	2.0 µL	B	8	Sobrenadante de NP's Au

#### 4.3.9 CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES EQUIVALENTES A RUTINA

Para llevar a cabo la cuantificación de polifenoles totales, se elaboró una curva de calibración, utilizando rutina como estándar, mediante la técnica de Folin-Denis (Silva, Gomes, Leitao, Coelho, & Boas, 2006). La preparación de los sistemas para la curva se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9. Sistemas para la curva de polifenoles.

SISTEMA	1	2	3	4	5	6	EXTRACTO 5%
STD (mg/mL)	0 µL	20 µL	40 µL	60 µL	80 µL	100 µL	15 µL
Reactivo Folin-Denis	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
<b>Reposo 5 minutos</b>							
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 20%	300 µL	300 µL	300 µL	300 µL	300 µL	300 µL	300 µL
<b>Reposo 2 horas</b>							
<b>Aforar a 10 mL</b>							

#### 4.4 ACTIVIDAD BIOLÓGICA<sup>4</sup>

##### 4.4.1 PREPARACIÓN DE ANTIMICROBIANOS NP'S Ag, NP'S Au, ANFOTERICINA B Y GENTAMICINA

##### 4.4.1.1 ANFOTERICINA B (ANTIFÚNGICO DE REFERENCIA)

Se pesaron 1.6 mg de Anfotericina B y se disolvieron en 10 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO).

De la solución anterior se llevaron a cabo una serie de diluciones con DMSO de Sigma-Aldrich. (Véase Tabla 10 e Ilustración 6). Por último, se realizó una dilución 1:50, añadiendo 4.9 mL de caldo Sabouraud (Ilustración 5).

<sup>4</sup> La Actividad Biológica se realizó por separado, es decir, primero se realizó la prueba con las nanopartículas de plata y posteriormente las de oro.

Tabla 10. Primera dilución de Anfotericina B.

TUBO	CONCENTRACIÓN (µg/mL)	VOLUMEN DE TRANSFERENCIA (mL)	A UN TUBO CON CALDO SABOURAUD (mL)	CONCENTRACIÓN RESULTANTE (µg/mL)	TUBO
n° 2	1 600	0.50	0.50	800	n°3
n°2	1 600	0.25	0.75	400	n°4
n°2	1 600	0.25	1.75	200	n°5
n°5	200	0.50	0.50	100	n°6
n°5	200	0.25	0.75	50	n°7
n°5	200	0.25	1.75	25	n°8
n°8	25	0.50	0.50	12.5	n°9
n°8	25	0.25	0.75	6.25	n°10
n°8	25	0.25	1.75	3.12	n°11

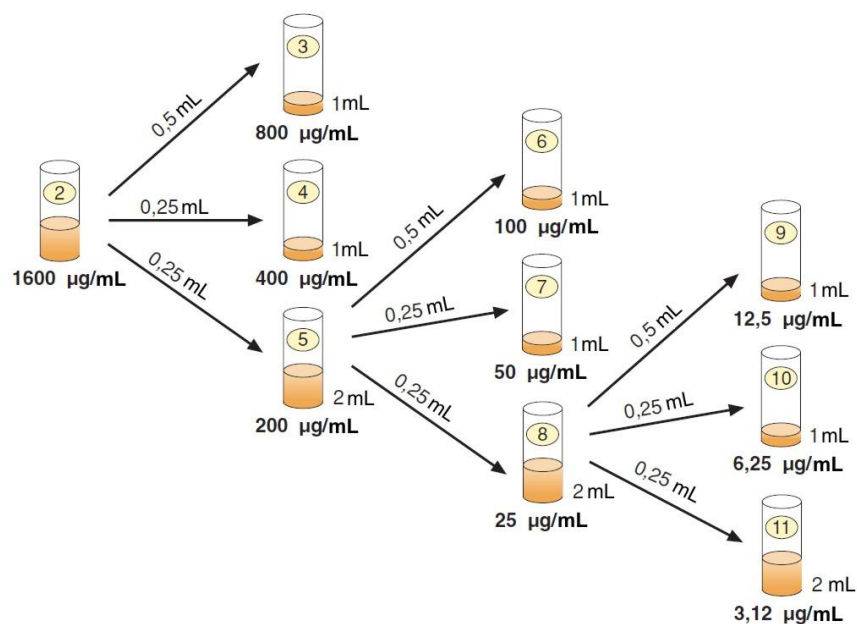


Ilustración 4. Esquema de diluciones de la Anfotericina B. Modificado de (Cantón & Martín, 2007).

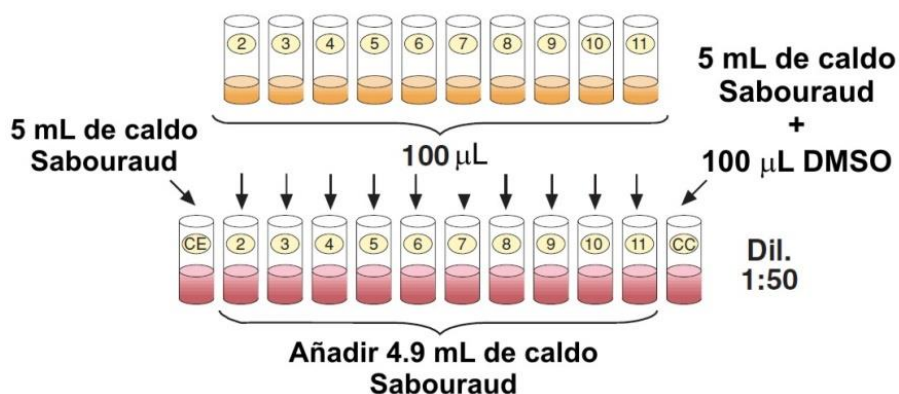


Ilustración 5. Segundo paso de la dilución de antimicrobiano de referencia. Modificado de (Cantón & Martín, 2007).

#### 4.4.1.2 GENTAMICINA (ANTIBACTERIANO DE REFERENCIA)

Se pesaron 1.2 mg de Gentamicina y se disolvieron en 10 mL de agua destilada.

De la solución anterior se realizó una serie de diluciones con caldo BHI (Brain Heart Infusion). (Véase Tabla 11 e Ilustración 6).

Por último, se hizo una dilución 1:5, añadiendo 4 mL de caldo BHI a cada tubo.

Tabla 11. Diluciones del stock de Gentamicina.

TUBO	CONCENTRACIÓN (ppm)	VOLUMEN DE TRANSFERENCIA (mL)	A UN TUBO CON CALDO SABOURAUD (mL)	CONCENTRACIÓN RESULTANTE (ppm)	TUBO
n°1	1 200	1.0	1.0	600	n°2
n°2	600	0.5	0.5	300	n°3
n°2	600	0.5	1.5	150	n°4
n°4	150	0.5	0.5	75	n°5
n°4	150	0.25	0.75	37.5	n°6
n°4	150	0.25	1.75	18.75	n°7
n°7	18.75	0.50	0.50	9.37	n°8
n°7	18.75	0.25	0.75	4.68	n°9
n°7	18.75	0.25	1.75	2.34	n°10
n°7	2.34	1	1	1.17	n°11

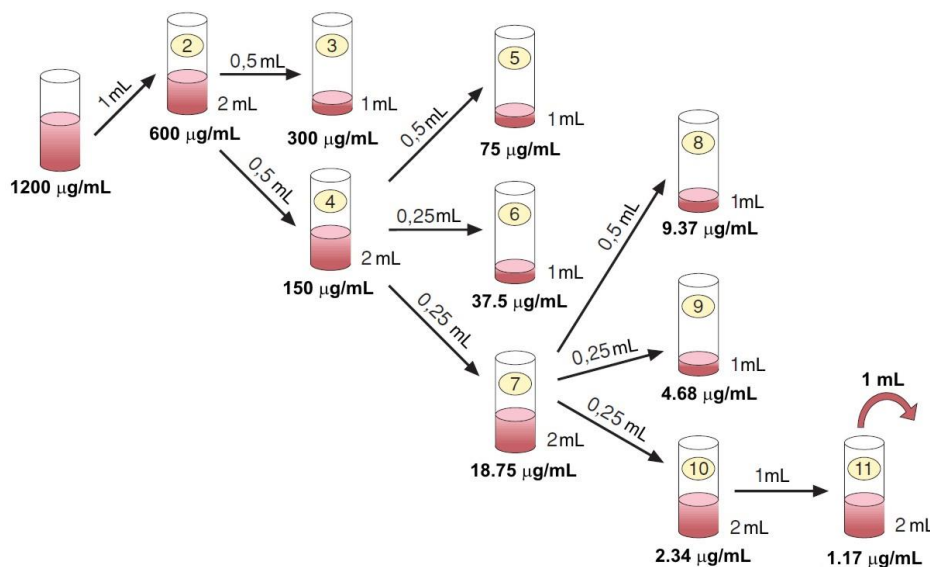


Ilustración 6. Esquema de diluciones de la Gentamicina. Modificado de (Cantón & Martín, 2007).

#### 4.4.1.3 SOLUCIÓN STOCK DE NP's Ag Y NP's Au

Se aforó a un volumen de 10 mL las nanopartículas de plata y oro (11.1 mg y 20.2 mg respectivamente, véase Anexo E) para obtener una concentración de 1110 ppm de NP's Ag y 2027 ppm de NP's Au.

Se transfirieron 5 mL de los sistemas anteriores de cada metal y se aforaron a 10 mL para obtener una concentración de 555 ppm para la plata y 1010 ppm para el oro.

Se llevó a cabo una serie de diluciones (Ilustración 7 e Ilustración 8), las concentraciones reales se muestran en la Tabla 12.



Tabla 12. Diluciones del stock de NP's Ag y NP's Au.

Tubo	Concentración Np'sAg (µg/mL)	Concentración Np'sAu (µg/mL)	Volumen de transferencia (mL)	A un tubo con caldo Sabouraud (mL)	Concentración resultante NP's Ag (µg/mL)	Concentración resultante NP's Au (µg/mL)	Tubo
n°2	555.000	1010	0.00	0.00	555.000	1010.000	n°2
n°2	555.000	1010	0.50	0.50	277.500	505.000	n°3
n°2	555.000	1010	0.25	0.75	138.750	252.500	n°4
n°2	555.000	1010	0.25	1.75	69.375	126.250	n°5
n°5	69.375	126.25	0.50	0.50	34.687	63.125	n°6
n°5	69.375	126.25	0.25	0.75	17.343	31.562	n°7
n°5	69.375	126.25	0.25	1.75	8.671	15.781	n°8
n°8	8.6718	15.781	0.50	0.50	4.335	7.890	n°9
n°8	8.6718	15.781	0.25	0.75	2.167	3.945	n°10
n°8	8.6718	15.781	0.25	1.75	1.083	1.972	n°11

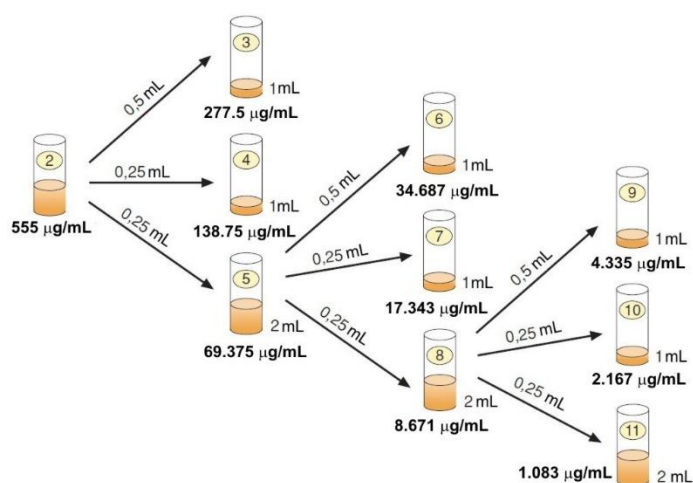


Ilustración 7. Esquema de diluciones de NP's de Ag. Modificado de (Cantón & Martín, 2007).

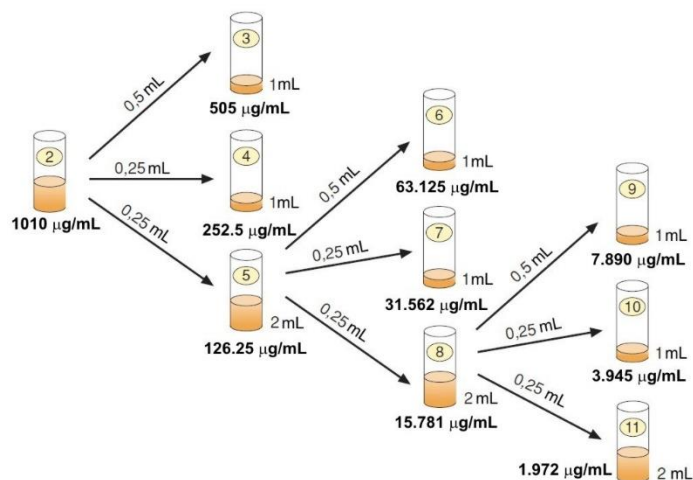


Ilustración 8. Esquema de diluciones de NP's de Au. Modificado de (Cantón & Martín, 2007).

#### 4.4.2 LLENADO DE PLACAS

Las placas de titulación se llenaron con 100  $\mu\text{L}$  de solución de antimicrobiano siguiendo los siguientes pasos:

1. Del contenido del tubo n° 2 se transfieren 100  $\mu\text{L}$  a la columna n° 2.
2. Del contenido del tubo n° 3 se transfieren 100  $\mu\text{L}$  a la columna n° 3.
3. Consecutivamente hasta la columna n° 11.
4. Los pocillos de la columna número 12 se llenan con 100  $\mu\text{L}$  de caldo Sabouraud o BHI (control de crecimiento) y 2% de los disolventes empleados para disolver el problema (nanopartículas de plata y oro, antibacteriano o antifúngico).
5. Los pocillos de la columna n° 1 se llenan con 200  $\mu\text{L}$  de caldo Sabouraud o BHI (control de esterilidad).

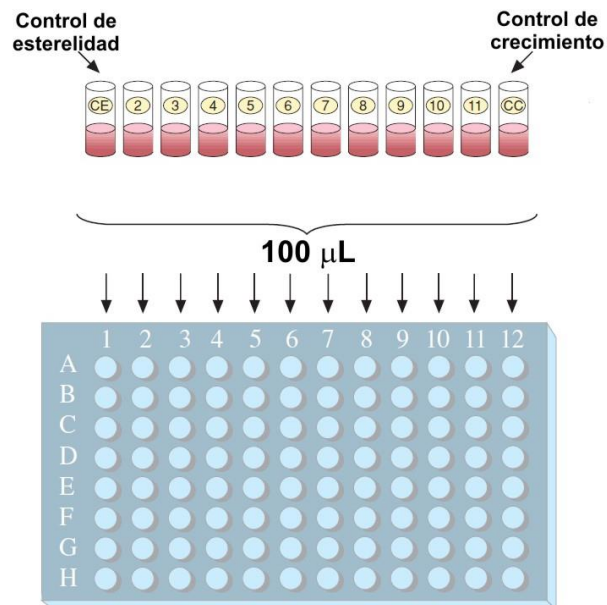


Ilustración 9. Llenado de placas. Modificado de (Cantón & Martín, 2007).

#### 4.4.3 PREPARACIÓN DEL INÓCULO

##### 4.4.3.1 INÓCULO DE "CANDIDA ALBICANS"

Se preparó tocando con el asa bacteriológica, una colonia de 24 h de crecimiento en una placa de SDA, se resuspendió en un tubo con solución salina (NaCl 0.85%). Se agitó y ajustó al estándar 0.5 de McFarland, añadiendo la cantidad necesaria de solución salina. Posteriormente se realizó una dilución 1:1000 con medio caldo Sabouraud (Cantón & Martín, 2007). Esta última dilución es la que se usa para inocular las placas con antifúngico, llámese Anfotericina B y/o NP's de Ag y NP's de Au.

##### 4.4.3.2 INÓCULO PARA BACTERIAS "ESCHERICHIA COLI" Y "STAPHYLOCOCCUS AUREUS"

Se preparó tocando con el asa bacteriológica, una colonia de 24 h de crecimiento en una placa de SDA, se resuspendió en un tubo con solución salina (NaCl 0.85%). Se agitó y ajustó al estándar 0.5 de McFarland, añadiendo la cantidad necesaria de solución salina. Posteriormente se realizó una

dilución 1:1000 con medio caldo BHI (Cantón & Martín, 2007). Esta última dilución es la que se usa para inocular las placas con antibacteriano, llámese, Gentamicina y/o NP's de Ag y NP's de Au.

#### 4.4.4 INOCULACIÓN DE PLACAS

1. Se inoculó 10  $\mu$ L de la suspensión de levadura o bacteria, de concentración 1:1000 desde el pocillo 2 hasta el 12.
2. Columna n° 1 es utilizada para el control de esterilidad, por tanto no se inocular.
3. Columna n° 12 no contiene antimicrobiano; sin embargo, debe de contener la misma concentración de disolvente que los pocillos con antimicrobiano. Es el control de crecimiento.

#### 4.4.5 INCUBACIÓN DE LAS PLACAS

Las placas inoculadas con especies del género *Candida* se incubaron a 35°C durante 48 horas y las bacterias durante 24 horas. Pasado este tiempo se llevó a cabo una lectura Visual.

## 5 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 5.1 SELECCIÓN DE MATERIA PRIMA VEGETAL

Las materias primas vegetales utilizadas en este trabajo se seleccionaron de acuerdo a los usos tradicionales, destacando el hecho de que estas plantas se emplean para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales o de vías respiratorias. Por ello, se sabe que estas plantas tienen una actividad antibacteriana e incluso antimicrobiana.

#### 5.1.1 DESECACIÓN NATURAL A LA SOMBRA

El material vegetal: epazote, jengibre, orégano, toronjil azul, toronjil blanco y toronjil morado se adquirieron en el mes de noviembre del 2013.

La menta blanca, menta negra y poleo fueron adquiridas en el mes de Agosto del 2014. La materia vegetal se encontraba libre de tierra, así como de hojas y ramas de otra especie vegetal.

#### 5.1.2 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA: SEGUIMIENTO POR CAMBIO DE COLOR

De acuerdo al fenómeno de plasmón de superficie que se presenta en la formación de las nanopartículas, se puede conocer de una manera Visual la presencia de estas (Sulaiman et al., 2013), es por ello que el criterio básico para la selección de la planta de trabajo fue presenciar un cambio de coloración en respuesta a la mezcla del extracto acuoso vegetal y la solución de  $\text{AgNO}_3$ . Dicho fenómeno tiene por nombre plasmón de superficie.

Cabe señalar que, con los resultados obtenidos en esta prueba se permitió descartar dos especies: el toronjil morado, debido a que no ocurrió un cambio aparente que indicara la formación de nanopartículas de plata (cambio de color), y el jengibre, que a pesar de que presentó una coloración diferente a la inicial, esta planta se eliminó ya que se encontró presencia de un precipitado. El precipitado puede haberse formado debido a que el extracto de jengibre es altamente alcalino, que con la interacción con plata (I) puede formar óxido de plata ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ), que es un precipitado de color café oscuro. Derivado de lo anterior estas no se consideraron en la metodología anteriormente mencionada.

En la Tabla 13 se muestran las coloraciones antes y después de la adición de la solución de  $\text{AgNO}_3$ . Puesto que tomar a la coloración como única respuesta es un indicador muy subjetivo dado por la gran variación de los resultados obtenidos, fue necesario considerar a la espectrofotometría UV-Vis como parámetro de elección de la planta.

#### 5.1.3 OBTENCIÓN DE LOS ESPECTROS POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA-VISIBLE

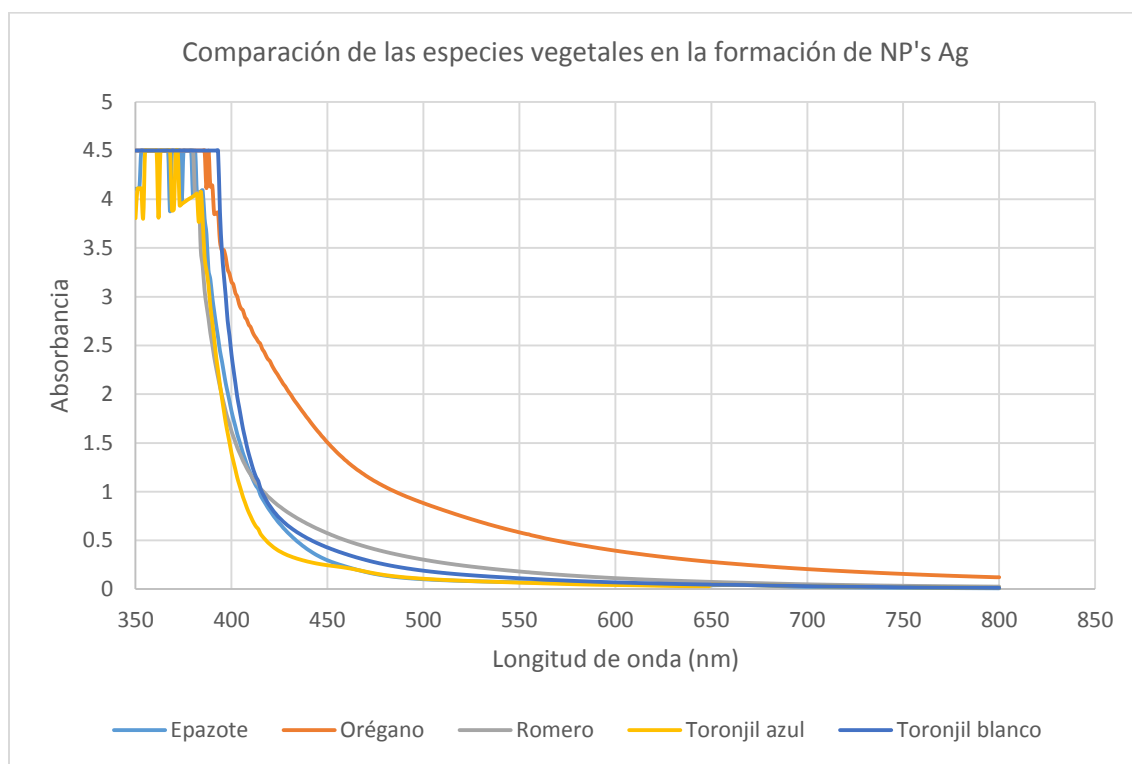
Para determinar de forma objetiva la presencia de nanopartículas se utilizó la técnica de Espectrofotometría UV-Vis, ya que esta permite detectar la longitud de onda máxima en la que se presenta el plasmón de superficie.

En el caso de metales como plata, las transiciones electrónicas se presentan en el rango Visible, es decir entre 430 y 470 nm (Duyne & Haes, 2006; Kaviya, Santhanalakshmi, Viswanathan, Muthumary, & Srinivasan, 2011).

Tabla 13. Síntesis de nanopartículas de plata: Seguimiento por cambio de color.

EXTRACTO ACUOSO	COLORACIÓN DEL EXTRACTO ANTES DE AGREGAR AgNO <sub>3</sub>	COLORACIÓN DEL SISTEMA DESPUÉS DE AGREGAR AgNO <sub>3</sub>
Epazote	Amarillo	Café traslúcido
Jengibre	Coral	Naranja
Orégano	Amarillo	Café traslúcido
Romero	Amarillo	Naranja-amarillo traslúcido
Toronjil Azul	Amarillo	Amarillo-café traslúcido
Toronjil Blanco	Amarillo	Amarillo-café traslúcido
Toronjil Morado	Café	Sin cambio de coloración

En la Gráfica 1 se puede observar que de las plantas pertenecientes al conjunto del primer criterio de selección (después del análisis de cambio de color), no presentan un máximo de absorbancia significativa en la región de longitud de onda antes mencionada.

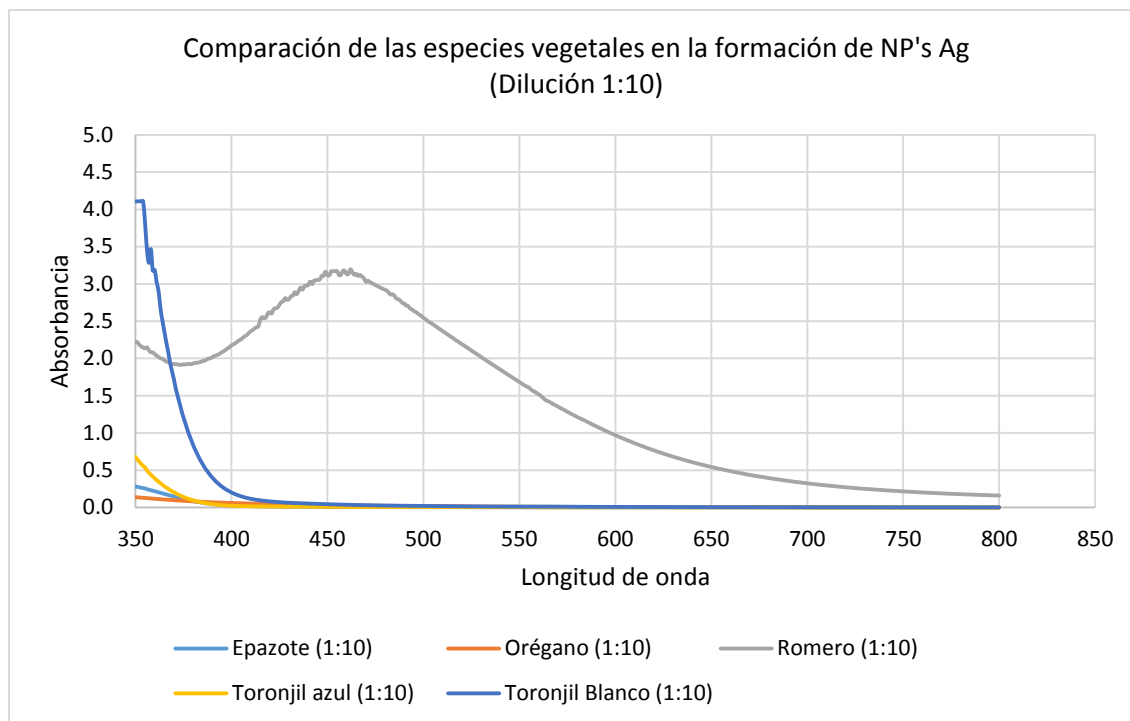


Gráfica 1. Comparación de las especies vegetales en la formación de NP's Ag.

Una explicación a esta situación puede deberse a que la concentración de NP's Ag fue lo bastante alta causando que la adaptación entre los fotones del haz de luz del equipo y el plasmón de superficie de la propia nanopartícula no existiera. Así mismo, se puede atribuir a que los compuestos químicos (flavonoides) no tuvieron un alto poder reductor para donar sus electrones a la plata (I).

Si bien no hay una banda en el espectro, se pueden observar señales en la región que va de 350 a 400 nm. Estas señales se consideran como ruido a consecuencia de la luz ultravioleta sobre el sistema, atribuyéndole la falta de entidades químicas que interactúen con la energía de la región ultravioleta.

En la Gráfica 2 se muestra el resultado de un ensayo posterior, que consistió en realizar una dilución (1:10) de los sistemas presentados en la Gráfica 1. Como resultado de la dilución realizada se puede observar que el sistema del extracto de romero es el único que presenta un máximo de absorbancia en una longitud de onda cercana a los 450 nm, como respuesta al plasmón de superficie de las nanopartículas presentes en la solución (Das & Velusamy, 2013).



**Gráfica 2. Comparación de las especies vegetales en la formación de NP's Ag (Dilución 1:10).**

Como resultado del análisis de la Gráfica 2, el romero es el único que tiene la posibilidad de formar NP's Ag dado que el extracto tiene ciertos compuestos químicos adecuados para reaccionar con la plata ( $Ag^+$ ). El romero no se consideró debido a que ya está reportado en Das & Velusamy (2013). Utilizando el criterio quimiotaxonómico, primeramente se procede a realizar un análisis de la clasificación botánica de las especies utilizadas (véase Tabla 14).

En la Tabla 14 se muestra la información de cada una de las plantas que al momento fueron empleadas para la síntesis de NP's Ag. Como se observa, el romero (que es hasta este momento la referencia base) es diferente al epazote y orégano con respecto a la familia y tribu de la clasificación taxonómica botánica. Sin embargo, el toronjil azul y toronjil blanco tienen la misma clasificación que el romero, lo que da pauta a investigar si otras plantas que pertenezcan a la misma tribu (en término quimiotaxonómico) que la planta de romero son candidatas para la síntesis de NP's Ag (independientemente del resultado que se obtuvo con el toronjil azul y blanco). Dicha investigación se presenta en la Tabla 15.

#### 5.1.4 OBTENCIÓN DE ESPECTROS UV-VIS DE LA TRIBU DE LA MENTA Y COMPARACIÓN TAXONÓMICA

En la Tabla 15 se muestra la información taxonómica de las plantas más comunes en el uso de la medicina tradicional que tienen la misma categoría taxonómica de "Tribu" de la planta de romero.

Tabla 14. Comparación de las plantas para la síntesis de NP's Ag.

NOMBRE COMÚN	ESPECIE	GÉNERO	TRIBU	SUBFAMILIA	FAMILIA	FLAVONOIDES
Epazote	<i>Chemopodiumm ambrosioides</i> L.	<i>Dysphania</i>	<i>Dysphanieae</i>	<i>Chenopodioideae</i>	AMARANTHACEAE	Ambrósido, Ramnósido de kamferol
Orégano	<i>Lippia greaveolens</i> Kunth	<i>Lippia</i>	<i>Verbeneae</i>		VERBENACEAE	Naringenína, Pinocebrina
Romero	<i>Rosmarimus officinalis</i> L.	<i>Rosmarimus</i>	<i>Mentheae</i>	Nepetoideae	LAMIACEAE	Luteolina, Apigenina, Diosmetina, Genkwanina, Ispidulina
Toronjil azul	<i>Dracocephalum moldavica</i>	<i>Dracocephalum</i>	<i>Mentheae</i>	Nepetoideae	LAMIACEAE	Kamferol, Apigenina, Isoramnetina
Toronjil blanco	<i>Agastache mexicana</i> subsp. xolocotziana	<i>Agastache</i>	<i>Mentheae</i>	Nepetoideae	LAMIACEAE	Acacetina
Toronjil morado	<i>Agastache mexicana</i>	<i>Agastache</i>	<i>Menthae</i>	Nepetoideae	LAMIACEAE	5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona

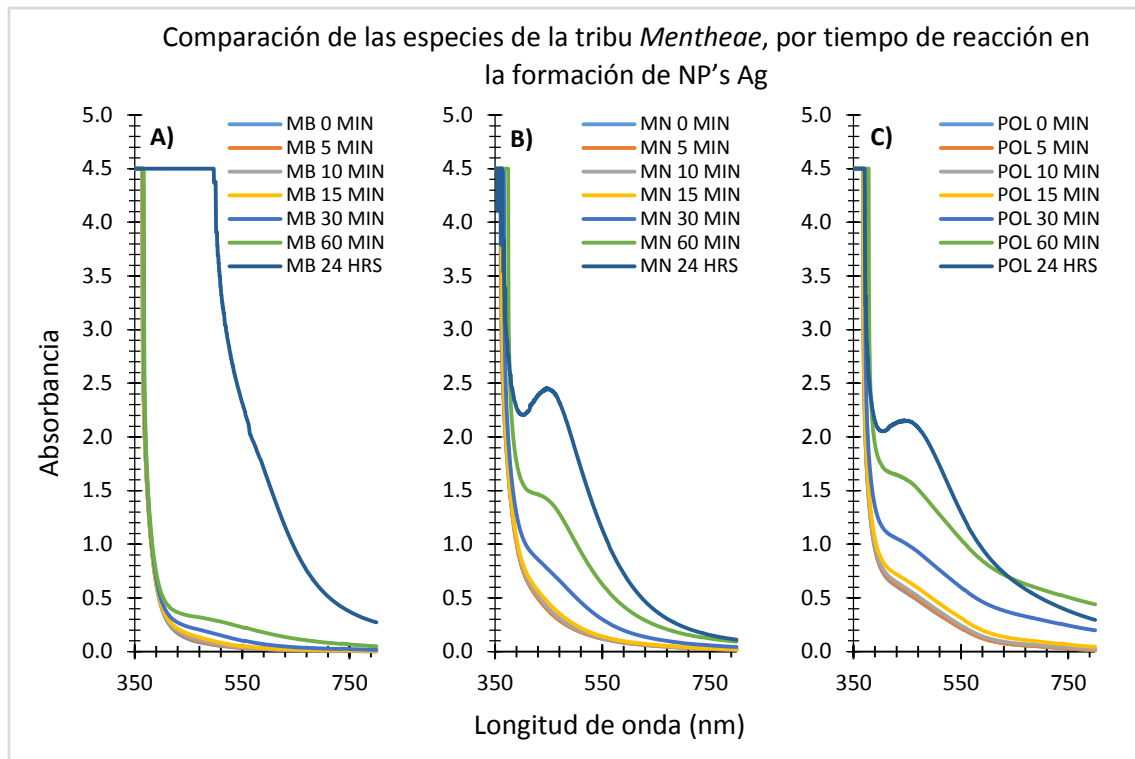
Tabla 15. Comparación taxonómica entre romero y otras plantas medicinales comunes.

NOMBRE COMÚN	ESPECIE	GÉNERO	TRIBU	SUBFAMILIA	FAMILIA
Romero	<i>Rosmarimus officinalis</i> L.	<i>Rosmarimus</i>	<i>Mentheae</i>	Nepetoideae	LAMIACEAE
Menta Blanca	<i>Mentha x piperita</i> L.	<i>Mentha</i>	<i>Mentheae</i>	Nepetoideae	LAMIACEAE
Menta negra	<i>Mentha x piperita</i> L.	<i>Mentha</i>	<i>Mentheae</i>	Nepetoideae	LAMIACEAE
Poleo	<i>Mentha pulegium</i> L.	<i>Mentha</i>	<i>Mentheae</i>	Nepetoideae	LAMIACEAE

Con la información obtenida, se llevó a cabo la síntesis de NP's Ag utilizando las plantas de la Tabla 15 a las mismas condiciones que tuvo el sistema de romero. Los resultados obtenidos por Espectroscopia UV-Vis se pueden apreciar en la Gráfica 3, donde se llevó a cabo un monitoreo por tiempo de reacción de los nuevos sistemas.

La Gráfica 3 muestra el aumento de la absorbancia en la cercanía los 450 nm, presente en cada uno de los sistemas de menta blanca (MB), menta negra (MN) y poleo (POL). Esto demuestra que conforme transcurre el tiempo en los sistemas, el plasmón de superficie se hace más notorio debido a una gran cantidad de NP's Ag que se van formando desde el tiempo inicial (0 min) a tiempo final (60 min), y posteriormente a las 24 h.

Vale la pena mencionar que el sistema de menta blanca no presenta una señal en comparación con los sistemas de menta negra y poleo; por lo cual, se descarta como material para la formación de nanopartículas.



**Gráfica 3. Comparación de las especies de la tribu *Mentheae*.**

Nota: A) Espectro UV-Vis de menta blanca (MB); B) Espectro UV-Vis de menta negra (MN) y C) Espectro UV-Vis de poleo (POL).

### 5.1.5 COMPARACIÓN DE MENTA NEGRA POR LUGAR GEOGRÁFICO

La menta negra se eligió entre las tres plantas seleccionadas en el punto anterior porque tuvo la mejor respuesta. La experimentación se procedió a realizar siguiendo el protocolo farmacognóstico donde se considera el origen de la materia prima, control de calidad, fecha de recolección, etc.

La adquisición de la planta se llevó a cabo en tres localidades de la Ciudad de México, estas fueron: Mercado de Sonora, Mercado del centro de Xochimilco y Vivero de San Luis Tlaxiatalmalco.

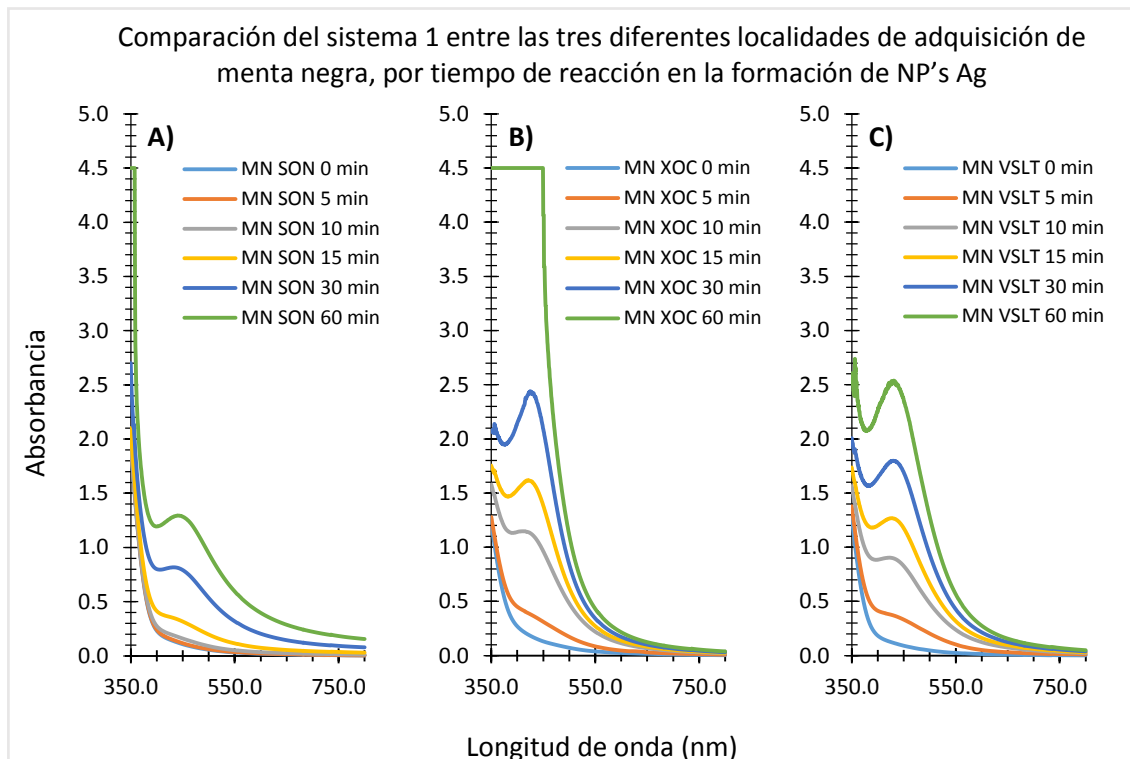
La Gráfica 4, Gráfica 5, Gráfica 6, Gráfica 7 y Gráfica 8, muestran los resultados del monitoreo de la formación de NP's Ag por intervalos de tiempo (de 0 a 60 minutos) para los sistemas que van de 1 mL de extracto acuoso más 44 mL de solución de  $\text{AgNO}_3$  1 mM, a 5 mL de extracto más 45 mL de  $\text{AgNO}_3$ .

Como se aprecia en la Gráfica 4 la evidencia de la formación de NP's Ag es notoria, tanto que, deja marcada una diferencia con respecto a las especies vegetales que se trabajaron con anterioridad.

La parte B, de la misma gráfica, es donde los resultados son más notorios en comparación de las partes A y parte C. Esto se debe a que en los tiempos de reacción, que van de 0 a 60 minutos, el incremento de la absorbancia es más notorio que con respecto a las partes A y C; y todavía más en el tiempo de 60 minutos de reacción, donde se alcanza un valor de absorbancia por arriba del límite máximo de la escala. También, el ancho de la banda favorece a la parte B debido a que se ve más



focalizada la longitud de onda sobre los sistemas que con el paso del tiempo se van formando las nanopartículas de plata.



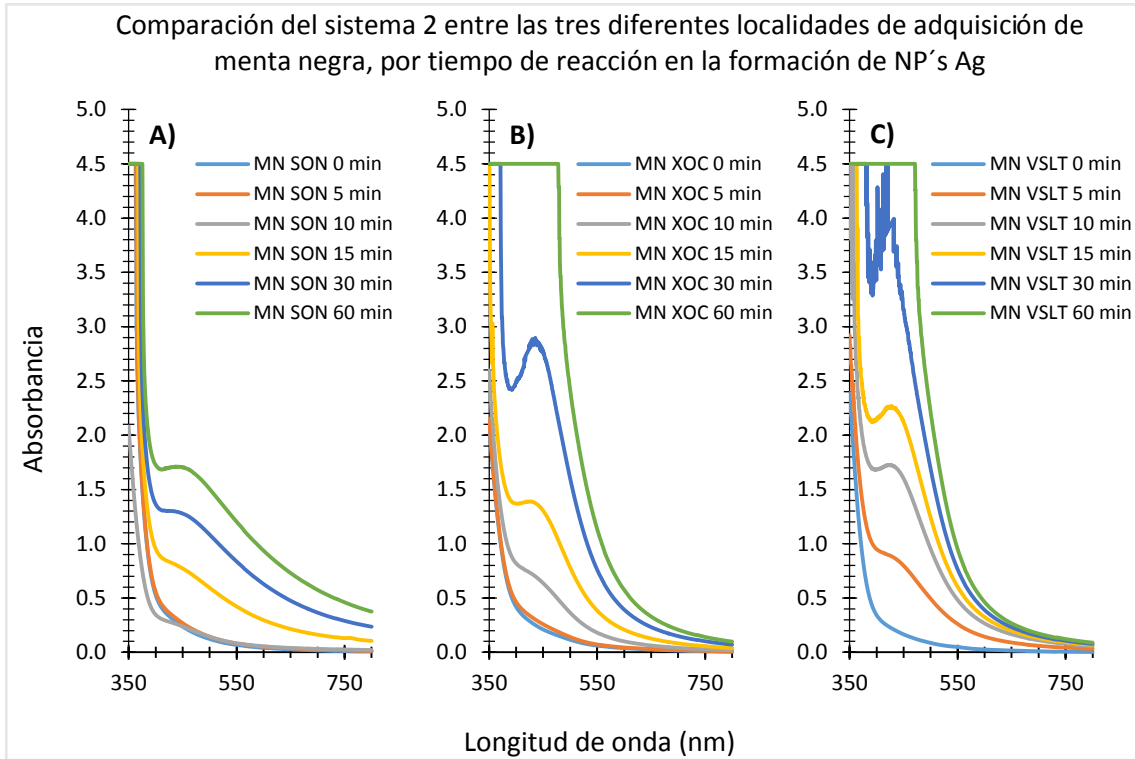
**Gráfica 4. Comparación del sistema 1 (1 mL de extracto acuoso, 49 mL de  $\text{AgNO}_3$  1 mM) por localidad de adquisición.**

Nota: **A)** Espectro UV-Vis de menta negra adquirida en el mercado de Sonora (**MN SON**); **B)** Espectro UV-Vis de menta negra adquirida en mercado del centro de Xochimilco (**MN XOC**); y **C)** Espectro UV-Vis menta negra adquirida en el Vivero de San Luis Tlaxialtemalco (**MN VSLT**). Esto aplica de la Gráfica 4 a la Gráfica 8.

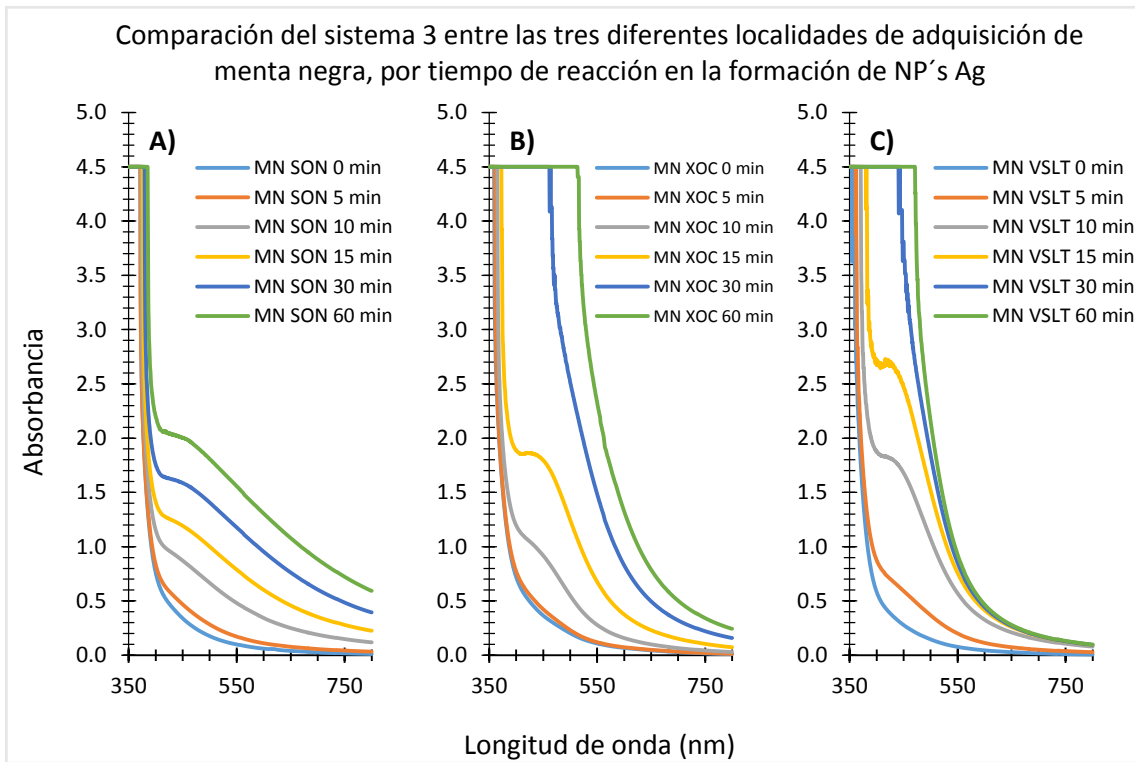
En la Gráfica 5, que corresponde a los sistemas de 2 mL de extracto y 48 mL de  $\text{AgNO}_3$ , el incremento de las absorbancias es más notorio con respecto a aquellos donde se utilizó 1 mL de extracto (Gráfica 4). Sin embargo, la parte C es la que sobresale más debido a las absorbancias registradas por tiempo de reacción, que son más grandes en respuesta a la alta concentración de nanopartículas que se van formando conforme transcurre el tiempo.

Las partes B y C de la Gráfica 6 (sistemas de 3 mL de extracto y 47 de  $\text{AgNO}_3$ ) son prácticamente iguales por el gran parecido de sus espectros. Sin embargo, el comportamiento ideal está en la parte C por el incremento gradual en la formación de las nanopartículas con los tiempos lectura establecido. Con esto y con lo que se mencionó, el mejor ejemplar (hasta el momento) es aquel que procede del Vivero de San Luis Tlaxialtemalco.

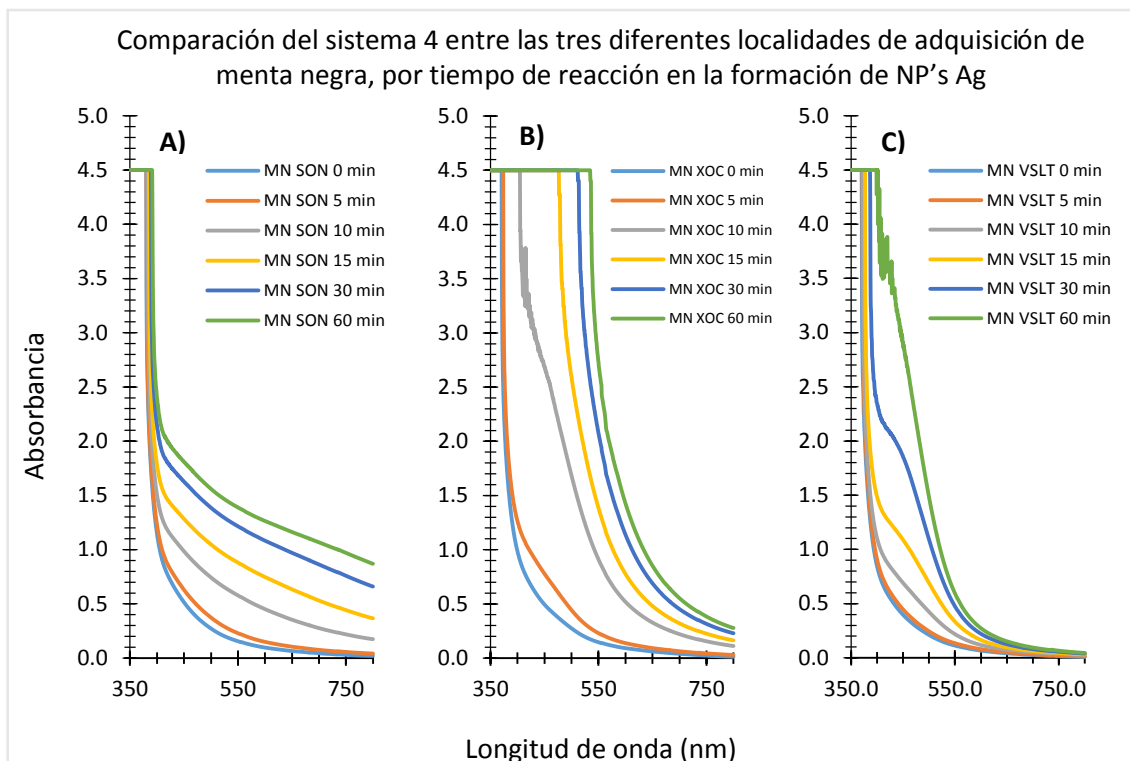
Si bien se ha observado que hasta el momento el ejemplar que procede del Vivero es el que ha dado los mejores resultados, esto no se ve reflejado en las partes C de la Gráfica 7 y Gráfica 8 donde se pierde por completo la apreciación de alguna banda cercana a los 450 nm. Sin embargo, las partes B de las mismas gráficas muestran una mayor cantidad de nanopartículas de plata formadas por el extracto del ejemplar procedente de Xochimilco (XOC) en una cercanía a la longitud de onda de 450 nm, a pesar de que los valores de absorbancia se salen del límite máximo del equipo.



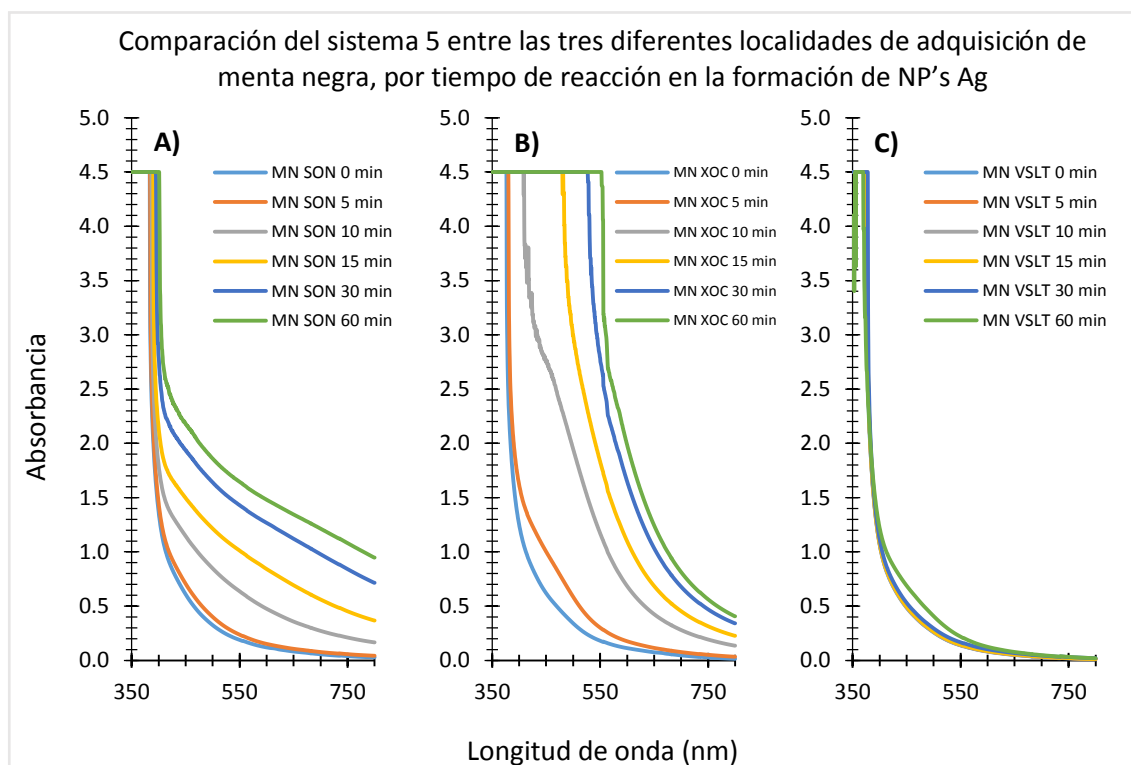
**Gráfica 5. Comparación del sistema 2 (2 mL de extracto acuoso, 48 mL de  $\text{AgNO}_3$  1 mM.) por localidad de adquisición.**



**Gráfica 6. Comparación del sistema 3 (3 mL de extracto acuoso, 47 mL de  $\text{AgNO}_3$  1 mM) por localidad de adquisición.**



**Gráfica 7. Comparación del sistema 4 (4 mL de extracto acuoso, 46 mL de  $\text{AgNO}_3$  1 mM.) por localidad de adquisición.**



**Gráfica 8. Comparación del sistema 5 (5 mL de extracto acuoso, 45 mL de  $\text{AgNO}_3$  1 mM.) por localidad de adquisición.**

Dado que las gráficas reflejan el potencial del extracto de menta negra para la formación de NP's Ag (independientemente del lugar de adquisición), se llegó a la conclusión que el mejor material fue el que provino del Vivero de San Luis Tlaxialtemalco.

Lo anterior se sustenta en el hecho de que fue el único lugar donde se contó con la información del material vegetal, es decir, lugar geográfico, clima, condiciones de cultivo, y recolección.

## 5.2 EXTRACTO Y MARCO

### 5.2.1 HERBORIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Para llevar a cabo el procedimiento experimental se requirió el aval botánico de la especie utilizada, proveniente del vivero de San Luis Tlaxialtemalco. Se envió al Herbario Etnobotánico IZTA de la FES Iztacala dirigido por la Dra. María Edith López Villafranco. El herbario emitió el certificado de identidad (Anexo B) botánica con los datos mostrados en la Tabla 16.

Tabla 16. Resultados del certificado de identidad de menta negra.

NOMBRE CIENTÍFICO	FAMILIA	NOMBRE COMÚN	N° REGISTRO
<i>Menta x piperita</i> L.	Lamiaceae	Menta negra	2395IZTA

### 5.2.2 DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA ÓPTIMO

En el proceso de extracción se consideraron las siguientes variables: tamaño de partícula (materia prima vegetal), temperatura, tipo de disolvente y tiempo, para lograr la estandarización del proceso.

El tratamiento que se le dio a las hojas de la planta fue una trituración, utilizando una moledora eléctrica, para tener un solo tamaño homogéneo; disminuyendo así, la dispersión del tamaño de las hojas de la menta negra. Posteriormente se colocó en la batería de mallas (véase Tabla 17) dando como resultado el valor máximo de 44.5 % retenido en la malla 50. Así, tomando como referencia a la FHEUM (2013), se determinó que la clasificación del polvo obtenido es de polvo grueso. (Véase Apéndice B)

Tabla 17. Resultados de tamizaje de la determinación del tamaño de partícula.

TAMAÑO DE APERTURA (mm)	No. DE MALLA	PESO (g)	PESO CON MATERIA (g)	PESO RETENIDO (g)	CORTE DE MALLA	APERTURA MEDIA ARITMÉTICA (micra)	% RETENIDO
	Base	344.6	348.0	3.4	-	-	3.4
<b>0.074</b>	200	236.5	241.1	4.6	100/200	-	4.6
<b>0.159</b>	100	317.2	322.4	5.1	80/100	0.5	5.1
<b>0.177</b>	80	347.0	353.5	6.5	60/80	0.2	6.5
<b>0.250</b>	60	421.2	442.0	20.8	50/60	0.2	20.8
<b>0.297</b>	<b>50</b>	<b>371.4</b>	<b>415.8</b>	<b>44.4</b>	<b>40/50</b>	<b>0.3</b>	<b>44.5</b>
<b>0.400</b>	40	372.7	383.4	10.6	30/40	0.4	10.6
<b>0.595</b>	30	370.3	372.7	2.4	20/30	0.5	2.4
<b>0.841</b>	20	382.3	383.2	0.9	10/20	0.7	0.9
<b>2.00</b>	10	446.5	447.7	1.2	-	1.4	1.2
			<b>Total</b>	<b>100.0</b>			<b>100.0</b>

Así también, se concluye que de los 100 g de hoja seca de menta negra que se trituró para posteriormente pasar a la batería de mallas, solo únicamente los 44.4 g que se retuvieron en la malla No. 50 pueden utilizarse para realizar el extracto que será utilizado para la síntesis de NP's Ag.

### 5.2.3 PORCENTAJE DE HUMEDAD

Un exceso de agua en materiales de plantas medicinales fomenta al crecimiento bacteriano, la presencia de hongos o insectos y el deterioro seguido de hidrólisis (FHEUM, 2013).

El límite para el contenido de agua es específico para cada material vegetal. Este es especialmente importante para materiales que fácilmente absorben humedad o que se deterioran rápidamente con la presencia de agua. En la Tabla 18 se muestra el porcentaje de humedad del triturado de las hojas secas de la planta.

**Tabla 18. Porcentaje de humedad del material vegetal (menta negra).**

<b>PESO DE MATERIA VEGETAL (g)</b>	<b>HUMEDAD (%)</b>
<b>1.018</b>	<b>9.92</b>

De acuerdo con OMS, la concentración de agua no debe ser mayor al 10%. Sin embargo, de acuerdo a la monografía de *Mentha x piperita* emitida por la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos, establece un 11% (FHEUM, 2013) como valor máximo permitido para considerar a la droga vegetal como buen material herbolario.

Con lo anterior se determina que el material vegetal cumple con los criterios de control de calidad para poder emplearlo en la síntesis de NP's Ag.

### 5.2.4 ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

Una de las cosas fundamentales para comprender como se lleva a cabo la síntesis de nanopartículas de plata, es conocer la naturaleza de los compuestos presentes en el extracto acuoso de la menta negra. Por ello, se realizó un tamiz fitoquímico como prueba preliminar para conocer los metabolitos secundarios contenidos en el extracto.

Los resultados contenidos en la Tabla 19, así como su ilustración en la Serie Fotográfica 1, son los siguientes:

- Abundantes (+++): Lactonas sesquiterpénicas (Baljet fase acuosa), Fenoles y/o Taninos, Azúcares reductores, Flavonoides (Shinoda Fase acuosa y Amoniaco), Quinonas (Börntrager Fase acuosa y orgánica), Triterpenos y esteroides.
- Moderado (++) : Lactonas sesquiterpénicas (Baljet Fase orgánica).
- Escaso (+): Aceites (Sudán III).
- Negativos (-): Alcaloides (Hager, Dragendorff y Ácido silicotúngstico), Flavonoides (Shinoda Fase orgánica), Saponinas triterpénicas (Rosenthaler), Saponinas (Espuma), Compuestos cianogénicos, Lípidos y Ácidos grasos.

Como se puede apreciar la mayoría de los metabolitos identificados tienen la característica de poseer principalmente al grupo funcional hidroxilo (R-OH), que tiene la facultad de poder reaccionar con el ion  $Ag^+$ .

En la Tabla 19 se muestran los resultados obtenidos del tamiz fitoquímico de menta negra.

Tabla 19. Tamiz Fitoquímico del extracto acuoso de menta negra.

PRUEBA	METABOLITO	RESULTADO
Baljet Fase Acuosa	Lactonas sesquiterpénicas	+++
Baljet Fase Orgánica	Lactonas sesquiterpénicas	++
Cloruro férrico	Fenoles y/o Taninos	+++
Dragendorff	Alcaloides	-
Hager	Alcaloides	-
Ácido silicotúngstico	Alcaloides	-
Fehling	Azúcares reductores	+++
Shinoda Fase Acuosa	Flavonoides	+++
Shinoda Fase Orgánica	Flavonoides	-
Amoniaco	Flavonoides	+++
Börntrager Fase Acuosa	Quinonas	+++
Börntrager Fase Orgánica	Quinonas	+++
Rosenthaler	Saponinas triterpénicas	-
Espuma	Saponinas	-
Liebermann-Buchard	Triterpenos y esteroides	+++
Guignard	Compuestos cianogénicos	-
Sudán III	Aceites	+



Baljet Fase Acuosa



Baljet Fase Orgánica



$FeCl_3$



Dragendorff



Hager



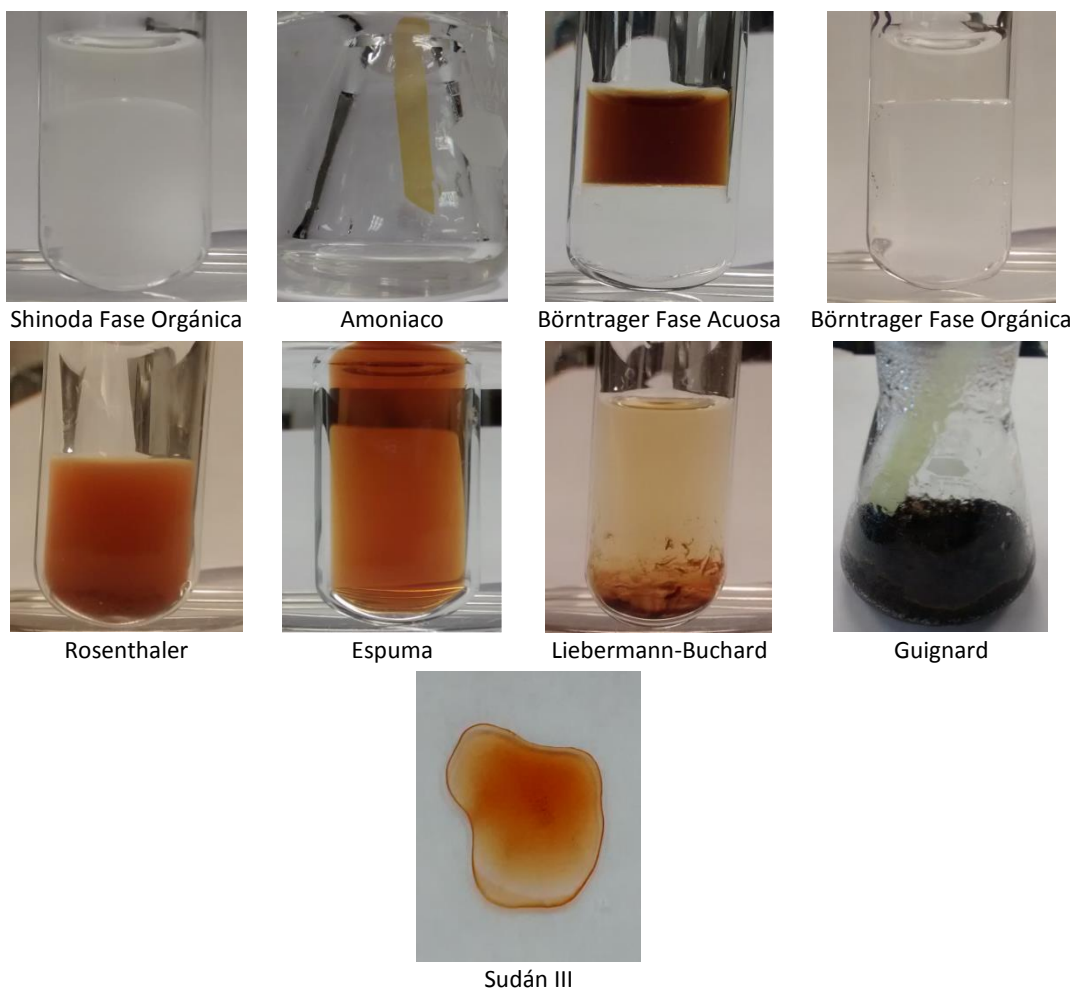
Ácido silicotúngstico



Fehling



Shinoda Fase Acuosa



**Serie Fotográfica 1. Tamiz Fitoquímico.**  
 [Fotografías de Sergio Moreno]. (México. 2015). Laboratorio L 301 de la FES Cuautitlán Campo 1.

### 5.2.5 CANTIDAD DE MATERIAL EXTRAÍBLE

Para llegar a las mejores condiciones de extracción, se determinó la cantidad de material extraíble que se puede obtener, usando de cada uno de los diferentes tipos de fuente de energía disponibles en el laboratorio. Estos fueron: calor convencional, microondas y sonicación.

Los resultados se muestran en la Tabla 20, Tabla 21 y Tabla 22, en los cuales se aprecia que no existe una diferencia significativa en gramos del material extraíble obtenidos.

**Tabla 20. Cantidad de material extraíble por calor convencional.**

NÚMERO DE CICLO	PESO INICIAL DE CAJA PETRI (g)	PESO FINAL DE CAJA PETRI (g)	MATERIAL EXTRAÍBLE (g)
1	46.48	46.62	0.14
2	39.54	39.61	0.07
3	40.62	40.64	0.02
4	38.45	38.46	0.01
5	43.91	43.91	0

Material extraíble Total por Infusión: 0.24 g.

Tabla 21. Cantidad de material extraíble por microondas.

NÚMERO DE CICLO	PESO INICIAL DE CAJA PETRI (g)	PESO FINAL DE CAJA PETRI (g)	MATERIAL EXTRAÍBLE (g)
1	38.79	38.96	0.17
2	42.91	42.96	0.05
3	43.96	43.97	0.01
4	44.98	44.98	0

Material extraíble Total por Microondas: 0.23 g.

Tabla 22. Cantidad de material extraíble por sonicación.

NÚMERO DE CICLO	PESO INICIAL DE CAJA PETRI (g)	PESO FINAL DE CAJA PETRI (g)	MATERIAL EXTRAÍBLE (g)
1	38.87	39.04	0.17
2	49.42	49.44	0.02
3	42.50	42.52	0.02
4	38.81	38.81	0

Material extraíble Total por Sonicación: 0.21 g.

Debido a que en la primera extracción se obtenía la mayor cantidad de material extraíble para cada uno de los métodos empleados, se prosiguió a realizar una única extracción de corrido. Los resultados se pueden ver en la Tabla 23

Tabla 23. Cantidad de material extraíble a temperatura ambiente, microondas y sonicación sin cambio de disolvente.

MÉTODO	PESO INICIAL DE CAJA PETRI (g)	PESO FINAL DE CAJA PETRI (g)	MATERIAL EXTRAÍBLE (g)
Infusión	46.48	46.62	0.14
Microondas	48.68	48.86	0.18
Sonicación	45.21	45.38	0.17

Por lo anterior, se decidió que para seleccionar el mejor método de preparación del extracto acuoso, se utilizó la técnica de Microscopia Electrónica de Barrido, para analizar la superficie de la materia vegetal (sin tratamiento y después del tratamiento).

#### 5.2.6 ANÁLISIS MORFOLÓGICO DEL MARCO POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

En la Micrografía 1, Micrografía 2 y Micrografía 3 se observa a la menta negra antes del tratamiento a diferentes aumentos.

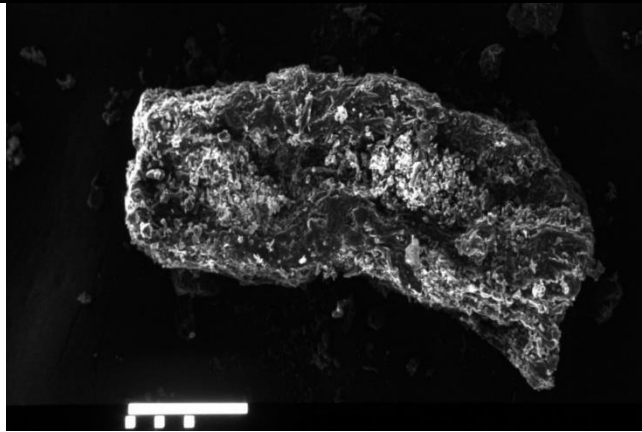


---

**MATERIAL VEGETAL ANTES DE TRATAMIENTO**

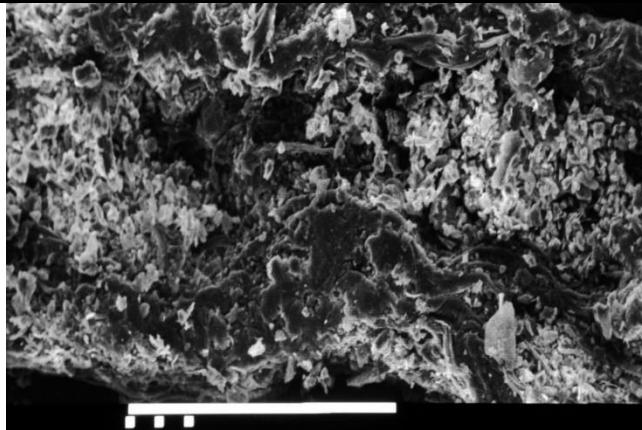
---

[200x]



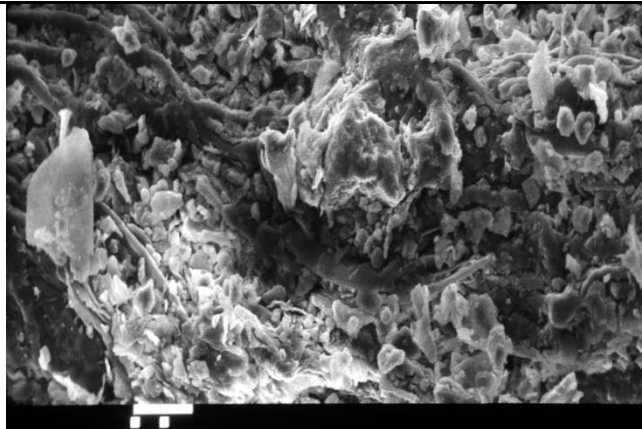
**Micrografía 1**

[450x]



**Micrografía 2**

[1000x]



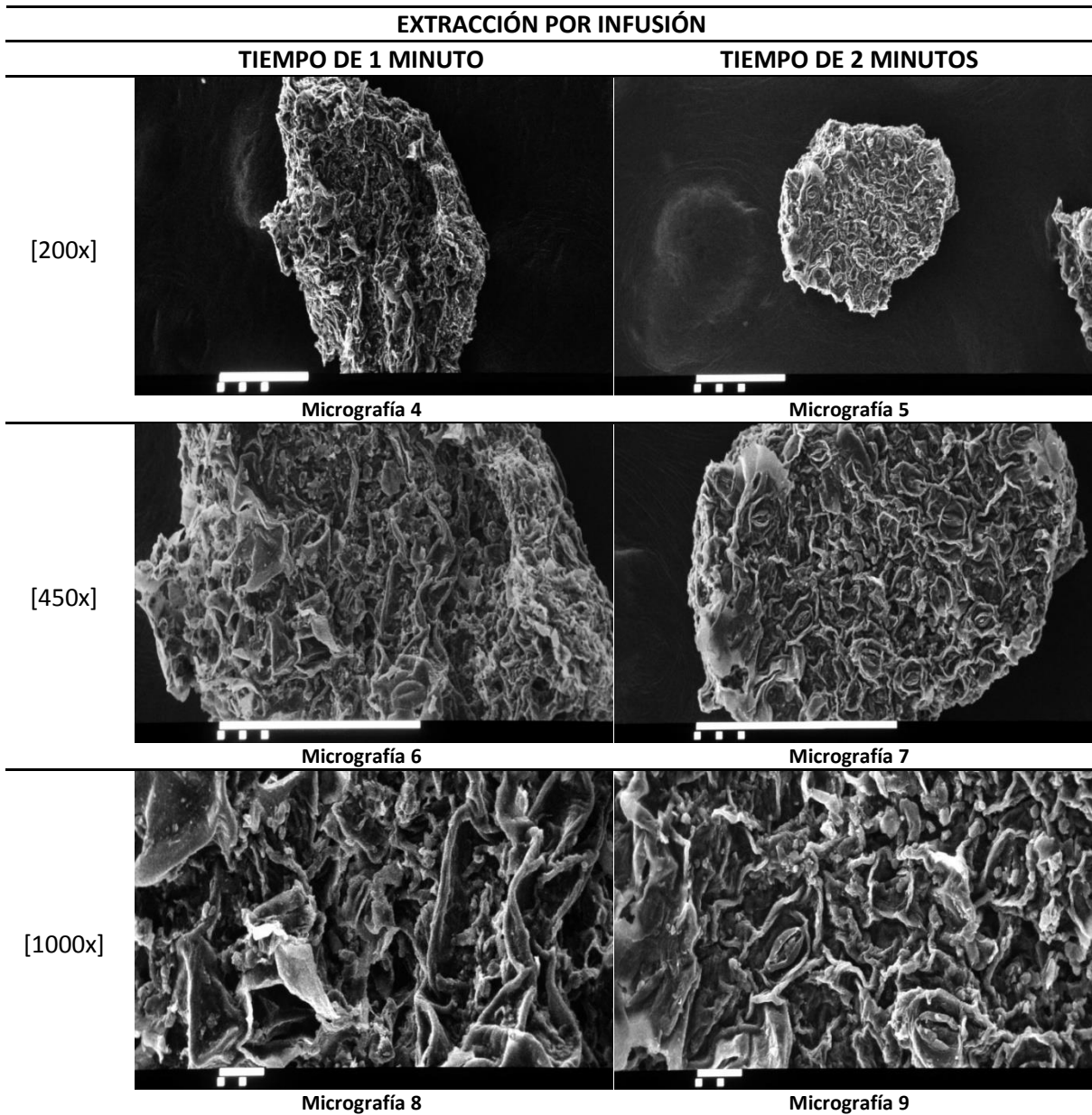
**Micrografía 3**

---

**Serie Fotográfica 2. Micrografías de menta negra (Antes de tratamiento).**

[Fotografías de Rodolfo Robles Gómez y Alejandra Sánchez]. (México. 2015). Laboratorio de Microscopía Electrónica de la FES Cuautitlán Campo 1.

Las Micrografía 4, 6 y 8, corresponden al método de extracción por infusión de un minuto, donde se observa que la morfología del material presenta grandes cavidades. Esto se puede apreciar aún más, en la Micrografía 5, Micrografía 7 y Micrografía 9 que corresponden al mismo método a tiempo de 2 minutos.



**Serie Fotográfica 3. Micrografías de menta negra (Después de tratamiento por infusión minuto 1 y 2).**  
 [Fotografías del Técnico Rodolfo Robles Gómez y Alejandra Sánchez]. (México. 2015). Laboratorio de Microscopía Electrónica de la FES Cuautitlán Campo 1.

En la Micrografía 10, Micrografía 13 y Micrografía 16, que corresponden al método de extracción por microondas a un minuto, se muestran las diferencias en el relieve de la superficie, en la que se aprecian huecos profundos. Lo anterior se puede ver en la Micrografía 11, Micrografía 14 y Micrografía 17 que corresponden a los dos minutos. En la Micrografía 12, Micrografía 15 y Micrografía 18 se observa que a los 3 minutos la superficie presenta una apariencia lisa, donde las cavidades son mínimas.

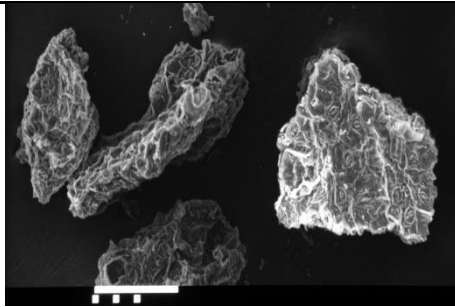
EXTRACCIÓN POR MICROONDAS

TIEMPO DE 1 MINUTO

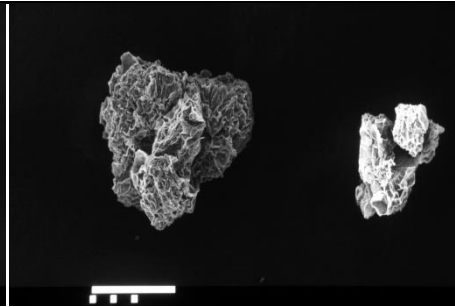
TIEMPO DE 2 MINUTOS

TIEMPO DE 3 MINUTOS

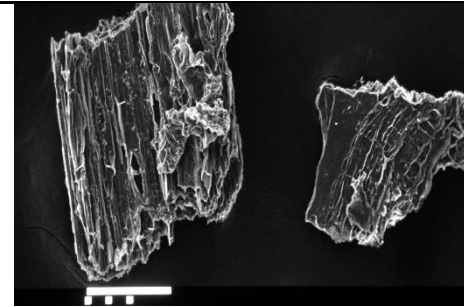
[200x]



Micrografía 10

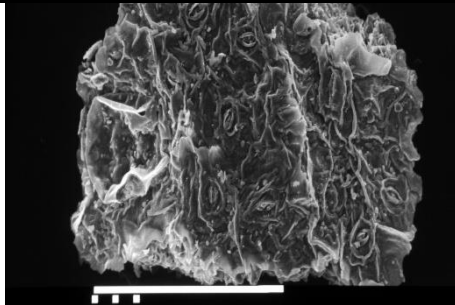


Micrografía 11

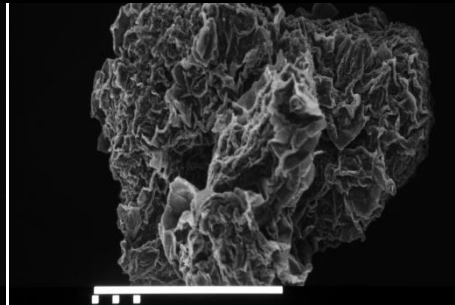


Micrografía 12

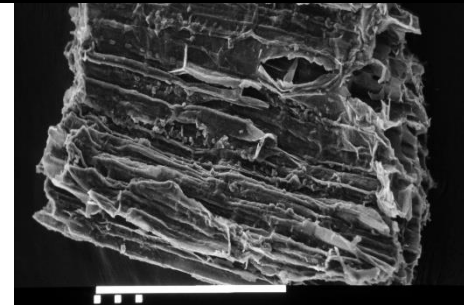
[450x]



Micrografía 13

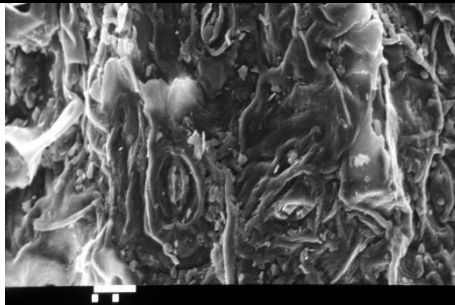


Micrografía 14

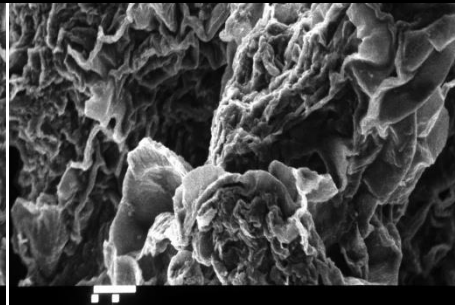


Micrografía 15

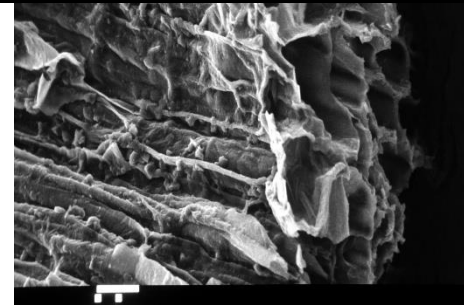
[1000x]



Micrografía 16



Micrografía 17



Micrografía 18

Serie Fotográfica 4. Micrografías de menta negra (Después de tratamiento por microondas minuto 3, 4 y 2).

[Fotografías del Técnico Rodolfo Robles Gómez y Alejandra Sánchez]. (México. 2015). Laboratorio de Microscopía Electrónica de la FES Cuautitlán Campo 1.

---

---

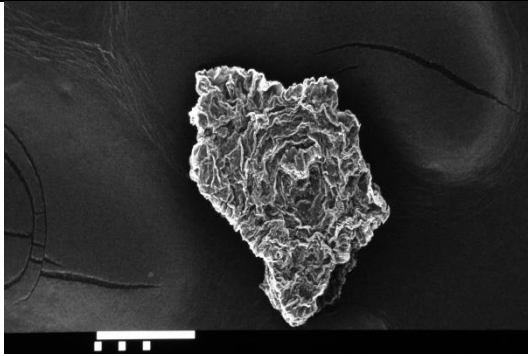
**EXTRACCIÓN POR SONICACIÓN**

---

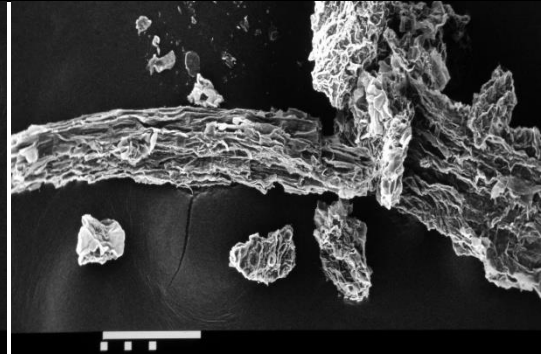
**TIEMPO DE 1 MINUTO**

**TIEMPO DE 2 MINUTOS**

[200x]

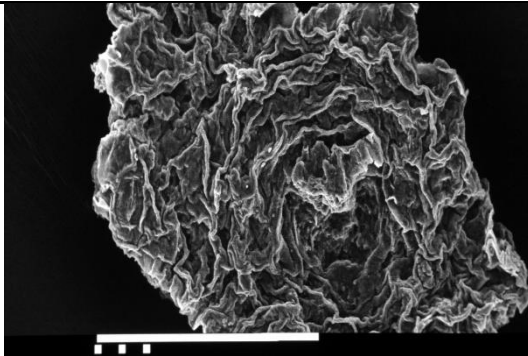


**Micrografía 19**

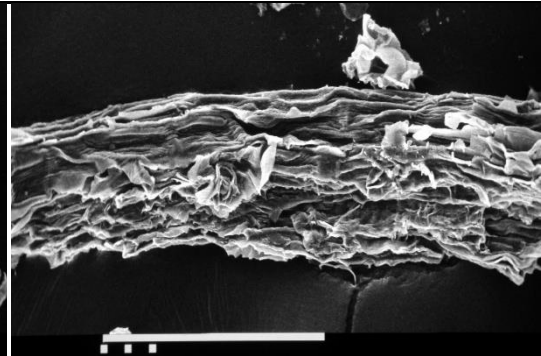


**Micrografía 20**

[450x]

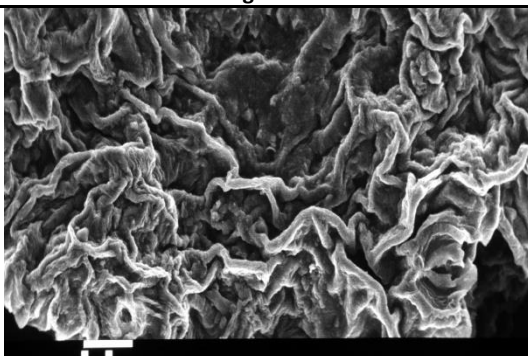


**Micrografía 21**

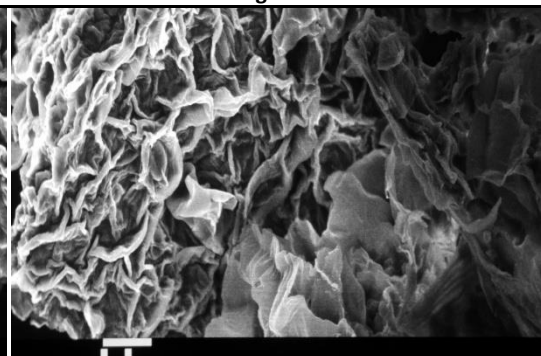


**Micrografía 22**

[1000x]



**Micrografía 23**



**Micrografía 24**

---

**Serie Fotográfica 5. Micrografías de menta negra (Después de tratamiento por sonicación minuto 1 y 2). [Fotografías de Rodolfo Robles Gómez y Alejandra Sánchez]. (México. 2015). Laboratorio de Microscopía Electrónica de la FES Cuautitlán Campo 1.**

De acuerdo con el análisis de las micrografías del marco vegetal se determinó que el mejor método de extracción es el asistido por microondas durante 1 minuto y a una potencia de 110 watts.

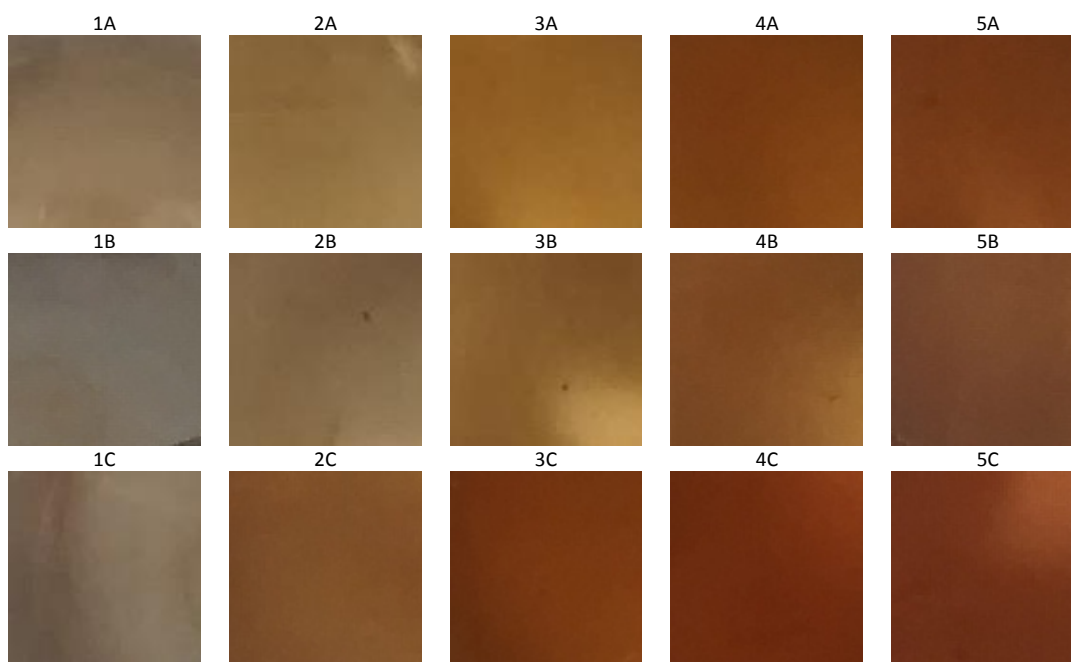
### 5.3 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS

#### 5.3.1 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

La reducción del ion plata por los componentes del extracto de menta negra es seguida por cambios de color, dado que en solución acuosa, las nanopartículas de plata exhiben una fuerte absorción de las ondas electromagnéticas en la región Visible debido a la resonancia de plasmón de superficie, lo que justifica el empleo de la Espectrofotometría UV-Vis.

Como se describió en la metodología, se utilizaron fuentes de energía como: calor convencional (baño María), microondas y sonicación, además se llevó a cabo la síntesis a temperatura ambiente.

En la Serie Fotográfica 6, se muestran los cambios de coloración de los cinco sistemas sintetizados a temperatura ambiente conforme transcurre el tiempo a los minutos de 1, 4 y 10.

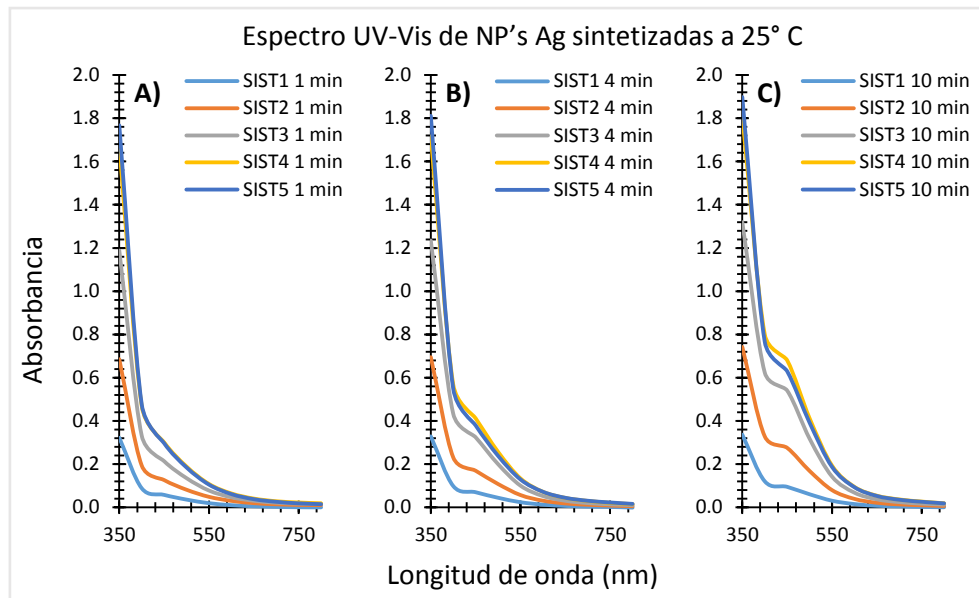


**Serie Fotográfica 6. Síntesis de NP's Ag a temperatura ambiente.**

**[Fotografías de Sara Lescas]. (México. 2015). Laboratorio L 301 de la FES Cuautitlán Campo 1.**

Nota: 1, 2, 3, 4, y 5 (Sistemas); A (minuto 1); B (minuto 4); C (minuto 10)

La serie fotográfica 6 muestra que al transcurrir el tiempo, se presentó un cambio de color (coloración con un ligero matiz rojo hasta un rojo oscuro) debido a la formación de nanopartículas de plata. En los espectros que se muestran en la Gráfica 9, se observa la aparición de una banda cercana a 450 nm, debida a la resonancia de plasmón de superficie, indicativa de la síntesis de las nanopartículas. En los espectros también se observa que conforme avanza el tiempo hay una mayor absorbancia y por ende una concentración mayor de nanopartículas, además de que la banda cercana a 450 nm se hace más definida. Otra observación que se puede enfatizar es que a mayor cantidad de extracto una absorbancia mayor y por tanto una concentración mayor de NP's Ag. (Das & Velusamy, 2013; Sulaiman et al., 2013).

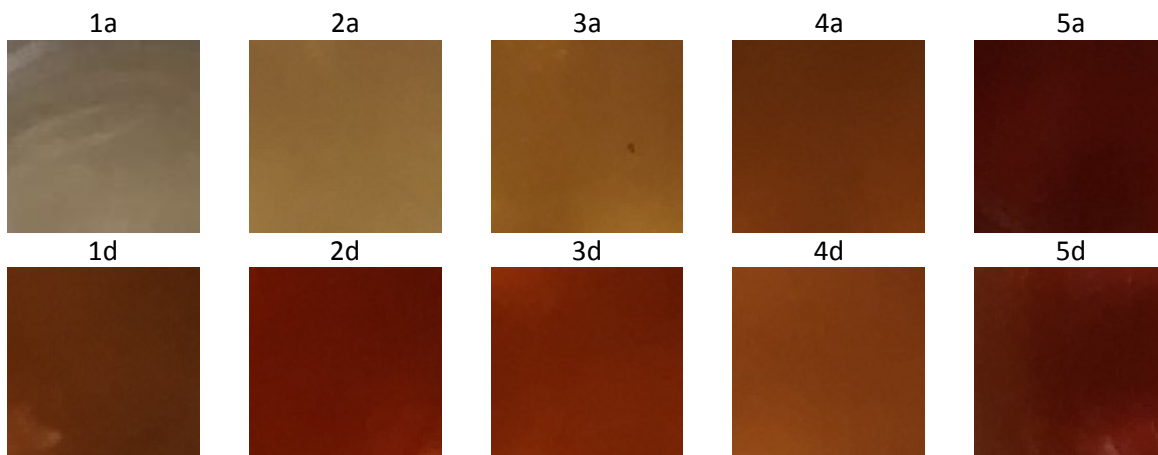


Gráfica 9. Espectro UV-Vis de NP's Ag sintetizadas a 25° C.

Con los resultados de la Gráfica 9 se demuestra y se confirma que la coloración que presenta el sistema está relacionada con la formación de nanopartículas, y que a su vez determina la intensidad del plasmón de superficie. Sin embargo, en las gráficas anteriores las bandas de absorción no están bien definidas, esto debido a que la reacción entre el extracto acuoso de menta negra y la solución acuosa de  $\text{AgNO}_3$  no se había llevado a cabo en su totalidad.

Utilizando calor convencional (baño María) se tiene un resultado antes y después de la reacción para cada tiempo (1, 4 y 10 minutos) con el objetivo de poder apreciar un cambio de coloración (significativa) en los sistemas.

En la Serie Fotográfica 7 nuevamente se observa el cambio de coloración gradual de cada uno de los sistemas, por medio de baño María.



Serie Fotográfica 7. Síntesis de NP's Ag por calor convencional (baño María) 1 min.

[Fotografías de Sara Lescas]. (México. 2015). Laboratorio L 301 de la FES Cuautitlán Campo 1.

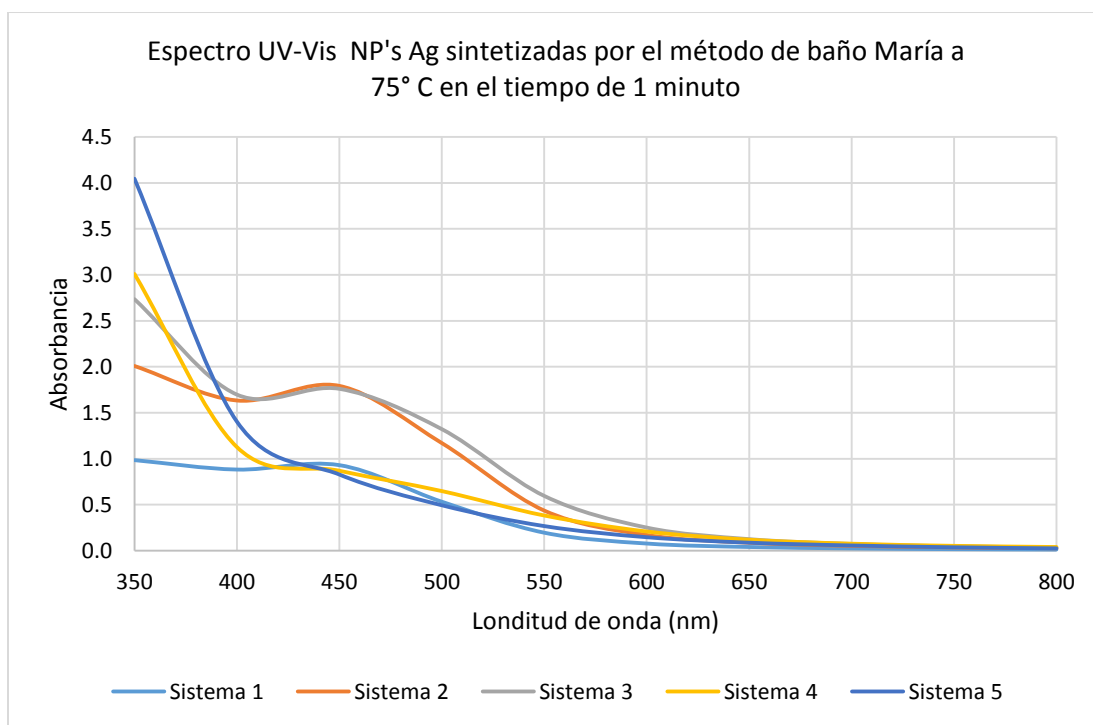
Nota: 1, 2, 3, 4 y 5 (Sistemas); a) Antes del tratamiento; d) Después de 1 minutos de tratamiento

Comparándolos con los colores a temperatura ambiente, estos se ven con una intensidad mayor indicando que la temperatura favorece la formación de las NP's Ag.

En la Gráfica 10 se aprecian máximos de absorbancia cercanos a los 450 nm; longitud de onda que indica la presencia de NP's Ag.

Si bien se tenía contemplada la premisa de que la cantidad formada de nanopartículas está directamente relacionada con el incremento gradual (para el extracto acuoso) del volumen (véase Gráfica 9), ciertamente no es así con respecto a los resultados de la Gráfica 10. La información que se puede tener, además de la auténtica presencia de nanopartículas, es que la estabilidad de las mismas está favorecida en aquellos sistemas donde se utilizó un volumen de extracto acuoso de 2 y 3 mL.

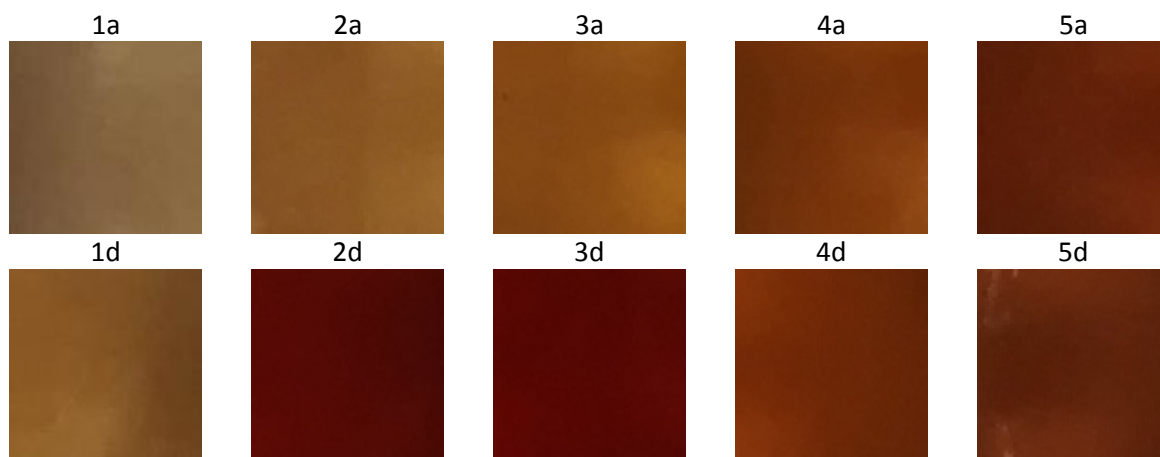
Una posible explicación de ello radica en la diferencia que existe entre las fuentes de energía que se han utilizado hasta el momento. En el caso de la síntesis en condiciones de temperatura ambiente, los sistemas siempre se encuentran en equilibrio con su entorno (no hay intercambio de energía); en cambio con calor convencional (baño María), a los sistemas se les está suministrando constantemente energía, provocando un cambio en formación y estabilidad de las nanopartículas. Hasta ahora se puede establecer que la concentración del reductor y la temperatura afectan la síntesis.



Gráfica 10. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de baño María a 75° C en el tiempo de 1 minuto.

En la Serie Fotográfica 8 se muestran los cambios de coloración de los sistemas sintetizados antes y cuatro minutos posteriores a su preparación, en ellos se observa que el sistema 2 y 3 presentaron una coloración más intensa en comparación con los demás sistemas. Así mismo, la Gráfica 11 muestra los resultados de estos sistemas.

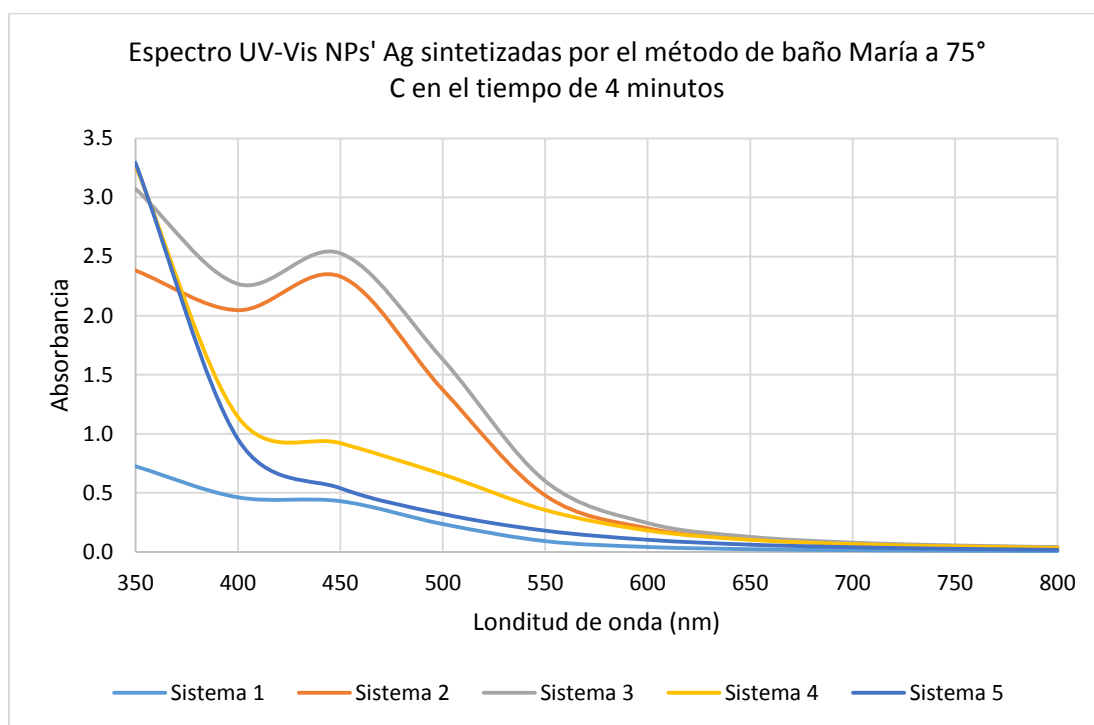




**Serie Fotográfica 8. Síntesis de NP's Ag por calor convencional (baño María) 4 min.**

**[Fotografías de Sara Lescas]. (México. 2015). Laboratorio L 301 de la FES Cuautitlán Campo 1.**

Nota: 1, 2, 3, 4 y 5 (Sistemas); a) Antes del tratamiento; d) Después de 4 minutos de tratamiento.

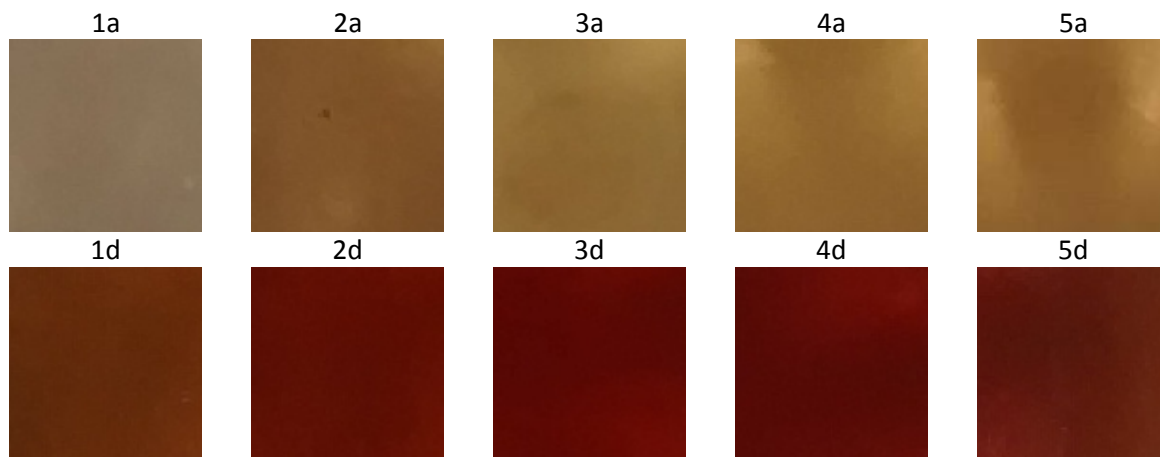


**Gráfica 11. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de baño María a 75° C en el tiempo de 4 minuto.**

La Gráfica 11 muestra el mismo comportamiento de la Gráfica 10, con la diferencia de que el incremento del tiempo de síntesis (4 minutos) favoreció aún más en la formación de las NP's Ag. También, se puede apreciar que los sistemas 2 y 3 son los que más sobresalen, aludiendo a que son los que tienen mayor estabilidad.

En la Serie Fotográfica 9 se muestra que los sistemas 2, 3 y 4 presentaron una coloración intensa posterior a su tratamiento. Así mismo, en la Gráfica 12 se muestran los espectros que corresponden únicamente a los sistemas sintetizados en el tiempo de 10 minutos, donde se puede apreciar que el sistema 4 es el que sobre sale más en comparación con los demás.

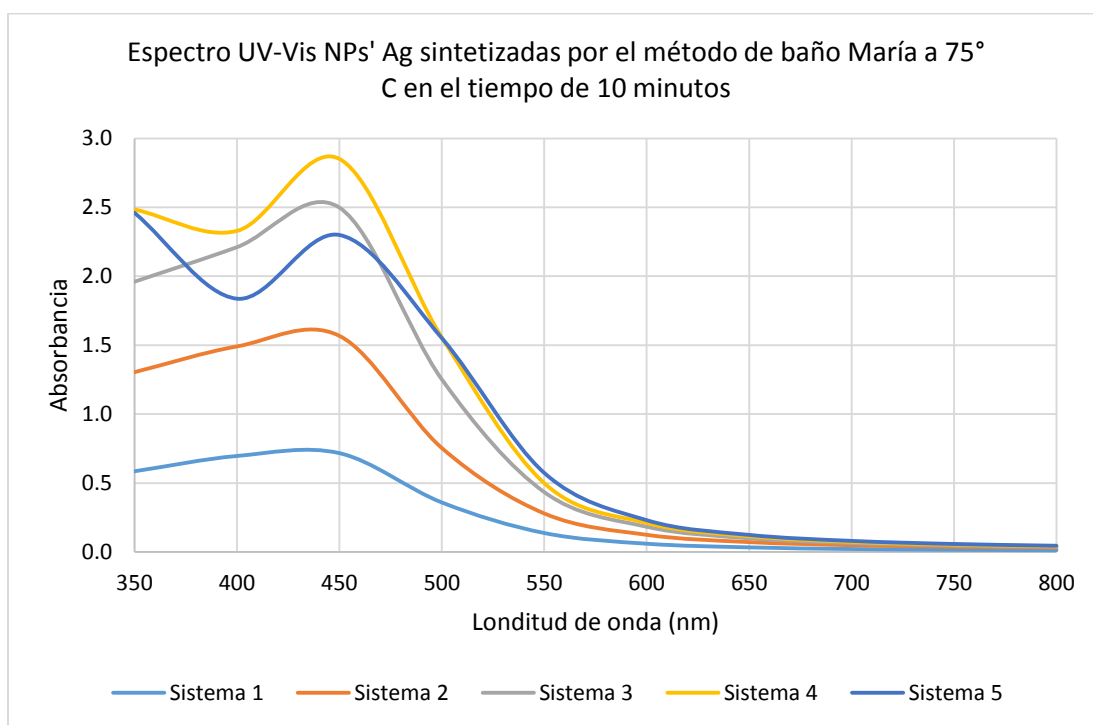




**Serie Fotográfica 9. Síntesis de NP's Ag por calor convencional (baño María) 10 min.**

**[Fotografías de Sara Lescas]. (México. 2015). Laboratorio L 301 de la FES Cuautitlán Campo 1.**

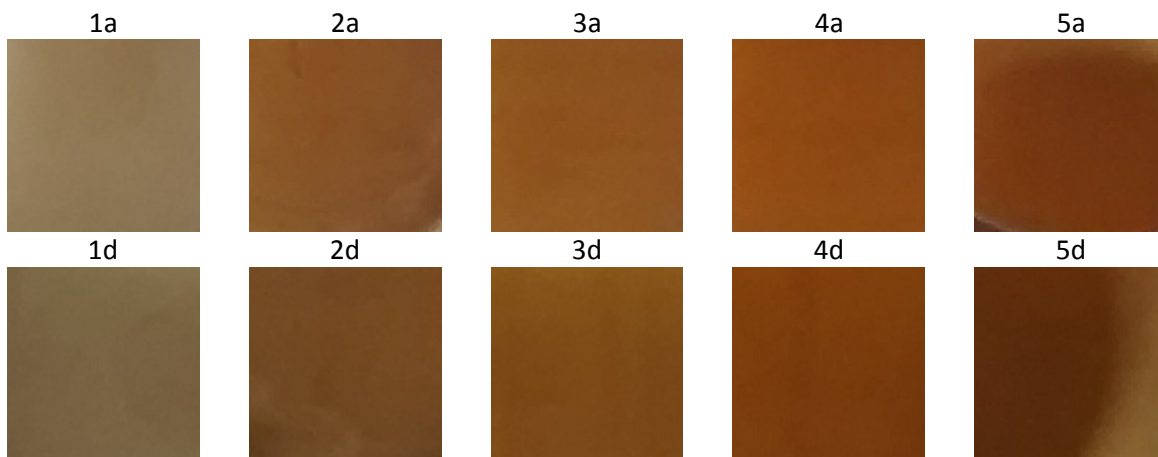
Nota: 1, 2, 3, 4 y 5 (Sistemas); a) Antes del tratamiento; d) Después de 10 minutos de tratamiento.



**Gráfica 12. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de baño María a 75° C en el tiempo de 10 minutos.**

Si a la formación de NP's Ag se les hace una comparación, en este punto, entre una síntesis a temperatura ambiente (sin utilizar una fuente de calor) y una síntesis usando calor convencional (baño María) se puede apreciar claramente que los sistemas donde hay máximos de absorbancia sobresalientes corresponden a aquellos donde se llevó a cabo la síntesis por medio del baño María. Lo anterior se hace referente a que por el método de baño María la temperatura de reacción para los sistemas fue de 75° C, lo cual se tomaría como un factor significativo a considerar para la síntesis.

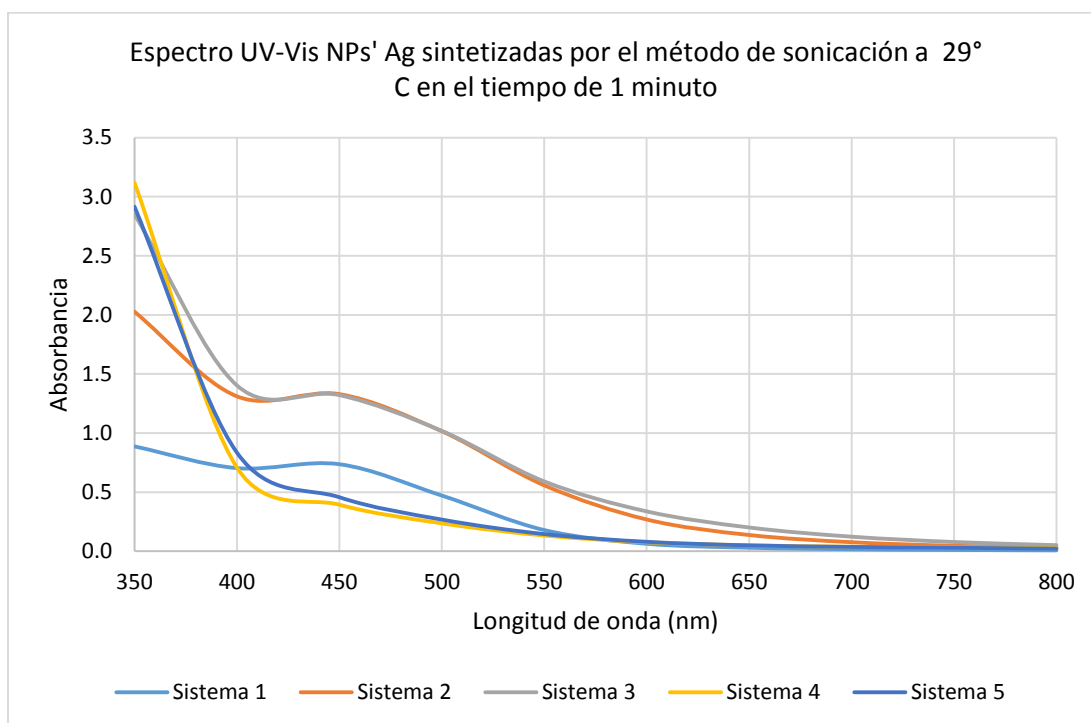
En la Serie Fotográfica 10 se muestran los cambios de coloración de los sistemas sintetizados (por sonicación) antes y un minuto posterior a su preparación. En la Gráfica 13 se muestran los espectros correspondientes a los sistemas después de su síntesis.



**Serie Fotográfica 10. Síntesis de NP's Ag por sonicación 1 min.**

[Fotografías de Sara Lescas]. (México. 2015). Laboratorio L 301 de la FES Cuautitlán Campo 1.

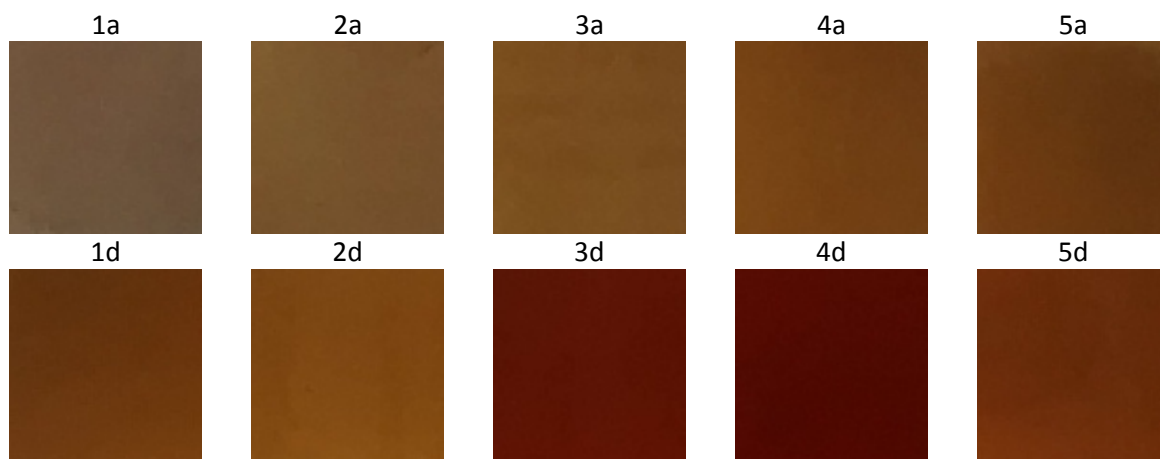
Nota: 1, 2, 3, 4 y 5 (Sistemas); a) Antes del tratamiento; d) Después de 1 minuto de tratamiento.



**Gráfica 13. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de sonicación a 29° C en el tiempo de 1 minuto.**

Como se aprecia en la Gráfica 13 el comportamiento de los barridos es muy similar a los gráficos que corresponden al método de baño María. El significado de esto puede incidir en que la administración de una fuente de energía ayuda a la formación y favorece a la estabilidad de las NP's, destacando que en este caso los sistemas de 2 y 3 mL (mismos en baño María) tienen una mayor absorbancia en la longitud de onda de 450 nm.

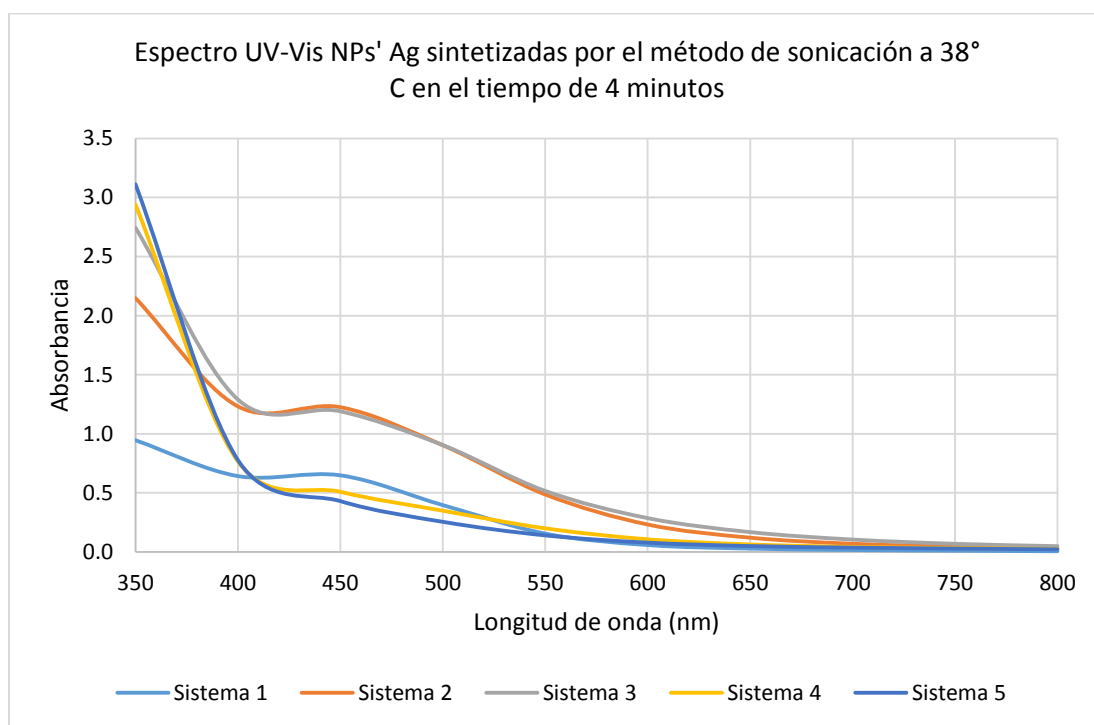
En la Serie Fotográfica 11 se muestran los cambios de coloración de los sistemas sintetizados antes y cuatro minutos posteriores a su preparación. Así mismo, en la Gráfica 14 se muestran los espectros que corresponden únicamente a los sistemas después de la síntesis.



**Serie Fotográfica 11. Síntesis de NP's Ag por sonicación 4 min.**

[Fotografías de Sara Lescas]. (México. 2015). Laboratorio L 301 de la FES Cuautitlán Campo 1.

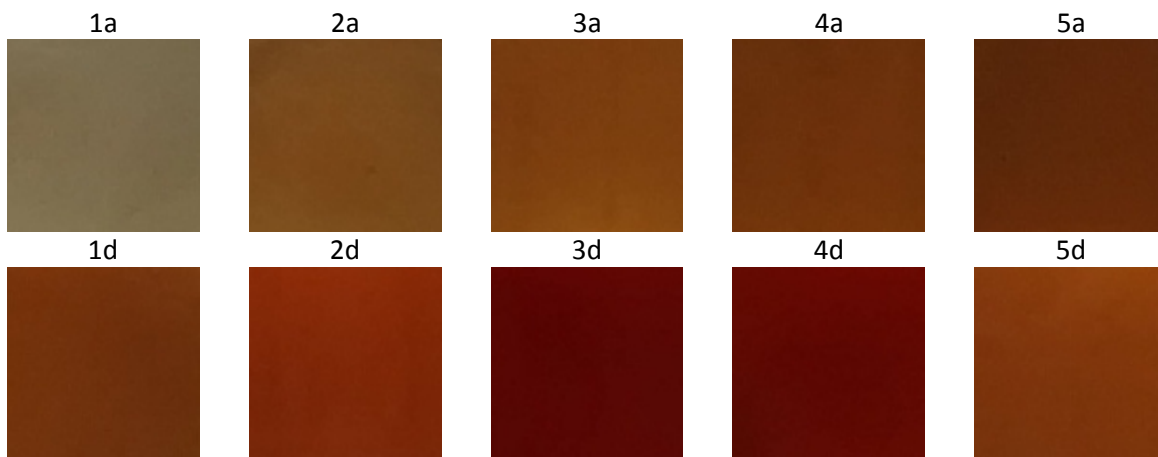
Nota: 1, 2, 3, 4 y 5 (Sistemas); a) Antes del tratamiento; d) Después de 4 minutos de tratamiento.



**Gráfica 14. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de sonicación a 38° C en el tiempo de 4 minutos.**

En la Gráfica 14 no se observa un cambio significativo en referencia a la Gráfica 13. Lo único significativo es que los sistemas 2 y 3 siguen siendo los más estables a pesar de que se emplearon 4 minutos en la reacción de síntesis, lo que se supondría que hubiera un aumento en las absorbancias de los sistemas.

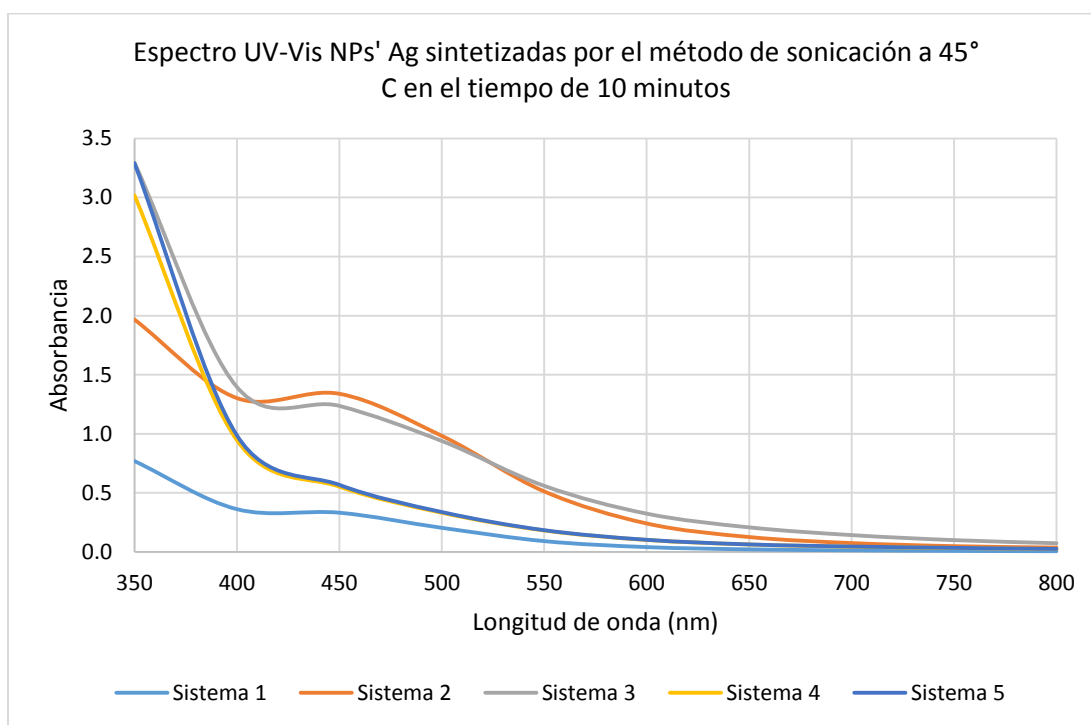
En la Serie Fotográfica 12 se muestran los cambios de coloración de los sistemas sintetizados antes y diez minutos posteriores a su preparación. Así mismo, en la Gráfica 15 se muestran los espectros que corresponden únicamente a los sistemas después del transcurso de diez minutos de reacción.



**Serie Fotográfica 12. Síntesis de NP's Ag por sonicación 10 min.**

[Fotografías de Sara Lescas]. (México. 2015). Laboratorio L 301 de la FES Cuautitlán Campo 1

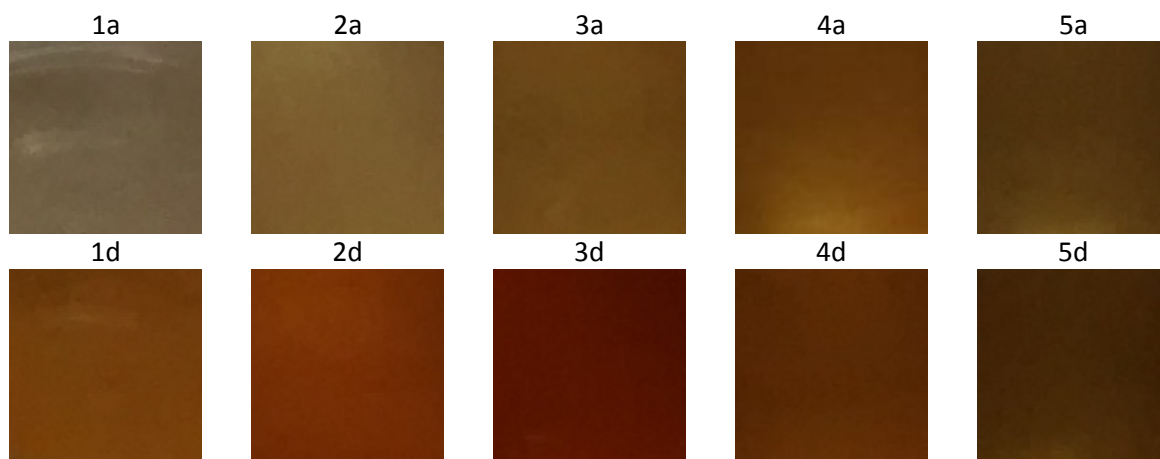
Nota: 1, 2, 3, 4 y 5 (Sistemas); a) Antes del tratamiento; d) Después de 10 minutos de tratamiento.



**Gráfica 15. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de sonicación a 38° C en el tiempo de 10 minutos.**

Dado que la Gráfica 15 representa los resultados de los últimos sistemas que se llevaron a cabo por sonicación con un tiempo de síntesis de 10 minutos, se puede afirmar que este método no es el ideal para llevar a cabo la síntesis y obtención de nanopartículas, porque haciendo una comparación de los resultados del método de síntesis por baño María, estos se ven eclipsados. Sin embargo, lo más importante a destacar es que los sistemas 2 y 3 se ven favorecidos con la administración de una fuente de energía (ya sea con baño María o sonicación) que los hace ser los sistemas más estables.

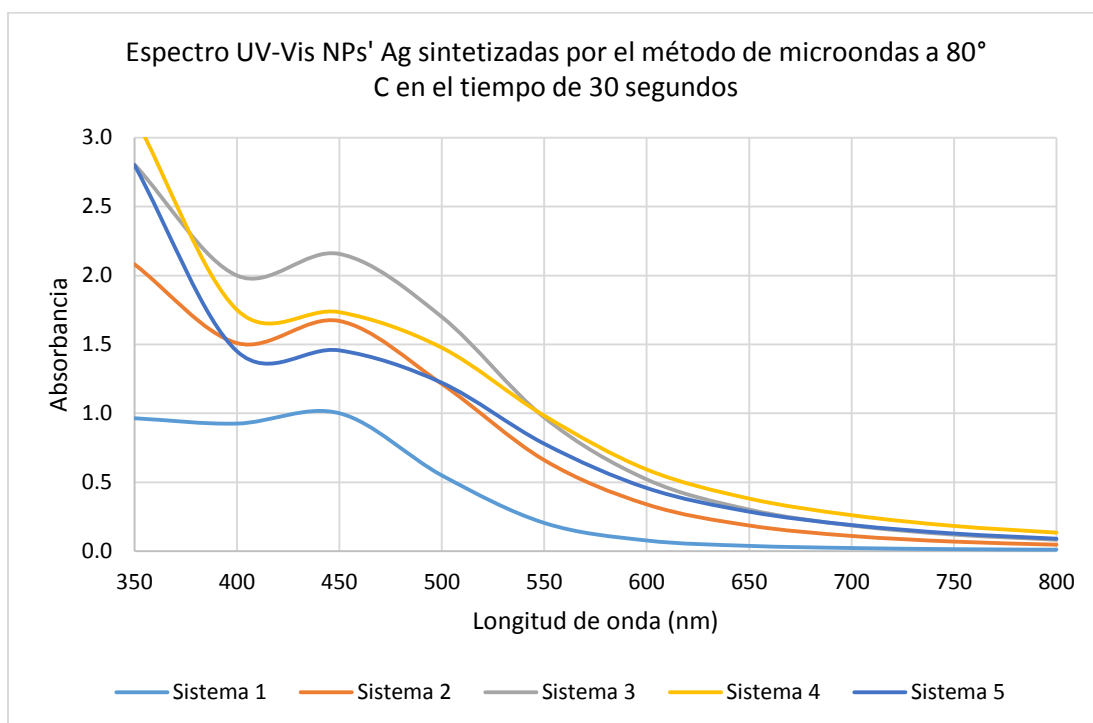
En la Serie Fotográfica 13 se muestran los cambios de coloración de los sistemas sintetizados antes y 30 s posteriores a su preparación por el método de síntesis asistida por uso de microondas. En la Gráfica 16 se muestran los espectros correspondientes.



**Serie Fotográfica 13. Síntesis de NP's Ag por microondas 30 s.**

[Fotografías de Sara Lescas]. (México. 2015). Laboratorio L 301 de la FES Cuautitlán Campo 1.

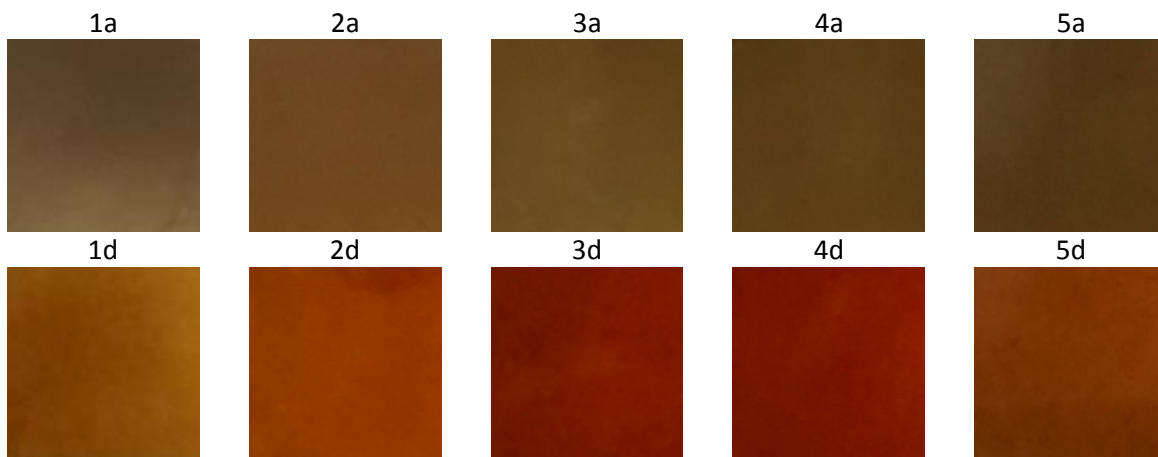
Nota: 1, 2, 3, 4 y 5 (Sistemas); a) Antes del tratamiento; d) Después de 30 segundos de tratamiento.



**Gráfica 16. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de microondas a 80° C en el tiempo de 30 segundos.**

En la Gráfica 16 se puede ver un incremento considerable en las absorbancias de todos los sistemas, destacando al sistema 3. Lo importante de este hecho es que el tiempo de reacción fue de tan solo 30 segundos, un tiempo importante a considerar si se quiere tener un método de síntesis que cumpla con el objetivo de este trabajo.

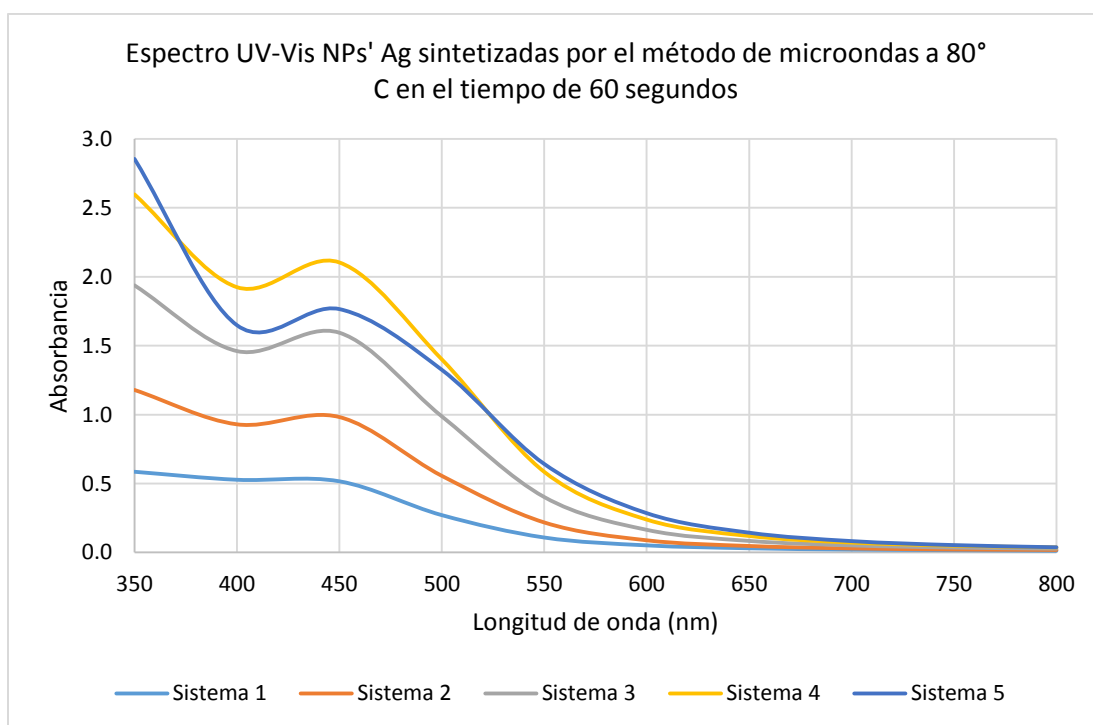
La Serie Fotográfica 14 se muestra los cambios de coloración de los sistemas sintetizados con microondas, antes y 60 s posteriores a su preparación. Así mismo, en la Gráfica 17 se muestran los espectros que corresponden únicamente a los sistemas después del transcurso de 60 s de reacción.



**Serie Fotográfica 14. Síntesis de NP's Ag por microondas 60 s.**

[Fotografías de Sara Lescas]. (México. 2015). Laboratorio L 301 de la FES Cuautitlán Campo 1.

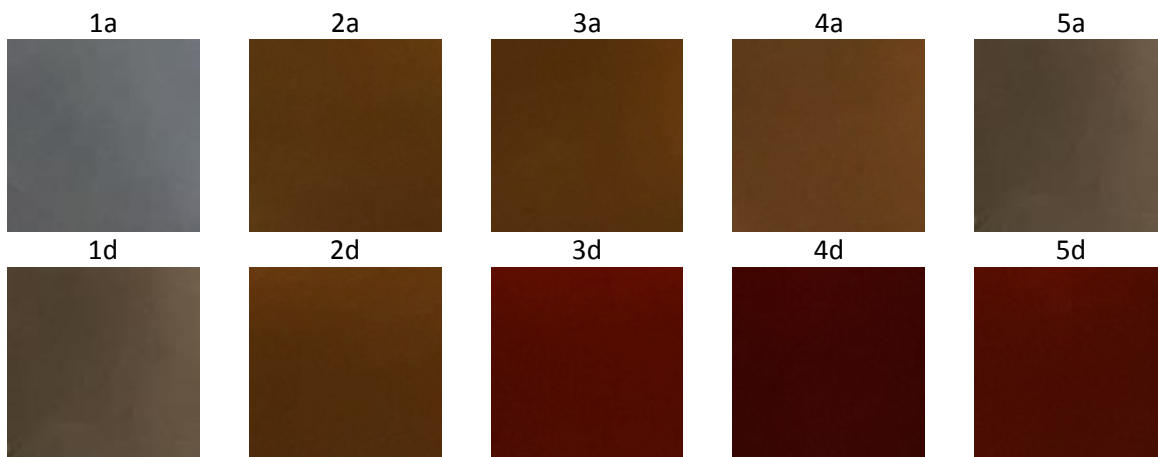
Nota: 1, 2, 3, 4 y 5 (Sistemas); a) Antes del tratamiento; d) Después de 60 segundos de tratamiento.



**Gráfica 17. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de microondas a 80° C en el tiempo de 60 segundos.**

Los espectros de los sistemas de la Gráfica 17 muestran un comportamiento similar a los de la Gráfica 16, resaltado que al tiempo de 60 s de reacción el sistema 4 sobresale más con respecto a los demás. A pesar que no exista una mejora significativa en los máximos de absorbancia, resultados que se tienen son mejores en comparación con los métodos de baño María y sonicación.

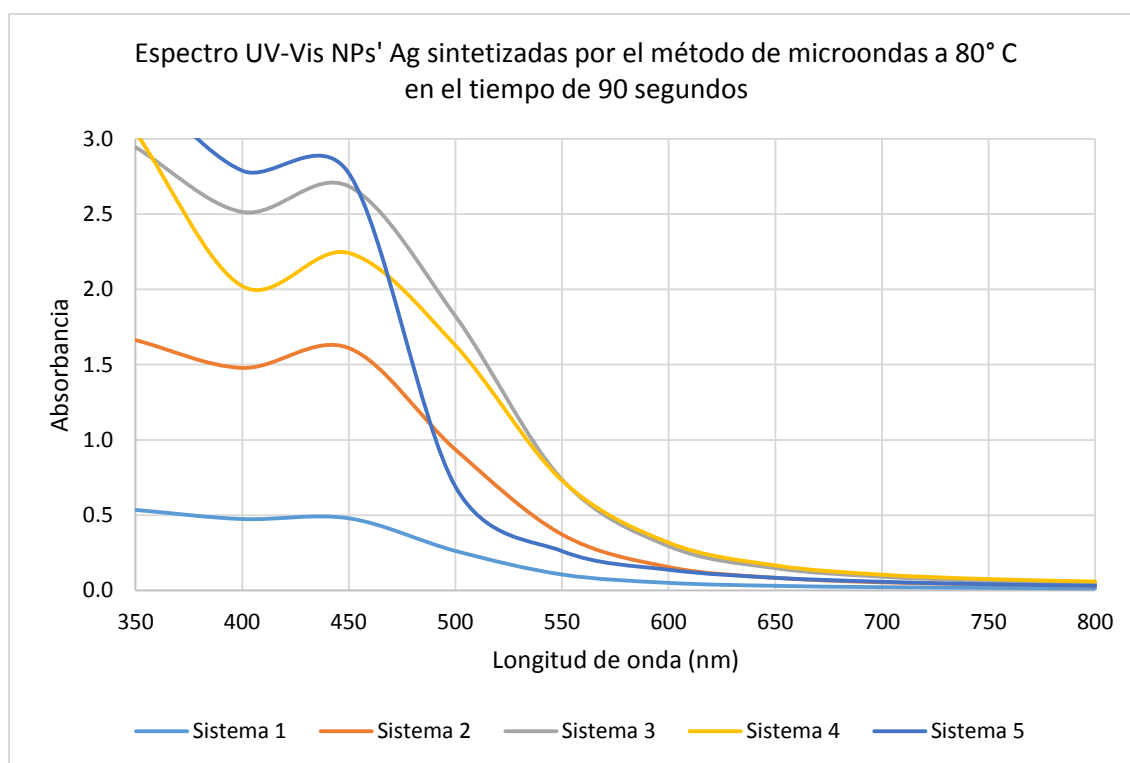
En la Serie Fotográfica 15 se muestran los cambios de coloración de los sistemas sintetizados antes y noventa segundos posteriores a su preparación. Así mismo, en la Gráfica 18 se muestran los espectros correspondientes a cada uno.



**Serie Fotográfica 15. Síntesis de NP's Ag por microondas 90 s.**

**[Fotografías de Sara Lescas]. (México. 2015). Laboratorio L 301 de la FES Cuautitlán Campo 1**

Nota: 1, 2, 3, 4 y 5 (Sistemas); a) Antes del tratamiento; d) Después de 90 segundos de tratamiento.



**Gráfica 18. Espectro UV-Vis NP's Ag sintetizadas por el método de microondas a 80° C en el tiempo de 90 segundos.**

El incremento de las absorbancias de los sistemas con un tiempo de reacción de 90 s de la Gráfica 18 es altamente significativo. Los valores máximos de absorbancia que cada sistema se registró cerca de la longitud de 450 nm, que concuerda con lo que se ha mencionado.

Debido a que el calentamiento por microondas actúa a un diferente nivel de estructura de la materia, los tiempos para alcanzar temperaturas más altas, comparándolas con la temperatura ambiente, son más cortos en comparación al calor convencional.

En base a lo anterior, se eligió que el mejor método para la síntesis de NP's Ag es microondas a un tiempo de 90 s.

### 5.3.2 TAMAÑO DE PARTÍCULA E ÍNDICE DE POLIDISPERSIÓN

La característica más importante de una nanopartícula (en concreto con este trabajo, una nanopartícula metálica) radica en su tamaño y en la organización interna de los átomos que la componen. La aplicación y el buen funcionamiento de una nanopartícula dependen del tamaño que esta tenga y de una morfología, otorgada por la dispersión y distribución de los átomos metálicos (Xia, Gates, Yin, & Lu, 2000).

En el Anexo F se muestran los resultados obtenidos por el equipo Z-SIZER Nano-ZS90, donde se da a conocer el tamaño (aproximado) de la nanopartícula de cada uno de los sistemas sintetizados por los diferentes métodos con su tiempo de reacción. Estos resultados son obtenidos por una respuesta en forma de barrido, y este puede tener uno o más "picos" que representan a un porcentaje del tamaño de la población de nanopartículas presentes en el medio (véase Anexo G). La forma de determinar el tamaño de la nanopartícula por el equipo Z-SIZER es por una técnica física llamada dispersión dinámica de luz (DLS<sup>5</sup>).

En la Tabla 24 se tiene los valores de tamaño de partícula de cada método, así como su desviación estándar y el porcentaje de intensidad.

**Tabla 24. Datos obtenidos por Z-SIZER para cada método de síntesis.**

<b>Método de síntesis</b>	<b>Tamaño (nm)</b>	<b>Desviación estándar (nm)</b>	<b>Porcentaje de intensidad (%)</b>
<b>Microondas</b>	73.3	28.3	89.5
<b>Sonicación</b>	68.7	28.5	85.0
<b>Baño María</b>	70.0	30.2	86.5
<b>Temperatura ambiente</b>	57.2	21.6	82.4

La información de la Tabla 24 determina que el método menos eficiente para tener una buena partícula es aquel donde la síntesis se lleva a cabo a temperatura ambiente; lo cual; da pauta a la alta posibilidad que uno de los factores que está estrechamente relacionado con la síntesis de las nanopartículas (y que influye en su tamaño) sea el calor.

A pesar de que los valores de los tres métodos restantes son cercanos entre sí, se puede apreciar que el método de síntesis asistida por microondas destaca por encima de los otros dos, debido a que tiene una desviación estándar menor (28.3 nm) y una población (o intensidad) que es más notoria que los demás (89.5%). Con ello se concluye que, en cuanto al tamaño de partícula, la síntesis asistida por microondas es la más adecuada

Otro parámetro que se obtuvo del equipo Z-SIZER es el índice de polidispersión (PDI<sup>6</sup>) el cual indica que tan uniforme es el sistema (si el sistema en cuestión es monodisperso), es decir; la composición del sistema debe de tener el mismo tamaño de partícula para que la trayectoria de la luz sea la

<sup>5</sup> DLS: "Dynamic Light Scattering"

<sup>6</sup> PDI: "Polydispersity index"



misma o parecida al pasar por las partículas. Si el sistema contiene varios tamaños de partícula, el comportamiento de la trayectoria de la luz será disperso.

Dicho lo anterior, los resultados que se obtuvieron de ese parámetro no fueron satisfactorios (véase Anexo G), ya que de acuerdo con el criterio de calidad<sup>7</sup> que el equipo utiliza, los valores de índice de polidispersión reflejan el hecho de que los sistemas tienen una distribución de tamaño muy amplio y que probablemente, no es adecuado para la técnica de dispersión de luz dinámica (DLS).

Por todo lo anterior referente a lo que implica al tamaño de partícula, basta con mencionar que la calidad de las nanopartículas sintetizadas no es muy buena, por lo que se tendría que hacer una optimización del método de síntesis.

### 5.3.3 DETERMINACIÓN Y ELECCIÓN DE MÉTODO DE SÍNTESIS ÓPTIMO PARA LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA POR ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El procedimiento ANOVA Multifactorial está diseñado para construir un modelo estadístico describiendo el impacto de dos o más factores de una variable dependiente.

La importancia de aplicar este tipo de análisis implica en reconocer los factores involucrados en la síntesis de NP's Ag, utilizando todos los resultados obtenidos a lo largo del trabajo. Esto es importante debido a que se pueden descartar los factores que merman el resultado, o bien, utilizarlos para optimizar la(s) respuestas.

Para la respuesta de longitud de onda se puede observar en la Tabla 25 que el volumen del extracto que se emplea para la síntesis representa un factor significativo (Valor-P 0.0012). Esto quiere decir que la cantidad de nanopartículas presentes en los sistemas con diferente volumen de extracto difieren en cuanto al plasmón de superficie producido por cada uno de los sistemas ya que absorben diferente longitud de onda. Por consiguiente, la cantidad de extracto, influye directamente en la síntesis de nanopartículas. Es decir, se pueden producir un mayor número de nanopartículas, que pueden interaccionar entre ellas produciendo un desplazamiento de la banda y un ensanchamiento.

Tabla 25. Análisis de Varianza para longitud de onda - Suma de Cuadrados Tipo III.

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P <sup>8</sup>
<b>COVARIABLES</b>					
TEMPERATURA	16.2	1.0	16.2	0.5	0.4863
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:MÉTODO	214.6	3.0	71.5	2.2	0.1034
B:VOLUMEN	709.3	4.0	177.3	5.4	<b>0.0012</b>
C:TIEMPO	130.5	4.0	32.6	1.0	0.4209
RESIDUOS	1545.4	47.0	32.9		
TOTAL (CORREGIDO)	3426.3	59.0			

<sup>7</sup> ISO 13321: 1996 e ISO 22412: 2008.

<sup>8</sup> Significancia valor-p ≤ 0.05, con un nivel de confianza al 95%

Para ejemplificar lo anterior se puede observar en la Tabla 26 que la distribución de los grupos homogéneos no cumple con el criterio de “homogeneidad”, debido a que existe variabilidad estadística entre los volúmenes que se utilizan para la síntesis de nanopartículas. Para más específico, se puede observar que existe una diferencia significativa entre el volumen de extracto de 1 mL con 3, 4, y 5 mL; y a su vez, el volumen de 2 mL con 4 y 5 mL. Por consiguiente, la longitud de onda está relacionada con la cantidad de energía que se necesita para excitar los electrones en la superficie del metal para que estos oscilen, fenómeno conocido como resonancia de plasmón de superficie, generando un campo eléctrico. Sin embargo, la banda representativa de este fenómeno, puede sufrir ligeros desplazamientos debido a interacciones entre las partículas que modifican los campos eléctricos formados (se necesita una cantidad suficiente de partículas para que la distancia entre ellas no distorsionen sus campos eléctricos y por ende la longitud de onda no se desplace). Lo que se observa entre los sistemas 3,4 y 5 de la mayoría de los espectros.

**Tabla 26. Pruebas de Múltiple Rangos para longitud de onda por volumen (Método: 95.0 porcentaje LSD).**

VOLUMEN	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
1	12	438.3	1.8	X
2	12	441.7	1.8	XX
3	12	444.7	1.8	XX
5	12	447.0	1.8	X
4	12	447.5	1.8	X

CONTRASTE	SIG.	DIFERENCIA	+/- LÍMITES
1 - 2		-3.3	4.7
1 - 3	*	<b>-6.3</b>	4.7
1 - 4	*	<b>-9.2</b>	4.7
1 - 5	*	<b>-8.7</b>	4.7
2 - 3		-3.0	4.7
2 - 4	*	<b>-5.8</b>	4.7
2 - 5	*	<b>-5.3</b>	4.7
3 - 4		-2.8	4.7
3 - 5		-2.3	4.7
4 - 5		0.5	4.7

\* indica una diferencia significativa.

Ahora bien, si la longitud de onda sirve para determinar la presencia de nanopartículas de plata en el sistema, la intensidad de la banda (absorbancia) ayuda a determinar la concentración presente en el medio. Cabe mencionar que, esta no es una forma de determinación estrictamente cuantitativa; sin embargo, ayuda a comprender que a una absorbancia mayor, la cantidad de nanopartículas será mayor.

Igual que la longitud de onda, los factores que tienen un impacto significativo sobre intensidad de la banda (absorbancia) son: el método de síntesis (Valor-P 0.0262) y el volumen del extracto (Valor-P 0.0014); donde dichos valores se pueden ver en la Tabla 27 .

Tabla 27. Análisis de Varianza para absorbancia - Suma de Cuadrados Tipo III.

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P <sup>9</sup>
<b>COVARIABLES</b>					
TEMPERATURA	0.5	1.0	0.5	1.7	0.1981
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:MÉTODO	2.8	3.0	0.9	3.4	<b>0.0262</b>
B:VOLUMEN	5.7	4.0	1.4	5.2	<b>0.0014</b>
C:TIEMPO	1.9	4.0	0.5	1.8	0.1544
RESIDUOS	12.9	47.0	0.3		
TOTAL (CORREGIDO)	38.6	59.0			

Como se puede observar, el factor que se vuelve a repetir para esta respuesta es el volumen. El valor de P es prácticamente el mismo que el de la respuesta de la longitud de onda (Valor-P 0.0012). Por lo que se puede concluir que (al igual que en el de longitud de onda) la absorbancia se ve afectada por el volumen que se utiliza en los sistemas (véase Tabla 28), observándose que esta relación es aún más marcada. Como la ley de Lambert-Beer indica, existe una relación directa entre absorbancia y concentración, lo que se comprueba con los resultados. Con los datos obtenidos se pudo observar que la intensidad de la banda (absorbancia) depende de la cantidad de partículas formadas, pero cuando hay un gran número y se dan ciertas interacciones, esta banda puede verse disminuida. Esto se observa en el contraste entre los sistemas 3 y 5. La cantidad adecuada de partículas está en el sistema 3 en 4 y 5 ya se manifiestan interacciones.

Tabla 28. Pruebas de Múltiple Rangos para absorbancia por volumen (Método: 95.0 porcentaje LSD).

VOLUMEN	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
1	12	0.7	0.2	X
5	12	1.2	0.2	X
4	12	1.2	0.2	XX
2	12	1.3	0.2	XX
3	12	1.6	0.2	X

CONTRASTE	SIG.	DIFERENCIA	+/- LÍMITES
1 - 2	*	<b>-0.6</b>	0.4
1 - 3	*	<b>-1.0</b>	0.4
1 - 4	*	<b>-0.6</b>	0.4
1 - 5	*	<b>-0.5</b>	0.4
2 - 3		-0.3	0.4
2 - 4		0.1	0.4
2 - 5		0.2	0.4
3 - 4		0.4	0.4
3 - 5	*	<b>0.5</b>	0.4
4 - 5		0.1	0.4

\* indica una diferencia significativa.

<sup>9</sup> Significancia valor-p ≤ 0.05, con un nivel de confianza al 95%

Sin embargo, se tiene que retomar que otro factor que afecta significativamente a la intensidad de la banda es el tipo de método por el cual se sintetizan las nanopartículas de plata. Como se observa en la Tabla 29 el método que presenta una mayor variación es el de síntesis a temperatura ambiente en comparación con los otros tres métodos. En este método la intensidad de las bandas obtenidas (absorbancias) es menor que las que se obtuvieron con los otros tres métodos.

**Tabla 29. Pruebas de Múltiple Rangos para absorbancia por método (Método: 95.0 porcentaje LSD).**

MÉTODO	CASOS	MEDIA	LS	SIGMA	LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Temperatura ambiente	15	-0.6	0.8	X		
Sonicación	15	0.5	0.5	X		
Baño María	15	2.3	0.5	X		
Microondas	15	2.5	0.7	X		

CONTRASTE	SIG.	DIFERENCIA +/-	LÍMITES
Baño María – Temperatura ambiente	*	<b>2.9</b>	2.6
Baño María - Microondas		-0.2	0.7
Baño María - Sonicación		1.8	2.0
Temperatura ambiente - Microondas	*	<b>-3.1</b>	3.0
Temperatura ambiente - Sonicación	*	<b>-1.1</b>	0.7
Microondas - Sonicación		2.0	2.4

\* indica una diferencia significativa

Por último, la respuesta más significativa es el tamaño de partícula. Esta una respuesta importante debido a que otorga las cualidades necesarias para la funcionalidad y aplicación requerida de una nanopartícula metálica.

En la Tabla 30 se puede observar que el único factor con un grado de significancia es el tiempo (Valor-P 0.0043).

**Tabla 30. Análisis de Varianza para tamaño - Suma de Cuadrados Tipo III.**

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P <sup>10</sup>
<b>COVARIABLES</b>					
TEMPERATURA	3.5	1.0	3.5	0.0	0.8458
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:MÉTODO	703.6	3.0	234.5	2.5	0.0685
B:VOLUMEN	552.2	4.0	138.0	1.5	0.2206
C:TIEMPO	1624.2	4.0	406.1	4.4	<b>0.0043</b>
RESIDUOS	4357.0	47.0	92.7		
TOTAL (CORREGIDO)	9147.9	59.0			

<sup>10</sup> Significancia valor-p ≤ 0.05, con un nivel de confianza al 95%

Como en cualquier reacción química, el tiempo es una variable muy importante que determina la velocidad de una reacción química, es decir cuántas moles de sustancias reaccionantes se están transformando en un lapso de tiempo.

En particular, al hacer reaccionar una cierta cantidad de extracto acuoso de menta negra con nitrato de plata, inmediatamente se observa una respuesta, es decir, un cambio de color. No obstante, el cambio de color no puede asegurar que la reacción se ha completado, para obtener nanopartículas de buen tamaño y con una buena polidispersión.

En la Tabla 31 se observan los tiempos que tienen un impacto en la reacción, que son: 60 con 30 s; 90 con 600 s y 240 con 600 s, debido a que la diferencia en los valores de las medias del tamaño de partícula se salen de los límites establecidos por el análisis estadístico.

Entre los valores significativos, el contraste entre los tiempos de 60 y 90 s es el más importante debido a que el valor de su diferencia es el más alto (-15.5) por el hecho de que se compara la media de tamaño de partículas más baja y la más alta (60.3 para 60 s y 75.9 para 90 s).

Por lo tanto el mejor tiempo para llevar a cabo la síntesis de NP's Ag es de 90 s, porque se tiene un tamaño más grande de partícula en comparación con los demás tiempos de reacción (véase Tabla 31).

Sin embargo, hay que aclarar que, los tiempos utilizados en el método por microondas son mucho menores a los otros métodos, debido a que hay una alta cantidad de energía electromagnética ( $> 3 \times 10^8$  Hz) involucrada que afecta al sistema.

**Tabla 31. Pruebas de Múltiple Rangos para tamaño por tiempo (Método: 95.0 porcentaje LSD).**

TIEMPO (s)	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
60	20	60.3	2.4	X
240	15	65.6	2.8	XX
30	5	73.4	5.8	XX
600	15	73.7	3.2	X
90	5	75.9	5.8	XX

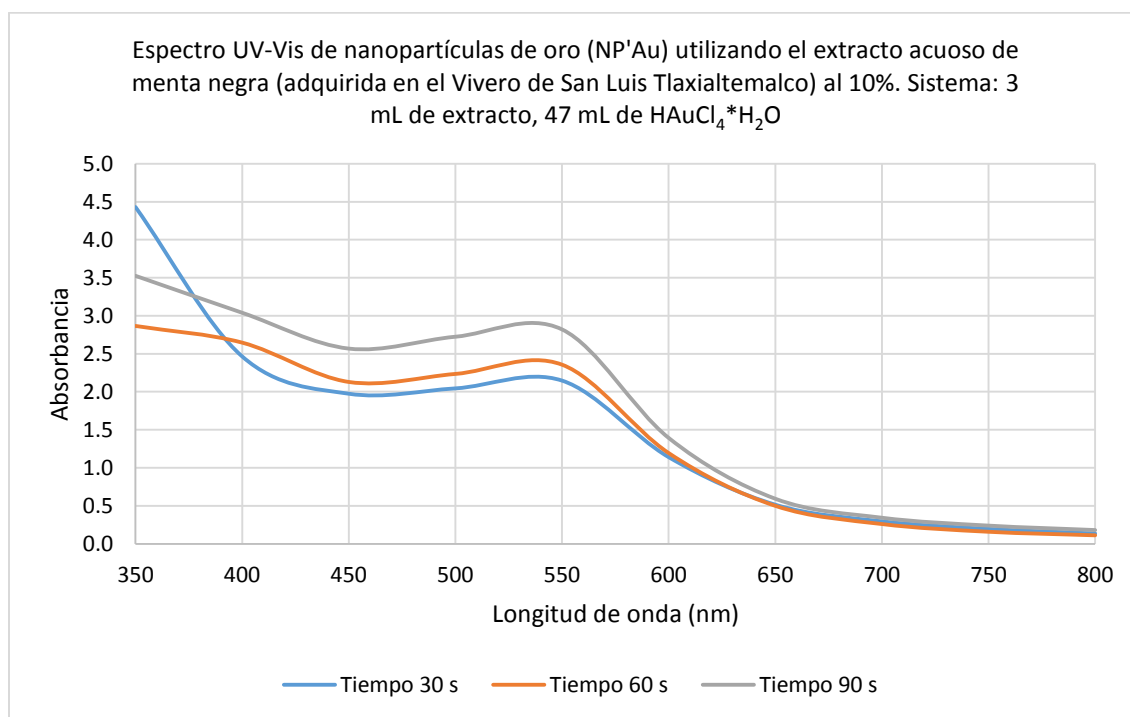
CONTRASTE	SIG.	DIFERENCIA	+/- LÍMITES
30 - 60	*	<b>13.1</b>	12.3
30 - 90		-2.5	12.3
30 - 240		7.8	14.4
30 - 600		-0.3	15.0
60 - 90	*	<b>-15.5</b>	12.3
60 - 240		-5.3	7.6
60 - 600	*	<b>-13.4</b>	8.7
90 - 240		10.3	14.4
90 - 600		2.1	15.0
240 - 600	*	<b>-8.1</b>	7.4

\* indica una diferencia significativa.

### 5.3.4 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO

En la síntesis de nanopartículas de oro se siguió la misma metodología que para las de plata. La razón es debido a que el reactivo de oro es muy costoso y por tanto plantear el desarrollo de una metodología para su obtención, excede a nuestras posibilidades.

La síntesis se efectuó variando los tiempos de síntesis entre 30, 60 y 90 segundos utilizando las mismas proporciones de extracto de menta y cantidad de ácido cloroáurico (sistema 3 NP's Ag). El mejor tiempo fue de 90 segundos, en el que se obtiene la absorbancia mayor, comparada con los otros tiempos. En este tiempo se observó el plasmón de superficie con una longitud de onda máxima de 531 nm (Gráfica 19).



Gráfica 19. Espectro UV-Vis de nanopartículas de oro (NP's Au) a segundo 30, 60 y 90<sup>11</sup>.

En la Serie Fotográfica 16, se muestra el antes y después de cada tiempo. Se observa un cambio en la coloración, de amarillo a vino. El cambio de coloración se atribuye a la reducción del oro ( $\text{Au}^{+3}$  a  $\text{Au}^0$ ), ocasionada por los metabolitos presentes en el extracto acuoso, como azúcares reductores, polifenoles y terpenos principalmente.



<sup>11</sup> Se utilizó el extracto acuoso de menta negra (adquirida en el Vivero de San Luis Tlaxialtemalco) al 10%. Sistema: 3 mL de extracto, 47 mL de  $\text{HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$



**Serie Fotográfica 16. Síntesis de NP's Au por microondas durante 30, 60 y 90 s.: Antes y después de tratamiento.**  
 [Fotografías de Sara Lescas]. (México. 2015). Laboratorio L 301 de la FES Cuautitlán Campo 1

La electronegatividad también es importante para explicar la síntesis de las NP's. La plata y el oro son metales que presentan una electronegatividad alta ( $Ag= 1.93$  y  $Au=2.54$ ) comparada con el hierro (1.38), y es utilizado en la síntesis de nanopartículas, lo anterior significa que pueden atraer fácilmente electrones y así presentar una reducción, misma que se observa con el plasmón de superficie (Soenen et al., 2011).

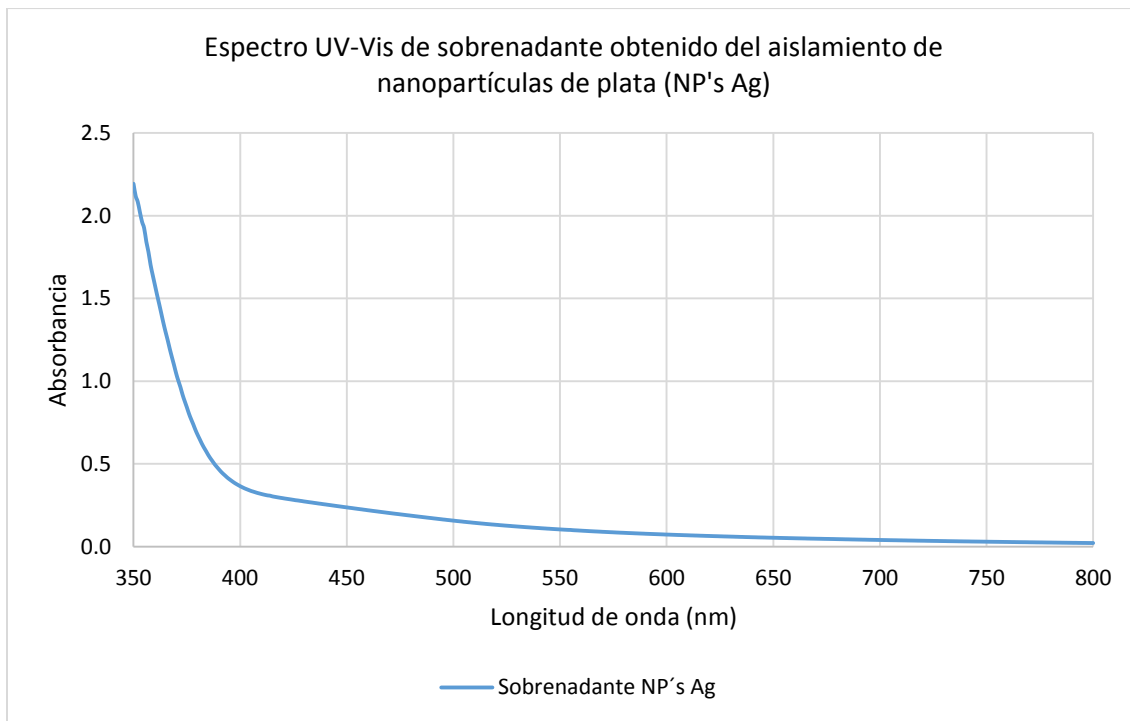
### 5.3.5 ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE NP's Ag Y NP's Au

Con el fin de obtener una cantidad adecuada para el ensayo biológico se sintetizaron las nanopartículas utilizando un volumen de 200 mL, respetando la proporciones establecidas 3:47 (3 para el extracto acuoso de menta negra y 47 para la solución a 1 mM del metal noble) por asistencia de microondas con un tiempo de 90 s. Estas condiciones se establecieron por los resultados obtenidos anteriormente.

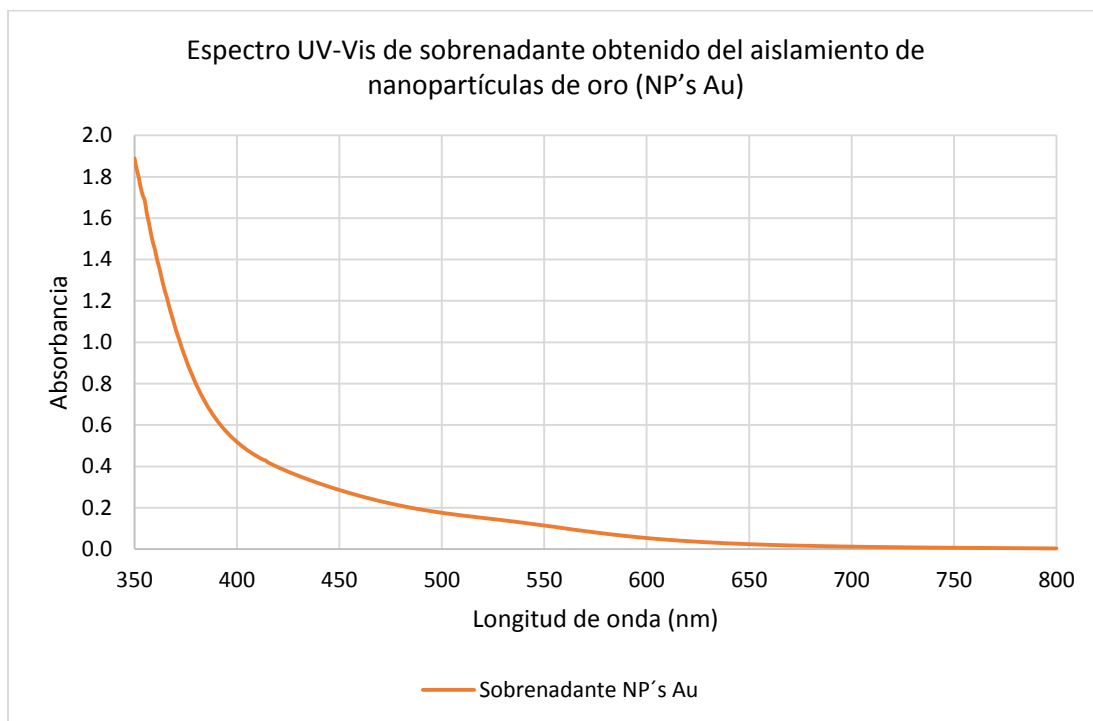
Cabe mencionar que la síntesis llevada a cabo por el método de microondas fue rápida en comparación a los otros métodos debido a que la energía térmica está más centralizada al sistema de reacción. El uso de microondas favoreció para que la velocidad de reacción aumentara debido al calor inducido (Joseph & Mathew, 2015).

En cuanto a la plata, el cambio de coloración en el sistema indicó la presencia de las nanopartículas, debido a que el ion  $Ag^+$  presentó una reducción de  $Ag^+$  a  $Ag^0$ . En muchos experimentos se ha demostrado que los agentes reductores son responsables de la formación de las NP's como los compuestos fenólicos, terpenoides, sesquiterpenos, y flavonoides (Otari, Patil, Nadaf, Ghosh, & Pawar, 2014). Lo anterior se demostró con la cromatografía en capa fina realizada.

Para asegurar la ausencia de nanopartículas en los sobrenadantes obtenidos del aislamiento de las mismas por ultracentrifugación, se procedió a realizar sus respectivos barridos, los cuales se muestran en la Gráfica 20 y Gráfica 21.



Gráfica 20. Espectro UV-Vis de sobrenadante obtenido del aislamiento de nanopartículas de plata NP's Ag



Gráfica 21. Espectro UV-Vis de sobrenadante obtenido del aislamiento de nanopartículas de oro NP's Au

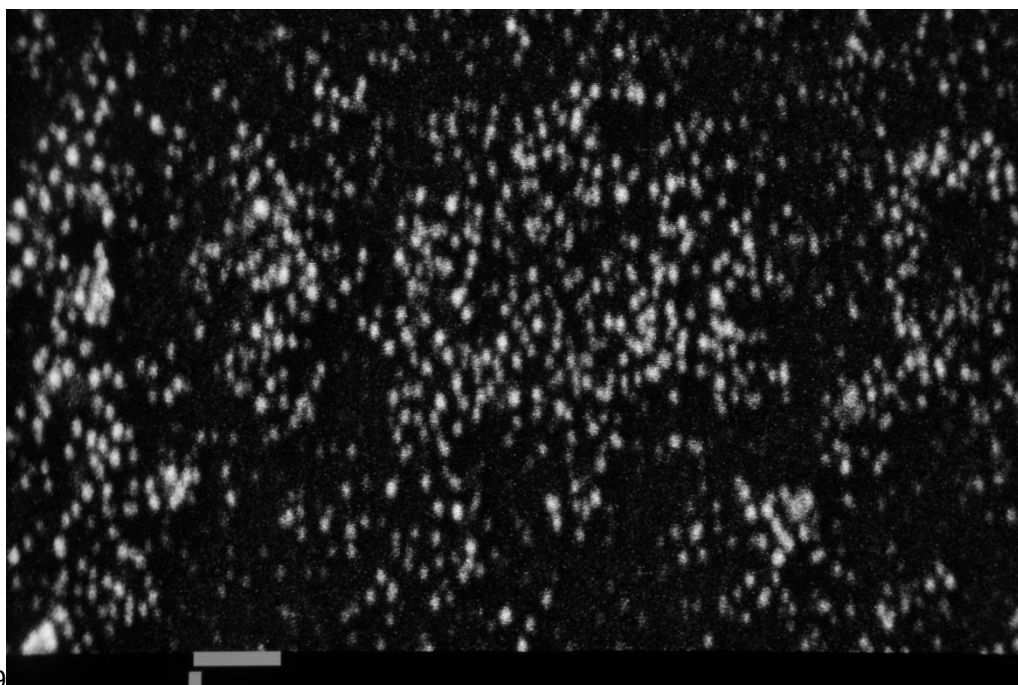


### 5.3.6 CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y ORO

Las pastillas obtenidas finalmente se utilizaron para preparar soluciones de nanopartículas de 1110 ppm y 2027 ppm de plata y oro respectivamente (véase 4.4.1.3 y Anexo E), de estas soluciones se tomó muestras para conocer la morfología de las NP's por MEB, así como para conocer su tamaño e índice de polidispersión (véase 5.3.2).

#### 5.3.6.1 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)

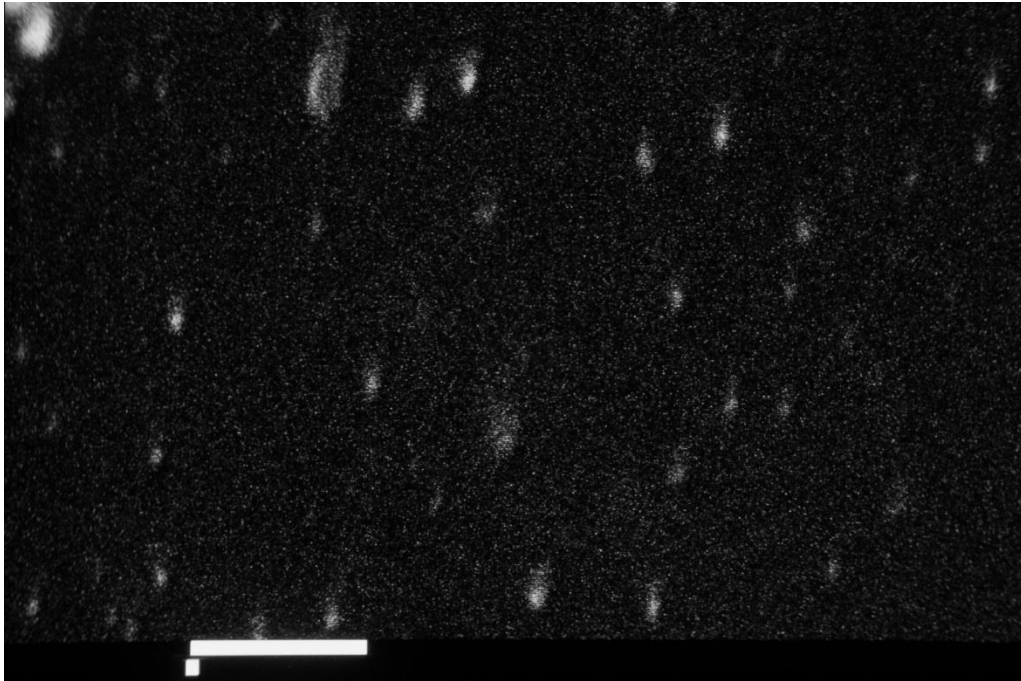
La Micrografía 25, muestra que las nanopartículas obtenidas después de ultracentrifugar presentan una morfología esférica. En la Micrografía 26 se aprecia que el tamaño de las NP's Ag es menor a 100 nm y mayor a 100 nm, (si observa detenidamente se ven aglomerados). (Ibarra-Hurtado, Virgen-Ortiz, Apolinar-Irbe, & Luna-Velasco, 2014).



Micrografía 25. NP's Ag con microscopía electrónica de barrido: [1000x].<sup>12</sup>  
[Fotografía de Alejandra Sánchez]. (México. 2015). Laboratorio de Microscopía Electrónica de la FES Cuautitlán Campo 1.

---

<sup>12</sup> En la parte inferior de cada micrografía se encuentra la barra de medición; así mismo, un recuadro debajo de esta, el cual representan 1  $\mu\text{m}$  (1000 nm), dos recuadros representan 10  $\mu\text{m}$  (10000 nm).

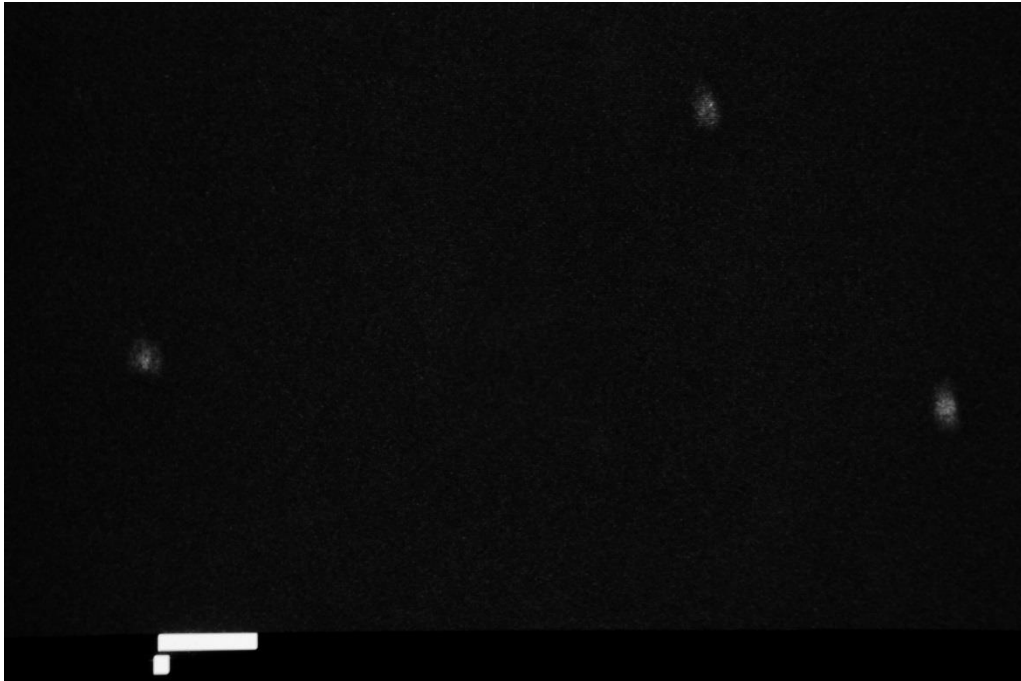


**Micrografía 26. NP's Ag con microscopía electrónica de barrido: [2000x].**  
[Fotografía de Alejandra Sánchez]. (México. 2015). Laboratorio de Microscopía Electrónica de la FES Cuautitlán Campo 1.

Las NP's Au se aprecian en la Micrografía 27 y Micrografía 28, de las que se infiere que son de forma esférica y con un tamaño mayor a 100 nm.



**Micrografía 27. NP's Au con microscopía electrónica de barrido: [1000x].**  
[Fotografía de Alejandra Sánchez]. (México. 2015). Laboratorio de Microscopía Electrónica de la FES Cuautitlán Campo 1.



Micrografía 28. NP's Au con microscopía electrónica de barrido: [10000x].  
[Fotografía de Alejandra Sánchez]. (México. 2015). Laboratorio de Microscopía Electrónica de la FES Cuautitlán Campo 1.

#### 5.3.6.2 *DISPERSIÓN DINÁMICA DE LA LUZ: TAMAÑO DE PARTÍCULA E ÍNDICE DE POLIDISPERSIÓN*

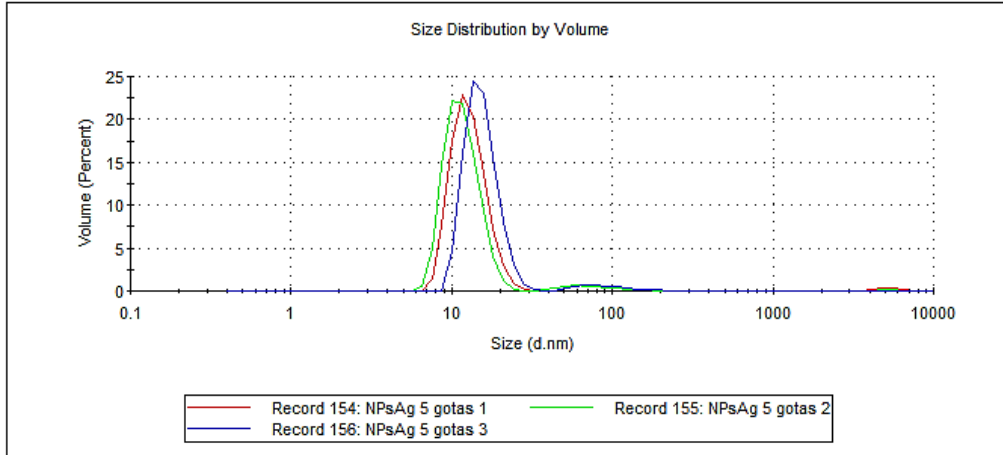
Por medio de la técnica denominada “Dispersión dinámica de la luz”, el software del equipo de medición Zeta sizer, permite llevar a cabo un análisis de los aglomerados que se pudiesen formar en el sistema, considera el diámetro promedio (Z-Average) y el índice de polidispersión (Pdl), calificándolo como bueno.

En la Gráfica 22 se puede observar que existen tres poblaciones de NP's Ag, cada una con un tamaño diferente. La población que posee el 95% de las NP's Ag (correspondiente al pico 2) tiene un tamaño de 11.7 nm; la de 4.4%, un tamaño de 81.6 nm. Estos valores presentan una correlación con los obtenidos en la MEB.

El índice de polidispersión obtenido es de 0.319, valor que se encuentra entre 0.08 y 0.7 (Shaw, 2016) así el sistema considera como cercano a la monodispersión.

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
<b>Z-Average (d.nm): 94.90</b>	<b>Peak 1:</b> 81.60	4.4	47.94
<b>Pdl: 0.319</b>	<b>Peak 2:</b> 11.77	95.0	2.931
<b>Intercept: 0.852</b>	<b>Peak 3:</b> 5039	0.5	831.2

**Result quality : Good**

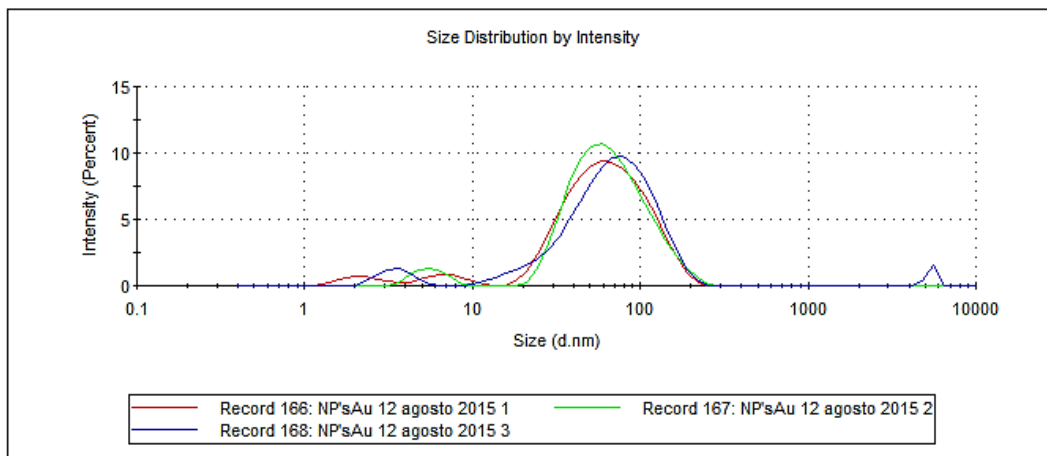


**Gráfica 22. Distribución de tamaño de nanopartículas de plata del sistema 3 sintetizadas por Microondas durante 90 segundos.**

En el caso de las nanopartículas de oro (Gráfica 23), el tamaño promedio de estas es de 75.32 pero con una desviación estándar muy grande. El índice de polidispersión es de 0.386 es decir, es de calidad media muy cercano a la monodispersión, sin embargo, el intercepto es cercano a 1 deduciendo que en el sistema existían muy pocas partículas (como se puede constatar en la MEB) en el momento de la medición lo que lleva a grandes fluctuaciones en la intensidad dispersada.

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
<b>Z-Average (d.nm): 58.73</b>	<b>Peak 1:</b> 75.32	92.9	39.22
<b>Pdl: 0.386</b>	<b>Peak 2:</b> 3.524	5.2	0.7571
<b>Intercept: 0.911</b>	<b>Peak 3:</b> 5402	1.9	307.7

**Result quality : Refer to quality report**



**Gráfica 23. Datos de correlación y distribución de tamaño de nanopartículas de oro del sistema 3 sintetizadas por Microondas durante 90 segundos.**

### 5.3.6.3 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

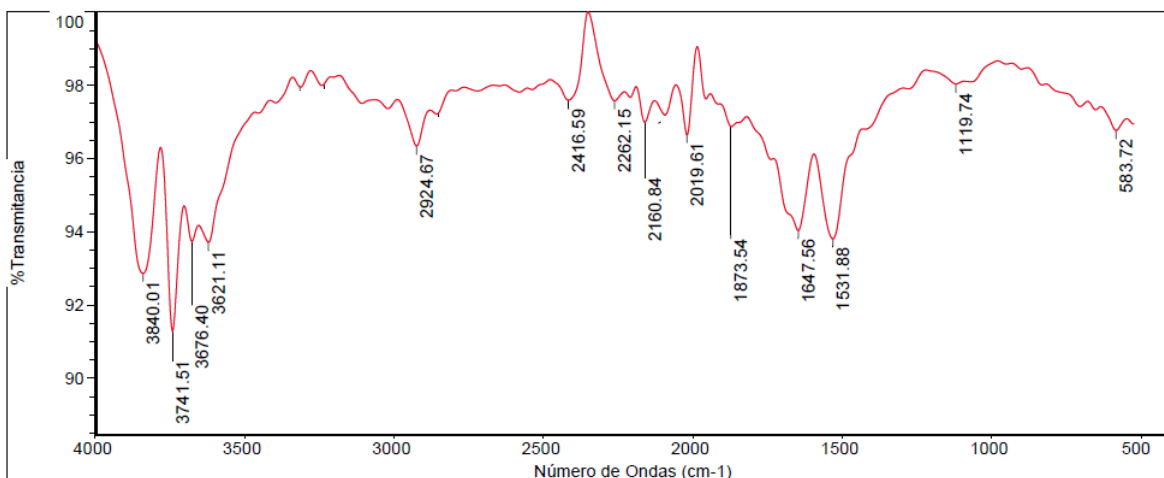


Ilustración 10. Espectro de IR/ATR de extracto acuoso de menta negra.

Tabla 32. Frecuencias identificadas en espectroscopia IR del extracto de *Mentha x piperita* L.

Grupo Funcional	Intervalos de frecuencia teórica $\text{cm}^{-1}$	Frecuencias $\text{cm}^{-1}$ de extracto de <i>Mentha x piperita</i> L.
Alcanos		
C-H <sub>ST</sub>	3000-2840	2924.67
Alquenos		
C=C <sub>ST</sub>	1650-1635	1647.56
Aromáticos		
ar C-C	1625-1575, 1525-1450	1647, 1531.88
ar C-H $\delta$ ip	1250-950	1119.74
Compuestos heteroaromáticos		
N-H <sub>ST</sub>	3450-3200	3314.97, 3232.90
Alcoholes y compuestos relacionados		
O-H <sub>ST</sub>	3650-3200	3741.51, 3621.11
Compuestos nitrogenados		
NH <sub>2</sub> st	3500-3300	3314.97, 3232.90
NH st	3450-3300	3314.97, 3232.90
NH <sub>2</sub> $\delta$	1650-1590	1647
Compuestos carbonilo (aldehído)		
C-H comb	2900-2800	2851.14

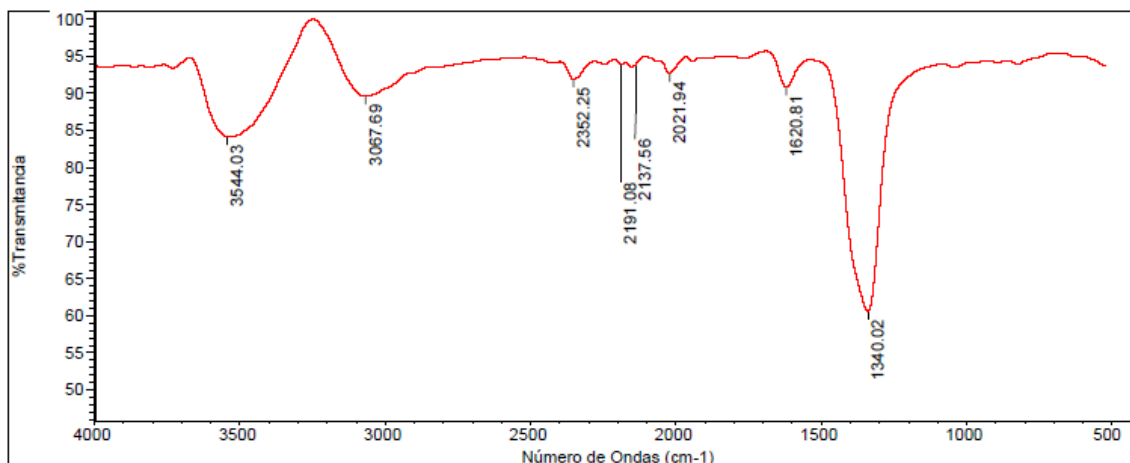


Ilustración 11. Espectro de IR/ATR de  $\text{AgNO}_3$ .

Tabla 33. Frecuencias identificadas en espectroscopia IR del  $\text{AgNO}_3$ .

Grupo Funcional	Intervalos de frecuencia teórica $\text{cm}^{-1}$	Frecuencias $\text{cm}^{-1}$ de solución de $\text{AgNO}_3$
Grupos Nitro		
$\text{NO}_2$ st as	1660-1490	1620.81
$\text{NO}_2$ st sy	1390-1260	1340.02

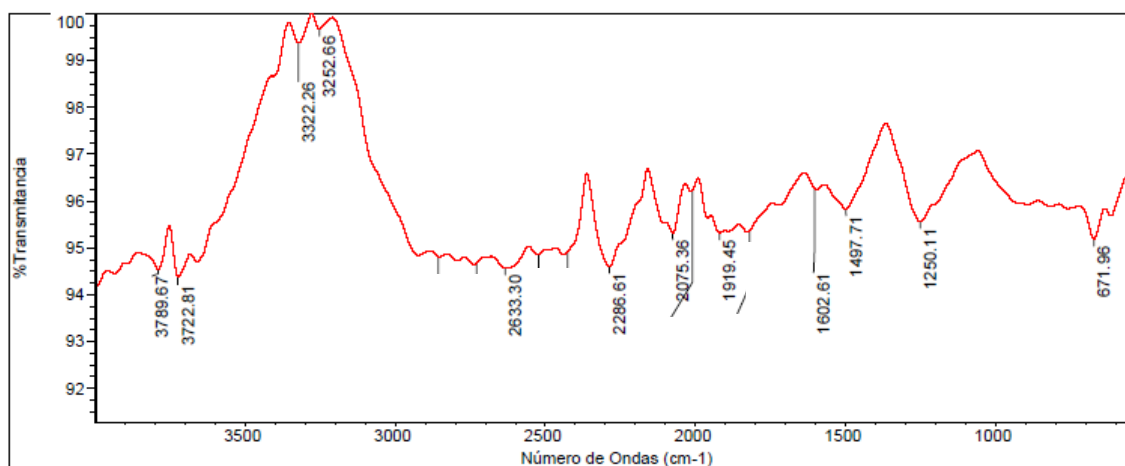


Ilustración 12. Espectro de IR/ATR NP's Ag.

Tabla 34. Frecuencias identificadas en espectroscopia IR del NP's Ag

Grupo Funcional	Intervalos de frecuencia teórica $\text{cm}^{-1}$	Frecuencias $\text{cm}^{-1}$ de NP's Ag
Alcanos		
$\text{C-H}_{\text{ST}}$	3000-2840	2856.32
$\text{CH}_3 \gamma$	1250-800	1250.11
Alquenos		
$=\text{CH} \delta$ oop	1005-675	671.96
Compuestos heteroaromáticos		
N-H st	3450-3200	3322.26, 3252.66

Aromáticos	2100-1800	2075.36, 2009.03, 1919.45, 1819.70
Esqueleto del anillo	1610-1360	1602.61, 1497.71
Alcoholes y compuestos relacionados		
O-H $\delta$ ip	1450-1200	1250.11

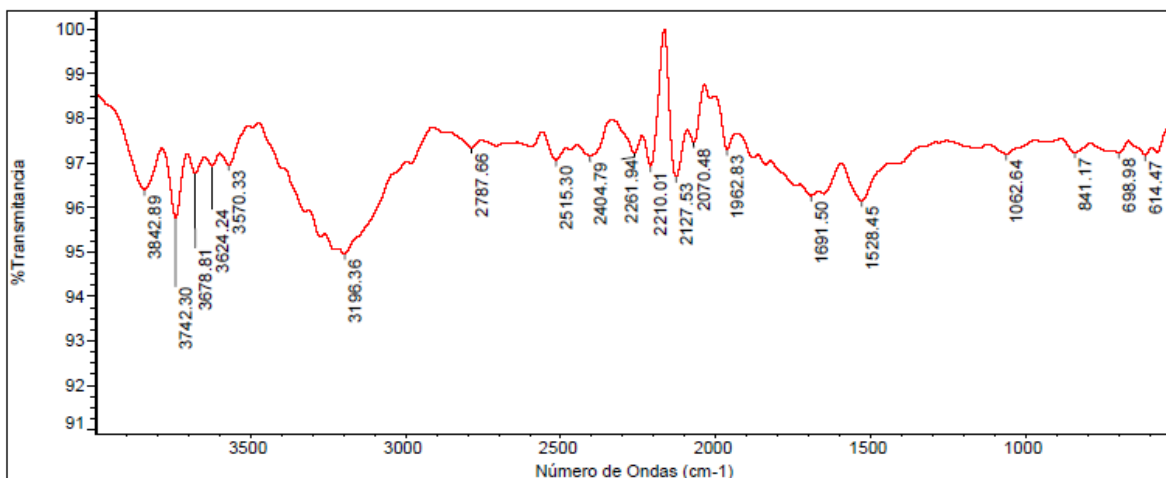


Ilustración 13. Espectro de IR/ATR Sobrenadante de NP's Ag.

Al analizar los espectros correspondientes del extracto y del sobrenadante después de aislar las NP's Ag, se puede inferir lo siguiente:

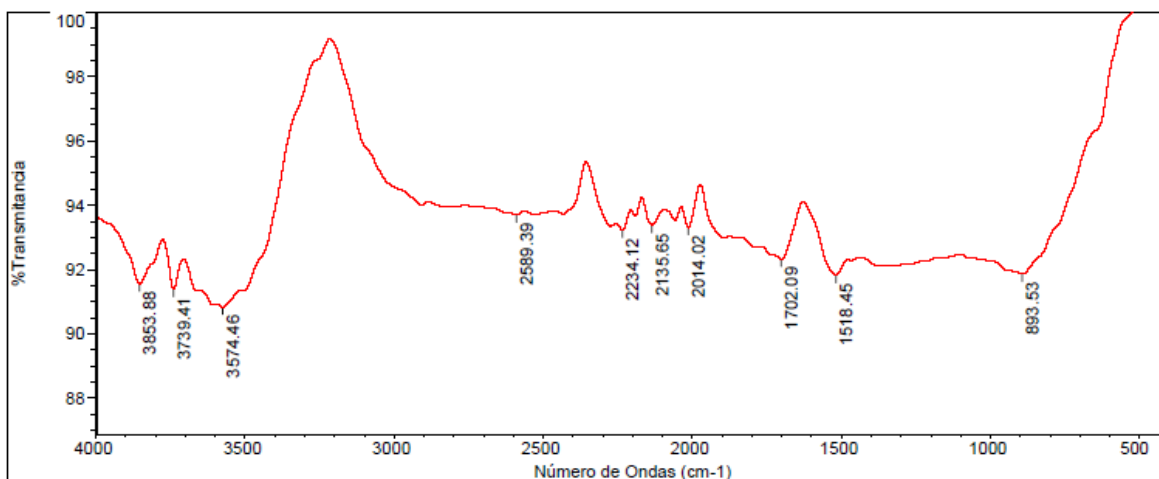
En el espectro del extracto se observan bandas intensas en las frecuencias de 1531.88 y 1647.56  $\text{cm}^{-1}$  (alquenos y aromáticos), 2924.67  $\text{cm}^{-1}$  (alcanos), 3621.11 y 3741.51  $\text{cm}^{-1}$  (alcoholes y derivados), que puede corresponder a los grupos funciones de los compuestos como flavonoides (rutina en este caso particular), lactonas sesquiterpénicas, quinonas, etc. (véase 5.2.4).

Como se observa al comparar los espectros del extracto y del sobrenadante las bandas de 1531.88 y 1646.56  $\text{cm}^{-1}$  desaparecen lo que hace suponer que son el compuesto químico que hace reducir a la plata ( $\text{Ag}^+$  a  $\text{Ag}^0$ ).

Las bandas localizadas en la región de N-H y O-H son de tipo vibracional por estiramiento que pueden corresponder a proteínas, vitaminas y azúcares reductores. La disminución de estas deriva en que son los grupos funcionales en la reducción del metal, y también proporcionan el medio para que las nanopartículas metálicas se estabilicen.

**Tabla 35. Frecuencias identificadas en espectroscopia IR del sobrenadante de NP's Ag.**

Grupo Funcional	Intervalos de frecuencia teórica $\text{cm}^{-1}$	Frecuencias $\text{cm}^{-1}$ de sobrenadante de NP's Ag
Alcanos		
$\text{CH}_3 \gamma$	1250-800	841.17
Alquenos		
$=\text{CH} \delta \text{ oop}$	1005-675	841.17
$\text{C}=\text{C} \text{ st}$	1690-1635	1691.50
Aromáticos		
ar C-C	1625-1575, 1525-1450	1691.5, 1528.45
Compuestos heteroaromáticos		
C-H $\delta$	1000-700	841.17, 698.98
Alcoholes y compuestos relacionados		
O-H st	3650-3200	3678.81, 3624.24, 3570.33
C-O st	1260-970	1062.64
Compuestos nitrogenados		
C-N st	1400-1000	1062.64
C- $\text{NO}_2$	1600-1490	1528.45
N=N st	1580-1400	1528.45
Compuestos carbonilo (ácidos carboxílicos)		
COO-H st	3550-2500	3196.36, 2787.66, 2515.30



**Ilustración 14. Espectro de IR/ATR NP's Au.**

**Tabla 36. Frecuencias identificadas en espectroscopia IR de NP's Au.**

Grupo Funcional	Intervalos de frecuencia teórica $\text{cm}^{-1}$	Frecuencias $\text{cm}^{-1}$ de NP's Au
Aromáticos		
ar C-C	1625-1575, 1525-1450	1702.09*, 1518.45*
Compuestos heteroaromáticos		
Armónicos o combinación de vibraciones	2100-1800	2014.02
Alcoholes y compuestos relacionados		
O-H <sub>st</sub>	3650-3200	3574.46



Después de analizar los espectros del extracto y del sobrenadante después de aislar las NP's Au, se puede inferir lo siguiente:

En el espectro del extracto se observan bandas intensas en las frecuencias de 1531.88 y 1647.56  $\text{cm}^{-1}$  (alquenos y aromáticos), 2924.67  $\text{cm}^{-1}$  (alcanos), 3621.11 y 3741.51  $\text{cm}^{-1}$  (alcoholes y derivados), que puede corresponder a los grupos funciones de los compuestos como flavonoides (rutina en este caso particular), lactonas sesquiterpénicas, quinonas, etc. (véase 5.2.4)

En el espectro del sobrenadante se observa que las bandas C=C 1647.56 y 1531,88  $\text{cm}^{-1}$  disminuyen considerablemente su intensidad, hasta se podría decir que desaparecen. La de 3621.11  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a O-H desaparece, por lo que compuestos como fenólicos, terpenos y azúcares, contribuyen a la reducción del Au.

Igual las bandas de la región de N-H 3840.01 y 3741.51  $\text{cm}^{-1}$  disminuyen su intensidad en el sobrenadante; sin embargo, aún se encuentran presentes en las NP's Au por lo que se infiere que están presentes para la estabilización de la nanopartícula.

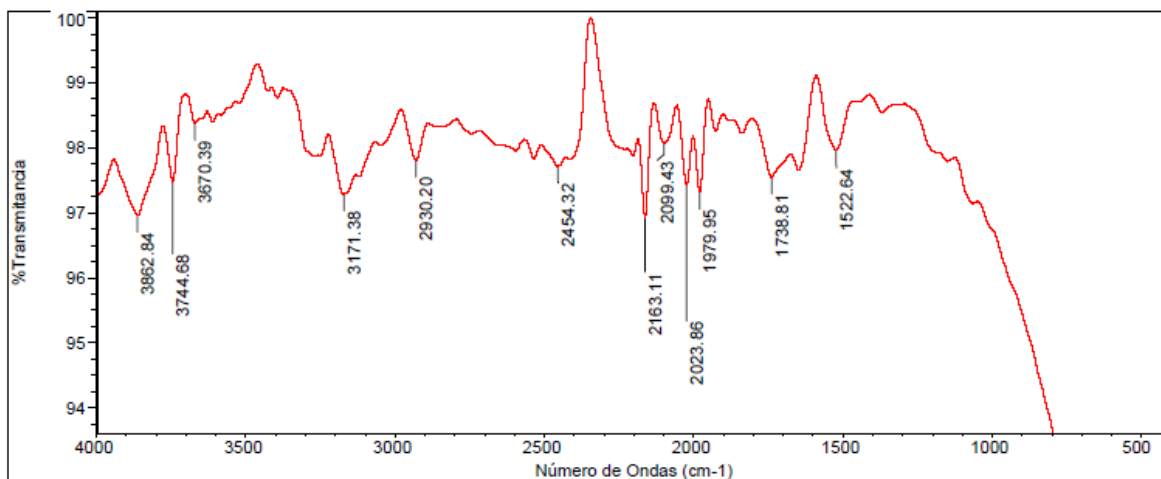


Ilustración 15. Espectro de IR/ATR Sobrenadante de NP's Au.

Tabla 37. Frecuencias identificadas en espectroscopia IR del sobrenadante de sobrenadante NP's Au.

Grupo Funcional	Intervalos de frecuencia teórica $\text{cm}^{-1}$	Frecuencias $\text{cm}^{-1}$ de sobrenadante NP's Au
Alcanos		
C-H st	3000-2840	2930.20
Aromáticos		
ar C-C	1525-1450	1522.64
Compuestos heteroaromáticos		
Armónicos o combinación de vibraciones	2100-1800	2099.43, 2023.86, 1979.95, 1738.81
Alcoholes y compuestos relacionados		
O-H st	3650-3200	3670.39, 3171.20

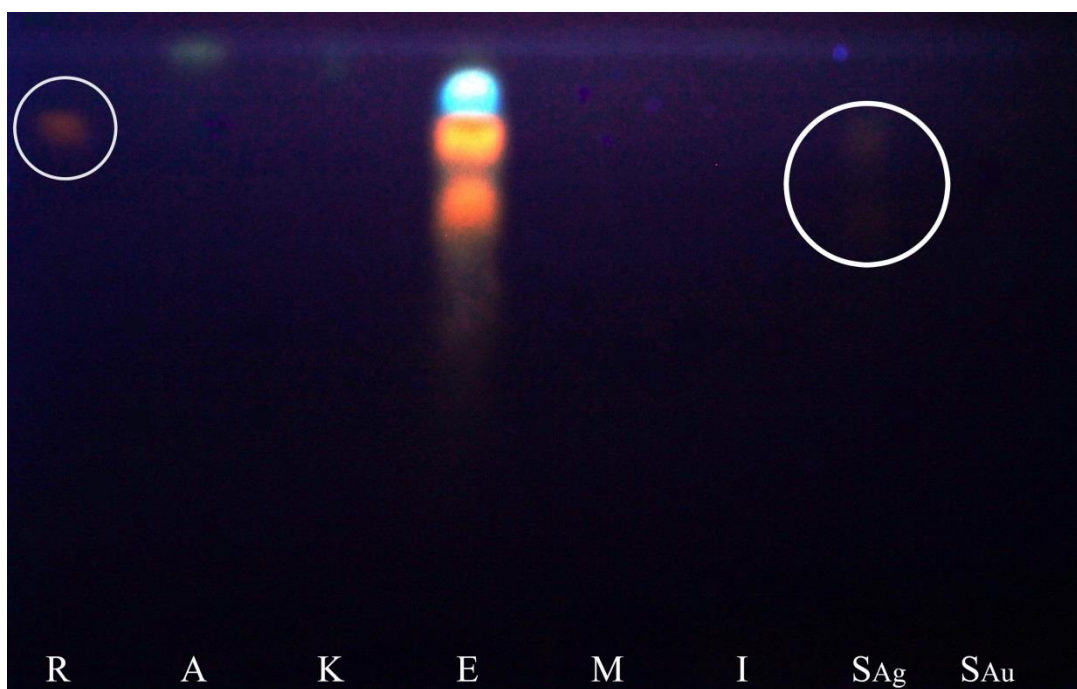
### 5.3.7 CROMATOGRAFÍA

Conforme a los resultados obtenidos a partir del tamiz fitoquímico, se dio a conocer que en el extracto acuoso de menta negra la mayoría son compuestos polifenólicos, lo que concuerda con el punto 2.2.5.2 Flavonoides.

De acuerdo con la literatura (Pushpangadan & Tewari, 2006) los flavonoides presentes en las hojas son: rutina, luteolina y hesperidina. El ensayo se llevó a cabo con los flavonoides de referencia que se contaba en el laboratorio. Los que fueron: rutina, apigenina, kaemferol, miricetina e isorhamnetina. La placa confirmó lo expuesto en la literatura y únicamente se identificó la presencia de rutina, la cual está presente en las nanopartículas de plata, lo que contribuye a confirmar que los flavonoides ayudan a la estabilización de la misma.

Es importante señalar que no son únicamente los flavonoides, también se han identificado ácido cafeico, ácido clorogénico y rosmarínico. Es por ello que se realizó una cromatografía en capa fina utilizando estándares de flavonoides.

De acuerdo al resultado obtenido a la Fotografía 1, el extracto presenta varios compuestos que no se lograron identificar con los estándares utilizados<sup>13</sup>, con la excepción del estándar de rutina lo que afirmaría lo mencionado en la bibliografía.



Fotografía 1. Cromatografía en capa fina de estándares, extracto y sobrenadantes.

Nota: R= rutina; A= apigenina; K=kaempferol; E= extracto; M= mirecitina; I= isorhamnetina; SAg= sobrenadante de NP's Ag; SAu= sobrenadante de NP's Au.

<sup>13</sup> Se hace saber que los estándares que se utilizaron eran los únicos disponibles en el laboratorio. No se utilizaron más debido a falta de presupuesto.

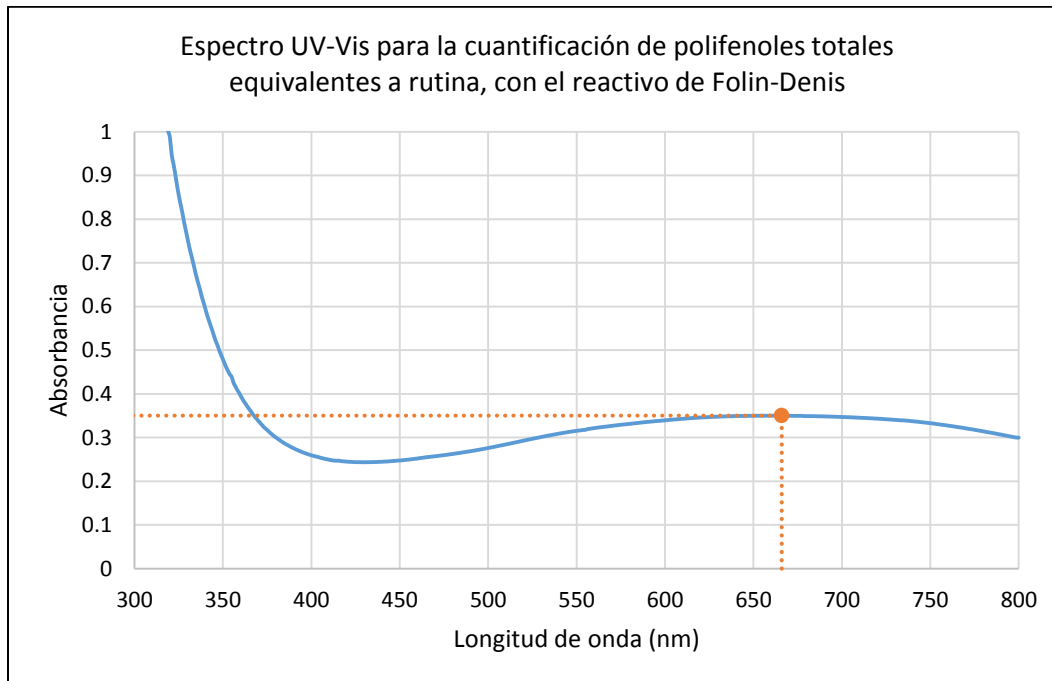
### 5.3.8 CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES EQUIVALENTES A RUTINA

El resultado obtenido por medio de la cromatografía reveló que uno de los compuestos químicos presentes en el extracto acuso de menta negra es el flavonoide rutina. Si bien no es uno de los que están en mayor cantidad, fue el único que se logró identificar con los estándares disponibles.

La rutina se seleccionó como marcador para la cuantificación de polifenoles por el método de Folin Denis. Este método desgraciadamente no es específico para polifenoles ya que compuestos químicos como el ácido ascórbico también se cuantifican por lo que propiamente lo que se cuantifica es poder reductor.

Posteriormente se prosiguió a construir una curva de calibración Gráfica 24 y Gráfica 25 utilizando el estándar del compuesto para cuantificar la rutina presente en el extracto acuoso al 5%.

Se determinó que la concentración de polifenoles totales equivalentes a rutina presentes en el extracto acuoso de menta negra al 5% es de 5236.3 ppm ó  $8.6 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{14}$ .



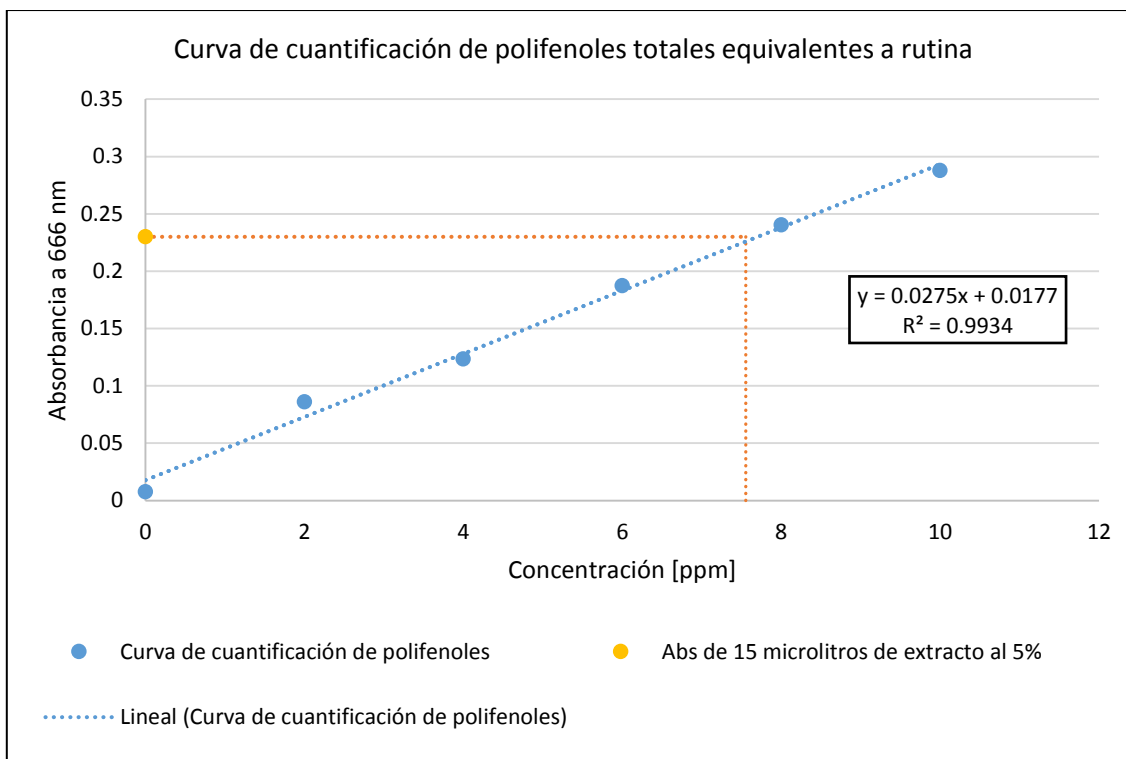
Gráfica 24. Espectro UV-Vis para la cuantificación de polifenoles totales equivalentes a rutina, con el reactivo de Folin-Denis.

Absorbancia máxima: 0.35

Longitud de onda de trabajo<sup>15</sup> (nm): 666

<sup>14</sup> Para ver los cálculos véase Anexo D

<sup>15</sup> Ver los valores de espectro UV-Vis en el



Gráfica 25. Curva de cuantificación de polifenoles totales equivalentes a rutina

Longitud de onda de trabajo: **666 nm**

Absorbancia del problema: **0.2337**

Concentración de polifenoles totales equivalentes a rutina en el problema: **7.85 ppm**

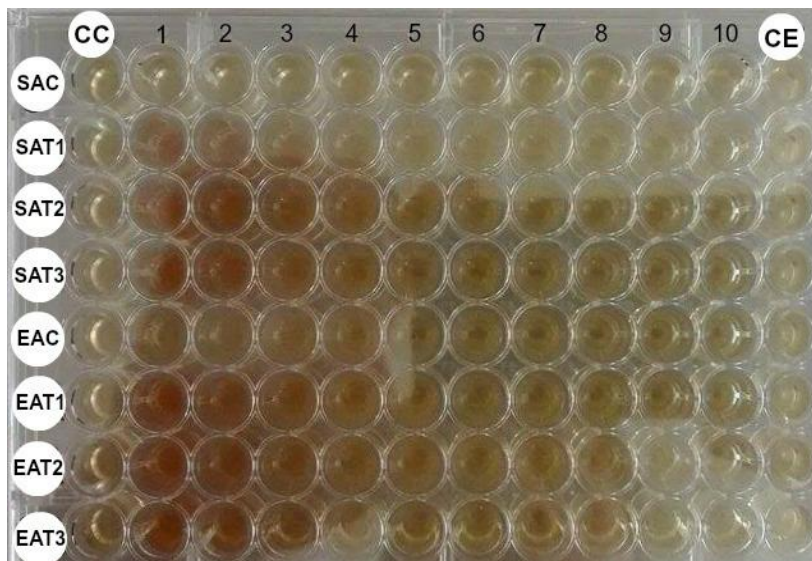
Concentración de polifenoles totales equivalentes a rutina en el extracto acuoso de menta negra al 5%: **5236.3 ppm o  $8.6 \times 10^{-3}$  M**

#### 5.4 ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Para llevar a cabo la prueba de la actividad biológica se utilizaron las nanopartículas de plata y oro aisladas anteriormente. Con estas, se prepararon soluciones de concentración de 555 ppm de NP's Ag y 1010 ppm NP's Au, a partir de una solución Stock de 1110 ppm y 2027 ppm respectivamente. Con la solución resultante se realizaron diluciones para obtener 10 concentraciones diferentes incluyendo la penúltima solución por el método de microdilución (Tabla 12).

En la prueba se utilizaron placas de 96 pocillos, en las cuáles se colocaron controles de esterilidad, controles de crecimiento, controles de Gentamicina y Anfotericina B, y los inóculos: *Staphylococcus aureus* (Gram positiva), *Escherichia coli* (Gram negativa) y *Candida albicans*; donde a estos últimos se añadieron las diez concentraciones diferentes de nanopartículas de plata y oro. Cabe mencionar que las cepas utilizadas como control de calidad fueron *S. aureus* (ATCC 25923), *E. coli* (ATCC 25992), *C. albicans* (ATCC 32364).

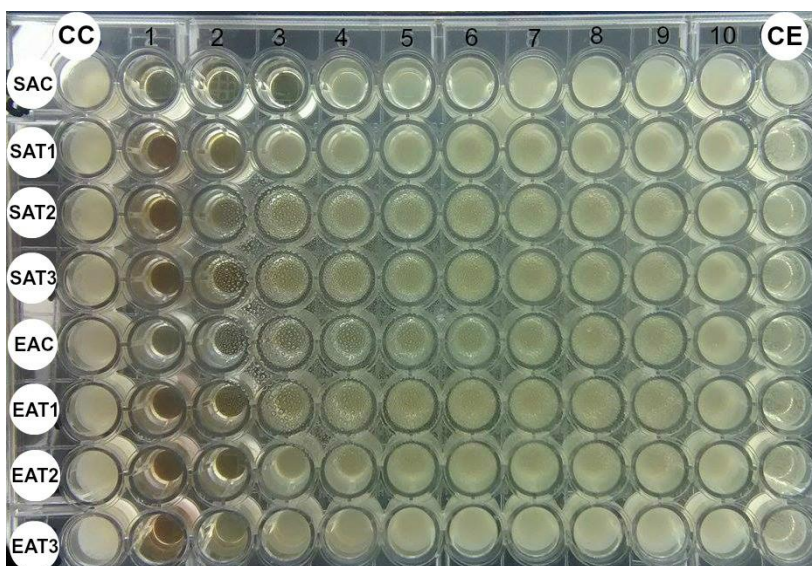
En la Fotografía 2 y Fotografía 4 se observa el inicio del tratamiento con nanopartículas de plata. Se puede apreciar que los pocillos dónde se encuentran estas hay presencia de una coloración amarilla.



Fotografía 2. Crecimiento microbiano en placa de 96 pocillos, al inicio del tratamiento con NP's Ag.

Nota: SAC (*Staphylococcus aureus* control de Gentamicina), SAT (*Staphylococcus aureus* tratamiento con NP'sAg), EAC (*Escherichia coli* control de Gentamicina), EAT (*Escherichia coli* tratamiento con NP's Ag), CC (Control de crecimiento), CE (Control de esterilidad).

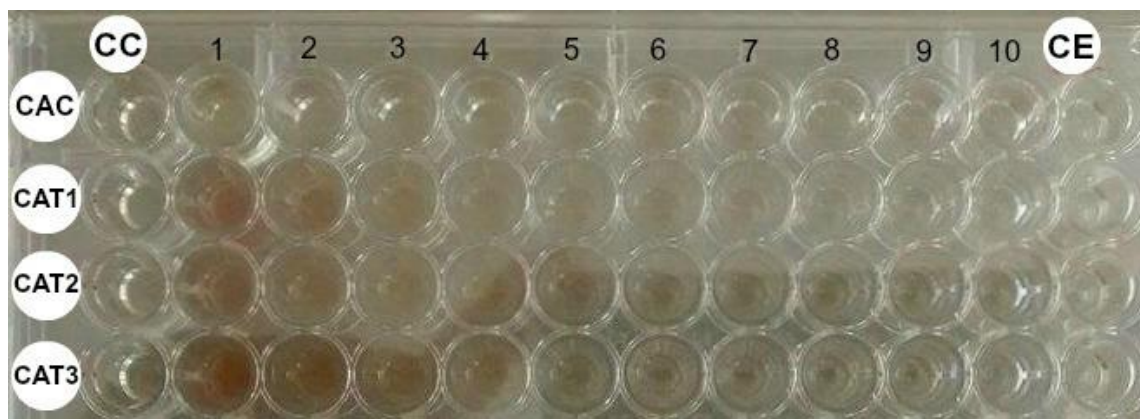
Transcurrido el tiempo de incubación, se determinó que las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans* son sensibles a las nanopartículas de plata, esto se aprecia en la Fotografía 3 y Fotografía 5, donde a partir del pocillo 7 hay crecimiento microbiano de ambas bacterias así como del hongo.



Fotografía 3. Crecimiento microbiano en placa de 96 pocillos, después del tratamiento con NP's Ag.

Nota: SAC (*Staphylococcus aureus* control de Gentamicina), SAT (*Staphylococcus aureus* tratamiento con NP'sAg), EAC (*Escherichia coli* control de Gentamicina), EAT (*Escherichia coli* control de Gentamicina), EAT (*Escherichia coli* tratamiento con NP's Ag), CC (Control de crecimiento), CE (Control de esterilidad).





Fotografía 4. Crecimiento microbiano en placa de 96 pocillos, al inicio del tratamiento con NP's Ag.

Nota: CAC (*Candida albicans* control de Anfotericina B), CAT (*Candida albicans* tratamiento con NP's Ag), CC (Control de crecimiento), CE (Control de esterilidad).

En la Fotografía 5 se observa el crecimiento de *Candida albicans* a partir del pocillo número 7.



Fotografía 5. Crecimiento microbiano en placa de 96 pocillos, después del tratamiento con NP's Ag.

Nota: CAC (*Candida albicans* control de Anfotericina B), CAT (*Candida albicans* tratamiento con NP's Ag), CC (Control de crecimiento), CE (Control de esterilidad).

Con los resultados obtenidos de las placas se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC), siendo esta de 17.343 ppm de NP's Ag 31.562 ppm de NP's Au. Esto se aprecia en la Tabla 38 y Tabla 39.

Tabla 38. Efecto de las nanopartículas de plata (Ag) en los microorganismos.

CEPAS	ORIGEN	EFEECTO
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Sensible
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25992	Sensible
<i>Candida albicans</i>	ATCC 32364	Sensible

**Tabla 39. Concentración mínima inhibitoria (MIC).**

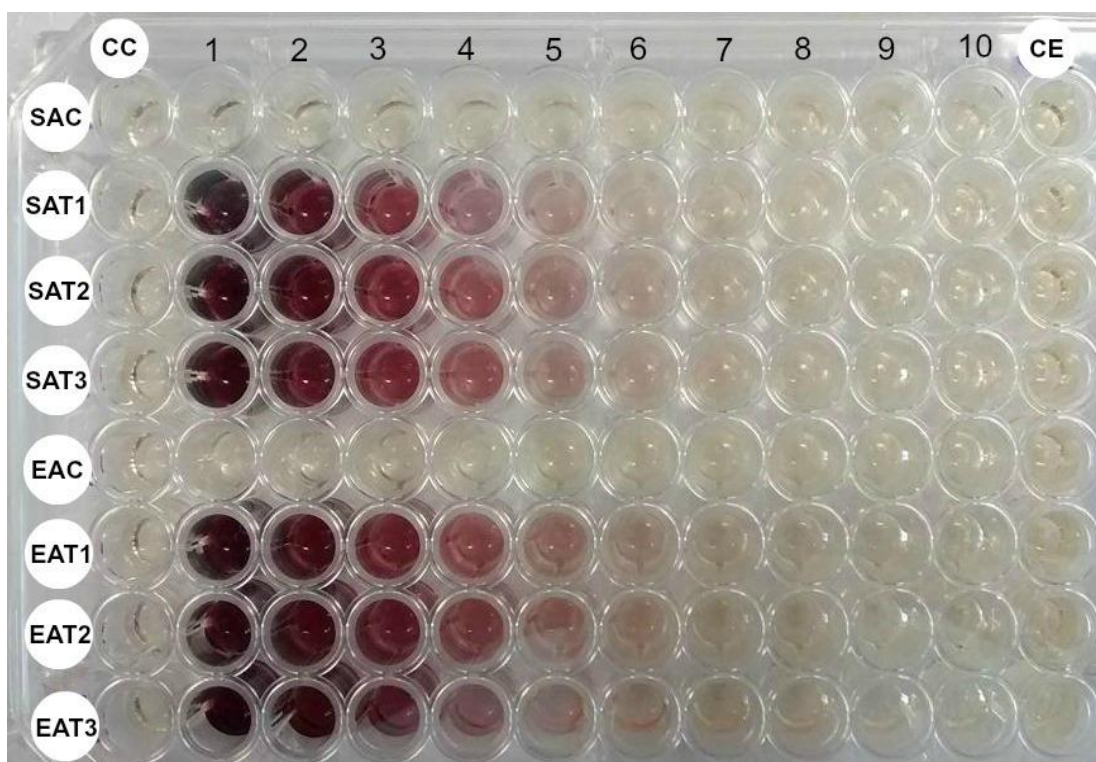
CEPA	CONCENTRACIÓN NP's Ag	CONCENTRACIÓN NP's Au
<i>S. aureus</i>	17.343 ppm	31.562 ppm
<i>E. coli</i>	17.343 ppm	31.562 ppm
<i>C. albicans</i>	17.343 ppm	31.562 ppm

Así mismo, se determinó la concentración mínima microbicida la cual fue de 34.687 ppm y 63.125 ppm respectivamente, para los tres patógenos (Tabla 40).

**Tabla 40. Concentraciones mínimas microbicidas.**

CEPA	CONCENTRACIÓN NP's Ag	CONCENTRACIÓN NP's Au
<i>S. aureus</i>	34.687 ppm	63.125 ppm
<i>E. coli</i>	34.687 ppm	63.125 ppm
<i>C. albicans</i>	34.687 ppm	63.125 ppm

En la Fotografía 6 y Fotografía 8 se muestra el inicio del tratamiento antibacteriano y antimicótico. Además se observan los controles de Gentamicina y Anfotericina B los cuales son incoloros en comparación con las nanopartículas de oro.

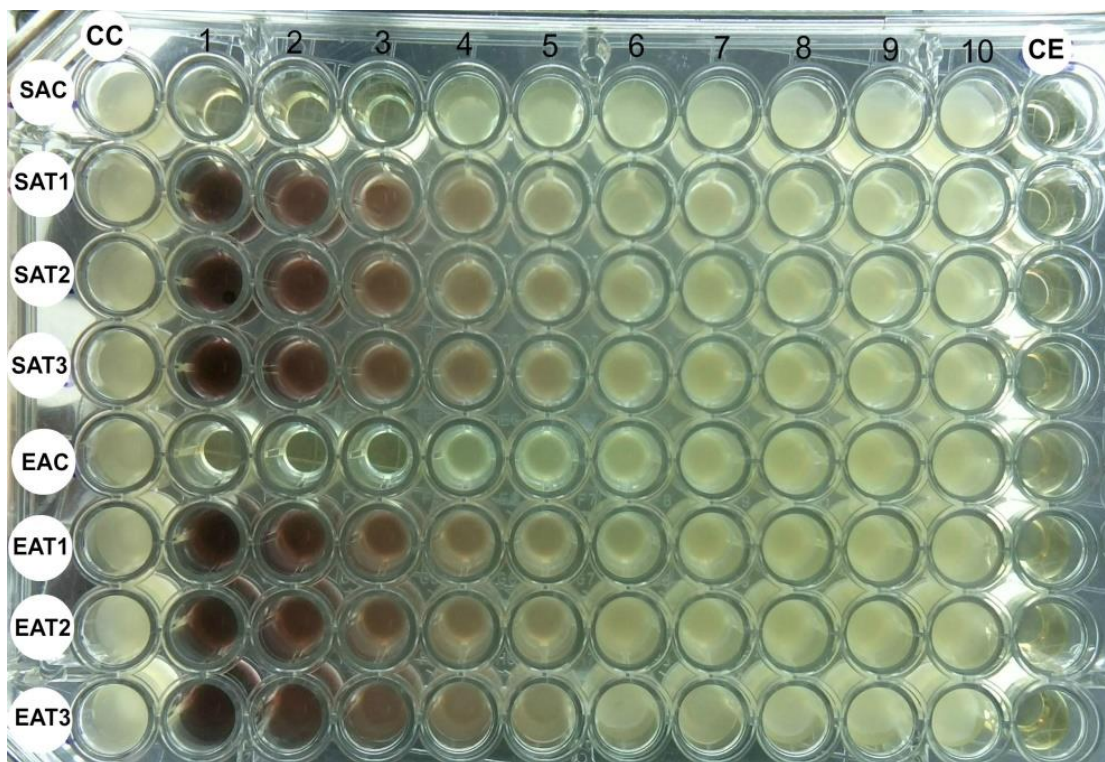


**Fotografía 6. Crecimiento microbiano en placa de 96 pocillos, al inicio del tratamiento con NP's Au.**

Nota: SAC (*Staphylococcus aureus* control de Gentamicina), SAT (*Staphylococcus aureus* tratamiento con NP's Au), EAC (*Escherichia coli* control de Gentamicina), EAT (*Escherichia coli* tratamiento con NP's Au), CC (Control de crecimiento), CE (Control de esterilidad).

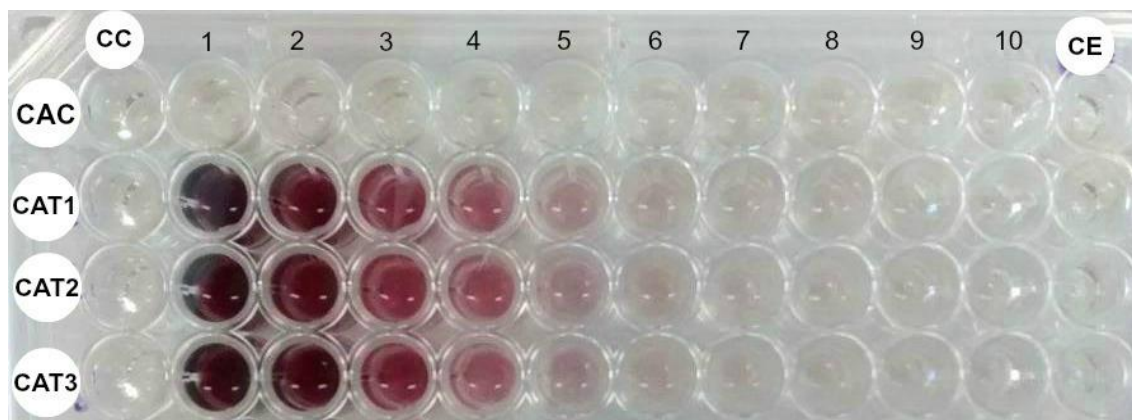


Transcurrido el tiempo de incubación de la placa que contienen nanopartículas de oro, se obtiene una respuesta negativa ya que las cepas resultaron resistentes (Tabla 41) en todas las concentraciones utilizadas, esto se puede observar en la Fotografía 7.



Fotografía 7. Crecimiento microbiano en placa de 96 pocillos, después del tratamiento con NP's Au.

Nota: SAC (*Staphylococcus aureus* control de Gentamicina), SAT (*Staphylococcus aureus* tratamiento con NP's Au), EAC (*Escherichia coli* control de Gentamicina), EAT (*Escherichia coli* tratamiento con NP's Au), CC (Control de crecimiento), CE (Control de esterilidad)

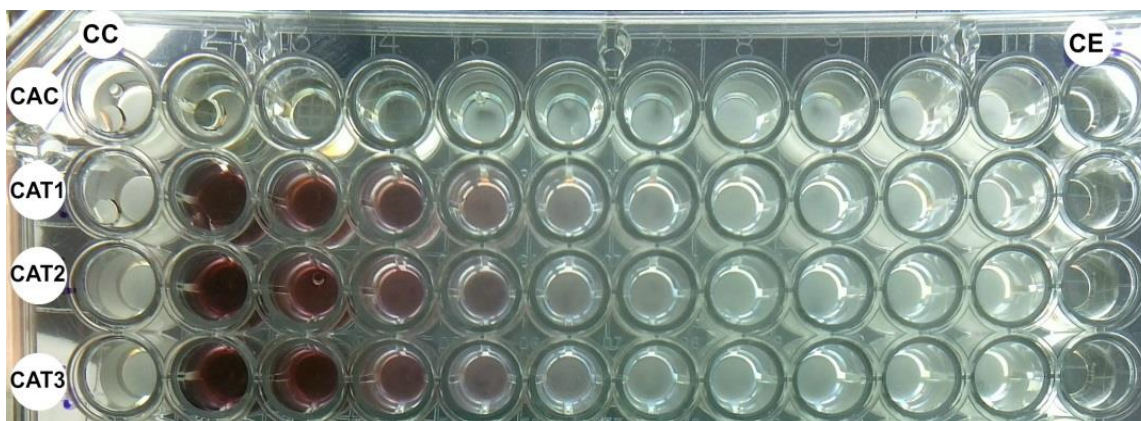


Fotografía 8. Crecimiento microbiano en placa de 96 pocillos, al inicio del tratamiento con NP's Au.

Nota: CAC (*Candida albicans* control de Anfotericina B), CAT (*Candida albicans* tratamiento con NP's Au), CC (Control de crecimiento), CE (Control de esterilidad).

Y finalmente en la Fotografía 9 se aprecia el crecimiento de *Candida albicans* a excepción del control de Anfotericina B. En esta se muestra evidentemente el crecimiento de la cepa.





Fotografía 9. Crecimiento microbiano en placa de 96 pocillos, después del tratamiento con NP's Au.

Nota: CAC (*Candida albicans* control de Anfotericina B), CAT (*Candida albicans* tratamiento con NP'sAu), CC (Control de crecimiento), CE (Control de esterilidad).

Con lo anterior se determina que las cepas son resistentes a las nanopartículas de oro (Tabla 41).

Tabla 41. Efecto de las nanopartículas de Oro (Au) en los microorganismos.

CEPAS	ORIGEN	EFECTO
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Resistente
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25992	Resistente
<i>Candida albicans</i>	ATCC 32364	Resistente

Cabe mencionar que la Gentamicina y la Anfotericina B fueron utilizados como control antibacteriano y antifúngico para comparar a las nanopartículas de plata y oro.

Con respecto a las NP's Ag y al uso de Gentamicina y Anfotericina B, se puede decir que las nanopartículas sí tuvieron la función de antibiótico ya que claramente se observa que no hay presencia de turbidez en el pocillo 2, 3 y 4 para los dos antibióticos y las NP's Ag con las tres cepas. Lo contrario sucede con las NP's Au ya que no tuvieron la función de antibiótico porque presentaron resistencia ante las cepas en comparación con los antibióticos utilizados.

Investigaciones recientes sugieren el uso de una gama de antibióticos para realizar la comparación con las nanopartículas, además se ha sugerido mezclar los antibióticos y estas para mejorar el efecto tóxico sobre distintas cepas (Padalia, Moteriya, & Chanda, 2015)

Así los resultados obtenidos de las pruebas realizadas, se puede deducir que las nanopartículas de plata tienen un efecto tóxico en las bacterias, esto puede ser debido a las características físicas y químicas de las nanopartículas, las cuales son: tamaño, forma, carga y composición química (Yildirimer, Thanh, Loizidou, & Seifalian, 2011).

El tamaño de las NP's es fundamental, ya que tener un tamaño menor a 30 nm favorece una mayor superficie de contacto de las NP's con la pared celular de los patógenos, lo cual permitiría su paso a través de ella y así alterar las funciones de estos (Guzman, Dille, & Godet, 2012). En la Gráfica 22 se muestra el tamaño de las nanopartículas de plata utilizadas para la actividad biológica, en donde existe una población del 95% de partículas con un tamaño de 11.77 nm aproximadamente; lo contrario sucede con las NP's Au, donde una población del 92.9% tienen un tamaño aproximado de

75.52 nm (Gráfica 23) el cual no permite el contacto con la pared celular y por lo tanto no mostrar una actividad, cabe mencionar que el oro a granel es un metal noble (inerte) y se esperaría que no presentara efectos tóxicos, sin embargo, se ha demostrado que su toxicidad potencial se presenta a un tamaño de partícula de 4 a 5 nm (Soenen et al., 2011). Es importante señalar que las nanopartículas de plata y oro tienen una forma esférica como se observan en la Micrografía 25 y Micrografía 27.

Por otro lado, la carga de las nanopartículas y de las bacterias permite una atracción electrostática que es crucial para probar su actividad con las bacterias (Guzman et al., 2012).

Aunque no se conoce el mecanismo preciso antibacteriano de las nanopartículas, existen al menos cuatro mecanismos propuestos:

- 1) Interferencia con la síntesis de la pared celular. Las nanopartículas se adhieren a la pared celular y puede perturbar la respiración y la permeabilidad (Tamboli & Lee, 2013).
- 2) Inhibición de la síntesis de proteínas (Guzman et al., 2012).
- 3) Interferencia con la síntesis de ácido nucleico (Guzman et al., 2012).
- 4) Inhibición de una vía metabólica (Guzman et al., 2012).

Con respecto al hongo, sólo las NP's Ag mostraron actividad antimicrobiana y aunque el mecanismo no es claro, existe una interacción de las NP's con la pared microbiana, proteínas del ADN y las esporas (Otari et al., 2014) lo que podría generar un efecto tóxico en el hongo.

Estudios realizados han confirmado que la carga de las nanopartículas tienen una atracción con la membrana de las células de microorganismos, lo que genera una mala permeabilidad celular y radicales libres (Owaid et al., 2015), lo anterior permitiría que las NP's presenten toxicidad para ciertos hongos, en este caso la *C. albicans*.

Aunque las NP's Au no tuvieron alguna actividad, algunos autores sugieren hacer modificaciones en la síntesis para cambiar su forma y tamaño, así como la concentración utilizada para probar dicha actividad (Jayaseelan, Ramkumar, Rahuman, & Perumal, 2013).

Con lo anterior se puede decir que el método utilizado para la síntesis de las NP's Ag no fue aplicable para las NP's Au, ya que se obtuvo un tamaño de partícula mayor a 70 nm, un índice de polidispersión alto y por lo tanto la falta una actividad biológica. A esto también se le puede atribuir el uso de las concentraciones inadecuadas de NP's Au contra las cepas.

## 6 CONCLUSIONES

- Se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas de plata asistida por microondas. Así mismo se logró determinar el tamaño de las partículas, siendo este de 10-100 nm; así como, su morfología, resultando esférica.
- Se seleccionó adecuadamente la especie vegetal: menta negra, para sintetizar nanopartículas de plata.
- Se identificó la planta seleccionada en el Herbario Etnobotánico IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

NOMBRE CIENTÍFICO	FAMILIA	NOMBRE COMÚN
<i>Menta x piperita</i> L.	Lamiaceae	Menta negra

- Para la obtención del extracto acuoso se recurrió al método asistido por microondas, el cual resultó óptimo para la extracción.
- De todos los métodos utilizados para sintetizar nanopartículas de plata, se determinó que el uso de microondas es el adecuado.
- Por medio de MEB y el uso de la técnica de Dispersión dinámica de la luz, así como de espectroscopia infrarroja se logró caracterizar a las nanopartículas de plata.
- Se evaluó la actividad biológica de las nanopartículas de plata siendo activas frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*; así como la evaluación de las nanopartículas de oro, las cuales no presentaron actividad contra las cepas.

## 7 PROSPECTIVAS

- Las síntesis de nanopartículas de plata y oro pueden efectuarse a partir del uso de extractos de diversas plantas, asegurando la formación de estas por el fenómeno de plasmón de superficie.
- Identificación de la mayoría de los compuestos del extracto acuoso de la planta *Mentha x piperita* L.
- Realizar un modelado molecular para conocer la interacción entre el ion metálico y los metabolitos secundarios del extracto.
- Se sugiere controlar el tamaño de las nanopartículas, ya que dependiendo de su tamaño puede maximizar su efecto en la aplicación deseada.
- Realizar la síntesis de nanopartículas con los diferentes metales de transición.
- Buscar una aplicación de las nanopartículas dentro de los campos de la química como catálisis, electroquímica, fármacos, alimentos, entre otros.
- Optimización del método de síntesis de nanopartículas de plata.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, Z., Labbez, C., Nordholm, S., & Ahlberg, E. (2008). Size-dependent surface charging of nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*, *112*(15), 5715–5723. <http://doi.org/10.1021/jp709667u>
- Ahmad, A., Khan, A., Samber, N., & Manzoor, N. (2014). Antimicrobial activity of Mentha piperita essential oil in combination with silver ions. *Synergy*, *1*(2), 92–98. <http://doi.org/10.1016/j.synres.2014.11.001>
- Ajitha, B., Ashok Kumar Reddy, Y., & Sreedhara Reddy, P. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles using Plectranthus amboinicus leaf extract and its antimicrobial activity. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *128*, 257–262. <http://doi.org/10.1016/j.saa.2014.02.105>
- Alonso, J. (2007). *Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos*. (E. O. Mestre, Ed.) Rosario, Argentina: Corpus Editorial y Distribuidora.
- Andersen, F. A. (2001). Final report on the safety assessment of Mentha Piperita (Peppermint) Oil, Mentha Piperita (Peppermint) Leaf Extract, Mentha Piperita (Peppermint) Leaf, and Mentha Piperita (Peppermint) Leaf Water. In *International Journal of Toxicology* (Vol. 20, pp. 61–73). Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0035212875&partnerID=tZOtx3y1>
- Anwar, M. F., Yadav, D., Kapoor, S., Chander, J., & Samim, M. (2015). Comparison of antibacterial activity of Ag nanoparticles synthesized from leaf extract of Parthenium hysterophorus L in aqueous media and Gentamicin sulphate: in-vitro. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, *41*(1), 43–50. <http://doi.org/10.3109/03639045.2013.845840>
- Aruoja, V., Dubourguier, H.-C., Kasemets, K., & Kahru, A. (2009). Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO<sub>2</sub> to microalgae Pseudokirchneriella subcapitata. *The Science of the Total Environment*, *407*(4), 1461–8. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.10.053>
- Bajaj, K. L., & Devsharma, A. K. (1977). A colorimetric method for the determination of tannins in tea. *Mikrochimica Acta*, *68*(3-4), 249–253. <http://doi.org/10.1007/BF01196209>
- Balakshin, M., Capanema, E., & Berlin, A. (2014). Chapter 4 – Isolation and Analysis of Lignin–Carbohydrate Complexes Preparations with Traditional and Advanced Methods: A Review. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 42, pp. 83–115). <http://doi.org/10.1016/B978-0-444-63281-4.00004-5>
- Basavegowda, N., Mishra, K., & Lee, Y. R. (2015). Ultrasonic-assisted green synthesis of palladium nanoparticles and their nanocatalytic application in multicomponent reaction. *New J. Chem.*, *39*(2), 972–977. <http://doi.org/10.1039/C4NJ01543F>
- Becharo, A. A., Jonsson, C. M., Puti, F. C., Siqueira, M. C., Mattoso, L. H. C., Correa, D. S., & Ferreira, M. D. (2014). Toxicity of PVA-stabilized silver nanoparticles to algae and microcrustaceans. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*. <http://doi.org/10.1016/j.enmm.2014.11.002>
- Bekhit, A. E. D., & Bekhit, A. A. (2014). Chapter 7 – Natural Antiviral Compounds. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 42, pp. 195–228). <http://doi.org/10.1016/B978-0-444-63281-4.00007-0>
- Bhushan, B. (Ed.). (2010). *Springer Handbook of Nanotechnology*. Columbus, Ohio, USA: Springer.
- Bigall, N. C., Parak, W. J., & Dorfs, D. (2012). Fluorescent, magnetic and plasmonic - Hybrid multifunctional colloidal nano objects. *Nano Today*, *7*(4), 282–296. <http://doi.org/10.1016/j.nantod.2012.06.007>

- Bragaru, A., Kusko, M., Vasile, E., Simion, M., Danila, M., Ignat, T., ... Craciunoiu, F. (2012). Analytical characterization of engineered ZnO nanoparticles relevant for hazard assessment. *Journal of Nanoparticle Research*, *15*(1), 1352. <http://doi.org/10.1007/s11051-012-1352-0>
- Bräuchler, C., Meimberg, H., & Heubl, G. (2010). Molecular phylogeny of Menthinae (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae)--Taxonomy, biogeography and conflicts. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *55*(2), 501–23. <http://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.01.016>
- Burda, C., Chen, X., Narayanan, R., & El-Sayed, M. A. (2005). Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes. *Chemical Reviews*, *105*(4), 1025–102. <http://doi.org/10.1021/cr030063a>
- Carrillo-López, L. M., Zavaleta-Mancera, H. A., Vilchis-Nestor, A., Soto-Hernández, R. M., Arenas-Alatorre, J., Trejo-Téllez, L. I., & Gómez-Merino, F. (2014). Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Chenopodium ambrosioides*. *Journal of Nanomaterials*, *2014*, 1–9. <http://doi.org/10.1155/2014/951746>
- Castillo-Juárez, I., González, V., Jaime-Aguilar, H., Martínez, G., Linares, E., Bye, R., & Romero, I. (2009). Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, *122*(2), 402–5. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2008.12.021>
- Cervellino, A., Giannini, C., & Guagliardi, A. (2003). Research papers Determination of nanoparticle structure type, size and strain distribution from X-ray data for nanoclusters research papers, 1148–1158. <http://doi.org/10.1107/S0021889803013542>
- Chatterjee, A., Santra, M., Won, N., Kim, J. K., Kim, S. Bin, Ahn, K. H., & Kim, S. (2009). Selective Fluorogenic and Chromogenic Probe for Detection of Silver Ions and Silver Nanoparticles in Aqueous Media Selective Fluorogenic and Chromogenic Probe for Detection of Silver Ions and Silver Nanoparticles in Aqueous Media. *Society*, 2040–2041. <http://doi.org/10.1021/ja807230c>
- Chua, L. S. (2013). A review on plant-based rutin extraction methods and its pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, *150*(3), 805–17. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2013.10.036>
- Conway, J. R., Adeleye, A. S., Gardea-Torresdey, J., & Keller, A. a. (2015). Aggregation, Dissolution, and Transformation of Copper Nanoparticles in Natural Waters. *Environmental Science & Technology*, *49*(5), 2749–2756. <http://doi.org/10.1021/es504918q>
- Cruz, D. a, Rodríguez, M. C., López, J. M., Herrera, V. M., Orive, A. G., & Creus, A. H. (2012). Nanopartículas Metálicas Y Plasmones De Superficie : Una Relación Profunda Metallic Nanoparticles and Surface Plasmons : a Deep Relationship, *3*(2), 67–78.
- Dai, J., Orsat, V., Vijaya Raghavan, G. S., & Yaylayan, V. (2010). Investigation of various factors for the extraction of peppermint (*Mentha piperita* L.) leaves. *Journal of Food Engineering*, *96*(4), 540–543. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.08.037>
- Danhier, F., Ansorena, E., Silva, J. M., Coco, R., Le Breton, A., & Prétat, V. (2012). PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. *Journal of Controlled Release*, *161*(2), 505–522. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.01.043>
- Das, J., & Velusamy, P. (2013). Antibacterial effects of biosynthesized silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Rosmarinus officinalis* L. *Materials Research Bulletin*, *48*(11), 4531–4537. <http://doi.org/10.1016/j.materresbull.2013.07.049>
- Dobrowolski, J. W., Vohora, S. B., Sharma, K., Shah, S. A., Naqvi, S. A. H., & Dandiya, P. C. (1991). Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *Journal of Ethnopharmacology*, *35*(1), 77–82. [http://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90135-Z](http://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90135-Z)

- Dolzhenko, Y., Berteau, C. M., Occhipinti, A., Bossi, S., & Maffei, M. E. (2010). UV-B modulates the interplay between terpenoids and flavonoids in peppermint (*Mentha x piperita* L.). *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, *100*(2), 67–75. <http://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.05.003>
- Dubey, S. P., Lahtinen, M., & Sillanpää, M. (2010). Tansy fruit mediated greener synthesis of silver and gold nanoparticles. *Process Biochemistry*, *45*, 1065–1071. <http://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.03.024>
- Duyn, R. P. Van, & Haes, a. J. (2006). Localized surface plasmon resonance spectroscopy near molecular resonances. *Journal of the American Chemical Society*, *128*(6), 10905–10914.
- Ebbesen, T. W., Genet, C., & Bozhevolnyi, S. I. (2008). Surface-plasmon circuitry. *Physics Today*, *61*(5), 44–50. <http://doi.org/10.1063/1.2930735>
- Edmundson, M. C., Capeness, M., & Horsfall, L. (2014). Exploring the potential of metallic nanoparticles within synthetic biology. *New Biotechnology*, *31*(6), 572–577. <http://doi.org/10.1016/j.nbt.2014.03.004>
- Elsaesser, A., & Howard, C. V. (2012). Toxicology of nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *64*(2), 129–37. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2011.09.001>
- El-Sayed, M. A. (2001). Some Interesting Properties of Metals Confined in Time and Nanometer Space of Different Shapes. *Accounts of Chemical Research*, *34*(4), 257–264. <http://doi.org/10.1021/ar960016n>
- Esquivel, B., & Sanchez, A. A. (2005). Rearranged icetexane diterpenoids from the roots of *Salvia thymoides* (Labiatae). *Natural Product Research*, *19*(4), 413–417. <http://doi.org/10.1080/14786410512331328731>
- Faraday, M. (n.d.). Experimental relations of gold (and other metals) to light. *Philos. Trans. R. Soc. London*. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0000160454&partnerID=tZOtx3y1>
- FHEUM (2013). *Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos* (Segunda ed.). México
- Fishman, J., Birchall, M., & Macchiarini, P. (2011). *Comprehensive Biomaterials*, 393–405. <http://doi.org/10.1016/B978-0-08-055294-1.00107-0>
- Frank, A. J., Cathcart, N., Maly, K. E., & Kitaev, V. (2010). Synthesis of silver nanoprisms with variable size and investigation of their optical properties: A first-year undergraduate experiment exploring plasmonic nanoparticles. *Journal of Chemical Education*, *87*(10), 1098–1101. <http://doi.org/10.1021/ed100166g>
- Ganzler, K., Salgó, A., & Valkó, K. (1986). Microwave extraction. *Journal of Chromatography A*, *371*, 299–306. [http://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)94714-4](http://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)94714-4)
- Glišić, S., Cakić, M., Nikolić, G., & Danilović, B. (2015). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of carboxymethyl dextrane stabilized silver nanoparticles. *Journal of Molecular Structure*, *1084*, 345–351. <http://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.12.048>
- González-Chávez, M. M., Cárdenas-Ortega, N. C., Méndez-Ramos, C. A., & Pérez-Gutiérrez, S. (2011). Fungicidal properties of the essential oil of *hesperozygis marifolia* on *aspergillus flavus* link. *Molecules*, *16*(3), 2501–2506.
- Guo, J., Zhang, Y., Luo, Y., Shen, F., & Sun, C. (2014). Efficient fluorescence resonance energy transfer between oppositely charged CdTe quantum dots and gold nanoparticles for turn-on fluorescence detection of glyphosate. *Talanta*, *125*, 385–392. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.03.033>
- Gupta, K., Hazarika, S. N., Saikia, D., Namsa, N. D., & Mandal, M. (2014). One step green synthesis and anti-microbial and anti-biofilm properties of *Psidium guajava* L. leaf extract-mediated silver nanoparticles. *Materials Letters*, *125*, 67–70. <http://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.03.134>

- Guzman, M., Dille, J., & Godet, S. (2012). Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 8(1), 37–45. <http://doi.org/10.1016/j.nano.2011.05.007>
- Haverkamp, R. G., & Marshall, a. T. (2009). The mechanism of metal nanoparticle formation in plants: Limits on accumulation. *Journal of Nanoparticle Research*, 11, 1453–1463. <http://doi.org/10.1007/s11051-008-9533-6>
- Hoffmann, D. (2003). *Medical Herbalism: The Science and Practice of Herbal Medicine*. Rochester: Inner Traditions / Bear & Co.
- Hornyak, G. L. (2009). *Fundamentals of nanotechnology*. Boca Raton: CRC Press.
- Hossain, Z., Mustafa, G., Sakata, K., & Komatsu, S. (2015). Insights into the proteomic response of soybean towards Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZnO, and Ag nanoparticles stress. *Journal of Hazardous Materials*, 304, 291–305. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.10.071>
- Huang, H.-C., Barua, S., Sharma, G., Dey, S. K., & Rege, K. (2011). Inorganic nanoparticles for cancer imaging and therapy. *Journal of Controlled Release*, 155(3), 344–357. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.06.004>
- Iacocca, R. (2011). Physical characterization of nano particulates used in the pharmaceutical industry. *American Pharmaceutical Review*. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-79952236821&partnerID=tZOtx3y1>
- Ibarra-Hurtado, J. M., Virgen-Ortiz, A., Apolinar-Irribé, A., & Luna-Velasco, A. (2014). Control and stabilization of silver nanoparticles size using polyvinylpyrrolidone at room temperature. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 9(2), 493–501. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84898473399&partnerID=tZOtx3y1>
- JAFARI, A., POURAKBAR, L., FARHADI, K., MOHAMADGOLIZAD, L., & GOOSTA, Y. (2015). Biological synthesis of silver nanoparticles and evaluation of antibacterial and antifungal properties of silver and copper nanoparticles. *TURKISH JOURNAL OF BIOLOGY*, 39(4), 556–561. <http://doi.org/10.3906/biy-1406-81>
- Jain, P. K., Huang, X., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. a. (2008). Noble metals on the nanoscale: Optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine. *Accounts of Chemical Research*, 41(12), 1578–1586. <http://doi.org/10.1021/ar7002804>
- Jain, P. K., Lee, K. S., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. (2006). Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: applications in biological imaging and biomedicine. *The Journal of Physical Chemistry. B*, 110(14), 7238–48. <http://doi.org/10.1021/jp057170o>
- Jamuna, B. A., & RaVishankar, R. V. (2014). *Nanomaterials for Environmental Protection*. (B. I. Kharisov, O. V. Kharissova, & H. V. R. Dias, Eds.), *Nanomaterials for Environmental Protection* (Vol. 9781118496). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc. <http://doi.org/10.1002/9781118845530>
- Jayaseelan, C., Ramkumar, R., Rahuman, A. A., & Perumal, P. (2013). Green synthesis of gold nanoparticles using seed aqueous extract of *Abelmoschus esculentus* and its antifungal activity. *Industrial Crops and Products*, 45, 423–429. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.12.019>
- Jeeva, K., Thiyagarajan, M., Elangovan, V., Geetha, N., & Venkatachalam, P. (2014). *Caesalpinia coriaria* leaf extracts mediated biosynthesis of metallic silver nanoparticles and their antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Industrial Crops and Products*, 52, 714–720. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.037>



- John, E. (2009). How to set specifications for the particle size distribution of a drug substance? Particle sizing. *American Pharmaceutical Review*, 12(3). Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-65949091813&partnerID=tZOtx3y1>
- Joseph, S., & Mathew, B. (2015). Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles and the study on catalytic activity in the degradation of dyes. *Journal of Molecular Liquids*, 204, 184–191. <http://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.01.027>
- Joseph, S., & Mathew, B. (2014). Microwave assisted facile green synthesis of silver and gold nanocatalysts using the leaf extract of *Aerva lanata*. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136PC (PC), 1371–1379. <http://doi.org/10.1016/j.saa.2014.10.023>
- Kahrilas, G. a., Wally, L. M., Fredrick, S. J., Hiskey, M., Prieto, A. L., & Owens, J. E. (2014). Microwave-Assisted Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Orange Peel Extract. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2, 367–376. <http://doi.org/10.1021/sc4003664>
- Kang, B., Afifi, M. M., Austin, L. a, El-sayed, M. a, States, U., Science, M., ... St, C. (2013). Exploiting the Nanoparticle Plasmon Effect : Observing Drug Delivery Dynamics in Single Cells via Raman / Fluorescence Imaging Spectroscopy, (8), 7420–7427.
- Kapp, K., Hakala, E., Orav, A., Pohjala, L., Vuorela, P., Püssa, T., ... Raal, A. (2013). Commercial peppermint (*Mentha piperita* L.) teas: Antichlamydial effect and polyphenolic composition. *Food Research International*, 53(2), 758–766. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.015>
- Kaviya, S., Santhanalakshmi, J., Viswanathan, B., Muthumary, J., & Srinivasan, K. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using citrus sinensis peel extract and its antibacterial activity. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79, 594–598. <http://doi.org/10.1016/j.saa.2011.03.040>
- Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L., & Schatz, G. C. (2003). The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(3), 668–677. <http://doi.org/10.1021/jp026731y>
- Kesarwani, K., & Gupta, R. (2013). Bioavailability enhancers of herbal origin: An overview. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(4), 253–266. [http://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60060-X](http://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60060-X)
- Khatoon, N., Mishra, A., Alam, H., Manzoor, N., & Sardar, M. (2015). Biosynthesis, Characterization, and Antifungal Activity of the Silver Nanoparticles against Pathogenic *Candida* species. *BioNanoScience*, 5(2), 65–74. <http://doi.org/10.1007/s12668-015-0163-z>
- Khodashenas, B., & Ghorbani, H. R. (2015). Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. *Arabian Journal of Chemistry*. <http://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.12.014>
- Klekotko, M., Matczyszyn, K., Siednienko, J., Olesiak-Banska, J., Pawlik, K., & Samoc, M. (2015). Bio-mediated synthesis, characterization and cytotoxicity of gold nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics : PCCP*, 17(43), 29014–9. <http://doi.org/10.1039/c5cp01619c>
- Kreibig, U., Vollmer, M. (1995). Optical Properties of Metal Clusters. *Springer, Chapter 2*.
- Kumar, A., Chisti, Y., & Chand, U. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, 31, 346–356. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.003>
- Kumbhar, A. S., Kinnan, M. K., & Chumanov, G. (2005). Multipole plasmon resonances of submicron silver particles. *Journal of the American Chemical Society*, 127, 12444–12445. <http://doi.org/10.1021/ja053242d>
- Leicach, S. R., & Chludil, H. D. (2014). Chapter 9 – Plant Secondary Metabolites: Structure–Activity Relationships in Human Health Prevention and Treatment of Common Diseases. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 42, pp. 267–304). <http://doi.org/10.1016/B978-0-444-63281-4.00009-4>

- Li, Y., Gan, W., Zhou, J., & Li, B. (2015). Glass frits coated with silver nanoparticles for silicon solar cells. *Applied Surface Science*, *341*, 127–133. <http://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.03.021>
- Lianda, R. L. P., Sant'ana, L. D. O., Echevarria, A., & Castro, R. N. (2012). Antioxidant activity and phenolic composition of Brazilian honeys and their extracts. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *23*(4), 618–627. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84859883729&partnerID=tZOtx3y1>
- Libralato, G. (2014). The case of *Artemia* spp. in nanoecotoxicology. *Marine Environmental Research*, *101*, 38–43. <http://doi.org/10.1016/j.marenvres.2014.08.002>
- Link, S., & El-Sayed, M. A. (2003). Optical properties and ultrafast dynamics of metallic nanocrystals. *Annual Review of Physical Chemistry*, *54*, 331–66. <http://doi.org/10.1146/annurev.physchem.54.011002.103759>
- López Georme, T. M. (2011). *Nanotecnología y Nanomedicina: La ciencia del futuro... Hoy*. Ciudad de México: Arhké Ediciones.
- López-Alarcón, C., & Denicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta*, *763*, 1–10. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2012.11.051>
- Malathi, R., & Ganesan, V. (2015). Biological synthesis of palladium nanoparticles using leaf extract of *sebastiania chamaelea*(L.) muell. arg. *International Journal of ChemTech Research*, *7*(2), 734–739. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84922570155&partnerID=tZOtx3y1>
- Maretti, L., Billone, P. S., Liu, Y., & Scaiano, J. C. (2009). Facile photochemical synthesis and characterization of highly fluorescent silver nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, *131*(28), 13972–13980. <http://doi.org/10.1021/ja900201k>
- Martinez-Gutierrez, F., Olive, P. L., Banuelos, A., Orrantia, E., Nino, N., Sanchez, E. M., ... Av-Gay, Y. (2010). Synthesis, characterization, and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effect of silver and titanium nanoparticles. *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology, and Medicine*, *6*(5), 681–8. <http://doi.org/10.1016/j.nano.2010.02.001>
- Martínez-Martínez, F. J., Padilla-Martínez, I. I., Brito, M. A., Geniz, E. D., Rojas, R. C., Saavedra, J. B. R., ... Contreras, R. (1998). Three-center intramolecular hydrogen bonding in oxamide derivatives. NMR and X-ray diffraction study. *Journal of the Chemical Society. Perkin Transactions 2*, *2*, (2), 401–406. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0043241988&partnerID=tZOtx3y1>
- McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research : PTR*, *20*(8), 619–33. <http://doi.org/10.1002/ptr.1936>
- Millstone, J. E., Hurst, S. J., Métraux, G. S., Cutler, J. I., & Mirkin, C. a. (2009). Colloidal gold and silver triangular nanoprisms. *Small*, *5*(6), 646–664. <http://doi.org/10.1002/smll.200801480>
- Mody, V. V., Siwale, R., Singh, A., & Mody, H. R. (2010). Introduction to metallic nanoparticles. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, *2*(4), 282–289. <http://doi.org/10.4103/0975-7406.72127>
- MubarakAli, D., Thajuddin, N., Jeganathan, K., & Gunasekaran, M. (2011). Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, *85*(2), 360–5. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.03.009>
- Mulvaney, P. (1996). Surface Plasmon Spectroscopy of Nanosized Metal Particles. *Langmuir*, *12*(12), 788–800. <http://doi.org/10.1021/la9502711>

- Nangia, S., & Sureshkumar, R. (2012). Effects of nanoparticle charge and shape anisotropy on translocation through cell membranes. *Langmuir*, 28, 17666–17671. <http://doi.org/10.1021/la303449d>
- Neder, R. B., & Korsunskiy, V. I. (2005). Structure of nanoparticles from powder diffraction data using the pair distribution function. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 17(5), S125–S134. <http://doi.org/10.1088/0953-8984/17/5/013>
- Otari, S. V., Patil, R. M., Nadaf, N. H., Ghosh, S. J., & Pawar, S. H. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles by microorganism using organic pollutant: Its antimicrobial and catalytic application. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(2), 1503–1513. <http://doi.org/10.1007/s11356-013-1764-0>
- Owaid, M. N., Raman, J., Lakshmanan, H., Al-Saeedi, S. S. S., Sabaratnam, V., & Abed, I. A. (2015). Mycosynthesis of silver nanoparticles by *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus* and its inhibitory effects against *Candida* sp. *Materials Letters*, 153, 186–190. <http://doi.org/10.1016/j.matlet.2015.04.023>
- Padalia, H., Moteriya, P., & Chanda, S. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles from marigold flower and its synergistic antimicrobial potential. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(5), 732–741. <http://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.015>
- Pai, A. R., Kavitha, S., Shweta Raj, S., Priyanka, P., Vrinda, A., Vivin, T. S., & Silpa, S. (2015). Green synthesis and characterizations of silver nanoparticles using fresh leaf extract of *Morinda citrifolia* and its anti-microbial activity studies. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(3), 459–461. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84924427670&partnerID=tZOtx3y1>
- Panáček, A., Kolár, M., Vecerová, R., Pucek, R., Soukupová, J., Krystof, V., ... Kvítek, L. (2009). Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. *Biomaterials*, 30(31), 6333–40. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.07.065>
- Park, H.-S., & Shim, S.-M. (2015). Preventive responses to a standardized extract of *Houttuynia cordata* supplemented diet in obesity induced by a high-fat diet in mice. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 58(5), 643–649. <http://doi.org/10.1007/s13765-015-0087-x>
- Pisonero-Vaquero, S., Gonzalez-Gallego, J., Sanchez-Campos, S., & Garcia-Mediavilla, M. V. (2015). Flavonoids and related compounds in non-alcoholic fatty liver disease therapy. *Current Medicinal Chemistry*, 22(25), 2991–3012. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84942155235&partnerID=tZOtx3y1>
- Poopathi, S., De Britto, L. J., Praba, V. L., Mani, C., & Praveen, M. (2014). Synthesis of silver nanoparticles from *Azadirachta indica*—a most effective method for mosquito control. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 2956–2963. <http://doi.org/10.1007/s11356-014-3560-x>
- Pourmortazavi, S. M., Taghdiri, M., Makari, V., & Rahimi-Nasrabadi, M. (2015). Procedure optimization for green synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Eucalyptus oleosa*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136(PC), 1249–1254. <http://doi.org/10.1016/j.saa.2014.10.010>
- Rajan, R., Chandran, K., Harper, S. L., Yun, S.-I., & Kalaichelvan, P. T. (2015). Plant extract synthesized silver nanoparticles: An ongoing source of novel biocompatible materials. *Industrial Crops and Products*, 70, 356–373. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.015>
- Rajaram, K., Aiswarya, D. C., & Sureshkumar, P. (2015). Green synthesis of silver nanoparticle using *Tephrosia tinctoria* and its antidiabetic activity. *Materials Letters*, 138, 251–254. <http://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.10.017>

- Rajasekharreddy, P., Rani, P. U., & Sreedhar, B. (2010). Qualitative assessment of silver and gold nanoparticle synthesis in various plants: A photobiological approach. *Journal of Nanoparticle Research*, *12*, 1711–1721. <http://doi.org/10.1007/s11051-010-9894-5>
- Raveendran, P., Fu, J., & Wallen, S. L. (2003). Completely “Green” Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, *125*, 13940–13941. <http://doi.org/10.1021/ja029267j>
- Ritchie, R. H. (1957). Plasma Losses by Fast Electrons in Thin Films. *Physical Review*, *106*(5), 874–881. <http://doi.org/10.1103/PhysRev.106.874>
- Ruedas-Rama, M. J., Walters, J. D., Orte, A., & Hall, E. a H. (2012). Fluorescent nanoparticles for intracellular sensing: A review. *Analytica Chimica Acta*, *751*, 1–23. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2012.09.025>
- Sagle, L. B., Ruvuna, L. K., Ruemmele, J. a, & Van Duyne, R. P. (2011). Advances in localized surface plasmon resonance spectroscopy biosensing. *Nanomedicine (London, England)*, *6*, 1447–62. <http://doi.org/10.2217/nnm.11.117>
- Salamon, Z., & Tollin, G. (1999). *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry. Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*. Elsevier. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-374413-5.00299-2>
- Secretaria de Salud. (1988). *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos* (Quinta ed.). Ciudad de México.
- Sagle, L. B., Ruvuna, L. K., Ruemmele, J. a, & Van Duyne, R. P. (2011). Advances in localized surface plasmon resonance spectroscopy biosensing. *Nanomedicine (London, England)*, *6*, 1447–62. <http://doi.org/10.2217/nnm.11.117>
- Salamon, Z., & Tollin, G. (1999). *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry. Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*. Elsevier. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-374413-5.00299-2>
- Shang, L., & Nienhaus, G. U. (2013). Small fluorescent nanoparticles at the nano-bio interface. *Materials Today*, *16*(3), 58–66. <http://doi.org/10.1016/j.mattod.2013.03.005>
- Shankar, S. S., Ahmad, A., & Sastry, M. (2003). Geranium Leaf Assisted Biosynthesis of Silver Nanoparticles. *Biotechnology Progress*, *19*, 1627–1631. <http://doi.org/10.1021/bp034070w>
- Sharma, P., Brown, S., Walter, G., Santra, S., & Moudgil, B. (2006). Nanoparticles for bioimaging. *Advances in Colloid and Interface Science*, *123-126*, 471–485. <http://doi.org/10.1016/j.cis.2006.05.026>
- Silva, S., Gomes, L., Leitao, F., Coelho, A. V., & Boas, L. V. (2006). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Olea europaea* L. Fruits and Leaves. *Food Science and Technology International*, *12*(5), 385–395. <http://doi.org/10.1177/1082013206070166>
- Simo, A., Polte, J., Pfänder, N., Vainio, U., Emmerling, F., & Rademann, K. (2012). Formation Mechanism of Silver Nanoparticles Stabilized in Glassy Matrices Formation Mechanism of Silver Nanoparticles Stabilized in Glassy Matrices, (iii).
- Singh, R. P., Magesh, S., & Rakkiyappan, C. (2011). Study of colloids of Ag nanoparticles from Mentha Piperita leaf extract and their antibacterial effect. In *2011 11th IEEE International Conference on Nanotechnology* (pp. 57–60). IEEE. <http://doi.org/10.1109/NANO.2011.6144385>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). *Oxidants and Antioxidants Part A. Methods in Enzymology* (Vol. 299). Elsevier. [http://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](http://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Soenen, S. J., Rivera-Gil, P., Montenegro, J.-M., Parak, W. J., De Smedt, S. C., & Braeckmans, K. (2011). Cellular toxicity of inorganic nanoparticles: Common aspects and guidelines for

- improved nanotoxicity evaluation. *Nano Today*, 6(5), 446–465. <http://doi.org/10.1016/j.nantod.2011.08.001>
- Son, J., Vavra, J., & Forbes, V. E. (2015). Effects of water quality parameters on agglomeration and dissolution of copper oxide nanoparticles (CuO-NPs) using a central composite circumscribed design. *The Science of the Total Environment*, 521-522, 183–90. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.093>
- Son, J., Vavra, J., Li, Y., Seymour, M., & Forbes, V. (2015). Interactions between suspension characteristics and physicochemical properties of silver and copper oxide nanoparticles: a case study for optimizing nanoparticle stock suspensions using a central composite design. *Chemosphere*, 124, 136–42. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.12.005>
- Song, J., Zhou, J., & Duan, H. (2012). Self-assembled plasmonic vesicles of SERS-encoded amphiphilic gold nanoparticles for cancer cell targeting and traceable intracellular drug delivery. *Journal of the American Chemical Society*, 134, 13458–13469. <http://doi.org/10.1021/ja305154a>
- Soni, N., & Prakash, S. (2014). Green Nanoparticles for Mosquito Control, 2014.
- Stamplecoskie, K., & Scaiano, J. (2010). Light Emitting Diode Irradiation Can Control the Morphology and Optical Properties of Silver Nanoparticles - Supporting Info. *J. Am. Chem. Soc.*, 8. Retrieved from file:///Users/geniece/Desktop/NP catalysis/Papers/2010/Stamplecoskie/J. Am. Chem. Soc. 2010 Stamplecoskie.pdf\npapers://60b02dbb-6fdf-4a6b-94b3-726a78f77e50/Paper/p263
- Stamplecoskie, K. G., Pacioni, N. L., Larson, D., & Scaiano, J. C. (2011). Plasmon-mediated photopolymerization maps plasmon fields for silver nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, 133, 9160–9163. <http://doi.org/10.1021/ja201139z>
- Sulaiman, G. M., Mohammed, W. H., Marzoog, T. R., Al-Amiery, A. A. A., Kadhum, A. A. H., & Mohamad, A. B. (2013). Green synthesis, antimicrobial and cytotoxic effects of silver nanoparticles using Eucalyptus chapmaniana leaves extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(1), 58–63. [http://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60024-6](http://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60024-6)
- Suman, T. Y., Ravindranath, R. R. S., Elumalai, D., Kaleena, P. K., Ramkumar, R., Perumal, P., ... Chitrarasu, P. S. (2015). Larvicidal activity of titanium dioxide nanoparticles synthesized using Morinda citrifolia root extract against Anopheles stephensi, Aedes aegypti and Culex quinquefasciatus and its other effect on non-target fish. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(3), 224–230. [http://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60658-7](http://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60658-7)
- Sun, Q., Cai, X., Li, J., Zheng, M., Chen, Z., & Yu, C. P. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 444, 226–231. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.12.065>
- Suštar, V., Bedina-Zavec, A., Stukelj, R., Frank, M., Bobojević, G., Janša, R., ... Kralj-Iglič, V. (2011). Nanoparticles isolated from blood: a reflection of vesiculability of blood cells during the isolation process. *International Journal of Nanomedicine*, 6, 2737–2748. <http://doi.org/10.2147/IJN.S24537>
- Takesue, M., Tomura, T., Yamada, M., Hata, K., Kuwamoto, S., & Yonezawa, T. (2011). Size of elementary clusters and process period in silver nanoparticle formation. *Journal of the American Chemical Society*, 133, 14164–14167. <http://doi.org/10.1021/ja202815y>
- Tamboli, D. P., & Lee, D. S. (2013). Mechanistic antimicrobial approach of extracellularly synthesized silver nanoparticles against gram positive and gram negative bacteria. *Journal of Hazardous Materials*, 260, 878–84. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.06.003>
- Tamura, T., Morita, E., Kawai, S., Sasakabe, T., Sugimoto, Y., Fukuda, N., ... Wakai, K. (2015). No association between Helicobacter pylori infection and diabetes mellitus among a general

- Japanese population: a cross-sectional study. *SpringerPlus*, 4(1), 602. <http://doi.org/10.1186/s40064-015-1371-2>
- Tang, B., Li, J., Hou, X., Afrin, T., Sun, L., & Wang, X. (2013). Colorful and antibacterial silk fiber from anisotropic silver nanoparticles. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 52, 4556–4563. <http://doi.org/10.1021/ie3033872>
- Textbook of Natural Medicine. (2013). Textbook of Natural Medicine. Elsevier. doi:10.1016/B978-1-4377-2333-5.00105-X
- Tortoriello, J., & Romero, O. (1992). Plants used by Mexican traditional medicine with presumable sedative properties: an ethnobotanical approach. *Archives of Medical Research*, 23(3), 111–116.
- UNAM. (2009). Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Recuperado el 26 de marzo de 2015, de <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Epazote&id=7646>
- Valencia, G. A., Vercik, L. C. D. O., Gaviao Ferreira, L., Llanos, J. H. R., & Vercik, A. (2014). Synthesis and characterisation of gold nanoparticles using *Mentha piperita* leaf extract: a green, non-toxic and rapid method. *International Journal of Nano and Biomaterials*, 5(2/3), 181. <http://doi.org/10.1504/IJNB.2014.066905>
- Van der Eycken, E., Terry, N., Goeman, J. L., Carlens, G., Nerinckx, W., Claeysens, M., ... Engler, G. (2000). Sudan- $\beta$ -d-glucuronides and their use for the histochemical localization of  $\beta$ -glucuronidase activity in transgenic plants. *Plant Cell Reports*, 19(10), 966–970. <http://doi.org/10.1007/s002990000219>
- Van Der Jagt, D. L., Hunsaker, L. A., Young, B. S., & Brown, W. M. (2003). Aldo-keto reductase-catalyzed detoxication of endogenous aldehydes associated with diabetic complications. *ACS Symposium Series*, 865, 23–35. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-81855209866&partnerID=tZOtx3y1>
- Vauthier, C., Cabane, B., & Labarre, D. (2008). How to concentrate nanoparticles and avoid aggregation? *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 69, 466–475. <http://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.01.025>
- Verano-Braga, T., Miethling-Graff, R., Wojdyla, K., Rogowska-Wrzesinska, A., Brewer, J. R., Erdmann, H., & Kjeldsen, F. (2014). Insights into the cellular response triggered by silver nanoparticles using quantitative proteomics. *ACS Nano*, 8(3), 2161–2175. <http://doi.org/10.1021/nn4050744>
- Vidal, F., & Moreno, L. (2008). Plasmones superficiales. *Investigación Y Ciencia*, 66–76. Retrieved from <http://iyc.whads.com/files/8619.pdf>
- Vijayakumar, S., Vinoj, G., Malaikozhundan, B., Shanthi, S., & Vaseeharan, B. (2015). *Plectranthus amboinicus* leaf extract mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles and its control of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* biofilm and blood sucking mosquito larvae. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 137, 886–91. <http://doi.org/10.1016/j.saa.2014.08.064>
- Vilela, D., González, M. C., & Escarpa, A. (2012). Sensing colorimetric approaches based on gold and silver nanoparticles aggregation: Chemical creativity behind the assay. A review. *Analytica Chimica Acta*, 751, 24–43. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2012.08.043>
- Voirin, B., Saunois, A., & Bayet, C. (1994). Free flavonoid aglycones from *Mentha × piperita*: Developmental, chemotaxonomical and physiological aspects. *Biochemical Systematics and Ecology*, 22(1), 95–99. [http://doi.org/10.1016/0305-1978\(94\)90119-8](http://doi.org/10.1016/0305-1978(94)90119-8)

- Volpert, R., & Elstner, E. F. (1996). Interactions of different extracts of propolis with leukocytes and leukocytic enzymes. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research*, 46(1), 47–51. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0030034049&partnerID=tZOTx3y1>
- Wang, X., & Hai, C. (2015). Redox modulation of adipocyte differentiation: hypothesis of “Redox Chain” and novel insights into intervention of adipogenesis and obesity. *Free Radical Biology & Medicine*, 89, 99–125. <http://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.07.012>
- Wiley, B. J. ., Im, S. H. ., Li, Z.-Y. ., McLellen, J. ., Siekkinen, a. ., & Xia, Y. . (2006). Maneuvering the Surface Plasmon Resonance of Silver Nanostructures through\nShape-Controlled Synthesis. *Journal of Physical Chemistry B*, 110, 15666–15675.
- Willett, D. R., & Chumanov, G. (2014). LSPR Sensor Combining Sharp Resonance and Differential Optical Measurements. *Plasmonics*. <http://doi.org/10.1007/s11468-014-9754-8>
- Xia, Y., Gates, B., Yin, Y., & Lu, Y. (2000). Monodispersed Colloidal Spheres: Old Materials with New Applications. *Advanced Materials*, 12(10), 693–713. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4095\(200005\)12:10<693::AID-ADMA693>3.0.CO;2-J](http://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4095(200005)12:10<693::AID-ADMA693>3.0.CO;2-J)
- Xie, J., Lee, J. Y., Wang, D. I. C., & Ting, Y. P. (2007). Silver nanoplates: From biological to biomimetic synthesis. *ACS Nano*, 1(5), 429–439. <http://doi.org/10.1021/nn7000883>
- Xu, H., & Suslick, K. S. (2010). Sonochemical synthesis of highly fluorescent Ag nanoclusters. *ACS Nano*, 4(6), 3209–3214. <http://doi.org/10.1021/nn100987k>
- Xu, R. (2008). Progress in nanoparticles characterization: Sizing and zeta potential measurement. *Particuology*, 6(2), 112–115. <http://doi.org/10.1016/j.partic.2007.12.002>
- Yang, N., & Li, W.-H. (2013). Mango peel extract mediated novel route for synthesis of silver nanoparticles and antibacterial application of silver nanoparticles loaded onto non-woven fabrics. *Industrial Crops and Products*, 48, 81–88. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.04.001>
- Yasuda, D., Imura, Y., Ishii, S., Shimizu, T., & Nakamura, M. (2015). The atypical N-glycosylation motif, Asn-Cys-Cys, in human GPR109A is required for normal cell surface expression and intracellular signaling. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 29(6), 2412–22. <http://doi.org/10.1096/fj.14-267096>
- Yildirimer, L., Thanh, N. T. K., Loizidou, M., & Seifalian, A. M. (2011). Toxicology and clinical potential of nanoparticles. *Nano Today*, 6(6), 585–607. <http://doi.org/10.1016/j.nantod.2011.10.001>
- Yuan, X., Luo, Z., Zhang, Q., Zhang, X., Zheng, Y., Lee, J., & Xie, J. (2011). Synthesis of Highly Fluorescent Metal ( Ag , Au , Pt , and Cu ) Nanoclusters by Electrostatically-Induced Reversible Phase Transfer Synthesis of Highly Fluorescent Metal ( Ag , Au , Pt , and Cu ) Nanoclusters by Electrostatically-Induced Reversible Phase , (11), 8800–8808.
- Zahir, A. A., & Rahuman, A. A. (2012). Evaluation of different extracts and synthesised silver nanoparticles from leaves of Euphorbia prostrata against Haemaphysalis bispinosa and Hippobosca maculata. *Veterinary Parasitology*, 187(3-4), 511–20. <http://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.02.001>
- Zeng, K.-W., Liao, L.-X., Lv, H.-N., Song, F.-J., Yu, Q., Dong, X., ... Tu, P.-F. (2015). Natural small molecule FMHM inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response by promoting TRAF6 degradation via K48-linked polyubiquitination. *Scientific Reports*, 5, 14715. <http://doi.org/10.1038/srep14715>
- Zhang, J., Ma, N., Tang, F., Cui, Q., He, F., & Li, L. (2012). pH- and glucose-responsive core-shell hybrid nanoparticles with controllable metal-enhanced fluorescence effects. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 4, 1747–1751. <http://doi.org/10.1021/am201858u>
- Zhang, L., Reddy, N., & Koyyalamudi, S. R. (2014). Chapter 5 – Isolation, Characterization, and Biological Activities of Polysaccharides from Medicinal Plants and Mushrooms. In *Studies in*

*Natural Products Chemistry* (Vol. 42, pp. 117–151). <http://doi.org/10.1016/B978-0-444-63281-4.00005-7>

Zhen, J., Villani, T. S., Guo, Y., Qi, Y., Chin, K., Pan, M.-H., ... Wu, Q. (2016). Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *Hibiscus sabdariffa* leaves. *Food Chemistry*, 190, 673–680. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.006>

Zhou, X., Peng, Y., Liu, B., Zhang, T., Yiniger, H., Yewhalaw, D., ... Ts, N. (2011). Plants Used in Mexican Traditional Medicine Their Application and Effects In Traditional Healing Practices. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 10(3), 8–9. <http://doi.org/10.1037/e651912010-001>



## 9 APÉNDICE

### 9.1 APÉNDICE A

#### SOLUCIONES Y REACTIVOS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUÍMICA

##### Alcaloides

1. El extracto a evaluar se disuelve en agua o disolvente adecuado y se acidula.
2. Se añade una gota del reactivo para la evaluación de alcaloides.
3. El reactivo de Dragendorff genera sólidos naranja-marrón (Domínguez, 1998); con el reactivo de Hager se observa la formación de cristales en forma de aguja de picrato de alcaloide y finalmente, ácido silicotúngstico forma un precipitado floculado color crema o beige.

REACTIVO	PREPARACIÓN
Dragendorff	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Disolver 8 g de nitrato de bismuto pentahidratado con 20 mL de ácido nítrico (30%) en un matraz Erlenmeyer de 125 mL.</li><li>2. En otro matraz Erlenmeyer, coloque 27.2 g de ioduro de potasio con 50 mL de agua.</li><li>3. Mezclar las soluciones y dejar reposar 24 h.</li><li>4. Decantar la solución y aforar a 100 mL.</li></ol>
Hager	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Solución saturada de ácido pícrico.</li></ol>
Ácido silicotúngstico	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Se disuelven 12 g de ácido en agua y se aforan a 100 mL.</li></ol>

##### Carbohidratos reductores

##### Prueba de Fehling

1. La fracción concentrada a seco en agua se trata con una mezcla de 1 mL de reactivo de Fehling A y 1 mL de Fehling B.
2. Calentar de 15 minutos.
3. La aparición de un color o precipitado rojo indica la presencia de azúcares reductores (Lastra & Cuéllar, 1994).

REACTIVO	PREPARACIÓN
Fehling	<ol style="list-style-type: none"><li>1. La solución A consiste en 3.5 g de sulfato de cobre pentahidratado aforado a 50 mL.</li><li>2. La solución B consiste en 17.5 g de tartrato de sodio y potasio más 5 g de hidróxido de sodio, aforados a 50 mL con agua destilada.</li></ol>

##### Saponinas

##### Rosenthaler

1. A una porción del extracto se le adiciona 1 gota del extracto y 1 gota de reactivo de Rosenthaler.
2. Adicionar 1-2 gotas de ácido sulfúrico concentrado, coloraciones rojas o violetas indican la presencia de terpenos pentacíclicos (Valencia del Toro & Garín Aguilar, 2010).

REACTIVO	PREPARACIÓN
Rosenthaler	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Diluir 1 gramo de vainilla en 100 mL de etanol.</li></ol>

#### Espuma

1. Se utiliza 1 mL del extracto acuoso, se le adicionan 6 mL de agua tibia y se agita fuertemente durante 2 minutos.
2. Si aparece espuma estable que dura por más de 5 minutos, esto indica la presencia de saponinas (Lastra & Cuéllar, 1994).

#### Triterpenos/Esteroles (Liebermann-Buchard)

1. Disolver una porción del extracto con 1 mL de cloroformo.
2. Agregar 1 mL de anhídrido acético y dejar resbalar por las paredes del tubo, dejar reposar en frío.
3. Añadir de 1 a 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado.
4. La aparición de colores rojo, rosa, verde, púrpura o azul en la interfase se considera positiva.

#### Taninos

1. Al extracto se le adiciona de 1 a 2 gotas de cloruro férrico. Numerosos fenoles dan coloraciones características con esta solución debido a la formación de complejos (Devore & Muñoz Mena, 1974).

REACTIVO	PREPARACIÓN
Cloruro férrico	1. Disolver 1.25 g de cloruro férrico en 25 mL de agua y aforar a 50 mL con alcohol metílico.

#### Flavonoides (Shinoda)

1. Se toma un tubo de ensaye con el extracto a evaluar y se le añade una viruta de magnesio.
2. Se prosigue la prueba con la adición de ácido clorhídrico concentrado.
3. Las coloraciones que van del amarillo al rojo azulado, pasando por el anaranjado se consideran positivas (Barba, 1997).

#### Glucósidos cianogénicos

1. Se coloca una tora de papel impregnada con el reactivo de Guignard en la boca del tubo que contenga un poco del extracto acuoso con unas gotas de cloroformo.
2. Calentar a 30-35° C y ver la coloración que aparece en el papel.
3. Colores del rojo al rosa con considerados como positivos (Barba, 1997).

REACTIVO	PREPARACIÓN
Guignard	1. Aforar 1 g de carbonato de sodio y 100 mg de ácido pícrico a 100 mL.

#### Lactonas sesquiterpénicas (Baljet)

1. Mezclar 0.5 mL de solución A con 0.5 mL de la solución B.
2. Adicionar unos miligramos del residuo alcohólico. La aparición de una coloración naranja o roja oscura, se considera positiva (Barba, 1997).

REACTIVO	PREPARACIÓN
Solución A	1. Disolver 1 g de ácido pícrico en 100 mL de etanol.
Solución B	1. Disolver 10 g de hidróxido de sodio y aforar a 100 mL con agua destilada.

## 9.2 APÉNDICE B

### MGA-FH 0010. POLVOS Y TAMAÑO DE TAMIZ

**Polvos** Un polvo está clasificado como grueso o fino de acuerdo al tamaño de apertura nominal, expresado en micrómetros ( $\mu\text{m}$ ) de la malla del tamiz que es capaz de atravesar. Términos usados para describir el tamaño de partícula.

Polvo grueso (2000/355)	Todas las partículas pasan a través de un tamiz No. 2000 y no más del 40 por ciento atraviesa un tamiz No. 355.
Polvo moderadamente grueso (710/250)	Todas las partículas pasan a través de un tamiz No. 710 y no más del 40 por ciento atraviesan un tamiz No. 250.
Polvo moderadamente fino (355/180)	Todas las partículas pasan a través de un tamiz No. 355 y no más del 40 por ciento atraviesa un tamiz No. 180.
Polvo fino (180)	Todas las partículas pasan a través de un tamiz No. 180.
Polvo muy fino (125)	Todas las partículas pasan a través de un tamiz No. 125.

Tamices. El alambre de los tamices usados para cernir polvos de plantas medicinales se clasifica por números, el cual indica la apertura expresada en micrómetros.

Número de tamiz ( $\mu\text{m}$ )	Tamaño nominal de la apertura (mm)	Diámetro nominal del alambre (mm)	Área aproximada de la malla (por ciento)
2 000	2.000	0.900	48
1 400	1.400	0.710	44
1 000	1.000	0.560	41
710	0.710	0.450	37
500	0.500	0.315	38
355	0.355	0.224	38
250	0.250	0.160	37
212	0.212	0.140	36
180	0.180	0.125	35
150	0.150	0.100	36
125	0.125	0.090	34
90	0.090	0.063	35
75	0.075	0.050	36
45	0.045	0.032	34

Los tamices se han seleccionado de entre los que conforman la norma ISO 565-1990.

### 9.3 APÉNDICE C

#### CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES

Solución patrón de Rutina (1 mg/mL)

Considerando la pureza del reactivo, los cálculos efectuados fueron:

$$100 \text{ mL} \times \left( \frac{1 \text{ mg de Rutina}}{\text{mL}} \right) \left( \frac{100 \text{ mg de Rutina R. A.}}{95 \text{ mg de Rutina}} \right) = 105 \text{ mg de Rutina R. A.}$$

1. Disolver la cantidad de rutina calculada con 35 mL de etanol tibio.
2. Aforar la solución alcohólica a 100 mL con agua desionizada.

Solución de carbono de sodio

1. Disolver 20 g de carbonato de sodio anhidro en 80 mL de agua y llevar a ebullición.
2. Aforar a 100 mL y almacenar hasta su uso.

## 10 ANEXOS

### 10.1 ANEXO A

#### Preparación de $\text{AgNO}_3$ $1 \times 10^{-3}$ M

$$1 \text{ L de AgNO}_3 \times \left( \frac{1 \times 10^{-3} \text{ mol AgNO}_3}{1 \text{ L AgNO}_3} \right) \times \left( \frac{169.87 \text{ g de AgNO}_3}{1 \text{ mol de AgNO}_3} \right) \\ = 0.16987 \text{ g de AgNO}_3 \text{ R. A.}$$

#### Preparación de $\text{HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $1 \times 10^{-3}$ M

$$0.25 \text{ L de HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} \times \left( \frac{1 \times 10^{-3} \text{ mol HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}}{1 \text{ L HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}} \right) \times \left( \frac{339.79 \text{ g de HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O R. P.}}{1 \text{ mol de HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}} \right) \times \left( \frac{100 \text{ g de HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O R. A.}}{99.9 \text{ g de HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O R. P.}} \right) \\ = 0.0849 \text{ g de HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O R. A.}$$

10.2 ANEXO B

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DE *Mentha x piperita* L. LAMIACEAE

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA  
SECRETARÍA GENERAL ACADÉMICA  
CARRERA DE BIOLOGÍA



FESI/HI/009/2015

**Sara Lescas Nava y  
Sergio Esteban Moreno Vázquez,**  
Alumnos de la Carrera de Química de la  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-Campo 1, UNAM,  
Presentes.

Por este conducto me permito proporcionarles a ustedes la identificación taxonómica del material botánico de respaldo de la tesis titulada: "Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata a partir del extracto de Menta Negra (*Mentha x piperita* L.) LAMIACEAE", que se realiza en el Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (UNAM), bajo la dirección de la QFB Brígida del Carmen Camacho Enríquez.

Así mismo, les informo que la planta ha sido integrada en la **Colección Etnobotánica** del Herbario Iztacala con el siguiente número de registro:

NOMBRE CIENTÍFICO	FAMILIA	NOMBRE POPULAR	NO. DE REGISTRO
<i>Mentha x piperita</i> L.	LAMIACEAE/LABIATAE	"Menta Negra"	2395 IZTA

Sin otro particular, les envío un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Los Reyes Iztacala, Edo. de México, 23 de enero de 2015

  
**M. EN C. MA. EDITH LÓPEZ VILLAFRANCO**  
RESPONSABLE DEL HERBARIO IZTACALA

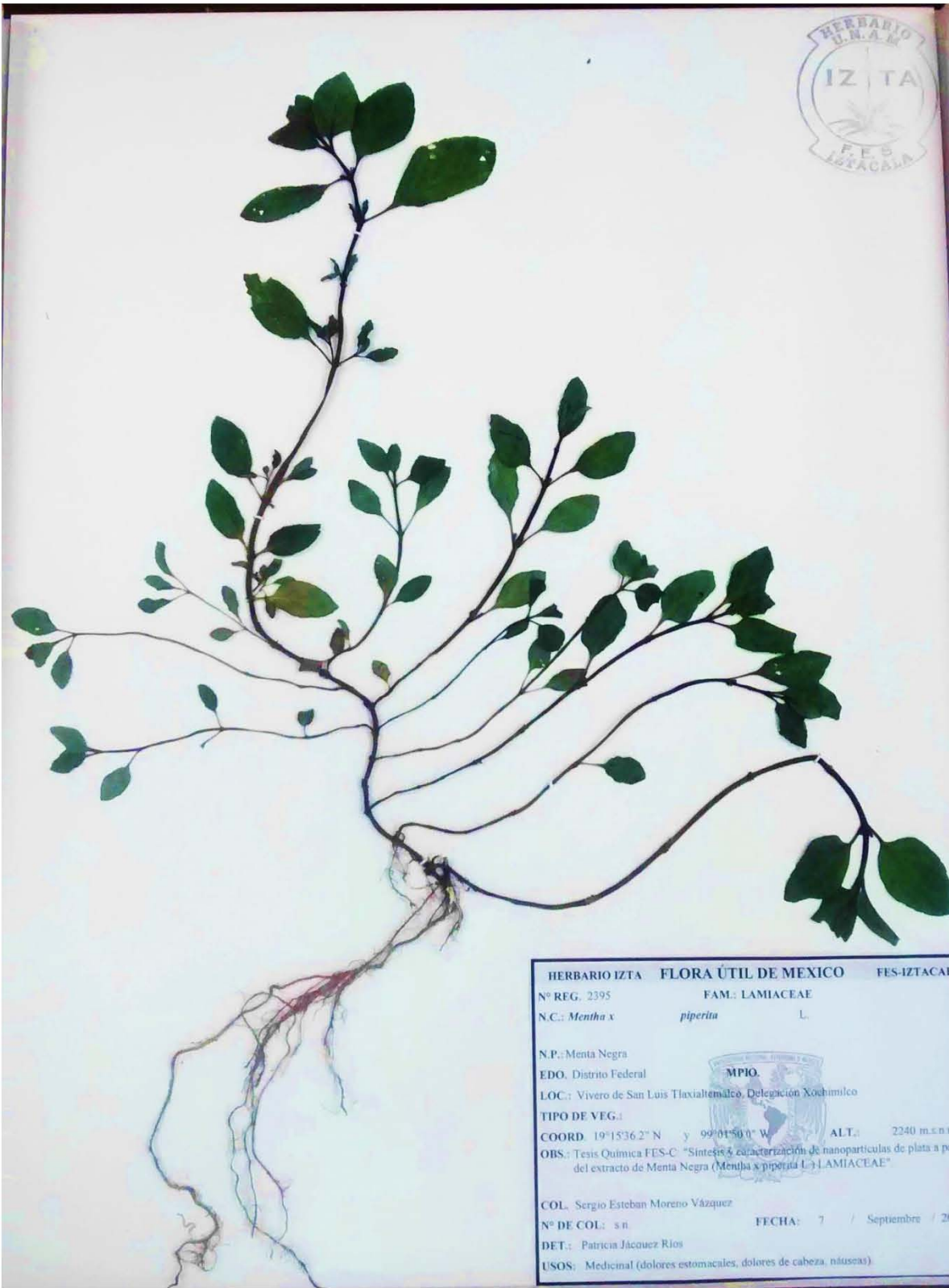


Edificio de gobierno, primer piso  
Tel: 5623-1147 • 5623-1149  
Fax: 5623-1149  
Av. de los Barrios N.º 1, Los Reyes Iztacala,  
Tlalnepantla. CP 54090,  
Estado de México, México.



Herbario IZTA  
Edificio L4, Planta baja  
Av. de los Barrios No. 1  
Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla  
Estado de México, CP 54090 MÉXICO  
Tel/Fax: 5623-1378  
herbario\_izta@campus.iztacala.unam.mx





HERBARIO  
I.N.A.M.  
IZTA  
FES  
IZTACALA

HERBARIO IZTA FLORA ÚTIL DE MEXICO FES-IZTACALA  
 N° REG. 2395 FAM. LAMIACEAE  
 N.C.: *Mentha x piperita* L.  
 N.P.: Menta Negra  
 EDO. Distrito Federal  
 LOC: Vivero de San Luis Tlaxiátemalco, Delegación Xochimilco  
 TIPO DE VEG.:  
 COORD. 19°15'36.2" N y 99°04'50.0" W ALT.: 2240 m.s.n.m.  
 OBS.: Tesis Química FES-C. "Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata a partir del extracto de Menta Negra (*Mentha x piperita* L.) LAMIACEAE".  
 COL. Sergio Esteban Moreno Vázquez  
 N° DE COL.: s.n. FECHA: 7 / Septiembre / 2011  
 DET.: Patricia Jáquez Ríos  
 USOS: Medicinal (dolores estomacales, dolores de cabeza, náuseas).

### 10.3 ANEXO C

#### BARRIDO DE LA CURVA CON EL REACTIVO FOLIN-DENIS

Wavelength Scan - Scanning		June 15, 2015 1:13 PM
Instrument Name:	DU 800 Spectrophotometer	Scan Mode: Abs
Serial Number:	8002982	Start Wavelength: 200.0 nm
Software Version:	2.1, Build 5	End Wavelength: 800.0 nm
Firmware Version:	2.0.102	Wavelength Interval: 1.0 nm
Method Name:	<Default Method>	Scan Speed: 1200 nm/min

nm	Abs 1
...	
440	0.245
441	0.245
442	0.245
443	0.245
444	0.246
445	0.246
446	0.246
447	0.247
448	0.247
449	0.247
450	0.248
451	0.248
452	0.248
453	0.249
454	0.249
455	0.250
456	0.250
457	0.251
458	0.251
459	0.252
460	0.252
461	0.253
462	0.253
463	0.254
464	0.254
465	0.255
466	0.255
467	0.256
468	0.256
469	0.257
470	0.257

#### 10.4 ANEXO D

##### DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES EQUIVALENTES A RUTINA EN EL EXTRACTO ACUOSO DE MENTA NEGRA

$$y = 0.0275x + 0.0177$$

$$0.2337 = 0.0275x + 0.0177$$

$$x = \frac{0.2337 - 0.0177}{0.0275}$$

$x = 7.8545 \text{ ppm}$ ; Donde corresponde a una muestra de 15  $\mu\text{L}$  en un volumen de 10 mL, por lo tanto en el sistema original de 20 mL al 5% la concentración es

$$\frac{10 \text{ mL} * 7.8545 \text{ ppm} * 1000 \mu\text{L}}{15\mu\text{L} * 1\text{mL}} = 5236.333 \text{ ppm}$$

A su vez, la cantidad de mol de rutina presente en el extracto es

$$20 \text{ mL} * \frac{5236.333 \mu\text{g}}{1 \text{ mL}} * \frac{1 \text{ g}}{1 * 10^6 \mu\text{g}} * \frac{1 \text{ mol de rutina}}{610.517 \text{ g de rutina}} = 1.7153 * 10^{-4} \text{ mol de rutina}$$

Y cuya concentración molar es

$$\frac{1.7153 * 10^{-4} \text{ mol}}{20 \text{ mL}} * \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 8.5765 * 10^{-3} \text{ M de rutina en extracto ac.}$$

#### 10.5 ANEXO E

##### DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD OBTENIDA DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y ORO<sup>16</sup>

Cálculo para conocer la concentración del sistema 3:47 para plata y oro

$$\frac{(188 \text{ mL de } \text{AgNO}_3 \text{ o } \text{HAuCl}_4 * \text{H}_2\text{O} [1 * 10^{-3} \text{ M}]) * (1 * 10^{-3} \text{ M})}{200 \text{ mL}} = 9.4 * 10^{-4} \text{ M de } \text{Ag}^\circ \text{ o } \text{Au}^\circ$$

Cálculo para conocer la concentración del sistema 3:47 para rutina

$$\frac{(12 \text{ mL de extracto al 5\%}) * (8.5765 * 10^{-3} \text{ M})}{200 \text{ mL}} = 5.1459 * 10^{-4} \text{ M de rutina}$$

De acuerdo con los resultados el reactivo limitante es la rutina ya que si se considera que la reacción es 1:1, la concentración que se obtenga de nanopartículas será  $5.1459 * 10^{-4} \text{ M}$  en el sistema. Por lo tanto la cantidad obtenida es de:

---

<sup>16</sup> Los cálculos utilizan un volumen 4 veces más que el original, respetando las proporciones.



- Para plata

$$200 \text{ mL} * \left( \frac{5.1459 * 10^{-4} \text{ mol de Ag}^{\circ}}{1 \text{ L}} \right) * \left( \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \right) * \left( \frac{107.8682 \text{ g de Ag}^{\circ}}{1 \text{ mol de Ag}^{\circ}} \right) = 0.0111 \text{ g de Ag}^{\circ}$$

$$0.0111 \text{ g de Ag}^{\circ} * \frac{1000 \text{ mg de Ag}^{\circ}}{1 \text{ g de Ag}^{\circ}} = 11.1 \text{ mg de Ag}^{\circ}$$

- Para oro

$$200 \text{ mL} * \left( \frac{5.1459 * 10^{-4} \text{ mol de Au}^{\circ}}{1 \text{ L}} \right) * \left( \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \right) * \left( \frac{196.9665 \text{ g de Au}^{\circ}}{1 \text{ mol de Au}^{\circ}} \right) = 0.0202 \text{ g de Au}^{\circ}$$

$$0.0202 \text{ g de Au}^{\circ} * \frac{1000 \text{ mg de Au}^{\circ}}{1 \text{ g de Au}^{\circ}} = 20.2 \text{ mg de Au}^{\circ}$$

10.6 ANEXO F

**TAMAÑO DE PARTÍCULA E ÍNDICE DE POLIDISPERSIÓN**

**Tabla 42. Tamaño de partícula e índice de polidispersión de NP's Ag por microondas**

MÉTODO	SISTEMA	TIEMPO (s)	Z-AVERAGE (d*nm)	PDI	PICO 1			PICO 2			PICO 3		
					TAMAÑO (d*nm)	% INTENSIDAD	ST DEV (d*nm)	TAMAÑO (d*nm)	% INTENSIDAD	ST DEV (d*nm)	TAMAÑO (d*nm)	% INTENSIDAD	ST DEV (d*nm)
Microondas	1	30	34.16	0.576	55.210	92.400	12.470	4.625	7.600	0.615	-	-	-
Microondas	1	60	40.08	0.325	57.000	93.900	21.040	2.431	6.100	0.499	-	-	-
Microondas	1	90	58.18	0.374	75.980	96.800	30.940	4468.000	3.200	892.200	-	-	-
Microondas	2	30	41.39	0.575	83.060	85.300	31.320	8.397	14.100	2.748	1.827	0.700	0.334
Microondas	2	60	37.26	0.575	62.640	90.600	18.810	3.671	9.400	0.804	-	-	-
Microondas	2	90	59.72	0.316	84.470	93.300	30.310	4.972	4.700	1.241	10.090	2.000	2.114
Microondas	3	30	33.99	0.622	70.880	85.700	29.920	5.814	14.300	1.192	-	-	-
Microondas	3	60	35.02	0.608	67.770	88.100	25.510	4.764	11.900	1.072	-	-	-
Microondas	3	90	49.25	0.465	82.790	92.700	40.730	5.647	7.300	2.351	-	-	-
Microondas	4	30	35.02	0.616	89.500	75.600	38.020	13.240	20.400	5.163	4.411	4.000	0.806
Microondas	4	60	34.86	0.569	62.830	88.200	23.070	3.325	7.600	0.802	6.591	4.100	1.446
Microondas	4	90	56.24	0.357	87.390	92.000	35.690	6.306	8.000	1.154	-	-	-
Microondas	5	30	36.08	0.556	82.060	80.900	34.450	8.933	17.900	2.929	3.051	1.200	0.440
Microondas	5	60	36.04	0.606	70.490	86.600	23.240	6.321	13.400	1.403	-	-	-
Microondas	5	90	48.31	0.285	67.780	100.000	29.690	-	-	-	-	-	-
					<b>73.323</b>	<b>89.473</b>	<b>28.347</b>						

**Tabla 43. Tamaño de partícula e índice de polidispersión de NP's Ag por sonicación**

MÉTODO	SISTEMA	TIEMPO (s)	Z-AVERAGE (d*nm)	PDI	PICO 1			PICO 2			PICO 3		
					TAMAÑO (d*nm)	% INTENSIDAD	ST DEV (d*nm)	TAMAÑO (d*nm)	% INTENSIDAD	ST DEV (d*nm)	TAMAÑO (d*nm)	% INTENSIDAD	ST DEV (d*nm)
Sonicación	1	60	36.52	0.604	67.700	88.500	23.830	4.723	11.500	1.665	-	-	-
Sonicación	1	240	41.89	0.516	71.680	91.800	31.050	4.331	8.200	0.892	-	-	-
Sonicación	1	600	39.98	0.558	78.860	86.900	33.500	6.942	13.100	2.923	-	-	-
Sonicación	2	60	27.78	0.675	61.990	85.300	25.300	4.169	14.700	1.251	-	-	-
Sonicación	2	240	41.28	0.53	73.700	89.300	30.860	4.039	7.200	1.103	9.881	3.600	2.510
Sonicación	2	600	40.34	0.531	74.240	88.300	29.590	6.352	11.700	1.696	-	-	-
Sonicación	3	60	25.77	0.662	64.900	82.000	29.600	5.032	18.000	1.475	-	-	-
Sonicación	3	240	32.41	0.551	57.420	88.300	19.170	4.222	8.600	1.214	1.860	3.100	0.329
Sonicación	3	600	34.38	0.614	75.500	82.800	26.460	7.646	17.200	1.659	-	-	-
Sonicación	4	60	26.81	0.645	60.910	82.000	23.530	6.350	13.300	2.034	2.225	4.700	0.524
Sonicación	4	240	27.25	0.652	65.980	81.000	32.340	3.210	10.300	0.664	13.090	8.700	3.261
Sonicación	4	600	27.76	0.677	72.510	81.400	36.190	6.271	18.600	2.432	-	-	-
Sonicación	5	60	32.66	0.526	56.350	90.900	22.960	3.075	9.100	0.754	-	-	-
Sonicación	5	240	24.87	0.637	80.300	73.400	39.410	8.779	26.600	4.631	-	-	-
Sonicación	5	600	28.55	0.692	69.140	82.700	24.290	6.497	17.300	1.578	-	-	-
					<b>68.745</b>	<b>84.973</b>	<b>28.538</b>						

**Tabla 44. Tamaño de partícula e índice de polidispersión de NP's Ag por baño María**

MÉTODO	SISTEMA	TIEMPO (s)	Z-AVERAGE (d*nm)	PDI	PICO 1			PICO 2			PICO 3		
					TAMAÑO (d*nm)	% INTENSIDAD	ST DEV (d*nm)	TAMAÑO (d*nm)	% INTENSIDAD	ST DEV (d*nm)	TAMAÑO (d*nm)	% INTENSIDAD	ST DEV (d*nm)
Baño María	1	60	37.53	0.509	67.260	90.500	30.510	4.267	9.500	1.270	-	-	-
Baño María	1	240	38.83	0.472	61.890	91.000	21.780	4.072	6.900	1.134	1.366	2.100	0.370
Baño María	1	600	46.84	0.447	71.710	93.300	30.100	4.733	5.500	0.889	4602.000	1.200	826.300
Baño María	2	60	30.13	0.69	64.760	86.900	26.640	4.492	13.100	1.099	-	-	-
Baño María	2	240	33.07	0.577	62.940	87.500	22.990	4.699	11.900	1.261	1.516	0.600	0.186
Baño María	2	600	46.99	0.338	72.470	94.400	36.330	3.368	5.600	0.635	-	-	-
Baño María	3	60	32.53	0.581	65.320	86.400	25.280	5.337	13.600	1.362	-	-	-
Baño María	3	240	37.04	0.603	71.860	88.700	30.540	5.691	11.300	1.364	-	-	-
Baño María	3	600	37.73	0.609	68.940	89.900	25.340	4.674	10.100	1.237	-	-	-
Baño María	4	60	30.08	0.588	74.170	79.400	31.730	7.673	20.500	2.966	-	-	-
Baño María	4	240	33.62	0.59	83.780	79.100	42.640	10.650	20.900	4.516	-	-	-
Baño María	4	600	34.33	0.613	68.310	86.500	22.000	5.491	13.500	1.077	-	-	-
Baño María	5	60	16.31	1	68.670	73.600	31.200	6.877	13.800	2.256	2.962	12.600	0.765
Baño María	5	240	26.39	0.654	67.560	80.800	31.810	6.103	19.200	2.738	-	-	-
Baño María	5	600	40.33	0.542	80.970	88.800	43.920	6.539	11.200	1.846	-	-	-
					<b>70.040</b>	<b>86.4533</b>	<b>30.187</b>						

**Tabla 45. Tamaño de partícula e índice de polidispersión de NP's Ag a infusión**

MÉTODO	SISTEMA	TIEMPO (s)	Z-AVERAGE (d*nm)	PDI	PICO 1			PICO 2			PICO 3		
					TAMAÑO (d*nm)	% INTENSIDAD	ST DEV (d*nm)	TAMAÑO (d*nm)	% INTENSIDAD	ST DEV (d*nm)	TAMAÑO (d*nm)	% INTENSIDAD	ST DEV (d*nm)
Infusión	1	60	533.5	0.962	23.87	100.0	2.189	-	-	-	-	-	-
Infusión	1	240	10.87	0.881	56.32	71.1	27.38	2.656	28.9	1.335	-	-	-
Infusión	1	600	10.69	0.861	57.54	70.5	28.83	2.755	29.5	1.199	-	-	-
Infusión	2	60	92.18	0.393	31.74	53.3	7.968	108.7	46.7	24.79	-	-	-
Infusión	2	240	83.66	0.312	54.06	79.7	11.79	7.083	14.2	1.608	2.435	6.0	0.4623
Infusión	2	600	29.60	0.681	91.35	66.4	45.76	19.53	16.8	5.605	3.511	14.4	1.690
Infusión	3	60	55.78	0.388	68.00	97.6	34.05	5369	2.4	328.9	-	-	-
Infusión	3	240	77.03	0.287	52.36	85.6	11.24	5.993	14.4	1.142	-	-	-
Infusión	3	600	29.94	0.681	79.87	75.0	35.64	7.694	17.3	2.824	1.850	5.9	0.5144
Infusión	4	60	71.89	0.311	62.08	80.7	18.25	17.10	19.3	5.021	-	-	-
Infusión	4	240	65.02	0.289	60.29	83.2	18.90	10.67	9.5	2.948	4.790	7.4	0.9986
Infusión	4	600	61.52	0.334	61.88	82.5	18.12	8.914	17.5	2.509	-	-	-
Infusión	5	60	57.87	0.296	54.20	100.0	29.27	-	-	-	-	-	-
Infusión	5	240	84.09	0.312	44.58	100.0	12.23	-	-	-	-	-	-
Infusión	5	600	60.18	0.301	60.09	90.8	22.53	16.44	9.2	3.292	-	-	-
					<b>57.215</b>	<b>82.426</b>	<b>21.609</b>						

## 10.7 ANEXO G

### DATOS DE CORRELACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y ORO

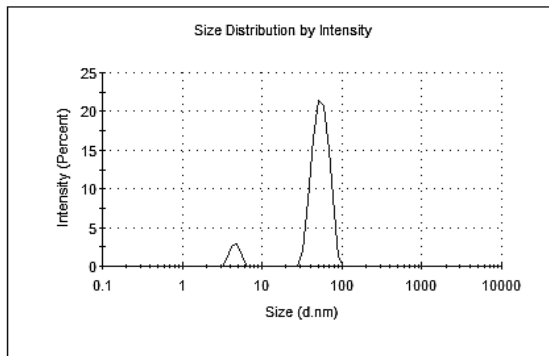
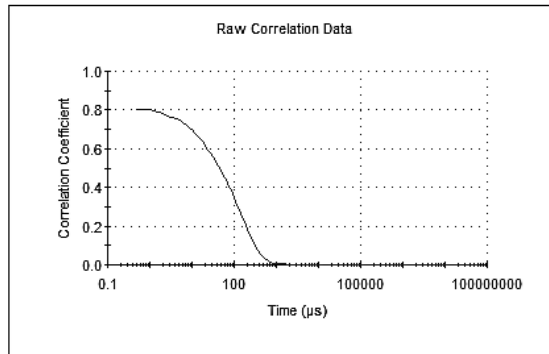
#### Microondas Sistema 1 Segundo 30

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high  
\* Data quality too poor for cumulant analysis  
\* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (7530 < 10 million photons )  
\* Measurement duration not set to automatic  
\* Filter factor in research software not set to default (50%)

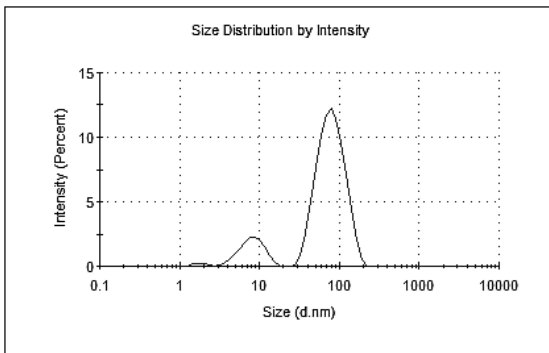
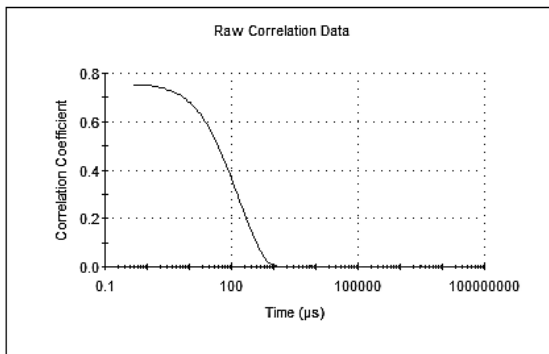


#### Microondas Sistema 2 Segundo 30

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high  
\* Data quality too poor for cumulant analysis  
\* Sample too polydisperse for cumulant analysis



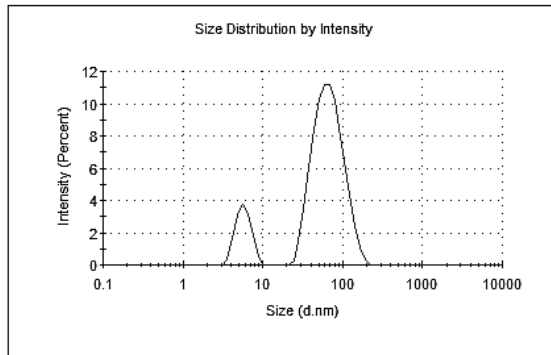
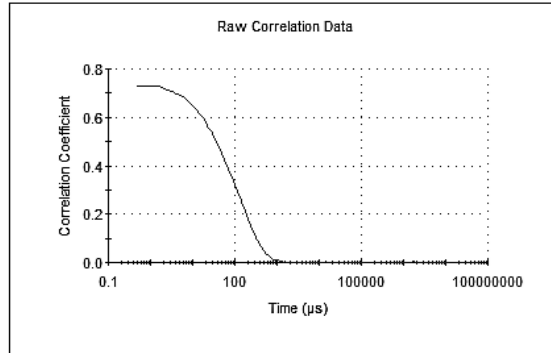
### Microondas Sistema 3 Segundo 30

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



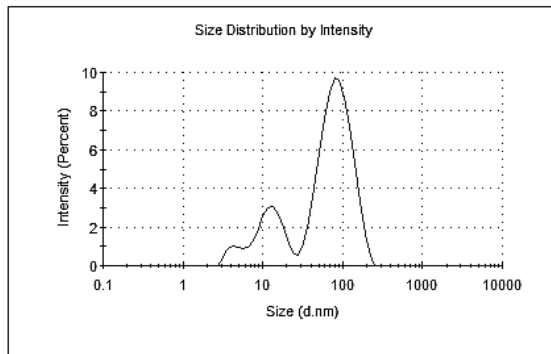
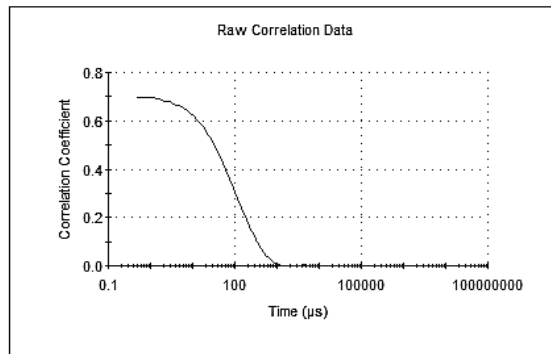
### Microondas Sistema 4 Segundo 30

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



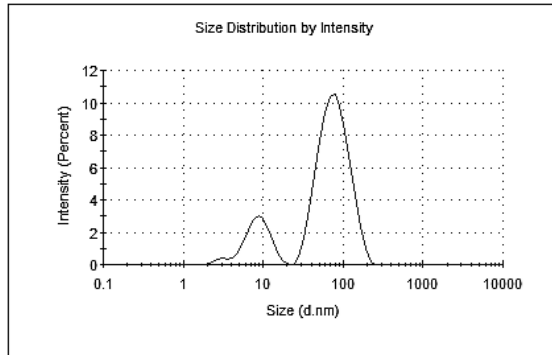
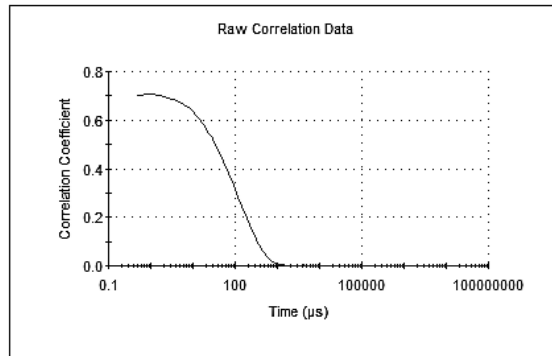
## Microondas Sistema 5 Segundo 30

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



## Microondas Sistema 1 Segundo 60

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

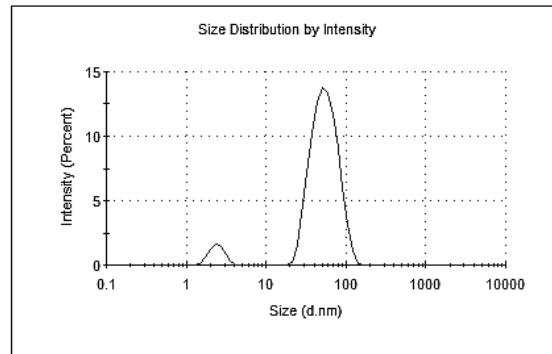
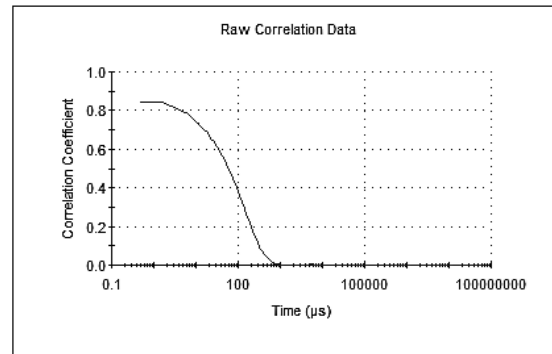
Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (9633 < 10 million photons)

- \* Measurement duration not set to automatic
- \* Filter factor in research software not set to default (50%)





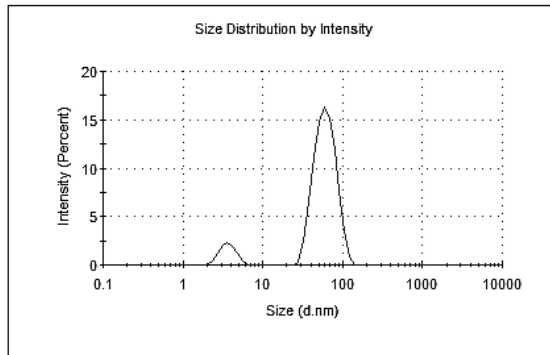
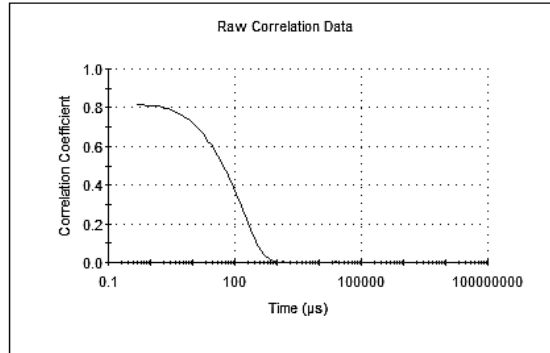
## Microondas Sistema 2 Segundo 60

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high  
\* Data quality too poor for cumulant analysis  
\* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (7617 < 10 million photons )  
\* Measurement duration not set to automatic  
\* Filter factor in research software not set to default (50%)



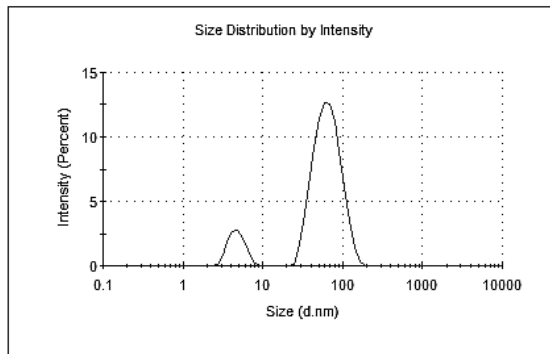
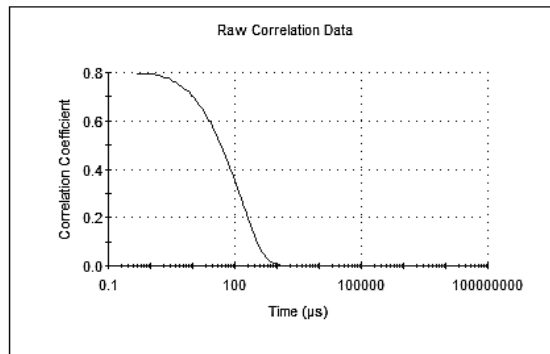
## Microondas Sistema 3 Segundo 60

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high  
\* Data quality too poor for cumulant analysis  
\* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (8595 < 10 million photons )  
\* Measurement duration not set to automatic  
\* Filter factor in research software not set to default (50%)



## Microondas Sistema 4 Segundo 60

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

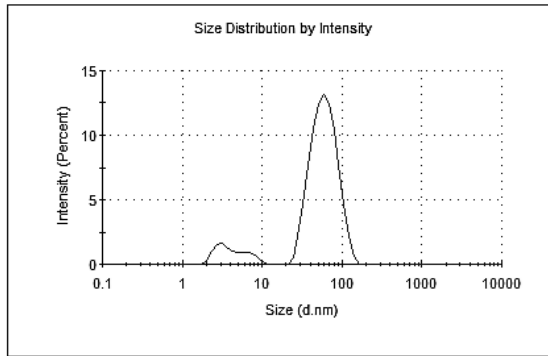
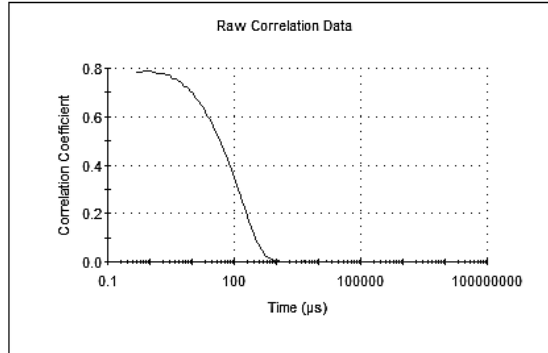
Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (8252 < 10 million photons )

- \* Measurement duration not set to automatic
- \* Filter factor in research software not set to default (50%)



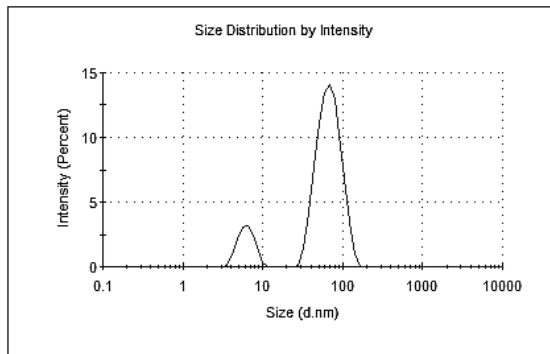
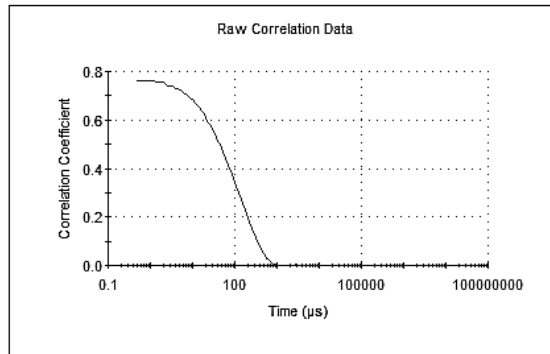
## Microondas Sistema 5 Segundo 60

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



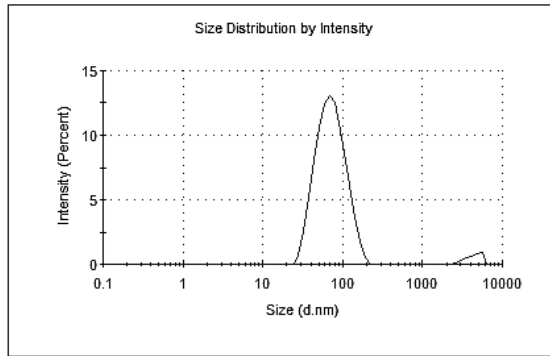
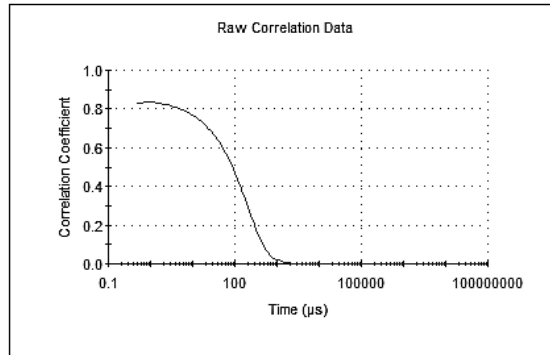
## Microondas Sistema 1 Segundo 90

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



## Microondas Sistema 2 Segundo 90

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

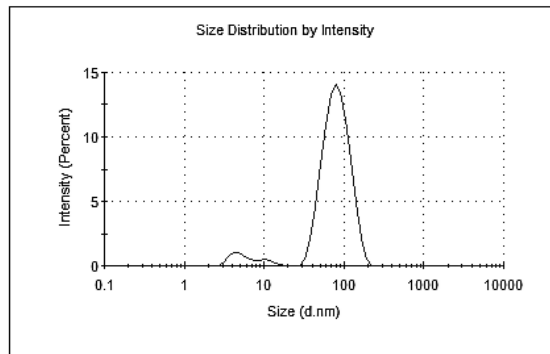
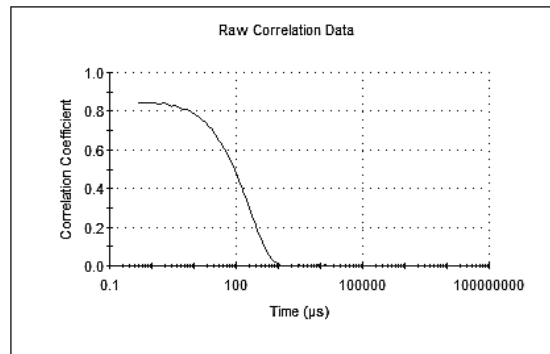
Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (9255 < 10 million photons )

- \* Measurement duration not set to automatic
- \* Filter factor in research software not set to default (50%)



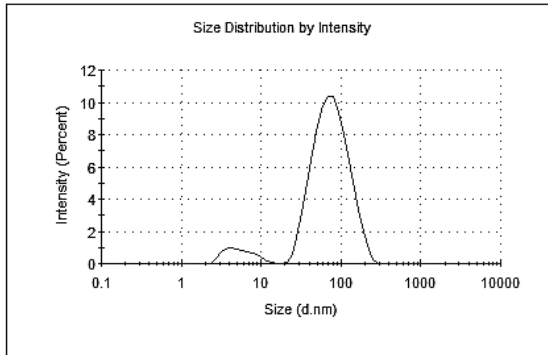
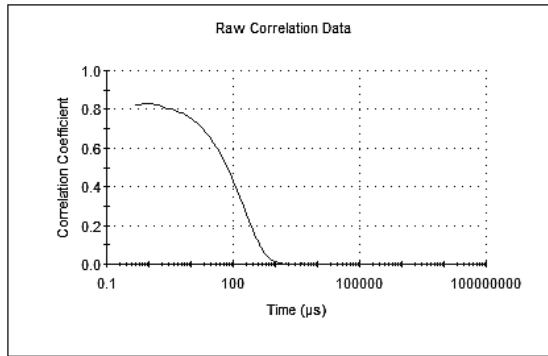
### Microondas Sistema 3 Segundo 90

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high  
\* Data quality too poor for cumulant analysis  
\* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (8257 < 10 million photons )  
\* Measurement duration not set to automatic  
\* Filter factor in research software not set to default (50%)

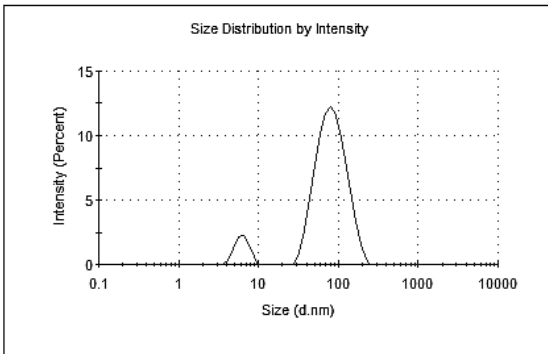
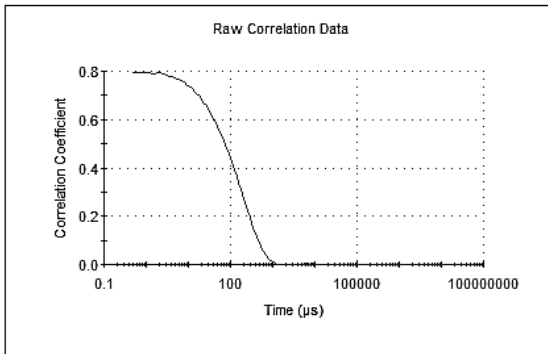


### Microondas Sistema 4 Segundo 90

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high  
\* Data quality too poor for cumulant analysis  
\* Sample too polydisperse for cumulant analysis



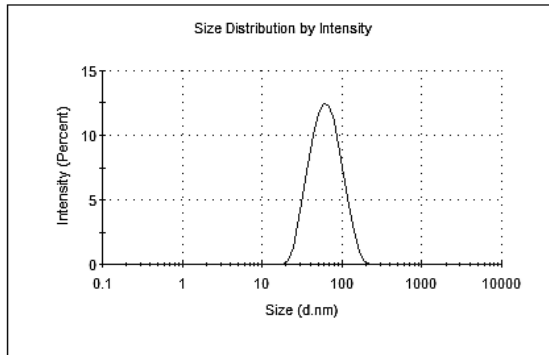
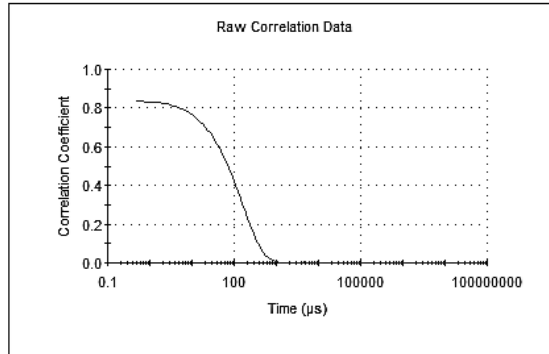
## Microondas Sistema 5 Segundo 90

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



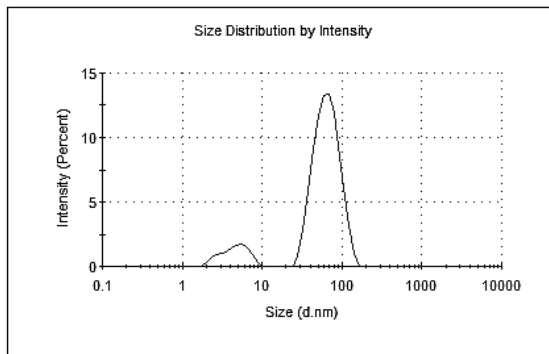
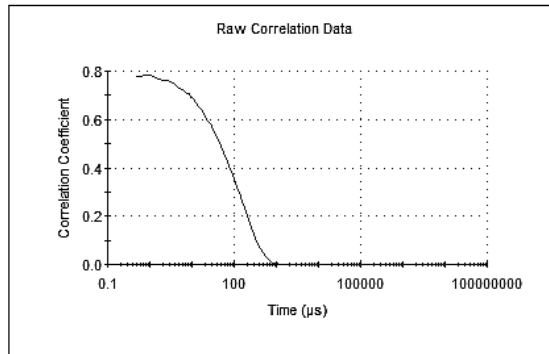
## Sonicador Sistema 1 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



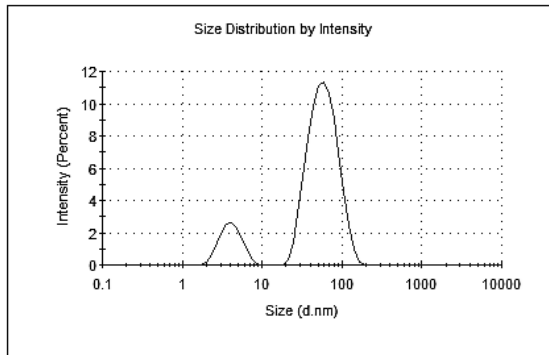
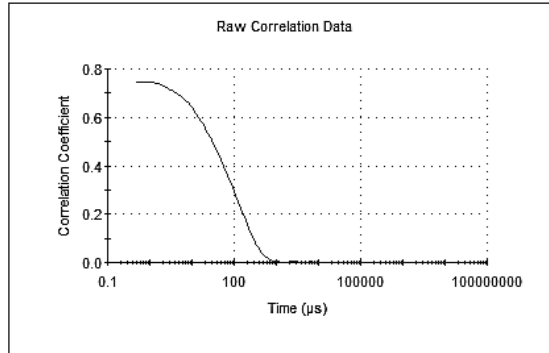
### Sonicador Sistema 2 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



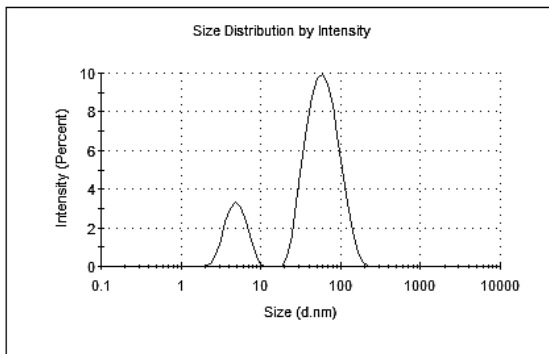
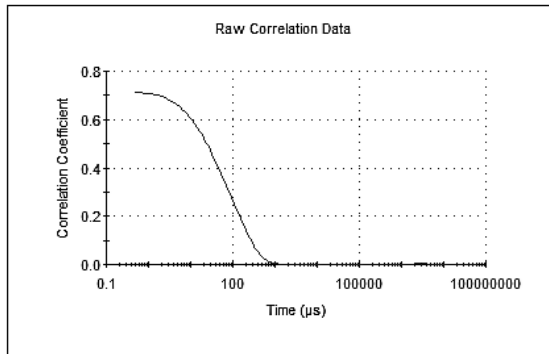
### Sonicador Sistema 3 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



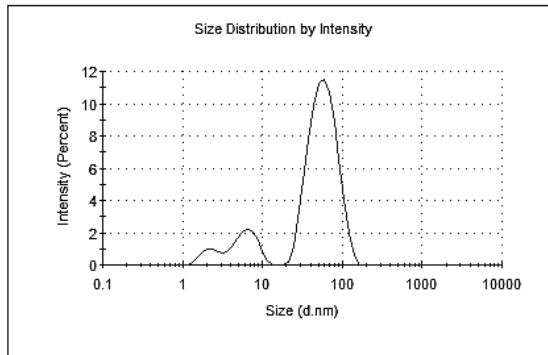
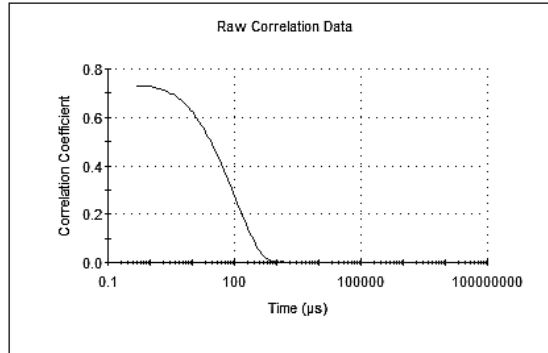
## Sonicador Sistema 4 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



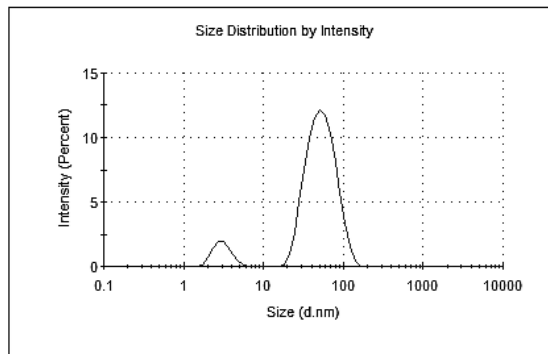
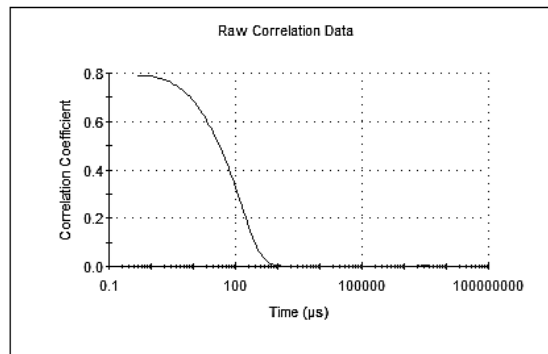
## Sonicador Sistema 5 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



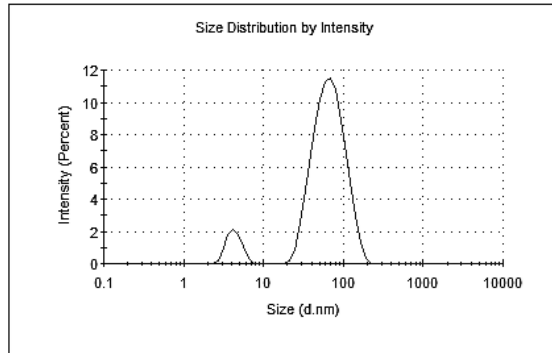
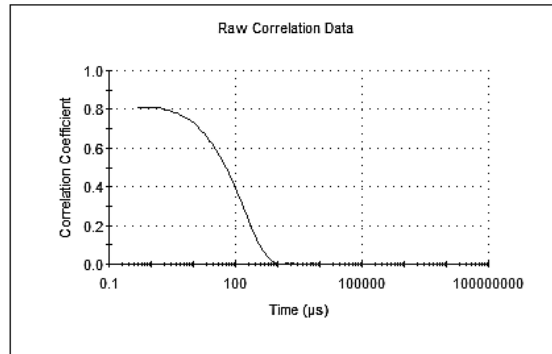
## Sonicador Sistema 1 Minuto 4

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high  
\* Data quality too poor for cumulant analysis  
\* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (9162 < 10 million photons )  
\* Measurement duration not set to automatic  
\* Filter factor in research software not set to default (50%)

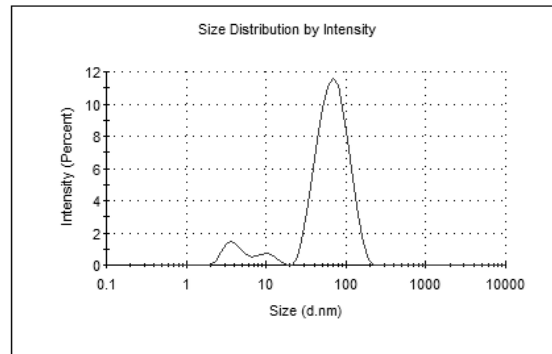
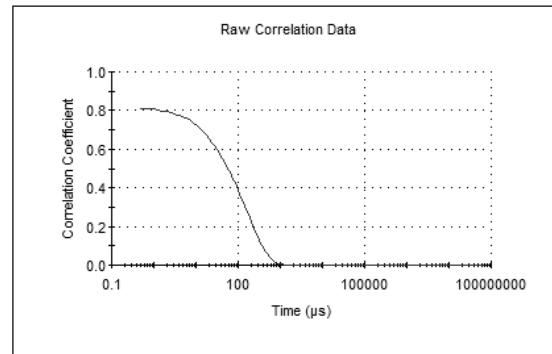


## Sonicador Sistema 2 Minuto 4

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high  
\* Data quality too poor for cumulant analysis  
\* Sample too polydisperse for cumulant analysis





### Sonicador Sistema 3 Minuto 4

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

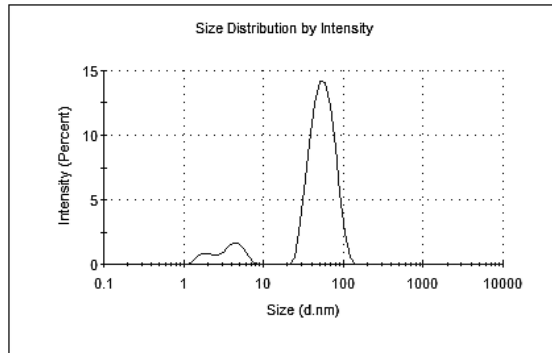
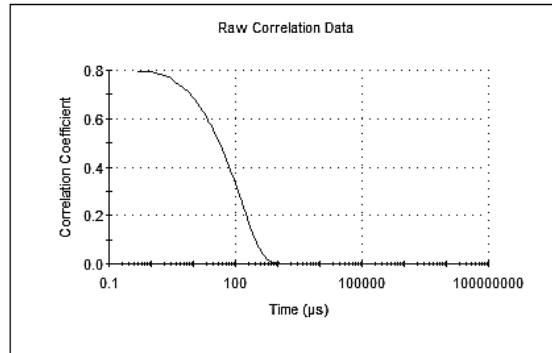
Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (8248 < 10 million photons )

- \* Measurement duration not set to automatic
- \* Filter factor in research software not set to default (50%)



### Sonicador Sistema 4 Minuto 4

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

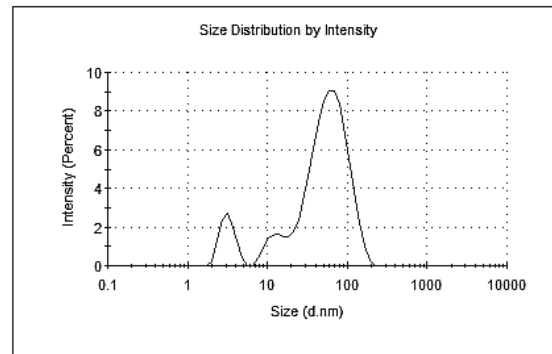
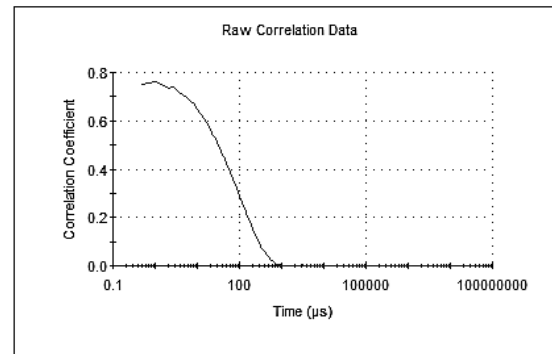
Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (7958 < 10 million photons )

- \* Measurement duration not set to automatic
- \* Filter factor in research software not set to default (50%)



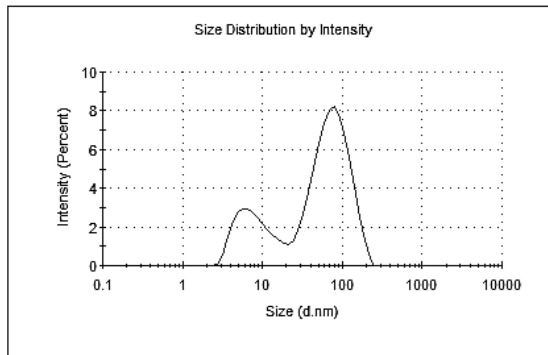
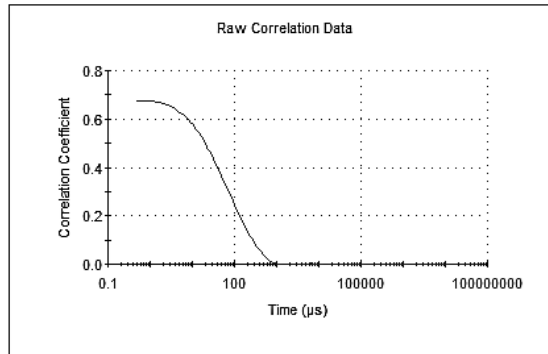
## Sonicador Sistema 5 Minuto 4

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



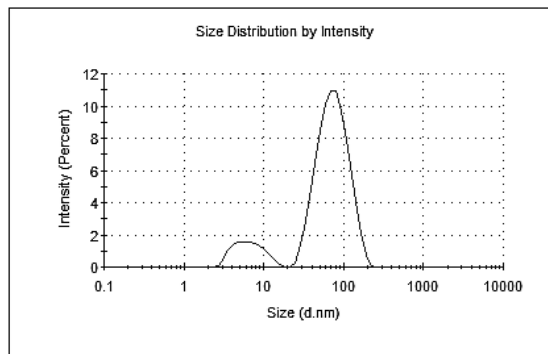
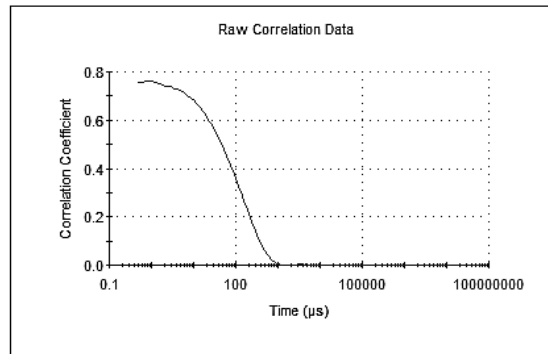
## Sonicador Sistema 1 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



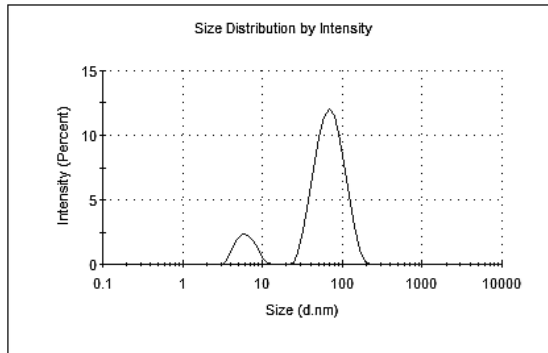
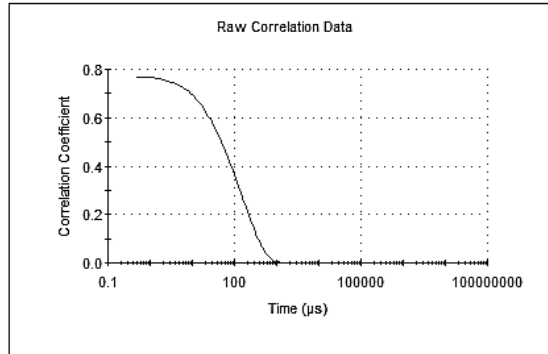
### Sonicador Sistema 2 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



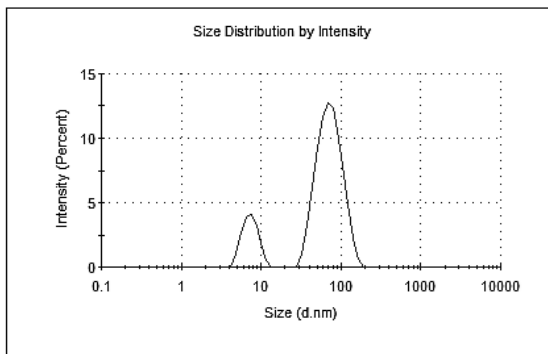
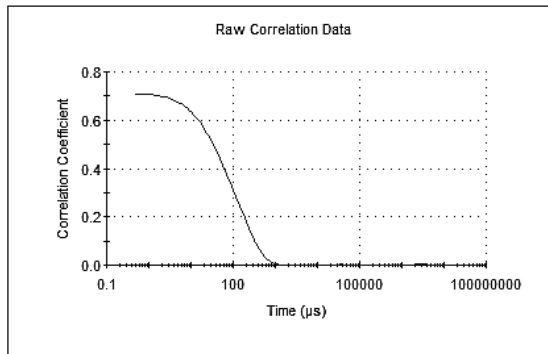
### Sonicador Sistema 3 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



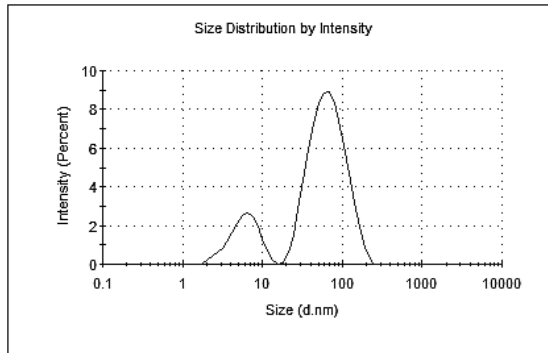
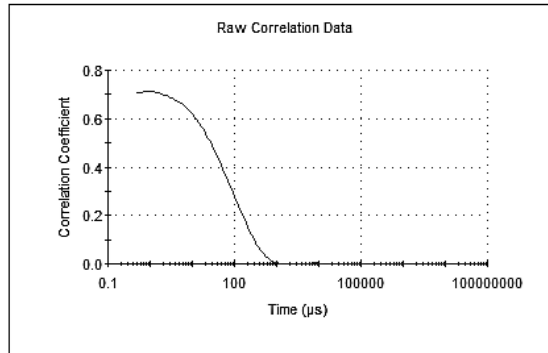
## Sonicador Sistema 4 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high  
\* Data quality too poor for cumulant analysis  
\* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (9968 < 10 million photons )  
\* Measurement duration not set to automatic  
\* Filter factor in research software not set to default (50%)



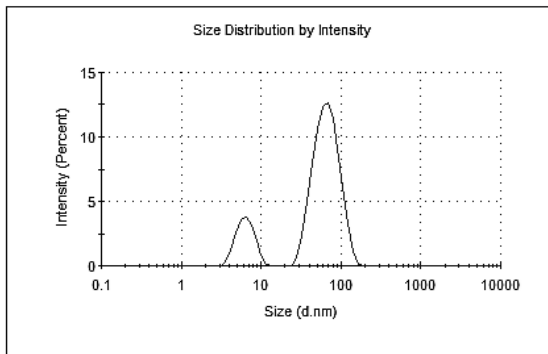
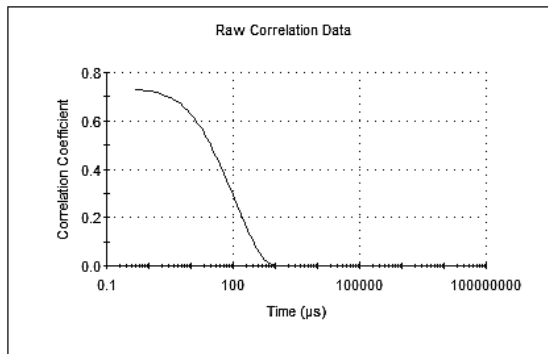
## Sonicador Sistema 5 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high  
\* Data quality too poor for cumulant analysis  
\* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (7526 < 10 million photons )  
\* Measurement duration not set to automatic  
\* Filter factor in research software not set to default (50%)



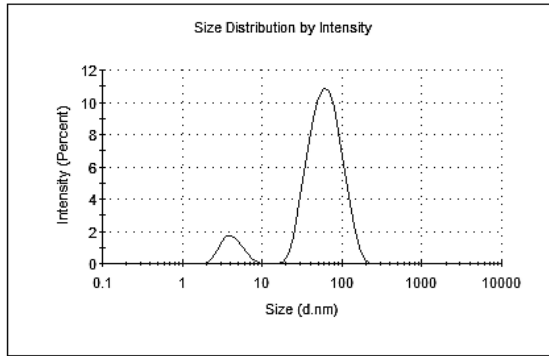
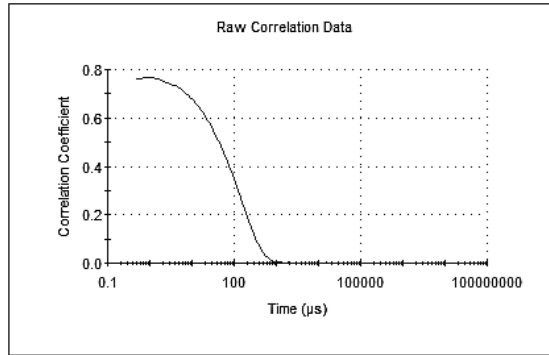
## Baño María Sistema 1 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



## Baño María Sistema 2 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

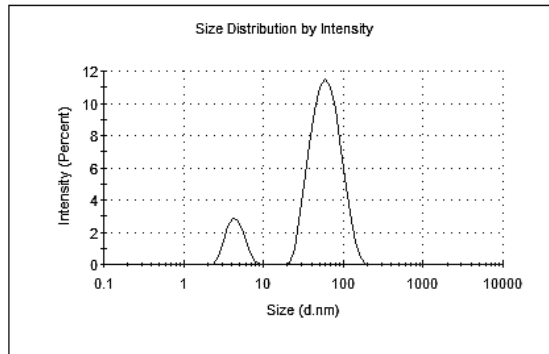
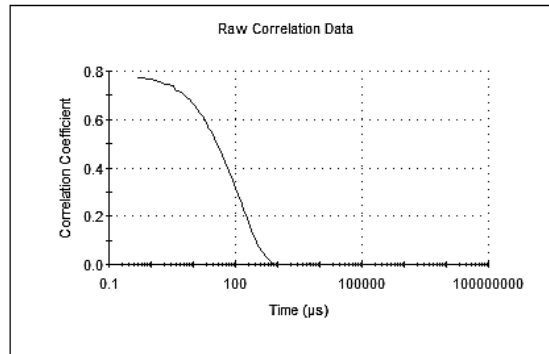
Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (9345 < 10 million photons)

- \* Measurement duration not set to automatic
- \* Filter factor in research software not set to default (50%)



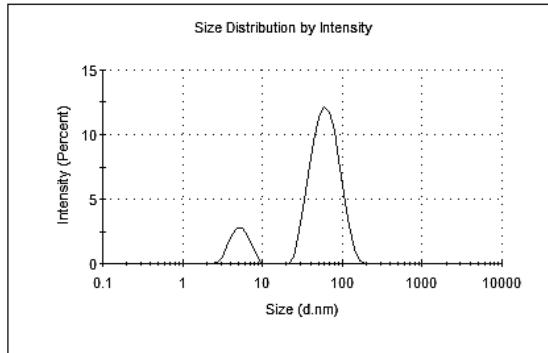
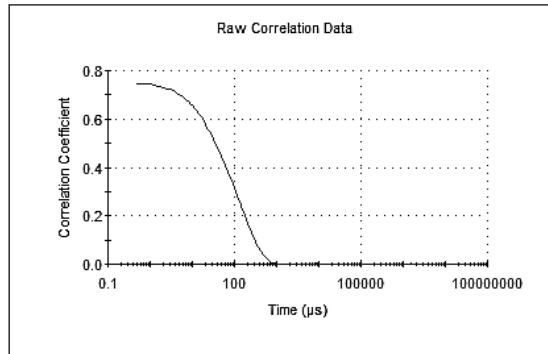
### Baño María Sistema 3 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



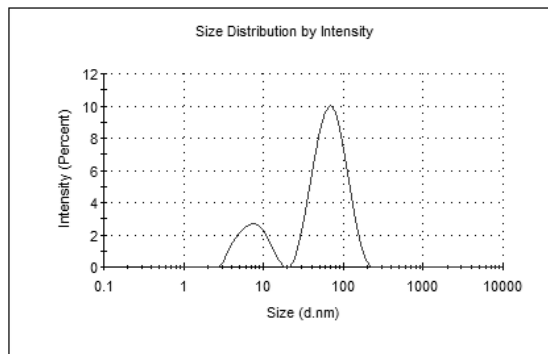
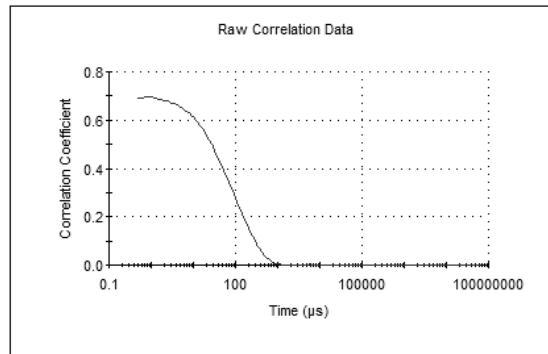
### Baño María Sistema 4 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



## Baño María Sistema 5 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

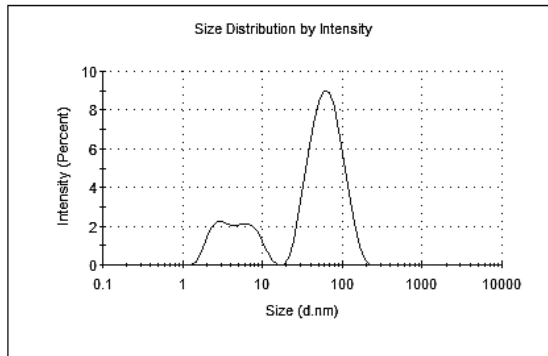
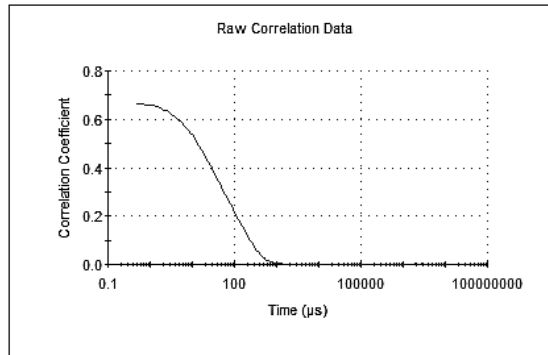
- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (9655 < 10 million photons )

- \* Measurement duration not set to automatic
- \* Filter factor in research software not set to default (50%)

Polydispersity index is very high (1.)

- \* Sample is very polydisperse and may not be suitable for DLS measurements
- \* Sample contains large particles/aggregates/dust



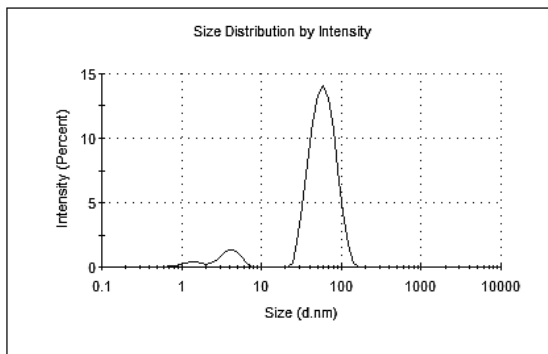
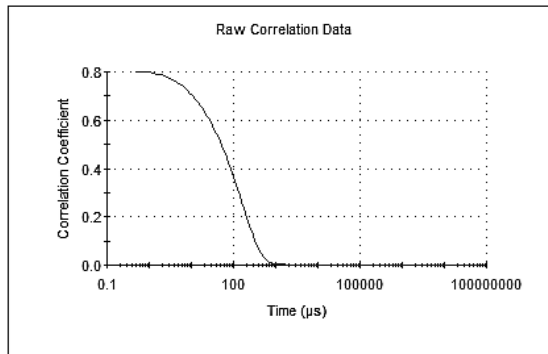
## Baño María Sistema 1 Minuto 4

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



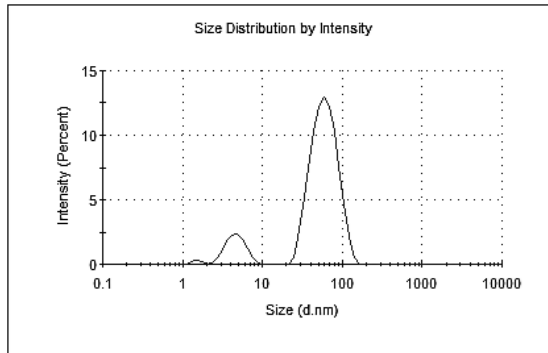
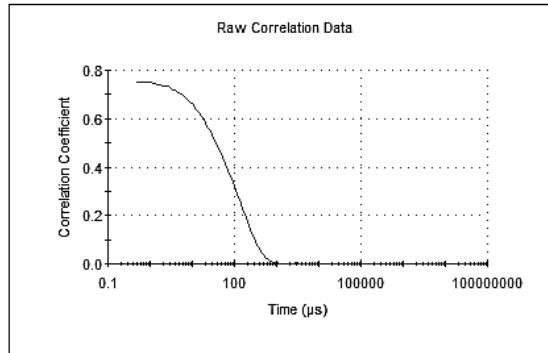
### Baño María Sistema 2 Minuto 4

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



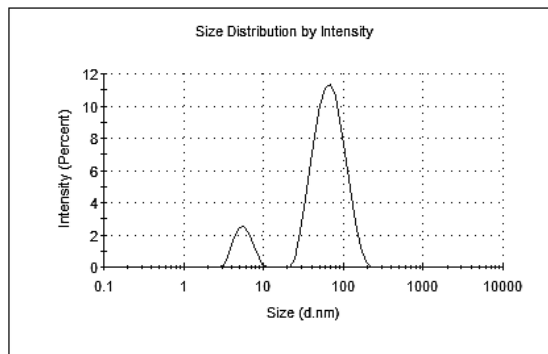
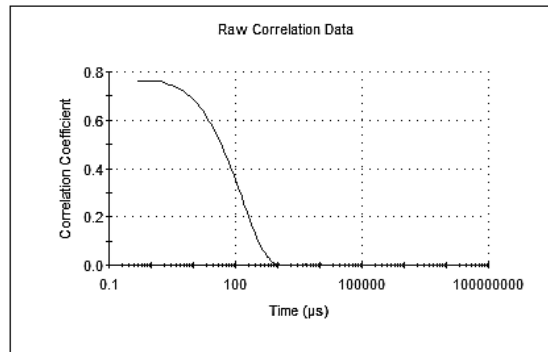
### Baño María Sistema 3 Minuto 4

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis





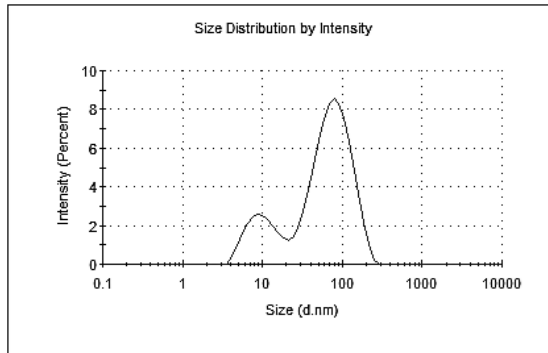
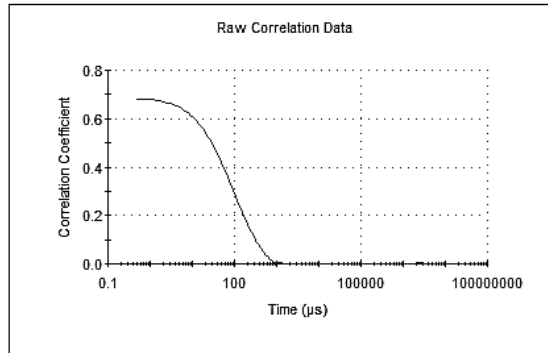
## Baño María Sistema 4 Minuto 4

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



## Baño María Sistema 5 Minuto 4

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

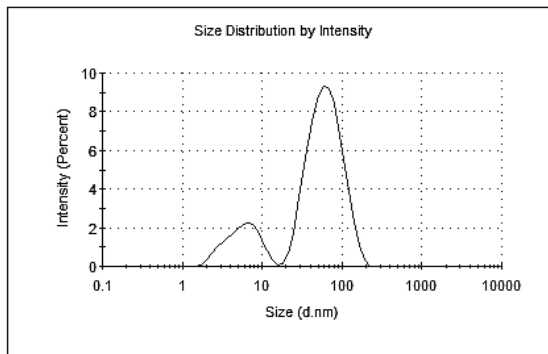
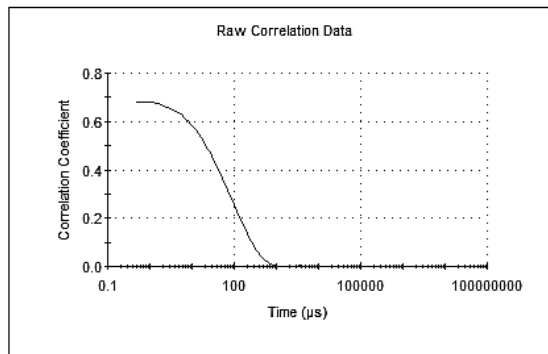
Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (8803 < 10 million photons)

- \* Measurement duration not set to automatic
- \* Filter factor in research software not set to default (50%)



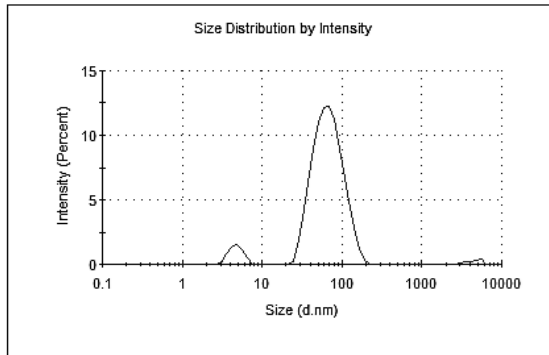
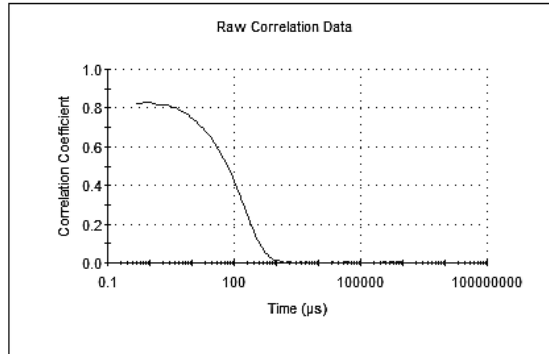
## Baño María Sistema 1 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high  
\* Data quality too poor for cumulant analysis  
\* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (8395 < 10 million photons )  
\* Measurement duration not set to automatic  
\* Filter factor in research software not set to default (50%)



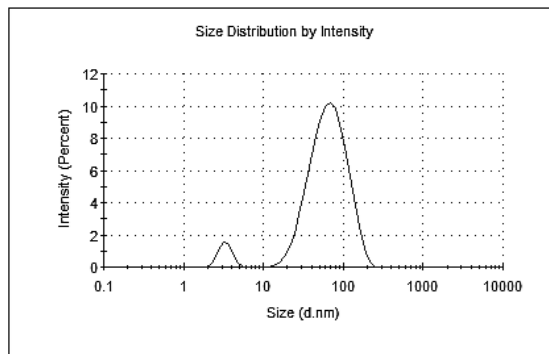
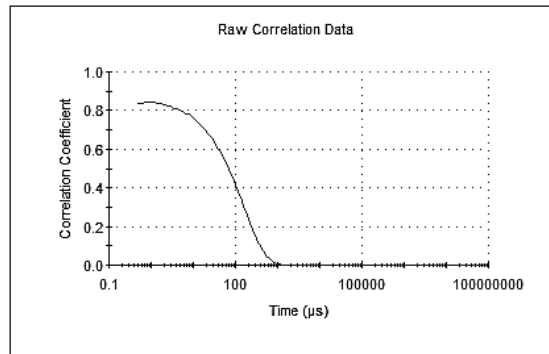
## Baño María Sistema 2 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high  
\* Data quality too poor for cumulant analysis  
\* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (9178 < 10 million photons )  
\* Measurement duration not set to automatic  
\* Filter factor in research software not set to default (50%)



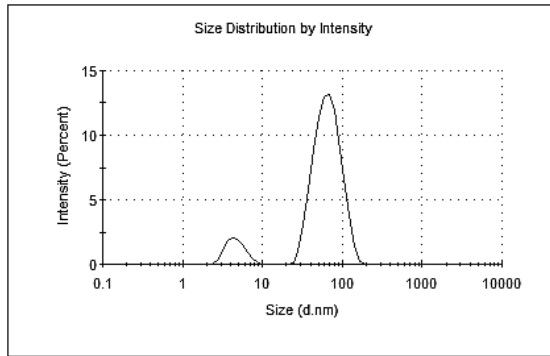
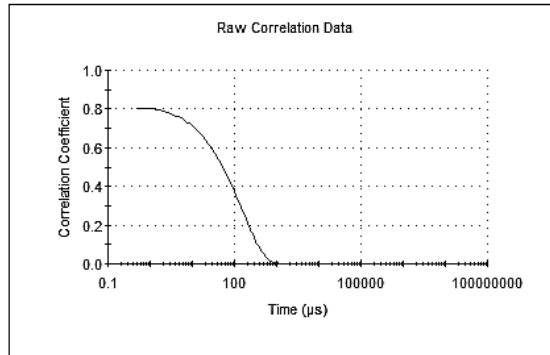
### Baño María Sistema 3 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



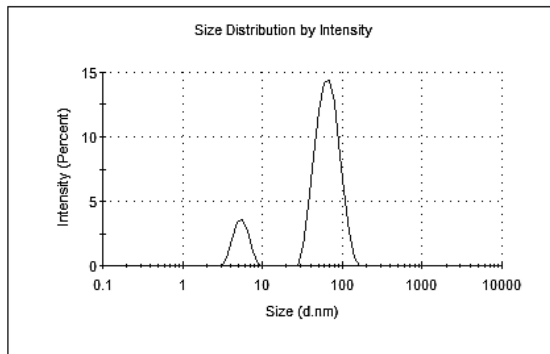
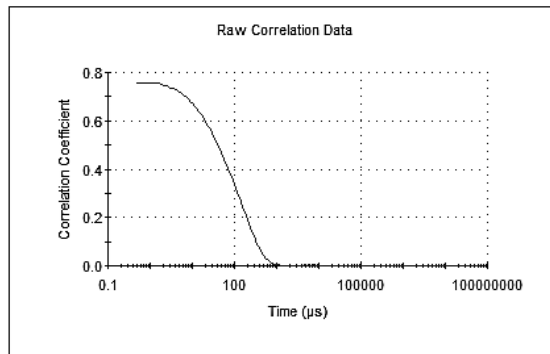
### Baño María Sistema 4 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



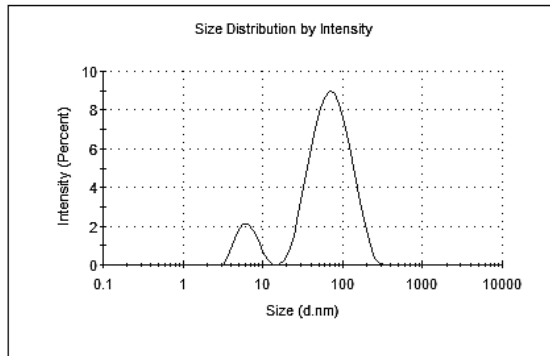
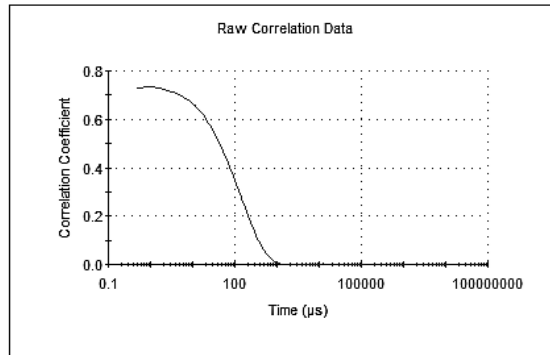
## Baño María Sistema 5 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



## Infusión Sistema 1 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Multimodal fit error high

- \* Data quality too poor for distribution analysis
- \* Sample too polydisperse for distribution analysis

Cumulant fit error high

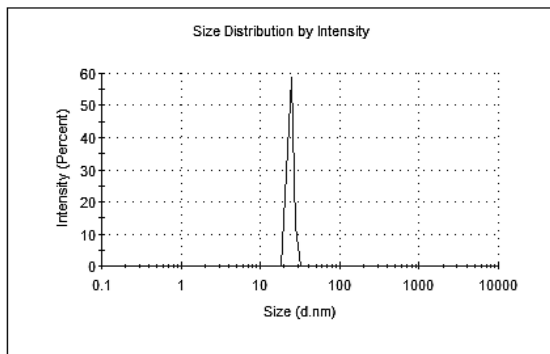
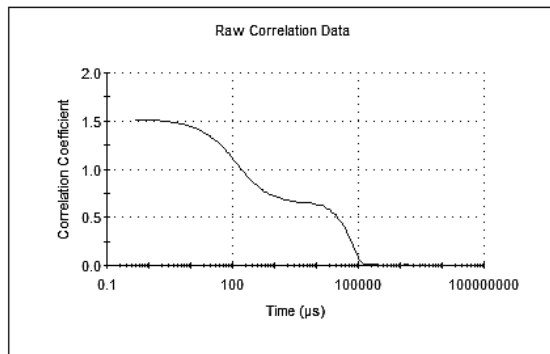
- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Correlation function intercept out of range

- \* Sample contains very large particles and may not be suitable for DLS measurements
- \* Sample concentration too high (multiple scattering)
- \* Sample concentration too low
- \* Sample fluorescence
- \* Sample absorbance (coloured samples)

Polydispersity index is very high (.962)

- \* Sample is very polydisperse and may not be suitable for DLS measurements
- \* Sample contains large particles/aggregates/dust



## Infusión Sistema 2 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

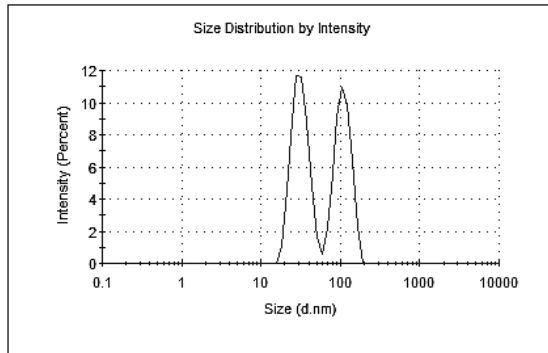
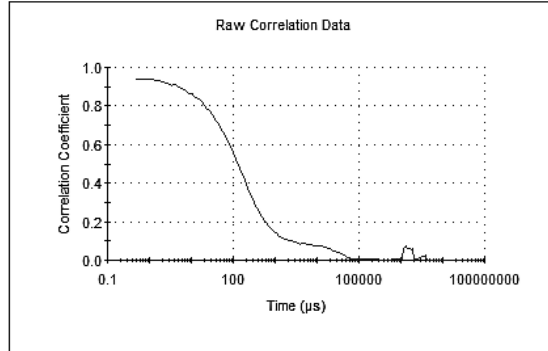
Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Insufficient signal collected (8300 < 10 million photons )

- \* Measurement duration not set to automatic
- \* Filter factor in research software not set to default (50%)



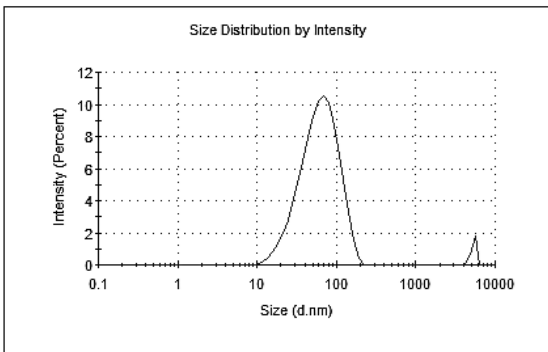
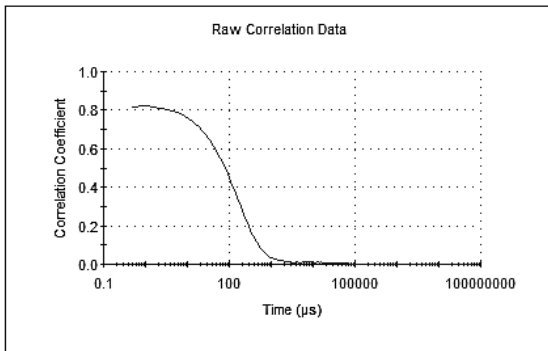
## Infusión Sistema 3 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



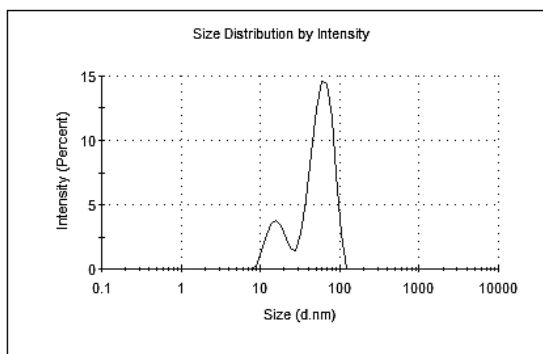
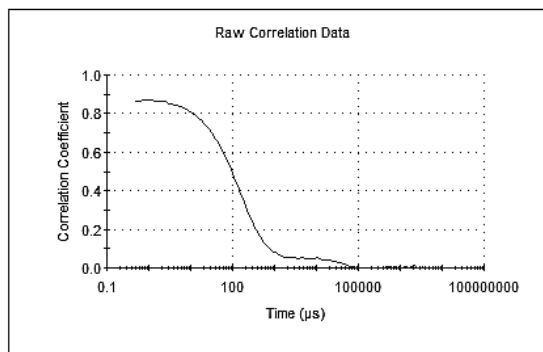
## Infusión Sistema 4 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



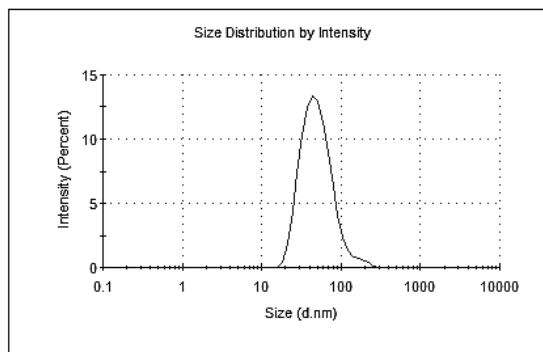
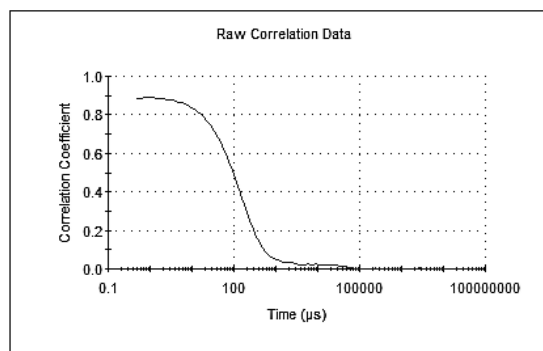
## Infusión Sistema 5 Minuto 1

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



## Infusión Sistema 1 Minuto 4

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

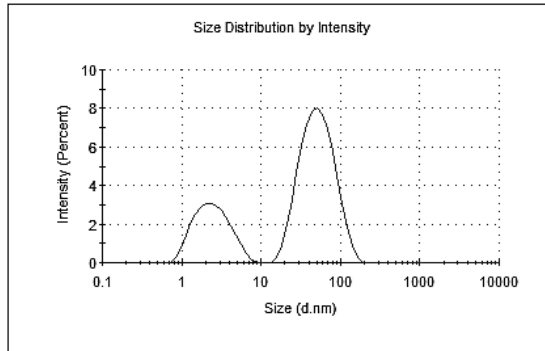
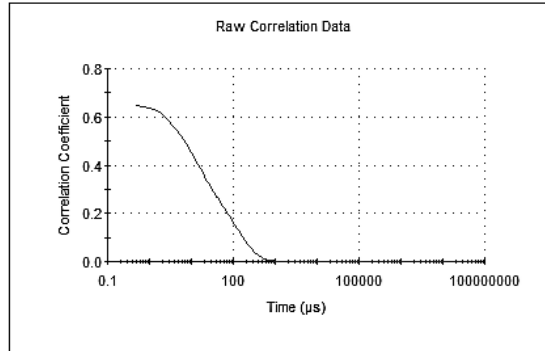
Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Polydispersity index is very high (.881)

- \* Sample is very polydisperse and may not be suitable for DLS measurements
- \* Sample contains large particles/aggregates/dust



## Infusión Sistema 2 Minuto 4

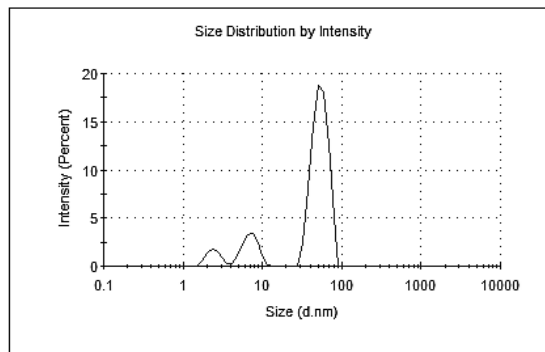
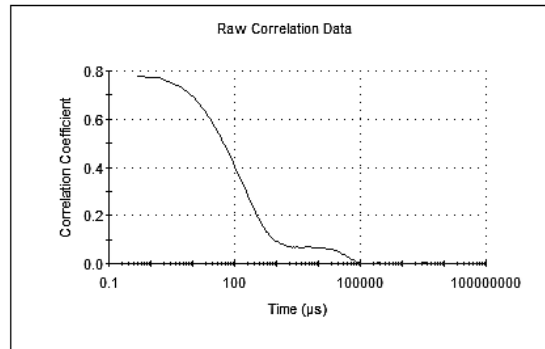
RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Multimodal fit error high

- \* Data quality too poor for distribution analysis
- \* Sample too polydisperse for distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



### Infusión Sistema 3 Minuto 4

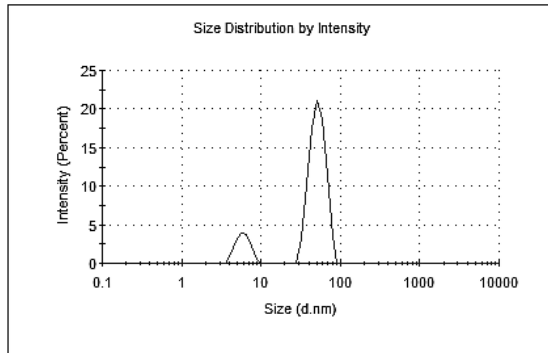
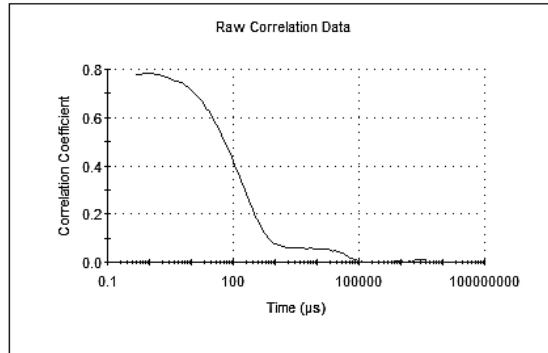
RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Multimodal fit error high

- \* Data quality too poor for distribution analysis
- \* Sample too polydisperse for distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



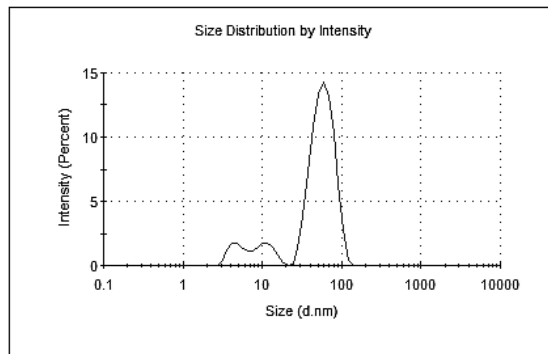
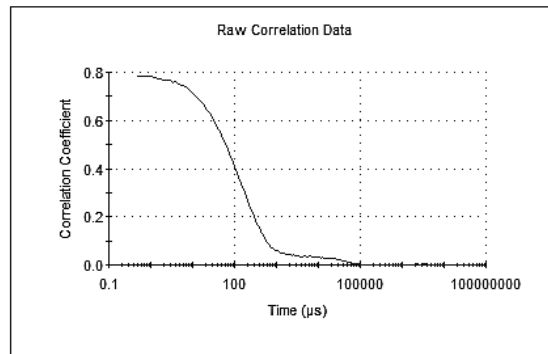
### Infusión Sistema 4 Minuto 4

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis





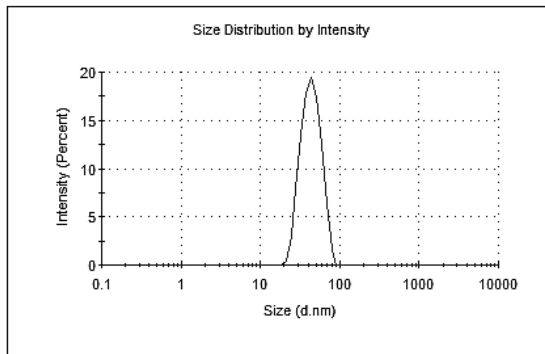
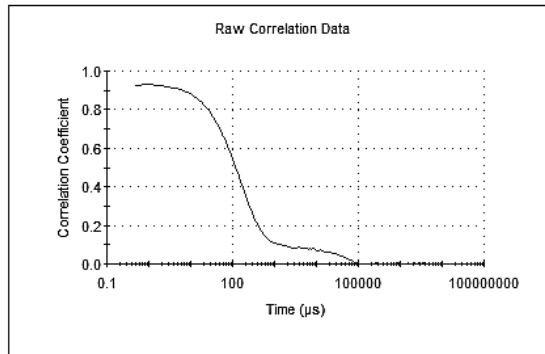
## Infusión Sistema 5 Minuto 4

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



## Infusión Sistema 1 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

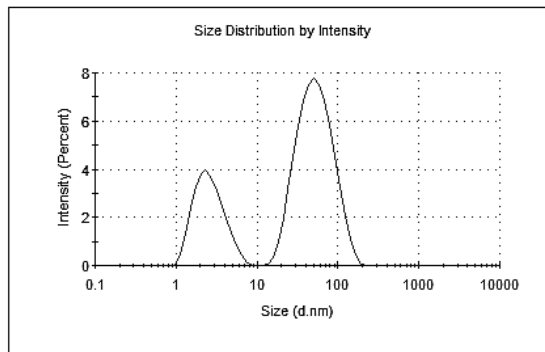
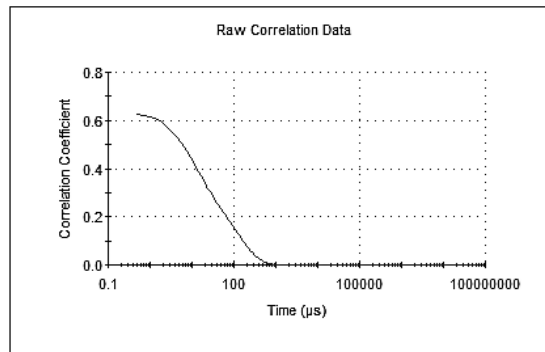
Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis

Polydispersity index is very high (.861)

- \* Sample is very polydisperse and may not be suitable for DLS measurements
- \* Sample contains large particles/aggregates/dust



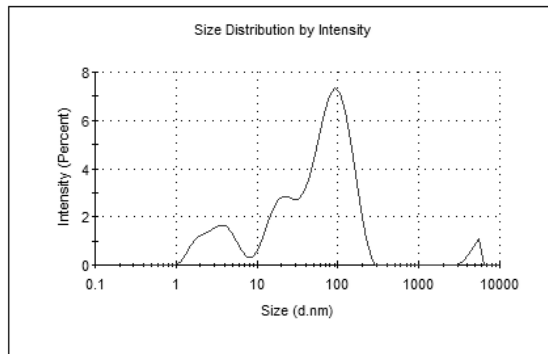
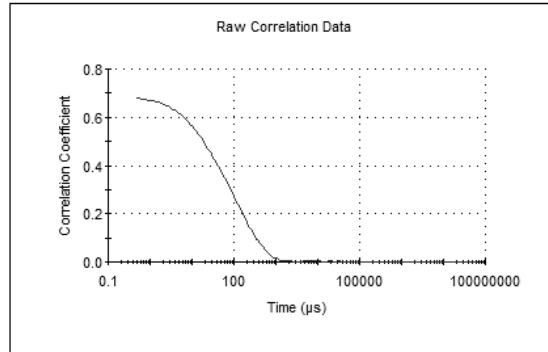
### Infusión Sistema 2 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



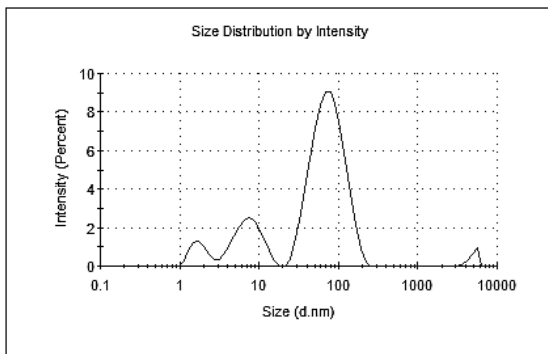
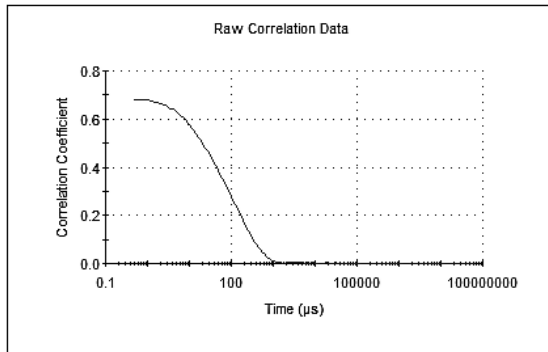
### Infusión Sistema 3 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



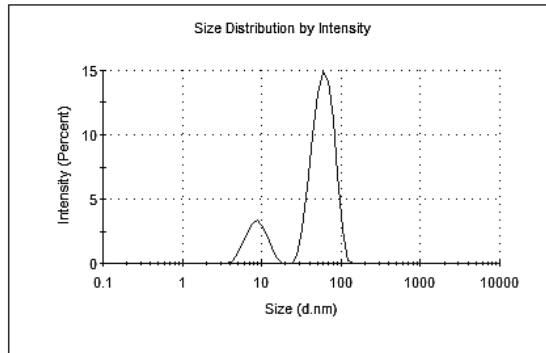
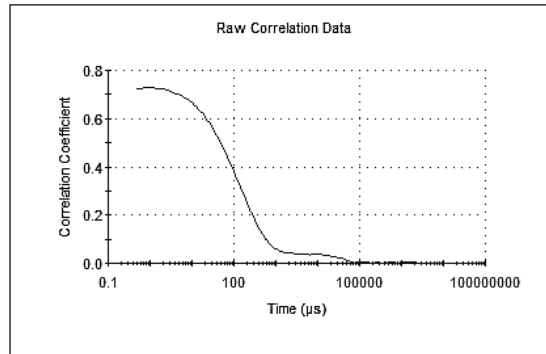
## Infusión Sistema 4 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



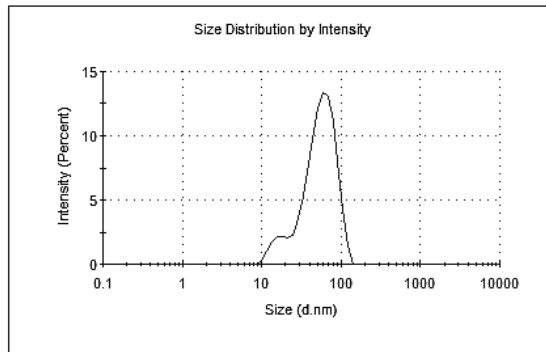
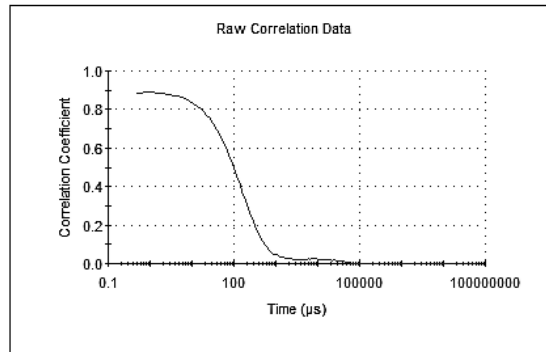
## Infusión Sistema 5 Minuto 10

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

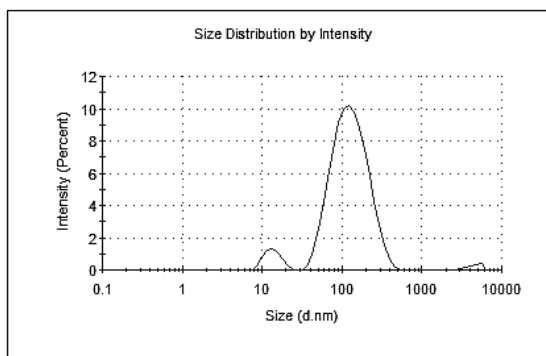
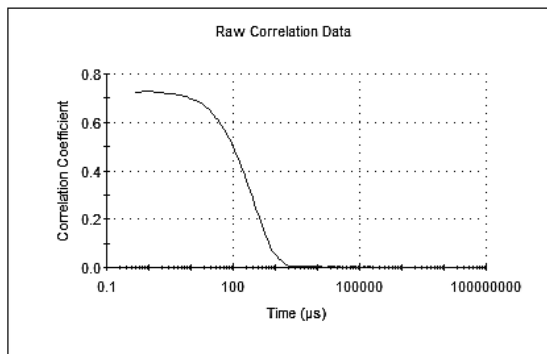
Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis



Nanopartículas de plata sintetizada por Microondas durante 90 segundos y aislada utilizando el sistema 3.

RESULT MEETS QUALITY CRITERIA



Nanopartículas de oro sintetizadas por Microondas durante 90 segundos y aisladas utilizando el sistema 3.

RESULT DOES NOT MEET QUALITY CRITERIA

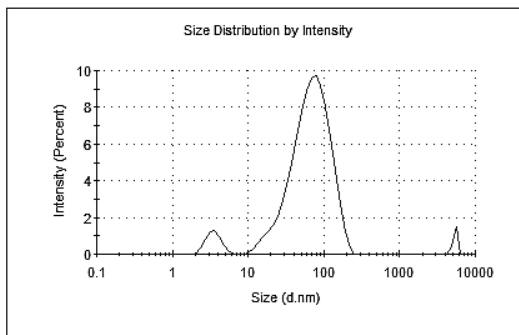
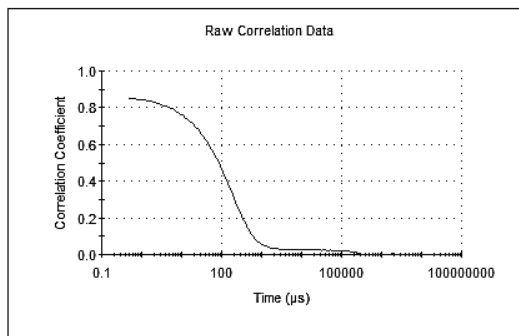
Sample too polydisperse for cumulant analysis - suggest rely on distribution analysis

Cumulant fit error high

- \* Data quality too poor for cumulant analysis
- \* Sample too polydisperse for cumulant analysis

In range figure is low (90%)

- \* Presence of large or sedimenting particles
- \* Sample fluorescence
- \* Sample absorbance (coloured samples)



10.8 ANEXO I  
ANOVA-MULTIFACTORIAL

Tabla 46. Tabla de Medias por Mínimos cuadrados para longitud de onda con intervalos de confianza del 95.0%

NIVEL	CASOS	MEDIA	ERROR EST.	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
<b>MEDIA GLOBAL</b>	60.0	443.8			
<b>MÉTODO</b>					
Baño María	15.0	439.4	5.8	427.8	451.0
Infusión	15.0	455.2	8.7	437.8	472.7
Microondas	15.0	433.3	7.8	417.7	449.0
Sonicación	15.0	447.4	5.4	436.5	458.2
<b>VOLUMEN</b>					
1	12.0	438.3	1.8	434.7	442.0
2	12.0	441.7	1.8	438.0	445.3
3	12.0	444.7	1.8	441.0	448.3
4	12.0	447.5	1.8	443.8	451.2
5	12.0	447.0	1.8	443.3	450.7
<b>TIEMPO</b>					
30	5.0	446.3	3.4	439.4	453.2
60	20.0	445.1	1.4	442.3	447.9
90	5.0	439.9	3.4	433.0	446.8
240	15.0	444.4	1.7	441.0	447.8
600	15.0	443.4	1.9	439.6	447.2

Tabla 47. Pruebas de Múltiple Rangos para longitud de onda por método (Método: 95.0 porcentaje LSD)

MÉTODO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Microondas	15	433.3	7.8	X
Baño María	15	439.4	5.8	X
Sonicación	15	447.4	5.4	X
Infusión	15	455.2	8.7	X

CONTRASTE	SIG.	DIFERENCIA +/- LÍMITES
Baño María - Infusión		-15.8 28.2
Baño María - Microondas		6.0 7.8
Baño María - Sonicación		-8.0 21.4
Infusión - Microondas		21.9 32.8
Infusión - Sonicación		7.9 8.1
Microondas - Sonicación		-14.0 26.1

\* indica una diferencia significativa.

Tabla 48. Pruebas de Múltiple Rangos para longitud de onda por tiempo (Método: 95.0 porcentaje LSD)

TIEMPO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
90	5	439.9	3.4	X
600	15	443.4	1.9	X
240	15	444.4	1.7	X
60	20	445.1	1.4	X
30	5	446.3	3.4	X

CONTRASTE	SIG.	DIFERENCIA	+/- LÍMITES
30 - 60		1.2	7.3
30 - 90		6.4	7.3
30 - 240		1.9	8.6
30 - 600		2.9	8.9
60 - 90		5.2	7.3
60 - 240		0.7	4.5
60 - 600		1.7	5.2
90 - 240		-4.5	8.6
90 - 600		-3.5	8.9
240 - 600		1.0	4.4

\* indica una diferencia significativa.

Tabla 49. Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para absorbancia con intervalos de confianza del 95.0%

NIVEL	CASOS	MEDIA	ERROR EST.	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
<b>MEDIA GLOBAL</b>	60	1.2			
<b>MÉTODO</b>					
Baño María	15	2.3	0.5	1.3	3.4
Infusión	15	-0.6	0.8	-2.2	1.0
Microondas	15	2.5	0.7	1.1	4.0
Sonicación	15	0.5	0.5	-0.5	1.5
<b>VOLUMEN</b>					
1	12	0.7	0.2	0.3	1.0
2	12	1.3	0.2	1.0	1.7
3	12	1.6	0.2	1.3	2.0
4	12	1.2	0.2	0.9	1.6
5	12	1.2	0.2	0.8	1.5
<b>TIEMPO</b>					
30	5	1.1	0.3	0.5	1.8
60	20	0.9	0.1	0.7	1.2
90	5	1.6	0.3	0.9	2.2
240	15	1.1	0.2	0.8	1.4
600	15	1.3	0.2	1.0	1.7

Tabla 50. Pruebas de Múltiple Rangos para absorbancia por tiempo (Método: 95.0 porcentaje LSD)

TIEMPO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
60	20	0.9	0.1	X
240	15	1.1	0.2	X
30	5	1.1	0.3	X
600	15	1.3	0.2	X
90	5	1.6	0.3	X

CONTRASTE	SIG.	DIFERENCIA	+/- LÍMITES
30 - 60		0.2	0.7
30 - 90		-0.4	0.7
30 - 240		0.0	0.8
30 - 600		-0.2	0.8
60 - 90		-0.6	0.7
60 - 240		-0.2	0.4
60 - 600		-0.4	0.5
90 - 240		0.5	0.8
90 - 600		0.2	0.8
240 - 600		-0.2	0.4

\* indica una diferencia significativa.

Tabla 51. Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para tamaño con intervalos de confianza del 95.0%

NIVEL	CASOS	MEDIA	ERROR EST.	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
<b>MEDIA GLOBAL</b>	60	69.8			
<b>MÉTODO</b>					
Baño María	15	75.0	9.7	55.5	94.5
Infusión	15	57.8	14.5	28.5	87.0
Microondas	15	75.9	13.1	49.6	102.2
Sonicación	15	70.4	9.1	52.2	88.7
<b>VOLUMEN</b>					
1	12	64.3	3.1	58.1	70.5
2	12	70.5	3.1	64.4	76.7
3	12	71.6	3.1	65.5	77.8
4	12	73.2	3.1	67.0	79.4
5	12	69.3	3.1	63.1	75.4
<b>TIEMPO</b>					
30	5	73.4	5.8	61.8	85.0
60	20	60.3	2.4	55.6	65.1
90	5	75.9	5.8	64.2	87.5
240	15	65.6	2.8	59.9	71.3
600	15	73.7	3.2	67.4	80.1

**Tabla 52. Pruebas de Múltiple Rangos para tamaño por método (Método: 95.0 porcentaje LSD)**

MÉTODO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Infusión	15	57.8	14.5	X
Sonicación	15	70.4	9.1	X
Baño María	15	75.0	9.7	X
Microondas	15	75.9	13.1	X

CONTRASTE	SIG.	DIFERENCIA	+/- LÍMITES
Baño María - Infusión		17.2	47.3
Baño María - Microondas		-0.9	13.0
Baño María - Sonicación		4.6	35.9
Infusión - Microondas		-18.2	55.1
Infusión - Sonicación		-12.7	13.5
Microondas - Sonicación		5.5	43.9

\* indica una diferencia significativa.

**Tabla 53. Pruebas de Múltiple Rangos para tamaño por volumen (Método: 95.0 porcentaje LSD)**

VOLUMEN	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
1	12	64.3	3.1	X
5	12	69.3	3.1	XX
2	12	70.5	3.1	XX
3	12	71.6	3.1	XX
4	12	73.2	3.1	X

CONTRASTE	SIG.	DIFERENCIA	+/- LÍMITES
1 - 2		-6.2	7.9
1 - 3		-7.3	7.9
1 - 4	*	<b>-8.9</b>	7.9
1 - 5		-4.9	7.9
2 - 3		-1.1	7.9
2 - 4		-2.7	7.9
2 - 5		1.3	7.9
3 - 4		-1.6	7.9
3 - 5		2.4	7.9
4 - 5		4.0	7.9

\* indica una diferencia significativa.