



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

Síntesis de nanopartículas de plata a partir del extracto
acuoso de *Agastache mexicana* (Kunth) Lint. & Epling
(toronjil morado).

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUIMICA

P R E S E N T A :

MARAHÍ CITLALLI DÍAZ ESCOBAR.

ASESOR

Q.F.B, Brígida del Carmen Camacho Enríquez

COASESOR

Dra. Flora Adriana Ganem Rondero

Cuautitlan Izcalli, Estado de México 2020



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
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

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

ATN: I.A. 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 de nanopartículas de plata a partir del extracto acuoso de *Agastache mexicana* (Kunth) Lint. & Epling (toronjil morado).

Que presenta la pasante: **Marahi Citlalli Díaz Escobar**

Con número de cuenta: **308050699** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en 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 28 de Enero de 2020.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Ana Leticia Fernández Osorio	
VOCAL	M. en Ed. Victoria Oralia Hernández Palacios	
SECRETARIO	Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enríquez	
1er. SUPLENTE	Dr. Gabriel Arturo Arroyo Razo	
2do. SUPLENTE	Dr. Benjamin Velasco Bejarano	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

Agradecimientos.

PAPIME PE204118 "Actualización y fortalecimiento de la enseñanza experimental de las asignaturas: Fitoquímica y Farmacognosia y Fitofármacos de la Licenciatura en Química Industrial".

PAPIME PE216418 "Fortalecimiento de la enseñanza de las asignaturas de Técnicas Analíticas Avanzadas y Laboratorio de Paquete Terminal de la Licenciatura en Química".

Le agradezco a mi mamá que siempre me ha apoyado en todo lo que he querido hacer y siempre tiene un consejo para mí aun cuando no lo pido, a mi hermano que siempre me apoya y me hace ver mis errores, aunque resulte un poco abrumador en algunas ocasiones.

A la maestra Brígida que siempre está dispuesta a resolver cualquier duda de cualquier alumno que requiera de su guía y sabiduría, así como al profesor Mario que siempre tiene algún consejo para mejorar el procedimiento experimental.

A las profesoras de Química Analítica que siempre estuvieron dispuestas a responder todas las dudas que tuve durante las clases que impartían, por más pequeñas o "tontas" que fueran. A todas y todos los maestros (as) que nunca dejaron de creer en mí y en que me titularía en algún momento.

Contenido

Índice de tablas	3
Índice de figuras	4
1. Introducción.....	5
2. Objetivos	6
2.1.Objetivo general	6
2.2. Objetivos particulares	6
3. Antecedentes	7
3.1. Síntesis de nanopartículas.....	7
3.2. Estabilización	9
3.2.1. Estabilización electrostática	9
3.2.2. Estabilización estérica	10
3.2.3. Estabilización electrostérica	11
3.3. Aplicaciones	11
3.4. Materia vegetal.....	12
3.4.1. Descripción taxonomica.....	12
3.4.2. Descripción botánica.....	12
3.4.3. Hábitat.....	13
3.4.4. Composición química.....	13
3.5. Técnicas de caracterización de nanopartículas metálicas.....	13
4. Metodología	15
4.1. Materia prima vegetal	15
4.1.1. Obtención.....	15
4.1.2. Conservación.....	16
4.1.3. Preparación.....	16
4.1.4. Identificación botánica	16
4.2. Extracción.....	16
4.2.1. Análisis fitoquímico	17
4.3. Síntesis de nanopartículas de plata	18
4.3.1. Concentración de AgNO ₃ y el peso de la planta.....	18
4.3.2. Proporción de extracto-nitrato.....	18

4.3.3.	Variación del pH	19
4.3.4.	Variación de la temperatura	19
4.3.5.	Variación del tiempo de reacción.....	20
4.4.	Estabilización	20
4.5.	Caracterización	21
4.5.1.	Espectroscopia UV-Vis	21
4.5.2.	Dispersión dinámica de la luz	21
4.5.3.	Separación de las nanopartículas	21
4.5.4.	Espectros IR	22
4.6.	Determinación de Ag	22
5.	Resultados	22
5.1.	Materia prima vegetal	22
5.1.1.	Identificación taxonómica	23
5.2.	Extracción.....	23
5.2.1.	Características sensoriales	23
5.2.2.	Análisis fitoquímico	23
5.2.3.	Espectroscopia UV-Vis	24
5.2.4.	Espectroscopia Infrarroja.....	25
5.3.	Síntesis de nanopartículas de plata	27
5.3.1.	Relación peso de material vegetal-concentración de plata.....	27
5.3.2.	Concentración y volumen de extracto	28
5.3.3.	Variación del pH	29
5.3.4.	Variación de temperatura	31
5.3.5.	Variación del tiempo de reacción.....	33
5.4.	Estabilización	34
5.5.	Espectroscopía infrarroja	36
5.6.	Cuantificación de plata Ag ⁺¹ en el sobrenadante	40
6.	Conclusiones	41
7.	Prospectivas.....	42
8.	Anexos.....	43
8.1.	Anexo A: Carta de identificación de la materia vegetal.....	43
8.2.	Anexo B: Pruebas fitoquímicas.....	45

8.2.1. Pruebas para alcaloides.....	45
8.2.2. Pruebas para carbohidratos reductores.....	45
8.2.3. Prueba para taninos	46
8.2.4. Prueba para flavonoides (Shinoda).....	46
8.2.5. Prueba para glucósidos cianogénicos	46
8.2.6. Prueba para lactonas sesquiterpénicas (Baljet).....	47
8.3. Anexo C: Cálculos para la preparación de las soluciones a utilizar en la síntesis ...	47
8.4. Anexo D: Cálculos Estequiométricos, plata que no reaccionó	48
9. Bibliografía	50

Índice de tablas

Tabla 1 Sistemas preparados para determinar la concentración del nitrato de plata y del extracto	18
Tabla 2 Variación del volumen del extracto.....	19
Tabla 3 Variación del pH.....	19
Tabla 4 Variación de la temperatura de reacción.....	20
Tabla 5 Variación del tiempo de reacción.....	20
Tabla 6 Condiciones de los sistemas para seleccionar el estabilizante	21
Tabla 7 Resultados obtenidos del análisis fitoquímico	24
Tabla 8 Frecuencias identificadas en el espectro IR del extracto acuoso de Agastache mexicana.....	26
Tabla 9 Resultados sistemas relación PV-[Ag]	27
Tabla 10 Resultados variación del volumen del extracto	28
Tabla 11 Resultados de la variación del pH.....	30
Tabla 12 Resultados de la variación de la temperatura.....	31
Tabla 13 Relación respuestas obtenidas con la variación de temperatura	33
Tabla 14 Variación del tiempo de reacción.....	33
Tabla 15 Relación de respuestas obtenidas con la variación del tiempo	34
Tabla 16 Resultados de los sistemas probados con variación del estabilizante.....	35
Tabla 17 Relación de resultados obtenidos con diferentes estabilizantes	36
Tabla 18 Relación de frecuencias de las bandas presentes en los espectros IR.....	39
Tabla 19 Datos de plata que no reaccionó	48

Índice de figuras

Figura 1 Síntesis de nanopartículas, método químico (Bottom-up) y método físico (Top-down).....	8
Figura 2 Estabilización electrostática.....	10
Figura 3 Estabilización estérica.....	10
Figura 4 Estabilización electrostérica.....	11
Figura 5 Toronjil morado.....	13
Figura 6 Metodología general.....	15
Figura 7 Esquema del análisis fitoquímico.....	17
Figura 8 Flores y hojas de Agastache mexicana (toronjil morado).....	22
Figura 9 Extracto acuoso de Agastache mexicana (toronjil morado).....	23
Figura 10 Espectro de absorción UV-Vis del extracto acuoso de A. mexicana.....	25
Figura 11 Espectro infrarrojo del extracto acuoso de A. mexicana.....	25
Figura 12 Espectros de absorción UV-Vis de los sistemas con variación del volumen de extracto.....	29
Figura 13 Mecanismo de formación de nanopartículas de plata.....	30
Figura 14 Espectros de absorción UV-Vis de los sistemas preparados con diferentes temperaturas.....	32
Figura 15 Espectros de absorción UV-Vis resultantes de la variación del tiempo.....	34
Figura 16 Espectros de absorción UV-Vis utilizando diferentes estabilizantes.....	35
Figura 17 Espectro infrarrojo del extracto acuoso de A. mexicana.....	37
Figura 18 Espectro IR del PEG-400.....	37
Figura 19 Espectro IR del sobrenadante con polietilenglicol.....	38
Figura 20 Espectro IR de las nanopartículas de plata.....	38
Figura 21 Precipitado del complejo de plata.....	40
Figura 22 Ejemplar resguardado en el herbario IZTA.....	44

1. Introducción

Desde tiempos antiguos la humanidad, sin darse cuenta, ha utilizado diversos nanomateriales, como las decoraciones en los ventanales de la catedral de Paris (s. XIII d.C.), la copa romana de Licurgo (s. IV d.C.) y el “azul maya”, pigmento fabricado en el siglo IX. En la actualidad los nanomateriales han adquirido una gran relevancia debido a su aplicación en diversas áreas de la ciencia y que paulatinamente se han ido integrando a nuestra vida cotidiana.

Los métodos de fabricación son muy variados, sin embargo, se ha puesto atención en el desarrollo de tecnologías ambientalmente benignas en la síntesis de nanomateriales y en la síntesis de nanopartículas con diferente composición química, y control del tamaño, forma y polidispersidad. A principios de este siglo, se exploró el potencial de varios microorganismos y biomasas vegetales para la síntesis de nanopartículas metálicas.

Las nanopartículas son de gran interés debido a su gran relación superficie/volumen, exhibiendo características completamente nuevas en comparación con las partículas a escalas más grandes. Las nanopartículas de metales nobles, oro, plata, platino y paladio, actualmente se están aplicando en bienes de consumo de rápido movimiento como champús, jabones, detergentes, zapatos, productos cosméticos y pasta de dientes, además de sus aplicaciones en productos médicos y farmacéuticos (Mohd Sayeed, Jitendra, Yeong-Sang, y Yun, 2013).

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Desarrollar una metodología para la síntesis de nanopartículas de plata utilizando como agente reductor el extracto acuoso de *Agastache mexicana* (toronjil morado), caracterizadas por espectrofotometría UV-Vis, infrarrojo y dispersión dinámica de la luz, su estabilización y posible aplicación antimicrobiana posterior.

2.2. Objetivos particulares

- Realizar una investigación bibliográfica utilizando recursos físicos y digitales, para establecer el marco teórico del proyecto a investigar.
- Adquisición de la materia prima vegetal para su conservación y realización de este proyecto.
- Identificación taxonómica del vegetal en el Herbario Etnobotánico IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.
- Desarrollar una metodología de extracción utilizando métodos discontinuos para su uso en la síntesis de nanopartículas.
- Caracterizar el extracto acuoso mediante pruebas cualitativas, para identificar de manera presuntiva los grupos químicos presentes en el extracto.
- Desarrollar una metodología para la obtención de nanopartículas de plata, a partir de nitrato de plata y el extracto acuoso de *Agastache mexicana*.
- Evaluar los diferentes órganos vegetales en la reducción del ion plata para seleccionar el órgano a trabajar.
- Ensayar con diferentes agentes estabilizadores la síntesis de nanopartículas de plata para evitar su rápida aglomeración.
- Caracterizar las nanopartículas sintetizadas mediante espectrofotometría UV-Vis, infrarrojo y dispersión dinámica la luz.

3. Antecedentes

La nanociencia es el estudio de los fenómenos y la manipulación de distintos materiales a escalas de una millonésima parte de un milímetro (1×10^{-9}) (Mendoza Uribe & Rodríguez-López, 2018), estas nanopartículas presentan una variedad de propiedades dependiendo su naturaleza química, interacción con la luz, geometría y tamaño, difieren drásticamente de las propiedades que muestran el mismo material a escala macroscópica. Las diversas propiedades que presenta este tipo de materiales, antimicrobianas, antioxidantes, catalizadores, etc., han permitido su integración en la industria y en la medicina moderna (Morales de la Garsa, 2000).

3.1 Síntesis de nanopartículas

En la actualidad hay una gran cantidad de investigaciones para perfeccionar, afinar y descubrir técnicas experimentales que produzcan nanoestructuras. Para generar, fabricar, producir se puede utilizar cualquiera de estos métodos (figura 1):

1. *Top-down* o de arriba hacia abajo: técnica que desarrolla las nanoestructuras reduciendo de tamaño un bloque de material.
2. *Bottom-up* o de abajo hacia arriba: técnica en la que los materiales nanoestructurados se producen a partir de “nanobloques” de átomos o moléculas.

El método de arriba hacia abajo inicia con una pieza grande de material y mediante remoción de material (grabado o molienda) se obtiene una nanoestructura. Para este método se utilizan técnicas de alta precisión para producir, por ejemplo, microprocesadores. La desventaja de este método es que se requiere de mucha energía y se generan muchos desperdicios, aun así, con ellas se pueden fabricar chips para computadora, láseres, espejos de alta calidad óptica, etc.

El método de abajo hacia arriba se refiere a la construcción de estructuras átomo por átomo o molécula por molécula, por diversas técnicas.

- a) Síntesis química. Este método utiliza reactivos químicos para la fabricación de materiales complejos que se utilizan como aditivos en cosméticos y

combustibles. No obstante, el uso de sustancias químicas hace que este tipo de método sea muy impactante al medio ambiente.

- b) Autoensamblaje. Técnica en la que, los átomos o moléculas se ordenan a sí mismas dentro de nanoestructuras mediante interacciones físicas y/o químicas entre las unidades básicas. El autoensamblaje es el método que la naturaleza ha utilizado para construir a los organismos vivos, los cristales de sal y los copos de nieve (Mendoza Uribe & Rodríguez-López, 2018).

Como una alternativa a los métodos químicos han surgido los métodos biológicos que utilizan microorganismos o extractos de plantas para la fabricación de nanomateriales, como una opción más amigable con el medio ambiente.

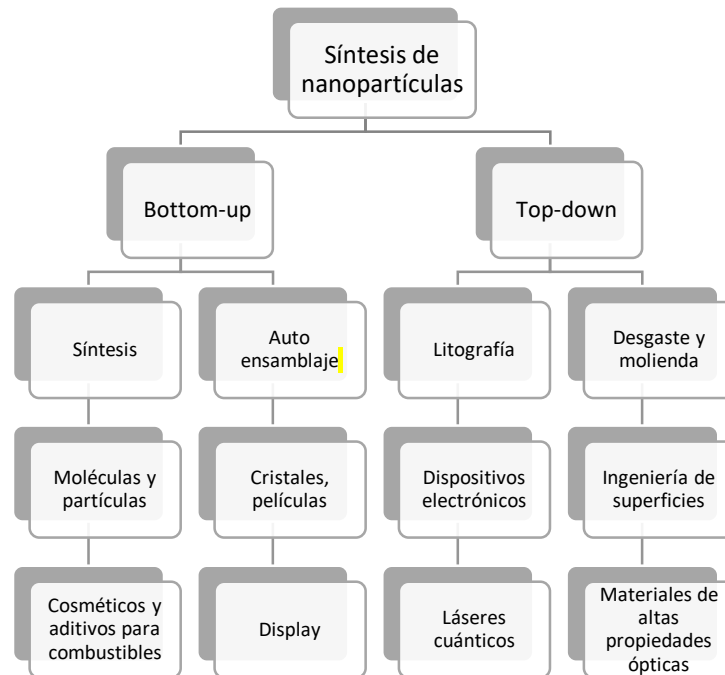


Figura 1 Síntesis de nanopartículas, método químico (Bottom-up) y método físico (Top-down) (Uribe y Rodríguez; 2018)

3.2 Estabilización

Una de las principales características de los sistemas coloidales de nanopartículas metálicas es su tendencia a la rápida aglomeración. En la mayoría de los casos, esta aglomeración conduce a la pérdida de las propiedades asociadas con el estado coloidal de estas partículas. La estabilización de los coloides metálicos y, por lo tanto, los medios para preservar su estado finamente disperso son muy importantes.

A distancias cortas entre partículas, las fuerzas de Van der Waals atraerán dos partículas metálicas entre sí, en ausencia de fuerzas repulsivas opuestas a la fuerza de Van der Waals, las partículas de metal coloidal se aglomerarán. En consecuencia, el uso de un agente estabilizador capaz de inducir una fuerza repulsiva opuesta a las fuerzas de Van der Waals es necesario, para proporcionar nanopartículas estables en solución.

La estabilización de nanopartículas en solución puede ser de diferentes tipos: (I) la estabilización electrostática, (II) la estabilización estérica, (III) la estabilización electrostérica.

3.2.1. Estabilización electrostática

Los compuestos iónicos como haluros, carboxilatos o polioxoaniones, disueltos en una solución (generalmente acuosa) pueden generar la estabilización electrostática. La adsorción de estos compuestos y sus contraiones relacionados en la superficie metálica generará una doble capa eléctrica alrededor de las partículas (figura 2). Esto da como resultado una repulsión de Coulomb entre las partículas. Si el potencial eléctrico asociado con la doble capa es lo suficientemente alto, entonces la repulsión electrostática evitará la agregación de partículas. Las suspensiones coloidales estabilizadas por repulsión electrostática son muy sensibles a cualquier fenómeno capaz de alterar la doble capa como la fuerza iónica o el movimiento térmico.

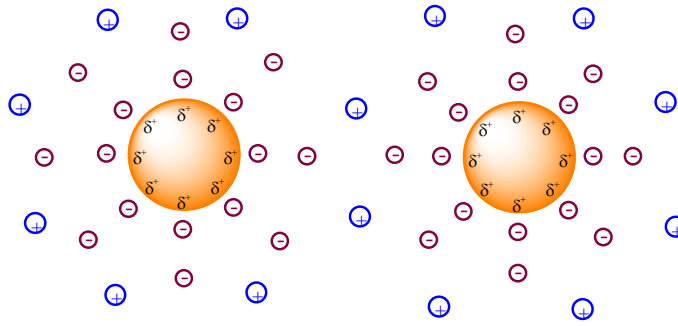


Figura 2 Estabilización electrostática

3.2.2. Estabilización estérica

Un segundo medio por el cual se puede evitar que los coloides metálicos se agreguen es usar macromoléculas tales como polímeros u oligómeros. La adsorción de estas moléculas en las superficies de las partículas proporcionará una capa protectora. La forma en que éstas grandes moléculas adsorbidas evitan la agregación puede explicarse de manera simplificada visualizando el enfoque de dos coloides metálicos. En el espacio entre cada partícula, las moléculas adsorbidas estarán restringidas en movimiento, lo que provoca una disminución de la entropía y, por lo tanto, un aumento en la energía libre.

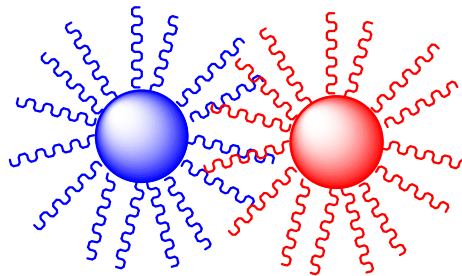


Figura 3 Estabilización estérica

Un segundo efecto se debe al aumento en la concentración de macromoléculas adsorbidas a medida que las dos capas protectoras comienzan a aproximarse. Esto da como resultado una repulsión osmótica ya que el disolvente restablecerá el equilibrio diluyendo las macromoléculas y separando así las partículas (figura 3).

En contraste con la estabilización electrostática, que se usa principalmente en medios acuosos, la estabilización estérica se puede usar en fase orgánica o acuosa.

Sin embargo, la longitud y/o la naturaleza de las macromoléculas adsorbidas influyen en el grosor de la capa protectora y, por lo tanto, pueden modificar la estabilidad de las partículas metálicas coloidales.

3.2.3. Estabilización electrostérica

La estabilización electrostática y estérica se pueden combinar para mantener las nanopartículas metálicas estables en solución. Este tipo de estabilización se proporciona generalmente por medio de tensoactivos iónicos. Estos compuestos tienen un grupo de cabeza polar capaz de generar una doble capa eléctrica y una cadena lateral lipofílica capaz de proporcionar repulsión estérica (figura 4). La estabilización electrostática también puede obtenerse a partir de polioxoaniones.

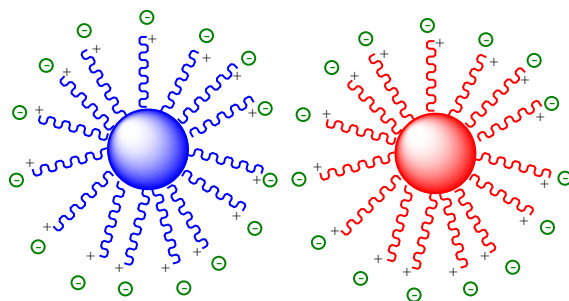


Figura 4 Estabilización electrostérica

3.3. Aplicaciones

Las nanopartículas son ampliamente usadas en diversas áreas como: electrodos en baterías/celdas de combustible, catalizadores, en electrónica, sensores, celdas solares, administración de fármacos, etc.

Las nanopartículas han sido aplicadas en diversos campos de la investigación biomédica durante bastante tiempo. Una aplicación prometedora en el campo de la nanomedicina es la administración dirigida de fármacos usando nanopartículas magnéticas que se llevan al tejido objetivo por medio de un campo magnético externo. Los materiales más comúnmente utilizados en la administración magnética de fármacos contienen nanopartículas metálicas o de óxidos metálicos (Gómez Villarraga, 2020).

3.4. Materia vegetal

3.4.1. Descripción Taxonómica.

Categoría	Nombre
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Género	<i>Agastache</i>
Especie	<i>Agastache mexicana</i>

Nombre común: Toronjil morado.

Sinonimia vulgar: Tzompilhuitz-patli, Tzompilhuiz-xihuitl en Náhuatl; Toroji en Otomí; Pinkil en Tepehua; Noritén ND (no determinado).

Sinonimia científica: *Cedronella mexicana*; *Dracocephalum mexicanum*.

3.4.2. Descripción botánica

Planta herbácea, vivaz, aromática de tallo erguido, tetragono, anguloso y pubescente. Hojas opuestas pecioladas, enteras, lanceoladas, con ápice agudo, base redondeada y bordes serrados. El cáliz es tubuloso, morado y rojizo, la corola casi del mismo color, tubulosa, labiada, con cuatro estambres y un estilo largo con estigma saliente y bífido. Frutos ovoides, lisos de color pardo oscuro. Florece en verano (Martínez, 1996) (Reader's Digest México, 1987).



Figura 5 Toronjil morado (Díaz M, 2019)

3.4.3. Hábitat

El toronjil es originario de México; está presente en climas cálido, semicálido y templado. Hierba asociada a bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio y perennifolio y a bosques espinoso, mesófilo de montaña, de encino, de pino y mixto de pino-encino (Pueblos indígenas de México, 2018).

3.4.4. Composición química

En el género *Agastache* están presentes el metilchavicol, estragol, limoneno en el aceite esencial y en las fracciones polares, flavonoides como 4',5,7-trihidroxiflavona (Estrada Reyes, y otros, 2004). De acuerdo con Jaramillo (2018) en el aceite esencial del toronjil blanco se identificaron mentol, pulegona y linalool. En el extracto acuoso de *Agastache mexicana* están presentes flavonoides, polifenoles, glucosa, fructuosa, ramnosa, saponinas y taninos.

3.5. Técnicas de caracterización de nanopartículas metálicas

3.5.1 Espectroscopia UV-Vis

La absorción de radiación de la región ultravioleta-visible (UV-Vis) provoca una excitación de los electrones de orbitales de más baja energía a orbitales de más alta energía en una molécula. La máxima absorción UV-Vis ocurre en una longitud de onda característica de la estructura de la molécula.

La espectroscopia UV-Vis es una técnica ampliamente utilizada en el área de los nanomateriales, ya que permite saber si el proceso de síntesis ha concluido con la formación de nanopartículas. Por ejemplo, la aparición de una banda de absorción alrededor de los 450 nm es indicativa de la presencia de nanopartículas de plata.

3.5.2 Dispersión dinámica de la luz

La dispersión dinámica de luz (DDL o DLS, por sus siglas en inglés de “Dynamic Light Scattering”), es una técnica fisicoquímica empleada para la determinación de la distribución de tamaños de partícula en suspensión o macromoléculas en solución tales como proteínas o polímeros. La luz láser al alcanzar las numerosas partículas que hay en una suspensión, se dispersa en todas las direcciones posibles. Si se separa en una dirección, los haces de luz dispersados por distintas partículas interfieren entre sí y se obtiene una intensidad de dispersión determinada (Cuadros Moreno, Castañas Pimentel, San Martín Martínez, & Yañes Fernández, 2014).

Como consecuencia del movimiento browniano las posiciones relativas de las partículas varían constantemente entre sí, provocando cambios en las condiciones de interferencia y en la propia intensidad de dispersión. Si las partículas se mueven rápidamente (partículas pequeñas), también se acelera la variación de la intensidad de dispersión. Por el contrario, las partículas lentas (grandes) llevan a variaciones más lentas. Por norma general, en la dispersión de luz dinámica la suspensión de la muestra permanece en reposo. El término “dinámica” no se refiere al movimiento de la muestra como un conjunto, sino a la “vibración” de las partículas que la componen (Cuadros Moreno, Castañas Pimentel, San Martín Martínez, & Yañes Fernández, 2014).

3.5.3 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de fourier (FTIR)

La región del infrarrojo del espectro abarca la radiación con números de onda comprendidos entre 12800 y 10 cm^{-1} , que corresponden a longitudes de onda de 0.78 a 1000 μm . Tanto desde el punto de vista de las aplicaciones como de la instrumentación, es conveniente dividir el espectro infrarrojo en tres regiones denominadas infrarrojo cercano, medio y lejano.

La FTIR utiliza la interacción de la radiación con la materia para obtener información sobre la estructura molecular. La espectroscopia de infrarrojo está basada en las transiciones vibracionales discretas que tienen lugar en el estado electrónico de las moléculas. Las posiciones relativas de los átomos en una molécula no son exactamente fijas, sino que fluctúan continuamente como consecuencia de una multitud de tipos de vibraciones y rotaciones diferentes alrededor de los enlaces en la molécula. Pueden distinguirse dos categorías básicas de vibraciones: de tensión y de flexión.

El principal uso de la FTIR en la caracterización de nanopartículas metálicas es para detectar especies químicas enlazadas a la superficie y para monitorear reacciones también en la superficie (Aguilar Mendez, 2009).

4. Metodología

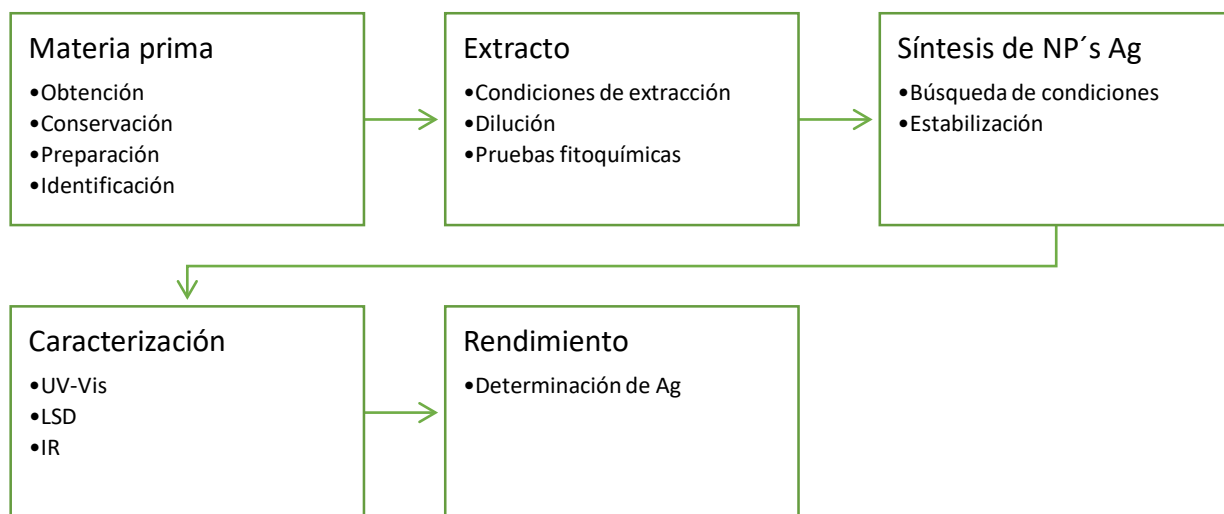


Figura 6 Metodología general

Nota: UV-Vis: Ultravioleta-Visible, LSD: Dispersión dinámica de la luz, IR: Infrarrojo.

4.1. Materia prima vegetal

4.1.1. Obtención

La planta se adquirió en el mes de agosto en el mercado "Sonora" ubicado en Fray Servando Teresa de Mier 419, Merced Balbuena, CP: 15810, Ciudad de México. Se

seleccionaron dos ejemplares del material fresco para su herborización y posterior identificación taxonómica; el resto del material se consideró para su conservación.

4.1.2. Conservación

La conservación del material vegetal se realizó por desecación natural a la sombra. El material se extendió en una mesa sobre papel secante protegido de la luz y el polvo.

4.1.3. Preparación

El material seco se separó en los diferentes órganos vegetales. Cada órgano se sometió a un proceso de molienda para lo que se utilizó un procesador de alimentos de la marca Moulinex® durante 5 segundos, dos ciclos. El material triturado se colocó en una serie de tamices de acero inoxidable (N° de malla: 10, 20, 25 y 30) con agitación manual durante 20 minutos.

4.1.4. Identificación botánica

Los ejemplares previamente herborizados se enviaron al Herbario Etnobotánico IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM para su identificación taxonómica.

4.2. Extracción

Se pesaron aproximadamente 0.1 g del material vegetal con el tamaño de partícula más pequeño (malla 30), se adicionaron 40 mL de agua destilada a 90°C, dejándose en reposo en un baño de agua hasta temperatura ambiente. Los residuos vegetales se separaron de la mezcla pasándolo a través de un colador, para posteriormente hacer una separación fina por centrifugación (2500 rpm durante 5 min). El sobrenadante se llevó a un volumen de 100 mL con agua destilada. De esta disolución se tomó una alícuota de 3 mL y se llevó a un volumen de 10 mL con agua destilada. La solución resultante se reservó para su utilización en la síntesis de nanopartículas de plata.

4.2.1. Análisis fitoquímico

Una vez preparado el extracto acuoso se realizaron una serie de pruebas cualitativas y de precipitación para identificar los grupos químicos presentes en el extracto (Anexo 2). En la figura 7 se muestran un esquema de la metodología seguida.

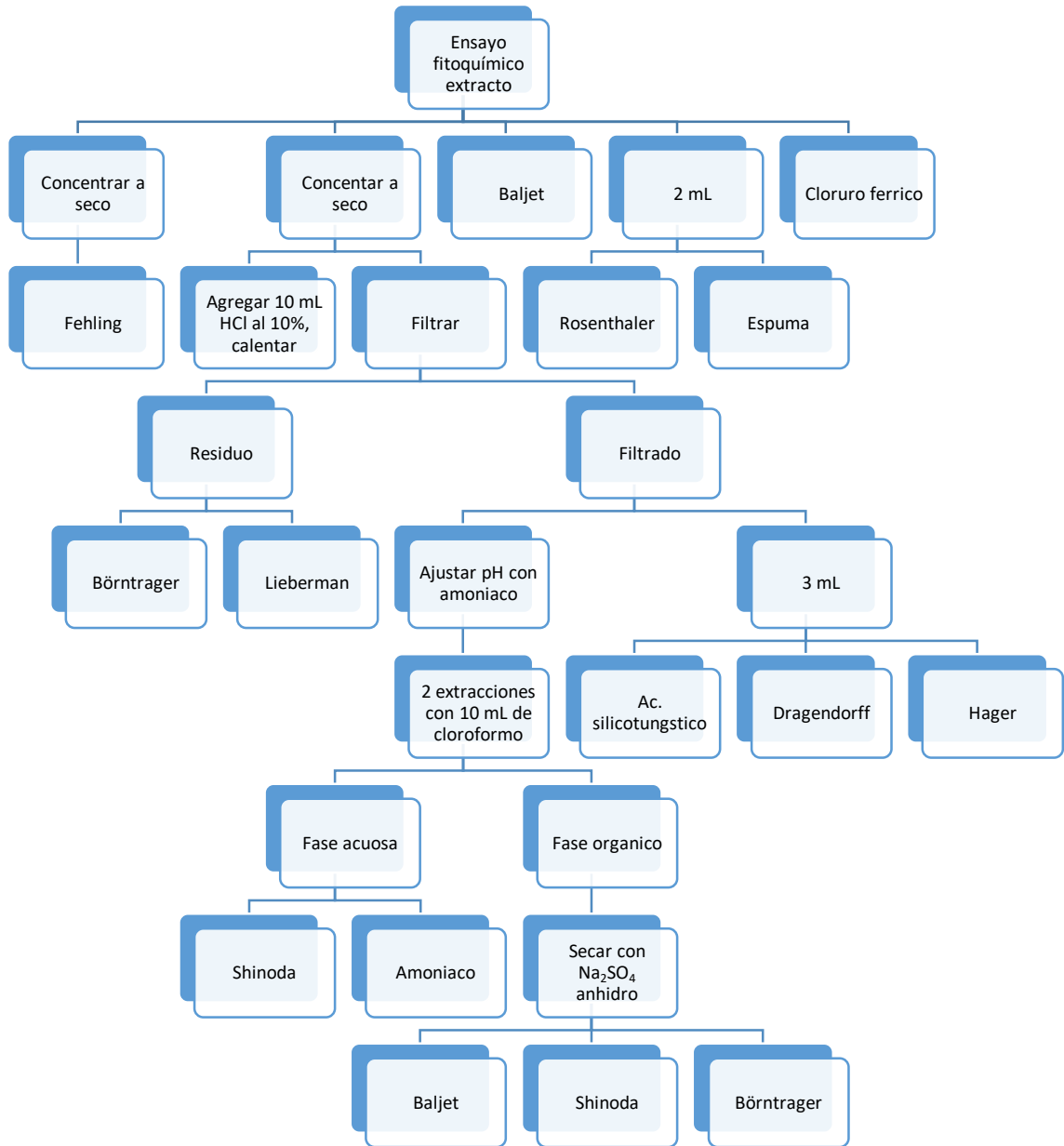


Figura 7 Esquema del análisis fitoquímico

4.3. Síntesis de nanopartículas de plata

Para el desarrollo de la metodología se consideraron las siguientes variables: la concentración de nitrato de plata, la concentración del extracto, la relación entre el volumen del extracto y el nitrato de plata, el pH, temperatura y tiempo de reacción; que se modificaron en el orden que se muestra en los siguientes apartados. Para la modificación de las primeras variables la temperatura manejada fue de 50°C y un tiempo de reacción de una hora. A todas las reacciones se les dio seguimiento por espectrofotometría UV-Vis y dispersión dinámica de la luz.

4.3.1. Concentración de AgNO_3 y el peso de la planta

Procedimiento: Se pesa la cantidad de flores mostrada en la tabla 1, se le adicionaron 40 mL de agua destilada a 90°C se dejó reposar por 10 min hasta alcanzar una temperatura de 25°C. La mezcla heterogénea se filtró y el residuo sólido se desechó. El filtrado se centrifugó a 2500 rpm durante 10 min. El sobrenadante se llevó a un volumen de aforo de 50 mL de agua destilada.

Tabla 1 Sistemas preparados para determinar la concentración del nitrato de plata y del extracto

Peso de planta (g)/ 5 mL	10 mL 3mM AgNO_3	10 mL 5mM AgNO_3	10 mL 7mM AgNO_3
0.751 (A)	3A	5A	7A
1.008 (B)	3B	5B	7B
1.2554 (C)	3C	5C	7C

Se prepararon nueve sistemas variando la concentración del nitrato de plata (Tabla 1), se dejaron reposar por 24 h y se obtuvieron los espectros de absorción UV-Vis de cada sistema.

Con este ensayo se seleccionó la concentración del extracto y la concentración del nitrato de plata.

4.3.2. Proporción de extracto-nitrato

Con el volumen y concentración de nitrato de plata, además de la concentración del extracto se consideró el variar el volumen del extracto para encontrar un volumen idóneo, por lo que se prepararon los sistemas mostrados en la tabla 2.

Tabla 2 Variación del volumen del extracto

Sistema	Vol. Extracto (mL)	Vol. AgNO ₃ (mL)
1	5	10
2	7.5	10
3	10	10

4.3.3. Variación del pH

Con las condiciones de concentraciones y volumen de nitrato de plata y extracto se consideró hacer una variación de pH. El pH del extracto se ajustó previamente a los valores mostrados en la tabla 3, para lo que se utilizó hidróxido de sodio 0.1 M y papel indicador de pH. Ajustando el pH del extracto éste se adicionó al nitrato de plata.

Tabla 3 Variación del pH

Sistema	pH	Vol. Extracto (mL)	Vol. AgNO ₃ (mL)
1	10	10	10
2	11	10	10
3	12	10	10

Posterior a observar el comportamiento de los sistemas de la tabla 3, se decidió utilizar una base débil, en este caso el citrato de sodio, para ver si los sistemas presentaban un mejor comportamiento.

4.3.4. Variación de la temperatura

Se prepararon cinco sistemas manteniendo constantes el volumen de extracto y de nitrato de plata 5mM, variando la temperatura entre 10 y 70°C. En la tabla 4 se muestran las condiciones de cada sistema.

Tabla 4 Variación de la temperatura de reacción

Sistema	Temperatura (°C)	Vol. Extracto (mL)	Vol. AgNO ₃ (mL)
1	10	10	10
2	25	10	10
3	30	10	10
4	50	10	10
5	70	10	10

4.3.5. Variación del tiempo de reacción

Una vez encontradas las condiciones de volumen de extracto y de nitrato de plata 5mM, y temperatura; se consideró variar el tiempo entre 5 a 120 min. En la tabla 5 se muestran las condiciones de cada sistema preparado.

Tabla 5 Variación del tiempo de reacción

Sistema	Tiempo (min.)	Vol. Extracto (mL)	Vol. AgNO ₃ (mL)
1	5	10	10
2	63	10	10
3	120	10	10

4.4 Estabilización

De acuerdo con Perni, Hakala y Prokopovich (2014) establecieron que la concentración de estabilizante (L-cisteína) fuera de 1 mM, por lo que se consideró utilizar esta concentración de cada uno de los estabilizantes con los que se contaba en el laboratorio de Farmacognosia. En la tabla 6 se muestran las condiciones de los sistemas experimentados.

Tabla 6 Condiciones de los sistemas para seleccionar el estabilizante

Sistema-Estabilizante	VE [1 mM] (μ L)	Vol. Extracto (mL)	Vol. AgNO ₃ (mL)
1-C	10	10	10
2-C	30	10	10
1-PEG	10	10	10
2-PEG	100	10	10
1-PVP	10	10	10
2-PVP	100	10	10

Nota: C: L-Cisteína; PEG: Polietilenglicol 400; PVP: Polivinilpirrolidona; VE: volumen de estabilizante

4.5. Caracterización

4.5.1. Espectroscopia UV-Vis

Todas las reacciones de síntesis de las nanopartículas de plata se les dio seguimiento por espectrofotometría UV-Vis de 200 a 600 nm (espectrofotómetro UV-Vis Dynamica, modelo: HALO XB-10).

4.5.2. Dispersión dinámica de la luz

Después de obtener el espectro UV-Vis., se llevó al Zeta-Sizer para obtener el tamaño de partícula y el índice de polidispersión.

4.5.3. Separación de las nanopartículas

Al término de la reacción la solución obtenida se centrifugó a 3000 rpm (centrifugadora UNICO®, modelo: C858) por un periodo de 30 minutos, separando el sobrenadante de las nanopartículas coloidales de plata, a la suspensión coloidal concentrada obtenida se le adicionaron 5 mL de agua destilada, repitiéndose el procedimiento una vez más. El sobrenadante y las nanopartículas coloidales se resguardaron en un recipiente cerrado y protegidos de la luz para su posterior caracterización.

4.5.4. Espectros IR

El extracto preparado como se indica en el apartado 4.2, el sobrenadante y la suspensión coloidal obtenidos en el apartado 4.5.3 se liofilizaron, para la obtención de los espectros infrarrojos correspondientes.

4.6. Determinación de Ag

Para cuantificar la Ag^+ que no reaccionó se tomó una alícuota de 20 mL del sobrenadante, producto de la separación. La solución se ajustó a un pH 3 con HNO_3 y se le agregó una cantidad suficiente de una solución de NaCl 0.01M para precipitar la Ag^+ que no reaccionó. Se separó el sólido resultante, se secó y se determinó el peso.

5. Resultados

5.1. Materia prima vegetal

Entre los ensayos de identidad propuestos por la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos, segunda edición (2013), está la descripción macroscópica. En la figura 8 se observan las hojas lanceoladas con bordes dentados suavemente redondeados, de base redondeada. La flor posee un cáliz ligeramente bilabiado característico de la familia Lamiaceae, de color morado. La planta presenta un aroma agradable especiado. Las hojas tienen un sabor ligero a anís.

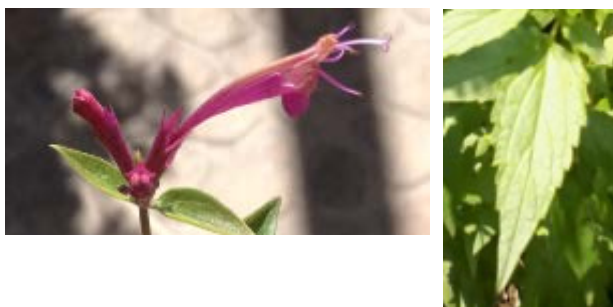


Figura 8 Flores y hojas de *Agastache mexicana* (toronjil morado) (Díaz M, 2019)

5.1.1. Identificación taxonómica

El Herbario Etnobotánico IZTA de la FES-Iztacala entregó un oficio de identidad botánica de la planta con los datos siguientes: Nombre común: toronjil morado cuyo nombre científico es *Agastache mexicana* (Kunth) Lint. & Epling. El espécimen vegetal se quedó bajo resguardo del herbario con el número de registro 3258 IZTA (Anexo 1).

5.2. Extracción

5.2.1. Características sensoriales

Líquido translúcido de color café claro (figura 9), con un aroma dulce anisado persistente hasta pasada una hora.



Figura 9 Extracto acuoso de *Agastache mexicana* (toronjil morado)

5.2.2. Análisis fitoquímico

Como parte de la caracterización química del extracto acuoso de las flores de toronjil morado se le realizaron una serie de pruebas cualitativas para identificar los grupos químicos presentes. En la tabla 9 se muestran los resultados obtenidos, entre los que destaca la presencia de lactonas, azúcares reductores, fenoles y aceites esenciales. Cabe señalar que la prueba de Dragendorff que se realiza para la identificación de alcaloides dio positiva, sin embargo, se realizaron otras pruebas para identificar este tipo de metabolito secundario, como la de Wagner y resultaron negativas. El reactivo de Dragendorff no es específico para los alcaloides, sino que también pueden reaccionar con péptidos, betaínas, cumarinas y algunos polifenoles; por lo que el resultado positivo, se puede atribuir a la presencia de este tipo de compuestos (Domínguez, 1988).

Los resultados obtenidos son consistentes con lo reportado por Estrada Reyes y Cols. (2004), flavonoides, polifenoles, glucosa, fructuosa, disacáridos de sacarosa, ramnosa y taninos. En cuanto a los aceites esenciales, éstos tienen una amplia distribución en la familia Lamiaceae y en específico en *Agastache mexicana* (Jaramillo, 2018).

Tabla 7 Resultados obtenidos del análisis fitoquímico

Prueba realizada	Metabolito identificado	Resultado
Baljet	Agrupamientos lactónicos	++
Mucilago	Mucilagos	-
Börntrager	Quinonas	-
Lieberman	Terpenos y/o esteroides	-
Dragendorff	Alcaloides	+++
Wagner	Alcaloides	-
Shinoda	Flavonoides	+++
Fehling	Azucares reductores	+++
Cloruro férrico	Fenoles y/o taninos	+++
Sudán	Aceites esenciales	+++
Guignard	Glicósidos Cianogénicos	-

Nota: Los resultados se registraron como (+++) abundante; (++) moderado; (+) escaso; (+/-) dudoso y (-) negativo (Domínguez, 1988).

5.2.3. Espectroscopia UV-Vis

En la figura 10 se muestra el espectro de absorción UV-Vis del extracto acuoso del toronjil morado en el que se puede observar, de manera general, que están presentes grupos cromóforos. De los grupos detectados en las pruebas a la gota podrían ser los flavonoides, taninos o fenólicos en general.

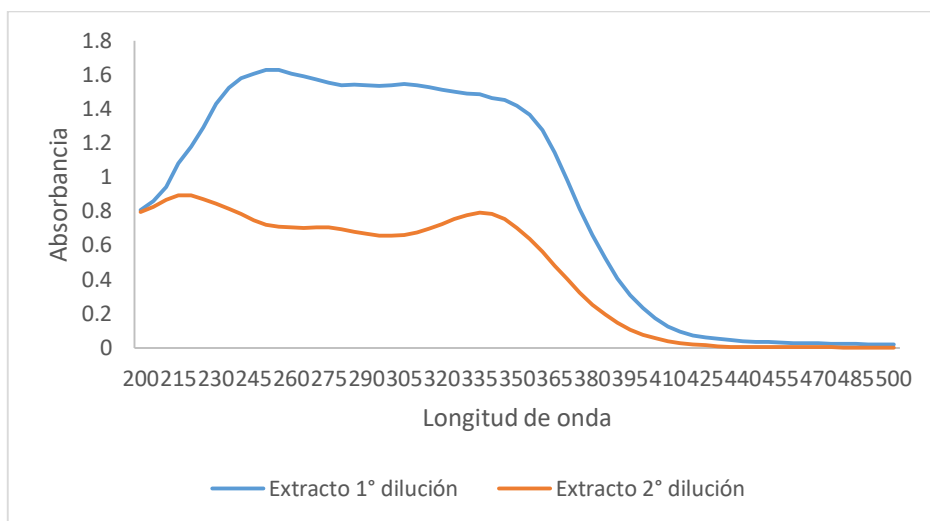


Figura 10 Espectro de absorción UV-Vis del extracto acuoso de *A. mexicana*

5.2.4. Espectroscopia Infrarroja

En la figura 11 se muestra el espectro infrarrojo del extracto acuoso liofilizado con las bandas asignadas a los grupos funcionales. En la tabla 8 se especifican los grupos funcionales identificados en el extracto, congruentes con los grupos químicos identificados en el análisis fitoquímico y los datos bibliográficos, es decir, lactonas, azúcares reductores, fenoles, aceites esenciales y péptidos.

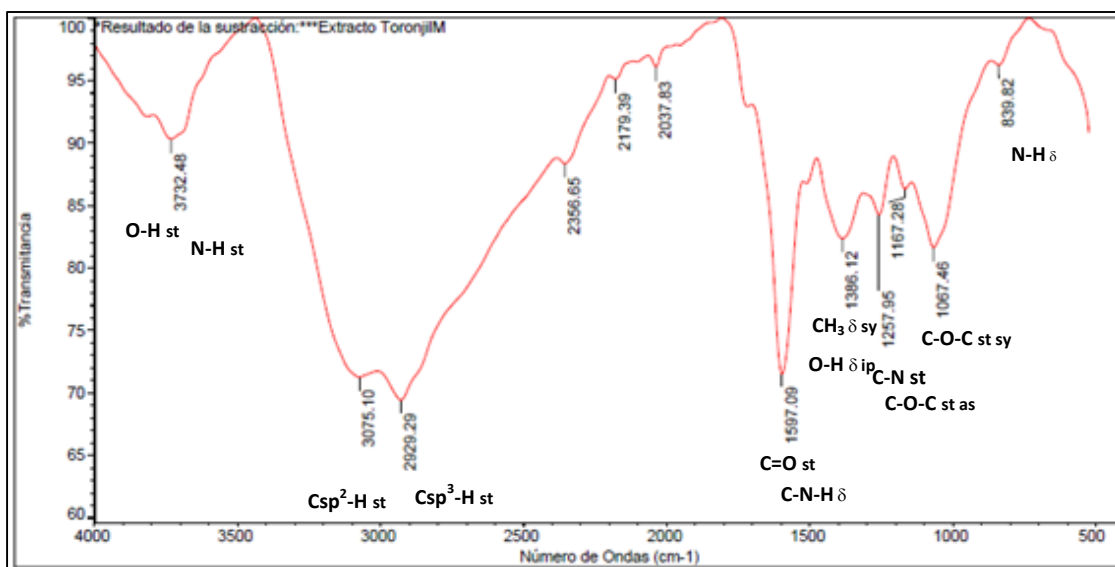


Figura 11 Espectro infrarrojo del extracto acuoso de *A. mexicana*

La banda perteneciente al grupo funcional O-H se puede asignar a los carbohidratos (la prueba de Fehling resultó positiva), fenólicos y flavonoides. La banda de N-H se

puede asignar a péptidos que pudiesen estar presentes, recordar que solo se realizó la reacción de Dragendorff y debido a que el resto de las pruebas para alcaloides no dio positiva, se puede presumir que la reacción fue un falso positivo, sería recomendable realizar la prueba de ninhidrina (dicha prueba no se realizó por falta de reactivo) para afirmar esta hipótesis. Cabe señalar que la banda ancha de intensidad débil entre 3400 y 3800 se está asignando a O-H y N-H debido a una superposición de ambas en las frecuencias de estiramiento N-H y O-H, de modo que a veces es imposible una diferenciación irrefutable, considerando que el espectro infrarrojo corresponde a una mezcla. En el espectro infrarrojo se presentan muchas evidencias de enlaces peptídicos, se observa una banda de intensidad débil que se puede asignar a Amida I alrededor de 1655 cm^{-1} (en el espectro no se marcó su frecuencia), posteriormente la banda de 1597.09 cm^{-1} asignada a amida II que prácticamente están sobrepuestas. Ahora debido a la naturaleza del extracto (mezcla) y a la intensidad de la banda también se puede asignar a carbonilos de flavonoides o de azúcares reductores.

Tabla 8 Frecuencias identificadas en el espectro IR del extracto acuoso de Agastache mexicana

Grupo funcional identificado	Frecuencia experimental (cm ⁻¹)	Frecuencia tablas (cm ⁻¹)	Tipo de vibración
O-H	3732.48	3700-3584 ¹	st (estiramiento)
N-H	3732.48	3500-3300 ²	st (estiramiento)
C _{arom} -H	3075.10	3100-3000 ¹	st (estiramiento)
C _{sp³} -H	2929.29	3000-2840 ¹	st (estiramiento)
C=O	1597.09	1870-1540 ¹	st (estiramiento)
C-N-H	1597.09	1650-1580	δ (flexión)
CH ₃	1386.12	1395-1365 ²	δ sy (flexión simétrica)
O-H	1386.12	1450-1200 ²	δ ip (flexión en el plano)
C-N	1257.95	1400-1000 ²	st (estiramiento)
C-O-C	1257.95	1310-1000 ²	st as (estiramiento asimétrico)
C-O-C	1067.46	1075-1020 ²	st sy (estiramiento simétrico)
arC-O-aIC			
N-H	839.82	850-700 ²	δ (flexión)

Nota: Frecuencias obtenidas de Silverstein, Webster y Kiemle (2005)¹; Pretsch, Bühlmann y Badertscher (2009)²

5.3. Síntesis de nanopartículas de plata

Se realizó un ensayo preliminar que consistió en preparar un extracto, variando el órgano vegetal: flores y hojas.

Los extractos se prepararon de acuerdo con la metodología de extracción. Se tomaron alícuotas de 3 mL y se pusieron a reaccionar con 10 mL de nitrato de plata 1 mM. Ambos sistemas reaccionaron, sin embargo, el sistema preparado con las hojas se aglomeraba rápidamente por lo que se decidió trabajar con las flores.

5.3.1. Relación peso de material vegetal-concentración de plata

Los resultados obtenidos de los sistemas preparados con una relación peso de materia vegetal (PV)-concentración de nitrato de plata [Ag] se muestran en la tabla 9.

Tabla 9 Resultados sistemas relación PV-[Ag]

Sistema	Observaciones
3A	Solución turbia de color amarillo con precipitado negro
3B	Solución anaranjada-roja con precipitado negro
3C	Solución translúcida de color amarillo y precipitado negro
5A	Solución de color amarillo con precipitado negro que apareció después de 26 h
5B	Solución de color amarillo con precipitado negro que apareció después de 26 h
5C	Solución de color amarillo con precipitado negro que apareció después de 26 h
7A	Solución turbia de color amarillo con precipitado negro
7B	Solución de color amarillo con precipitado negro
7C	Solución incolora con precipitado negro

Los sistemas 5A, 5B y 5C, de acuerdo con los resultados obtenidos, fueron los que se mantuvieron dispersos durante más tiempo (26 h) por lo que se seleccionó la concentración 5 mM de nitrato de plata, sin embargo, con estos resultados no se podía precisar el peso de la droga vegetal y por tanto se debía optimizar.

5.3.2. Concentración y volumen de extracto

Para obtener la cantidad de materia prima vegetal se decidió ensayar con cantidades menores para controlar la aglomeración y se probó con la siguiente preparación: 0.1 g de materia prima vegetal, se adicionan 40 mL de agua destilada a 90°C, después de separar el extracto del marco se llevó a un volumen de aforo de 100 mL para posteriormente tomar una alícuota de 3 mL y aforarla a 10 mL. Esta preparación del extracto se mantuvo durante toda la experimentación y se ensayaron diferentes volúmenes de esta preparación. El volumen de nitrato de plata 5 mM se conservó en 10 mL.

Tabla 10 Resultados variación del volumen del extracto

No. Sistema	Vol. Extracto (mL)	Vol. AgNO ₃ (mL)	Tamaño (nm)	PDI	TE (h)
1	5	10	108.1	0.318	20
2	7.5	10	101.8	0.106	25
3	10	10	63.60	0.203	28

Nota: PDI: Índice de polidispersidad, TE: tiempo de estabilización, tiempo en el cual las nanopartículas permanecen dispersas.

Para analizar los resultados obtenidos presentados en la tabla 10, primero se debe especificar que las nanopartículas deben tener un tamaño menor a 100 nm y el índice de polidispersidad debe ser menor a 1, es decir, lo más bajo posible. En base a esto, los sistemas 2 y 3 son los que más se aproximan a estas condiciones.

Observando los espectros de absorción UV-Vis de los sistemas se puede considerar lo siguiente: El sistema 1 preparado con 5 mL de extracto no presenta la banda de plasmón de superficie alrededor de los 450 nm, indicativa de la formación de las nanopartículas de plata, solo se observa la banda ancha del extracto y entre 410-470 nm se ve una deformación, que indica que apenas las nanopartículas de plata

se están formando pero no hay una cantidad considerable como para que la banda se defina, por lo que este sistema se descartó. En los sistemas 2 y 3 se observa que la absorbancia de la banda correspondiente al extracto ha disminuido, denotando que los compuestos cromóforos responsables de esta absorción están reaccionando para reducir la Ag^{+1} a Ag^0 . También se distingue que en estos sistemas está muy clara la banda alrededor de los 450 nm indicativa de la presencia de las nanopartículas de plata, no obstante, el sistema con 10 mL es el que presentó la mayor absorbancia. Por lo que reuniendo los datos de tamaño de partícula (63.6 nm), índice de polidispersidad (0.203), banda de plasmón de superficie (435 nm) y absorbancia (1.4117) el sistema con 10 mL de extracto fue el seleccionado.

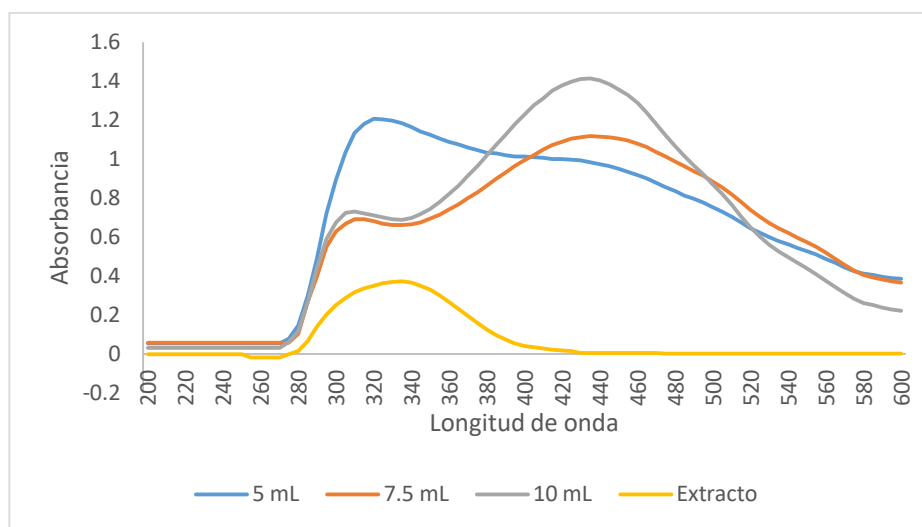


Figura 12 Espectros de absorción UV-Vis de los sistemas con variación del volumen de extracto

5.3.3. Variación del pH

Con las condiciones previamente establecidas se consideró variar el pH, ya que un pH alcalino favorece la oxidación de compuestos fenólicos y por tanto la reducción del ion Ag^{+1} , además de ser un factor importante para la formación de las nanopartículas (Siddiqui, Al-Whaibi, & Mohammad, 2015). Los extractos se ajustaron con hidróxido de sodio 0.1 M a pH's de 10, 11 y 12, obteniéndose los resultados que se muestran en la tabla 11.

Tabla 11 Resultados de la variación del pH

No. sistema	pH	Observaciones
1	10	Líquido color café claro y precipitado café
2	11	Líquido color blanco/turbio con precipitado café
3	12	Líquido de color café y precipitado café.

Como se nota en la tabla 11 todos los sistemas presentaron la aparición inmediata de un precipitado de color café es indicativa de la aglomeración de las nanopartículas. Jorge y cols (2012) proponen un mecanismo para la síntesis de nanopartículas de plata, que consta de cuatro pasos: Reducción del catión plata, coalescencia de los núcleos metálicos para la formación de un clúster que dan por resultado la formación de partículas metaestables con un alto índice de polidispersidad y por último otro paso de coalescencia para formar las nanopartículas finales.

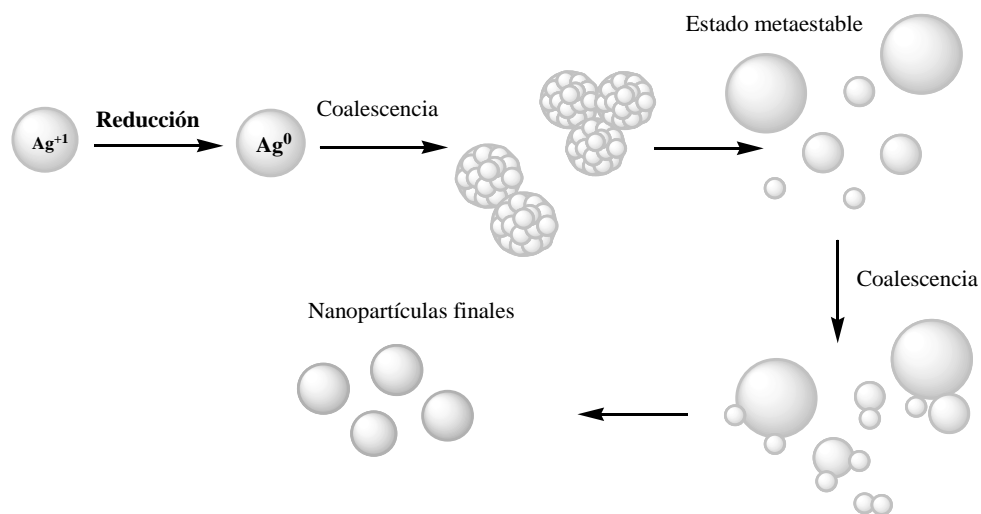


Figura 13 Mecanismo de formación de nanopartículas de plata

Nota: Adaptado de Jorge y cols. (2012)

La razón por la que las nanopartículas no se mantuvieron dispersas podría ser porque la velocidad de formación de las nanopartículas fue tan rápida que no dio tiempo para que los componentes del extracto pudiesen estabilizar a la nanopartícula y mantenerla dispersa, es decir el sistema tendió al equilibrio

termodinámico y éste se estableció cuando las nanopartículas se agregaron. Otra razón podría ser que con el aumento de pH hay un incremento en la fuerza iónica, pero el tipo de iones y la concentración no alcanzó a estabilizar por fuerzas electrostáticas, iones con la misma carga para que hubiese una repulsión entre las partículas y así evitar su agregación.

Se hicieron ensayos cambiando de base por citrato de sodio 1 mM, se adicionó a un sistema 2 mL y resultaron las nanopartículas estables por un tiempo mayor (3h más) que cuando se usó hidróxido de sodio, por lo que se decidió seguir utilizando los 2 mL de citrato de sodio durante el resto del desarrollo experimental. No obstante, se deberá considerar en investigaciones posteriores en probar con diferentes volúmenes y concentraciones de citrato de sodio.

5.3.4. Variación de temperatura

Con las condiciones previamente establecidas se varió la temperatura en un intervalo de 10-70°C. Los resultados se muestran en la tabla 12 y los espectros de absorción UV-Vis en la figura 14.

Tabla 12 Resultados de la variación de la temperatura

No. Sistema	Temperatura °C	Tamaño (nm)	PDI
1	10	115.5	0.118
2	25	92.96	0.325
3	30	49.49	0.303
4	50	118.5	0.418
5	70	52.36	0.459

Nota: PDI: Índice de polidispersidad

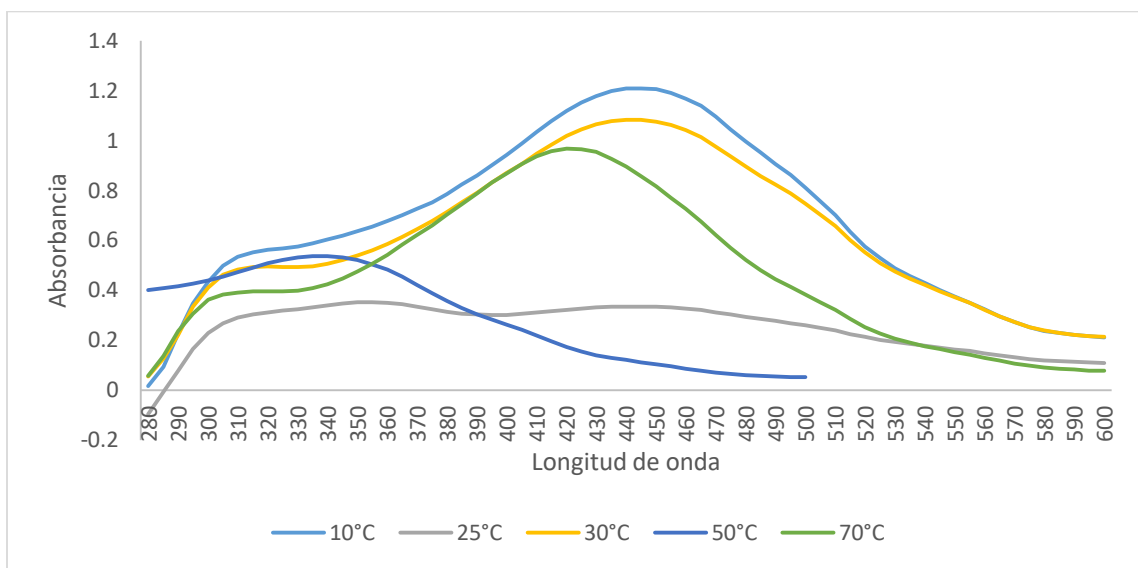


Figura 14 Espectros de absorción UV-Vis de los sistemas preparados con diferentes temperaturas

Para realizar el análisis de la variación de temperatura se considerarán tanto la información de la tabla 12 como los espectros mostrados en la figura 14. En la tabla 13 se muestran los resultados relevantes de la combinación de la información obtenida. Todos los resultados obtenidos muestran, que la síntesis tiene una clara dependencia de la temperatura, sin embargo, no se puede establecer si temperaturas menores producen un menor tamaño de partícula ya que la temperatura de 70°C también dio un buen resultado. Lo que sí se puede resaltar es que una variación entre 20 y 30°C no influye en la polidispersidad, pero sí en el tamaño y que las nanopartículas de menor tamaño presentan una longitud de onda menor, aunque en la cantidad de nanopartículas formadas hay una diferencia considerable. Los sistemas 1 a 10°C y 5 a 70°C se deben considerar para futuras investigaciones, variando otros parámetros para controlar el tamaño de partícula. Si solo nos basamos en la especificación del tamaño que debe ser menor a 100 nm, el sistema 3 a 30°C dio el mejor resultado, combinado con una polidispersidad razonable, una excelente longitud de onda y absorbancia de la banda de plasmón de superficie.

Tabla 13 Relación respuestas obtenidas con la variación de temperatura

No. Sistema/T°C	Tamaño nm	PDI	λ máx.	absorbancia
1/10	115.5	0.118	445	1.2086
2/20	92.96	0.325	450	0.3341
3/30	49.49	0.303	445	1.082
4/50	118.5	0.418	-	-
5/70	52.36	0.459	420	0.9683

5.3.5. Variación del tiempo de reacción

Sumando el factor temperatura a las condiciones previamente establecidas, ahora se presentan los resultados de la variación del tiempo. En la tabla 14 se presentan los resultados obtenidos y en la figura 15 los espectros de absorción obtenidos.

Tabla 14 Variación del tiempo de reacción

Sistema	Tiempo (min.)	Tamaño (nm)	PDI
1	5	170.2	0.288
2	62.5	101.8	0.213
3	120	40.30	0.106

Los resultados obtenidos son muy claros en cuanto a la dependencia del tiempo. A mayor tiempo menor tamaño de partícula y menor polidispersidad. Una longitud de onda menor presenta un tamaño de partícula menor y una banda de plasmón muy bien definida, en el lapso probado. Los resultados obtenidos concuerdan con el mecanismo de Jörge y cols. (2012) presentado en la figura 13, en el que se observa que después de las fases de coalescencia se obtiene un sistema con una polidispersidad menor. Sin embargo, sabemos que los coloides son sistemas dinámicos y que tienden a la estabilidad termodinámica.

Tabla 15 Relación de respuestas obtenidas con la variación del tiempo

No. Sistema/min	Tamaño nm	PDI	λ máx.	absorbancia
1/5	170.2	0.288	440	1.003
2/60	101.8	0.213	450	1.1224
3/120	40.3	0.106	430	1.2464

Hasta este punto de la investigación se puede concluir que las condiciones más favorables de síntesis son: 10 mL de extracto de *A. mexicana* (preparado como en el apartado 5.3.2), 10 mL de nitrato de plata 5 mM, 2 mL de citrato de sodio 1mM, temperatura de 30°C, y tiempo de reacción de 120 minutos. Se prepararon tres sistemas con estas condiciones, sin embargo, éstos se agregaron formándose un precipitado de color café, por lo que se procedió a probar con estabilizantes.

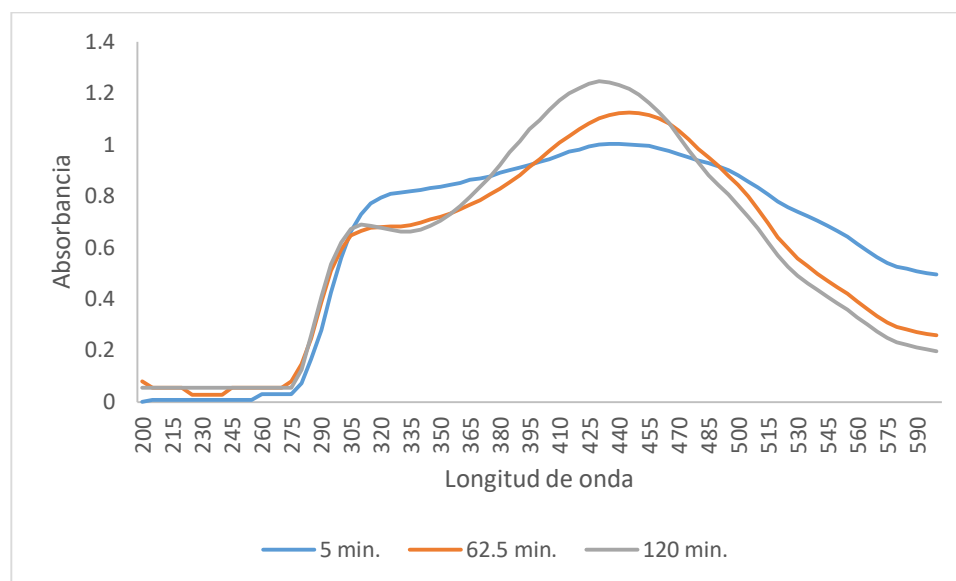


Figura 15 Espectros de absorción UV-Vis resultantes de la variación del tiempo

5.4. Estabilización

Los estabilizantes probados fueron: L-cisteína, polietilenglicol (PEG) y polivinilpirrolidona (PVP).

Con las condiciones preestablecidas en el apartado 5.3.5 se prepararon sistemas con los tres estabilizantes a una concentración 1 mM y variando el volumen adicionado. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 16.

Tabla 16 Resultados de los sistemas probados con variación del estabilizante

Sistema-Estabilizante	VE [1 mM] (μ L)	Tamaño (nm)	PDI
1-C	10	59.33	0.463
2-C	30	62.95	0.472
1-PEG	10	51.79	0.505
2-PEG	100	62.89	0.617
1-PVP	10	78.66	0.478
2-PVP	100	61.14	0.471

Nota: C: L-Cisteína; PEG: Polietilenglicol 400; PVP: Polivinilpirrolidona; VE: volumen de estabilizante

El análisis de los resultados se presenta de acuerdo con la estrategia que se siguió para su selección.

Primero se obtuvieron los resultados utilizando un mismo volumen de cada estabilizante, resultados en color gris, y se obtuvieron los espectros de absorción UV-Vis, mostrados en la figura 16.

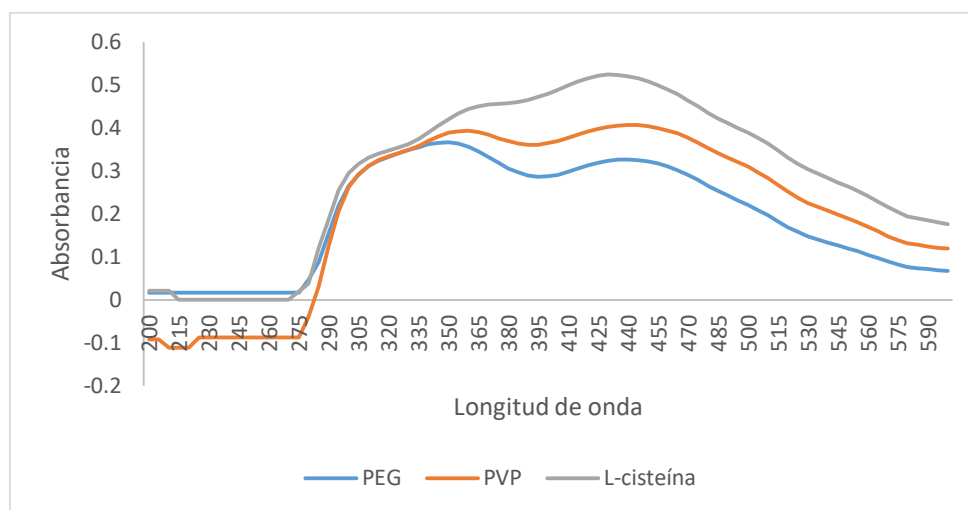


Figura 16 Espectros de absorción UV-Vis utilizando diferentes estabilizantes

Tabla 17 Relación de resultados obtenidos con diferentes estabilizantes

Estabilizante	Tamaño nm	PDI	λ máx.	Absorbancia	Tiempo h
Cisteína	59.33	0.463	430	0.5242	73
PEG	51.79	0.505	440	0.3265	168
PVP	78.66	0.478	440	0.4065	73

Basados en los espectros y en los datos presentados en la tabla 17, el tamaño menor de la nanopartícula y el tiempo que permaneció el sistema disperso, el mejor candidato es el polietilenglicol 400. Sin embargo, la absorbancia obtenida es la menor. Para obtener una respuesta del porqué la absorbancia de los otros dos estabilizantes era mayor, se prepararon sistemas a los que se denominó como blanco. Estos sistemas se prepararon con las condiciones descritas anteriormente, pero en vez de adicionar el extracto (agente reductor) se utilizó agua. En los sistemas con cisteína y PVP se presentó cambio de color, lo que significa que éstos poseen capacidad reductora y pueden contribuir a la absorbancia observada, por lo que se seleccionó al polietilenglicol. Aun así, se pretendió corroborar los resultados adicionando un mayor volumen de cada estabilizante, pero como se muestra en la tabla 17 el tamaño de partícula aumentó, seleccionando así el PEG-400.

5.5. Espectroscopía infrarroja

El resultado de las variaciones descritas en los apartados anteriormente explicados permitió establecer las condiciones para la síntesis de nanopartículas de plata del extracto acuoso de *Agastache mexicana* por el método coloidal. Las condiciones fueron: 10 mL de extracto de *A. mexicana* (preparado como en el apartado 5.3.2), 10 mL de nitrato de plata 5 mM, 2 mL de citrato de sodio 1 mM, temperatura de 30°C, tiempo de reacción de 120 minutos y 10 μ L de una solución de PEG-400 1 mM. Se prepararon las nanopartículas con estas condiciones y se separaron por centrifugación durante 30 minutos a 3000 rpm.

Por separado se liofilizó el extracto acuoso de la planta, el sobrenadante y la suspensión coloidal separada y se obtuvieron los espectros de la región de infrarrojo

medio. En las figuras 17-20 se presentan los espectros con la asignación de los grupos funcionales de acuerdo con sus frecuencias.

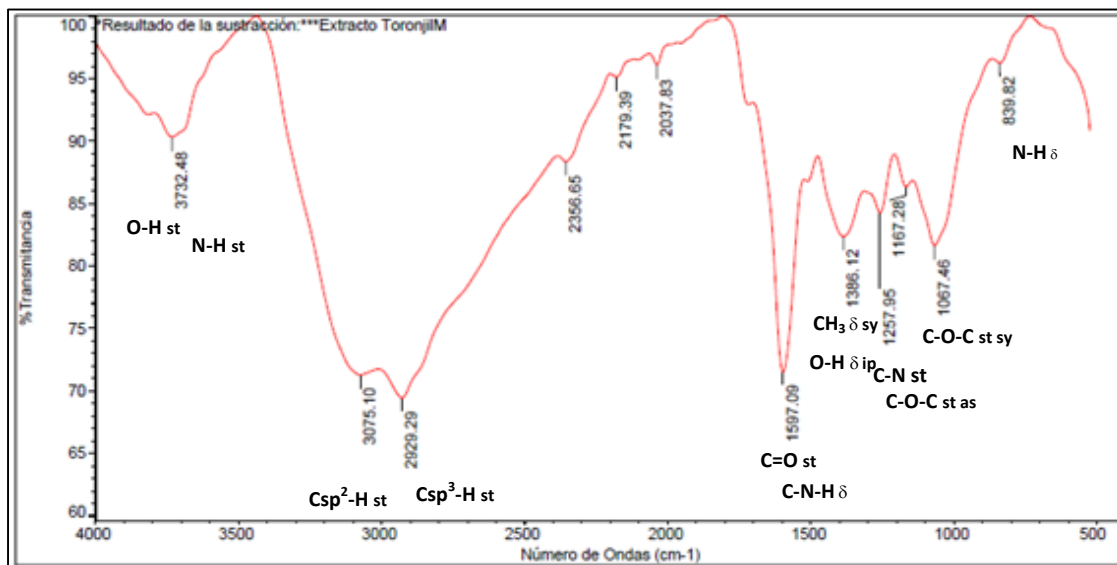


Figura 17 Espectro infrarrojo del extracto acuoso de *A. mexicana*

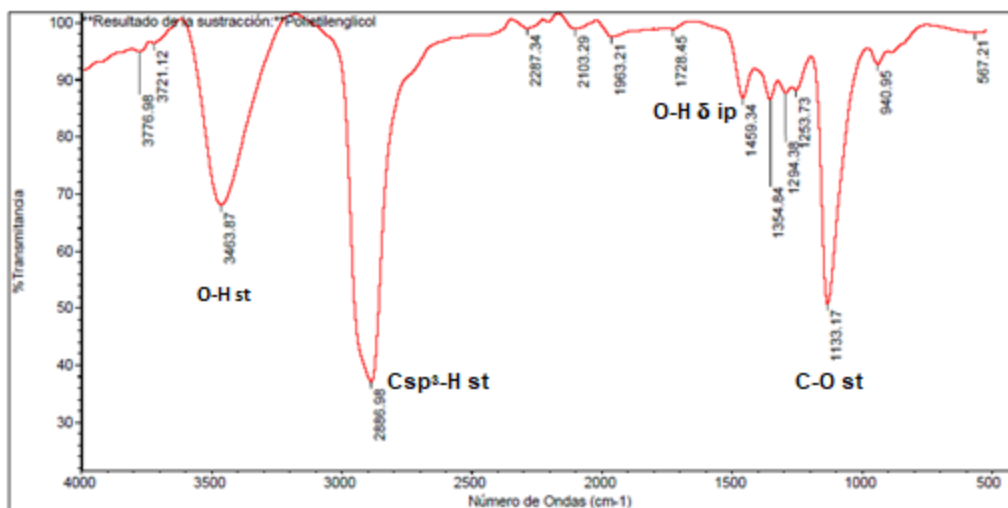


Figura 18 Espectro IR del PEG-400

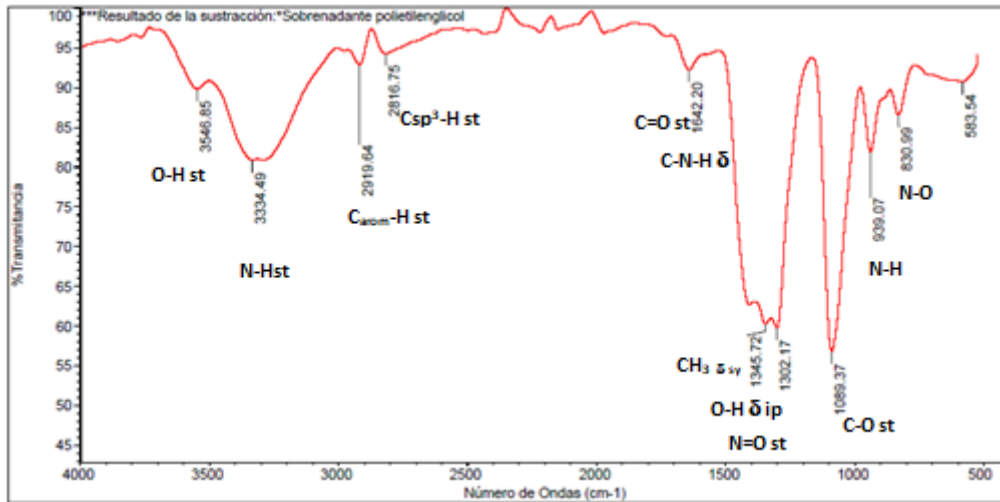


Figura 19 Espectro IR del sobrenadante con polietilenglicol

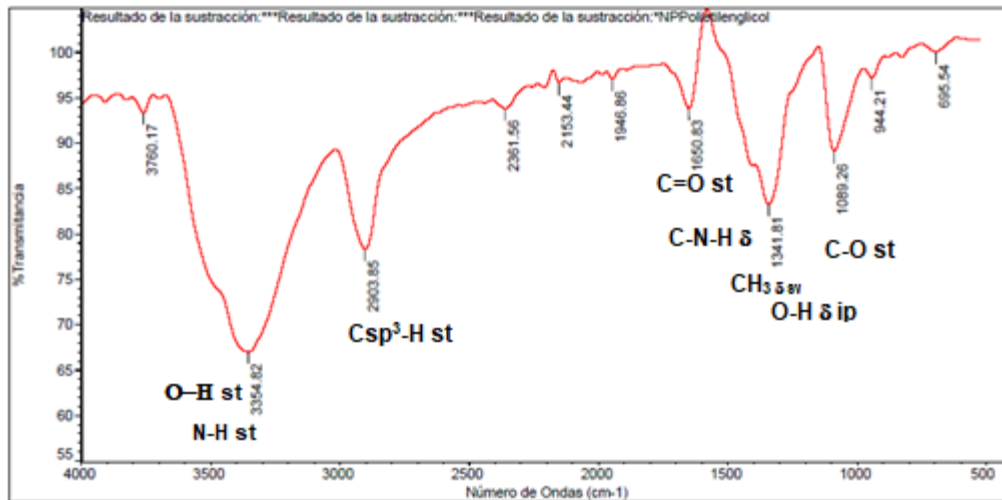


Figura 20 Espectro IR de las nanopartículas de plata

En la tabla 18 se presenta una relación de los grupos funcionales identificados en base a la frecuencia experimental obtenida de cada uno de los espectros IR. Primeramente, se observa que las bandas asignadas a los grupos funcionales presentes en el extracto también se encuentran en el sobrenadante, solo que con menor intensidad. La banda en 1345.72 y 1302.17 del espectro del sobrenadante es más ancha e intensa que en el extracto y esto se debe a la presencia del nitrato. Además, se nota que los números de onda en el espectro del sobrenadante están desplazados hacia frecuencias más bajas, probablemente debido a la interacción

con el catión Ag^+ . Si comparamos ahora los espectros del extracto y de las nanopartículas se observa que en ambos están los mismos grupos funcionales, la diferencia es que la intensidad de las bandas es menor; en el espectro de las nanopartículas de plata que en el extracto. Esto significa que muchos de los compuestos presentes en el extracto se encuentran en la nanopartícula. La presencia de la plata se puede observar por el desplazamiento de las bandas de los grupos funcionales hacia frecuencias más bajas. Hay que notar la banda en 1341.81 que es más intensa en las nanopartículas que en el extracto debido a la interacción con el polietilenglicol.

Tabla 18 Relación de frecuencias de las bandas presentes en los espectros IR

Grupo funcional identificado	Frecuencia tablas (cm^{-1})	Frecuencia experimental extracto (cm^{-1})	Frecuencia experimental sobrenadante (cm^{-1})	Frecuencia NP's Ag coloidales (cm^{-1})	Frecuencia experimental PEG-400 (cm^{-1})
O-H	3700-3584 ¹	3732.48	3548.85	3354.2	3463.87
N-H	3500-3300 ²	3732.48	3334.49	3354.2	NP
C _{arom} -H	3100-3000 ¹	3075.10	2919.64	Superpuesto	NP
Csp ³ -H	3000-2840 ¹	2929.29	2816.75	2903.85	2886.98
C=O	1870-1540 ¹	1597.09	1642.20	1650.83	NP
C-N-H	1650-1580	1597.09	1642.20	1650.83	NP
CH ₃	1395-1365 ²	1386.12	1345.72	1341.81	NP
N=O	1389-1259 ¹	NP	1345.72	1341.81	NP
O-H	1450-1200 ²	1386.12	1345.72	1341.81	1459.34
C-N	1400-1000 ²	1257.95	1302.17	Superpuesto	NP
C-O-C	1310-1000 ²	1257.95	1302.17	Superpuesto	NP
C-O	1260-970 ²	1067.46	1089.37	1089.26	1133.17
C-O-C	1075-1020 ²	1067.46	939.07	1089.26	NP
N-H	850-700 ²	839.82	830.99	944.21	NP

Nota: Frecuencias obtenidas de Silverstein, Webster y Kiemle (2005)¹; Pretsch, Bühlmann y Badertscher (2009)²

NP: No presente

5.6. Cuantificación de plata Ag^{+1} en el sobrenadante

La cuantificación de Ag^{+1} se realizó por gravimetría, precipitando la plata del sobrenadante como cloruro de plata, con la adición de una solución de cloruro de sodio 0.01 M y ajustando a pH 3 con ácido nítrico. El sólido resultante fue un polvo fino de color café oscuro. En la figura 21 se muestra una imagen del sólido obtenido.



Figura 21 Precipitado del complejo de plata

El ensayo se realizó por triplicado obteniendo un promedio de 28.85% de plata que no reaccionó.

6. Conclusiones

La especie vegetal utilizada en este proyecto fue identificada como *Agastache mexicana* (Kunth) Lint. & Epling (toronjil morado).

El extracto acuoso de las flores de *Agastache mexicana* presenta proteínas, flavonoides, azúcares reductores y fenoles.

Las nanopartículas sintetizadas con el extracto acuoso de las flores de *Agastache mexicana* presentan una mejor estabilidad que las sintetizadas con el extracto acuoso de las hojas de *Agastache mexicana*.

Las condiciones óptimas de síntesis de nanopartículas de plata utilizando el extracto acuoso de las flores de *Agastache mexicana* son: 10 mL del extracto acuoso, 10 mL de nitrato de plata 5 mM, 10 μ L de polietilenglicol 400, 2 mL de citrato de sodio 1 mM, a una temperatura de 30 °C y un tiempo de reacción de 2 h.

Las nanopartículas obtenidas con estas condiciones poseen un tamaño de 51.79 nm.

La cantidad de plata que reacciona con dichas condiciones de reacción es del 28.85%.

7 Prospectivas

En este trabajo no se realizaron los experimentos para la aplicación por lo cual es recomendable que se realice una investigación practica para ver si las nanopartículas obtenidas con las condiciones de síntesis ya mencionadas poseen una actividad antimicrobiana, que es lo que se espera.

8 Anexos

8.1 Anexo A: Carta de identificación de la materia vegetal




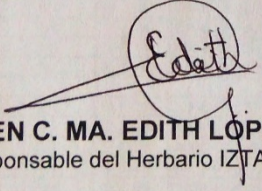

	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA HERBARIO IZTACALA										
FESI/HI/045/2018											
 C. MARAHI CITLALLI DÍAZ ESCOBAR Alumna de la Licenciatura en Química Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM Presente											
<p>Por este conducto me permito proporcionar a usted, la identificación taxonómica del material botánico como respaldo del proyecto de investigación “Síntesis de Nanopartículas de plata a partir del extracto acuoso de toronjil morado <i>Agastache mexicana</i> (Kunth) Lint & Epling (Lamiaceae)”, que se realiza en el Laboratorio de Farmacognosia de esa facultad, bajo la dirección de la Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enríquez.</p>											
<p>Asimismo, le informo que la planta ha sido integrada en la Colección Etnobotánica del Herbario Iztacala, con el siguiente número de registro:</p>											
<table border="1"><thead><tr><th>Nombre Científico</th><th>Familia Botánica</th><th>Nombre Popular</th><th>No. de Registro</th></tr></thead><tbody><tr><td><i>Agastache mexicana</i> (Kunth) Lint & Epling</td><td>LAMIACEAE</td><td>“Toronjil morado”</td><td>3258 IZTA</td></tr></tbody></table>				Nombre Científico	Familia Botánica	Nombre Popular	No. de Registro	<i>Agastache mexicana</i> (Kunth) Lint & Epling	LAMIACEAE	“Toronjil morado”	3258 IZTA
Nombre Científico	Familia Botánica	Nombre Popular	No. de Registro								
<i>Agastache mexicana</i> (Kunth) Lint & Epling	LAMIACEAE	“Toronjil morado”	3258 IZTA								
<p>Sin otro particular, le envío un cordial saludo.</p>											
<p>Atentamente “POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU” Los Reyes Iztacala, Estado de México, 7 de noviembre 2018</p>											
 M. EN C. MA. EDITH LÓPEZ VILLAFRANCO Responsable del Herbario IZTA											
<small>Av. De los Barrios No. 1, Los Reyes Iztacala, Tlaxtepanilla, Estado de México, C.P. 54090. A. P. 314. Tel/Fax: 5623-1378. herbario_izta@campus.iztacala.unam.mx</small>											



Figura 22 Ejemplar resguardado en el herbario IZTA

8.2 Anexo B: Pruebas fitoquímicas

8.2.1 Pruebas para alcaloides

a. Preparación del reactivo Dragendorff

Disolver 8g de nitrato de bismuto pentahidratado con 20 mL de ácido nítrico (30%) en un matraz Erlenmeyer de 125 mL. En otro matraz Erlenmeyer, coloque 27.2 g de ioduro de potasio con 50 mL de agua. Mezclar las soluciones y dejar reposar 24 h. Decantar la solución y aforar a 100 mL con agua destilada.

b. Detección

- Colocar una porción del extracto concentrado en un tubo de ensaye y adicionar 2 mL de ácido clorhídrico al 10% acuoso, filtrar y agregar una gota del reactivo. Se considera positiva si se produce un precipitado de color anaranjado-marrón

a. Preparación del reactivo de Wagner.

Disolver 1.27g de yodo (resublimado) y 2 gotas de yoduro de potasio en 20 mL de agua destilada, aforar la solución a 100 mL con agua destilada.

b. Detección.

- Colocar una porción del extracto concentrado en un tubo de ensaye y adicionar 2 mL de ácido clorhídrico al 10% acuoso, filtrar y agregar una gota del reactivo. Se considera positiva si se produce un precipitado de color marrón.

8.2.2 Pruebas para carbohidratos reductores

Prueba de Fehling.

a. Preparación del reactivo de Fehling

La solución A consiste en 3.5g de sulfato de cobre pentahidratado disueltos en 50 mL con agua destilada. La solución B se prepara disolviendo 17.5g de tartrato de sodio y potasio más 5g de hidróxido de sodio, en 50 mL con agua destilada.

b. Detección

- 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. Calentar durante 15 minutos. La aparición de un color o precipitado rojo indica la presencia de azúcares reductores.

8.2.3 Prueba para taninos

a. Preparación del cloruro férrico

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

b. Detección

- 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.

8.2.4 Prueba para flavonoides (Shinoda)

a. Detección.

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

8.2.5 Prueba para glucósidos cianogénicos

a. Preparación del reactivo de Guignard

Disolver 1g de carbonato de sodio y 100 mg de ácido pícrico y aforar a 100 mL con agua destilada.

b. Detección

- Se coloca una tira 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. Calentar a 30-35°C y ver la coloración que aparece en el papel. Colores del rojo al rosa son considerados como positivos.

8.2.6 Prueba para lactonas sesquiterpénicas (Baljet)

a. Preparación del reactivo de Baljet

Para la solución A se disuelve 1g de ácido pícrico en 100 mL de etanol. Para la solución B se preparó, disolviendo 10g de hidróxido de sodio y llevándolos a la marca de aforo de 100 mL con agua destilada.

b. Detección

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

8.3 Anexo C: Cálculos para la preparación de las soluciones a utilizar en la síntesis

AgNO₃ 5mM.

$$\text{AgNO}_3 0.1L 5mM \left(\frac{1M}{1000mM} \right) \left(\frac{169.8g \text{ AgNO}_3 \text{ RP}}{1 \text{ mol AgNO}_3} \right) \left(\frac{100g \text{ RA}}{99.8g \text{ RP}} \right) \\ = 0.08507g \text{ AgNO}_3 \text{ RA.}$$

Citrato de sodio (Na₃C₆H₅O₇)

$$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 1mM \left(\frac{1M}{1000mM} \right) \left(\frac{294.10g}{1 \text{ mol}} \right) \left(\frac{0.025L}{1} \right) = 0.0074g \text{ Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \text{ RA.}$$

Cisteína (C₃H₇NO₂S).

$$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S} 1mM \left(\frac{1M}{1000mM} \right) \left(\frac{121.16g}{1 \text{ mol}} \right) \left(\frac{0.025L}{1} \right) = 0.0024g \text{ C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S} \text{ RA.}$$

PVP.

$$\text{PVP} 1mM \left(\frac{1M}{1000mM} \right) \left(\frac{1285.8380g}{1 \text{ mol}} \right) \left(\frac{0.01L}{1} \right) = 0.01285g \text{ PVP} \text{ RA.}$$

Polietilenglicol

Este reactivo se utilizó tal cual ya que se encuentra en solución.

8.4 Anexo D: Cálculos Estequiométricos, plata que no reaccionó

Tabla 19 Datos de plata que no reacciono

Prueba	Peso del papel (g)	Peso del papel + precipitado (g)	Peso del precipitado (g)
1	2.5752	2.5938	0.0186
2	2.6514	2.6733	0.0219
3	2.5856	2.6072	0.0216

Prueba 1.

$$0.0186g \text{ AgCl} \left(\frac{1 \text{ mol AgCl}}{143.3207g \text{ AgCl}} \right) \left(\frac{1 \text{ mol Ag}}{1 \text{ mol AgCl}} \right) \left(\frac{107.868g \text{ Ag}}{1 \text{ mol Ag}} \right) = 0.013998988g \text{ Ag}.$$

$$0.013998988g \text{ Ag} \left(\frac{1 \text{ mol Ag}}{107.868g \text{ Ag}} \right) \left(\frac{1 \text{ mol AgNO}_3}{1 \text{ mol Ag}} \right) \left(\frac{169.8729g \text{ AgNO}_3}{1 \text{ mol AgNO}_3} \right) \\ = 0.022045914g \text{ AgNO}_3$$

$$0.022045914g \left(\frac{100}{0.085} \right) = 25.93\%.$$

Prueba 2.

$$0.0219g \text{ AgCl} \left(\frac{1 \text{ mol AgCl}}{143.3207g \text{ AgCl}} \right) \left(\frac{1 \text{ mol Ag}}{1 \text{ mol AgCl}} \right) \left(\frac{107.868g \text{ Ag}}{1 \text{ mol Ag}} \right) = 0.016482679g \text{ Ag}.$$

$$0.016482679g \text{ Ag} \left(\frac{1 \text{ mol Ag}}{107.868g \text{ Ag}} \right) \left(\frac{1 \text{ mol AgNO}_3}{1 \text{ mol Ag}} \right) \left(\frac{169.8729g \text{ AgNO}_3}{1 \text{ mol AgNO}_3} \right) \\ = 0.025957285g \text{ AgNO}_3$$

$$0.025957285g \left(\frac{100}{0.085} \right) = 30.53\%.$$

Prueba 3.

$$0.0216g \text{ AgCl} \left(\frac{1 \text{ mol AgCl}}{143.3207g \text{ AgCl}} \right) \left(\frac{1 \text{ mol Ag}}{1 \text{ mol AgCl}} \right) \left(\frac{107.868g \text{ Ag}}{1 \text{ mol Ag}} \right) = 0.016256889g \text{ Ag}.$$

$$\begin{aligned} 0.016256889g \text{ Ag} \left(\frac{1 \text{ mol Ag}}{107.868g \text{ Ag}} \right) \left(\frac{1 \text{ mol AgNO}_3}{1 \text{ mol Ag}} \right) \left(\frac{169.8729g \text{ AgNO}_3}{1 \text{ mol AgNO}_3} \right) \\ = 0.025601706g \text{ AgNO}_3 \end{aligned}$$

$$0.025601706g \left(\frac{100}{0.085} \right) = 30.11\%.$$

Promedio.

$$\frac{25.93\% + 30.53\% + 30.11\%}{3} = 28.85\%.$$

9 Bibliografía

1. Aguilar, M. A. (2009). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata: Efecto sobre *Colletotrichum gloesporioides*. México. Tesis de doctorado. Instituto Politécnico Nacional. 90pp.
2. Ávalos, A.; Haza, A.; Mateo, D. y Morales, P. (2013). Nanopartículas de plata: Aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. *Revista complutense de ciencias veterinarias*. 7(2): 1-23.
3. Comisión permanente de la farmacopea de los estados unidos mexicanos. Farmacopea herbolaria de los estados unidos mexicanos. Secretaria de Salud. 2da edición. México. 19-266 pp.
4. Cuadros, M. A.; Castañas, P. R.; San Martín, M. E. y Yañes, F. J. (2014). Dispersión de luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas poliméricas. *Latin-american Journal of Physics Education*. 8(4): 1-5.
5. Domínguez, X. A. (1988). Métodos de investigación fitoquímica. Editorial Limusa. México. 39-44 pp.
6. Estrada, R. R.; Aguirre, H. E. *et al.* (2004). Comparative chemical composition of *Agastache mexicana* sub sp. *Mexicana* and *A. mexicana* sub sp. *Xolocotziana*. *Biochemical systematics and ecology*. 32: 685-694.
7. Gutierrez, W. C. E. (2005). Las nanopartículas: Pequeñas estructuras con gran potencial ¿Porque el interés en estos materiales? ¿Qué aplicaciones tienen? *Contacto nuclear*. 24-29.
8. Bertrand, H. R. (2017). Biomedical application of nanoparticles. CRC Press Taylor & Francis Group. USA. 50-70 pp.
9. Jaramillo, U. I. (2018). Obtención de las huellas digitales del extracto metánolico y aceite esencial de la planta *Agastache mexicana* kunth lint. & epling ssp. *Xolocotziana* (toronjil blanco), utilizando la técnica cromatográfica de capa fina de alta resolución. Tesis de licenciatura. UNAM. México. 97 pp.
10. Jiménez, H. M. I. (2018). Síntesis de nanopartículas de plata empleando extracto de *Matricaria recutita* L. (manzanilla) y su uso como agente reductor en una reacción química. Tesis de licenciatura. UNAM. México. 58 pp.

11. Lescas, N. S. y Moreno, V. S.E. (2016). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata utilizando el extracto acuoso de *Mentha x piperita* L. Lamiaceae (menta negra). Tesis de licenciatura. UNAM. México. 160 pp.
12. Estrada, R. R. (2015). Estudio fitoquímico y evaluación neurofarmacológica de los toronjiles, *Clinopodium mexicanum*, *Dracocephalum moldavica* y *Agastache mexicana* subesp. *mexicana* y *A. mexicana* subesp. *Xolocotziana*, utilizados en la medicina tradicional mexicana como tranquilizante. Tesis de doctorado. UNAM. México. 208 pp.
13. Martínez, M. (1996). Las plantas medicinales de México. Ediciones Botas. México.
14. Mendoza, U. G. y Rodríguez, L. J.L. (13 de octubre de 2018). La nanociencia y la nanotecnología: Una revolución en curso. Obtenido de Latinoamericanos: <http://www.scielo.org.mx/scielo.php>.
15. Mohd, S. A.; Jitendra, P.; Yeoung-Sang y Yun. (2013). Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. *ACS Sustainable chemistry engineering*. 1: 591-602.
16. Morales de la Garza, L. (2000). Preguntas y respuestas sobre el mundo nano. Centro de nanociencias y nanotecnología, UNAM. México. 7-29 pp.
17. Noguez, C. (2007). Surface plasmon son metal nanoparticles: The influence of shape and physical environment. *The Journal of Physical Chemistry c*. 111(10): 3806-3819.
18. Perni, S.; Hakala, V.; Prokopovich, P. (2014). Biogenic synthesis of antimicrobial silver nanoparticles capped with L-cysteine. *Colloids and surfaces a: Physicochemical and engineering aspects*. 460: 219-224.
19. Pretsch, E.; Bühlmann, P. y Badertscher, M. (2009). Structure determination of organic compounds. Springer. 4ta edición. USA. 269-336 pp.
20. Pueblos indígenas de México. (09 de julio de 2018). Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. Obtenido de atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia>.
21. Rearders. (1987). Plantas medicinales. Virtudes insospechadas de plantas conocidas. Selección del Readers digest. México. 35-40 pp.

22. Santillan, R. M. A.; López, V. M. E.; Aguilar, R. S. y Aguilar, C. A. (2008). Estudio etnobotánico, arquitectura foliar y anatomía vegetal de *Agastache mexicana ssp. mexicana* y *A. mexicana ssp. Xolocotziana*. *Revista mexicana de biodiversidad*. 79: 513-524.
23. Siddiqui, M. H.; Al-Whaibi, M. H. y Mohammad, F. (2015). Nanotechnology and plant sciences: Nanoparticles and their impact on plants. Springer. USA. 101-289 pp.
24. Silverstein, R. M.; Webster, F. X. y Kiemle, D. J. (2005). Spectrometric identification of organic compopunds. John Wiley & sons, INC. 7ta edición. USA. 72-126 pp.