

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERÚ
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA



**SINTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA
USANDO EXTRACTO DE HUAMANPINTA (*Chuquiraga spinosa*)**

TESIS

Para optar el título profesional de:
INGENIERO QUÍMICO AMBIENTAL

Presentado por:
EVELYN JHAEL ORE PAYANO

HUANCAYO – PERÚ
2022

ASESORA:
Ms. YÉSSICA BENDEZÚ ROCA

CO-ASESORA:

Ms. ANA MARÍA OSORIO ANAYA

DEDICATORIA

A mis padres Héctor y Milagros, por inspirarme y acompañarme en cada proyecto, a mis hermanos Lizbeth, Ruth, Josias y Jhonatan por ser compañeros y apoyo incondicional. A mis abuelas Julia y Leonidas por ser mis cómplices y a mis abuelos Pedro y Ciporiano que desde algún lugar sobre el arcoiris los sueños que soñaron hoy son realidad.

AGRADECIMIENTO

A Dios por ser mi guía abriendo oportunidades cuando ya no encontraba solución.

A la facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Centro del Perú mi casa de estudios que me abrió las puertas al mundo de la industria, gracias por sus docentes que ayudaron a mi formación profesional.

Al fondo del Canon Minero y Regalías Mineras 2018 de la UNCP, por el financiamiento del proyecto de investigación.

A mi asesora Ms. Yessica Bendezu Roca, por dirigir este trabajo de investigación y permitirme trabajar en la Unidad de Investigación y Experimentación en Sólidos.

A la Dra. Ana María Osorio Anaya co-asesora de esta tesis, por compartir su tiempo y experiencia para la síntesis de nanopartículas de plata en las instalaciones de su laboratorio de Nanotecnología e Innovación Tecnológica de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Al Ms. Walter Fuentes Lopez por su guía, buena compañía y consejos en el desarrollo de la tesis.

Al Dr. Ever Ingaruca por brindarnos las facilidades para el uso del equipo de Dispersión de Luz Dinámica (DLS) para la caracterización de las nanopartículas de plata.

Al Dr. Fredy Yabar Villanueva por su paciencia y brindarnos las facilidades para el uso del Espectrofotómetro UV-Vis en su laboratorio en la facultad de Industrias Alimentarias de la UNCP.

A mis compañeros de estudios y aventuras Ursula, Marsia, Vladimir y Yemina parte importante en el desarrollo de esta tesis, gracias por tantos momentos juntos.

RESUMEN

En el presente trabajo se sintetizó y caracterizó las nanopartículas de plata (NP's Ag) obtenidas usando AgNO_3 como agente precursor y extracto de Huamanpinta (*Chuquiraga spinosa*) como agente reductor y estabilizante. Se sintetizaron NP's Ag con una solución acuosa de nitrato de plata ($\text{AgNO}_{3(\text{ac})}$) con concentraciones de 0,001M, 0,01M y 0,02M y extracto acuoso de hojas de Huamanpinta a concentraciones de $2,5 \times 10^3 \text{ ppm}$, $5,0 \times 10^3 \text{ ppm}$ y $1 \times 10^4 \text{ ppm}$ respectivamente. Los parámetros que se estandarizaron para los experimentos fueron temperatura y tiempo de contacto para la obtención del extracto de la Huamanpinta, velocidad de agitación, temperatura y tiempo de reacción para la síntesis de las NP's Ag.

Se caracterizaron las muestras de NP's Ag sintetizadas por Espectrometría UV-Vis, que permite confirmar la formación de NP's Ag y se obtuvo sus respectivos espectros de absorción con bandas RPS únicas y definidas cuyos puntos más elevados se encuentren dentro del rango 415-465 nm que indican la existencia de Nanopartículas de plata esféricas según diversos autores. Además, a través de la técnica de Dispersión de Luz Dinámica (DLS) se conoce que los tamaños de las NP's Ag varían entre 1 y 55nm. El experimento 2 es el más representativo tanto para los extractos de hojas y flores, donde se observó el menor diámetro de nanopartículas de 1,1 y 20,1nm respectivamente, así como el mayor porcentaje de distribución 100% y 99,1% esto para las concentraciones de $2,5 \times 10^3 \text{ ppm}$ de sus extractos respectivos y 0,01M de ($\text{AgNO}_{3(\text{ac})}$) siendo estos los parámetros óptimos para la síntesis de NP's Ag con *Chuquiraga spinosa*.

Se cuantificaron los compuestos fenólicos por el método Folin-Ciocalteu obteniendo $1934,50 \frac{\text{mg}(\text{Ácido Gálico Equivalente})}{100 \text{ gramos de muestra}}$, seguidamente se realizó la identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos como: Rutina, Quercetina, Kaempferol y Eugenol en las hojas y flores de la planta de la Huamanpinta por la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC), por sus siglas en inglés High Performance Liquid Chromatography), logrando establecer la relación de estos compuestos y el tamaño de las NP's Ag. El análisis reportó que las muestras de hojas contienen 20,7mg de rutina por 100g de muestra cuatro veces más el de las flores. Y las flores tienen 40,7mg de quercetina por 100g de muestra que es quince veces más que las hojas. Respecto de los tamaños las NP's Ag con extracto de flores es hasta 20 veces menor que las NP's Ag con extracto de hojas esto se debe a la presencia de quercetina en mayor cantidad en el primer extracto principal responsable de la estabilización de nanopartículas que inhiben su aglomeración.

INTRODUCCIÓN

La síntesis de nanopartículas metálicas empleando extractos de plantas es un procedimiento alternativo, sustentable y respetuoso con la naturaleza, así como económico en términos de procesos químicos o físicos. Para la composición se suelen emplear extractos de pétalos o corteza de árboles y plantas, estos extractos contienen antioxidantes como compuestos polifenólicos (entre ellos flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, etc.), estos antioxidantes son aquellos que más contribuyen como agente reductor, debido a la presencia de protones, aminoácidos e hidroxilos donantes de bases nitrogenadas. La composición de nanopartículas es una disolución directa de extracto-metal, donde el extracto actúa como agente reductor, reduciendo los cationes metálicos en la solución a estado neutro.

La producción de las nanopartículas de plata tiene gran acogida en la industria nanotecnológica por su capacidad antimicrobiana, que tiene aplicación en instrumentos e indumentaria de personal médico, en materiales en contacto con alimentos, sistemas de tratamiento de agua, pinturas, cosméticos y otros.

La síntesis de nanopartículas de plata empleando extractos acuosos de plantas ha sido investigado en los últimos años sin embargo no se encontró antecedentes de síntesis de nanopartículas de plata (NP's Ag) empleando el extracto acuoso de Huamanpinta (*Chuquiraga spinosa*) especie vegetal nativa de las regiones alto andinas cercanas a los 3200 msnm en la cordillera de los Andes.

La composición química del extracto de las partes aéreas de la Huamanpinta (*Chuquiraga spinosa*) contiene los siguientes compuestos: flavonoides, compuestos fenólicos, saponinas, alcaloides, taninos, terpenos y esteroides. Los diferentes estudios realizados con el extracto alcohólico de pétalos y flores de *Chuquiraga spinosa* demuestra diferentes propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antifúngicas, de regulación inmunológica y protección frente al síndrome metabólico e hipercolesterolemia; también se ha demostrado su efectividad para el tratamiento de las inflamaciones de los riñones y de la próstata. Es por ello que se empleó el extracto acuoso de sus hojas como agente reductor en la síntesis de NP's Ag.

Sin embargo, esta planta aún no fue utilizada en estudios científicos para obtener de NP's Ag por lo que se desconocen parámetros de síntesis, generando escases de información. Por lo tanto, el presente estudio fue diseñado para desarrollar un método de síntesis verde, rápido y eco amigable para la síntesis de NP's Ag utilizando extracto acuoso de *Chuquiraga spinosa* (Huamanpinta) como agente reductor y estabilizante.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar los parámetros óptimos para la síntesis de nanopartículas de plata usando extracto de Huamanpinta (*Chuquiraga spinosa*).

Objetivos Específicos

Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto de Huamanpinta (*Chuquiraga spinosa*) y el mecanismo de reacción para la síntesis de nanopartículas de plata.

Determinar la concentración adecuada de nitrato de plata para la síntesis de nanopartículas de plata.

Determinar el tamaño de las nanopartículas de plata obtenidas.

SIMBOLOGIA UTILIZADA

Abs	:	Absorbancia
AgNO₃	:	Nitrato de plata
DLS	:	Dispersión de Luz Dinámica
EAG	:	Estándar de Ácido Gálico
FTIR	:	Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier
NMP	:	Número más probable
NP's Ag	:	Nanopartículas de Plata
SEM	:	Microscopía electrónica de barrido
TEM	:	Microscopía electrónica de transmisión
UV-Vis	:	Espectrofotometría UV-Visible
XRD	:	Difracción de rayos X
HPLC	:	High Performance Liquid Chromatography
mg	:	miligramos
g	:	gramos
mL	:	mililitro
L	:	litro
°C	:	grados Celcius
mM	:	miliMolar

HPLC/DAD : High-Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detection

HPLC/MS : High Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometer

NMR : Nuclear Magnetic Resonance

NaOH : Hidróxido de Sodio

ppm : Partes por millon

kg/m³ : Kilogramos por metro cúbico

RPS : Resonancia del plasmón superficial

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	4
AGRADECIMIENTO	5
RESUMEN.....	6
INTRODUCCIÓN	7
OBJETIVOS.....	8
Objetivo General	8
Objetivos Específicos	8
SIMBOLOGIA UTILIZADA	9
ÍNDICE DE CONTENIDO	11
ÍNDICE DE TABLAS	14
ÍNDICE DE FIGURAS	15
CAPITULO I	17
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	17
1.1. ANTECEDENTES.....	17
1.2. MARCO TEORICO	18
1.2.1. NANOCIENCIA.....	18
1.2.2. NANOTECNOLOGIA.....	18
1.2.3. NANOPARTICULAS.....	19
1.2.4. NANOPARTICULAS DE PLATA.....	29
1.2.5. ESPECIE VEGETAL.....	35
CAPITULO II.....	41
PARTE EXPERIMENTAL	41
2.1. METODOLOGIA.....	41
2.2. DISEÑO EXPERIMENTAL	41
2.2.1. VARIABLE DEPENDIENTE	41
2.2.2. VARIABLES INDEPENDIENTES	41
2.2.3. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	41
2.3. MATERIALES REACTIVOS Y EQUIPOS.....	42
2.3.1. MATERIALES	42
2.3.2. REACTIVOS	42

2.3.3. EQUIPOS.....	42
2.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	43
2.4.1. PROCEDENCIA MUESTREO Y CARACTERIZACIÓN DE Chuquiraga spinosa (Huamanpinta)	43
2.4.2. SINTESIS DE LAS NANOPARTICULAS DE PLATA.....	45
2.4.3. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTICULAS DE PLATA.....	48
CAPITULO III	50
TRATAMIENTO DE DATOS Y DISCUSION DE RESULTADOS.....	50
3.1. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES DEL EXTRACTO DE HOJAS DE Chuquiraga spinosa POR ESPECTROFOTOMETRO UV-VIS	50
3.1.2. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS DEL EXTRACTO DE HOJAS Y FLORES DE Chuquiraga spinosa POR HPLC	52
3.2. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTICULAS DE PLATA	54
3.2.1 CARACTERIZACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS	54
3.2.1.1. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTICULAS SINTETIZADAS CON EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE Chuquiraga spinosa	54
3.2.1.2. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTICULAS SINTETIZADAS CON EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE Chuquiraga spinosa	56
3.2.2. CARACTERIZACIÓN POR DISPERSIÓN DINÁMICA DE LUZ (DLS).....	58
3.2.2.1. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTICULAS SINTETIZADAS CON EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE Chuquiraga spinosa	58
3.2.2.2. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTICULAS SINTETIZADAS CON EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE Chuquiraga spinosa	60
CONCLUSION	63
RECOMENDACIONES	64
BIBLIOGRAFIA	65
ANEXO A.....	71
CONSTANCIA DE CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA HUAMANPINTA	71
ANEXO B.....	72
INFORME DE ENSAYO DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES DEL EXTRACTO DE HOJAS DE Chuquiraga spinosa Less POR ESPECTROFOTOMETRO UV-VIS.....	72
ANEXO C.....	73
CÁLCULO DEL PESO DE NITRATO DE PLATA.....	73
ANEXO D.....	74
CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS	74

ANEXO E.....	75
CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE PLATA EN LAS NP'S Ag SINTETIZADAS.....	75
ANEXO F.....	76
RECOLECCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA DE HOJAS Y FLORES DE HUAMANPINTA.....	76
ANEXO G.....	78
PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS Y FLORES DE HUAMANPINTA.....	78
ANEXO H.....	80
SINTESIS DE NANOPARTICULAS DE PLATA.....	80
ANEXO I.....	82
NANOPARTICULAS DE PLATA EN SOLUCION OBTENIDOS CON EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE HUAMANPINTA.....	82
ANEXO J.....	83
CARATERIZACIÓN DE LAS NANOPARTICULAS DE PLATA POR UV-VISIBLE.....	83
ANEXO K.....	84
CARATERIZACIÓN DE LAS NANOPARTICULAS DE PLATA DLS.....	84
ANEXO L.....	85
RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE QUERCETINA, RUTINA, KAEMPFEROL Y EUGENOL POR HPLC DE LAS HOJAS DE <i>Chuquiraga spinosa</i>	85
.....	87
ANEXO M.....	90
REPORTE DE LA DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE LAS NANOPARTÍCULAS POR DISPERSIÓN DINAMICA DE LUZ A PARTIR DEL EXTRACTO DE LAS HOJAS DE <i>Chuquiraga spinosa</i>	90
ANEXO M.....	93
REPORTE DE LA DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE LAS NANOPARTÍCULAS POR DISPERSIÓN DINÁMICA DE LUZ A PARTIR DEL EXTRACTO DE LAS FLORES DE <i>Chuquiraga spinosa</i>	93

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Constante de acidez de los grupo -OH del agente reductor.....	33
Tabla 2. <i>Variables Independientes</i>	41
Tabla 3. <i>Diseño experimental factorial</i>	41
Tabla 4. <i>Procedencia de Chuquiraga spinosa Less</i>	43
Tabla 5. <i>Compuestos fenólicos totales del extracto acuoso de hojas de Chuquiraga spinosa</i> ..	51
Tabla 6 Absorbancia y longitud de onda de NP's Ag sintetizadas con extracto de hojas de Ch. espinosa	55
Tabla 7 Absorbancia y longitud de onda de NP's Ag sintetizadas con extracto de flores de Ch. espinosa	56
Tabla 8 Resultados de la caracterización de las nanopartículas sintetizadas por DLS	58
Tabla 9 <i>Resultados de la caracterización por DLS de las NP's Ag sintetizadas con extracto de flores de Ch. spinosa</i>	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Principales métodos de síntesis de nanopartículas	20
Figura 2 Espectro de 3 partículas e imágenes TEM de alta resolución sobre su espectro respectivo.	23
Figura 3 <i>Diagrama del tamaño-forma y longitud de onda de NP's Ag</i>	24
Figura 4 <i>Diagrama de tamaño de NP's Ag y longitud de onda</i>	24
Figura 5 <i>Componentes del DLS</i>	25
Figura 6 <i>Esquema de un Microscopio Electrónico de Barrido</i>	27
Figura 7 <i>Esquema de un Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM)</i>	28
Figura 8 <i>Metabolitos secundarios encontrados en el extracto de las plantas</i>	30
Figura 9 <i>Mecanismo de reacción de síntesis de NP's Ag</i>	31
Figura 10 <i>Mecanismo de reacción específico de síntesis de NP's a partir del hidrogeno de un hidroxilo del radical fenil de la molécula de Quercetina</i>	32
Figura 11 <i>Chuquiraga spinosa "Huamanpinta" en su hábitat natural</i>	36
Figura 12 <i>Compuestos químicos de Chuquiraga spinosa</i>	37
Figura 13 <i>Ubicación de la zona de recolección de Huamanpinta</i>	43
Figura 14 <i>Recolección de la Muestra de Chuquiraga spinosa Less en campo</i>	44
Figura 15 <i>Hojas y Flores de Huamanpinta secando en la estufa a 40°C por 1 hora</i>	45
Figura 16 <i>Obtención del extracto. a) Filtros con muestra b) Obtención del extracto a 60° C</i> ...	46
Figura 17 <i>Soluciones de Nitrato de plata 0,001 M; 0,01 M y 0,02 M</i>	46
Figura 18 <i>Nanopartículas de plata en solución sintetizadas a partir del extracto de hojas de Chuquiraga spinosa</i>	47
Figura 19 <i>Espectrofotómetro UV-Vis del laboratorio de FIAI-UNCP</i>	48
Figura 20 <i>Medición de las muestras por DLS. a) Equipo DLS modelo NICOMP 3000 b) Muestras de NP's Ag.</i>	49
Figura 21 <i>Cuantificación de Polifenoles Totales</i>	51
Figura 22 <i>Identificación y cuantificación de Flavonoides y Terpenoides en flores y hojas de Chuquiraga spinosa</i>	52
Figura 23 <i>Mecanismo de reducción, crecimiento y estabilización de NP's Ag</i>	53
Figura 24 <i>Muestras de NP's Ag con extractos de hojas de Ch. spinosa para ser analizada por Espectrometría UV-vis</i>	54
Figura 25 <i>Espectro de absorción UV-vis de Nanopartículas de plata con extractos de hojas de Chuquiraga spinosa</i>	56

Figura 26 <i>Espectro de absorción UV-vis de Nanopartículas de plata con extractos de hojas de Chuquiraga spinosa</i>	57
Figura 27 <i>Gráficos de distribución del tamaño dinámico de NP's Ag sintetizadas con los extractos de hojas de Chuquiraga spinosa</i>	59
Figura 28 <i>Gráficos de distribución del tamaño dinámico de NP's Ag sintetizadas con los extractos de flores de Chuquiraga spinosa</i>	61
Figura 29 <i>Gráficos de comparación del tamaño dinámico de NP's Ag por DLS y Longitudes de onda analizados por Espectrofotometria UV-Visible</i>	62
Figura 30 <i>Recolección de Huamanpinta en Campo</i>	76
Figura 31 <i>Flores y hojas separas para proceder al secado</i>	76
Figura 32 <i>Lavado y secado de la muestra a 200° C por 60 minutos en la estufa</i>	77
Figura 33 <i>Disminución de tamaño de las muestras (izquierda) y cuarteo de la muestra (derecha) para proceder al pesado</i>	77
Figura 34 <i>Pesado de las muestras para preparación de extractos</i>	78
Figura 35 <i>Inmersión del filtro con la muestra en 200ml de agua ultrapura a 60°C</i>	78
Figura 36 <i>Extracto final transcurrido 1 hora (izquierda) y extracto conservado en refrigeración a 4°C para posteriores análisis (derecha)</i>	79
Figura 37 <i>Extracto final de hojas de Huamanpinta M1=0,5gr M2=1gr y M3=2gr</i>	79
Figura 38 <i>Matraces de los experimentos 1,2,3, y 4 con 25 ml de extracto y 1ml de AgNO3 según diseño experimental a 50° C en agitación constante de 300 rpm. luego de 60 minutos</i>	80
Figura 39 <i>Nanopartículas de los experimentos 1,2,3, y 4 en solución obtenidas luego de 60 minutos de reacción</i>	80
Figura 40 <i>NP's Ag sintetizadas con extracto de hojas de Chuquiraga spinosa</i>	81
Figura 41 <i>Síntesis de NP's Ag con extracto de Flor de Huamanpinta</i>	82
Figura 42 <i>Preparación de muestras de nanopartículas de hojas para leer en el UV-Vis</i>	83
Figura 43 <i>La lectura en el UV-Vis; considerando como blanco el extracto de hojas y flores respectivamente; en el rango de 350 a 500 nm a una intensidad de 3,0</i>	83
Figura 44 <i>Preparación de muestras de nanopartículas de hojas y flores para ser caracterizadas, izquierda muestras en el Sonicador, derecha muestras en el porta muestras para lectura por DLS</i>	84
Figura 45 <i>Lectura de nanopartículas en solución por DLS</i>	84

CAPITULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. ANTECEDENTES

(Jasuja et al., 2014) estudiaron la rápida reducción y estabilización de iones Ag^+ en la solución acuosa de 90 mL de solución acuosa de AgNO_3 2mM con 5mL del extracto de cáscaras de *Punica granatum* (0,4% p/v). Las nanopartículas de plata (NP's Ag) sintetizados se caracterizaron por espectroscopía UV-Vis en el rango de 300-600 nm y se pudo observar picos de resonancia de plasmón superficial (SPR) a 395 nm. El estudio reveló mediante análisis Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) que las nanopartículas de plata NPs Ag obtenidas tienen forma esférica y un tamaño promedio de 15nm.

(Camacho Polo & Mercado Deschamps, 2013) sintetizó las nanopartículas de plata a partir de una solución de nitrato de plata (AgNO_3) elaborado en concentraciones de 1, 10, y 100 mM este procedimiento utilizó como agente reductor un extracto natural elaborado con las hojas del cilantro (*Coriandrum sativum*). La constitución de NP's Ag se confirmó mediante espectrometría UV-Vis con longitud de onda de 415, 430 y 428 y tamaño hidrodinámico de 75, 66 y 80 nm respectivamente determinado por mediciones de dispersión de luz dinámica.

(Kharat & Mendhulkar, 2016) sintetizo NP's Ag con el extracto de hoja de la planta medicinal *Elephantopus scaber* L. El espectro en el UV-Vis de las nanopartículas mostró una máxima absorbancia a 435 nm, con un tamaño promedio de 78 nm, y forma esférica con un diámetro medio de 50 nm.

(Vera Nuñez & Tamo Cornejo, 2018) biosintetizaron nanopartículas de plata a partir de AgNO_3 y extracto acuoso de hojas de *Thelypteris glandulosolanosa* (Raqui-raqui) como agente sintetizador y estabilizante, luego de 30 minutos observaron un cambio de coloración de incoloro a amarillo intenso de la solución y se confirmó la presencia de NP's Ag mediante espectrofotometría UV-vis mostrando un pico a 420 nm. La técnica de DLS evidenció un tamaño hidrodinámico promedio de 39,16 nm y el análisis por TEM mostró una asignación de tamaños de 6,64 a 51,00 nm con un diámetro promedio de 31,45 nm, también reportaron concentraciones menores a 0,78 $\mu\text{g/mL}$ de NP's Ag mostrando un efecto citotóxico in-vitro en las células cancerinas MCF-7.

(Feijoo Carrillo, 2018), las NP's Ag que obtuvieron fueron simplificadas con 5 gotas de extracto *Rosmarinus officinalis* (Romero) filtrada y la solución de nitrato de plata de 1mg/ml a 600 rpm y 50°C, el análisis DLS de la NP's Ag indicó un valor promedio de 55,6 nm y una polidispersión de 0,094. Se aplicó 1ml (dosis mínima) de las nanopartículas en 2 litros de agua del río ubicado en la Esperanza Alta-Huaral que en el análisis microbiológico presentaba valores altos, logrando eliminar luego de 24 horas el total de E. coli, coliformes totales y fecales y reducir el 99,8% de las bacterias heterótrofas.

(Talavera Núñez et al., 2018) elaboraron un filtro con nanocompuesto de arcilla-carboximetilquitosano-nanopartículas de plata, usado en la eliminación de bacterias y aniones en agua potable. Reduciendo el AgNO_3 1 mM, y usando carboximetilquitosano al 0,01% y borohidruro de sodio 2 mM como iniciadores de reducción, para la obtención de NP's Ag, ese uso una proporción de 2:1 de arcilla y aserrín de madera; moldeado, secado y sinterizado a 800°C durante 3 horas. Posteriormente, se impregnaron los filtros por inmersión durante 12 horas con una dispersión coloidal de NP'sAg y carboximetilquitosano. El muestreo de agua a tratar se tomó de cuatro diferentes puntos y procedieron a evaluar la capacidad filtrante del filtro, removiendo: conductividad 84,03%, sulfato 85,48%; cloruro 93,93%, los coliformes fecales y los coliformes totales se eliminaron al 100%. Confirmando que los filtros tienen una tasa de eliminación significativa.

1.2. MARCO TEORICO

1.2.1. NANOCIENCIA

La nanociencia es el estudio de la materia a nivel nano escala cuyas propiedades físicas y químicas son únicas. La nanociencia estudia materiales y fenómenos en diversas áreas, tales como la Química, la Física o la Biología. La nanociencia está orientada al conocimiento y estudio de los materiales comprendidos en la escala nanométrica es decir de 0.1 a 100 nanómetros y sus múltiples propiedades, que dependen de su tamaño, forma, estructura, agente precursor, aplicaciones y otros parámetros según (ISO, 2015)

1.2.2. NANOTECNOLOGIA

La palabra nanotecnología fue introducida por primera vez en 1974 por Norio Taniguchi, quien definió la nanotecnología como "procesamiento de separación, consolidación y deformación de materiales por un átomo o una molécula". Desde entonces, los científicos e ingenieros han definido la nanotecnología como la ciencia de la materia de una milmillonésima

parte de un metro (10^{-9} m) de tamaño. Esta tecnología implica la manipulación de materia a escala atómica y molecular. La nanotecnología utiliza conceptos de la física, la química y la ciencia de los materiales en un esfuerzo por explicar los comportamientos únicos de los materiales a nanoescala. (Sanders, 2018)

La aplicación de la nanociencia es denominada nanotecnología, que está orientada a materiales o sistemas donde sus partes estructurales y composición tienen características desarrolladas porque su escala es pequeña o reducida. La atención a las características químicas, biológicas, físicas, mecánicas, eléctricas y de catálisis mejoradas también ha despertado un gran interés en la industria. (Ramsden, 2011)

La nanotecnología es la fabricación de materiales, dispositivos, estructuras y sistemas funcionales mediante el control y ensamblaje de sustancias con un tamaño de 0,1 a 100 nanómetros (denominado nanoescala). A esta escala, los materiales tienen nuevas propiedades químicas, físicas, biológicas, mecánicas y eléctricas que brindan apoyo en las carencias humanas de hoy. La nanotecnología es parte de la Nanociencia y ayudan a resolver problemas, necesidades o tienen usos específicos como su uso para el tratamiento del agua (Jasuja et al., 2014)

1.2.3. NANOPARTICULAS

La Asociación Americana de Ensayo de Materiales (ASTM) denota a las nanopartículas como el componente más fundamental en la composición de una nanoestructura, cuyas propiedades han llamado mucho la atención ya que contienen una gran cantidad de átomos superficiales y la relación entre el área y volumen se incrementa; si el diámetro disminuye, el área superficial de la partícula se incrementa y por lo tanto se produce un incremento en las propiedades originales del material precursor. (Horikoshi & Serpone, 2013) menciona que su composición, tamaño y forma determinada principalmente las propiedades de las nanopartículas metálicas. Actualmente se emplea nanomateriales en las industrias biotecnológica, farmacéutica y médica también en alimentos, químicos, etc.

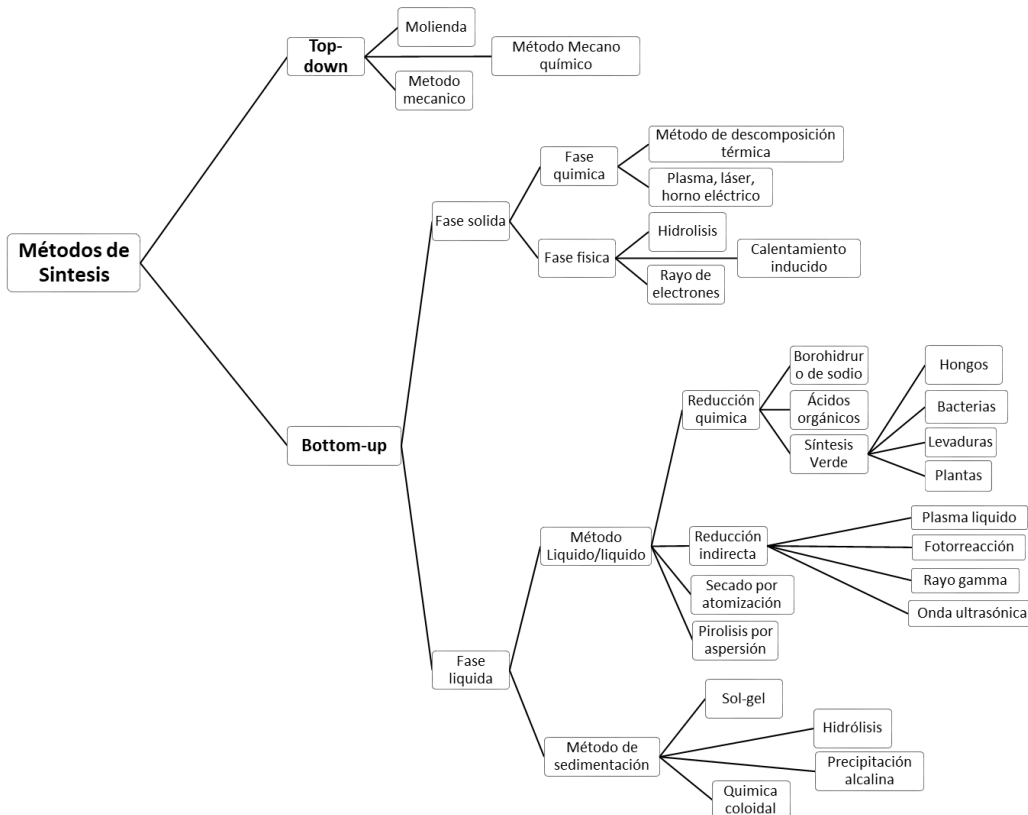
Las fuentes de nanopartículas se pueden clasificar en actividades humanas naturales o intencionales y no intencionales. Las nanopartículas han existido en el medio ambiente desde el comienzo de la historia de la Tierra y están muy extendidas y ampliamente distribuidas en la atmósfera, los océanos, las aguas superficiales y subterráneas, el suelo e incluso los organismos vivos de la Tierra. Los principales procesos naturales que los liberan a la atmósfera son los incendios forestales, la actividad volcánica, la meteorización, la formación de minerales arcillosos, la erosión del suelo por el viento y el agua o las tormentas de polvo del desierto. Se

estima que solo el polvo atmosférico contiene varios millones de toneladas de nanopartículas naturales cada año, que son de tamaño bastante heterogéneo y pueden transportarse miles de kilómetros y permanecer suspendidas en el aire durante varios días. Las nanopartículas artificiales se liberan intencional o involuntariamente al medio ambiente durante varios procesos industriales y mecánicos. El gas de escape de los motores diésel sin filtrar contiene grandes cantidades de nanopartículas productos de la combustión incompleta del combustible, también las chimeneas contienen fullerenos cuando se quema madera. En los procesos industriales, las calderas de carbón, petróleo y gas liberan inadvertidamente toneladas de nanopartículas. (Smita et al., 2012)

1.2.3.1. PROCESOS DE OBTENCIÓN DE NANOPARTICULAS.

Se han conocido dos enfoques en la preparación de nanopartículas: el primero es el método de Top to Bottom (de arriba hacia abajo) por que se aplica una fuerza externa a un sólido que conduce a su ruptura en pequeñas partículas. El segundo es el método de Bottom to up (de abajo hacia arriba) donde a partir de átomos de gas o líquidos basados en transformaciones atómicas o condensaciones moleculares se produce nanopartículas. Un resumen de las técnicas y/o métodos de síntesis se puede observar en la figura 1.

Figura 1 Principales métodos de síntesis de nanopartículas



Nota. Adaptado de Typical synthetic methods for nanoparticles for the top-down and bottom-up approaches (p.8), por (Horikoshi & Serpone, 2013), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.

A. METODOS TOP-DOWN (De arriba hacia abajo)

Son por lo general métodos físicos o procesos de molienda, aquellos métodos que reducen el tamaño agregado de los materiales a nanómetros. Estos procesos consumen mucha energía y producen NP's con un amplio rango de tamaño porque no se tiene el control sobre el tamaño de la partícula según (Horikoshi & Serpone, 2013).

B. METODOS BOTTOM-UP (De abajo hacia arriba)

Son comúnmente llamados métodos químicos en solución coloidal, donde la formación de nanopartículas se da a partir de una solución y/o dispersión molecular. Son por lo general métodos físicos o procesos de molienda, aquellos métodos que reducen el tamaño agregado de los materiales a nanómetros. También hay un alto consumo de energía y no hay control sobre el tamaño de la partícula. (Horikoshi & Serpone, 2013).

Hay una variedad de métodos físicos y químicos disponibles para la síntesis, como la tecnología de aerosoles, la fotolitografía, la ablación láser y los campos ultrasónicos. Todos estos métodos tienen un impacto positivo en la producción de nanopartículas. El problema evidenciado son los altos costos y la complejidad de los equipos utilizados, No es muy accesible y requiere mucha energía, también los métodos químicos requieren fuentes sintéticas de agentes reductores (borohidruro de sodio, citrato de sodio, N, N-dimetilformamida, etc.), que actúan sobre los iones metálicos que producen nanopartículas, también necesitan agentes reductores Se requieren tensioactivos para el control del tamaño y la forma y disolventes orgánicos. (Casal, 2015)

En el presente trabajo se optó por síntesis verde empleando extractos de plantas por ser un método ecológico y rápido para síntesis de NP's Ag más adelante se procederá a detallar.

1.2.3.2. METODOS DE CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTICULAS

Debido al tamaño y propiedades mostradas por las nanopartículas, se requieren de técnicas específicas para determinar la formación y poder describir las características de estas en forma, tamaño y composición. Actualmente existen distintas técnicas de caracterización entre las que se encuentran: Dispersión dinámica de Luz (DLS), Espectroscopia Ultravioleta-Visible y Microscopia electrónica de barrido y transmisión, Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier las cuales se describen a continuación.

1.2.3.2.1. Espectrometría UV-Visible

Es una tecnología de instrumentos basada en la absorción de radiación electromagnética por analitos en las regiones ultravioleta y visible del espectro. Al caer radiación de esta región en un compuesto, el compuesto la absorberá y hará que los electrones se muevan a un nivel de energía más alto. Es decir, la molécula entra en un estado excitado de mayor energía. La absorción selectiva de determinadas longitudes de onda de radiación por parte de un analito o compuesto permite trazar su espectro de absorción característico (una representación gráfica de la absorbancia en función de la longitud de onda) como se puede observar en la figura 2,3 y 5 proporcionando así información sobre sus características: composición y estructura (Gallego Picó et al., 2012). Para caracterizar una amplia gama de Nanopartículas de óxido metálico se emplea la espectrometría UV-visible en el rango de longitud de onda de la luz de 200 a 700nm como refiere (Basiuk & Basiuk, 2015). (J. Mock et al., 2003) menciona que la longitud de onda de los espectros de absorción depende de factores como: el tamaño, la forma y composición de las partículas. Solo los metales con electrones libres (como Au, Ag, Cu y metales alcalinos) tienen plasmones en el espectro visible, que pueden causar un color intenso. Además, la espectrofotometría UV-vis es simple, fácil, rápida, sensible y selectivo para diferentes tipos de nanopartículas.

A. Resonancia del plasmón Superficial (RPS)

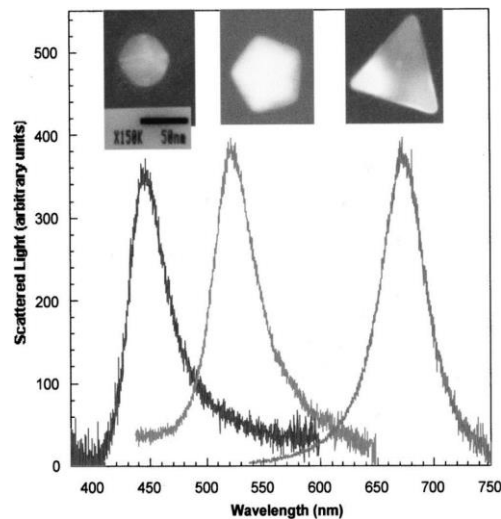
(Pumacota Paricahua, 2018) refiere que los sólidos conductores tienen propiedades físicas relacionadas con el modelo de electrones libres, la relación entre la nube de electrones y la carga líquida de alta densidad (plasma) se debe a las fluctuaciones en la densidad de carga del plasma que se expande por todo el sólido de forma cuantitativa. La partícula virtual cargada con este fenómeno se llama plasmón. El plasmón de volumen ocurre cuando la oscilación de carga ocurre dentro del volumen de un sólido, y cuando este ocurre en la superficie del metal, se llama plasmón de superficie (RPS).

B. Forma de Nanopartículas

La frecuencia de la resonancia y su longitud de onda de absorción del plasmón dependen directamente del tamaño y forma de las nanopartículas ya que la frecuencia de onda de la RPS es producida cuando el tamaño de las nanopartículas es menor que la longitud de onda que se incide sobre el material. Es decir, se puede deducir la forma de nanopartículas según la longitud de onda del pico más alto de un barrido gracias al análisis de espectrofotometría UV-Vis. De acuerdo a los resultados experimentales obtenidos por (J. J. Mock et al., 2002) a partir de

imágenes TEM de alta resolución cuando inciden haces de luz normales, se correlacionan el espectro de absorción de las nanopartículas de plata con su tamaño (40-120 nm), en la Figura 2, se presenta el espectro de 3 partículas en el mismo gráfico, y las imágenes de TEM de alta resolución de las partículas correspondientes se muestran por encima de su respectivo espectro. Debido a que existe una correlación entre su espectro y su forma geométrica, por lo general, podemos predecir la forma de una partícula mediante la medición de su espectro utilizando la técnica de espectroscopia UV-Vis antes de realizar el análisis TEM.

Figura 2 Espectro de 3 partículas e imágenes TEM de alta resolución sobre su espectro respectivo.



Nota. Tomado de Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles (P.6757), por Mock et al., 2002, Journal of Chemical Physics, 116(15).

Esta figura muestra un resultado de medición del espectro óptico típico de nanopartículas de plata. Este ejemplo representa las siguientes conclusiones principales: las partículas triangulares se encuentran a 680nm, las partículas pentágonas a 530nm y las partículas esféricas en 450nm.

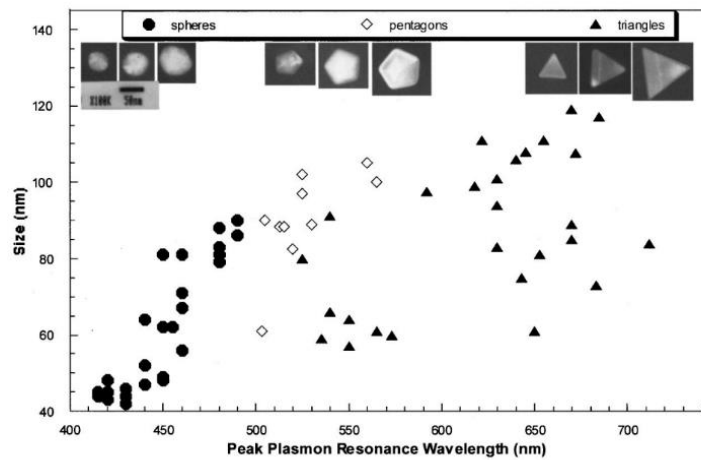
C. Tamaño de Nanopartículas

La energía de RPS necesita la densidad de los electrones libres en el plasma que interactúan con los fotones, y también de las propiedades dieléctricas del medio que rodea las nanopartículas (tiene baja conductividad). Ambas energías son inversamente proporcionales al diámetro de la nanopartículas, cuanto menor es el diámetro de la nanopartículas, mayor será la energía de la longitud de onda incidente en nanómetros.

Cuando aumenta el tamaño de las NP's metálicas, la longitud de onda de la luz absorbida cambia a la región roja con menor energía. Esto significa que el color rojo es absorbido por las nanopartículas y refleja el azul claro en la solución coloidal. Si el tamaño de la nanopartículas

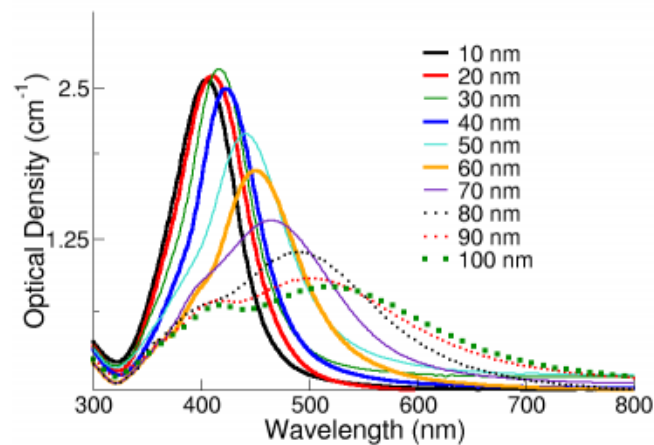
aumenta con respecto al tamaño estándar, la longitud de onda absorbida se desplaza a la parte infrarroja del espectro, lo que significa que todas las longitudes de onda del espectro visible se reflejan porque no hay absorción. Esto produce una solución coloidal translúcida. La RPS se mueve a longitudes de onda más largas a medida que aumenta el diámetro de las partículas. Tomando en cuenta que la absorbancia de las NP's Ag depende principalmente del tamaño y la forma. En la figura 3 se puede ver la relación de tamaño y forma respecto a la longitud de onda según el trabajo realizado por (J. J. Mock et al., 2002).

Figura 3 Diagrama del tamaño-forma y longitud de onda de NP's Ag



Nota. Tomado de Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles (P.6757), por Mock et al., 2002, Journal of Chemical Physics, 116(15).

Figura 4 Diagrama de tamaño de NP's Ag y longitud de onda



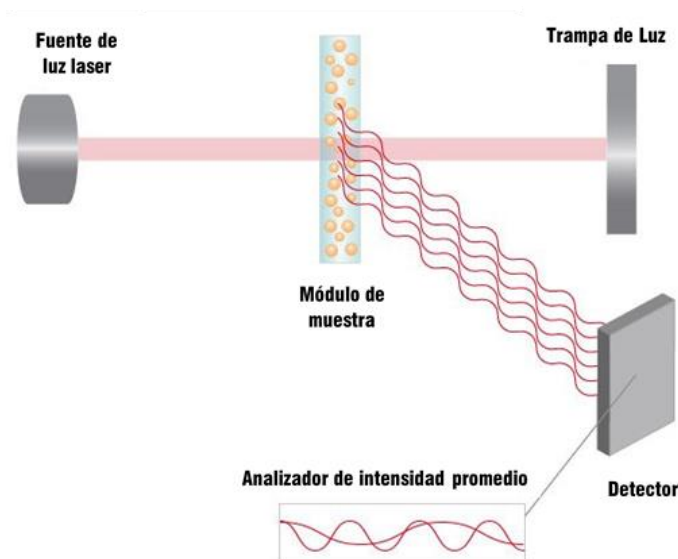
Nota. Tomado de The Effect of Size on Optical Properties, por nanoComposix, 2021, <https://nanocomposix.com/pages/silver-nanoparticles-optical-properties>

1.2.3.2.2. Dispersión Dinámica De Luz

La dispersión dinámica de luz o DLS, por sus siglas en inglés, dynamic light scattering, es una técnica muy empleada para la caracterización de NP's Ag. Este método depende de la interacción de la luz con las partículas. Para determinar el tamaño hidrodinámico de las partículas evaluara la intensidad de la luz dispersa en la muestra en función del tiempo. El radio hidrodinámico (es la suma del radio del núcleo más la corona y la capa de disolvente) es alterado por los iones presentes en el medio y las variaciones de la superficie, cambiando la velocidad de difusión de las partículas dispersas. Según (Sánchez Moreno, 2017) la DLS puede emplearse para medir la distribuciones de tamaño de partículas hasta los 500 nm y analizar un gran número de partículas simultáneamente.

El principio de la medición consiste en transmitir luz láser a través de una suspensión y utilizar un detector para capturar la cantidad de luz dispersa como se observa en la figura 5. Cuando las partículas se encuentran suspendidas en el ambiente, producen el movimiento browniano, que es un tipo de movimiento que las partículas actúan de forma aleatoria de las colisiones existentes entre ellas sin un patrón necesariamente, por el tamaño del material suspendido que es de gran importancia ya que conseguirá que a mayor tamaño haya menos movimiento browniano, menos dispersión de luz y menos fluctuaciones en la intensidad; a la inversa, cuanto menor es el tamaño de la materia suspendida, mayor es el movimiento browniano, mayor es la dispersión de la luz y mayor es la intensidad de la oscilación. (Perales & Travezaño, 2019)

Figura 5 Componentes del DLS



Nota. Adaptado de Dynamic Light Scattering (DLS), por Particle Technology Labs, 2021, <https://www.particletechlabs.com/analytical-testing/particle-size-distribution-analyses/dynamic-light-scattering>

Las principales ventajas de esta técnica son: se requiere un mínimo volumen de la muestra, el análisis es rápido y se logra recuperar la muestra por completo. Además, (García Neira, 2015) afirma que la DLS determina una medida promedio de la distribución del tamaño de partícula, es decir la presencia de partículas de gran tamaño puede incrementar el resultado.

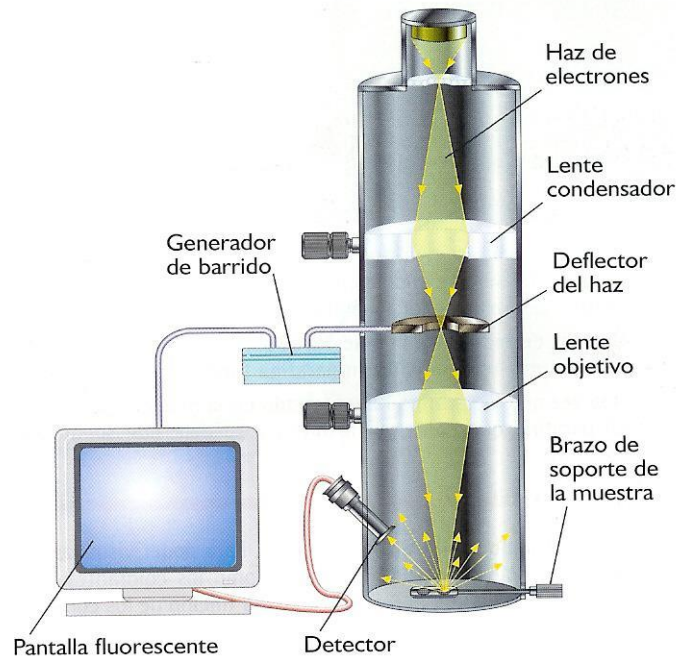
1.2.3.2.3. La Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Entre varias técnicas de microscopía electrónica, SEM por sus siglas en inglés (Scanning Electron Microscopy) es un procedimiento de imagen superficial, capaz de determinar diferentes formas de partículas, morfología de la superficie, tamaños y distribuciones de tamaño de las nanopartículas sintetizadas en las escalas micro (10^{-6}) y nano (10^{-9}). SEM utiliza un haz de electrones concentrado que se origina luego de calentar un filamento que actúa como cátodo de wolframio o de tungsteno que se escanea sobre la superficie de la muestra de NP's Ag y luego la observación de electrones retrodispersados proporciona características de la muestra.

Todos los equipos SEM tienen una columna, tal como se muestra en la figura 6, produciendo un haz de electrones que interactúa con la muestra, tienen detectores que monitorean diferentes señales que resultan de la interacción haz-muestra, elaborando así una imagen a partir de las señales captadas. El SEM escanea la superficie de la muestra fila por fila gracias a los lentes magnéticos que contiene los cuales forman un delgado haz convergente de electrones.

Los pasos necesarios para la preparación de la muestra SEM incluyen limpiar la superficie, estabilizar la muestra con un fijador, enjuagar, deshidratar y secar, montar la muestra en un soporte metálico y recubrir la muestra con una lámina conductora. Sin embargo el inconveniente del SEM es que no puede investigar la estructura interior de la muestra, pero puede proporcionar información valiosa sobre el grado de agregación y pureza de las partículas (Rajeshkumar & Bharath, 2017)

Figura 6 Esquema de un Microscopio Electrónico de Barrido

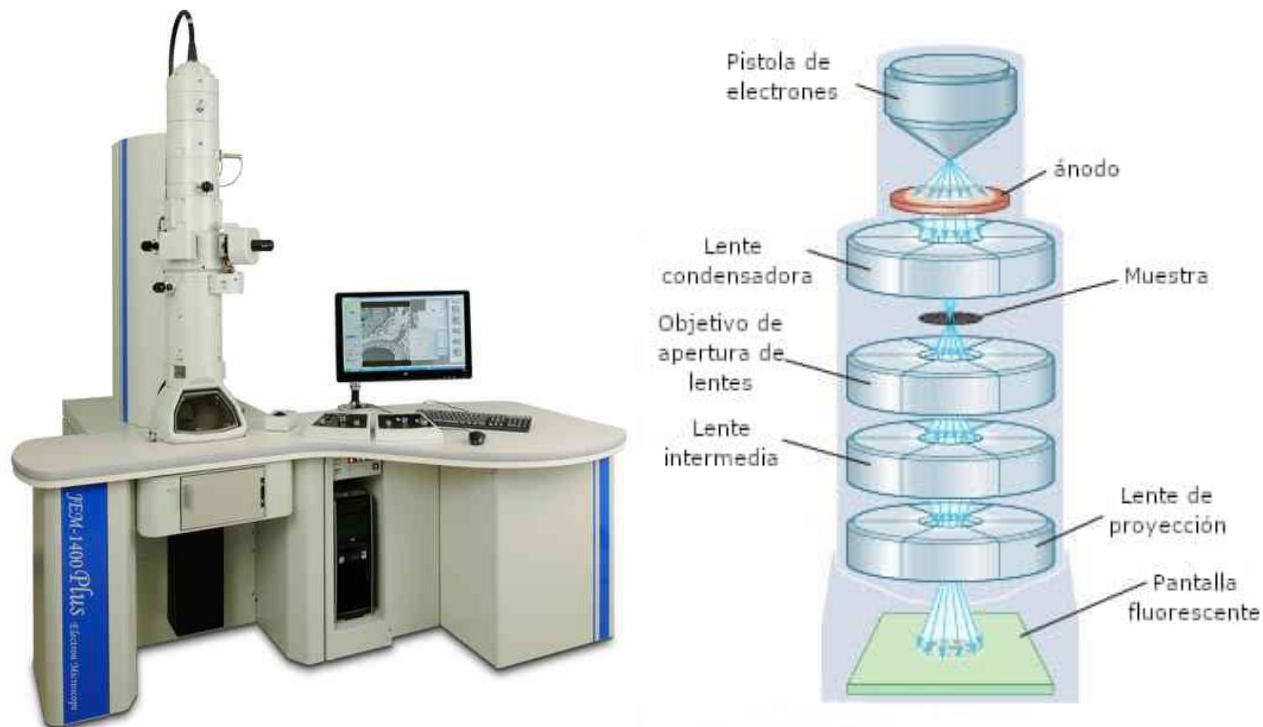


Nota: Tomado de (Valpuesta J., 2018)

1.2.3.2.4. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

TEM por siglas en inglés de Transmission Electron Microscope utiliza un rayo electrones para interactuar con una muestra y formar una imagen en la placa fotográfica, TEM es distinto en detectar y cuantificar la estructura química y electrónica de partículas individuales además tiene ventajas sobre SEM como: mostrar una resolución espacial superiores y medidas analíticas adicionales de las NP'sAg; esta ventaja se debe a la estructura celular en la muestra donde se puede observar con un aumento muy alto, ello implica que la preparación de la muestra TEM es más duradera y compleja que la muestra SEM, además de otros procedimientos como la fijación, la incrustación de partículas en resina, el corte de la muestra y la tinción de secciones semifinas y ultrafinas, es decir las muestras mal preparadas no son de utilidad para los investigadores, y los problemas en el proceso de corte pueden resolverse con relativa facilidad solo cortando y obteniendo más secciones. La preparación de muestras coloidales como el caso de las partículas obtenidas en el presente trabajo de investigación para TEM implica ocho pasos importantes: limpieza, fijación primaria, enjuague, fijación secundaria, deshidratación, penetración del disolvente de transición, penetración e incrustación de resina y corte. Los dos primeros pasos son básicamente los cuales son descritos en la elaboración de la muestra SEM. (Rajeshkumar & Bharath, 2017)

Figura 7 Esquema de un *Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM)*



Nota: Adaptado de Microscopio Electrónico, 2021, <https://www.elgencurioso.com/diccionario/microscopio-electronico>

1.2.3.2.5. Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia FTIR se utiliza para investigar la química de la superficie de nanopartículas metálicas y para determinar que biomoléculas están presentes en la síntesis de nanopartículas. El espectrómetro infrarrojo procesa una pequeña muestra colocada en una celda infrarroja, cuando la radiación infrarroja (es decir la longitud de onda se encuentra entre 4000 cm^{-1} a 600 cm^{-1}) pasa a través de la muestra, resulta que la muestra absorbe una cantidad de la radiación infrarroja porque las moléculas absorben energía de longitudes de onda de luz específicas y el resto pasa a través de ella. El espectro resultante representa la absorción y la transmisión mediante la creación de una huella digital molecular de la muestra que representa su identidad. FTIR es una técnica no invasiva, adecuada, valiosa, rentable y simple para investigar el papel de las biomoléculas en la reducción de AgNO_3 a plata. (Rajeshkumar & Bharath, 2017)

1.2.4. NANOPARTICULAS DE PLATA

(Le et al., 2011) menciona que, entre las nanopartículas metálicas, NP's Ag tienen propiedades inhibitoras y bactericidas. Además, el efecto bactericida de los NP's Ag se ha atribuido a su tamaño y relación superficie/volumen que les permite interactuar estrechamente con las membranas microbianas y no se debe simplemente a la liberación de iones metálicos en solución. Los NP's Ag con actividad bactericida pueden inmovilizarse y recubrirse sobre diferentes superficies, que pueden aplicarse a varios campos, es decir, instrumentos y dispositivos médicos, y tratamiento de agua y procesamiento de alimentos. (Jasuja et al., 2014)

La diversidad e importancia de sus aplicaciones despertó el interés por el desarrollo de métodos generales que puedan utilizarse para sintetizar nanopartículas de plata con propiedades definidas y controlables. Por tanto, buscar métodos para la síntesis de nanopartículas y sus aplicaciones tiene que tener un índice de riesgo bajo para el ambiente y la salud de las personas.

1.2.4.1. PLATA

La plata es un elemento químico de número atómico 47 y se encuentra en el grupo I-b de la tabla periódica. Su símbolo es Ag (que proviene del latín Argentum). Es un metal de transición blanco, brillante, suave, dúctil y maleable denominado el mejor conductor metálico de la electricidad y el calor. Actualmente se encuentra como plata libre o parte de diferentes minerales generalmente en forma de sulfuros, es soluble en ácidos oxidantes y puede tener +1, +2, +3 estados de oxidación, siendo el estado de oxidación +1 el más común. Además (Le et al., 2011) refiere que la plata coloidal es de particular interés por sus características distintivas, como buena conductividad, estabilidad química, actividad catalítica y bactericida. La propiedad antimicrobiana de la plata está relacionada con la cantidad de plata y la tasa de liberación de plata.

1.2.4.2. SINTESIS QUIMICA DE NANOPARTÍCULAS

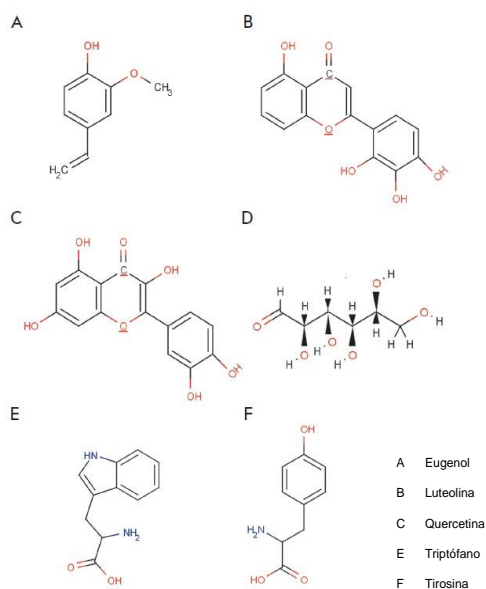
En general, el primer paso en la formación de una dispersión coloidal metálica es la nucleación, que inicia con la reducción de las sales metálicas a través de un agente reductor apropiado para obtener átomos metálicos con estado de oxidación nulo. El segundo paso implica la difusión y transferencia de masa de átomos metálicos o iones en solución a la superficie de los núcleos para hacer crecer estos núcleos tal como se observa en la figura 10. Finalmente, la estabilidad de la dispersión coloidal depende de la presencia de un estabilizador, que cubre la superficie de las NP's, evitando así su aglomeración, que es causada por las interacciones electrostáticas o factores estéricos. La estabilización electrostática implica la repulsión de Coulomb entre partículas, y la interacción entre partículas es causada por una doble capa

eléctrica formada por iones adsorbidos en la superficie de las NP's (como el citrato de sodio). En el caso de la estabilidad estérica, las moléculas orgánicas actúan como una capa protectora sobre la superficie del NP's. Los factores importantes en la síntesis de NP's son la concentración de ambos agentes, la temperatura, pH y fuerza iónica para controlar el tamaño y la forma del NP's resultante.

1.2.4.3. SINTESIS VERDE

(Casal, 2015), refiere que los métodos de síntesis (químicos y físicos) previamente explicados son costosos y/o ambientalmente agresivos, por lo que se buscan nuevas formas de síntesis de Nanopartículas que sean fácilmente escalables, rentables y ecológicos. De manera similar, según la literatura científica los extractos de plantas (hojas, flores, frutos, corteza de plantas, residuos orgánicos, y otros) se pueden utilizar como agentes reductores para la síntesis de nanopartículas metálicas, los extractos de las sustancias resultantes contienen antioxidantes, tales como el grupo de los polifenoles (tales como los flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos, lignanos, etc); que participan en la reducción de átomos libres de la plata, principalmente por contener hidroxilos, aminoácidos y bases nitrogenadas proveedoras de protones. La composición de las nanopartículas es directa entre el extracto vegetal y la dilución del metal presente en una sal como el nitrato de plata $AgNO_3$, reduciendo así los cationes metálicos en la solución, en donde el extracto actúa como antioxidante.

Figura 8 Metabolitos secundarios encontrados en el extracto de las plantas



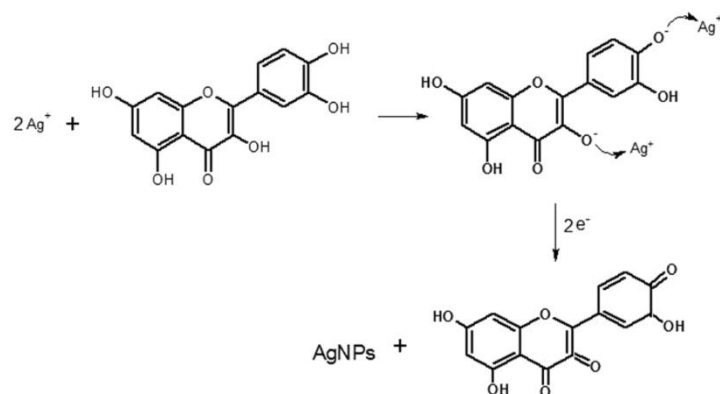
Nota. En la figura se puede observar la estructura del Terpenoide A, los Flavonoides (B y C), la hexosa reductora con cadena abierta (D) y los aminoácidos(E y F) Tomado de Green Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants(p.37) por (Makarov et al., 2014).

Los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto de las plantas utilizados en la síntesis de la NP's Ag son Terpenoides, flavonoides y aminoácidos como se puede observar en la figura 8 que se pueden encontrar en extractos acuosos de semillas, hojas o cortezas. (Makarov *et al.*, 2014) encontró que, cuando los iones de plata ganan electrones, se convierten en plata metálica para formar nanopartículas. En comparación con el método tradicional, la ventaja de este método es que las moléculas activas están unidas a la superficie de las nanopartículas y tienen características únicas. Y sus características antimicrobianas dependerán del tipo de extracto u organismo utilizado.

1.2.4.4. MECANISMO DE REACCIÓN DE SÍNTESIS DE NANOPARTICULAS

El mecanismo de reacción se produce entre el catión de plata con mayor concentración en el extracto vegetal y el compuesto reductor. El mecanismo de reacción global de síntesis de nanopartículas de plata se puede observar en la figura 9.

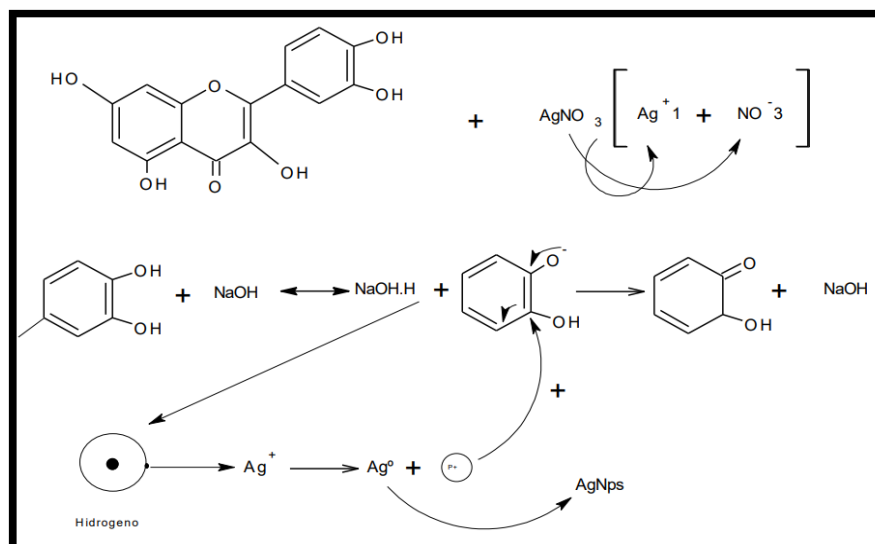
Figura 9 Mecanismo de reacción de síntesis de NP's Ag



Nota. Tomado de Green synthesis of NP's Ag stabilized with biowaste and their antimicrobial activities (p.1328), por (Jasuja *et al.*, 2014)

La quercetina ($C_{15}H_{10}O_7$) es un polifenol de ácido multiprótico con cinco grupos hidroxilo portadores de hidrógeno, que actúan como ácidos en reacciones de redox (Reducción-oxidación). El hidrógeno más ácido es el hidrógeno que tiene una reacción espontánea. En el caso de la Quercetina tiene 2 hidrógenos fuertemente ácidos y su desprendimiento para formar un ion enolato (O -base conjugada) puede ser acelerado mediante una base fuerte como catalizador. conjugada β) puede acelerarse mediante la base fuerte como catalizador. La Figura 10 muestra el mecanismo de oxidación de un solo grupo hidroxilo y la posterior reducción de iones de plata.

Figura 10 Mecanismo de reacción específico de síntesis de NP's a partir del hidrogeno de un hidroxilo del radical fenil de la molécula de Quercetina



Nota. Tomado de Elaboración de nanopartículas de plata vía síntesis y compuestos orgánicos de púnica granatum (p.16), por (Castro Batioja, 2018).

El hidrógeno que se libera se convierte en un ácido conjugado débil y el grupo hidroxilo se convierte en un ion enólico, su oxígeno tiene solo 7 electrones en la última capa y no cumple con la ley del octeto. El electrón se une a uno de los carbonos que forman el doble enlace, y luego el carbono adyacente deja 7 electrones en la última capa. El electrón se combina con uno de los carbonos que forman el doble enlace, y luego el carbono adyacente deja 7 electrones en la última capa. Como se muestra en la Figura 10, el hidrógeno aislado en la solución está en contacto con iones de plata. El hidrógeno proporciona su único electrón a la plata, reduciéndola a una forma estable Ag^0 , y mantiene el protón en estado libre en la solución, regresa y se combina con el carbono que carece de 1 electrón en la última capa, observando así la ley del octeto. Esto crea un átomo de hidrógeno que se une al carbono y se estabiliza el tautómero de cetona de la quercetina. Eventualmente, Ag^0 entra en contacto con otros átomos de plata estables, y unen sus electrones unitarios para formar un grupo de electrones. La nube de electrones apunta continuamente a todas las caras del grupo de átomos de plata, por lo que todos siguen la ley. En la posición ocho, se establece un enlace metálico para nuclear los átomos de plata y formar nanopartículas estables.

Debido a la constante de acidez de los cinco átomos de hidrógeno del grupo hidroxilo en la estructura molecular de la quercetina, se encontró la constante más baja:

En el grupo hidroxilo unido al carbono 4 del grupo fenilo (pH). En la estructura principal de la molécula conectada al carbono 3, el grupo hidroxilo es 4-cromona o 1,4-benzopirano. Debido a la estructura de la quercetina, las constantes de baja acidez son importantes, por cada hidrógeno con un pKa bajo, cada hidrógeno cede un electrón, lo que hace que el grupo hidroxilo de la quercetina proporcione un total de dos electrones. Estos electrones se utilizan para reducir el ion de plata $Ag + 1$ que se encuentra en medios acuosos. Según la Tabla 2 y su descripción, dado que son dos electrones que la quercetina puede transferir, y dado que el estado de oxidación de la plata ionizada es +1, la reacción química utiliza átomos de quercetina y dos cationes de plata monovalente.

Tabla 1 Constante de acidez de los grupo -OH del agente reductor.

Constantes de acidez de los grupos-OH de la quercetina	
pKa	Ubicación del hidroxilo
7,17	Hidroxilo ubicado en el tercer carbono de la estructura principal (1,4-benzopirano 4-cromona)
8,26	Hidroxilo ubicado en el cuarto carbono del radical fenil
10,13	Hidroxilo ubicado en el tercer carbono del radical fenil
12,3	Hidroxilo ubicado en el quinto carbono de la estructura principal
13,11	Hidroxilo ubicado en el séptimo carbono de la estructura principal

Fuente: Tomado de (Castro Batioja, 2018)

1.2.4.5. USOS DE NANOPARTICULAS DE PLATA

Como lo menciona (Ávalos et al., 2013) las nanopartículas de plata están presentes en aerosoles, detergentes, frigoríficos, lavadoras, sistemas de tratamiento de aguas, pinturas, entre otros productos. En la manufactura textil están para la producción de prendas de vestir, ropa interior y calcetines ya que al insertar las NP's Ag en fibras sintéticas o naturales consiguen un efecto antimicrobiano ó antiolor.

Dentro del campo de la agricultura, las NP's Ag se emplean para alargar la conservación de frutos, retardando el incremento de hongos fitopatógenos; también se emplean junto con un recubrimiento biodegradable en los frutos, otro uso es en la fabricación de materiales en contacto con los alimentos, reduciendo hasta en un 90% el crecimiento de organismos en los alimentos para la conservación de alimento.

1.2.4.6. PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS DE LAS NP's Ag

Debido a las características de las nanopartículas metálicas (NP), incluidas las ópticas, eléctricas, de esterilización y catálisis, se ha realizado una extensa investigación sobre ellas. Las propiedades de las nanopartículas metálicas dependerán de su tamaño, forma y dispersión de cada partícula (Solomon et al., 2007).

Las nanopartículas de plata NP's Ag están relacionadas con partículas de plata más grandes y tienen una fuerte actividad antibacteriana. Los productos fabricados con NP's Ag se pueden utilizar para heridas, anticonceptivos, instrumentos quirúrgicos y prótesis óseas; todos estos productos están recubiertos con NP's Ag para prevenir el crecimiento bacteriano (Ávalos et al., 2013)

La característica más atractiva de las nanopartículas de plata desarrolladas para aplicaciones antibacterianas es la baja probabilidad de que los microorganismos adquieran resistencia de los antibióticos basados en NP's Ag.

1.2.4.7. TOXICIDAD DE NANOPARTICULAS DE PLATA

No se han observado los síntomas tóxicos de las nanopartículas de plata, lo que lo convierte en un material confiable. Más importante que el tamaño de las nanopartículas biosintetizadas es que su superficie no contiene sustancias nocivas. Además, pueden recubrirse con compuestos orgánicos, lo que los hace adecuados para aplicaciones médicas. En comparación con los métodos convencionales, la biosíntesis de las NP's tiene diferentes ventajas. Por ejemplo, para el tratamiento del cáncer. Entre los metales, la plata (Ag) es más tóxica para los microorganismos, pero menos tóxica para las células de los mamíferos. Sin embargo, los iones de plata tienen la desventaja de formar complejos y el papel de los iones solo se mantiene durante un breve período de tiempo. Esta deficiencia se ha superado mediante el uso de nanopartículas de plata (NP's Ag) en forma inerte. Las NP's Ag con un tamaño en el rango de 1-10 nm, es altamente tóxico para muchos microorganismos, porque se fijan en la superficie de la membrana celular e interferirán seriamente con sus funciones normales, como la respiración y la permeabilidad según (Pumacota Paricahua, 2018) además menciona que NP's

Ag inhibe el crecimiento bacteriano al dañar el ADN, lo que resulta en la pérdida de la replicación y degradación del ADN.

Aunque NP's Ag se usa ampliamente, el modo de acción de los microorganismos no se comprende completamente. Sin embargo (Rajeshkumar & Bharath, 2017) informa que la NP's Ag es de tamaño pequeño y puede entrar fácilmente en las células bacterianas y afectar los procesos intracelulares como el ADN, el ARN y la síntesis de proteínas. Además, también se plantea la hipótesis de que los iones de plata de las NP's Ag (especialmente Ag⁺) pueden interactuar con el fósforo que se encuentra en los residuos de ADN o reaccionar con proteínas que contienen azufre, lo que resulta en una pérdida de viabilidad celular provocando la muerte celular.

1.2.5. ESPECIE VEGETAL

Chuquiraga spinosa (Huamanpinta) Es un matorral perenne, siempre verde y espinoso de tamaño que varía entre 30 a 40cm y de 1 a 1.5 metro de alto, con ramas densas, sus hojas son lanceoladas unos 15 mm de largo estas terminan en pequeñas espinas como se observa en la figura 11. Sus flores son de color rojo o anaranjado de 3 a 4 cm de largo, formado por brácteas en sus series, las cabezuelas tienen de 15 a 23 flores de corola anaranjado, con los estigmas sobresaliendo notoriamente formando un mechón. Se encuentra distribuido en los valles de la sierra peruana de 3000 a 4500 m.s.n.m.

La planta *Chuquiraga spinosa* abundan en el distrito de Quilcas región Junin y su nombre común es Huamanpinta, es una planta semi leñosa con una altura de 1 a 1,5 metros, su tallo se encuentra muy ramificado y densamente hojeado. Las hojas, dispuestas de manera uniforme y alternada, hacen que el pecíolo corto redondo sea simple y completo, todo el pecíolo de 1,5 mm de diámetro, verde fuerte y brillante, con espinas axilares, sus flores son de color amarillo anaranjado con anteras y corola sagital, una de sus características destacadas se debe a la división del disco segmentario. Cabeza de flor, flores sésiles dispuestas sobre las axilas de las hojas. Los capítulos femeninos con involucre cilíndrico y con brácteas dispuestas o menos en cinco series, las externas de forma redondeadas y las internas angostamente redondas. Receptáculo cónico, alveolado.

Algunas flores tienen corolas filiformes, aquenios glabros, discos en los lados superior y lateral. Páculas ligeramente amarillas. El capítulo masculino tiene forma cilíndrica, consta de tres piezas, y se divide en tres series. Los estambres elípticos exterior e interior tienen 5 estambres. Los filamentos son libres y soldados por anteras (casi nacidas). El recipiente cónico de aleación con un diámetro de 1,5 mm.

Figura 11 *Chuquiraga spinosa* "Huamanpinta" en su hábitat natural



Fuente: (Bussmann & Douglas, 2015)

1.2.5.1. CLASIFICACION TAXONOMICA DE LA ESPECIE

La Identificación de la especie se realizó en el Herbario (HCEN-FO) de la Universidad Nacional del Centro del Perú según la Taxonomía APG IV, versión 14, 2017.

Reino: *Plantae*

División: *Tracheophyta* (plantas con semillas)

Clase: *Equisetopsida*

Subclase: *Magnoliidae*

Super orden: *Asteranae*

Orden: *Asterales*

Familia: *Asteraceae*

Especie: *Chuquiraga spinosa*

Nombre común: "Huamanpinta"

La Huamanpinta pertenece a la familia *Asteraceae* que es la segunda de las familias más diversas de nuestro país, en su mayoría las especies de esta familia son hierbas y arbustos. (Perez-Chauca et al., 2020)

1.2.5.2. COMPOSICIÓN QUIMICA DE LA HUAMANPINTA

Los diferentes estudios realizados a la especie vegetal reportan la presencia de alcaloides, terpenoides, quinonas, esteroides, saponinas, flavonoides, taninos, compuestos

fenólicos según (J. Arroyo Acevedo et al., 2017; J. L. Arroyo Acevedo et al., 2018; Herrera-Calderon et al., 2017) en la composición química de las partes aéreas de la Chuquiraga spinosa.

(Landa et al., 2009) reportaron en su trabajo titulado Identification and Quantification of Flavonoids from *Chuquiraga spinosa* (Asteraceae) identificaron nueve flavonoides (kaempferol, quercetina e isorhamnetin y sus derivados 3-O-glucósidos, glucurónidos y rutinósidos) a partir de extractos metanólicos de las partes aéreas (flores y hojas) de Chuquiraga spinosa mediante análisis por High-Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detection (HPLC/DAD), High Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometer (HPLC/MS) y Nuclear Magnetic Resonance (NMR). La figura 12 resume los principales compuestos químicos identificados en la Huamanpinta.

Figura 12 Compuestos químicos de *Chuquiraga spinosa*.

Clase química	Compuestos aislados	Partes usadas	Método	Referencia
Flavonoides glucosilados	kaempferol 3-O-glucósido	Hojas (EM)	HPLC-DAD, HPLC-MS y NMR	Senatore <i>et al.</i> 1999, Landa <i>et al.</i> 2009
	kaemperol-3-O-glucurónido	Hojas (EM)	HPLC-DAD, HPLC-MS y NMR	Landa <i>et al.</i> 2009
	kaempferol 3-O-rutinósido	Hojas (EM)	HPLC-DAD, HPLC-MS y NMR	Senatore <i>et al.</i> 1999, Landa <i>et al.</i> 2009
	quercetina-3-O-glucósido	Hojas (EM)	HPLC-DAD, HPLC-MS y NMR	Landa <i>et al.</i> 2009
	quercetina-3-O-glucurónido	Hojas (EM)	HPLC-DAD, HPLC-MS y NMR	Landa <i>et al.</i> 2009
	quercetina 3-O- rutinósido	Hojas (EM)	HPLC-DAD, HPLC-MS y NMR	Senatore <i>et al.</i> 1999, Landa <i>et al.</i> 2009
	isorhamnetin-3-O-glucósido	Hojas (EM)	HPLC-DAD, HPLC-MS y NMR	Landa <i>et al.</i> 2009
	isorhamnetin-3-O-glucurónido	Hojas (EM)	HPLC-DAD, HPLC-MS y NMR	Landa <i>et al.</i> 2009
	isorhamnetin-3-O-rutinósido	Hojas (EM)	HPLC-DAD, HPLC-MS y NMR	Landa <i>et al.</i> 2009

Fuente: Tomado de (Perez-Chauca et al., 2020)

1.2.5.3. EXTRACTO ACUOSO DE LA HUAMANPINTA

Para el uso medicinal tradicional de *Chuquiraga spinosa* se emplea la infusión o decocción de las partes aéreas (hojas, tallos y flores secas) de la planta sola o junto a otras especies. (Bussmann & Douglas, 2015; Perez-Chauca et al., 2020).

(Casado et al., 2011) obtuvo el extracto acuoso de las partes aéreas de la Huamanpinta luego de secarlas a temperatura ambiente, pulverizarlas y macerarla 500g de muestra en 500ml de agua por 2 días a temperatura ambiente. En el análisis realizado a estas muestras por (Landa et

al., 2009) lograron identificar y cuantificar 3 flavonoides quercetina-3-O-glucurónido, kaemperol-3-O-glucurónido e isorhamnetina-3-O-glucurónido en altas cantidades. Respecto a el extracto con metanol y metanol al 50% de la misma muestra no hubo diferencias cualitativas, pero si cuantitativas.

1.2.5.4. APLICACIÓN DEL EXTRACTO DE LA HUAMANPINTA

Chuquiraga spinosa es una especie con propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antimicrobianas, antifúngicas y anticancerígenas frente a cáncer próstata y gástrico in vitro y finalmente efecto citotóxico (Perez-Chauca et al., 2020), es por ello que es empleado para tratar diferentes enfermedades genitourinarias, inflamatorias, infecciosas y reproductivas por los lugareños del distrito de Quilcas.

(Casado et al., 2011) empleo el extracto acuoso de *Chuquiraga spinosa* para determinar su acción antioxidante por el ensayo de eliminación de radicales DPPH, ABTS y actividad de eliminación de radicales de superóxido, en comparación con los mismos ensayos realizados al extracto metanólico al 50% de la misma muestra, el resultado fue menor esto debido a una menor cantidad de compuestos fenólicos presentes en el extracto acuoso.

El mismo autor ha estudiado la actividad antifúngica del extracto acuso de la Huamanpinta frente a *Cladosporium cucumerinum* (MIC 2,5 ug/mL) y ha demostrado su actividad antifúngica características útiles para la conservación de alimentos o productos en la industria cosmética.

1.2.5.5. CARACTERIZACIÓN DE LA HUAMAPINTA

A. Marcha Fitoquímica

Para determinar cualitativamente aquellos componentes químicos presentes en el extracto de las partes aéreas de la Huamanpinta como: alcaloides, flavonoides, taninos, glucósidos, terpenoides, antronas, naftaquinonas y saponinas se realiza el ensayo o de marcha fitoquímica.

La tabla 2 muestra los metabolitos secundarios, la reacción y los resultados obtenidos de la marcha fitoquímica realizado por (Ramirez Roca et al., 2014).

Tabla 2. Marcha Fitoquímica de *Chuquiraga spinosa*

Metabolitos secundarios	Reacción	Resultados	Observaciones
Glicosidos	Molish	++	Coloración violeta
	Dragendorf	++	Precipitado rojo
Alcaloides	Mayer	++	Precipitado blanco
	Popof	++	Precipitado amarillo
	Gelatina	++	Precipitado blanco
Taninos	Agua de bromo	++	Precipitado amarillo
Aminoácidos libres	Ninhidrina	--	
Flavonoides	Shinoda	+++	Coloración roja
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	++	Coloración verde
Saponinas	Ensayo de espuma	---	
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman-Burchard	+++	Coloración verde azulada
Lactonas sesquiterpénicas	Bajlet	+	Coloración naranja
Antronas y naftoquinonas	Borntrager	+	Coloración rojo claro
Principios amargos y astringentes	Organoléptico	++	Sabor amargo y astringente

Nota: (-): No se evidencia presencia, (+): Presencia de trazas, (++): Presencia moderada, (+++): Presencia abundante, Tomado de (Ramirez Roca et al., 2014).

B. Determinación de Polifenoles método Folin Ciocalteu

La prueba de Folin-Ciocalteu se utiliza para medir el contenido de compuestos fenólicos totales en extractos de plantas. Basada en el hecho de que estos compuestos reaccionan con el químico de Folin-Ciocalteu a pH alcalino produciendo un color azul, y que se mide por espectroscometría en la longitud de onda de 765nm. Este reactivo incluye una mezcla de tungstato de sodio y molibdato de sodio en ácido fosfórico que interactúan con los compuestos fenólicos presentes en los extractos. El enlace fosfomolibdeno ácido tungstático (formado por dos sales en un medio ácido), es de color amarillo, y al ser reducido por grupo fenol, forma un complejo azul intenso, su fuerza se puede medir para evaluar el contenido de polifenoles (V. Singleton y Rossi, 1965.(Casado et al., 2011) en su trabajo titulado Anti-inflammatory, antioxidant and antifungal activity of *Chuquiraga spinosa*, obtuvieron 3 extractos de metanol, metanol al 50% y agua de las partes aéreas de *C. spinosa* reportando 12,59; 6,25 y 5,37 de Contenido de Polifenoles Totales (expresado en mg de Ácido gálico por 100 mg de extracto). En el análisis de

cromatografía líquida se identificó que la mayoría de los compuestos son flavonoides y derivados del ácido fenólico.

C. Determinación de Flavonoides método HPLC

La espectrometría de masas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-MS) se utiliza para identificar y cuantificar los metabolitos secundarios evidentes en el extracto de Huamanpinta, puede ser analizada por cromatografía líquida de alta resolución y detectada por la matriz de diodos (HPLC-DAD). (Landa et al., 2009)

CAPITULO II

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. METODOLOGIA

En la presente investigación se utilizó el método experimental para lograr su desarrollo basada en referencias bibliográficas científicas, el proceso de la experimentación se desarrolló en el Laboratorio de la Unidad de Investigación y Experimentación en Sólidos de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Centro del Perú y en el Laboratorio de Nanotecnología e Innovación Tecnológica de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

2.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

2.2.1. VARIABLE DEPENDIENTE

Tamaño de nanopartículas de plata (nm)

2.2.2. VARIABLES INDEPENDIENTES

Tabla 2. Variables Independientes

VARIABLES	NIVELES		
	Bajo	Medio	Alto
Peso de muestra (g)	0,5	1	2
Concentración de la solución de AgNO ₃ (M)	0,001	0,01	0,02

2.2.3. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Para determinar los parámetros adecuados de la síntesis de nanopartículas de plata se empleó el diseño experimental en factorial esquematizado en la siguiente tabla:

Tabla 3. Diseño experimental factorial

N°	Peso de la muestra (g)	Concentración de AgNO ₃ (M)	Tamaño de Nanopartículas de plata (nm)
1	0,5	0,001	y1
2	0,5	0,01	y2
3	0,5	0,02	y3
4	1	0,001	y4
5	1	0,01	y5
6	1	0,02	y6
7	2	0,001	y7
8	2	0,01	y8
9	2	0,02	Y9

2.3. MATERIALES REACTIVOS Y EQUIPOS

2.3.1. MATERIALES

2.3.1.1. Materiales de recolección de muestra de especie vegetal

- Sistema de Posicionamiento Global (Gps)
- Papel Craft

2.3.1.2. Materiales para la síntesis de NP's Ag

- Vasos de plástico esterilizado de 100 mL
- Matraces Erlenmeyer de 200 mL
- Fiolas de 250 mL
- Micropipetas de 10 mL
- Buretas de 10 mL y 50 mL
- Pizetas de 500 mL
- Varillas de vidrio
- Lunas de reloj
- Frascos ambar de 30mL con tapa
- Mortero de cerámica con pilón
- Varillas de vidrio
- Lunas de reloj

2.3.1.3. Materiales para la caracterización de NP's Ag

- Puntas para micropipeta de 1 ml
- Cubetas de cuarzo de espectrofotómetro
- Cubetas ópticas de DLS

2.3.2. REACTIVOS

- Agua Ultrapura
- Agua Destilada
- Nitrato de Plata (Merck)

2.3.3. EQUIPOS

- Balanza analítica (0,001 g – Sartorius)
- Estufa
- Cocinilla eléctrica
- Agitador magnético (VELP SCIENTIFICA)
- Espectrofotómetro UV-vis (SHIMADZU modelo UV 160I), (Laboratorio FAIIA-UNCP)
- Dispersión Dinámica de Luz (DLS) – Nicomp 3000, (Laboratorio FIQ-UNCP)
- Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC) Modelo Agilent 1260 INFINITY DAD (Laboratorio de UPCH)

2.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.4.1. PROCEDENCIA MUESTREO Y CARACTERIZACIÓN DE *Chuquiraga spinosa* (Huamanpinta)

2.4.1.1. Procedencia de *Chuquiraga spinosa* Less

En el trabajo de investigación se utilizó las flores y hojas de la *Chuquiraga spinosa* procedente del anexo Llacta, distrito de Quilcas, provincia de Huancayo en la región Junín; la ubicación exacta se detalla en la tabla 4.

Tabla 4. Procedencia de *Chuquiraga spinosa* Less

Región	Provincia	Distrito	Anexo	Latitud y Longitud
Junín	Huancayo	Quilcas	C.P. Llacta	11° 55' 45.31" S 75° 14' 8.97" O

Figura 13 Ubicación de la zona de recolección de Huamanpinta



2.4.1.2. Recolección y Muestreo de la planta

El muestreo fue no probabilístico, según MALHOTRA (2008), este tipo de muestreo se basa en el juicio personal del investigador mas no en el azar para la selección de los elementos de la muestra que mejor le convengan para su estudio es decir puede seleccionar de manera arbitraria o consciente de cuales elementos incluirán la muestra. En este trabajo de investigación se seleccionó las plantas que tenían más flores y hojas de la zona de Llacta en el distrito de Quilcas.

Figura 14 Recolección de la Muestra de *Chuquiraga spinosa* en campo



2.4.1.3. Tratamiento de la muestra de hojas y flores recolectadas

La muestra recolectada en estado fresco se lavó 2 veces con agua potable, 2 veces con agua destilada y finalmente se enjuagó 1 vez con agua ultrapura. Se separó hojas y flores de las ramas y se dejó secar a temperatura ambiente por 1 hora en ausencia del sol, a continuación, se secó a 40° C por 1 hora en la estufa, finalmente se almacenó en un frasco ámbar las hojas y flores hasta su posterior uso para la obtención del extracto.

La muestra se analizó en el laboratorio de La Molina Calidad Total Laboratorio de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM) para el análisis de compuestos fenólicos totales por el método (Swain & Hillis, 1959) y técnica Espectrofotometría Uv-Vis y al laboratorio de Calidad de la Universidad Cayetano Heredia para la cuantificación de flavonoides por la técnica HPLC.

La muestra se dividió en tres partes 200g para el análisis de compuestos fenólicos totales, 60g para la cuantificación de flavonoides y 10g para ser usada en la síntesis de nanopartículas.

Figura 15 Hojas y flores de Huamanpinta secando en la estufa a 40°C por 1 hora



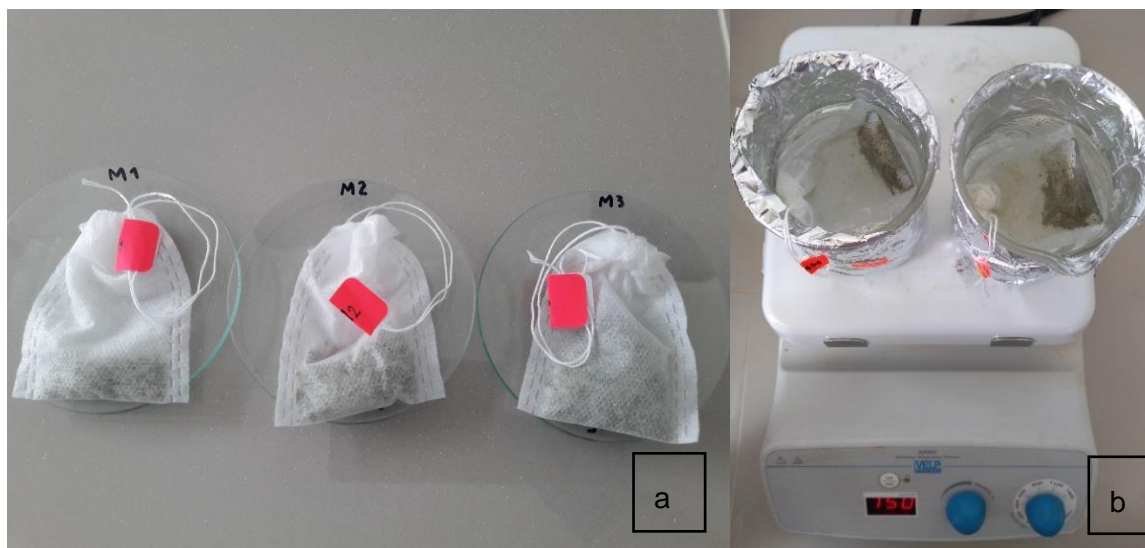
2.4.2. SINTESIS DE LAS NANOPARTICULAS DE PLATA

2.4.2.1. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO DE *Chuquiraga spinosa*

Se utilizaron dos concentraciones del extracto para cada tipo de muestra (hojas y flores) de *Chuquiraga spinosa* esta se realizó de la siguiente manera:

- Se cortaron las hojas en trozos más pequeños.
- Luego se pesó 2; 1 y 0,5 g de una muestra de hojas de *Chuquiraga spinosa*, por separado para ello se realizó el cuarteo de la muestra para garantizar su homogeneidad, se pesaron en total tres muestras como se observa la figura 16(a) según diseño experimental en filtros de tela, filtros que fueron previamente lavados con agua ultrapura y secada.
- En 3 vasos de precipitación se agregó 200mL agua ultrapura y se colocaron en la cocinilla eléctrica hasta mantener una temperatura constante de 60°C, luego se sumergieron los filtros con las muestras en los vasos por una hora figura 16(b), este método fue adaptado de (Perales & Travezaño, 2019).
- Cubrir todo el vaso durante 1 hora y finalmente retirar el filtro con ayuda de la varilla de vidrio, a la derecha el extracto debe guardarse en refrigeración a 4°C para posteriores análisis.
- Las concentraciones de los extractos obtenidos a partir de las hojas de Huamanpinta son 1×10^4 ; 5×10^3 y 2.5×10^3 ppm tal como se detalla en el ANEXO D.
- Transcurrido el tiempo se retira los filtros y los extractos se dejaron enfriar a temperatura ambiente para luego ser usados en la síntesis de nanopartículas.

Figura 16 Obtención del extracto. a) Filtros con muestra b) Obtención del extracto a 60° C

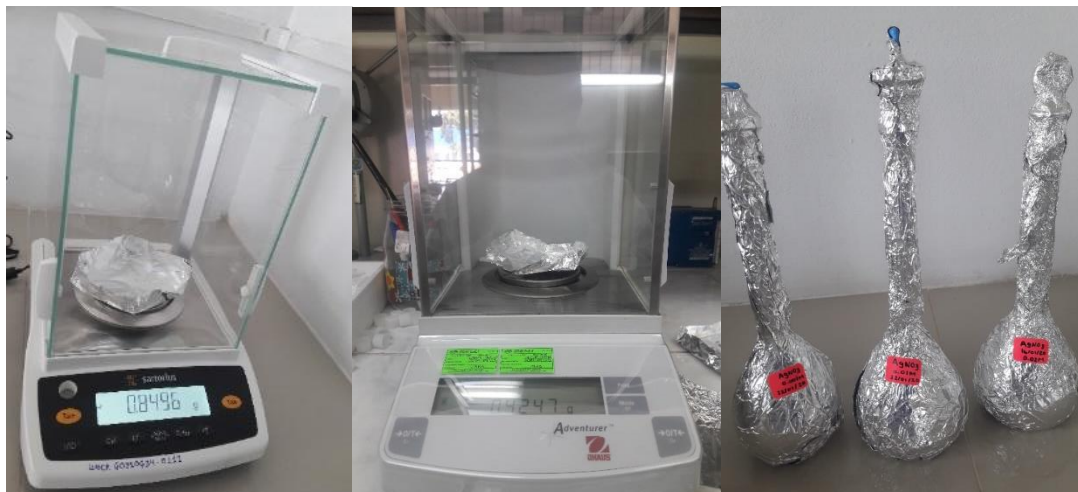


2.4.2.2. PREPARACIÓN DEL AGENTE PRECURSOR AgNO_3

El agente precursor para la síntesis de las nanopartículas de plata es el nitrato de plata (AgNO_3) y según el diseño experimental se utilizó tres concentraciones: 0,001M; 0,01 M y 0,02 M. Los cálculos se encuentran en el anexo C.

- Para ello se pesó 0,0425; 0,4247 y 0,8494 gramos de AgNO_3 de Marca Merck en la balanza analítica como se observa en la figura 17, se disolvió el AgNO_3 en las fiolas de 250mL con agua ultra pura sin dejar caer ningún grano y finalmente, se cubrió la fiola con papel metálico y conservó en un ambiente cerrado y seco para su posterior uso.

Figura 17 Soluciones de Nitrato de plata 0,001 M; 0,01 M y 0,02 M



2.4.2. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

La síntesis de las NP's Ag se realizó con la adaptación del método de (Perales & Travezaño, 2019). En una probeta se midió 25 mL de cada extracto (E₁, E₂, E₃ y E₄) en los matraces previamente cubiertos de papel aluminio.

- Se colocaron los matraces en el agitador magnético a una temperatura constante de 50° C.
- Con ayuda de una micropipeta se agregó 1 mL de la solución de AgNO₃ 0,001 M; 0,01 M y 0,02 M a los matraces según diseño experimental (ver tabla 4).
- La reacción se llevó a cabo en agitación constante de 300 rpm y 50°C por 1 hora y se retiró el magneto.
- Finalmente se dejó enfriar los 8 matraces a temperatura ambiente, para luego trasvasarlos a frascos ámbar previamente rotulado y tapados con papel aluminio ver figura 18.
- Finalmente se limpió el área de trabajo y se procedió a guardar los extractos sobrantes en los frascos esterilizados tapados con papel aluminio para su posterior uso en la caracterización de NP's Ag por UV-Vis, el tiempo de almacenamiento no debe ser mayor a 7 días y conservado en la refrigeradora incubadora a 4° C para evitar que se degraden y/o oxiden.

Figura 18 Nanopartículas de plata en solución sintetizadas a partir del extracto de hojas de *Chuquiraga spinosa*



2.4.3. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

La caracterización física de las nanopartículas de plata se realizó para las 9 muestras de nanopartículas de plata en solución por las técnicas de Espectrofotometría UV-Vis y Dispersión Dinámica de Luz.

2.4.3.1. ESPECTROFOTOMETRO UV-VIS

Este método nos muestra en detalle la presencia de componentes en las gráficas de longitud de onda (λ) y absorbancia (A), con este método podemos identificar los picos característicos de la plata y componentes orgánicos presentes en las diferentes muestras obtenidas. El análisis espectrofotométrico se realizó en el laboratorio de Análisis Instrumental de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional del Centro del Perú en un rango de 350 a 500nm y una absorbancia de 3 y el blanco de lectura fue el extracto empleado para la síntesis de cada muestra. En la figura 19 (a) se muestra el espectrofotómetro UV-Vis usado y en la figura 16(b) se visualiza el grupo de muestras que se analizaron al término de la síntesis de NP's Ag y evidenciaron el cambio de color de amarillo a marrón coloidal.

Figura 19 Espectrofotómetro UV-Vis del laboratorio de FAIIA-UNCP



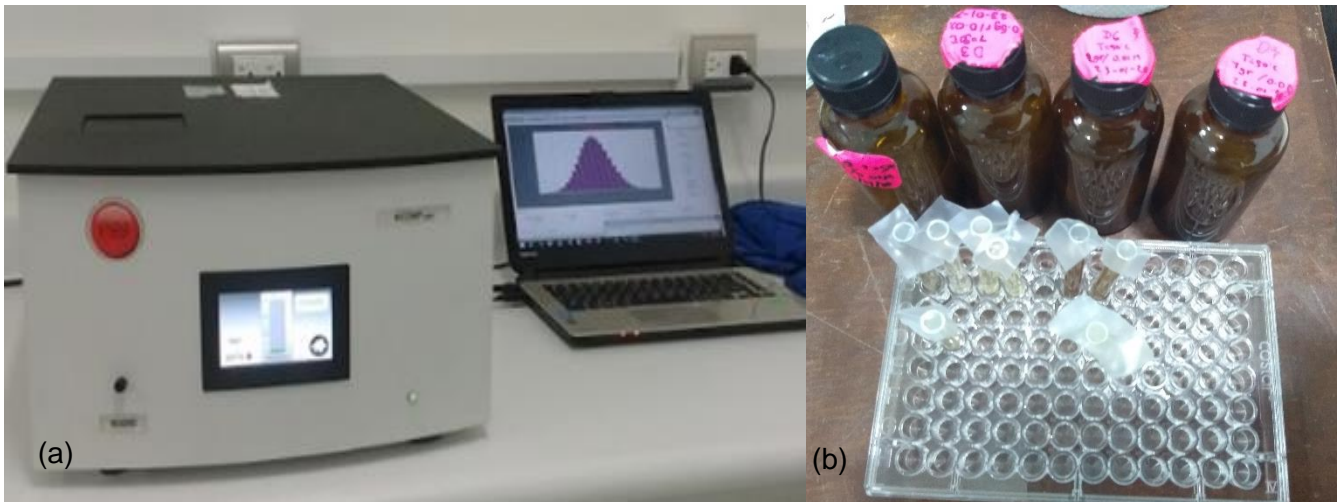
2.4.3.2. DISPERSIÓN DINÁMICA DE LUZ (DLS)

Para conocer la distribución del tamaño y grado de dispersión las muestras de NP's Ag sintetizadas se utilizó la técnica de Dispersión Dinámica de luz, el tamaño de las NP's Ag es una característica física relacionada con la capacidad bactericida he ahí la importancia de las mediciones, siguiendo las siguientes consideraciones.

- Para realizar el análisis, previamente se colocaron todas las muestras en el Sonicador por 30 minutos, luego se tomó una alícuota en el porta muestras con ayuda de una pipeta Pasteur por muestra.
- Para la lectura en el equipo se empleó un tiempo de 12 minutos por muestra; es decir 3 ciclos cada uno de 4 minutos. Las mediciones se realizaron en el laboratorio de Nanotecnología de la facultad de Ingeniería Química de la UNCP, el equipo utilizado se muestra en la figura 20 (a), en la figura 17 (b) se observa los frascos con las NP's Ag sintetizada junto al porta muestra con los tubos Durham y las respectivas muestras a analizar con el equipo DLS.

Los resultados de cada una de las mediciones se encuentran en el anexo L.

Figura 20 Medición de las muestras por DLS. a) Equipo DLS modelo NICOMP 3000 b) Muestras de NP's Ag.



CAPITULO III

TRATAMIENTO DE DATOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

3.1. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES DEL EXTRACTO DE HOJAS DE *Chuquiraga spinosa* POR ESPECTROFOTOMETRO UV-VIS

Según (Rajeshkumar & Bharath, 2017) la composición del extracto, la concentración de iones metálicos y el período de reacción afectan la morfología, la forma y el tamaño de las NP'sAg. Las principales biomoléculas que actúan como agentes reductores en la síntesis de plata son: grupos aminas, flavonoides, alcaloides, terpenoides, aldehídos, taninos, proteínas, aminoácidos entre otros. Los trabajos de investigación de (J. Arroyo Acevedo et al., 2017; Huamán Rivera & Mateo Mejía, 2019; Sanchez Llamosa & Anicama Pariona, 2015) sobre la caracterización fitoquímica de la *Chuquiraga spinosa* concluyeron que contiene fenoles, flavonoides y alcaloides en grandes cantidades. Estos compuestos fenólicos pueden ser determinados mediante el método de Folin-Ciocalteu que es una mezcla de ácido fosfomolibdico $H_3PMo_{12}O_{14}$ y ácido fosfotungstico $H_3PW_{12}O_{10}$, que produce una reacción de óxido-reducción entre el reactivo de Folin-Ciocalteu que se reduce y los polifenoles que se oxidan.

El análisis de Compuestos Fenólicos o Polifenoles Totales en las hojas de Huamanpinta (*Chuquiraga spinosa*) procedente del distrito de Quilcas, realizado por el laboratorio de "La Molina Calidad Total Laboratorios de la UNALM" por el método Folin-Ciocalteu de (Swain & Hillis, 1959) reportó la presencia de Compuestos Fenolicos Totales expresado en 1934,50 mg de Ácido Galico Equivalente(AGE) por cada 100g de muestra de hojas de *Chuquiraga spinosa*.

El valor obtenido en el análisis es menor que el valor obtenido en el trabajo de tesis de (Sanchez Llamosa & Anicama Pariona, 2015) quienes usaron el método Folin-Ciocalteu descrito por (García et al, 2012) para la cuantificación de polifenoles totales presentes en las flores y hojas de la Huamanpinta procedente de la provincia de Cangallo departamento de Ayacucho a más de 3000 msnm y obtuvieron $5180 \pm 1,27$ mg AGE por 100 gramos de muestra en el extracto etanólico de las hojas de la Huamanpinta y 35420 mg AGE por 100 gramos de muestra en el extracto etanólico de flores de Huamanpinta.

Las muestras analizadas en ambos trabajos de investigación provienen de regiones distintas y han estado sometidas a diferentes condiciones ambientales durante su crecimiento, recolección

y tratamiento para su análisis. En el presente trabajo las muestras se recolectaron en el mes de octubre en el distrito de Quilcas región Junín y en el trabajo de (Sanchez Llamosa & Anicama Pariona, 2015) en el mes de marzo en el distrito de Vinchos en Ayacucho. Otro punto a considerar es el medio de extracción de la muestra, como lo demuestra (Landa et al., 2009) en su trabajo de investigación donde realiza la cuantificación de flavonoides del extracto metanólico y acuoso de *Chuquiraga spinosa*. En el extracto metanólico se identificó y cuantificó 9 metabolitos secundarios en grandes cantidades y en el extracto acuoso se encontraron 3 de los 9 analitos con concentraciones a la mitad del extracto metanólico.

El valor obtenido de polifenoles totales en la muestra es quince veces mayor que el obtenido por (Perales & Travezaño, 2019) quienes obtuvieron nanopartículas de 11,6nm.

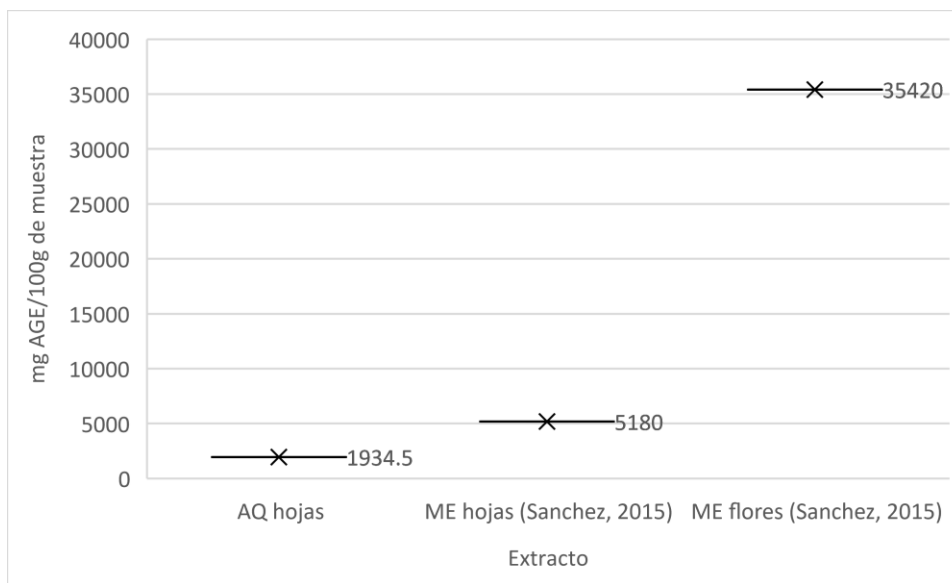
Del trabajo de (Sanchez Llamosa & Anicama Pariona, 2015) también se puede concluir que el extracto de las flores contiene 6 veces más polifenoles totales que el extracto de hojas tal como se muestra en la Fig 21.

Tabla 5. *Compuestos fenólicos totales del extracto acuoso de hojas de Chuquiraga spinosa*

ESPECIE	mg de Ácido Gálico Equivalente / 100g muestra
Hojas <i>Chuquiraga spinosa</i>	1934,50

Fuente: Laboratorio Calidad Total La Molina- UNALM

Figura 21 Cuantificación de Polifenoles Totales



Nota: La figura compara el resultado obtenido con el trabajo de (Sanchez Llamosa & Anicama Pariona, 2015)

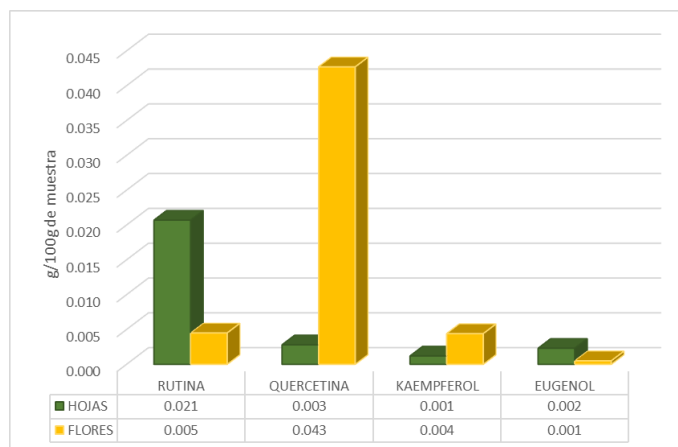
3.1.2. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS DEL EXTRACTO DE HOJAS Y FLORES DE *Chuquiraga spinosa* POR HPLC

El análisis de Compuestos Fenólicos Totales revela el número total de polifenoles presente en la especie vegetal, sin embargo, la complejidad estructural de los polifenoles varía desde simples moléculas fenólica como el ácido gálico hasta complejos compuestos orgánico polimerizados como los terpenoides y flavonoides por ello el análisis por la técnica HPLC nos permite identificar y cuantificar la presencia de estos metabolitos secundarios en la muestra del extracto acuoso de Huamanpinta.

Mediante la técnica de HPLC se identificó y cuantificó 4 componentes que se muestran en la figura 22 estos compuestos fueron antes mencionados por (Calvo, Landa, & Casado, 2009) quienes identificaron y aislaron estructuras de nueve flavonoides de las partes aéreas de *Chuquiraga spinosa*: quercetin-3-O-glucuronide, quercetin-3-O-rutinoside, quercetin-3-O-glucoside, kaemperol-3-Oglucuronide, kaemperol-3-O-rutinoside, kaempherol-3-O-glucoside, isorhamnetin-3-O-glucuronide, isorhamnetin-3-Orutinoside e isorhamnetin-3-O-glucoside por el método HPLC/DAD, HPLC/MS y análisis NMR.

De los resultados obtenidos del estudio podemos resumir que las hojas de la *C. spinosa* tiene en su mayoría el flavonoide Rutina y las flores mayor presencia de Quercetina, quienes serían los principales responsables del mecanismo de reacción para la síntesis de NP's Ag, cumpliendo las funciones de agente reductor de los iones de plata y estabilizante para evitar el crecimiento y/o aglomeración de las nanopartículas.

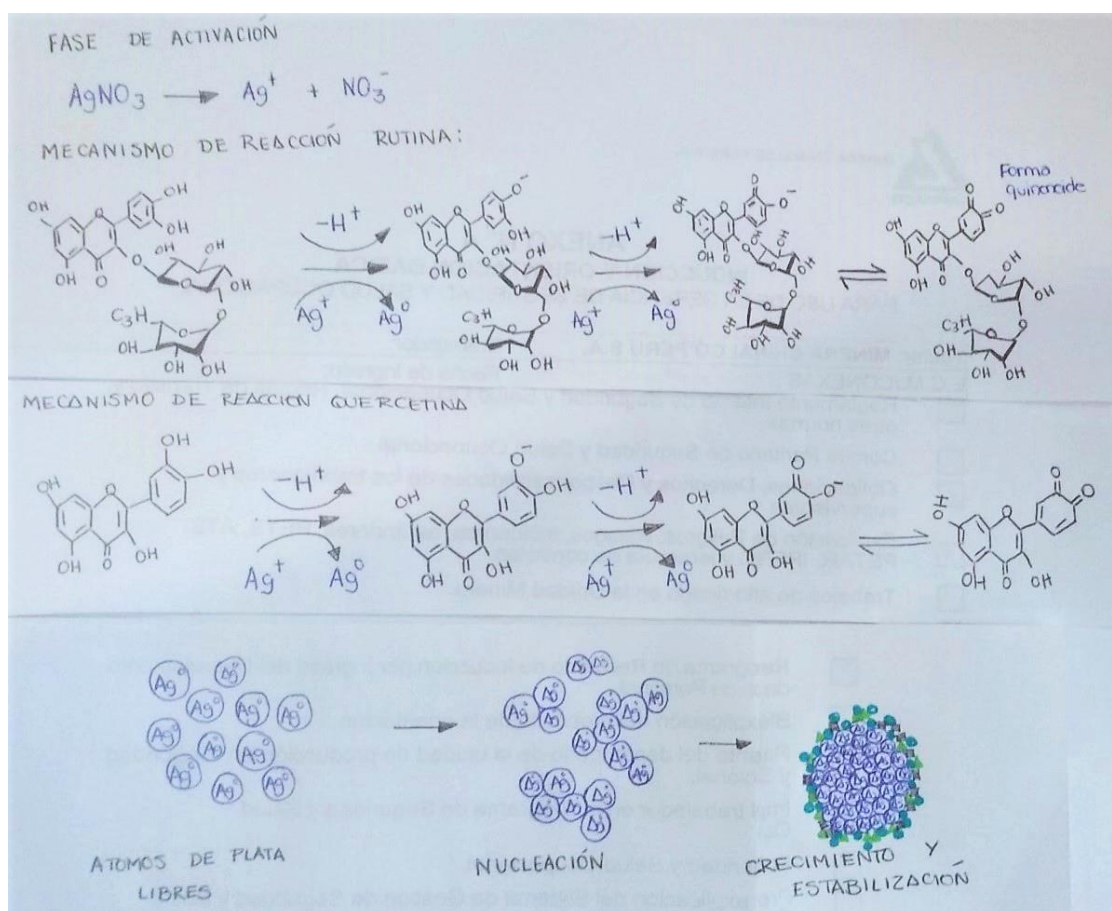
Figura 22 Identificación y cuantificación de Flavonoides y Terpenoides en flores y hojas de *Chuquiraga spinosa*



(Rajeshkumar & Bharath, 2017) asume que el mecanismo de reacción para la reducción de Ag se debe al atrapamiento de iones de Ag⁺ en la superficie de las biomoléculas o fotoquímicos

debido a interacciones electrostáticas entre los iones de plata y las biomoléculas en el extracto del material vegetal. Las biomoléculas reducen los iones Ag^+ , lo que provoca un cambio de estructura secundaria y la formación de núcleos de plata. Los núcleos de plata formados crecen sucesivamente por la reducción adicional de los iones Ag^+ y su acumulación en los núcleos que conduce a la formación de NP's Ag. También menciona que, en la mayoría de los casos, el agente reductor del extracto vegetal también actúa como agente de cobertura y estabilización, lo que nos facilita que no sea necesario añadir sustancias químicas que cumplan la función de estabilizar las NP's Ag. La figura 23 muestra el mecanismo de reacción en la formación de NP's Ag con el extracto acuoso de la Huamanpinta considerando a las biomoléculas Rutina y Quercetina como responsables de la reducción de Ag^+ y posteriormente.

Figura 23 Mecanismo de reducción, crecimiento y estabilización de NP's Ag



Nota: La figura resume el mecanismo de reducción, crecimiento y estabilización adaptado de (Perales & Travezaño, 2019; Rajeshkumar & Bharath, 2017; Santos Espinoza et al., 2020)

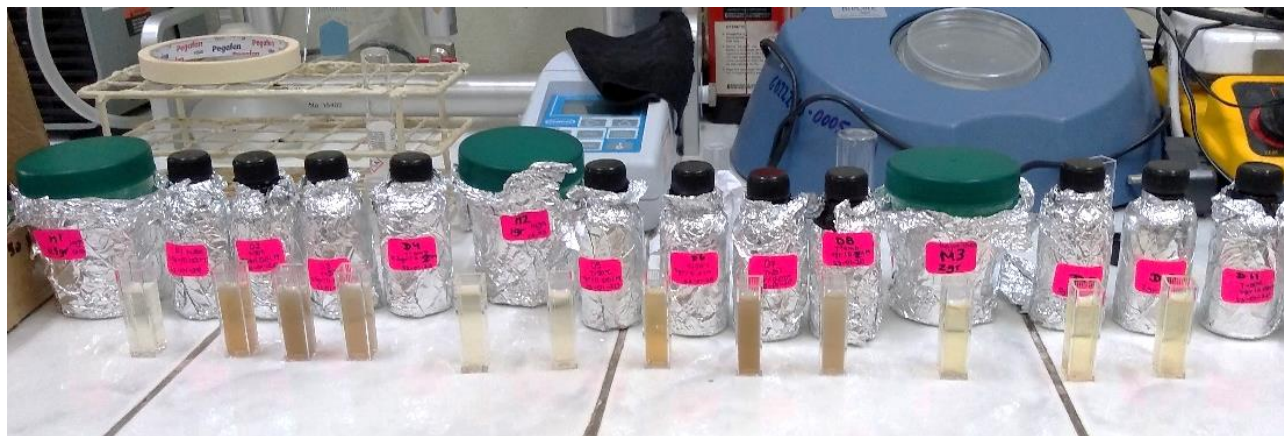
3.2. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTICULAS DE PLATA

3.2.1 CARACTERIZACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS

3.2.1.1. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTICULAS SINTETIZADAS CON EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE *Chuquiraga spinosa*

Una vez formadas las nanopartículas de plata se lleva a cabo su caracterización por las técnicas mencionadas previamente. Iniciamos con la Espectrometría UV-Visible que analiza las características estructurales de las nanopartículas de plata como lo menciona (Kathiresan et al., 2009) y confirma la reducción de iones de plata en la solución coloidal importante en la formación y estabilización de NP's Ag. A medida que se añadían nitrato de plata en los diferentes extractos de hojas, el color de la solución cambiaba de amarillo a un marrón amarillento a un marrón rojizo y finalmente a un marrón coloidal tal como se observa en la figura 24, lo que indica la formación de NP's Ag según (Banerjee et al., 2014). También se han observado cambios de color similares en estudios previos y, por lo tanto, confirmaron la finalización de la reacción entre el extracto de hoja y el $\text{AgNO}_{3(\text{ac})}$. (Le et al., 2011) en su trabajo de investigación sintetizo NP's Ag a diferentes concentraciones (10 ppm a 1000 ppm) y concluyo que el color de la solución varia de amarillo claro a marrón oscuro debido al incremento de la concentración de Ag en la solución, concluyendo que partir de una concentración de 50ppm se observa el cambio de color confirmando la creciente cantidad de NP's Ag y su agregación (Loretta et al., 2016). Como se puede observar en la tabla 6 los experimentos 1, 4 y 7 tienen una concentración por debajo de los 50ppm y color amarillo.

Figura 24 Muestras de NP's Ag con extractos de hojas de *Ch. spinosa* para ser analizada por Espectrometría UV-vis



Los experimentos 2, 3, 5 y 6 mostraron ese cambio color transcurrido 1 hora de reacción, y se realizó la lectura de las 4 muestras por espectrofotometría UV-Vis en el rango de 300nm a 600nm para determinar la formación de las nanopartículas de plata. Los picos característicos de las muestras analizadas se encuentran en el rango de 415nm a 435nm tal como muestran en la tabla 6. Según (Ali et al., 2016; Camacho Polo & Mercado Deschamps, 2013; Morales et al., 2009) el típico pico de la resonancia de plasmón superficial que indica la formación de las nanopartículas de plata se forma entre 400 – 450 nm. Por lo tanto, se confirma la formación de NP's Ag. La absorbancia y la longitud de onda de las cuatro muestras analizadas se pueden visualizar en la tabla 6.

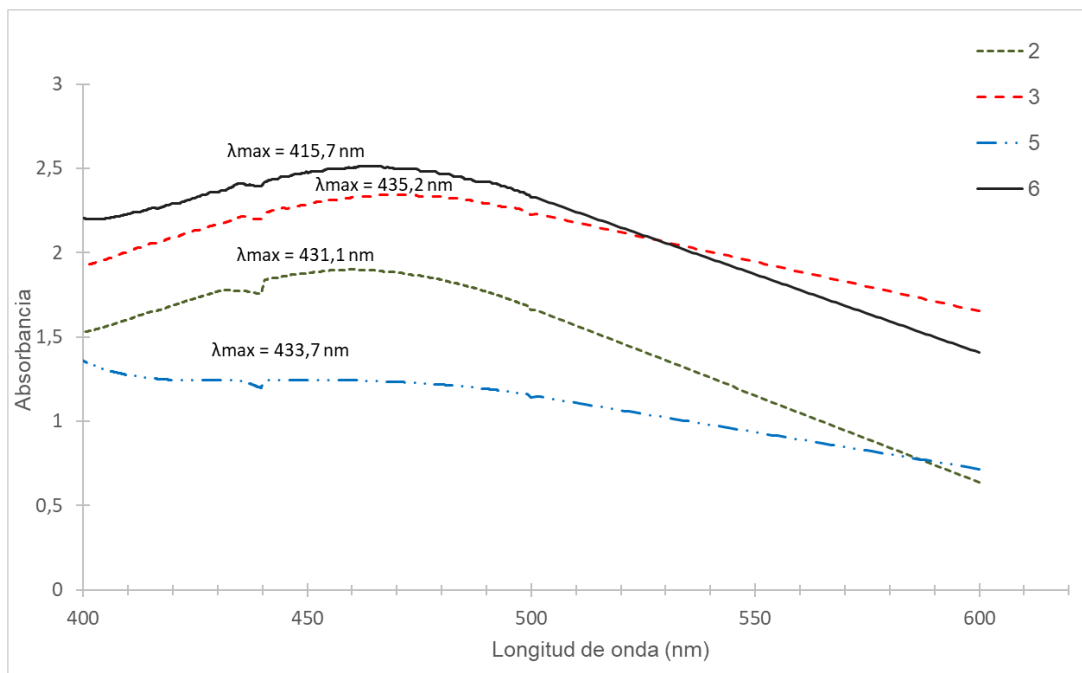
Tabla 6 Absorbancia y longitud de onda de NP's Ag sintetizadas con extracto de hojas de *Ch. espinosa*

Experimento N°	Concentración de NP's Ag AgNO ₃ (ppm)	Uv-Vis	
		λ (nm)	Abs
1	6,54	-	-
2	65,34	431,1	1,778
3	130,67	435,2	2,214
4	6,54	-	-
5	65,34	433,7	1,243
6	130,67	415,7	2,269
7	6,54	-	-
8	65,34	-	-
9	130,67	-	-

La Figura 24 muestra los espectros UV-Vis de la solución y se observa las bandas obtenidas debido a la Resonancia de plasmón superficial. Según (Baset et al., 2011) la posición del pico de absorción depende del tamaño y la forma de las partículas. (J. J. Mock et al., 2002) menciona en su trabajo sobre la forma de NP's Ag en solución coloidal que presentan forma esférica cuando el pico más alto de su banda RPS se encuentra a una longitud de onda entre 400 a 450nm. Adicionalmente como postula la teoría de Mie, las nanopartículas esféricas dan como resultado una banda de resonancia de plasmón de superficie única en los espectros de absorción y las partículas anisotrópicas proporcionan dos o más bandas RPS dependiendo de la forma de la partícula (Mie, 1908). En el presente estudio, las diferentes reacciones confirman bandas RPS únicas que revelan la forma esférica y los diferentes tamaños de las NP's Ag obtenidas tal como se muestra en la figura 25.

A medida que aumenta la concentración del extracto de *C. espinosa*, el pico de absorción adquiere mayor intensidad. Se observa bandas RPS nítidas que indican la formación de una distribución esférica y homogénea de nanopartículas de plata. Tal reducción se observó para el extracto de hoja de *Megaphrynium macrostachyum* (Loretta et al., 2016).

Figura 25 Espectro de absorción UV-vis de Nanopartículas de plata con extractos de hojas de *Chuquiraga spinosa*



3.2.1.2. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTICULAS SINTETIZADAS CON EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Chuquiraga spinosa*

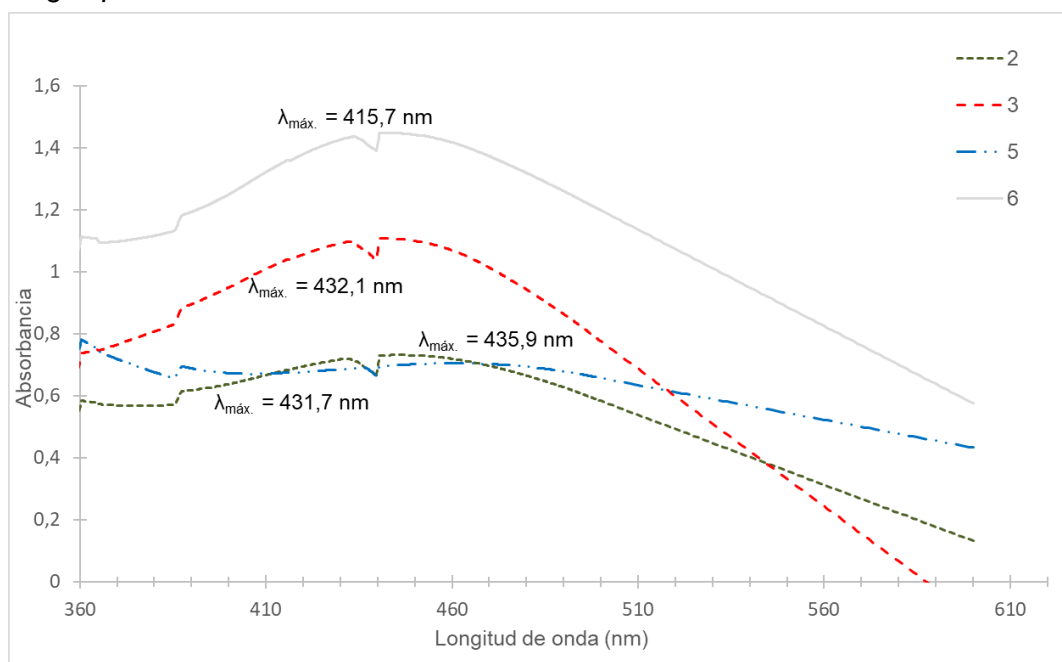
Las muestras sintetizadas a partir del extracto de flores de *Ch. spinosa* que mostraron el cambio de color a marrón coloidal (2, 3, 5, 6 y 7) evidenciando la formación de las nanopartículas de plata también fueron analizadas por *Espectrometría UV-vis*, las longitudes de onda máxima de los picos más altos y la absorbancia de cada una de las muestras se resume en la tabla 7.

Tabla 7 Absorbancia y longitud de onda de NP's Ag sintetizadas con extracto de flores de *Ch. spinosa*

Experimento N°	Concentración de NP's Ag AgNO ₃ (ppm)	Uv-Vis	
		λ (nm)	Abs
1	6,54	-	-
2	65,34	431,7	0,72
3	130,67	432,1	1,097
4	6,54	-	-
5	65,34	435,9	0,691
6	130,67	415,7	1,36
7	6,54	-	-
8	65,34	-	-
9	130,67	-	-

Como se observa en la figura 26 los cuatro espectros presentan bandas RPS nítidas y únicas que indican la formación de NP's Ag con una distribución homogénea (figura 26) y según la tabla 7 los picos más altos se encuentran entre 400 y 450nm lo que indica que las NP's Ag tienen forma esférica.

Figura 26 Espectro de absorción UV-vis de Nanopartículas de plata con extractos de flores de *Chuquiraga spinosa*



Similar a los resultados anteriores con extractos de hojas de *Chuquiraga spinosa* al incrementar la concentración de AgNO_3 se incrementa la absorbancia tal como se observa con las muestras 2, 3, 5 y 6. El incremento de la concentración del extracto en las muestras 3 y 6 según la tabla 7 genero una mayor absorbancia en sus respectivos espectros respecto a las muestras 2 y 5 que tienen la misma concentración de AgNO_3 , esto se debe a la presencia de mayor cantidad de polifenoles (quercetina principalmente) que favorece en la reducción de las NP's Ag. Los valores de absorbancia de las NP's Ag con extracto de flores es menor en los cuatro experimentos con las mismas concentraciones que las NP's Ag con extracto de hojas esto se debe a una mayor presencia de quercetina en el extracto flores responsable de la función de cobertura y estabilización que evita la aglomeración de las nanopartículas.

3.2.2. CARACTERIZACIÓN POR DISPERSIÓN DINÁMICA DE LUZ (DLS)

3.2.2.1. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTICULAS SINTETIZADAS CON EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE *Chuquiraga spinosa*

La caracterización del tamaño de las nanopartículas se realizó mediante DLS, en la tabla 9, se resume el tamaño de NP's Ag promedio sintetizados con el extracto de hojas de *Chuquiraga spinosa* y su respectivo porcentaje de distribución de tamaño caracterizados por DLS. Las NP's Ag de los experimentos 2, 3, 5 y 6 están dentro del rango de 0 a 55 nm y son consideradas nanopartículas, ya que se encuentran dentro de la escala manométrica (0 a 100 nm).

Tabla 8 Resultados de la caracterización de las nanopartículas sintetizadas por DLS

N° Exp.	Variables Independientes		DLS (Análisis de distribución NICOMP ponderado por)	
	Concentración de extracto de hojas de Huamanpinta (ppm)	AgNO ₃ (M)	Número	
			Diámetro promedio de NP's Ag (nm)	Porcentaje de distribución de tamaño (%)
1	2,5x10 ³	0,001	-	-
2	2,5x10 ³	0,01	20,1	99,1
3	2,5x10 ³	0,02	38,3	98,8
4	5x10 ³	0,001	-	-
5	5x10 ³	0,01	54,9	88,8
6	5x10 ³	0,02	44,5	98,5
7	1x10 ⁴	0,001	-	-
8	1x10 ⁴	0,01	-	-
9	1x10 ⁴	0,02	-	-

Nota. Esta tabla muestra como varia el tamaño y porcentaje de distribución de las NP's Ag obtenidas, a los experimentos 1, 4, 7, 8 y 9 no se realizó la medición

La Figura 27 muestra los gráficos de las distribuciones de tamaños de las muestras 2, 3, 5 y 6 de NP's Ag como resultado del análisis por DLS en la distribución NICOMP que es una distribución propia del Software del equipo y proporciona resultados más representativos. El experimento 2 en adelante H2 sintetizado a partir de una concentración de 2,5x10³ ppm de extracto acuoso de hoja de Huamanpinta y 0,01M de AgNO₃ presenta una distribución bimodal con un tamaño de 20,1nm al 99,1% y 95,3 al 0,9% a su vez son las nanopartículas de menor tamaño, esto se debe a las bajas concentraciones de AgNO₃ y extracto de hoja de Huamanpinta. Los experimentos 3, 5 y 6 presentan una distribución trimodal es decir la muestra presenta partículas de 3 tamaños distintos. La muestra 3 (H3) se sintetizó manteniendo la concentración

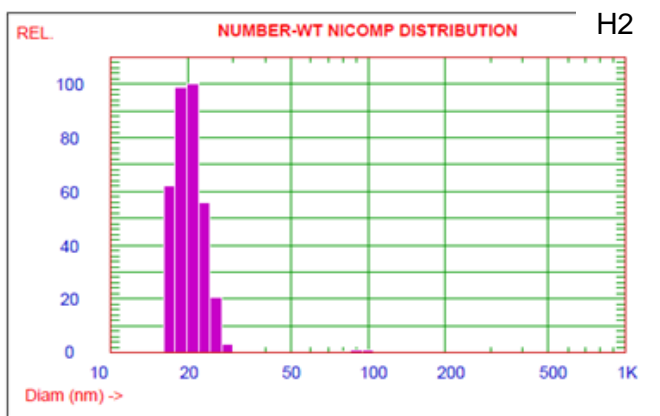
del extracto y el doble de AgNO_3 el tamaño de las NP's Ag se duplicó y se tiene 1,2% de partículas con tamaños superiores a 100nm. La muestra H5 y H6 se prepararon con el doble de concentración del extracto sin embargo esto no evito la aglomeración de partículas, la NP's Ag de H5 son las de mayor tamaño 54,9nm y menor porcentaje de distribución ya que contienen partículas que superan los 100nm. H6 y H3 tienen tamaños y porcentajes similares, H6 es 6nm mayor que H3 lo que nos indica que la concentración del extracto y el tamaño de las NP's Ag es inversamente proporcional. El reporte grafico detallado del análisis por DLS se encuentra en el anexo M.

Figura 27 Gráficos de distribución del tamaño dinámico de NP's Ag sintetizadas con los extractos de hojas de *Chuquiraga spinosa*

NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

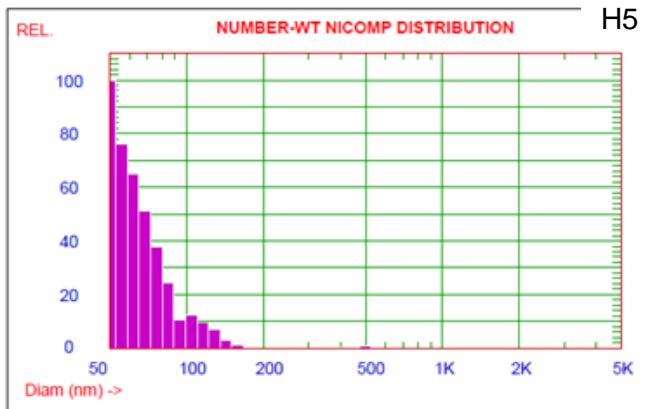
Peak #1: Mean Diam.= 20.1 nm, S.Dev.= 2.3 nm (11.3%) Num= 99.1 %
 Peak #2: Mean Diam.= 95.3 nm, S.Dev.= 9.8 nm (10.2%) Num= 0.9 %



NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

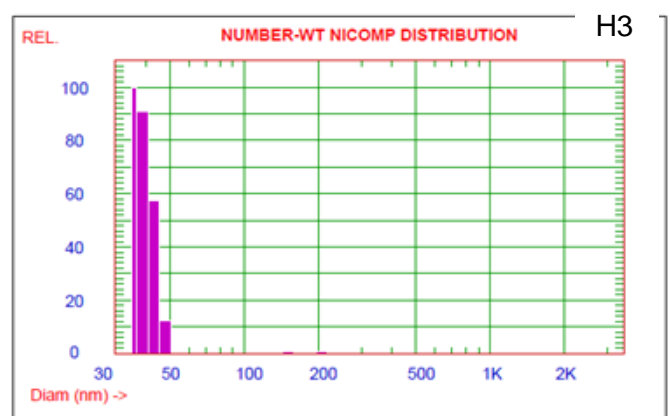
Peak #1: Mean Diam.= 54.9 nm, S.Dev.= 3.7 nm (6.8%) Num= 88.8 %
 Peak #2: Mean Diam.= 108.4 nm, S.Dev.= 18.3 nm (16.9%) Num= 10.7 %
 Peak #3: Mean Diam.= 470.2 nm, S.Dev.= 29.1 nm (6.2%) Num= 0.4 %



NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

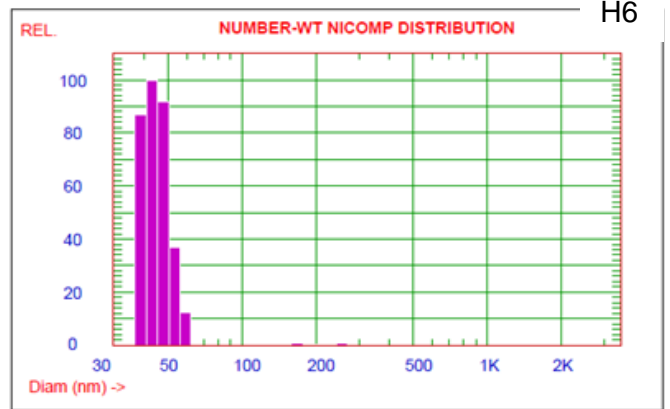
Peak #1: Mean Diam.= 38.3 nm, S.Dev.= 3.2 nm (8.3%) Num= 98.8 %
 Peak #2: Mean Diam.= 155.2 nm, S.Dev.= 21.1 nm (13.6%) Num= 0.7 %
 Peak #3: Mean Diam.= 207.7 nm, S.Dev.= 22.6 nm (10.9%) Num= 0.5 %



NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

Peak #1: Mean Diam.= 44.5 nm, S.Dev.= 5.7 nm (12.7%) Num= 98.5 %
 Peak #2: Mean Diam.= 178.7 nm, S.Dev.= 25.5 nm (14.3%) Num= 0.7 %
 Peak #3: Mean Diam.= 258.5 nm, S.Dev.= 25.4 nm (9.8%) Num= 0.8 %



3.2.2.2. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTICULAS SINTETIZADAS CON EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Chuquiraga spinosa*

Las NP's Ag sintetizadas a partir del extracto de flores de *Ch. spinosa* también fueron analizadas por la técnica DLS para determinar el tamaño de sus diámetros la tabla 10 resume los resultados obtenidos con su respectivo porcentaje de distribución. Las cuatro muestras (2, 3, 5 y 6) tienen un tamaño menor a 10 nm, esto se debe a la capacidad estabilizadora de los polifenoles presentes en el extracto empleado que evitan la aglomeración de las nanopartículas. Debido al incremento de la concentración de AgNO_3 en las muestras 3 y 6 el diámetro de las NP's Ag se incrementó, en la figura 28 se observa que la muestra 3 (F3) tiene NP's Ag de 10nm en un 0,8% y. El incremento de la concentración de los extractos también influyó directamente en el aumento del tamaño de las muestras 5 y 6 pero también favoreció al incremento del porcentaje de distribución del tamaño de las NP's Ag (100%) evitando su aglomeración. La muestra con menor tamaño fue la segunda (F2) donde se empleó $2,5 \times 10^3$ ppm de extracto acuoso de hoja de Huamanpinta y 0,01M de AgNO_3 , se puede decir que son las concentraciones óptimas ya que se logró un 100% en el porcentaje de distribución reflejando que la muestra tiene un tamaño uniforme y óptimo para ser empleado contra bacterias ya que pueden ser adsorbidos en la pared celular bacteriana y producir la destrucción de sus células y las membranas celulares, lo que resulta en muerte bacteriana. (Pumacota Paricahua, 2018) (Rajeshkumar & Bharath, 2017) menciona que NP's Ag de menor tamaño tienen una gran área superficial disponible para interactuar con las paredes de las bacteria y tendrá mejor actividad bactericida que el de las NP's Ag de mayor tamaño.

Tabla 9 Resultados de la caracterización por DLS de las NP's Ag sintetizadas con extracto de flores de *Ch. spinosa*

N°	Variables Independientes		DLS (Análisis de distribución NICOMP ponderado por)	
	Concentración de extracto de flores de Huamanpinta (ppm)	AgNO_3 (M)	Número	
			Diámetro promedio de NP's Ag (nm)	Porcentaje de distribución de tamaño (%)
1	$2,5 \times 10^3$	0,001	-	-
2	$2,5 \times 10^3$	0,01	1,1	100
3	$2,5 \times 10^3$	0,02	2,7	99,2
4	5×10^3	0,001	-	-
5	5×10^3	0,01	3,3	100
6	5×10^3	0,02	3,6	100
7	1×10^4	0,001	-	-
8	1×10^4	0,01	-	-
9	1×10^4	0,02	-	-

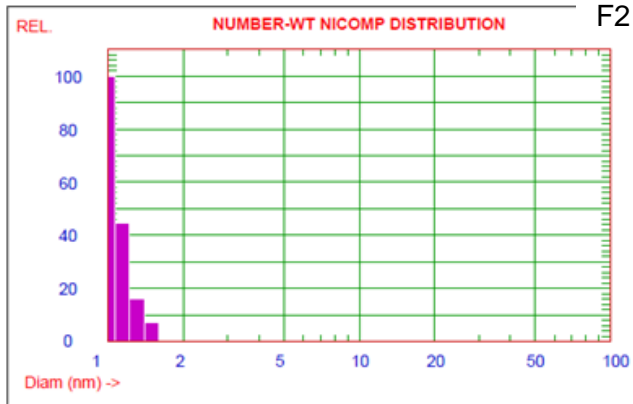
Nota. Esta tabla muestra como varía el tamaño y porcentaje de distribución de las NP's Ag obtenidas, a los experimentos 1, 4, 7, 8 y 9 no se realizó la medición

Figura 28 Gráficos de distribución del tamaño dinámico de NP's Ag sintetizadas con los extractos de flores de *Chuquiraga spinosa*

NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

Peak #1: Mean Diam. = 1.1 nm, S.Dev. = 0.1 nm (14.0%) Num = 100.0 %

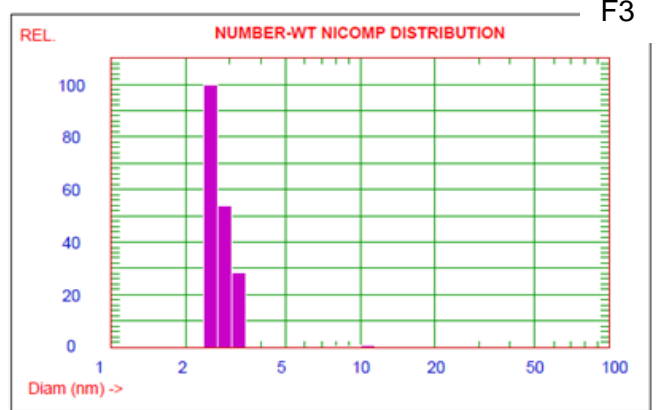


NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

Peak #1: Mean Diam. = 2.7 nm, S.Dev. = 0.3 nm (9.9%) Num = 99.2 %

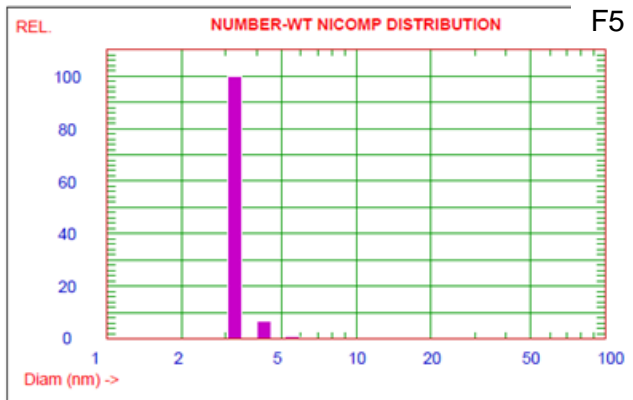
Peak #2: Mean Diam. = 10.1 nm, S.Dev. = 0.7 nm (7.3%) Num = 0.8 %



NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

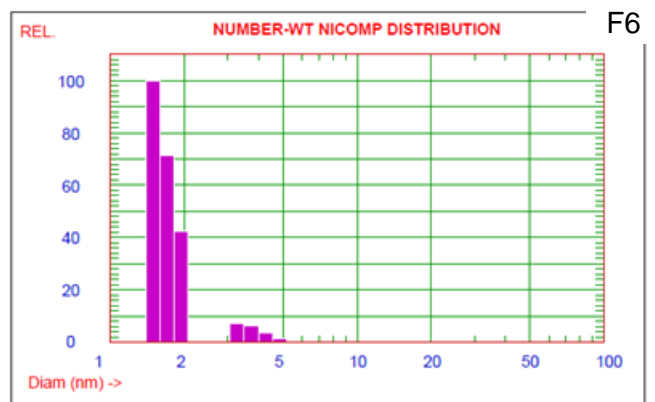
Peak #1: Mean Diam. = 3.3 nm, S.Dev. = 0.5 nm (14.0%) Num = 100.0 %



NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

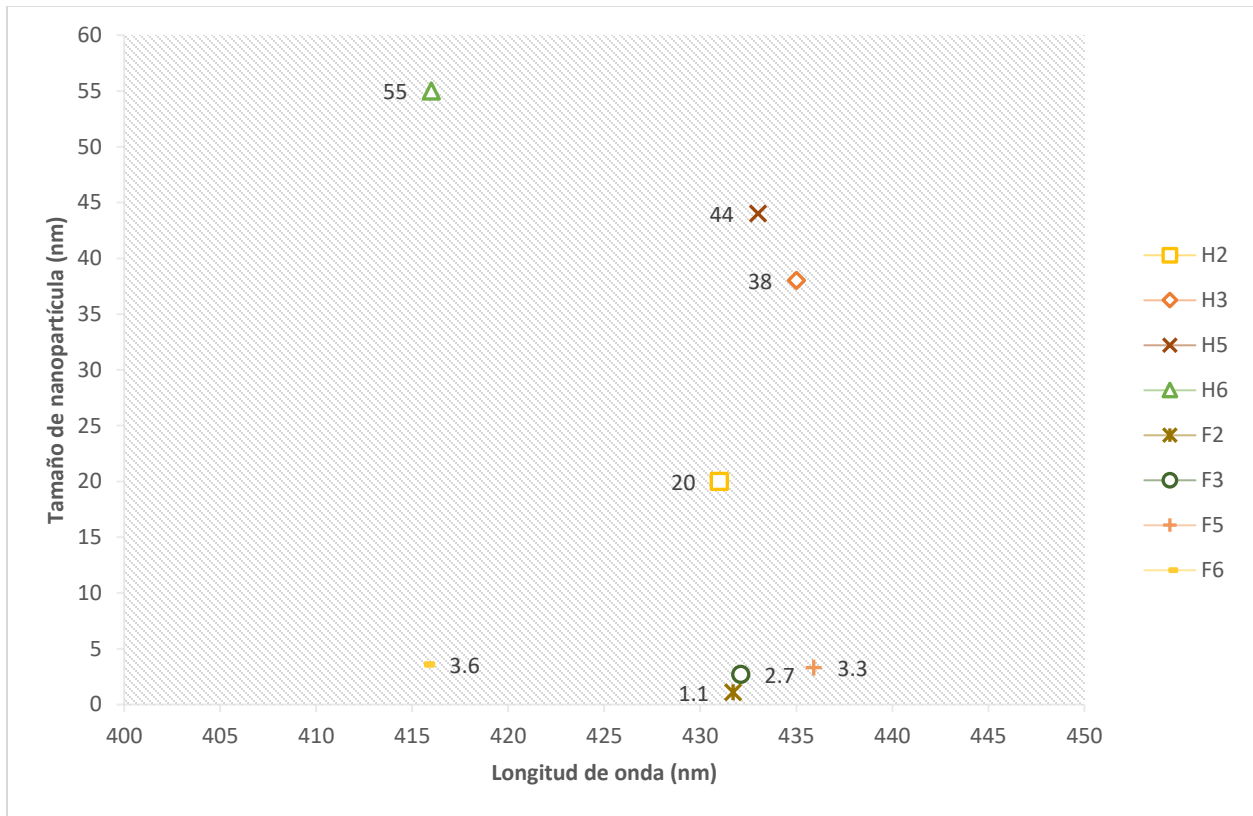
NICOMP SUMMARY:

Peak #1: Mean Diam. = 3.6 nm, S.Dev. = 0.5 nm (12.7%) Num = 100.0 %



Del análisis DLS de las NP's Ag se pudo determinar el tamaño promedio de cada muestra en la figura 29 se puede ver la relación del tamaño de las nanopartículas sintetizadas y tamaño.

Figura 29 Gráfico de comparación del tamaño dinámico de NP's Ag por DLS y Longitudes de onda analizados por Espectrofotometría UV-Visible.



El tamaño hidrodinámico de las NP's Ag sintetizadas con extracto de flores es aproximadamente 20 veces menor. En la figura 28 se observa que la relación de la longitud de onda es directamente proporcional al tamaño de las NP's, sin embargo, en las muestras H6 y F6 no se cumple esta relación, de hecho, estas muestras tienen el valor de su pico más alto de su banda RPS ubicados cerca a los 415nm este es el menor valor de las ocho muestras analizadas, esto se debe a que estas muestras se prepararon a una mayor concentración de sus respectivos extractos incrementándose la cantidad de polifenoles, que son los principales componentes que favorecen la reducción de la plata, y como consecuencia se produce una mayor formación de nanopartículas. (Vera Nuñez & Tamo Cornejo, 2018).

Sin embargo, estas muestras como se observa en las figuras 25 y 26, son las que mayor absorbancia tienen (2,269 y 1,36) en sus respectivos espectros esto se debe a una mayor concentración de AgNO_3 tal como reporte (Loretta et al., 2016) donde al incrementar la concentración del nitrato de plata de 0,001M a 0,01M el valor de la absorbancia de sus espectros se incrementó.

CONCLUSION

Se determinó la concentración de compuestos fenólicos totales en el extracto acuoso de *Chuquiraga spinosa* procedente del distrito de Quilcas, mediante espectrofotometría UV-Vis por el método Folin Ciocalteu (Swain & Hillis, 1959) obteniendo 1934,50 $\frac{\text{mg de Ácido Gálico Equivalente}}{100\text{g muestra}}$ de compuestos fenólicos Totales, además por la técnica HPLC se logró identificar que la rutina y quercetina son los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de hojas y flores respectivamente de *Chuquiraga spinosa* que actúan como agente reductor y estabilizante en la síntesis verde de NP's Ag esto permitió determinar el mecanismo de reacción para la síntesis de nanopartículas de plata.

La concentración mínima del AgNO_3 para la síntesis de NP's Ag con extracto de hojas y flores es 0,01M es decir 50ppm ya que a una concentración menor (0,001M) como es el caso de las muestras 1, 4 y 7 no se evidenció el cambio de color de verde amarillo a marrón oscuro característico de la reacción de síntesis de NP's Ag. Las muestras 2, 3, 5 y 6 se caracterizaron mediante por Espectrometría UV-Visible obteniéndose sus respectivos espectros de absorción con bandas RPS únicas y definidas tal como se graficó en las figuras 25 y 26, cuyos picos más altos se encuentran en el rango 400 a 450nm que indican la presencia de NP's Ag de forma esférica.

La caracterización del tamaño de las nanopartículas de plata obtenidas se realizó mediante DLS, el diámetro de las NP's Ag sintetizadas con ambos extractos no supera los 55nm por lo tanto al encontrarse en la escala nanométrica se confirma la formación de las NP's Ag. Las NP's Ag presentan una distribución bimodal y trimodal es decir las muestras presenta partículas de hasta 3 tamaños distintos esto debido a las diferentes concentraciones de AgNO_3 y extracto de hojas y flores. Además, a una mayor concentración de extracto menor es el tamaño de las NP's obtenidas. Las nanopartículas de menor tamaño entre 1,1 y 3,6nm y mayor porcentaje de distribución de tamaño incluso 100% se obtuvo con el extracto de flores esto se debe a la mayor cantidad de quercetina principal fenol presente en el extracto y responsable de la reducción y estabilización de NP's Ag que evita la aglomeración de nanopartículas.

RECOMENDACIONES

Se recomienda filtrar el extracto acuoso de hojas y flores para verificar la influencia en el tamaño de NP's Ag.

Las nanopartículas sintetizadas tienen potencial de ser empleadas en diversos rubros por su potencial bactericida ya que son extremadamente citotóxicos para varios microorganismos para las especies como *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus* y *Streptococcus mutans* y se recomienda ser incorporado a los materiales dentales, el tratamiento de quemaduras graves de la piel y la purificación del agua para corroborar su efectividad.

BIBLIOGRAFIA

- Ali, Z. A., Yahya, R., Sekaran, S. D., & Puteh, R. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using apple extract and its antibacterial properties. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/4102196>
- Arroyo Acevedo, J., Herrera Calderón, O., Chávez Asmat, R., Anampa Guzmán, A., Chumpitaz Cerrate, V., & Enciso Roca, E. (2017). Protective effect of Chuquiraga spinosa extract on N-methyl-nitrosourea (NMU) induced prostate cancer in rats. *Prostate International*, 5(2), 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.prnil.2017.01.005>
- Arroyo Acevedo, J. L., Herrera Calderon, O., Rojas Armas, J. P., Chumpitaz Cerrate, V., Franco Quino, C., & Hañari Quispe, R. (2018). Chuquiraga spinosa Lessing: A Medicinal Plant for Gastric Cancer Induced By N-Methyl-N-Nitroso-Urea (NMU). *Pharmacognosy Journal*, 10(1), 20–24. <https://doi.org/10.5530/pj.2018.1.4>
- Ávalos, A., Haza, A., & 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. https://doi.org/10.5209/rev_rccv.2013.v7.n2.43408
- Banerjee, P., Satapathy, M., Mukhopahayay, A., & Das, P. (2014). Leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles from widely available Indian plants: Synthesis, characterization, antimicrobial property and toxicity analysis. *Bioresources and Bioprocessing*, 1(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s40643-014-0003-y>
- Baset, S., Akbari, H., Zeynali, H., & Shafie, M. (2011). Size measurement of metal and semiconductor nanoparticles via UV-Vis absorption spectra. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 6(2), 709–716.
- Basiuk, V. A., & Basiuk, E. (2015). *Green processes for nanotechnology: From inorganic to bioinspired nanomaterials Green Processes for Nanotechnology* (V. A. Basiuk & E. Basiuk (eds.); Issue January). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-15461-9>

Bussmann, R. W., & Douglas, S. (2015). *PLANTAS MEDICINALES DE LOS ANDES Y LA AMAZONIA-La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú Medicinal plants and their ecology in Northern Peru and Southern Ecuador View project Ethnobotany and livelihoods in Madagascar and Eastern Africa View project* (Issue November). Graficart SRL. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3485.0962>

Camacho Polo, J. D., & Mercado Deschamps, L. A. (2013). *SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y MODIFICACIÓN CON PULPA DE PAPEL PARA APLICACIÓN ANTIMICROBIAL*. Universidad de Cartagena.

Casado, R., Landa, A., Calvo, J., García-Mina, J. M., Marston, A., Hostettmann, K., & Calvo, M. I. (2011). Anti-inflammatory, antioxidant and antifungal activity of *Chuquiraga spinosa*. *Pharmaceutical Biology*, 49(6), 620–626. <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.577436>

Castro Batioja, K. A. (2018). *Elaboración De Nanopartículas De Plata Vía Síntesis Y Compuestos Orgánicos De Púnica Granatum Y Catálisis Bacteriana De Escherichia Coli, Staphylococcus Aureus Y Aspergillus Niger*. 98. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/18340/1/401-1230> - Obtención y caracterización de combustible a partir de desechos termoplásticos.pdf

Feijoo Carrillo, C. P. (2018). Reducción de microorganismos del agua en la zona rural de la Esperanza Alta – Huaral utilizando nanopartículas de plata sintetizadas con *Rosmarinus officinalis* aplicando química verde [Universidad Cesar Vallejo]. In *Universidad César Vallejo*. <https://hdl.handle.net/20.500.12692/18685>

Gallego Picó, A., Garcinuño Martínez, R., & Morcillo Ortega, J. (2012). *Experimentación en Química Analítica*. UNED.

García Neira, I. (2015). *Síntesis verde de nanopartículas para la eliminación de colorantes en medios acuosos*. Universidad de Coruña.

Herrera-Calderon, O., Tinco-Jayo, J. A., Franco-Quino, C., Chumpitaz-Cerrate, V., Castro-Pari, W., Pari-Olarte, B., Castillo-Romero, P., & Arroyo-Acevedo, J. L. (2017).

- Antioxidant activity and cytotoxic profile of *Chuquiraga spinosa* Lessing on human tumor cell lines: A promissory plant from Peruvian flora. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 7(5), 304–308. <https://doi.org/10.12980/apjtd.7.2017D6-436>
- Horikoshi, S., & Serpone, N. (2013). *Microwaves in Nanoparticle Synthesis: Fundamentals and Applications* (P. N. S. Prof. Satoshi Horikoshi (ed.)). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9783527648122.ch1>
- Huamán Rivera, N. T., & Mateo Mejía, F. de M. (2019). *EFFECTO CICATRIZANTE DE UNA CREMA A BASE DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE Chuquiraga spinosa Less. "HUAMANPINTA" EN RATONES ALBINOS* [Universidad Interamericana]. http://repositorio.unid.edu.pe/bitstream/handle/unid/51/15/HUAMAN_RIVERA_Y_MATEO_MEJIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- ISO. (2015). *Nanotechnologies-Vocabulary Part 1 International Organization for Standardization. ISO/TS 80004-1:2015.* <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:ts:80004:-1:ed-2:v1:en>
- Jasuja, N. D., Gupta, D. K., Reza, M., & Joshi, S. C. (2014). Green synthesis of AgNPs stabilized with biowaste and their antimicrobial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(4), 1325–1332. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000400024>
- Kharat, S. N., & Mendhulkar, V. D. (2016). Synthesis, characterization and studies on antioxidant activity of silver nanoparticles using *Elephantopus scaber* leaf extract. *Materials Science and Engineering C*, 62, 719–724. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.02.024>
- Landa, A., Casado, R., & Calvo, M. I. (2009). Identification and quantification of flavonoids from *Chuquiraga spinosa* (Asteraceae). *Natural Product Communications*, 4(10), 1353–1355. <https://doi.org/10.1177/1934578x0900401008>
- Le, A. T., Huy, P. T., Tam, L. T., Tam, P. D., Hieu, N. Van, & Huy, T. Q. (2011). Novel silver nanoparticles: Synthesis, properties and applications. *International Journal of*

Nanotechnology, 8(3–5), 278–290. <https://doi.org/10.1504/IJNT.2011.038205>

Loretta, M., Okalla, C., Antoinette, A., Belle, P., Kedi, E., Deli, V., Etoh, M., & Mpondo, E. (2016). *Spectroscopic synthetic optimizations monitoring of silver nanoparticles formation from Megaphrynium macrostachyum leaf extract* *Franc.* 26, 640–646. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.06.002>

Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarov, V. V., Yaminsky, I. V., M.E., T., & Kalinina, N. O. (2014). “Green” Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants. *Handbook of Families and Health: Interdisciplinary Perspectives*, 6(20), 35–44. <https://doi.org/10.4135/9781452231631.n3>

Mock, J. J., Barbic, M., Smith, D. R., Schultz, D. A., & Schultz, S. (2002). Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles. *Journal of Chemical Physics*, 116(15), 6755–6759. <https://doi.org/10.1063/1.1462610>

Mock, J., Smith, D., & Schultz, S. (2003). Local Refractive Index Dependence of Plasmon Resonance Spectra from Individual Nanoparticles. *NANO LETTERS*, 3(4), 485–491. <https://doi.org/10.1021/nl0340475>

Morales, J., Morán, J., Quintana, M., & Estrada, W. (2009). SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA POR LA RUTA Sol-Gel A PARTIR DE NITRATO DE PLATA. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 75(2), 177–184.

Perales, V., & Travezaño, M. (2019). *Caracterización de nanopartículas de plata obtenidas mediante síntesis biogénica usando extracto de Coffea arabica procedente de Satipo - Junín para uso antimicrobiano* [Universidad Nacional del Centro del Perú]. <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/5396>

Perez-Chauca, E., Saldaña-Bobadilla, V., & Minchán-Herrera, P. (2020). Etnobotánica, farmacología, fitoquímica y usos medicinales de huamanpinta en el Perú – chuquiraga spinosa Less. (Asteraceae). *Ethnobotany Research and Applications*, 19(0), 1–13. <https://doi.org/10.32859/era.19.22.1-13>

- Pumacota Paricahua, N. L. (2018). “ *Evaluación de los parámetros Físico-químicos fundamentales para la obtención de nanopartículas de óxido de cobre utilizando Physalis peruviana (Aguaymanto) , vía química verde .*
- Rajeshkumar, S., & Bharath, L. V. (2017). Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles – A review on biomolecules involved, characterisation and antibacterial activity. *Chemico-Biological Interactions*, 273, 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.06.019>
- Ramirez Roca, E., Bonilla, P., Suarez, S., Choquesillo, F., & Castro, A. (2014). *Actividad antioxidante, antiinflamatoria e inmunomoduladora del extracto clorofórmico de las hojas de. 17(1), 37–42.*
- Ramsden, J. J. (2011). *Nanotechnology: An introduction* (1st ed.). [https://ia801001.us.archive.org/34/items/2011.06.28.nanotechnologyanintroduction2011/2011.06.28.Nanotechnology - An Introduction %282011%29.pdf](https://ia801001.us.archive.org/34/items/2011.06.28.nanotechnologyanintroduction2011/2011.06.28.Nanotechnology-AnIntroduction%282011%29.pdf)
- Sanchez Llamosa, M. J., & Anicama Pariona, N. E. (2015). *CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD HOJAS Y FLORES DE Chuquiraga spinosa Less “huamanpinta”* [Universidad Nacional San Luis Gonzaga de ICA]. <http://repositorio.unica.edu.pe/handle/UNICA/2277>
- Sánchez Moreno, M. (2017). *MÓDULO DE QUÍMICA INORGÁNICA E INGENIERÍA QUÍMICA NANOPARTÍCULAS DE PLATA : PREPARACIÓN , CARACTERIZACIÓN Y PROPIEDADES CON* [UNIVERSIDAD NACIONAL DE EDUCACIÓN A DISTANCIA]. http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Msanchez/Sanchez_Moreno_Minerva_TFM.pdf
- Sanders, W. C. (2018). *BASIC PRINCIPLES OF NANOTECHNOLOGY*. <https://www.twirpx.com/file/2600777/>
- Santos Espinoza, A., Gutiérrez Miceli, F., Ruíz Valdiviezo, V., & Montes Molina, J. (2020). *El papel de los compuestos polifenólicos en la síntesis verde de nanopartículas metálicas. 24(2), 46–57.*

Smita, S., Gupta, S. K., Bartonova, A., Dusinska, M., Gutleb, A. C., & Rahman, Q. (2012). Nanoparticles in the environment : assessment using the causal diagram approach. *Environmental Health*, 11(Suppl 1), S13. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-11-S1-S13>

Talavera Núñez, M. E., Zea Apaza, I., Vera Gonzales, C., Zea Álvarez, J., & Benavente Talavera, L. R. (2018). Aplicación Del Nanocomposito Arcilla – Carboximetilquitosano - Nanopartículas De Plata En Filtros Para El Tratamiento De Aguas De Consumo De Zonas Rurales De Camaná, Arequipa. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 84(4), 499–512. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v84i4.69>

Vera Nuñez, L. del C., & Tamo Cornejo, J. O. (2018). *BIOSÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AgNPs) CON Thelypteris glandulosolanosa (RAQUI-RAQUI) Y EVALUACIÓN DE SU EFECTO ANTICANCERÍGENO EN LINEA CELULAR DE CÁNCER DE MAMA MCF-7* (Vol. 2002, Issue 1) [Universidad Nacional de San Agustín]. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/5963>

Swain, T. and Hillis, W.E. (1959) The Phenolic Constituents of *Prunus domestica*. I. The Quantitative Analysis of Phenolic Constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10, 63-68. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>

ANEXO A

CONSTANCIA DE CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA HUAMANPINTA



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERU
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y DEL AMBIENTE



LA QUE SUSCRIBE, RESPONSABLE DEL HERBARIO DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS FORESTALES Y DEL AMBIENTE, HCEN-FO DEJA:

CONSTANCIA

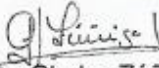
Que, las muestras botánicas, procedentes del Distrito de Quilcas, provincia de Huancayo, región Junín, presentado para la validación de su identificación por la Ing.: BENDEZU ROCA, Yessica; según la taxonomía de APG IV, versión 14, 2017, corresponde a:

Reino : Plantae
División : Tracheophyta
Plantas con semillas
Clase : Equisetopsida
Subclass : Magnoliidae
Super orden : Asteranae
Orden : Asterales
Familia : Asteraceae
Especie : *Chuquiraga spinosa* Less

Se expide el presente documento. A solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Huancayo, 05 de noviembre de 2019




Ing. Dominga Gladys Zúñiga López
Responsable del Herbario

ANEXO B

INFORME DE ENSAYO DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES DEL EXTRACTO DE HOJAS DE Chuquiraga spinosa Less POR ESPECTROFOTOMETRO UV-VIS



LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos



INFORME DE ENSAYOS

N° 008945 - 2019

SOLICITANTE : UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERU
DIRECCIÓN LEGAL : AV. MARISCAL CASTILLA NRO. 4089 CIUDAD UNIVERSITARIA (EDIFICIO
ADMINISTRACION Y GOBIERNO) JUNIN - HUANCAYO - EL TAMBO
RUC: 20145561095 Teléfono: 064-481078
PRODUCTO : HOJAS DE HUAMANPINTA (CHUQUIRAGA SPINOSA)
NÚMERO DE MUESTRAS : Uno
IDENTIFICACIÓN/MTRA. : S.I
CANTIDAD RECIBIDA : 131,5 g (+envase) de muestra proporcionada por el solicitante.
MARCA(S) : S.M
FORMA DE PRESENTACIÓN : Envasado, la muestra ingresa en envase sellado.
SOLICITUD DE SERVICIO : S/S N°EN-005500 -2019
REFERENCIA : VIA EMAIL
FECHA DE RECEPCIÓN : 11/10/2019
ENSAYOS SOLICITADOS : FÍSICO/QUÍMICO
PERÍODO DE CUSTODIA : No aplica

RESULTADOS :

ENSAYOS FÍSICOS/QUÍMICOS :

ALCANCE : N.A.

ENSAYOS	RESULTADO
1.- Compuestos Fenólicos o Polifenoles (mg / 100 g de muestra original) P. expres. en mg de Acido Gálico Equival/100 g de m.)	1934,5

MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO :

1.- SWAIN & HILLIS 1959

FECHA DE EJECUCION DE ENSAYOS: Del 18/10/2019 Al 08/11/2019.

ADVERTENCIA :

- 1- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento y transporte de la muestra hasta su ingreso a La Molina Calidad Total - Laboratorios son de responsabilidad del Solicitante.
- 2- Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente informe sin la autorización de La Molina Calidad Total - Laboratorios.
- 3- Válido sólo para la cantidad recibida. No es un Certificado de Conformidad ni Certificado del Sistema de Calidad de quien lo produce.

La Molina, 8 de Noviembre de 2019



LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS-UNALM

Ing. Mg. Quím. Mary Flor Césaire Coral
DIRECTORA TÉCNICA
C.Q.P. N° 635

Pág 1/1

ANEXO C

CÁLCULO DEL PESO DE NITRATO DE PLATA

$$M = \frac{n}{V_{sol}} \dots (1)$$

$$n = \frac{m}{\bar{M}} \dots (2)$$

$$M = \frac{m}{\bar{M} * V_{sol}}$$

$$m = M * \bar{M} * V_{sol} \dots (3)$$

Concentración de 0,02 M de Nitrato de Plata:

$$m = 0,02 \frac{\text{mol}}{\text{L}} * 169,87 \frac{\text{g}}{\text{mol}} * 250 \text{ mL} * \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 0,8494 \text{ g}$$

Concentración de 0,01 M de Nitrato de Plata:

$$m = 0,01 \frac{\text{mol}}{\text{L}} * 169,87 \frac{\text{g}}{\text{mol}} * 250 \text{ mL} * \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 0,4247 \text{ g}$$

Concentración de 0,001 M de Nitrato de Plata:

$$m = 0,001 \frac{\text{mol}}{\text{L}} * 169,87 \frac{\text{g}}{\text{mol}} * 250 \text{ mL} * \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 0,0425 \text{ g}$$

ANEXO D

CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS

$$ppm = \frac{m_{\text{soluto}}}{m_{\text{solución}}} \times 10^6 \dots (1)$$

$$m_{\text{solución}} = \rho \times V \dots (2)$$

$$ppm = \frac{m_{\text{soluto}}}{\rho \times V} \times 10^6 \dots (3)$$

EXTRACTOS DE HOJAS DE *Chuquiraga spinosa* Less

***E*₁: 0.5_g de hojas**

$$E_1 = \frac{0.5}{1 \times 200} \times 10^6 = 2.5 \times 10^3 \text{ ppm}$$

***E*₂: 1_g de hojas**

$$E_2 = \frac{1}{1 \times 200} \times 10^6 = 5 \times 10^3 \text{ ppm}$$

***E*₃: 2_g de hojas**

$$E_3 = \frac{2}{1 \times 200} \times 10^6 = 1 \times 10^4 \text{ ppm}$$

EXTRACTOS DE FLORES DE *Chuquiraga spinosa* Less

***E*₄: 0.5_g de flores**

$$E_4 = \frac{0.5}{1 \times 200} \times 10^6 = 2.5 \times 10^3 \text{ ppm}$$

***E*₅: 1_g de flores**

$$E_5 = \frac{1}{1 \times 200} \times 10^6 = 5 \times 10^3 \text{ ppm}$$

ANEXO E

CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE PLATA EN LAS NP'S Ag SINTETIZADAS

$$ppm = \frac{mg}{L} \dots (1)$$

A partir de 1 mL de 0,84935 g de Nitrato de Plata diluido 250 mL de agua ultrapura en 25 mL de extracto acuoso de *Chuquiraga spinosa*.

$$\frac{0,84935g}{250mL} \times \left[\frac{10^3mg}{1g} \right] \times \left[\frac{10^3mL}{1L} \right] \times \left[\frac{1mL}{26mL} \right] = 130.6692ppm$$

A partir de 1 mL de 0,4247 g de Nitrato de Plata diluido 250 mL de agua ultrapura en 25 mL de extracto acuoso de *Chuquiraga spinosa*.

$$\frac{0,4247g}{250mL} \times \left[\frac{10^3mg}{1g} \right] \times \left[\frac{10^3mL}{1L} \right] \times \left[\frac{1mL}{26mL} \right] = 65.3385ppm$$

A partir de 1 mL de 0,0425 g de Nitrato de Plata diluido 250 mL de agua ultrapura en 25 mL de extracto acuoso de *Chuquiraga spinosa*.

$$\frac{0,0425g}{250mL} \times \left[\frac{10^3mg}{1g} \right] \times \left[\frac{10^3mL}{1L} \right] \times \left[\frac{1mL}{26mL} \right] = 6.5385ppm$$

ANEXO F

RECOLECCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA DE HOJAS Y FLORES DE HUAMANPINTA

Figura 30 *Recolección de Huamanpinta en Campo*



Figura 31 *Flores y hojas separadas para proceder al secado*



Figura 32 Lavado y secado de la muestra a 200° C por 60 minutos en la estufa



Figura 333 Disminución de tamaño de las muestras (izquierda) y cuarteo de la muestra (derecha) para proceder al pesado



ANEXO G

PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS Y FLORES DE HUAMANPINTA

Figura 344 *Pesado de las muestras para preparación de extractos*



Figura 35 *Inmersión del filtro con la muestra en 200ml de agua ultrapura a 60°C*



Figura 36 Extracto final transcurrido 1 hora (izquierda) y extracto conservado en refrigeración a 4°C para posteriores análisis (derecha)



Figura 37 Extracto final de hojas de Huamanpinta M1=0,5gr M2=1gr y M3=2gr



ANEXO H

SINTESIS DE NANOPARTICULAS DE PLATA

Figura 38 Matracas de los experimentos 1,2,3, y 4 con 25 ml de extracto y 1ml de AgNO_3 según diseño experimental a 50°C en agitación constante de 300 rpm. luego de 60 minutos



Figura 39 Nanopartículas de los experimentos 1,2,3, y 4 en solución obtenidas luego de 60 minutos de reacción



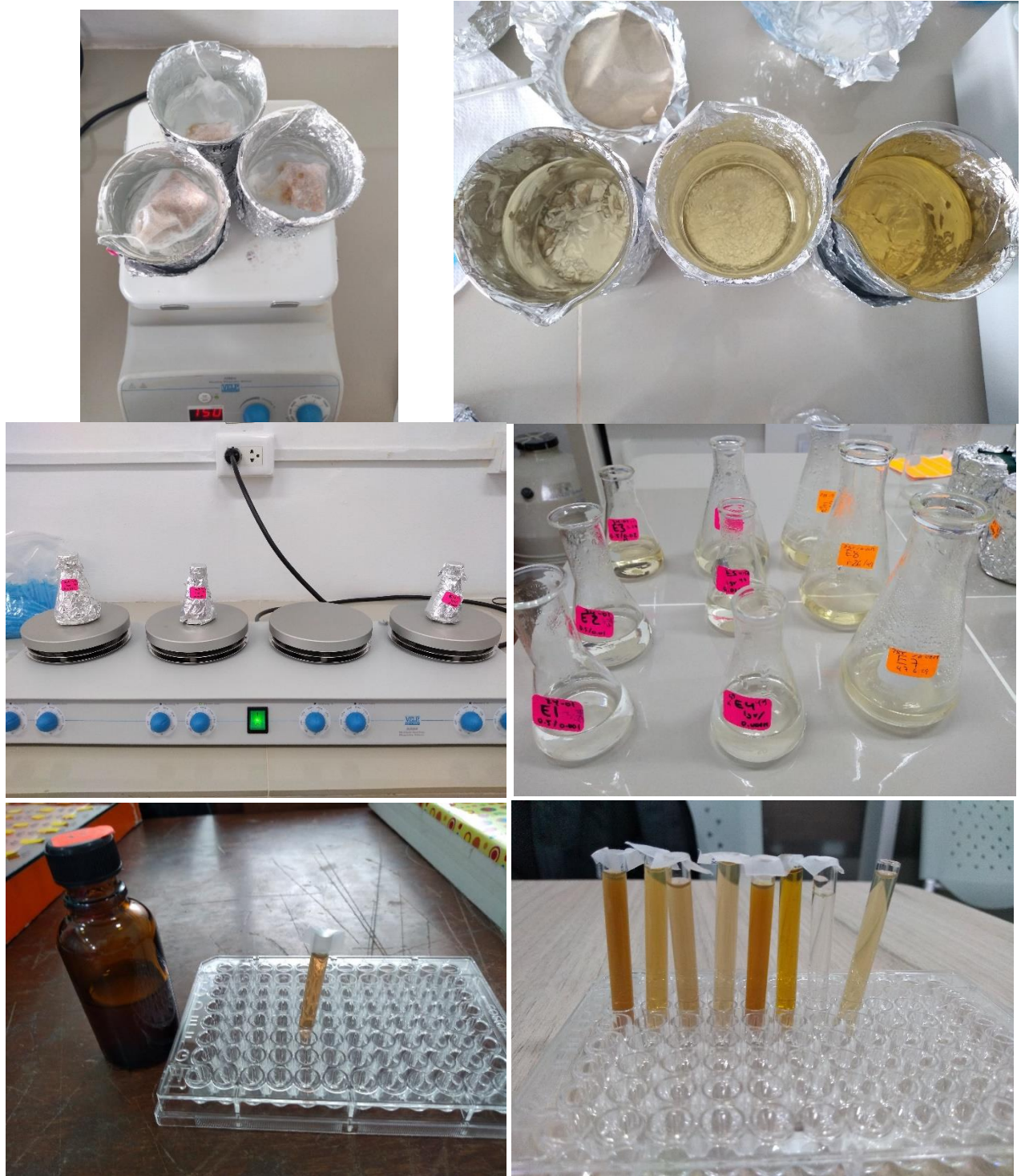
Figura 40 NP's Ag sintetizadas con extracto de hojas de *Chuquiraga spinosa*



ANEXO I

NANOPARTICULAS DE PLATA EN SOLUCION OBTENIDOS CON EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE HUAMANPINTA

Figura 41 Síntesis de NP's Ag con extracto de Flor de Huamanpinta



ANEXO J

CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTICULAS DE PLATA POR UV-VISIBLE

Figura 42 Preparación de muestras de nanopartículas de hojas para leer en el UV-Vis.

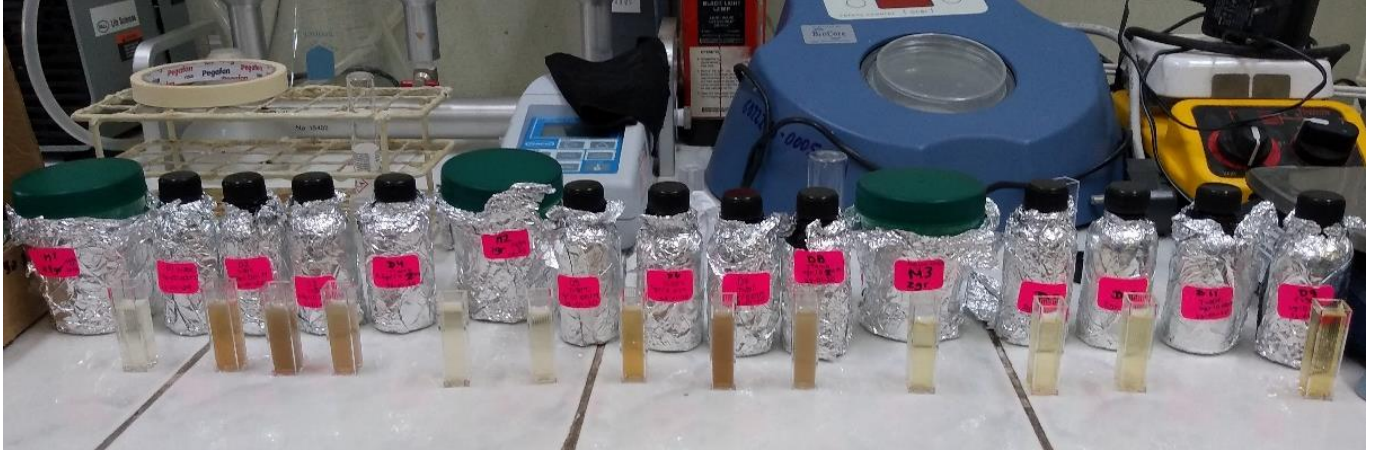
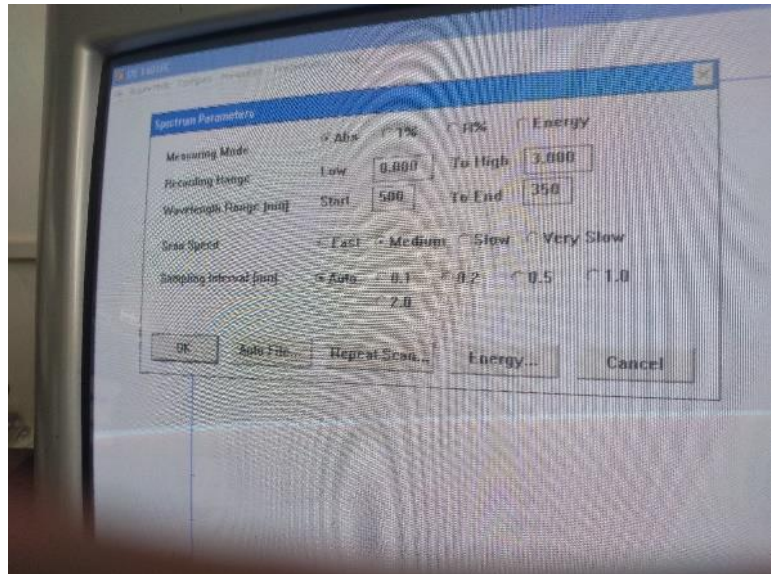
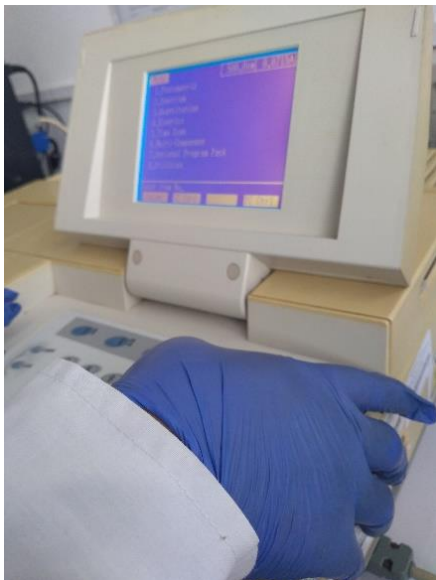


Figura 43 La lectura en el UV-Vis; considerando como blanco el extracto de hojas y flores respectivamente; en el rango de 350 a 500 nm a una intensidad de 3,0.



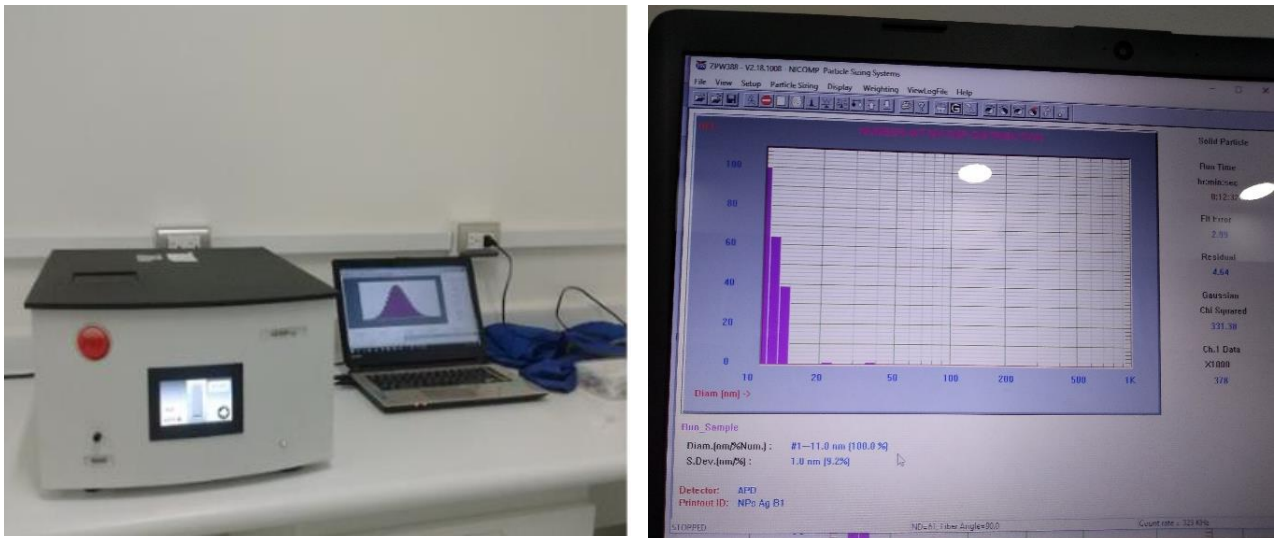
ANEXO K

CARATERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA DLS

Figura 44 Preparación de muestras de nanopartículas de hojas y flores para ser caracterizadas, izquierda muestras en el sonicador, derecha muestras en el porta muestras para lectura por DLS.



Figura 45 Lectura de nanopartículas en solución por DLS.



ANEXO L

**RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE QUERCETINA, RUTINA,
KAEMPFEROL Y EUGENOL POR HPLC DE LAS HOJAS DE *Chuquiraga*
*espinosa***



CONTENIDO DE:

Terpenoides (Eugenol):	0.0023 g/100 g de Hojas de Huamantla
Flavonoides (Quercetina):	0.0207 g/100 g de Hojas de Huamantla
Flavonoides (Rutina):	0.0025 g/100 g de Hojas de Huamantla
Flavonoides (Kaempferol):	0.0012 g/100 g de Hojas de Huamantla

Técnica: Cromatografía Líquida de alta Performance (HPLC/DAD)

Lima, 17 de enero del 2020

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA
Servicio de Control de Calidad
[Firma]
D.R. CASARIN CLOUT CASAS RAMÍREZ
C.O.F.R. 17007

Universidad Peruana Cayetano Heredia
Servicio de Control de Calidad
[Firma]
MSc. LEON E. VILLEGAS VILCHEZ
DIRECTOR

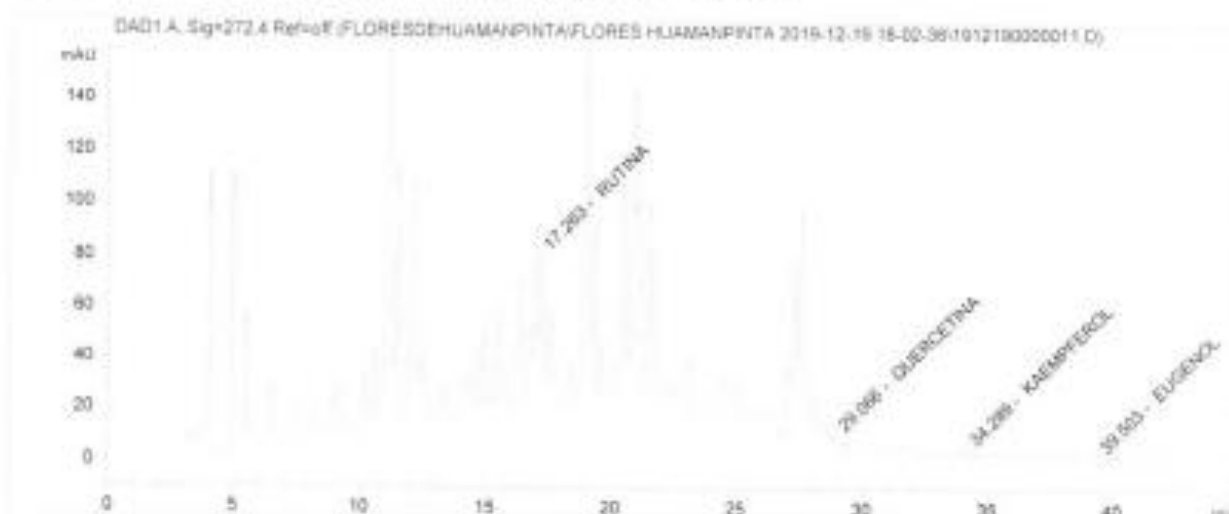
NOTA: Este Informe Técnico solo podrá reproducirse con autorización escrita del Servicio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia a condición de que se haga en su totalidad y no en forma parcial o fragmentaria.

UNIVERSIDAD ACREDITADA INTERNACIONALMENTE CON MENCIÓN ESPECIAL EN INVESTIGACIÓN

Av. Héroles Delgado N° 420, Urb. Ingeniería, San Martín de Porres - P.O. Box 4074, Lima 100
Dirección: (511) 483-2188 | Central: (511) 319-0000 extensión: 2424 y 2427
e-mail: controlcalidad@uqh.cayetanoheredia.pe | Página Web: www.uqh.edu.pe

```

-----
Acq. Operator   : CYP                               Seq. Line : 11
Acq. Instrument : UPCH HPLC 1260                     Location  : Vial 44
Injection Date  : 20-Dec-19 5:09:28 AM                Inj       : 1
                                                    Inj Volume: 20.000 µl
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\FLORESDEHUAMANPINTA\FLORES HUAMANPINTA 2019-12-19 18-02
                  -36\PSIICCIDAS.M
Last changed    : 19-Dec-19 6:02:36 PM by CYP
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\FLORESDEHUAMANPINTA\FLORES HUAMANPINTA 2019-12-19 18-02
                  -36\PSIICCIDAS.M (Sequence Method)
Last changed    : 10-Jan-20 4:14:19 PM by CYP
Method Info     : RUTINA, QUERCETINA, KAEMPFEROL Y EUGENOL
  
```



External Standard Report

```

-----
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 10-Jan-20 4:14:19 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDW
  
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=272.4 Ref=off

RetTime [min]	Type	Area [mAU*s]	Int/Area	Amount [g/100g]	Grp	Name
17.263	BB	335.34888	9.56448e-4	3.20744e-1		RUTINA
29.066	BB	40.23758	7.54547e-4	3.03612e-2		QUERCETINA
34.289	BB	32.56204	6.16927e-4	2.00884e-2		KAEMPFEROL
39.503	BB	19.04973	1.87928e-3	3.57998e-2		EUGENOL

Totals : 4.06993e-1

*** End of Report ***



CONTENIDO DE:

Terpenoides (Eugenol):	0.0005 g/100 g de Flores de Huamantla
Flavonoides (Quercetina):	0.0045 g/100 g de Flores de Huamantla
Flavonoides (Rutina):	0.0427 g/100 g de Flores de Huamantla
Flavonoides (Kaempferol):	0.0044 g/100 g de Flores de Huamantla
Técnica: Cromatografía Líquida de alta Performance (HPLC/DAD)	

Lima, 17 de enero del 2020

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA
Servicio de Control de Calidad
Lima
L'EX CARTELLA LUCY ALVARO RAMOS
C.G.P. 17087

Universidad Peruana Cayetano Heredia
Servicio de Control de Calidad
MSc. LEON E. VILLAS VILCHEZ
DIRECTOR

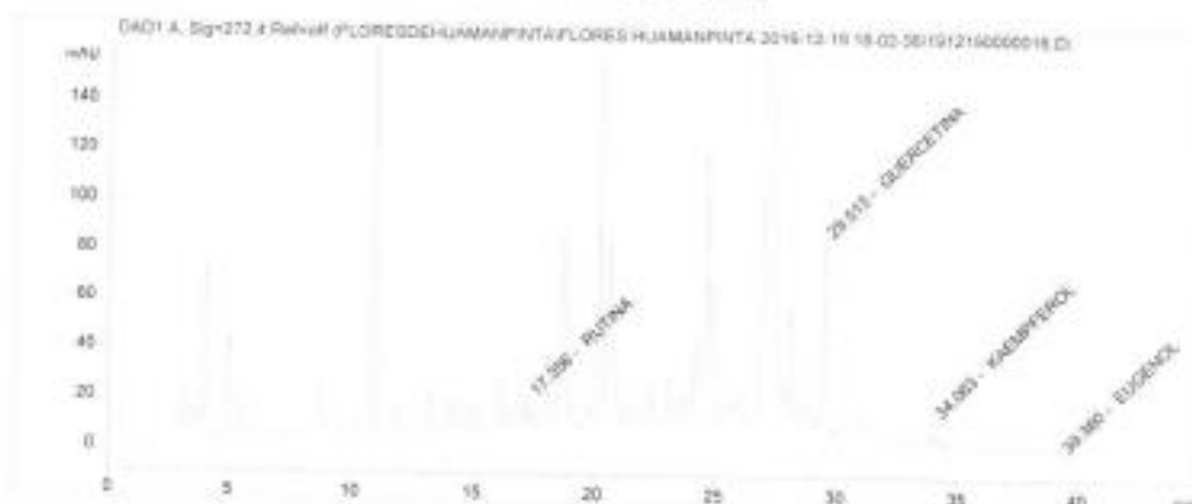
NOTA: Este Informe Técnico solo podrá reproducirse con autorización escrita del Servicio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia a condición de que se haga en su totalidad y no en forma parcial o fragmentaria.

UNIVERSIDAD ACREDITADA INTERNACIONALMENTE CON MENCIÓN ESPECIAL EN INVESTIGACIÓN

Vv. Héroles Bolognini N° 450, Urb. Ingeniería, San Martín de Porres / P.O. Box 4514, Lima 100
Dirección: (011) 483-2100 - Central: (011) 319-2000 anexos: 2424 y 2427
e-mail: controlcalidad@pchc.hcr.upeh.pe / Página Web: www.upch.pe

```

-----
Acq. Operator   : CYF                               Seq. Line : 16
Acq. Instrument : UPCR HPLC 1260                   Location  : Vial 46
Injection Date  : 20-Dec-19 10:34:08 AM           Inj       : 1
                                                    Inj Volume: 20.000 ul
Acq. Method    : C:\CHEM32\1\DATA\FLORESDEHUMANPINTA\FLORES HUMANPINTA 2019-12-19 18-02
                +36\PROCIDIAS.M
Last changed   : 20-Dec-19 10:25:30 AM by CYF
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\FLORESDEHUMANPINTA\FLORES HUMANPINTA 2019-12-19 18-02
                +36\PROCIDIAS.M (Sequence Method)
Last changed   : 10-Jan-20 4:35:43 PM by CYF
Method Info    : RUTINA, QUERCETINA, KAMPFEROL Y EUGENOL
  
```



External Standard Report

```

Sorted By           : Signal
Calib. Data Modified : 10-Jan-20 4:35:58 PM
Multiplier          : 1.0000
Dilution            : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=272.4 Ref=off

RetTime [min]	Type	Area [a.u.]	Ant/Area	Amount [g/100g]	Exp	Name
17.356	BB	76.58535	9.56448e-4	7.32499e-2		RUTINA
29.513	BB	900.13008	7.64547e-4	6.03737e-1		QUERCETINA
34.063	BB	105.19986	8.16927e-4	6.49000e-2		KAMPFEROL
39.360	BB	4.01781	1.83389e-3	8.28516e-3		EUGENOL

Totals : 7.50173e-1

*** End of Report ***

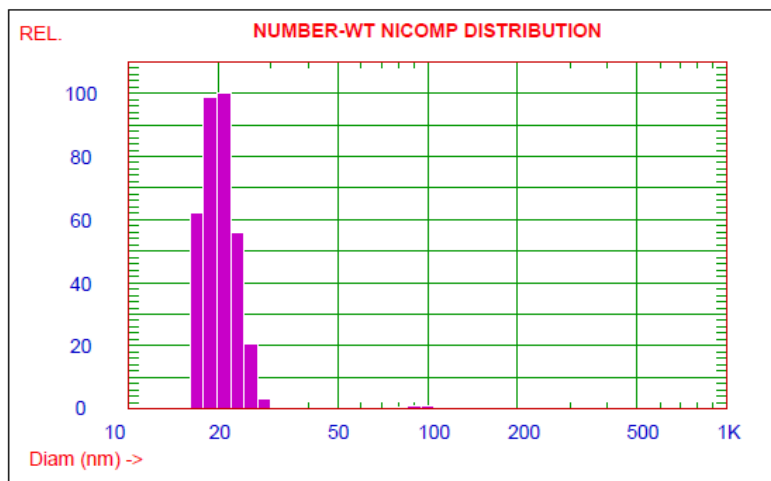
ANEXO M

REPORTE DE LA DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE LAS NANOPARTÍCULAS POR DISPERSIÓN DINAMICA DE LUZ A PARTIR DEL EXTRACTO DE LAS HOJAS DE *Chuquiraga spinosa*

NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

Peak #1: Mean Diam.= 20.1 nm, S.Dev.= 2.3 nm (11.3%) Num= 99.1 %
 Peak #2: Mean Diam.= 95.3 nm, S.Dev.= 9.8 nm (10.2%) Num= 0.9 %



D2-21-02 Hojas Ch. espinosa

Mean Diameter = 20.9 nm Fit Error = 2.816 Residual = 15.345

NICOMP SCALE PARAMETERS:

Min. Diam. = 10 nm Plot Size = 45
 Smoothing = 3 Plot Range = 100

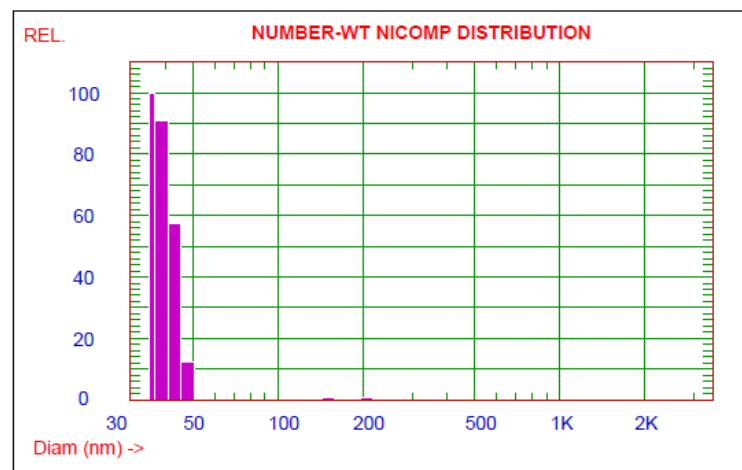
GAUSSIAN SUMMARY:

Mean Diameter = 18.6 nm	Variance (P.I.) = 0.289
Std. Deviation = 10.0 nm (53.8%)	Chi Squared = 46.854
Norm. Std. Dev. = 0.538	Baseline Adj. = 0.000 %
(Coeff. of Var'n)	Z-Avg. Diff. Coeff. = 5.02E-008 cm ² /s
Run Time = 0 Hr 12 Min 25 Sec	Wavelength = 632.8 nm
Count Rate = 317 KHz	Temperature = 25 deg C
Channel #1 = 427.0 K	Viscosity = 0.933 cp
Channel Width = 10.0 uSec	Index of Ref. = 1.333

NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

Peak #1: Mean Diam.= 38.3 nm, S.Dev.= 3.2 nm (8.3%) Num= 98.8 %
 Peak #2: Mean Diam.= 155.2 nm, S.Dev.= 21.1 nm (13.6%) Num= 0.7 %
 Peak #3: Mean Diam.= 207.7 nm, S.Dev.= 22.6 nm (10.9%) Num= 0.5 %



Run_Sample

Mean Diameter = 39.6 nm Fit Error = 3.045 Residual = 33.388

NICOMP SCALE PARAMETERS:

Min. Diam. = 35 nm Plot Size = 45
 Smoothing = 3 Plot Range = 100

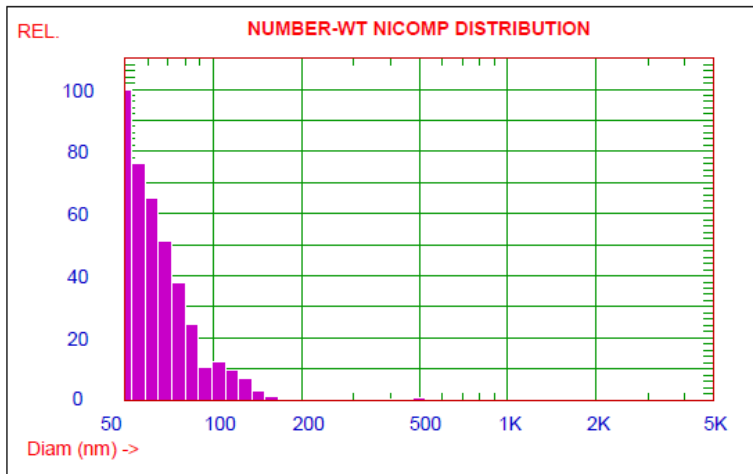
GAUSSIAN SUMMARY:

Mean Diameter = 31.3 nm	Variance (P.I.) = 0.360
Std. Deviation = 18.8 nm (60.0%)	Chi Squared = 66.865
Norm. Std. Dev. = 0.600	Baseline Adj. = 0.007 %
(Coeff. of Var'n)	Z-Avg. Diff. Coeff. = 2.49E-008 cm ² /s
Run Time = 0 Hr 12 Min 32 Sec	Wavelength = 632.8 nm
Count Rate = 292 KHz	Temperature = 25 deg C
Channel #1 = 1003.2 K	Viscosity = 0.933 cp
Channel Width = 24.0 uSec	Index of Ref. = 1.333

NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

Peak #1: Mean Diam. = 54.9 nm, S.Dev. = 3.7 nm (6.8%) Num = 88.8 %
Peak #2: Mean Diam. = 108.4 nm, S.Dev. = 18.3 nm (16.9%) Num = 10.7 %
Peak #3: Mean Diam. = 470.2 nm, S.Dev. = 29.1 nm (6.2%) Num = 0.4 %



D6-21-02 Hojas Ch. espinosa o residual

Mean Diameter = 65.0 nm Fit Error = 2.697 Residual = 0.000

NICOMP SCALE PARAMETERS:

Min. Diam. = 50 nm Plot Size = 45
Smoothing = 3 Plot Range = 100

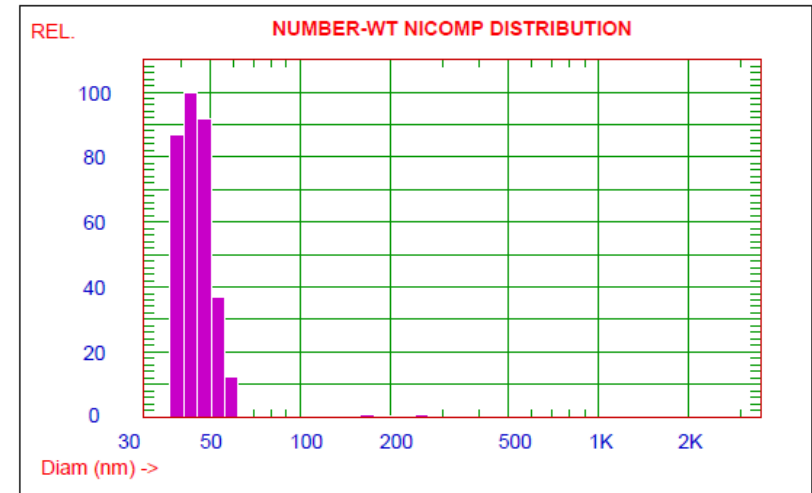
GAUSSIAN SUMMARY:

Mean Diameter = 48.4 nm	Variance (P.I.) = 0.288
Std. Deviation = 26.0 nm (53.7%)	Chi Squared = 20.372
Norm. Std. Dev. = 0.537	Baseline Adj. = 0.000 %
(Coeff. of Var'n)	Z-Avg. Diff. Coeff. = 2.00E-008 cm ² /s
Run Time = 0 Hr 12 Min 29 Sec	Wavelength = 632.8 nm
Count Rate = 312 KHz	Temperature = 25 deg C
Channel #1 = 1125.4 K	Viscosity = 0.933 cp
Channel Width = 27.0 uSec	Index of Ref. = 1.333

NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

Peak #1: Mean Diam. = 44.5 nm, S.Dev. = 5.7 nm (12.7%) Num = 98.5 %
Peak #2: Mean Diam. = 178.7 nm, S.Dev. = 25.5 nm (14.3%) Num = 0.7 %
Peak #3: Mean Diam. = 258.5 nm, S.Dev. = 25.4 nm (9.8%) Num = 0.8 %



Run_Sample

Mean Diameter = 46.2 nm Fit Error = 2.006 Residual = 28.458

NICOMP SCALE PARAMETERS:

Min. Diam. = 35 nm Plot Size = 45
Smoothing = 3 Plot Range = 100

GAUSSIAN SUMMARY:

Mean Diameter = 41.2 nm	Variance (P.I.) = 0.328
Std. Deviation = 23.6 nm (57.3%)	Chi Squared = 26.585
Norm. Std. Dev. = 0.573	Baseline Adj. = 0.000 %
(Coeff. of Var'n)	Z-Avg. Diff. Coeff. = 2.06E-008 cm ² /s
Run Time = 0 Hr 12 Min 34 Sec	Wavelength = 632.8 nm
Count Rate = 323 KHz	Temperature = 25 deg C
Channel #1 = 1221.8 K	Viscosity = 0.933 cp
Channel Width = 26.0 uSec	Index of Ref. = 1.333

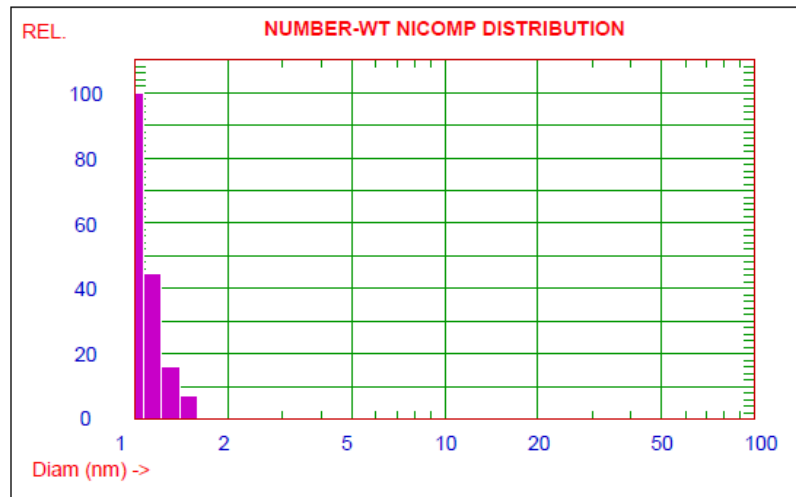
ANEXO M

REPORTE DE LA DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE LAS NANOPARTÍCULAS POR DISPERSIÓN DINÁMICA DE LUZ A PARTIR DEL EXTRACTO DE LAS FLORES DE *Chuquiraga spinosa*

NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

Peak #1: Mean Diam.= 1.1 nm, S.Dev.= 0.1 nm (14.0%) Num= 100.0 %



Run_Sample

Mean Diameter = 1.1 nm Fit Error = 2.892 Residual = 19.086

NICOMP SCALE PARAMETERS:

Min. Diam. = 1 nm Plot Size = 36
 Smoothing = 3 Plot Range = 100

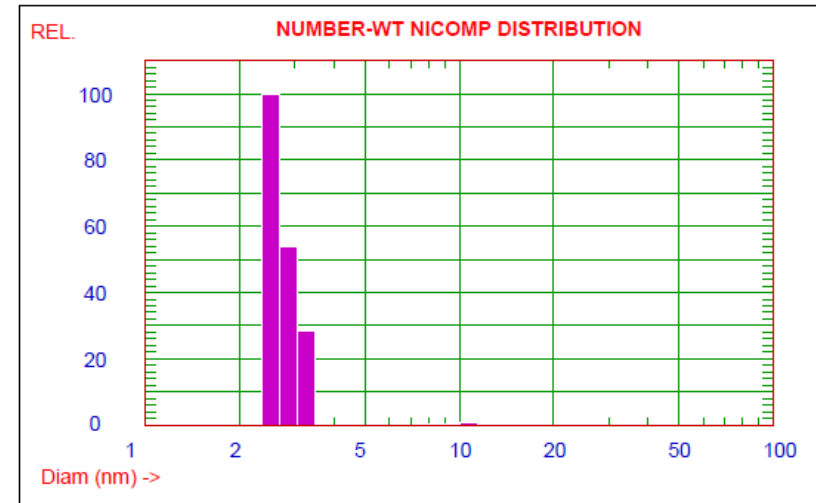
GAUSSIAN SUMMARY:

Mean Diameter = 15.8 nm	Variance (P.I.) = 0.288
Std. Deviation = 8.5 nm (53.7%)	Chi Squared = 156.174
Norm. Std. Dev. = 0.537	Baseline Adj. = 0.000 %
(Coeff. of Var'n)	Z-Avg. Diff. Coeff. = 5.87E-008 cm ² /s
Run Time = 0 Hr 12 Min 50 Sec	Wavelength = 632.8 nm
Count Rate = 265 KHz	Temperature = 23 deg C
Channel #1 = 291.8 K	Viscosity = 0.933 cp
Channel Width = 8.2 uSec	Index of Ref. = 1.333

NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

Peak #1: Mean Diam.= 2.7 nm, S.Dev.= 0.3 nm (9.9%) Num= 99.2 %
 Peak #2: Mean Diam.= 10.1 nm, S.Dev.= 0.7 nm (7.3%) Num= 0.8 %



E3-21-02-20

Mean Diameter = 2.8 nm Fit Error = 2.356 Residual = 13.666

NICOMP SCALE PARAMETERS:

Min. Diam. = 1 nm Plot Size = 36
 Smoothing = 3 Plot Range = 100

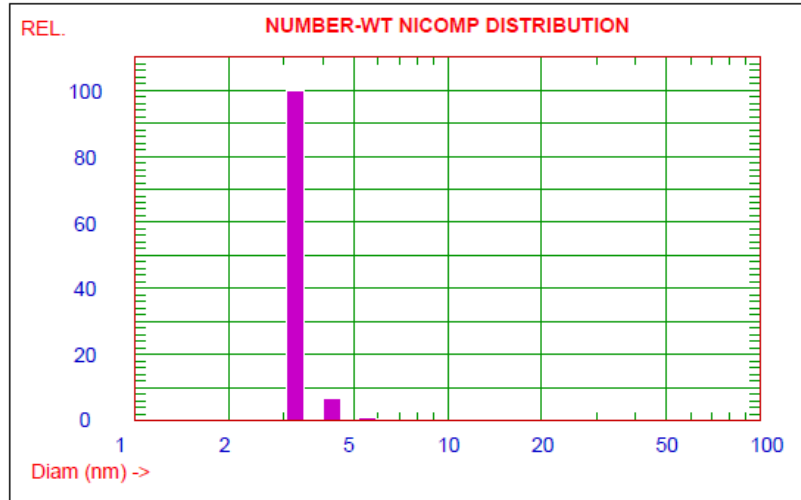
GAUSSIAN SUMMARY:

Mean Diameter = 25.6 nm	Variance (P.I.) = 0.178
Std. Deviation = 10.8 nm (42.2%)	Chi Squared = 47.240
Norm. Std. Dev. = 0.422	Baseline Adj. = 0.000 %
(Coeff. of Var'n)	Z-Avg. Diff. Coeff. = 6.28E-008 cm ² /s
Run Time = 0 Hr 12 Min 38 Sec	Wavelength = 632.8 nm
Count Rate = 315 KHz	Temperature = 23 deg C
Channel #1 = 411.3 K	Viscosity = 0.933 cp
Channel Width = 8.7 uSec	Index of Ref. = 1.333

NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

Peak #1: Mean Diam. = 3.3 nm, S.Dev. = 0.5 nm (14.0%) Num = 100.0 %



Run_Sample

Mean Diameter = 3.4 nm Fit Error = 14.271 Residual = 28.213

NICOMP SCALE PARAMETERS:

Min. Diam. = 1 nm Plot Size = 36
 Smoothing = 3 Plot Range = 100

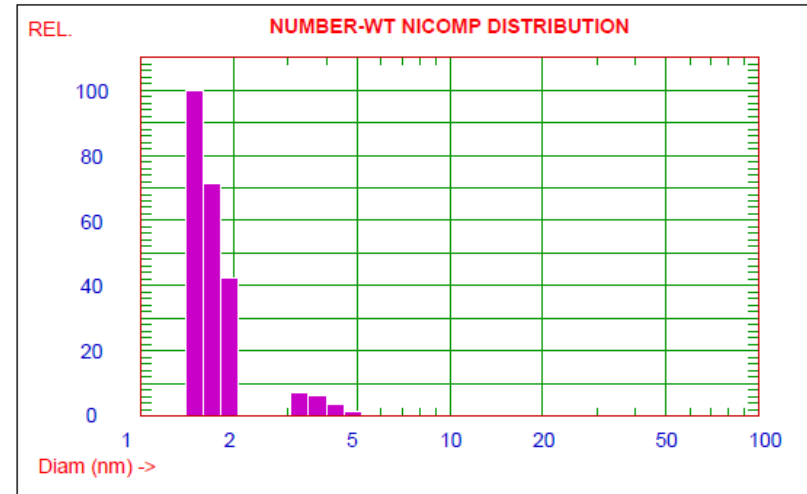
GAUSSIAN SUMMARY:

Mean Diameter = 19.8 nm	Variance (P.I.) = 0.275
Std. Deviation = 10.4 nm (52.4%)	Chi Squared = 541.530
Norm. Std. Dev. = 0.524	Baseline Adj. = 0.005 %
(Coeff. of Var'n)	Z-Avg. Diff. Coeff. = 4.96E-008 cm ² /s
Run Time = 0 Hr 25 Min 58 Sec	Wavelength = 632.8 nm
Count Rate = 326 KHz	Temperature = 23 deg C
Channel #1 = 1026.8 K	Viscosity = 0.933 cp
Channel Width = 11.0 uSec	Index of Ref. = 1.333

NUMBER-Weighted NICOMP DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

NICOMP SUMMARY:

Peak #1: Mean Diam. = 3.6 nm, S.Dev. = 0.5 nm (12.7%) Num = 100.0 %



Run_Sample

Mean Diameter = 1.9 nm Fit Error = 3.972 Residual = 3.097

NICOMP SCALE PARAMETERS:

Min. Diam. = 1 nm Plot Size = 36
 Smoothing = 3 Plot Range = 100

GAUSSIAN SUMMARY:

Mean Diameter = 9.8 nm	Variance (P.I.) = 0.301
Std. Deviation = 5.4 nm (54.9%)	Chi Squared = 606.443
Norm. Std. Dev. = 0.549	Baseline Adj. = 0.005 %
(Coeff. of Var'n)	Z-Avg. Diff. Coeff. = 9.09E-008 cm ² /s
Run Time = 0 Hr 12 Min 36 Sec	Wavelength = 632.8 nm
Count Rate = 262 KHz	Temperature = 23 deg C
Channel #1 = 175.3 K	Viscosity = 0.933 cp
Channel Width = 5.6 uSec	Index of Ref. = 1.333

