Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Ciencias Físicas
Escuela Profesional de Física

Biosíntesis de nanopartículas de óxido de hierro utilizando extractos de *Chenopodium quinoa*

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Física

AUTOR

Mercedes del Pilar MARCOS CARRILLO

ASESOR

Dr. Juan Adrián RAMOS GUIVAR

Lima, Perú

2025



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Marcos, M. (2025). *Biosíntesis de nanopartículas de óxido de hierro utilizando extractos de Chenopodium quinoa*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Físicas, Escuela Profesional de Física]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Mercedes del Pilar Marcos Carrillo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	73816105
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0008-5452-3276
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Juan Adrián Ramos Guivar
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	46209587
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-3293-7255
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Whualkuer Enrique Lozano Bartra
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08212392
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Chachi Rojas Ayala
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09934476
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Pablo Hector Rivera Riofano
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08280449
Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	Silvia Marisel Espinoza Suarez
Tipo de documento	DNI

Número de documento de identidad	09993345
Datos de investigación	
Línea de investigación	A.2.1.1. Nanotecnología
Grupo de investigación	NANOTECNOLOGÍA APLICADA PARA BIORREMEDIACIÓN AMBIENTAL, ENERGÍA, BIOMEDICINA Y AGRICULTURA- NANOTECH
Agencia de financiamiento	Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la UNMSM al proyecto B23131591
Ubicación geográfica de la investigación	Universidad Nacional Mayor de San Marcos Edificio: (Grupo de Investigación NANOTECH, Laboratorio 405. Instituto de Investigación, Facultad de Ciencias Físicas) País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de Lima Calle: Av. Venezuela Cdra 34 S/N, Ciudad Universitaria, Lima, 15081 Latitud: 12° 3′ 33.11′′S Longitud: 77° 4′52.65′′O Instituto De Cultivos Tropicales País: Perú Edificio: (Laboratorio de Análisis de Suelos, área de medición, ICT) Departamento: San Martin Distrito: Banda de Shilcayo Dirección: Jirón Santa María, 241 Latitud: 6° 30′5.72′′S Longitud: 76° 20′10.83′′O
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2024-2025
URL de disciplinas OCDE	Física de la materia condensada https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.03.02

Firmado digitalmente por SANCHEZ ORTIZ Jesus Felix FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 22.05.2025 15:17:51 -05:00

UNMSM

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE FÍSICA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN FÍSICA

Siendo las 12:00 horas del Jueves 08 de mayo de 2025, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Físicas (Auditorio 109), bajo la Presidencia del Dr. Whualkuer Enrique Lozano Bartra (Presidente), Dr. Pablo Hector Rivera Riofano (Miembro), Dr. Chachi Rojas Ayala (Miembro) Mg. Silvia Marisel Espinoza Suarez (Miembro), y el Dr. Juan Adrián Ramos Guivar (Asesor), se dió inicio a la Sesión Pública de Sustentación de la Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Física (Art. 45.2 de la Ley N° 30220), de la bachiller:

MERCEDES DEL PILAR MARCOS CARRILLO

Dando lectura al Resumen del Expediente, el Presidente del Jurado, invitó a la bachiller **Mercedes del Pilar Marcos Carrillo** a realizar una exposición de la Tesis titulada: **"Biosíntesis de nanopartículas de óxido de hierro utilizando extractos de *Chenopodium quinoa*".**

Concluida la exposición de la candidata y luego de las preguntas de rigor por parte del Jurado, el Presidente, invitó a la bachiller y al público a abandonar momentáneamente la Sala de Sesión, para dar paso a la deliberación y calificación por parte del Jurado.

Al término de la deliberación del Jurado el Dr. Whualkuer Enrique Lozano Bartra, invitó a la candidata y al público a pasar a la Sala de Sesión, para dar lectura al resultado de la deliberación. Ha obtenido la calificación de:

19	DIECINUEVE	MAXIMOS HONORES
(NÚMERO)	(LETRAS	(MENCIÓN)

Finalmente, el Presidente del Jurado, propone al consejo de la Facultad que se le declare Licenciado en Física a la bachiller **Mercedes del Pilar Marcos Carrillo**. Siendo las 13:20 horas, se levanta la sesión.

Dr. Whualkuer Enrique Lozano Bartra
Presidente

Dr. Pablo Hector Rivera Riofano
Miembro

Dr. Chachi Rojas Ayala
Miembro

Mg. Silvia Marisel Espinoza Suarez
Miembro

Dr. Juan Adrián Ramos Guivar
Asesor

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo Juan Adrián Ramos Guivar en mi condición de asesor acreditado con Acuerdo de Comité de Gestión N° 085-EPF-FCF-24 de la tesis, cuyo título es **Biosíntesis de nanopartículas de óxido de hierro utilizando extractos de *Chenopodium quinoa***, presentado por la bachiller Mercedes del Pilar Marcos Carrillo para optar el título de Licenciado en Física CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 19% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado/ título/ especialidad correspondiente.

Firma del Asesor





DNI: 46209587

Nombres y apellidos del asesor: Juan Adrián Ramos Guivar

Jurado de Tesis:

Dr. Whualkuer Enrique Lozano Bartra (Presidente)

Dr. Pablo Hector Rivera Riofano (Miembro)

Dr. Chachi Rojas Ayala (Miembro)

Mg. Silvia Marisel Espinoza Suarez (Miembro)

Dr. Juan Adrián Ramos Guivar (Asesor)

Dedicatoria

A mi madrecita Eva en el cielo y a mi valiente hija Lucero con amor

Agradecimientos

En primera instancia agradecer al financiamiento otorgado por el Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la UNMSM al proyecto B23131591: "*Biosíntesis de nanopartículas de óxido de hierro utilizando extractos de Chenopodium quinoa: efectos de los parámetros de síntesis y su uso como potencial nanorremediador de cuerpos de agua contaminados con micro y nanoplásticos*", con resolución rectoral N° 006081-2023-R/UNMSM.

Quiero expresar mi más profundo y sincero agradecimiento al Dr. Juan Adrián Ramos Guivar, mi asesor de tesis, por su invaluable guía y acompañamiento en cada etapa de este proyecto. Su vasto conocimiento académico, sumado a su pasión por la investigación y su compromiso con la excelencia, han sido una fuente constante de inspiración. La paciencia y dedicación con la que me brindó su tiempo y sabiduría no solo enriquecieron este trabajo, sino también mi formación personal y profesional. Resalto también que no solo fue un mentor académico, además un ejemplo de integridad, ética profesional y amor por el conocimiento. Gracias por su confianza y por haberme motivado a superar mis propios límites. Sus observaciones precisas y consejos acertados me han permitido perfeccionar y llevar a buen término este proyecto.

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, mi querida alma mater, por brindarme la oportunidad de formarme en sus aulas. Su legado de excelencia académica y su compromiso con la investigación han sido una inspiración constante para alcanzar metas que parecían inalcanzables.

Agradezco a la Dra. Noemi Raquel Checca Huamán del CBPF, Brasil por facilitar las imágenes de microscopía electrónica de transmisión analizadas en la presente tesis.

Muestro mi gratitud a la empresa Anton Paar Perú SAC por la capacitación en FTIR y las facilidades técnicas para la recolección de los espectros de infrarrojo usando el equipo LYZA 7000.

De igual manera, quiero agradecer profundamente a mi familia en especial a mis padres William Marcos y Mayda Carrillo, cuyo apoyo emocional, moral y financiero han sido el cimiento sobre el cual se ha construido mi educación. Su amor y sacrificio me han impulsado a lo largo de los años. Todo lo que soy se los debo enteramente a ellos por eso reitero mi enorme agradecimiento. Gracias a mi hermano Williams Marcos por todo su apoyo en mis momentos más difíciles.

Finalmente, con todo mi amor y gratitud, dedico este trabajo a mi madrecita Eva, quien ha sido mi faro y mi mayor inspiración desde el inicio. Su fortaleza, sabiduría y cariño incondicional han sido un sostén invaluable. Gracias, madrecita, por creer en mi desde el inicio y por enseñarme que con perseverancia y amor todo es posible.

Lista de acrónimos

FTIR Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier, del inglés: Fourier Transform Infrared Spectroscopy

NPs Nanopartículas

IONPs Nanopartículas de óxidos de hierro, del inglés: Iron oxide nanoparticles

DRX Difracción de rayos X

EQ Extracto de quinua

TEM Microscopio electrónico de transmisión, del inglés: Transmission Electron Microscope

DLS Dispersión dinámica de la luz, del inglés: Dynamic Light Scattering

FTIR Radiación infrarroja por transformada de Fourier, del inglés: Fourier Transform Infrared

HCP Empaquetamiento hexagonal compacto, del inglés: Hexagonal Close Packing

THC Thompson Cox Hasting

IRF Función de resolución instrumental, del inglés: Instrumental Resolution Function

PALS Dispersión de luz por análisis de fase, del inglés: Phase Analysis Light Scattering

HTST Alta Temperatura/Corto Tiempo, del inglés: High Temperature/Short Time

PDI Índice de polidispersión, del inglés: Polydispersity Index

p.z.c. punto de carga cero, del inglés: point of zero charge

r.p.m. revoluciones por minuto

Resumen

En el presente trabajo de tesis se optimizó la biosíntesis de nanopartículas de óxido de hierro utilizando extractos de *Chenopodium quinoa*, con el propósito de reducir el uso de agentes químicos agresivos como el hidróxido de amonio y fomentar una ruta más ecológica, donde la optimización del proceso de síntesis implica la mejora de las propiedades físicas de las nanopartículas de óxido de hierro maximizando su eficiencia, rendimiento y sostenibilidad. El estudio se centra en la caracterización estructural, morfológica, coloidal y vibracional de las nanopartículas obtenidas. Se estandarizó la preparación de extractos de *Chenopodium quinoa* en distintas concentraciones para evaluar su capacidad reductora y estabilizante. Además, la funcionalización con compuestos del extracto (grupos carboxilo y amidas) fue confirmada exitosamente. La caracterización mediante microscopía electrónica de transmisión, dispersión dinámica de luz y potencial Zeta reveló nanopartículas con tamaños menores a 8 nm y una estabilidad coloidal superior (-30 mV) en comparación con la muestra control (13.8 nm).

Palabras claves: Biosíntesis, *Chenopodium quinoa*, nanopartículas, óxidos de hierro, caracterización.

Abstract

In the present thesis, the biosynthesis of iron oxide nanoparticles was optimized by using extracts from *Chenopodium quinoa*, with the aim of reducing the use of aggressive chemical agents such as ammonium hydroxide and promoting a more ecological route, where the optimization of the synthesis process implies the enhancement of the physical properties presented in the iron oxide nanoparticles, maximizing their efficiency, performance, and sustainability. The study focuses on the structural, morphological, colloidal, and vibrational characterization of the obtained nanoparticles. The preparation of *Chenopodium quinoa* extracts was standardized at different concentrations to evaluate their reducing and stabilizing capacity. Additionally, the functionalization with compounds from the extract (carboxyl and amide groups) was successfully confirmed. The characterization using transmission electron microscopy, dynamic light scattering, and Zeta potential revealed nanoparticles with sizes smaller than 8 nm and superior colloidal stability (-30 mV) compared to the control sample (13.8 nm).

Keywords: Biosynthesis, *Chenopodium quinoa*, nanoparticles, iron oxide characterization.

Tabla de contenido

Capítulo 1 1

Introducción 1

1.1. Antecedentes generales 1

1.2. Problema general 6

1.3. Objetivo general 7

1.4. Hipótesis general 7

Capítulo 2 9

2.1. Conceptos fundamentales 9

2.1.1. Propiedades estructurales de los óxidos de hierro 9

2.1.1.1. Estructura cristalina de la maghemita γ-Fe_2O_3 10

2.1.1.2. Estructura cristalina de la goethita α-FeOOH 13

2.2. Propiedades químicas, nutricionales y físicas de la *Chenopodium quinoa* 15

2.3. Técnica Experimentales 18

2.3.1. Difracción de Rayos-X 18

2.3.1.1. Ley de Bragg 19

2.3.1.2. Métodos de Difracción de rayos-X 20

2.3.1.2.1. Método de polvo cristalino o Debye-Scherrer 21

2.3.1.3. Difractómetro de Polvo 21

2.3.2. Determinación del tamaño de cristalino y refinamiento Rietveld 22

2.3.2.1. Método de Scherrer 23

2.3.2.2. Refinamiento Rietveld 24

2.3.2.2.1. Fundamento Teórico del Método de Rietveld 24

2.3.2.2.2. Aplicaciones y Factores que influyen en el Método de Rietveld 26

2.3.2.2.3. Tipos de parámetros 27

2.3.2.2.4. Condiciones experimentales y equipo utilizado 27

2.3.3. Microscopía Electrónica de Transmisión 29

2.3.3.1. Composición del Microscópio electrónico de Transmisión 29

2.3.4. Descripción teórica del potencial Zeta y la derivación de la ecuación de Smoluchowski 32

2.3.4.1. Interpretación física del potencial Zeta 32

2.3.4.2. Importancia del potencial Zeta 34

2.3.4.3. Fundamentos Matemáticos para la obtención de la ecuación de Smoluchowski 34
2.3.4.3.1. Ecuación de Poisson-Boltzmann 34
2.3.4.3.2. Ecuación de Stokes con fuerza eléctrica 35
2.3.4.3.3. Ecuación de Poisson y sustitución 35
2.3.3.3.4. Condición de deslizamiento y velocidad de la partícula 35
2.3.4.3.5. Movilidad Electroforética 36
2.3.4.3.6. Consideraciones finales 36

2.3.5. Caracterización coloidal 36
2.3.5.1. Dispersión Dinámica de la Luz 36
2.3.5.2. Dispersión de la Luz de Análisis de Fase 36
2.3.6. Descripción teórica de la técnica FTIR 36
Capítulo 3 39
Biosíntesis de IONPs 43
3.1. Preparación del EQ 43
3.2. Detalle experimental de la biosíntesis de las IONPs 49
3.2.1. Materiales e insumos 49
3.2.2. Metodología de la biosíntesis 50
Capítulo 4 56
Resultados y discusiones 56
4.1. Resultados y discusión física de las medidas DRX y análisis Rietveld 56
4.2. Resultados y Discusión física de las imágenes de TEM 63
4.3. Resultados y Discusión física de las medidas de FTIR 68
4.4. Resultados y discusión física de las medidas de diámetro hidrodinámico y potecial Zeta de la serie EQx 72
4.5. Mecanismo de interacción entre compuestos del EQ y los IONPs 77
Conclusiones 78
Recomendaciones 80
Bibliografía 82
Anexos 95
Anexo A 95
Anexo B 100
Anexo C 101

Índice de Figuras

Figura 1.1 Funcionalización de una nanopartícula de maghemita 4

Figura 2.1 Estructura cúbica de la espinela γ-Fe_2O_3 utilizando el software VESTA. 13

Figura 2.2 Estructura cristalina de la goethita graficada con el software VESTA 15

Figura 2.3 Principales características de las saponinas 17

Figura 2.4 Haz incidente de rayos-X sobre una familia de planos de un material cristalino 19

Figura 2.5 Montaje y funcionamiento de un Difractómetro de polvo comercial. 22

Figura 2.6 Resumen de las principales características de la técnica DRX 22

Figura 2.7 Difractómetro de rayos-X Empyrean con geometría Bragg-Brentano 28

Figura 2.8 Estructura y composición del microscopio electrónico de transmisión 30

Figura 2.9 Microscopio electrónico de transmisión JEM-2100F, disponible en el CBPF 32

Figura 2.10 Esquema de la doble capa eléctrica sobre la superficie de un adsorbente cargado negativamente. El potencial en el plano de deslizamiento es el potencial Zeta 33

Figura 2.11 Protocolo para medición de diámetro hidrodinámico y potencial Zeta de las nano partículas de la serie EQ. (a) Muestra sintetizada (b) Determinación de concentración y dilución, (c) Sonicación, (d) Verificación de funcionamiento del equipo de Dispersión Dinámica de la Luz (e) Medición de diámetro hidrodinámico y (f) Medición de potencial Zeta en un rango de pH 38

Figura 2.12 Principio, instrumentación, tipos de espectroscopia y aplicaciones de la radiación infrarroja 40

Figura 2.13 Tipos de Espectroscopía Infrarroja 41

Figura 2.14 Equipo Vertex 70v-Bruker disponible en el CBPF de Río de Janeiro 42

Figura 2.15 a) Medición de la muestra de EQ al 50% w/v con el equipo Lyza 7000, el cual consta de un software: AP Spectroscopy Suite. b) Espectrómetro FTIR: Lyza 7000 de la empresa Anton Paar 42

Figura 3.1 Quinua en remojo con agua ultrapura nivel I para la eliminación de saponinas 44

Figura 3.2 Masa de 50 g de quinua pesado con una balanza analítica (marca Balances) 44

Figura 3.3 Baño maría para el retiro del exceso de agua en la quinua y b) Tratamiento con $NaHCO_3$ 45

Figura 3.4 Proceso de separación de la quinua, b) colado y lavado para evitar la cocción, c) y d) licuado de la quinua con agua ultrapura nivel I 46

Figura 3.5 a) y b) Proceso de pasteurización del EQ 47

Figura 3.6 Proceso de filtrado del mosto para la purificación del EQ 48

Figura 3.7 Proceso de centrifugación y almacenamiento del EQ 49

Figura 3.8 EQ con una concentración al 20% w/v almacenados en frascos de vidrio 49

Figura 3.9 100 mL de solución del EQ a 80 °C 51

Figura 3.10 Masa de 5.2 g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ pesado por la balanza analítica 51

Figura 3.11 Masa de 6 g de $FeCl_3$ pesado por la balanza analítica 52

Figura 3.12 Dispersión de tono oscuro al añadir 15 mL de solución de NH_4OH en el matraz 53

Figura 3.13 Formación de los IONPs a una concentración de 20% w/v del EQ 53

Figura 3.14 Decantación magnética de los IONPs a una concentración del 20% w/v del EQ 54

Figura 3.15 Proceso de biosíntesis de IONPs a una concentración del 50% w/v del EQ. a) Dispersión y calentamiento del EQ, b) y c) adición de las sales de Fe, d) precipitación de las IONPs y e) proceso de decantación magnética y lavado 55

Figura 4.1 Difractogramas refinados de rayos-X de la muestra control y las biosintetizadas usando el EQ, muestras EQ1 y EQ2 56

Figura 4.2 Difractogramas refinados de rayos-X de la muestra control y las biosintetizadas usando el EQ, muestras EQ3 y EQ4 57

Figura 4.3 Difractogramas refinados de rayos-X de la muestra control y las biosintetizadas usando el EQ, muestras EQ5 y EQ6 58

Figura 4.4 Difractogramas refinados de rayos-X de la muestra control y las biosintetizadas usando el EQ, muestras EQ7 y EQ8 59

Figura 4.5 Difractogramas refinados de rayos-X de la muestra control y las biosintetizadas usando el EQ, muestras EQ9 y EQ10 60

Figura 4.6 Imágenes TEM de las muestras a-b) M control y c-d) EQ7 64

Figura 4.7 Imágenes TEM de las muestras e-f) EQ9 y g-h) EQ10 65

Figura 4.8 Histogramas de distribución de tamaño de partículas de la muestra control y de EQ7 66

Figura 4.9 Histogramas de distribución de tamaño de partículas de las muestras EQ9 y EQ10 67

Figura 4.10 Espectros de FTIR de la quinua en polvo, control de IONPs, EQ7, EQ9 y EQ10 71

Figura 4.11 Espectros de FTIR del EQ al 20 y 50% w/v, EQ9 y EQ10 72

Figura 4.12 a) Potencial Zeta vs. pH de las muestras M control, EQ1, EQ2, EQ3, EQ4 y EQ5

b) Potencial Zeta vs. pH de las muestras EQ6, EQ7, EQ8, EQ9 y EQ10 74

Figura 4.13 Funcionalización superficial de IONPs con hidroxilos 76

Figura 4.14 Funcionalización superficial de IONPs con amidas 77

Índice de Tablas

Tabla 1.1 Comparación entre las principales características de la NPs magnéticas obtenidas por diversos métodos de síntesis química 5

Tabla 1.2 Comparativo entre el tipo de partícula, extracto utilizado y diámetro de partícula para varios sistemas reportados en la literatura. 6

Tabla 2.1 Clasificación de los Óxidos de Hierro 9

Tabla 2.2 Características importantes de Maghemita. 12

Tabla 2.3 Características importantes de goethita. 14

Tabla 2.4 Factores que influyen en la obtención de intensidades en un difractograma 26

Tabla 2.5 Clasificación de parámetros globales y de fases 27

Tabla 3.1 Masa de granos de quinua en gramos utilizado para la preparación del extracto 45

Tabla 3.2 Detalle de las cantidades a utilizar de los reactivos precursores para la biosíntesis de IONPs 50

Tabla 4.1 Parámetros de refinamiento de Rietveld, parámetros estadísticos y tamaños de cristalitos de las muestras de M control y EQx(x=1-10). R_p (%), R_{wp} (%), R_{exp} (%) y χ^2. M indica maghemita y G goethita 61

Tabla 4.2 Parámetros morfológicos obtenidos del ajuste del histograma de distribución de tamaños de partículas. D es el diámetro de partícula (nm), σ es la desviación estándar, PDI es el índice de polidispersión y n es el número de partículas 67

Tabla 4.3 Posiciones de números de onda en la región IR para la quinua reportado en la ref. [75] y en la quinua blanca en polvo 68

Tabla 4.4 Bandas de IR características y posiciones de los números de onda para las muestras EQ7, EQ9 y EQ10 69

Tabla 4.5 Medidas de diámetro hidrodinámico (D_H) y punto isoeléctrico de las NPs biosintetizadas 73

Capítulo 1

Introducción

1.1 Antecedentes generales

En la búsqueda de métodos de síntesis de nanopartículas (NPs) que sean eficientes y permitan el control de residuos que no dañen el medio ambiente, se ha destacado el uso de extractos de plantas como agentes reductores y estabilizadores [1]. Dentro de este contexto, la quinua (*Chenopodium quinoa*) ha atraído una atención particular debido a su composición excepcionalmente rica en una variedad de compuestos bioactivos. Estos compuestos incluyen polifenoles, flavonoides y compuestos fenólicos, los cuales han demostrado tener propiedades reductoras y estabilizadoras. Esta combinación de ingredientes activos convierte a la quinua en un candidato ideal para desempeñar un papel clave en la biosíntesis de NPs. Las NPs de óxido de hierro (IONPs) son materiales extremadamente pequeños que destacan por su versatilidad, ya que poseen una serie de propiedades fisicoquímicas, estas incluyen una capacidad catalítica notable, una gran área superficial específica y la capacidad de responder a campos magnéticos externos utilizando imanes permanentes [1,2]. Se ha invertido mucho esfuerzo en mejorar los métodos de síntesis para producirlas de manera más eficiente, y una estrategia prometedora ha sido incorporar compuestos biológicos, también conocidos como sustratos biológicos, en su proceso de síntesis [1,3,4]. Esta inclusión de componentes biológicos en el proceso de producción se conoce como biosíntesis. Por ejemplo, Miri *et al*. realizaron la biosíntesis de IONPs utilizando una solución derivada de la planta de *taranjabin manna o Hedysarum* [3]. En sus investigaciones, encontraron que estas NPs no mostraron toxicidad contra la línea celular A549 y demostraron un gran potencial para eliminar el plomo del ambiente. De manera similar, Sikdar *et al*. llevaron a cabo

la biosíntesis de IONPs utilizando residuos de frutas, con el objetivo de explorar su viabilidad para aplicaciones industriales [4]. Las IONPs sintetizadas a partir del extracto de hojas de té verde han demostrado su efectividad para la eliminación de colorantes orgánicos como el azul de metileno y el naranja de metilo en medio acuoso. Además, son muy eficaces en la eliminación de colorantes catiónicos y aniónicos en un amplio rango de concentraciones de 10 a 200 mg/L [5]. Las IONPs son inestables por el medio ambiente y es necesario funcionalizar la superficie con recubrimientos orgánicos (polímeros, moléculas pequeñas, biomoléculas) o inorgánicos (sílica, óxidos metálicos, carbono), ver **Figura 1.1** [6]. Por ejemplo, Ramirez-Nuñez funcionalizaron IONPs usando extractos de canela y vainilla, estas nanopartículas fueron usadas para hipertermia en modelos in vitro causando una reducción del 88% de células BV-2 después de 30 min. También se ha reportado la funcionalización de IONPs con galato de epigalocatequina (compuesto natural presente en té verde) mostrando su eficiencia como agente de contraste, vehículo de liberación y en la hipertermia sobre tumores de próstata de ratón [7].

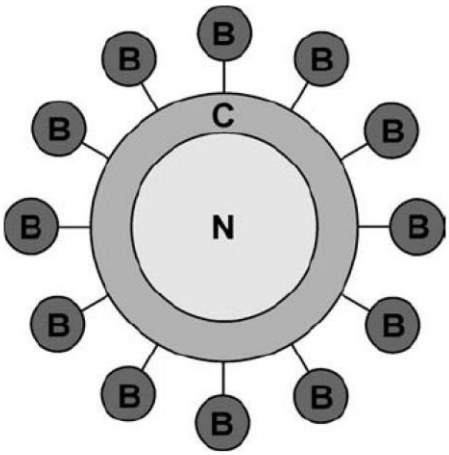
El-Said *et al.* funcionalizaron IONPs con extractos de hojas de té verde las cuales fueron utilizadas para el tratamiento del agua, estas NPs mostraron una eliminación del 99% de lindano usando 90 mg/L [8]. Otro ejemplo fue reportado por Ramesh *et al*. donde funcionalizaron IONPs con extracto de *Zanthaxylum armatum* DC el cual sirvió como agente reductor y de remoción. Estas NPs se utilizaron en la eliminación de azul de metileno mostrando una capacidad de adsorción de 10.4 mg/g [9]. Las IONPs han demostrado su importancia en áreas como la medicina o la remediación del medio ambiente. Sin embargo, en la industria alimentaria no existen muchos estudios por lo que podría convertirse en un área de investigación con grandes expectativas. Alavi *et al*. utilizaron los extractos de *Artemisia* para la síntesis de IONPs, las nanopartículas

mostraron efecto antioxidante y antimicrobiano contra cepas de *E. coli* ATCC 25922, *S. marcescens*. ATCC13880 y *S. aureus* ATCC 43300 [10].

Estos ejemplos resaltan el interés en utilizar recursos biológicos para producir IONPs, lo que podría tener implicaciones importantes tanto en términos de eficiencia de producción como de aplicaciones prácticas en diversos campos. En el presente trabajo de Tesis de Licenciatura, se ha optado por emplear EQ blanca comercial, un pseudocereal conocido por su excelente calidad y valor nutricional, especialmente cultivado en las zonas altoandinas [11], así como precursores químicos de sulfato ferroso ($FeSO_4$) y cloruro férrico ($FeCl_3$) en la biosíntesis asistida por coprecipitación química de NPs. *Chenopodium quinoa* está compuesto por una compleja matriz de componentes, como aminoácidos, proteínas, enzimas, vitaminas, polifenoles entre ellos de destacan la Quercetina y el Kaempferol [12,13,14]. Identificar las interacciones específicas entre estos componentes en la formación de IONPs es una tarea desafiante debido a la diversidad de compuestos biológicos presentes en ellos. Para abordar este desafío, se utilizó la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), una técnica adecuada para identificar los grupos funcionales característicos de los materiales. Las NPs biosintetizadas con asistencia de coprecipitación fueron sometidas a una caracterización utilizando Difracción de rayos X (DRX) y Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM). Se estudiaron sus valores de diámetro hidrodinámico y potencial Zeta utilizando la técnica de Dispersión Dinámica de la Luz (DLS) y Dispersión de la Luz de Análisis de Fase (PALS), respectivamente.

Figura 1.1

Funcionalización de una nanopartícula de maghemita. Imagen tomada de [15]



N: Maghemita

C: Sustancias químicas

B: Moléculas bioactivas

¿Cuál es el interés del uso de nanopartículas magnéticas basadas en óxidos de hierro en aplicaciones medio ambientales?

Las IONPs, se caracterizan por tener una alta relación de área superficial respecto al volumen, practicidad de funcionalización y fácil manipulación magnética que permite al nanomaterial ser recubierto por algún tipo de agente químico específico, disminuyendo su toxicidad y la particularidad de poseer un control exacto ante estímulos de campos magnéticos externos [15]. Estas propiedades fisicoquímicas de los nanoadsorbentes magnéticos facilitan, por ejemplo, la adsorción de arsénico y plomo de aguas contaminadas [16], los cuales son metales pesados muy frecuentes en aguas residuales.

¿Por qué se usa la técnica de co-precipitación para la síntesis sintética o química de IONPs?

La técnica de co-precipitación es uno de los procedimientos más sencillos, eficientes y de bajo costo; pues al poseer un alto rendimiento en la cantidad del producto, es común su uso para la síntesis de IONPs y es reproducible una vez fijada las condiciones sintéticas a nivel de laboratorio, como el tipo de sales de Fe, temperatura de la síntesis, el valor de pH y la fuerza iónica [17,18]. Cabe mencionar que la obtención del producto mediante esta ruta química produce partículas polidispersas, y las condiciones de síntesis juegan un rol muy importante en el tamaño y morfología de las NPs, a su vez existen rutas modificadas que logran superar estas dificultades. En la **Tabla 1.1**, se muestran las diferentes técnicas más usadas para síntesis de NPs magnéticas.

Tabla 1.1

Comparación entre las principales características de la NPs magnéticas obtenidas po r diversos métodos de síntesis química. Adaptado al castellano de [19]

Características	Métodos de Síntesis Química						
	Aerosol/ vapor (pirólisis)	Deposición de gas	Solución másica	Sol-gel	Microemulsión	Co-precipitación	Descomposición térmica
Tamaño y distribución de tamaño	De 5-60 nm y amplia distribución	De 5-50 nm y distribución de tamaño estrecho	De 10-50 nm y amplia distribución de tamaño	De 20-200 nm y amplia distribución de tamaño	De 4-15 nm y distribución de tamaño muy estrecho	De 4-25nm y distribución relativamente estrecha	De 3-50 nm distribución muy estrecha
Morfología	Esférico	Esférico	Esférico (agregados largos)	Esférico con alta porosidad	Cúbico o esférico (no agregado)	Esférica irregular	Cúbica-esférica
Valores de magnetización de saturación	$10-50$ emu/g con propiedad magnética deseada	>20 emu/g	$20-50$ emu/g posible comportamiento superparamagnético	$10-40$ emu/g posible comportamiento paramagnético	>30 emu/g posible comportamiento superparamagnético	$30-58$ emu/g posible comportamiento superparamagnético	$58-76$ emu/g posible comportamiento superparamagnético

Ventajas	Alta tasa de producción	Útil para recubrimientos protectores y deposición de películas delgadas	Puede ser sintetizado grandes cantidades	Se pueden sintetizar partículas de la forma y longitud deseadas, lo que resulta útil para hacer nanopartículas híbridas	Se pueden modular las propiedades uniformes y el tamaño de nanopartículas	Una producción simple y eficiente. Alto rendimiento	Alta calidad en dispersión de tamaño y cristalinidad
Desventajas	Se forman grandes agregados	Requiere de temperaturas muy alta	Oxidación incontrolada de magnetita a maghemita, contribución diamagnética	contiene generalmente componentes de matriz sol-gel en sus superficies	Solo se pueden sintetizar pequeñas cantidades y es difícil la eliminación de tensioactivos	Bajo grado de cristalinidad y partículas polidispersidas grande	Es más laborioso su tratamiento, requiere de condiciones atmosféricas inertes. Uso de químicos altamente tóxicos

En la **Tabla 1.2** se resume seis sistemas de IONPs sintetizados usando diversos extractos.

Tabla 1.2

Comparativo entre el tipo de partícula, extracto utilizado y diámetro de partícula para varios sistemas reportados en la literatura

Tipo de nanopartícula	Extracto utilizado	Diámetro de nanopartícula (nm)	Referencia
Nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas	*Eucalyptus globulus*	2.3	[20]
Nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4)	*Rhus Coriaria*	7.9	[21]
Nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4)	Extracto de Artemisia	19-24	[22]
Óxido de hierro (Fe_3O_4-NPs)	*Clausena indica*	47.5-59.5	[23]
Nanopartículas de óxido de hierro	*Carica papaya*	21.6	[24]
Nanoesferas de α-Fe_2O_3 magnéticas	*Bridelia retusa*	38.6	[25]

1.2 Problema general

No se conoce la influencia de la concentración del extracto de *Chenopodium quinoa* en la optimización de la biosíntesis de las Nps.

Problemas específicos

- ✓ No se han identificado y cuantificado por DRX las fases cristalinas y propiedades microestructurales en las muestras biosintetizadas.

- ✓ No se ha realizado el proceso de biosíntesis de IONPs considerando sistemáticamente la variación en la concentración del extracto de *Chenopodium quinoa* y la reducción del hidróxido de amonio como precursor químico.
- ✓ No se han caracterizado las IONPs biosintetizadas con extracto de *Chenopodium quinoa.*

1.3 Objetivo general

Realizar la optimización de IONPs utilizando extractos de *Chenopodium quinoa*.

Objetivos específicos

- ✓ Identificar y cuantificar por DRX las fases cristalinas y propiedades microestructurales en las muestras biosintetizadas.
- ✓ Optimizar los parámetros de biosíntesis usando varias concentraciones de EQ reduciendo el reactivo de hidróxido de amonio (NH_4OH).
- ✓ Caracterizar las NPs obtenidas por la biosíntesis usando TEM, DLS, potencial Zeta y FTIR.

1.4 Hipótesis general

El uso de extractos de *Chenopodium quinoa* en diferentes concentraciones podría optimizar la síntesis de IONPs.

Hipótesis específicas

- ✓ La variación en la concentración del extracto de *Chenopodium quinoa* podría influir en la estructura cristalina y la morfología de las IONPs biosintetizadas.
- ✓ El uso del extracto de *Chenopodium quinoa* en la biosíntesis de IONPs podría permitir disminuir la cantidad de NH_4OH.

- ✓ Las IONPs biosintetizadas con extractos de *Chenopodium quinoa* podría permitir una mayor estabilidad coloidal y modificaciones en sus propiedades vibracionales en comparación con aquellas obtenidas mediante métodos tradicionales.

La presente Tesis de Licenciatura se estructura con los cuatro siguientes capítulos que se detallan a continuación:

El capítulo 2 se hace una revisión de conceptos fundamentales como las propiedades estructurales de los IONPs, la composición química de la quinua y la comprensión de técnicas experimentales como la difracción de rayos-X, refinamiento Rietveld, microscopía electrónica de transmisión, dispersión dinámica de la luz, potencial Zeta y espectroscopía de infrarrojo.

El capítulo 3 corresponde a la estandarización de la preparación de los extractos de quinua y a la optimización del proceso de biosíntesis de las IONPs usando distintas concentraciones de extracto de *Chenopodium quinoa*.

En el capítulo 4 se encuentra la discusión y análisis de resultados obtenidos.

En el capítulo 5 se encuentran plasmadas las conclusiones de la presente Tesis.

Finalmente, se halla un apartado de recomendaciones y anexos correspondientes a los méritos de la tesis de Licenciatura.

Capítulo 2

Conceptos fundamentales y técnicas experimentales

En el presente capítulo se describen en detalle las propiedades físicas de los óxidos de hierro. Además, se analizan los principios físicos de las técnicas experimentales empleadas en la caracterización y análisis de las muestras en investigación. Por último, se detalla la instrumentación y condiciones experimentales utilizadas en las mediciones de las propiedades físicas de las IONPs.

2.1. Conceptos fundamentales

2.1.1. Propiedades estructurales de los óxidos de hierro

Los compuestos de óxidos de hierro, entre óxidos, hidróxidos y óxidos-hidróxidos, son muy frecuentes en la naturaleza y son de gran interés por diferentes disciplinas científicas. Siendo 16 los diferentes tipos de óxidos de Hierro (Fe), véase **Tabla2.1**, el Fe se encuentra en conjunto con el O y/o OH. Este compuesto consiste en matrices de aniones muy compactas, pero también existen huecos donde se encuentran parcialmente llenos por cationes Fe^{+2} o Fe^{+3}. Además, suele predominar la coordinación octaédrica de los cationes y otras veces la coordinación tetraédrica [26].

Tabla 2.1

Clasificación de los Óxidos de Hierro [26]

Clasificación	Nombre	Fórmula Química
Óxidos	Wüstita	FeO
	Magnetita	Fe_3O_4
	Hematita	$\alpha - Fe_2O_3$
	Maghemita	$\gamma - Fe_2O_3$
	---------	$\beta - Fe_2O_3$
	---------	$\varepsilon - Fe_2O_3$

Hidróxidos	---------	$Fe(OH)_2$
	Bernalita	$Fe(OH)_3$
	Ferrihydrita	$Fe_5OH_8 \cdot 4H_2O$
Óxidos-Hidróxidos	De alta presión	$FeOOH$
	Goethita	$\alpha - FeOOH$
	Akaganéita	$\beta - FeOOH$
	Lepidocrocita	$\gamma - FeOOH$
	----------	$\delta - FeOOH$
	Feroxyhyta	$\delta' - FeOOH$
	Schwertmannita	$Fe_{16}O_{16}(OH)_y(SO_4)_z \cdot nH_2O$

Existen dos formas básicas de representar la estructura cristalina de los óxidos de Fe: el primero, puede ser descrito en términos de la disposición de oxígenos (empaquetamiento) o de otra forma, podemos considerar a un átomo de hierro central con sus vecinos aniónicos más cercanos (ligandos), formando enlaces octaédricos y/o tetraédricos [26].

A continuación; se estudiará dos tipos de óxido de Fe que son la maghemita, que posee una estructura cúbica de espinela inversa con vacancias, y la goethita, las cuales poseen un comportamiento ferrimagnético y antiferromagnético, respectivamente.

2.1.1.1. Estructura cristalina de la maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$)

Es el segundo mineral polimorfo de óxido de hierro (III) que es opaco y de color pardo oscuro, que se produce de forma natural como producto de la autooxidación de la magnetita a temperatura ambiente (TA) y presión estándar [26,27,28]. Siendo de gran importancia para la industria tecnológica debido a la producción de materiales magnéticos, magneto-ópticos, almacenamiento de información y catalizadores [29].

La maghemita ha sido catalogada con anterioridad como una estructura espinela defectuosa con ocupación incompleta del sitio del catión de espinela [30]; sin embargo, diversos autores en la actualidad señalan que su estructura a escala másica es similar a

la magnetita (Fe_3O_4), es decir que se encuentra estrictamente relacionada con la espinela inversa, pero la diferencia radica en que la mayor parte de Fe se encuentra en estado Fe^{+3} y la distribución de los sitios de las vacancias en la sub-red de cationes, de tal forma que las vacantes de cationes compensan la oxidación de Fe [31].

La celda unitaria de la maghemita es del tipo cúbica, que fue descrito por primera vez en 1935 por Hägg, posee un parámetro de red (a) actualmente aceptado de $(a = 8.34\ \text{Å})$ y con grupo espacial $Fd\bar{3}m$ [32]. Formalmente, según la estequiometría, su estructura básica puede expresarse según la ecuación (2.1):

$$(Fe^{3+})_8[\ Fe^{3+}_{40/3}\ \square_{8/3}\ ]\ O_{32} \qquad (2.1)$$

Donde ( ) representa al sitio tetraédrico (sitio A), [ ] al sitio octaédrico (sitio B) y □ las vacancias que se encuentran generalmente en las posiciones octaédricas para compensar el aumento de carga positiva. Por otro lado, la naturaleza y el grado de posición exacta que ocupan las vacancias está relacionado con el tamaño del cristalito, la naturaleza del precursor y la cantidad de Fe en la estructura cristalina, por tanto, el ordenamiento de las vacancias da lugar a diferentes simetrías cristalinas como la estructura cúbica con distribución aleatoria, la estructura propuesta por Braun y la superestructura tetragonal espinela propuesta por Oosterhout y Rooijmans [33-34].

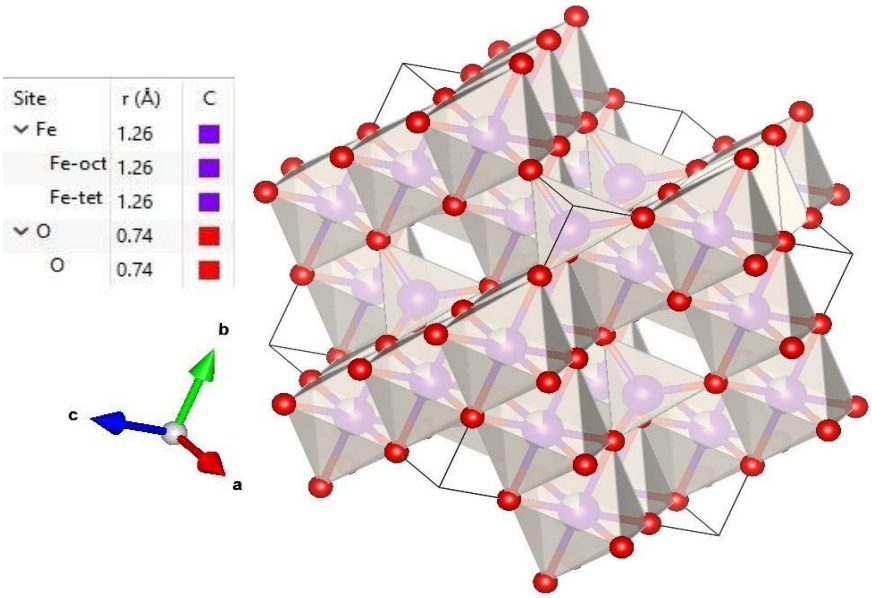
Tabla 2.2

Características importantes de la Maghemita. Base de datos AMCSD https://rruff.geo.arizona.edu/AMS/CIF_text_files/09233_cif.txt

Fórmula	$\gamma - Fe_2O_3$				
Simetría	cúbica				
Grupo espacial	$Fd\bar{3}m$				
Parámetros de la celda unitaria	$a = 8.33$ Å $b = 8.33$ Å $c = 8.33$ Å		$\alpha = 90.00°$ $\beta = 90.00°$ $\gamma = 90.00°$		
Volumen de la celda unitaria	578.01 Å^3				
Posiciones atómicas	ocupancia	átomo	x	y	z
	0.83333	Fe-oct	0.500	0.500	0.500
	1.00000	Fe-tet	0.125	0.125	0.125
	1.00000	O	0.250	0.250	0.250

Figura 2.1

Estructura cúbica de la espinela γ-Fe_2O_3 utilizando el software VESTA



2.1.1.2. Estructura cristalina de la goethita ($\alpha - FeOOH$)

Es un mineral sub-traslúcido opaco, de coloración entre pardo a pardo amarillento que suele encontrarse de forma natural en rocas y es el más abundante de los oxihidróxidos de hierro por ser el primer óxido en formarse (oxidación de la magnetita) o el final de muchas transformaciones (envejecimiento de la ferrihidrita de dos líneas en suspensión acuosa), además termodinámicamente es el más estable a temperatura ambiente e industrialmente la goethita es un pigmento importante.

La estructura cristalina de la goethita (grupo espacial $Pnma$) se describe como una diáspora, es decir posee un empaquetamiento hexagonal compacto (HCP) de iones de oxígeno (O^{2-}) e hidróxido (OH^-) a lo largo de la dirección [0 1 0] con iones de Fe^{3+}, que se encuentran en los intersticios de los sitios octaédricos en series dobles de filas, seguidas por otras dos filas de vacancias. Cada ion Fe está rodeado por tres O^{2-} y tres OH^- , es decir $FeO_3(OH)_3$ en términos octaédricos, donde las cadenas dobles de

octaedros se encuentran en la dirección [1 0 0]. La celda unitaria es considerada ortorrómbica con los valores de $a = 9.956$ Å, $b = 3.0215$ Å y $c = 4.0608$ Å .Estos parámetros de red, suelen ser ligeramente diferentes para goetitas sustituidas por metales; además, la longitud de c es sensible al desorden del cristal, en tanto se aumente el desorden, se podría tener una variación de 0.003 Å.

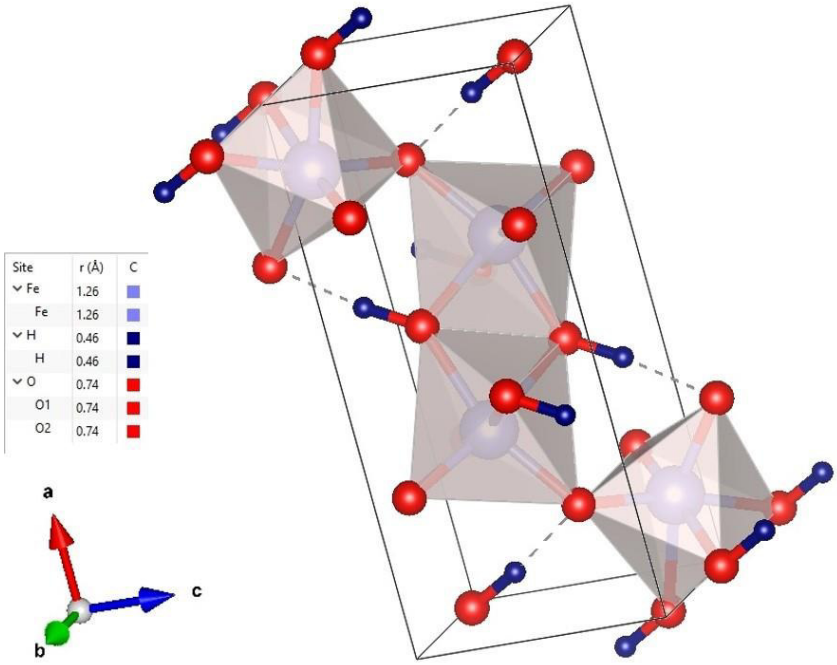
Tabla 2.3

Características importantes de goethita. Data base MINCRYST http://database.iem.ac.ru/mincryst/index.php

Fórmula		$\alpha - FeO(OH)$			
Simetría		ortorrómbica			
Grupo espacial		$Pnma$			
Parámetros de la celda unitaria		$a = 9.91$ Å $b = 3.01$ Å $c = 4.58$ Å		$\alpha = 90°$ $\beta = 90°$ $\gamma = 90°$	
Volumen de la celda unitaria		138.37 Å^3			
	N/N	Ocupación	x/a	y/b	z/c
Posiciones atómicas	1	Fe	0.1450	0.2500	0.9550
	2	O	0.8010	0.2500	0.2880
	3	O	0.9470	0.2500	0.8020
	4	H	0.9200	0.2500	0.6200

Figura 2.2

Estructura cristalina de la goethita graficada con el software VESTA



2.2. Propiedades químicas y nutricionales de *Chenopodium quinoa*

Botánicamente, la quinua pertenece a la clase *Dicotyledoneae*, familia *Chenopodiaceae*, género *Quenopodio*, y especie *Quinua* [35]. Las semillas de quinua contienen minerales y vitaminas como la vitamina B [36], vitamina C [37] y vitamina E [38], también se ha descubierto que contiene compuestos como polifenoles, fitoesteroles y flavonoides. Los polifenoles son metabolitos secundarios de las plantas con potentes propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y neuroprotectoras. En la quinua blanca, destacan dos flavonoides principales: la Quercetina y el Kaempferol, los cuales han sido ampliamente estudiados por sus beneficios para la salud. La Quercetina es un flavonoide con fuertes propiedades antioxidantes que protege a las células del daño oxidativo. Se ha demostrado que la quercetina tiene efectos antiinflamatorios, antivirales y cardioprotectores, ayudando a reducir el riesgo de enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares. Además, este compuesto tiene la

capacidad de modular la respuesta del sistema inmune y mejorar la salud cerebral. Por otro lado, el Kaempferol es conocido por su capacidad para reducir la inflamación y combatir el estrés oxidativo. Además, estudios han sugerido que el Kaempferol puede desempeñar un papel en la prevención del cáncer. También tiene propiedades hepatoprotectoras y neuroprotectoras, contribuyendo a la salud general del organismo [39].

Las semillas de quinua son un alimento completo con un alto valor nutricional, debido principalmente a su alto contenido de proteínas de buena calidad [40]. Además de su contenido proteico, se han realizado muchos estudios sobre sus lípidos [41], almidón [42], minerales [43] y saponinas [44].

Las saponinas son un amplio grupo de glucósidos encontrados en plantas; su nombre proviene del género de plantas Saponaria, cuya raíz se usaba como jabón (sapo, onis = jabón) [45] por lo tanto, son solubles en agua y forman soluciones espumosas. Las saponinas son glucósidos esteroides, siendo estos últimos más comunes en los cultivos [46]. La quinua tiene una capa externa de semillas que contiene saponinas, que son tóxicas y de sabor amargo, lo que hace necesaria su eliminación antes de comer o procesar para la fabricación de productos alimenticios. El contenido de saponinas de la planta es una característica protectora.

Según su estructura química, las saponinas se pueden eliminar parcialmente lavando con agua, pero incluso después de lavar algunas de ellas permanecen en la semilla. Es también recomendable el uso de agua ligeramente alcalina en lugar de agua neutra para retirar el exceso de saponinas en las semillas de quinua [47].

Estudios experimentales en ratas revelaron que al ser alimentados con dietas de quinua sin lavar estas mostraron problemas digestivos afectando la asimilación de nutrientes,

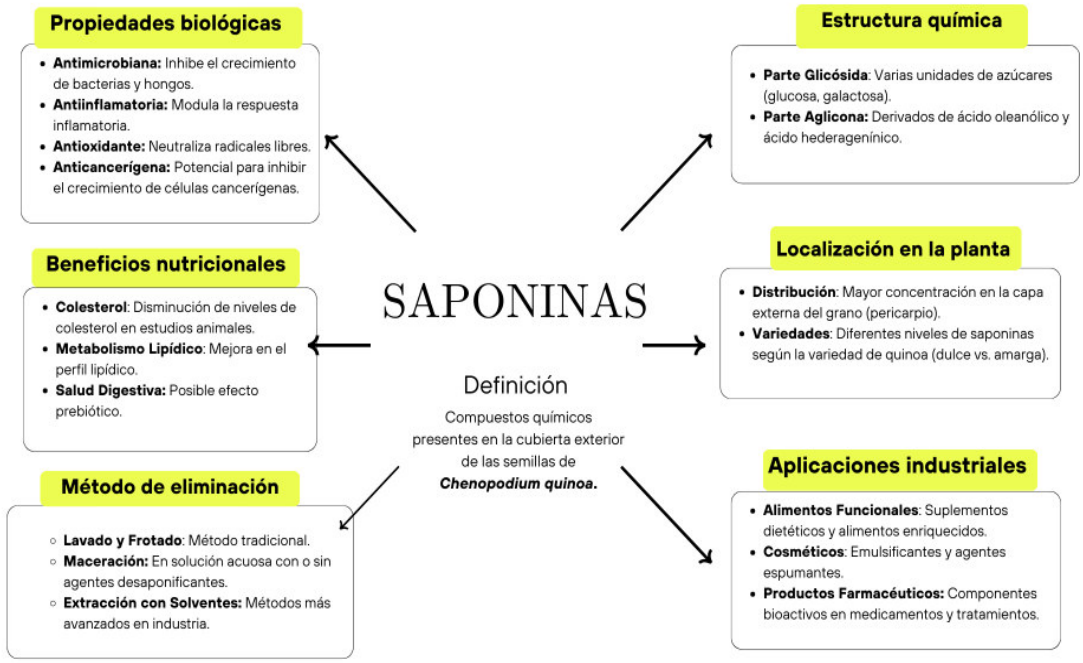
daños en el crecimiento y una reducción en la eficiencia de conversión de los alimentos. Como consecuencia, las ratas experimentaron un crecimiento limitado y deteriorado. Estos hallazgos subrayan la importancia del proceso de lavado de la quinua antes de su consumo, especialmente en dietas para monogástricos [48].

Finalmente, las saponinas tienen importancia comercial e industrial ya que se utilizan en la preparación de jabón, detergentes y champús. En la **Figura 2.3** se resumen las principales características de las saponinas.

Cabe resaltar que la preparación de extractos dados en el Capítulo 3 fueron realizados lavando y retirando el exceso de saponinas de la quinua blanca comercial usada para la biosíntesis.

Figura 2.3

Principales características de las saponinas



2.3. Técnicas Experimentales

2.3.1. Difracción de Rayos-X

La radiación por rayos X con la materia, continúa siendo un método muy popular y efectivo para el análisis y determinación estructural. Al interactuar los rayos X con el sólido se genera una dispersión, que es la recepción seguida de una remisión de los rayos, debido a la presencia de los electrones que se encuentran en el sólido [49]. Sin embargo, al poseer el sólido átomos que se encuentran en posiciones ordenadas, la dispersión de rayos X sobre estos ordenamientos se le conoce como Difracción de rayos X (DRX).

Como resultado de la DRX, se obtiene una distribución no uniforme de intensidades y de la distribución espacial, que es conocido como difractograma. Este último posee información importante de la estructura y microestructura de la muestra analizada, además que la ubicación de las posiciones atómicas puede ser entendidas mediante la ley de Bragg.

La información que se obtiene del difractograma contiene dos aspectos diferentes, pero a su vez complementarios: la geometría de las direcciones de difracción y la intensidad de los rayos difractados. El primero, proporciona información del sistema cristalino, como el tamaño y forma de la celda unitaria; y el segundo se encuentra relacionado con la naturaleza del átomo y las posiciones que ocupan en la red del cristal [50].

Históricamente, encontramos que el primer experimento de DRX por un cristal fue realizado por W. Friedrich, P. Knipping y M. von Laue en 1912 y un año después, William Henry Bragg y su hijo William Lawrence Bragg en 1913 construyeron la ley conocida como ley de Bragg [51].

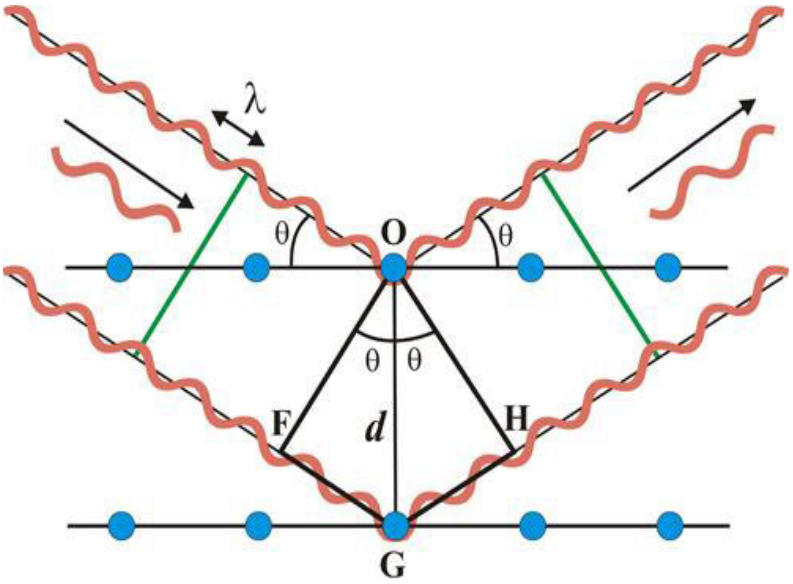
2.3.1.1. Ley de Bragg

A inicios de 1913, los físicos británicos William Henry Bragg y su hijo William Lawrence Bragg propusieron un modelo donde los electrones de los átomos dispersan en diferentes direcciones los rayos-X incidentes y estos rayos serán reforzados uno a uno, por el cual se generará una interferencia constructiva para una sola dirección de la dispersión en un cristal.

En una estructura cristalina periódica, se encuentra conformada por un conjunto de planos paralelos entre sí, igualmente espaciados y con posiciones atómicas idénticas; que al incidir un haz de rayos-X en uno de los planos forma un ángulo (θ) y al reflejarse, también forma un ángulo (θ); deduciéndose un ángulo total entre los haces el valor de (2θ) [52].

Figura 2.4

Haz incidente de rayos-X sobre una familia de planos de un material cristalino. Recuperado de: https://www.xtal.iqfr.csic.es/Cristalografia/parte_05_5.html



Observamos de la **Figura 2.4** las reflexiones de los planos sucesivos tendrán interferencia destructiva o constructiva, pero para que la interferencia sea constructiva, según la condición de difracción, la diferencia de la longitud del camino de los rayos

deben ser igual un número entero de veces la longitud de onda. Entonces, el haz incidente sobre el segundo plano que recorre una distancia de $FG + GH$, tendrá una interferencia constructiva si:

$$FG + GH = n\lambda \qquad (2.2)$$

Que, si ejercemos un poco de geometría notamos que:

$$FG = GH = d\ sen(\theta) \qquad (2.3)$$

Reemplazando:

$$FG + GH = 2d\ sen(\theta) = n\lambda \qquad (2.4)$$

Obteniendo finalmente:

$$2d\ sen(\theta) = n\lambda \quad / n \epsilon Z \qquad (2.5)$$

Esta última ecuación es conocida como la ***ley de Bragg***, donde d es la distancia entre los planos cristalinos (distancia interplanar) y esta ley es válida para neutrones y rayos-X scattering elástico; por otro lado, la interferencia constructiva hace posible la apreciación de picos característicos en los difractogramas.

2.3.1.2. Métodos de Difracción de rayos-X

Existen diferentes tipos de métodos DRX, entre ellos se encuentra el método de Laue, el método de movimiento o rotación total o parcial del cristal, el método de polvo cristalino, entre otros.

Debido a los fines prácticos que conlleva la presente investigación, se desarrollará a continuación solo el método de polvo cristalino.

2.3.1.2.1. Método de polvo cristalino o Debye-Scherrer

Esta técnica se puso de manifiesto en primer lugar en Alemania por P. Debye y P. Scherrer en (1916) donde luego se convertiría rápidamente en una técnica experimental de uso extendido por su amplia aplicación en el estudio de sustancias cristalinas. La identificación de fases cristalinas es uno de los campos de aplicación más importantes del método de polvo cristalino y el registro del espectro difractado puede realizarse usando dos dispositivos experimentales: el método fotográfico cámaras de Deybe-Scherrer) y el difractómetro de polvo [53].

2.3.1.3.Difractómetro de Polvo

Un difractómetro de polvo posee generalmente una geometría de tipo Bragg- Brentano, donde el contador electrónico puede formar un ángulo variable de $(2\theta = 3° - 110°)$ con el haz incidente de rayos X y cuando la muestra gira un ángulo de (θ) el contador gira (2θ); siendo esta diferencia de ángulos conocido como "Difractómetro de dos círculos" [54]. Por otro lado, para un difractómetro de polvo comercial, la muestra se encuentra en el centro de eje del goniómetro, ver **Figura 2.5**, donde la velocidad angular está sincronizada en la relación 2:1 con el detector. La **Figura 2.6** resume las principales características de la técnica DRX.

Figura 2.5

Montaje y funcionamiento de un Difractómetro de polvo comercial. Tomado de [55]

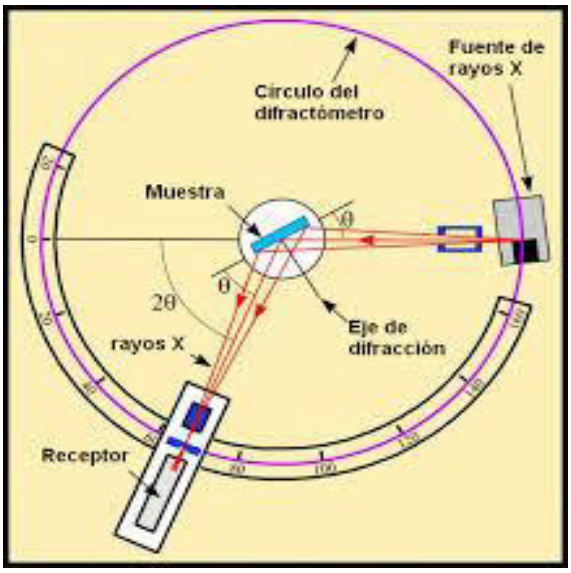
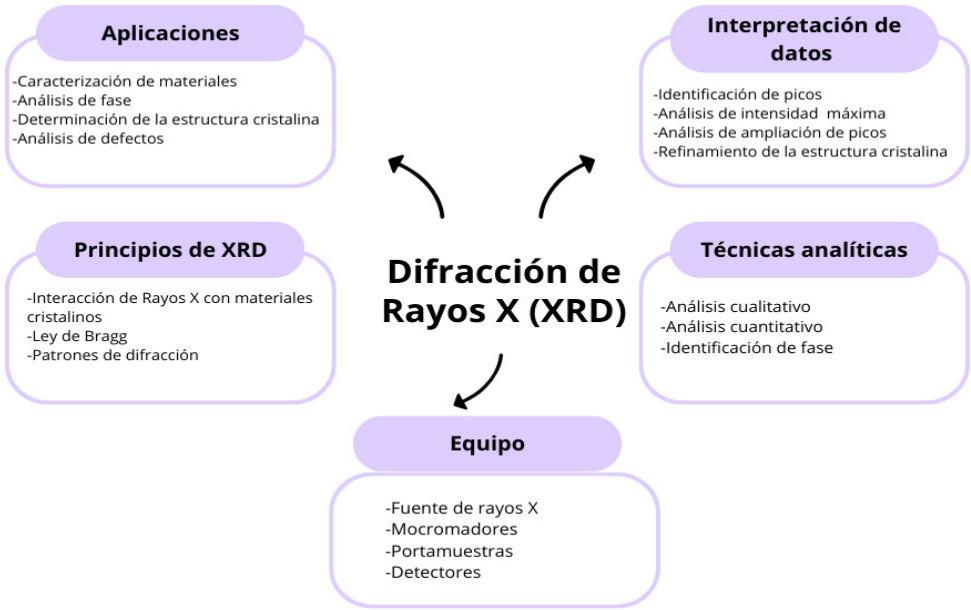


Figura 2.6

Resumen de las principales características de la técnica DRX



2.3.2. Determinación del tamaño de cristalito y refinamiento Rietveld

La técnica experimental de DRX resulta ser conveniente para la determinación del tamaño medio del cristalito [56]. Por ello, existen diferentes modelos que han sido

elaborados para ayudar en el estudio de los parámetros microestructurales, con el objetivo de obtener medidas más precisas y realistas. Siendo, el más simple y utilizado el método de Scherrer como método de ancho integral directo y el método de Rietveld como método de refinamiento estructural y microestructural, siendo este último más complejo englobando al método de Scherrer.

2.3.2.1. Método de Scherrer

En 1918, Paul Scherrer fue uno de los primeros científicos que hizo público la contribución del tamaño de cristalito en los picos de difracción, que fue conocida como fórmulas de Scherrer y no Debye-Sherrer como algunos lo suelen confundir [56]. La ecuación de Scherrer fue obtenida para una condición ideal: un haz paralelo de rayos X (monocromático y estrecho) incide sobre un polvo monodisperso de cristalitos de forma cúbica, que es aplicable para tamaños promedio de $100 - 200$ nm [56]. Que posee la siguiente denotación:

$$D = \frac{k\lambda}{\beta cos\theta} \tag{2.6}$$

Donde D es el tamaño medio del cristalito (nm), λ es la longitud de onda de los rayos-X (nm), β es el ancho de pico a mediana altura del pico de difracción en radianes, θ es la posición angular en ° o radianes y k es una constante relacionada con la morfología del cristalito. El valor de k puede tener un valor de 0.9, que es un valor muy bien aproximado si no se posee una información detallada de la forma [56].

En la determinación del ancho de pico a mediana altura (β), se debe considerar la contribución instrumental en el pico de difracción [57], por ello β debe ser corregido como:

$$\beta_D^2 = [(\beta^2)_{medido} - (\beta^2)_{instrumental}] \tag{2.7}$$

Y la ecuación de Scherrer es:

$$D_s = \frac{k\lambda}{\beta_D cos\theta} \tag{2.8}$$

Donde D_s es el tamaño promedio del cristalito por el método Scherrer y β_D es el valor del ancho de pico a mediana altura corregido. Para efectos de la presente tesis, los valores de k y λ son 0.9 y 1.56 Å, respectivamente.

2.3.2.2. Refinamiento Rietveld

En la actualidad sigue siendo de gran uso métodos monocristalinos como herramienta principal del análisis estructural cristalográfico [58]; sin embargo, suele suceder que existe la posibilidad de perder información cuando hay superposición de reflexiones cercanas en el perfil de difracción [59]. Es por ello que en 1969 Hugo Rietveld realiza una técnica de ***Refinamiento de perfiles*** que consiste en el ajuste iterativo (variado), tanto teórico (cuantitativo) de parámetros estructurales o de red, desplazamientos atómicos, anisotropía, entre otros.; y un ajuste cualitativo, hasta alcanzar un valor de convergencia entre las intensidades experimentales y el modelo teórico [60].

2.3.2.2.1. Fundamento Teórico del Método de Rietveld

Este método consiste en ajustar un modelo teórico con el patrón experimental usando el método de mínimos cuadrados, donde recibe el nombre "Residuo" (S_y) a la función minimizada en el refinamiento del patrón de difracción.

$$S_y = \sum_i w_i(y_i - y_{cal}) \qquad / \, w_i = 1/y_i \tag{2.9}$$

Donde y_i es la intensidad experimental y y_{cal} es la intensidad calculada o modelo teórico, que engloba a todo el conjunto de puntos del patrón de difracción que se desea ajustar.

El factor de estructura ($|F_k|^2$) determina las intensidades calculadas (y_{cal}),[60] que en general es calculado como:

$$y_{cal} = s \sum_k L_k |F_k|^2 \phi(2\theta_i - 2\theta_k)\, O_k A + y_{bi} \qquad (2.10)$$

Donde:

s: es el factor de escala que depende de la cantidad de la muestra, intensidad de radiación, eficiencia del detector y el arreglo óptico del equipo.

k: representa a los índices de Miller ($h\ k\ l$)

L_k: agrupa a los factores de Lorentz, polarización y factores de multiplicidad.

$\phi(2\theta_i - 2\theta_k)$: es la función de forma de los picos (gaussiana, pseudovoigt, entre otros.), centrada en el ángulo de Bragg ($2\theta_k$).

O_k: es el término de orientación preferencial, que es importante cuando no se tiene a los cristales en la disposición aleatoria deseada.

A: es una constante para todo el patrón.

y_{bi}: es la intensidad del fondo en la posición ($2\theta_k$).

F_k: como ya se había señalado antes, es el factor de escala y es calculado como:

$$F_k = \sum_J N_J f_J \exp[2\pi(hx_i + ky_i + lz_i)] \exp[-B_J sen^2\theta/\lambda^2] \qquad (2.11)$$

Donde, N_J es la multiplicidad de la ocupación de los átomos, f_J es el factor de forma atómico del J-ésimo átomo, B_J es el desplazamiento atómico del J-ésimo átomo en una aproximación isotrópica y θ es el ángulo de incidencia [60].

2.3.2.2.2. Aplicaciones y Factores que influyen en el Método de Rietveld

Se sabe que el método de Rietveld ha podido superar la variedad de dificultades que se presentan en la difractometría de policristales, por ello este método ha sido capaz de establecer aplicaciones consecuentes, tales como lo señala en [61]:

- Análisis cualitativo de fases.
- Parámetros reticulares.
- Tamaño de cristalito o grano.
- Análisis de texturas.
- Estudio de estructuras magnéticas (neutrones)
- Refinar las posiciones de los átomos y factores de ocupación

Este último, que corresponde a la determinación de posiciones atómicas se encuentran íntimamente relacionadas con las intensidades que son notables en patrón de difracción, como ya se había señalado antes en DRX. Se puede clasificar en cuatro categorías que contribuyen a la obtención de intensidades, ver **Tabla 2.5.**

Tabla 2.4

Factores que influyen en la obtención de intensidades en un difractograma [61]

Factores Estructurales	Dispersión atómica, factor de estructura, polarización, multiplicidad y temperatura.
Factores Instrumentales	Intensidad del haz de rayos-X, eficiencia del difractómetro, ancho de rendija y divergencia axial permitida.
Factores de la Muestra	Absorción, tamaño de cristalito, grado de cristalización y orientación de los cristalitos.
Factores en la Medida	Medida del área de picos, obtención de fondo, picos producidos por la radiación de K_{α_2}y el grado de suavizado empleado

2.3.2.2.3. Tipos de parámetros

El patrón calculado posee distintos parámetros que son parte de las ecuaciones que constituyen a la descripción de este patrón; pero es posible clasificarlo en dos grupos como se mostrará en la **Tabla 2.6.**

Tabla 2.5

Clasificación de parámetros globales y de fases [61]

Parámetros globales	Equipo	Cero del equipo
		Correcciones instrumentales
		Longitud de onda
	Muestra	Fondo (background)
		Desplazamiento de muestra
		Transparencia de la muestra
		Absorción
Parámetros de fases	Celda Unitaria	Posiciones de los átomos en la celda unitaria
		Factor de ocupación
		Factores térmicos isótropos y anisótropos
		Parámetros de la red directa
	Microestructura	Factor de escala
		Orientación preferencial
		Tamaño del cristalito y microdeformaciones
		Extinción
		Asimetría de los perfiles

2.3.2.2.4. Condiciones experimentales y equipo utilizado

Los experimentos de difracción de rayos-X fueron llevados a cabo utilizando un difractómetro Empyrean (Malvern Panalytical, Malvern, UK) disponible en el Laboratorio de Nanociencia y Nanotecnología Multiusuario del Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF), Rio de Janeiro, Brasil, operando con radiación CuK_{α} a una longitud de onda $\lambda = 1.54056$ Å emitido por un ánodo de Cu en condiciones de 45 kV y 40 mA. Los datos de DRX fueron recolectados en el rango $2\theta = 10–80°$ usando una

geometría Bragg-Brentano en modo rotatorio con paso de 0.01°. La identificación de las fases cristalográficas se realizó con el software Match versión 3 (V3, Crystal Impact, Bonn, Germany) [62]. Para la fase γ-Fe_2O_3, los parámetros iniciales fueron propuestos para una estructura cúbica, con grupo espacial $Fd\bar{3}m$ y parámetro de red a = 8.33 Å (Match entry 900-6317) y Pnma para la goethita, ver **Tabla 2.3**. El software FullProf Suite (Gif sur Yvette Cedex, France, version January 2021) fue empleado para el refinamiento Rietveld, donde la función de asimetría de divergencia axial Thompson–Cox–Hastings (TCH) pseudo-Voigt fue utilizada como una función del perfil de difracción. Finalmente, la función de resolución instrumental (IRF) del difractómetro fue obtenida del estándar de óxido de aluminio (Al_2O_3) con parámetros U = 0.0093, V = −0.0051, y W = 0.0013 [63].

Figura 2.7

Difractómetro de rayos-X Empyrean con geometría Bragg-Brentano



2.3.3. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

La microscopía electrónica es una técnica que nos permite obtener información "local" de la muestra estudiada a diferencia de la mayoría de las técnicas que aportan una información media. Pese a que las técnicas de difracción de rayos-X nos permiten obtener información detallada de las distancias entre los átomos con una precisión muy por debajo del nivel de Angstroms, la microscopía electrónica y técnicas asociadas (EDX y EELS) necesitan cantidades de muestra mucho más pequeñas y proporcionan información de áreas mucho menores.

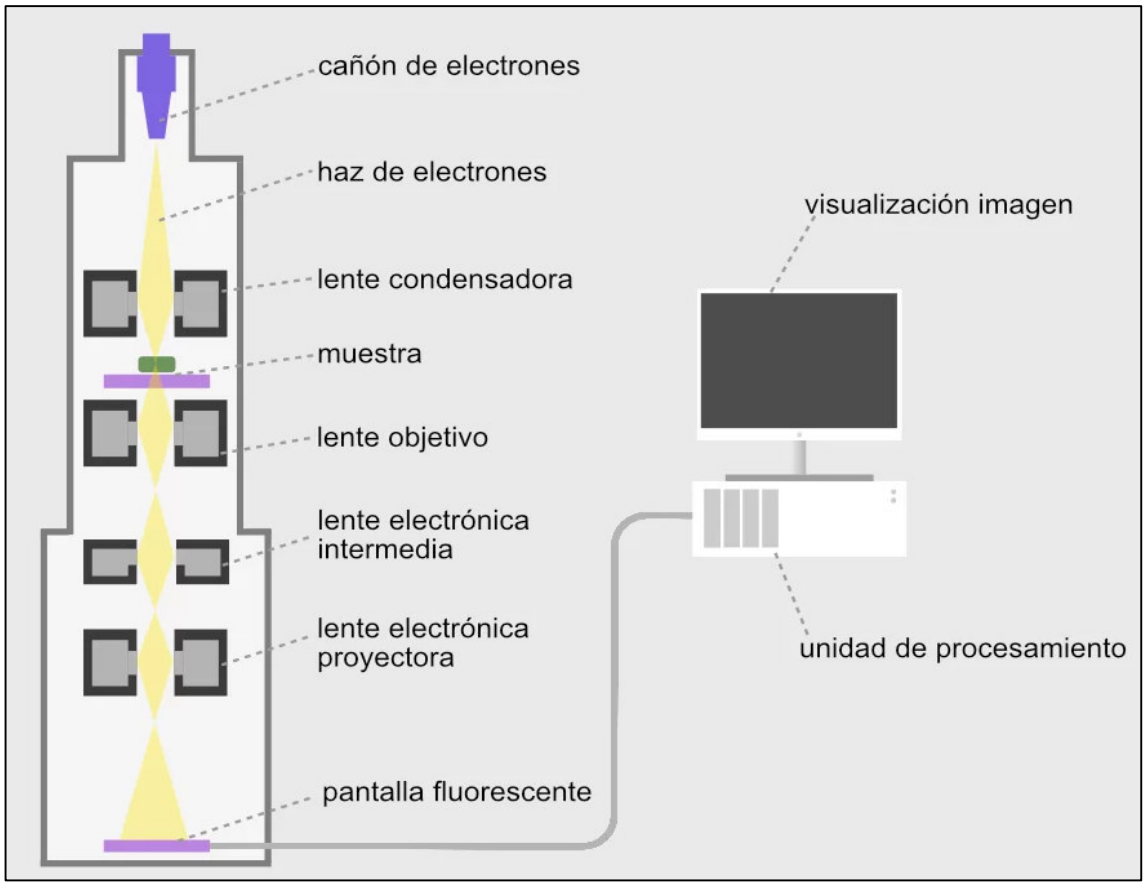
La microscopia electrónica de transmisión (TEM) es una técnica usada para observar las características de especímenes muy pequeños. Este microscopio utiliza un haz de electrones primarios, que se dirigen al objeto que se desea ampliar, donde algunos electrones rebotan en la muestra y otros son absorbidos [64]. La primera vez que se desarrolló esta técnica, fue en 1931 por Ernst Ruska; lo cual ha permitido a lo largo de los años la habilidad de observación morfológica y estructural para muchos científicos.

2.3.3.1. Composición del Microscopio electrónico de Transmisión

El microscopio electrónico de transmisión se encuentra compuesto principalmente por un cañón de electrones, lentes magnéticas, sistema de vacío, placa fotográfica y un sistema de registro [65].

Figura 2.8

Estructura y composición del microscopio electrónico de transmisión. Recuperado de [65]



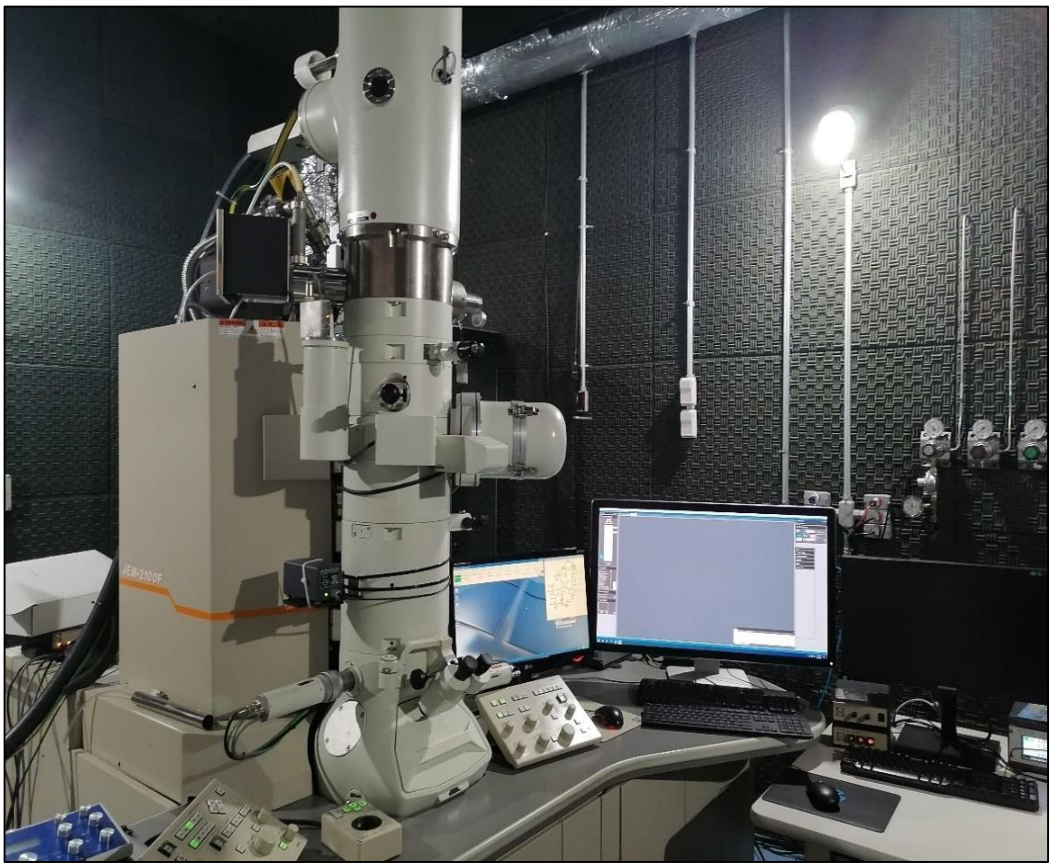
En este tipo de equipo, la muestra es iluminada por un haz de electrones provenientes de un cañón de electrones (termoniónico W o LaB_6) que se encuentra en la parte superior del microscopio como se muestra en la **Figura 2.8**. Al ser emitidos los electrones, generan una diferencia de potencial (voltaje de aceleración) y adquieren una energía cinética. Luego, las lentes magnéticas dirigen y enfocan el haz de electrones hacia el objeto, siendo dispersados y reflejados por los planos del cristal, como sucede en el caso de difracción de rayos-X, solo que en TEM es posible crear una imagen; donde, la imagen es la Transformada de Fourier inversa de la difracción que, a su vez, es la Transformada de Fourier del objeto [66].

Las imágenes TEM de las muestras estudiadas fueron obtenidas usando el microscopio JEM-2100F (Tokio, Japón) trabajando a 200 kV, disponible en el Laboratorio de Nanociencia y Nanotecnología Multiusuario del Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF), Rio de Janeiro, Brasil. Para la preparación de las muestras TEM, las muestras en polvo 10 mg se dispersaron en acetona debido a que es un solvente de secado rápido, durante 30 min en un baño de ultrasonido. Luego, se usó una micropipeta para colectar una pequeña gota y ser colocada en una rejilla de cobre (Cu-3 mm) que se encuentra revestida de carbono y usada como soporte. Se dejó secar la muestra por 10 min a TA y finalmente, la rejilla con la muestra es colocada en el portaobjetos del equipo para capturar las imágenes. Posteriormente, se realizó el conteo de las NPs con el software *Image J*.

El equipo utilizado para obtener imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM), donde se determinó el tamaño promedio de las partículas, la distribución del tamaño y la morfología fue un microscopio JEOL 2100FX de 200 kV. (Tokyo, Japan) disponible en el CBPF, ver **Figura 2.9**. El instrumento de microscopía de imagen se utilizó en modo de transmisión y con alta resolución. Para la estimación de la distribución del tamaño de las partículas (PSD), se utilizó una metodología que reportada previamente [67]. Para obtener datos estadísticos robustos, se contaron de 500 a 900 partículas entre 20 y 25 imágenes utilizando el software ImageJ v 154. Posteriormente, los histogramas fueron montados utilizando una distribución log-normal. Los valores del índice de polidispersidad (PDI) se determinaron utilizando la relación entre la desviación estándar y el tamaño medio de las partículas de la distribución log-normal.

Figura 2.9

Microscopio electrónico de transmisión JEM-2100F, disponible en el CBPF



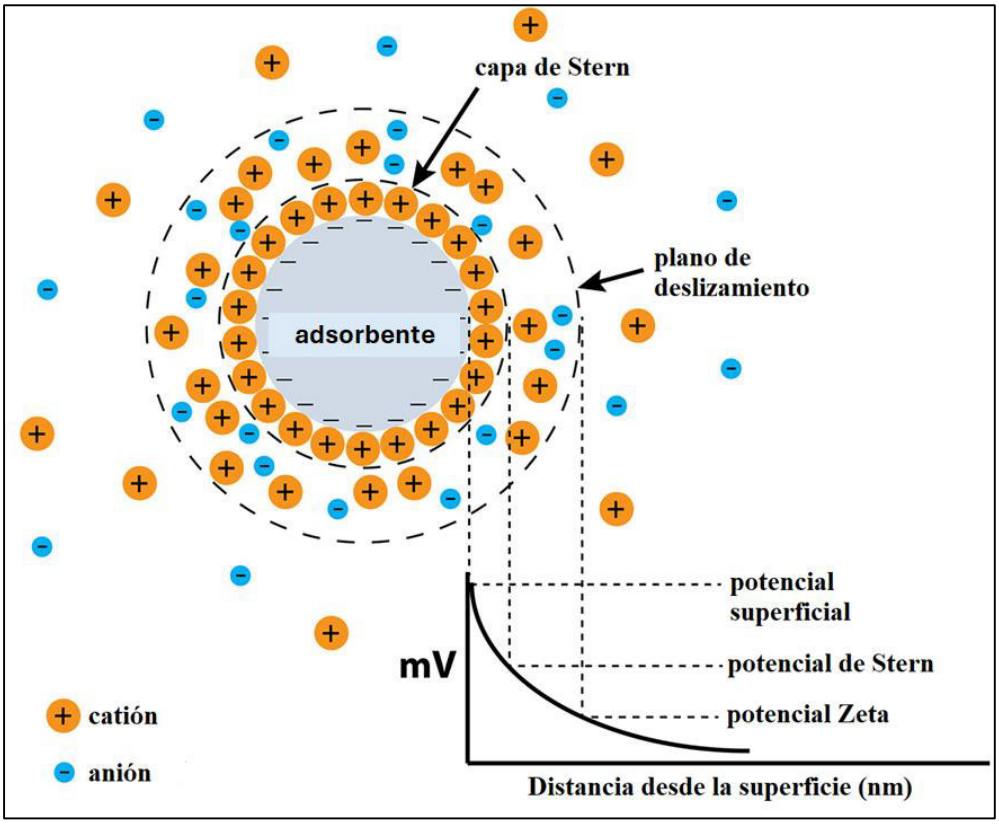
2.3.4. Descripción teórica del potencial Zeta y la derivación de la ecuación de Smoluchowski

2.3.4.1. Interpretación física del potencial Zeta

Cuando una partícula cargada se encuentra en una disolución iónica, se forma una doble capa eléctrica que consiste en una capa de iones adsorbidos (capa de Stern) y una capa difusa de contraiones. El potencial Zeta (ζ) es el potencial eléctrico en el plano de deslizamiento, donde comienza el movimiento del fluido cuando se aplica un campo eléctrico externo [68,69].

Figura 2.10

Esquema de la doble capa eléctrica sobre la superficie de un adsorbente cargado negativamente. El potencial en el plano de deslizamiento es el potencial Zeta. Adaptado al castellano de [70]



2.3.4.2. Importancia del potencial Zeta

El valor del potencial Zeta está relacionado con la estabilidad de sistemas coloidales. Valores altos de $|\zeta|$ suelen indicar sistemas estables debido a la repulsión de partículas, mientras que valores bajos implican mayor tendencia a la coagulación o floculación [71].

2.3.4.3. Fundamentos Matemáticos para la obtención de la ecuación de Smoluchowski

2.3.4.3.1. Ecuación de Poisson-Boltzmann

El potencial eléctrico ψ en la vecindad de una partícula obedece a la ecuación de Poisson-Boltzmann:

$$\nabla^2\psi(\vec{r}) = -\frac{1}{\varepsilon\varepsilon_0}\sum_i z_i\, ec_{\mathrm{i}}^{\infty} \exp\left(-\frac{z_{\mathrm{i}}\, e\, \psi(\vec{r})}{k_B T}\right) \qquad (2.12)$$

donde $\nabla^2\psi$ es Laplaciano del potencial eléctrico. Describe cómo varía el potencial en el espacio (V/m²). $\psi(\vec{r})$ es el potencial eléctrico local en función de la posición $\vec{r}$ (V). ε es permitividad relativa del medio (agua: ~78.5 a 25 °C). ε_0 es la permitividad eléctrica en el vacío ≈8.854×10^{-12} F/m, z_i es la valencia del ión *i*, *e* es la carga del electrón, ≈1.602×10^{-19} C, c_{i}^{∞} es la concentración del ión *i* en el seno del líquido (lejos de la partícula) en unidades de mol/m^3, k_B es la constante de Botlzmann≈1.381×10^{-23} J/K y *T* es la temperatura absoluta en K.

En el límite de bajo potencial, esta ecuación se linealiza, dando lugar a la ecuación de Debye-Huckel:

$$\nabla^2\psi = \kappa^2\,\psi \qquad (2.13)$$

donde k^{-1} es la longitud de Debye [72,73].

2.3.4.3.2. Ecuación de Stokes con fuerza eléctrica

En régimen de bajo Reynolds, el movimiento del fluido está regido por la ecuación de Stokes:

$$\eta \nabla^2 \vec{u} - \nabla p + \vec{f_e} = 0 \qquad (2.14)$$

donde η es la viscosidad dinámica del fluido, $\vec{u}$ es el campo vectorial de velocidad del fluido en m/s, p es la presión local del fluido en Pa y $\vec{f_e}$ es la fuerza eléctrica por unidad de volumen en N/m^3, dada por:

$$\vec{f_e} = -\rho_e(\vec{r})\vec{E} \qquad (2.15)$$

donde $\rho_e(\vec{r})$ es la densidad de carga iónica [74,75].

2.3.4.3.3. Ecuación de Poisson y sustitución

La densidad de carga se relaciona con el potencial eléctrico mediante:

$$\nabla^2 \psi = -\frac{\rho_e(\vec{r})}{\varepsilon \varepsilon_0} \qquad (2.16)$$

Sustituyendo en la ecuación de Stokes:

$$\eta \nabla^2 \vec{u} - \nabla p + \varepsilon \varepsilon_0 (\nabla^2 \psi) \vec{E} = 0 \qquad (2.17)$$

Lo que se reescribe como:

$$\nabla^2 (\eta \vec{u} - \varepsilon \varepsilon_0 \psi \vec{E}) = \nabla p \qquad (2.18)$$

2.3.3.3.4. Condición de deslizamiento y velocidad de la partícula

El deslizamiento electrocinético en el plano donde $\psi = \zeta$ se expresa como:

$$\vec{u}_{slip} = -\frac{\varepsilon \varepsilon_0}{\eta} \zeta \vec{E} \qquad (2.19)$$

Por lo tanto, la velocidad de la partícula es [76,77]:

$$\vec{v} = \vec{u}_{slip} = -\frac{\varepsilon\,\varepsilon_0\,\zeta}{\eta}\,\vec{E} \qquad (2.20)$$

2.3.4.3.5. Movilidad Electroforética

Definimos la movilidad como:

$$\mu_e = \frac{v}{E} \qquad (2.21)$$

Finalmente, obtenemos la ecuación de Smoluchowski:

$$\mu_e = \frac{\varepsilon\,\varepsilon_0\,\zeta}{\eta} \qquad (2.22)$$

2.3.4.3.6. Consideraciones finales

Esta fórmula es válida cuando $a \gg k^{-1}$. En casos donde la doble capa es gruesa o la partícula es pequeña, se requieren otras correcciones como la de Hückel [78,79].

2.3.5 Caracterización coloidal

2.3.5.1 Dispersión Dinámica de la Luz

Es una técnica utilizada para determinar el tamaño de partículas en suspensión coloidal, es decir el diámetro hidrodinámico [80]. Se basa en la detección de la dispersión de la luz causada por el movimiento browniano de las partículas en una solución. La técnica de DLS mide la tasa a la que las partículas se mueven en la suspensión y utiliza esta información para calcular el tamaño hidrodinámico de las partículas usando la relación de Einstein-Stokes. Este método es especialmente útil para analizar NPs en solución y proporciona información sobre la distribución del tamaño de las partículas en medios acuosos.

2.3.5.2 Dispersión de la Luz de Análisis de Fase

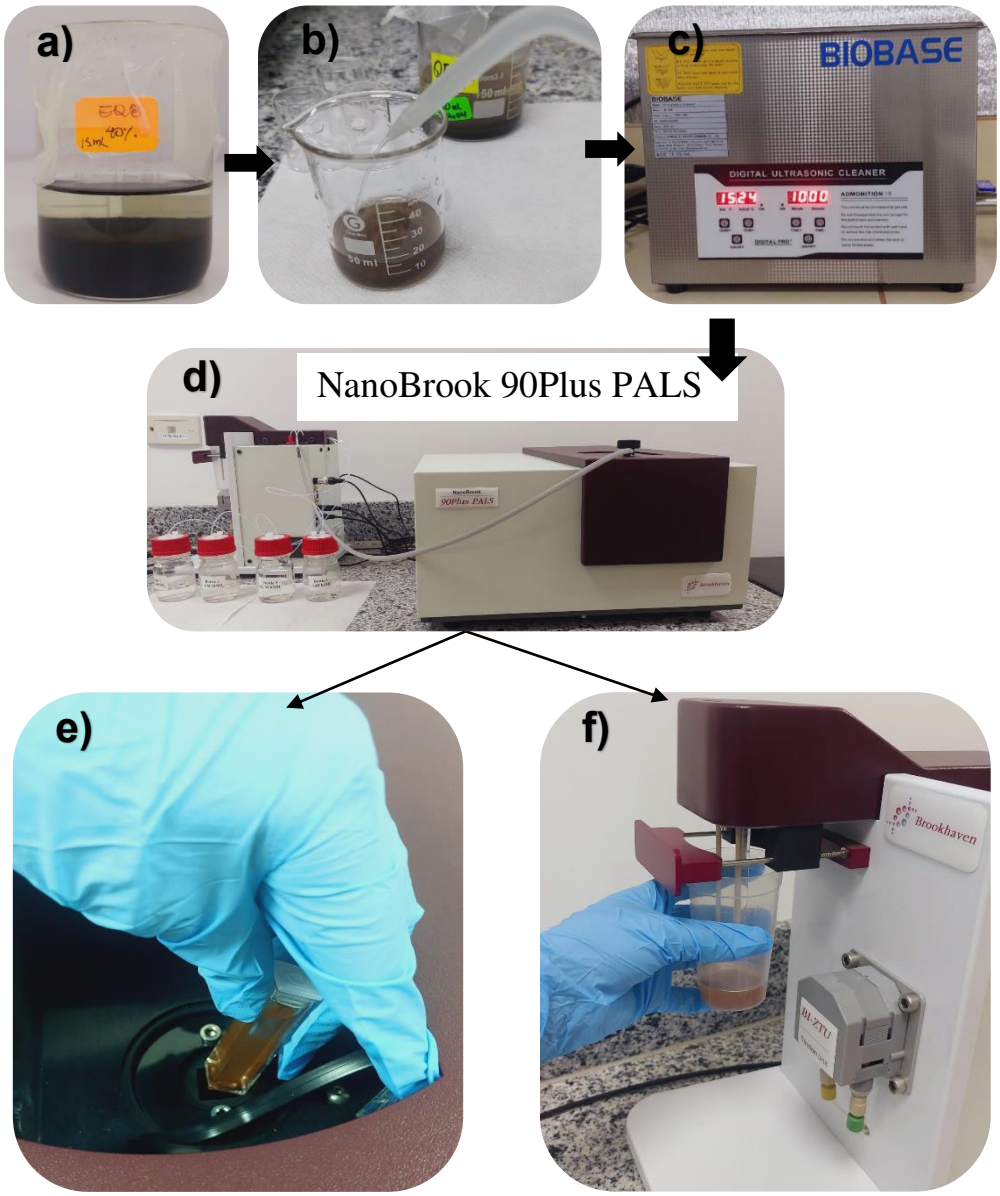
Es una técnica relacionada con la técnica de Dispersión dinámica de la Luz (DLS) que se utiliza para medir la movilidad de partículas cargadas en solución. PALS analiza los

cambios en la fase de la señal de dispersión de la luz causados por el movimiento browniano de las partículas y utiliza esta información para determinar la movilidad de las partículas [81]. Esto permite obtener datos sobre el potencial electrostático superficial y las propiedades electrocinéticas de las partículas en suspensión. Las mediciones de diámetro hidrodinámico mediante la técnica de DLS con el equipo Nanobrook se realizó con la siguiente metodología. Se tomó una alícuota de las muestras líquidas de los materiales sintetizados, se pesó y se colocó en un beacker de vidrio, en este se agregó agua ultrapura nivel I hasta completar un volumen de 20 mL, fueron sonicados por 10 min y luego de ello se realizó la medición correspondiente.

- Para la medición de diámetro hidrodinámico, se colocó una alícuota de 3 a 4 mL en una cubeta de plástico y se llevó al módulo de DLS del NanoBrook 90Plus PALS disponible en NANOTECH.
- Para la medición del potencial Zeta, se colocó 20 mL de la muestra en un vaso de plástico y este se insertó en el módulo de titulación del NanoBrook 90Plus PALS; el cual cuenta con cuatro frascos con soluciones básicas y ácidas, para realizar la variación automática de la muestra e ir midiendo el potencial Zeta a distintos pHs, en un rango de 2 a 12. El esquema de este protocolo es dado en la **Figura 2.11**.

Figura 2.11

Protocolo para medición de diámetro hidrodinámico y potencial Zeta de las NPs de la serie EQ. (a) Muestra sintetizada (b) Determinación de concentración y dilución, (c) Sonicación, (d) Verificación de funcionamiento del equipo de Dispersión Dinámica de la Luz (e) Medición de diámetro hidrodinámico y (f) Medición de potencial Zeta en un rango de pH



2.3.6 Descripción teórica de la técnica FTIR

Se utiliza para investigar la presencia de moléculas orgánicas, como los compuestos presentes en el EQ, y para analizar la formación de enlaces superficiales entre las NPs y los agentes estabilizadores derivados del EQ. La técnica se basa en la interacción de

la radiación infrarroja con las vibraciones moleculares de las muestras. Las moléculas absorben la radiación infrarroja en frecuencias específicas, lo que proporciona información vibracional sobre los grupos funcionales presentes en la muestra y los enlaces químicos formados.

La señal registrada en un espectrómetro FTIR es la intensidad de la radiación infrarroja absorbida por la muestra en función del número de onda (cm^{-1}). Denotemos esta señal como $I(\lambda)$, donde λ representa la longitud de onda (nm). La intensidad de la radiación infrarroja absorbida por la muestra está relacionada con el coeficiente de absorción de la muestra ($\alpha(\lambda)$) mediante la Ley de Beer-Lambert de acuerdo con la ecuación (2.23) [82]**:**

$$\boldsymbol{I}(\lambda) = Io(\lambda).e^{-\alpha(\lambda).d} \qquad (2.23)$$

Donde:

- $I_0(\lambda)$ es la intensidad de la radiación incidente,
- d es el espesor de la muestra.

El coeficiente de absorción ($\alpha(\lambda)$) está relacionado con la absorbancia ($A(\lambda)$) mediante la ecuación (2.24):

$$A(\lambda) = -log_{10}\left(\frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)}\right) \qquad (2.24)$$

La transformada de Fourier se utiliza para convertir la señal $A(\lambda)$ del dominio de la longitud de onda al dominio del número de onda ($\tilde{\nu}$), que está relacionado con la frecuencia de la radiación infrarroja. La relación entre la longitud de onda (λ) y el número de onda ($\tilde{\nu}$) está dada por la ecuación (2.25):

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} \qquad (2.25)$$

La transformada de Fourier de la señal $A(\lambda)$ nos proporciona un espectro de absorción infrarroja en función del número de onda ($A(\tilde{\nu})$). Este espectro representa las vibraciones

moleculares específicas de la muestra y proporciona información sobre su estructura vibracional y composición química [71]. Las **Figuras 2.12 y 2.13** ilustran el principio, instrumentación, tipos de espectroscopia y aplicaciones de la radiación infrarroja.

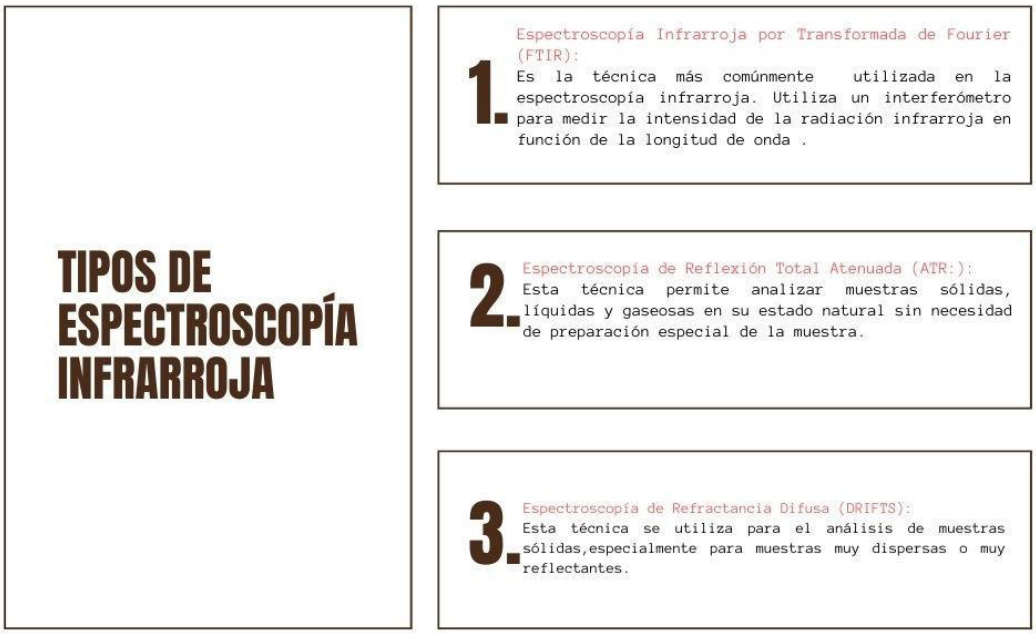
Figura 2.12

Principio, instrumentación, tipos de espectroscopía y aplicaciones de la radiación infrarroja



Figura 2.13

Tipos de Espectroscopía Infrarroja



Los análisis de FTIR se realizaron en las muestras en polvo usando el modo de transmisión con un equipo Vertex 70v-Bruker disponible en el CBPF, con una resolución de 4 cm^{-1}, dentro del número de ondas de 4000 a 400 cm^{-1} y un Espectrómetro FTIR: Lyza 7000, con una resolución espectral de 1.4cm^{-1} a 16cm^{-1}, rango espectral de 350cm^{-1} a 7500cm^{-1} con un tiempo de medición menor a 30 segundos; ver **Figura 2.14** y **Figura 2.15.**

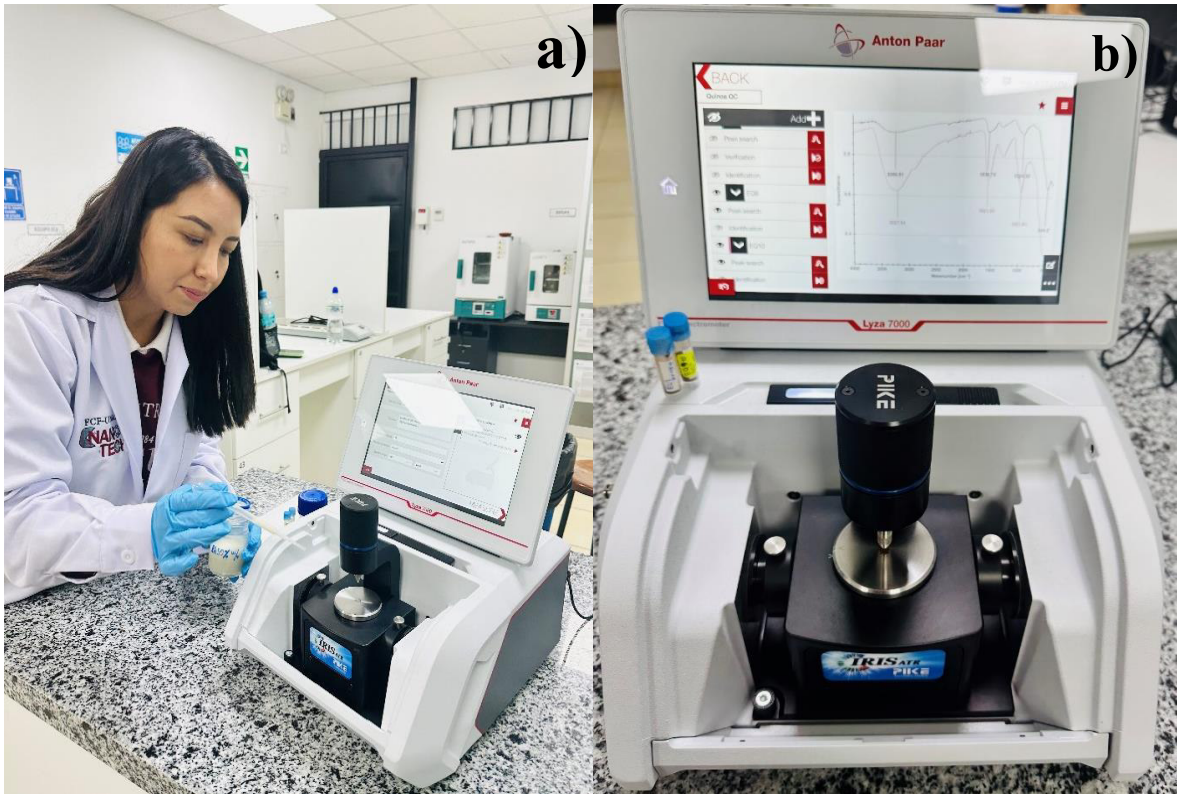
Figura 2.14

Equipo Vertex 70v-Bruker disponible en el CBPF de Río de Janeiro



Figura 2.15

a) Medición de la muestra de EQ al 50% w/v con el equipo Lyza 7000, el cual consta de un software: AP Spectroscopy Suite. b) Espectrómetro FTIR: Lyza 7000 de la empresa Anton Paar (Capacitación en NANOTECH)



Capítulo 3

Biosíntesis de IONPs

En este capítulo se describe a detalle la metodología de la biosíntesis de las NPs. En primer lugar, se explica la preparación del EQ seguido de la optimización de la biosíntesis de las IONPs. Se sintetizaron un total de once muestras mediante el método químico modificado de co-precipitación asistido con las soluciones del EQ siguiendo los procedimientos descritos en la literatura [84]. La presente metodología descrita fue realizada en las instalaciones del laboratorio 405 del Grupo de Investigación NANOTECH de la UNMSM.

3.1. Preparación del EQ

Para la preparación del EQ, se procedió de la siguiente manera:

Paso 1

Se sometió una determinada cantidad de quinua comercial a un proceso de remojo prolongado durante 4 h con un volumen fijo de agua de 250 mL en una proporción de 1:2 de quinua y agua ultrapura nivel I como se puede observar en la **Figura 3.1** para reducir el contenido de saponinas. Este paso es importante para mejorar la calidad organoléptica del extracto final. Después de este proceso, la quinua se lavó meticulosamente de 4 a 5 veces para eliminar cualquier residuo de material contaminante y espuma proveniente de las saponinas.

Figura 3.1

Quinua en remojo con agua ultrapura nivel I para la eliminación de saponinas



Paso 2

Luego del lavado, se pesaron distintas masas de quinua (ver **Figura 3.2** para el caso de 50 g) para la preparación de las cinco concentraciones del EQ, ver Tabla 3.1.

Figura 3.2

Masa de 50 g de quinua pesado con una balanza analítica (marca Balances)

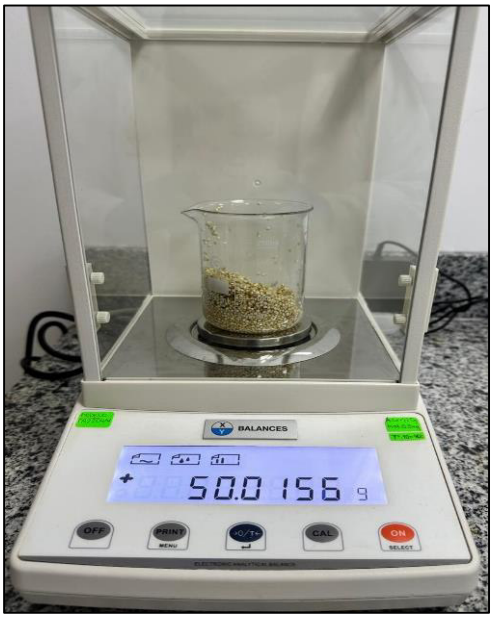


Tabla 3.1

Masa de granos de quinua en gramos utilizado para la preparación del extracto

Masa de Quinua (g)	Volumen de agua ultrapura (mL)	Concentración (% w/v)
12.5	250	5
25	250	10
50	250	20
100	250	40
125	250	50

Paso 3

Se realizó un tratamiento térmico en baño maría durante 60 min para retirar el exceso de agua y preparar la quinua para el siguiente paso. Para reducir los sabores amargos y el excedente de saponinas se realizó un tratamiento con bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$), al 0,02% w/v a una temperatura de 91 °C y una masa de 40 mg, para ello se utilizó una manta de calentamiento Marca: ISOLAB. Ver **Figura 3.3 a) y b).**

Figura 3.3

a) Baño maría para el retiro del exceso de agua en la quinua y b) Tratamiento con $NaHCO_3$



Paso 4

Una vez finalizados los pasos del 1 al 3, la quinua es separada de la solución utilizando un colador. Inmediatamente se enjuagó con agua fría para evitar la cocción.

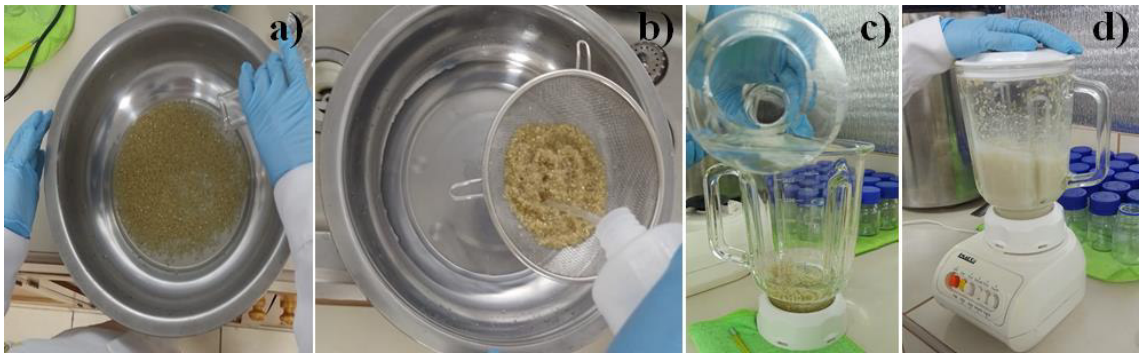
Paso 5

A continuación, se realizó el licuado de la masa de quinua dispersa en un volumen fijo de agua ultrapura nivel I, dando una concentración en % w/v, ver **Tabla 3.1** y la ecuación 3.1, con la finalidad de obtener un extracto homogéneo. Este proceso se realizó durante 3 min con una cuarta velocidad empleando una licuadora IMACO (8 velocidades, modelo BL-888, potencia de 350 W), asegurando una dispersión uniforme de los componentes solubles de la quinua en el agua ultrapura nivel I. Este paso es recomendado para maximizar el rendimiento del EQ y de esa manera asegurar una distribución uniforme de sus componentes nutricionales y bioactivas. **La Figura 3.4** ilustra el paso 5.

$$[\,Concentración\ del\ extracto]\% = \frac{masa\ de\ quinua}{Vol._{H_2O}} \times 100\% \qquad (3.1)$$

Figura 3.4

a) Proceso de separación de la quinua, b) colado y lavado para evitar la cocción, c) y d) licuado de la quinua con agua ultrapura nivel I



Paso 6

Se realizó el proceso de pasteurización relámpago o pasteurización flash (HTST) el cual constó de dos etapas, primero se calentó el EQ a 75 °C durante 15 s para inactivar cualquier microorganismo patógeno presente, segundo se aplicó un choque térmico colocando el recipiente en agua a 10 °C para detener cualquier actividad enzimática residual y así preservar la calidad del EQ, ver **Figura 3.5.** Este paso es fundamental para garantizar la seguridad microbiológica del EQ y alargar su vida útil [85].

Figura 3.5

a) y b) Proceso de pasteurización del EQ

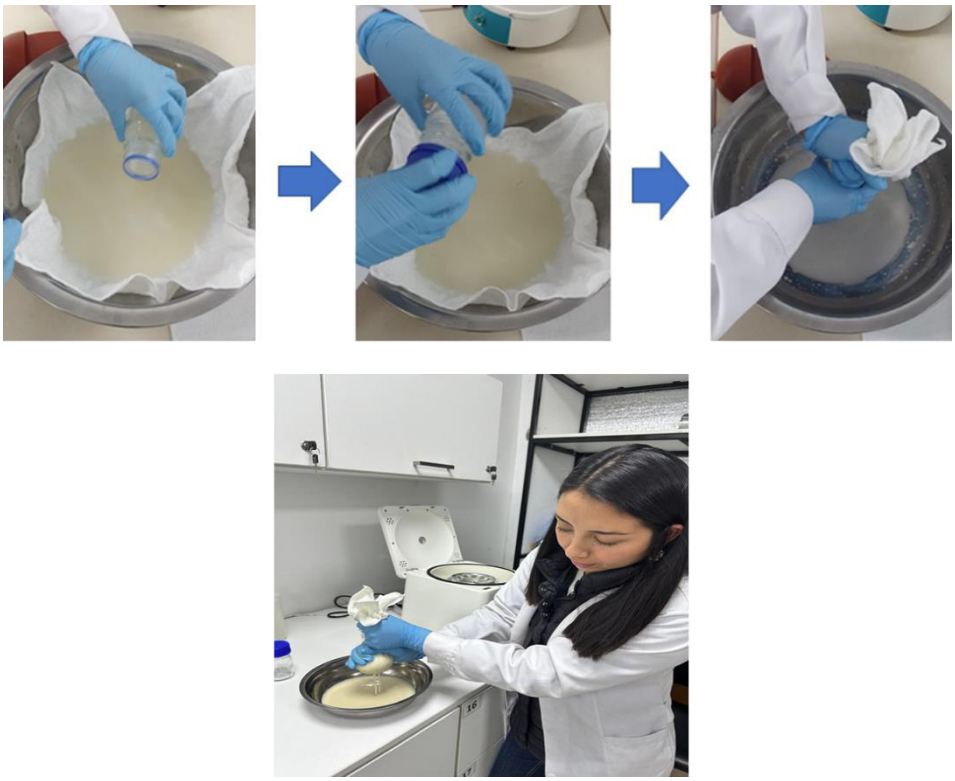


Paso 7

Se procedió a filtrar el mosto con una tela para obtener el EQ concentrado requerido como se puede apreciar en la **Figura 3.6**.

Figura 3.6

Proceso de filtrado del mosto para la purificación del EQ



Paso 8

Para la obtención del EQ y separación de fases, se procedió con un centrifugado (centrífuga Premiere, modelo: XC-2009) en tubos (Falcon) a 4000 r.p.m durante 5 min como se ilustra en la **Figura 3.7**, siendo almacenado y refrigerado a 5 °C el EQ en frascos de vidrio BOECO GL45 de boro 3.3 con tapa rosca azul con una capacidad de 100 mL para su posterior uso en la biosíntesis de las NPs, ver **Figura 3.8**.

Figura 3.7

Proceso de centrifugación y almacenamiento del EQ

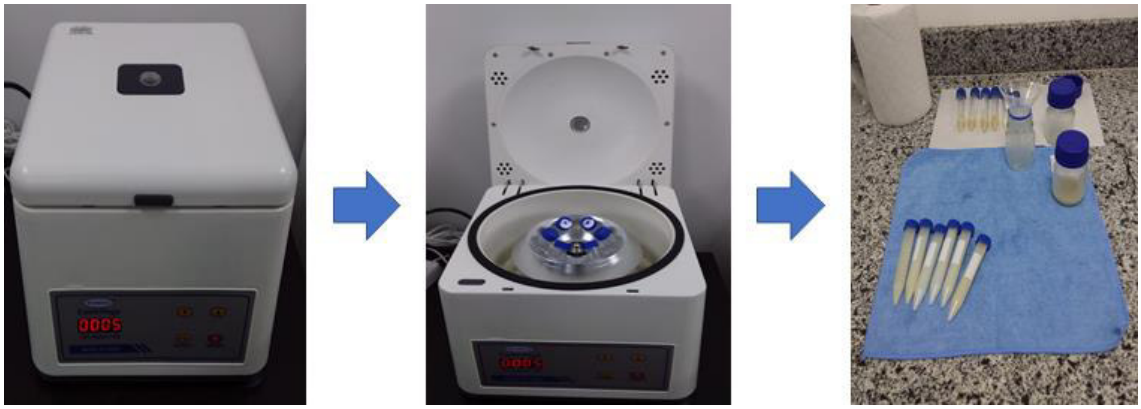


Figura 3.8

EQ con una concentración al 20% w/v almacenados en frascos de vidrio



3.2.Detalle experimental de la biosíntesis de las IONPs

3.2.1. Materiales e insumos

Los compuestos químicos de grado analítico (insumos) usados fueron el sulfato de hierro heptahidratado ($FeSO_4 \bullet 7H_2O$), cloruro de hierro (III) ($FeCl_3$), el hidróxido de amonia ($NH_4OH, 28-30\%\ v/v$); todos ellos fueron utilizados sin hacer mayor purificación. Estos insumos fueron obtenidos de Sigma Aldrich (São Paulo, Brasil). La **Tabla 3.2** muestra a detalle las cantidades de los precursores e insumos utilizados para la biosíntesis de las IONPs.

Entre los materiales y equipos que se necesitaron para la biosíntesis de las IONPs por el método químico modificado de coprecipitación se encuentran el vaso de precipitado, matraz de 500 mL, probeta, piseta, agua ultrapura nivel I para el lavado de las NPs, termómetro, piseta Pasteur, agitador magnético e imán de neodimio.

Tabla 3.2

Detalle de las cantidades a utilizar de los reactivos precursores para la biosíntesis de las IONPs

% w/v	Muestra	EQ (mL)	Agua ultrapura	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (g)	$FeCl_3$ (g)	NH_4OH (mL)
0	M(control)	0	100 mL	5.2	6	15
5	EQ1	100	0	5.2	6	10
5	EQ2	100	0	5.2	6	15
10	EQ3	100	0	5.2	6	10
10	EQ4	100	0	5.2	6	15
20	EQ5	100	0	5.2	6	10
20	EQ6	100	0	5.2	6	15
40	EQ7	100	0	5.2	6	10
40	EQ8	100	0	5.2	6	15
50	EQ9	100	0	5.2	6	10
50	EQ10	100	0	5.2	6	15

3.2.2. Metodología de la biosíntesis

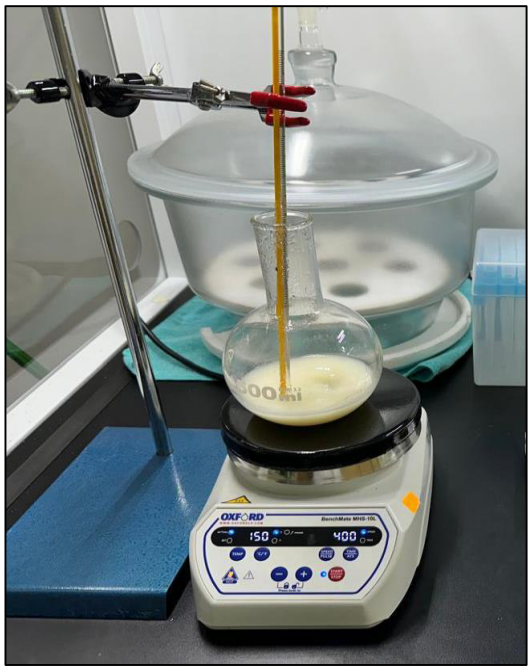
La biosíntesis de las IONPs fue realizada mediante los siguientes pasos:

Paso 1

Primero se calentó 100 mL de la solución del EQ a una temperatura de 80 °C, usando un agitador magnético (Marca: Oxford) ver **Figura 3.9.**

Figura 3.9

100 mL de solución del EQ a 80 °C

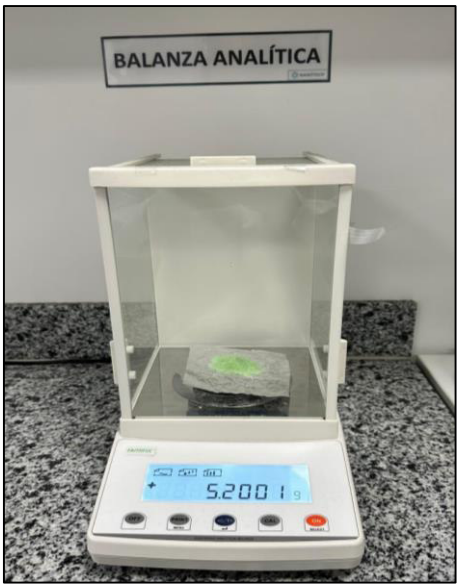


Paso 2

Se pesaron 5.2 g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ como se ilustra en la **Figura 3.10** para luego ser agregado a la solución del EQ (concentraciones entre 5 al 50% w/v), tornando la dispersión a un color verde claro.

Figura 3.10

Masa de 5.2 g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ pesado por la balanza analítica



Paso 3

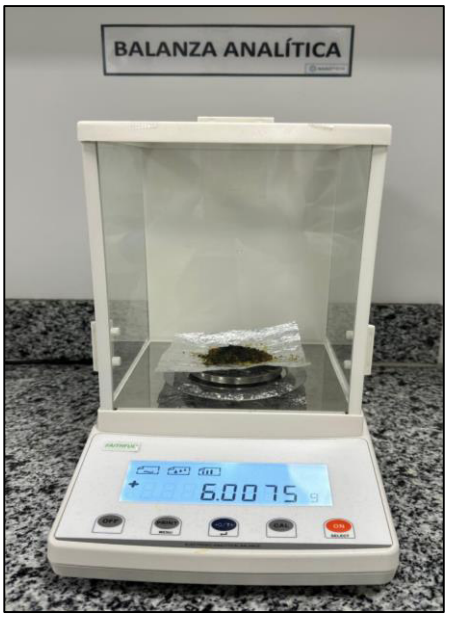
Se dejó la dispersión durante 5 min agitando a 400 r.p.m. en un agitador magnético.

Paso 4

Luego, se pesaron 6 g de $FeCl_3$ tal como se observa en la **Figura 3.11**, para adicionar a la dispersión y se dejó agitando por otros 5 min a 400 r.p.m, tornando la dispersión en un color marrón arcilloso.

Figura 3.11

Masa de 6 g de $FeCl_3$ pesado por la balanza analítica



Paso 5

Posteriormente, se añadieron 10 o 15 mL de NH_4OH tornándose la dispersión en un color oscuro, ver **Figura 3.12.**

Figura 3.12

Dispersión de tono oscuro al añadir 15 mL de solución de NH_4OH en el matraz

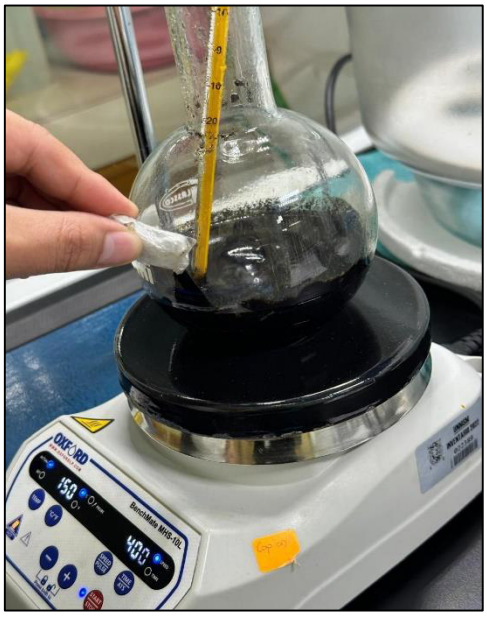


Paso 6

Se dejó agitando la dispersión por 30 min a 80 °C para la precipitación y formación de las NPs caracterizadas por un color negro oscuro, observar la **Figura 3.13**.

Figura 3.13

Formación de los IONPs a una concentración de 20% w/v del EQ



Paso 7

Se realizó el lavado cinco veces para estabilizar el pH = 10 hasta un pH neutro (pH=7) asistido con un imán de neodimio en la base del contenedor de vidrio, a este proceso se le conoce como decantación magnética tal como se ilustra en la **Figura 3.14**.

Figura 3.14

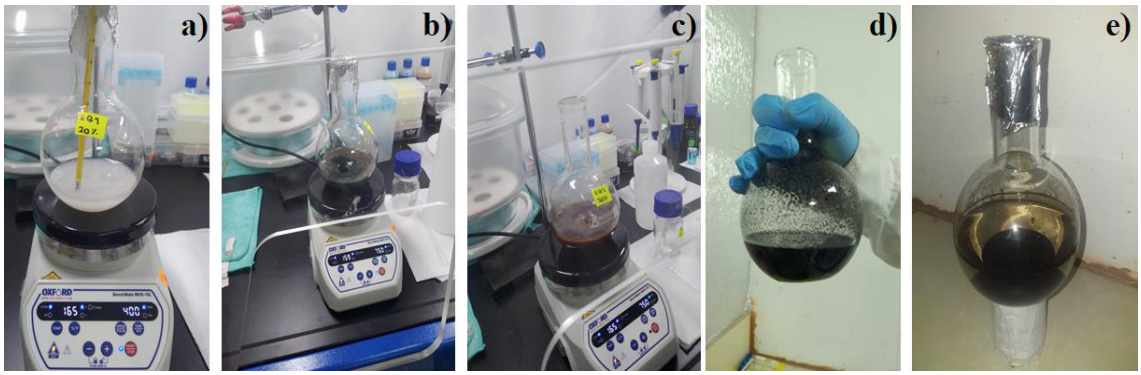
Decantación magnética de los IONPs a una concentración del 20% w/v del EQ



La **Figura 3.15** ilustra los pasos del 1 al 7 que indican el proceso de biosíntesis de las IONPs a una concentración del 50% w/v del EQ.

Figura 3.15

Proceso de biosíntesis de las IONPs a una concentración del 50% w/v del EQ. a) Dispersión y calentamiento del EQ, b) y c) adición de las sales de Fe, d) precipitación de las IONPs y e) proceso de decantación magnética y lavado



Capítulo 4

Resultados y discusiones

En el presente capítulo se desarrolla la discusión y análisis de los resultados obtenidos.

4.1. Resultados y discusión física de las medidas DRX y análisis Rietveld

Las Figuras 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 y 4.5 muestra los difractogramas refinados utilizando el método Rietveld. La Tabla 4.1 resume los principales parámetros cristalográficos obtenidos tras el refinamiento para la serie EQx.

Figura 4.1

Difractogramas refinados de rayos-X de la muestra control y las biosintetizadas usando el EQ, muestras EQ1 y EQ2

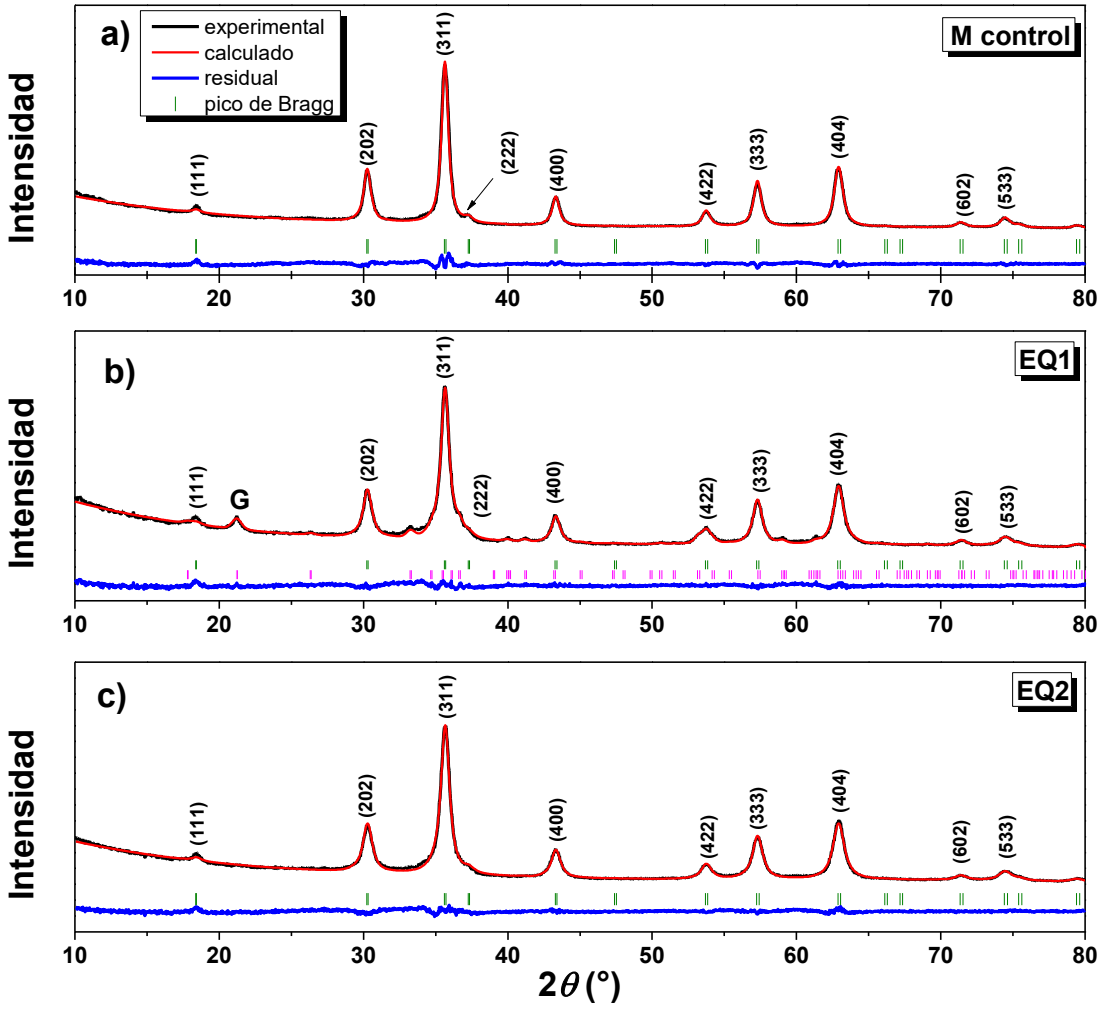


Figura 4.2

Difractogramas refinados de rayos-X de la muestra control y las biosintetizadas usando el EQ, muestras EQ3 y EQ4

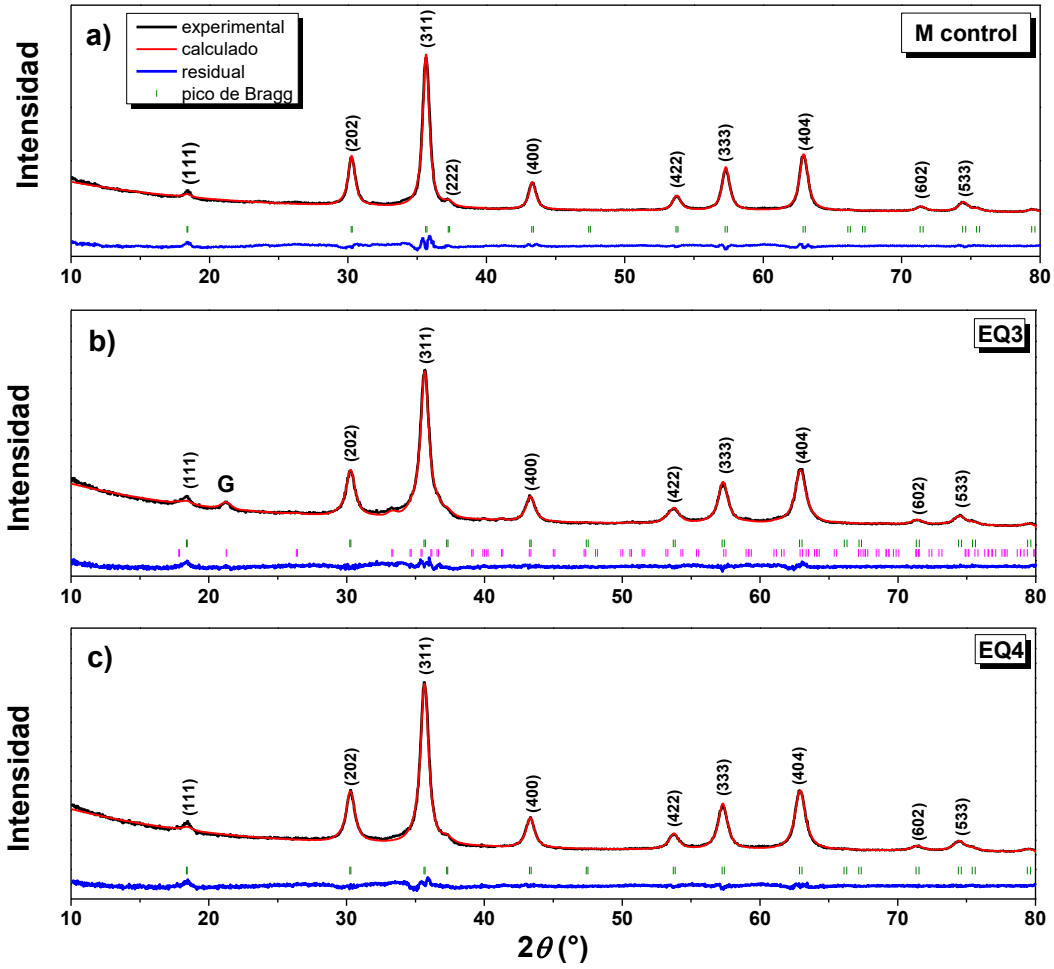


Figura 4.3

Difractogramas refinados de rayos-X de la muestra control y las biosintetizadas usando el EQ, muestras EQ5 y EQ6

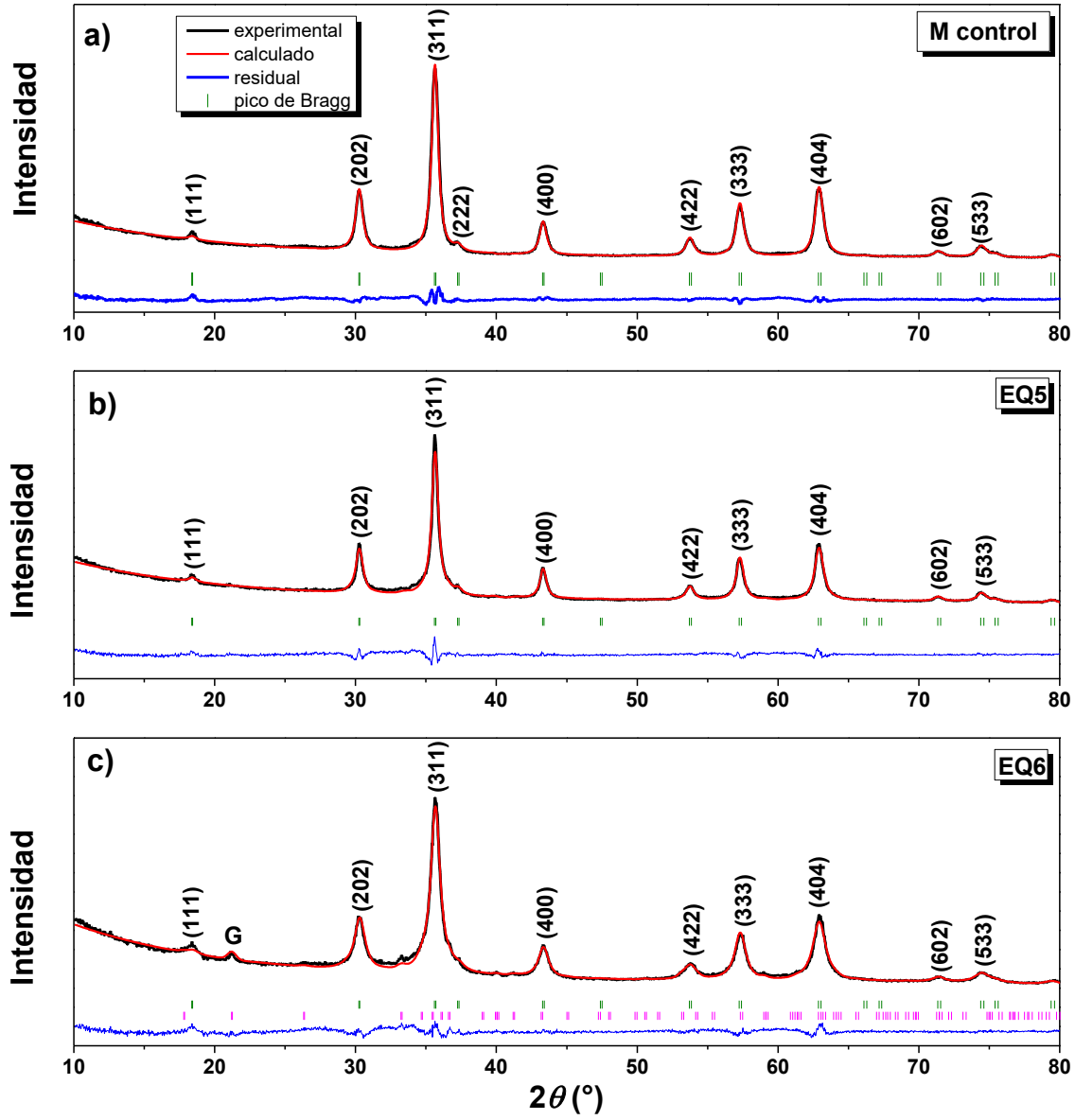


Figura 4.4

Difractogramas refinados de rayos-X de la muestra control y las biosintetizadas usando el EQ, muestras EQ7 y EQ8

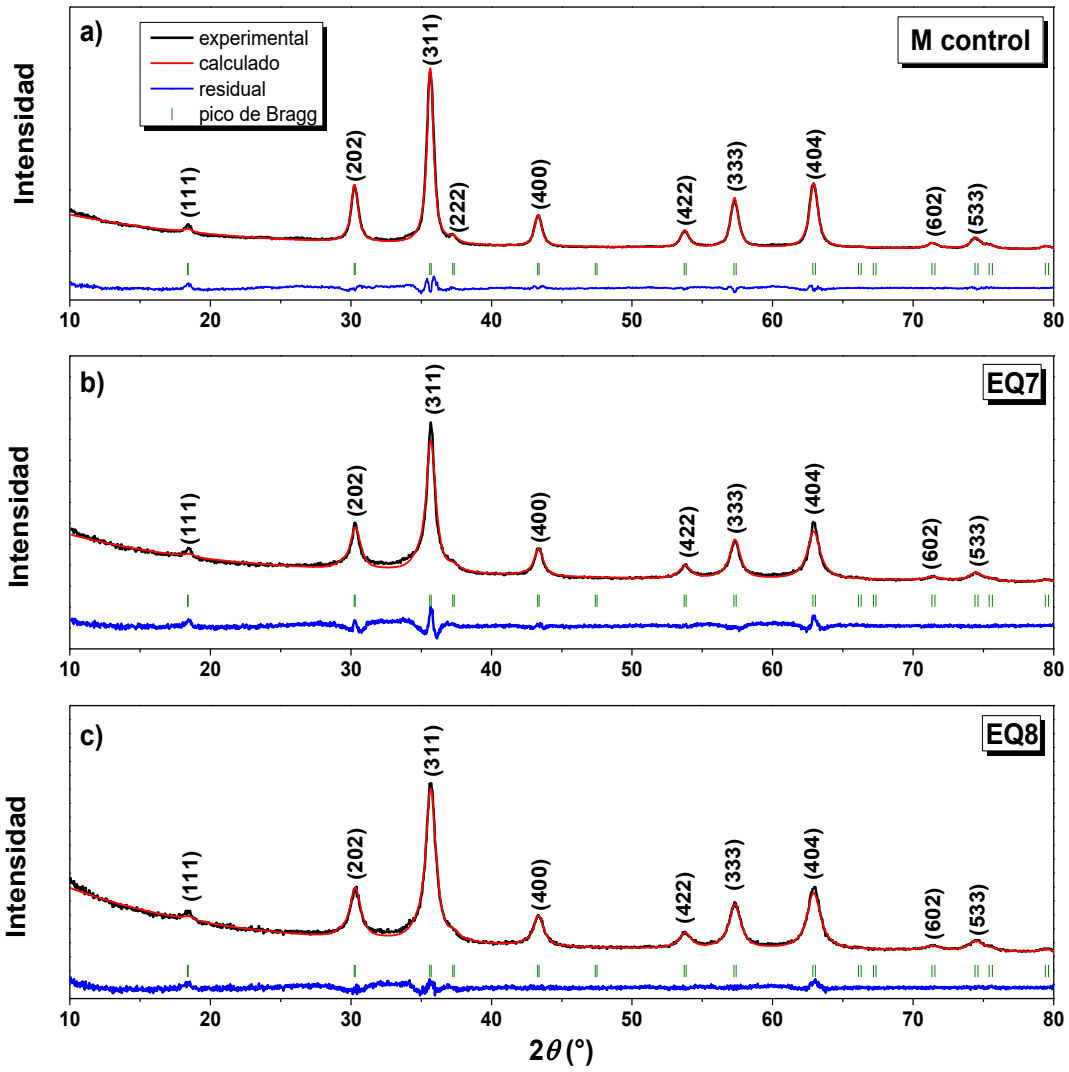


Figura 4.5

Difractogramas refinados de rayos-X de la muestra control y las biosintetizadas usando el EQ, muestras EQ9 y EQ10

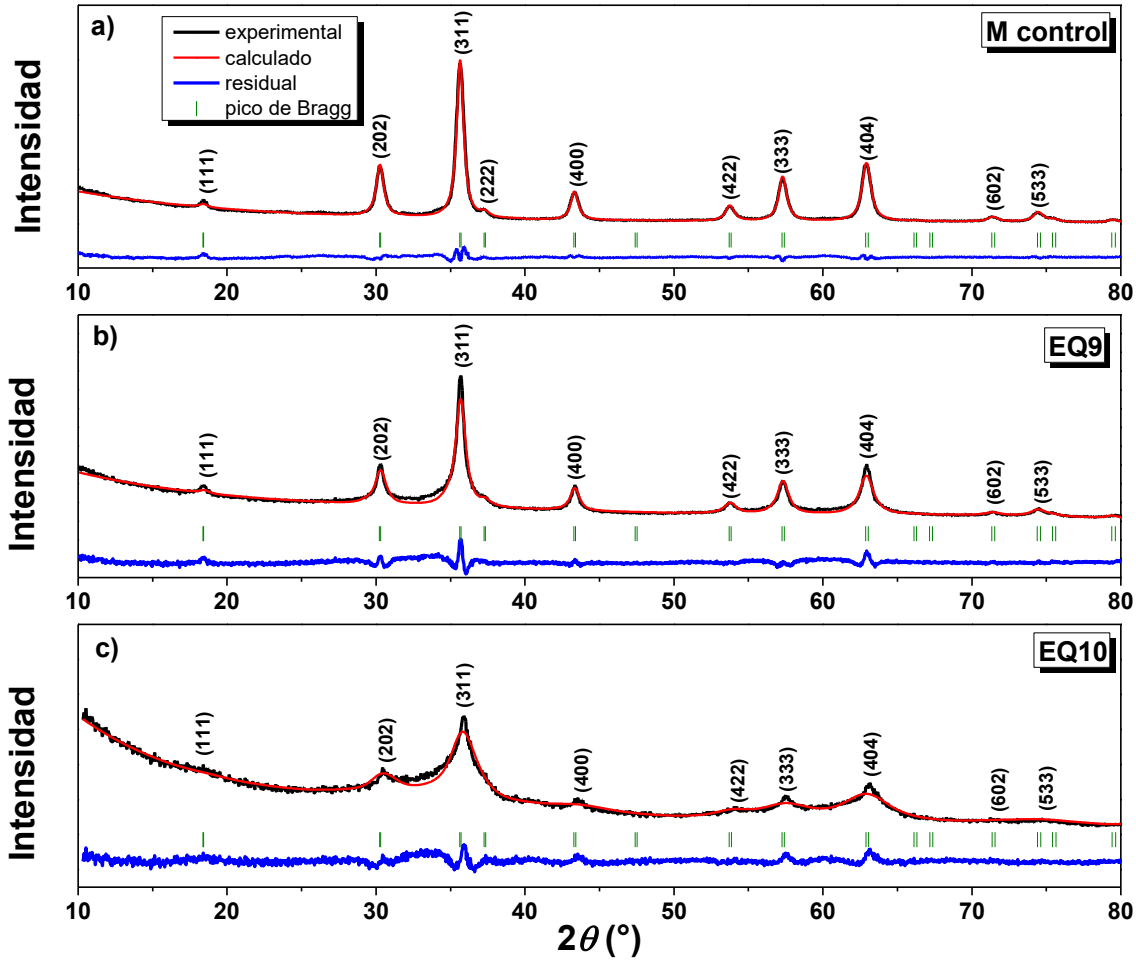


Tabla 4.1

Parámetros de refinamiento de Rietveld, parámetros estadísticos y tamaños de cristalitos de las muestras de M control y EQx(x=1-10). R_p (%), R_{wp} (%), R_{exp} (%) y χ^2. M indica maghemita y G goethita

Muestra	Fase	Parámetros de Caglioti			Parámetros de red (Å)	D_{XRD} (nm)	Porcentaje de fase (%)	Parámetros estadísticos
		U	V	W				
M control	γ-Fe_2O_3	0.013	-0.034	0.008	a=8.355(1) b=8.355(1) c=8.355(1) α=β=γ=90°	8.9(1)	100.0	R_p=14.3% R_{wp}=14.0% R_{exp}=7.2% χ^2=3.8
EQ1	γ-Fe_2O_3	0.013	-0.034	0.008	a=8.355(1) b=8.355(1) c=8.355(1) α=β=γ=90°	7.2(1)	90.0	R_p=13.5% R_{wp}=13.6% R_{exp}=8.3% χ^2=2.7
	G	0.113	-0.584	0.561	a=9.952(1) b=3.026(1) c=4.616(1) α=β=γ=90°	10.4(1).	10.0	
EQ2	γ-Fe_2O_3	0.013	−0.034	0.008	a=8.355(1) b=8.355(1) c=8.355(1) α=β=γ=90°	7.5(1)	100.0	R_p=13.2% R_{wp}=13.3% R_{exp}=8.11% χ^2=2.7
EQ3	γ-Fe_2O_3	0.013	−0.034	0.008	a=8.355(1) b=8.355(1) c=8.355(1) α=β=γ=90°	7.5(1)	93.0	R_p=13.3% R_{wp}=13.3% R_{exp}=8.02% χ^2=2.8
	G	0.702	−0.670	0.626	a=9.945(1) b=3.035(1) c=4.606(1) α=β=γ=90°	9.4(1)	7.0	
EQ4	γ-Fe_2O_3	0.013	−0.034	0.008	a=8.355(1) b=8.355(1) c=8.355(1) α=β=γ=90°	7.1(1)	100.0	R_p=13.1% R_{wp}=13.0% R_{exp}=7.65% χ^2=2.9
EQ5	γ-Fe_2O_3	0.013	−0.034	0.008	a =8.355(1) b =8.355(1) c =8.355(1) α=β=γ=90°	9.4(1)	100.0	R_p= 19.9% R_{wp}= 17.3% R_{exp}=9.11% χ^2=3.6
EQ6	γ-Fe_2O_3	0.013	−0.034	0.008	a =8.355(1) b =8.355(1) c =8.355(1) α=β=γ=90°	6.5(1)	95.0	R_p= 16.5% R_{wp}= 15.5% R_{exp}=8.23% χ^2=3.6
	G	0.113	-0.584	0.561	a=9.952(1) b=3.026(1) c=4.616(1) α=β=γ=90°	11.8(1)	5.0	
EQ7	γ-Fe_2O_3	0.013	−0.034	0.008	a =8.355(1) b =8.355(1) c =8.355(1) α=β=γ=90°	6.3(1)	100.0	R_p= 21.6% R_{wp}= 19.4% R_{exp}=9.86% χ^2=3.9
EQ8	γ-Fe_2O_3	0.013	−0.034	0.008	a =8.355(1) b =8.355(1) c =8.355(1) α=β=γ=90	6.9(1)	100.0	R_p= 15.4% R_{wp}= 14.6% R_{exp}=9.98% χ^2=2.1

EQ9	γ-Fe_2O_3	0.009	-0.005	0.001	a =8.355(1) b =8.355(1) c =8.355(1) $\alpha=\beta=\gamma=90$	7.6(1)	100.0	R_p= 26.3% R_{wp}= 23.3% R_{exp}=10.2% χ^2=5.2
EQ10	γ-Fe_2O_3	0.009	-0.005	0.001	a =8.354(1) b =8.354(1) c =8.354(1) $\alpha=\beta=\gamma=90$	3.6(1)	100.0	R_p= 15.7% R_{wp}= 15.3% R_{exp}=9.13% χ^2=2.8

Se puede observar en la **Figura 4.1 a)** una sola fase cristalina de maghemita y se infiere de la **Tabla 4.1** que el tamaño de cristalito promedio de la muestra M control tiene un diámetro de cristalito de 8.9 nm. Por otro lado, en la **Figura 4.1 b)** se observa una fase secundaria de goetita en la muestra EQ1, donde la concentración del EQ fue de 5% w/v usando 10 mL de NH_4OH. En contraste, para la muestra EQ2, en la **Figura 4.1 c)** la concentración del EQ fue de 5% w/v y la cantidad de NH_4OH tuvo un valor de 15 mL, obteniéndose una fase cristalina de maghemita con tamaño de 7.5 nm. En el caso de la muestra EQ3, la **Figura 4.2 b)** permitió identificar una fase primaria de maghemita de 7.5 nm y una fase secundaria de goetita con diámetro de cristalito de 9.4 nm, donde la concentración del EQ fue de 10% w/v y el volumen adicionado de NH_4OH de 10 mL. Mientras que para la muestra EQ4, en la **Figura 4.2 c)** la concentración del EQ es de 10% w/v y 15 mL de NH_4OH y se obtuvo una fase de maghemita de 7.1 nm. Para la muestra EQ5 en la **Figura 4.3 b)** la concentración del EQ fue de 20% w/v adicionando 10 mL de NH_4OH obteniéndose la fase cristalina de maghemita de 9.4 nm. Para la muestra EQ6, en la **Figura 4.3 c)** se observó una fase secundaria de goetita con diámetro de cristalito de 11.8 nm, y dónde la concentración del EQ tuvo un valor de 20% w/v empleando 15 mL de volumen de NH_4OH. Adicionalmente, la **Figura 4.4 b)** para la muestra EQ7 solo permitió identificar la fase de maghemita (6.3 nm) dónde la concentración del EQ fue de 40% w/v y 10 mL de NH_4OH. Y para la muestra EQ8 (6.9 nm) la fase única de maghemita también es observada en la **Figura 4.4 c)** dónde la concentración del EQ empleada fue de 40% w/v y el volumen adicionado de 15 mL de

NH_4OH a la biosíntesis. Seguido a este resultado, la muestra EQ9 en la **Figura 4.5 b),** para la concentración del EQ igual al 50% w/v y adicionando 10 mL de NH_4OH, mostró una fase de maghemita de 7.6 nm. Y la muestra EQ10, en la **Figura 4.5 c),** para la concentración del EQ con valor de 50% w/v y volumen añadido de 15 mL de NH_4OH, exhibe el menor tamaño de las muestras biosintetizadas igual a 3.6 nm.

A bajas e intermedias concentraciones de EQ (muestras EQ1-EQ6), la biosíntesis produce una fase secundaria de goetita, cuya composición porcentual varió entre 5 al 10 wt %. Adicionalmente, la formación de esta fase secundaria de goetita tiene menor cristalinidad que la fase secundaria de maghemita. El volumen de NH_4OH adicionado no tiene una influencia significativa al comparar las muestras con baja concentración de EQ. Sin embargo, a altas concentraciones de EQ (muestras EQ7-EQ10), la formación de una sola fase de maghemita indica que la síntesis puede ser mejorada independiente de usar una menor concentración de NH_4OH. Es decir, el EQ facilita un menor uso del agente precipitante, esto probablemente debido a la cantidad de fenoles en el EQ, los cuales facilitan la reducción de la maghemita en medio acuoso.

En general, las muestras sintetizadas con el EQ a bajas, intermedias y altas concentraciones mostraron una disminución en el diámetro del cristalito en comparación a la muestra control (8.9 nm).

4.2. Resultados y discusión física de las imágenes TEM

Para este análisis fueron seleccionadas cuatro muestras siguiendo el criterio del refinamiento Rietveld, el cual permitió determinar la pureza de la fase de maghemita en las muestras EQ7, EQ9 y EQ10, la muestra EQ8 mostró un valor de diámetro de cristalito similar a EQ7. Por lo cual, esta no fue analizada por TEM.

En las **Figura 4.6 y Figura 4.7** se muestran las imágenes más representativas para dichas muestras.

Figura 4.6

Imágenes TEM de las muestras a-b) M control y c-d) EQ7

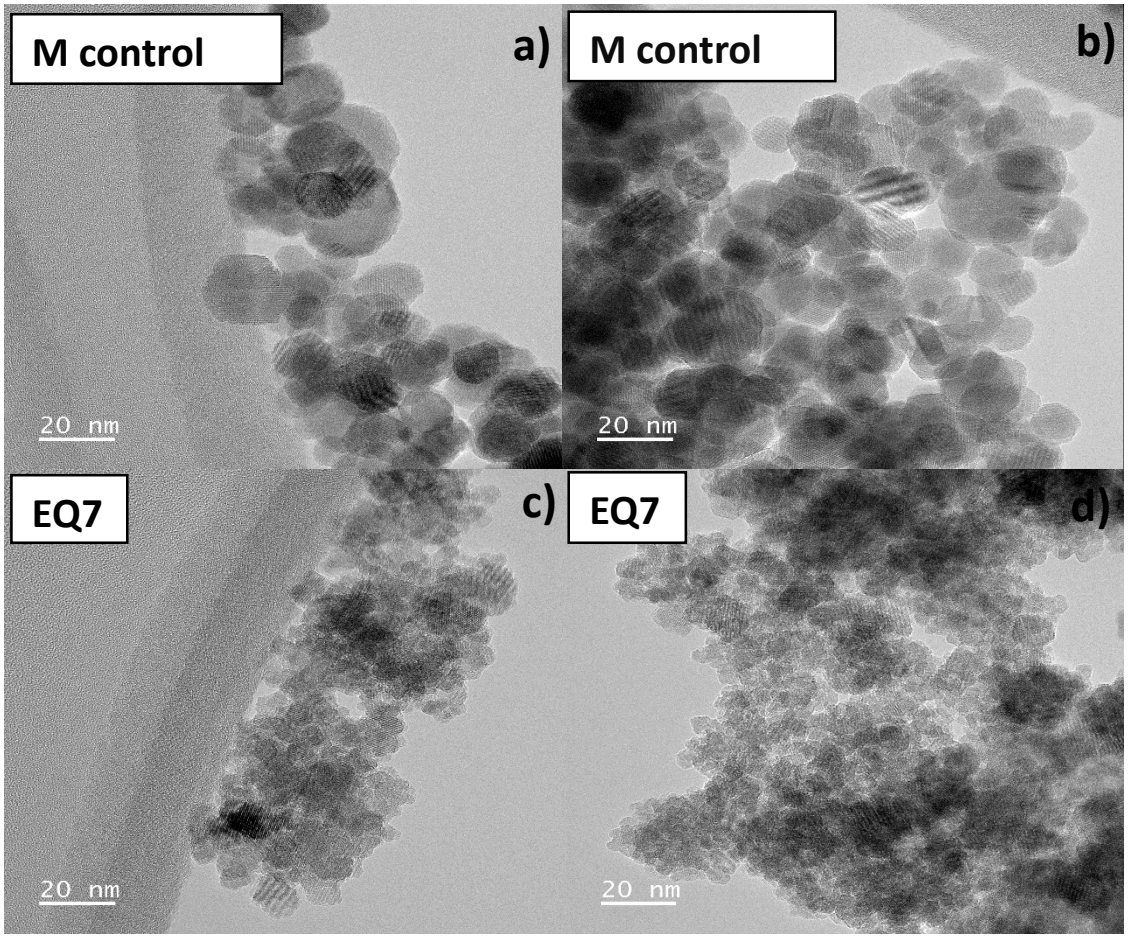
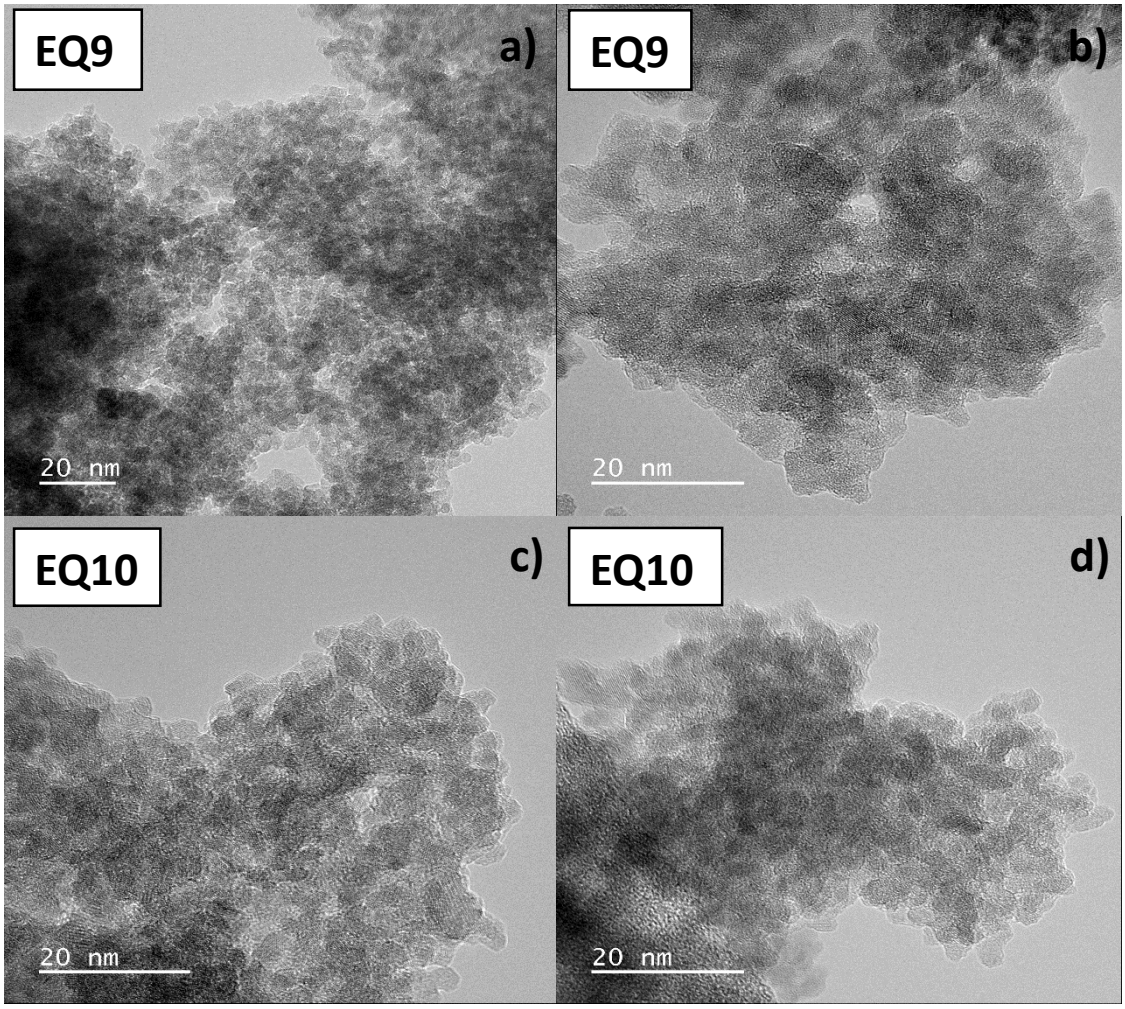


Figura 4.7

Imágenes TEM de las muestras a-b) EQ9 y c-d) EQ10



La muestra sintetizada usando el método convencional de coprecipitación química produjo NPs con diámetro promedio de 13.8 nm, este fue determinado del histograma de distribución de tamaño de partícula. Mientras la muestra con concentración de extracto al 40% w/v y la muestra EQ8 y EQ9 al 50% w/v mostraron diámetros menores a 10 nm, tal cual es mostrado en la **Tabla 4.2**. En el análisis realizado, se observó que las muestras con EQ presentaron un mayor índice de polidispersión (PDI de 0.06) en comparación con la muestra control (PDI de 0.02). Esta mayor dispersión puede estar relacionada con la compleja composición orgánica de la quinua. No obstante, el hecho

de que las NPs biosintetizadas tengan un tamaño menor y una distribución log-normal asimétrica reafirma la capacidad de la quinua para influir positivamente en la reducción de tamaño y en la morfología de las NPs. Esta variabilidad en el tamaño de las NPs biosintetizadas se relaciona con la presencia de la composición orgánica del EQ. La quinua blanca es rica en compuestos químicos fenólicos, estos compuestos fenólicos no solo actúan como agentes reductores, sino también como estabilizantes, limitando el crecimiento excesivo de las partículas y promoviendo una mayor uniformidad en su formación. La asimetría de las distribuciones log-normal permitieron corroborar la distribución asimétrica y típica en el conteo de NPs, lo cual es observado claramente en las **Figuras 4.8** y **4.9**. Cabe mencionar que es muy importante tener un buen conteo estadístico para poder modelar la tendencia de la distribución y así poder obtener los datos estadísticos correspondientes, ver **Tabla 4.2**.

Figura 4.8

Histogramas de distribución de tamaño de partículas de la muestra control y de EQ7

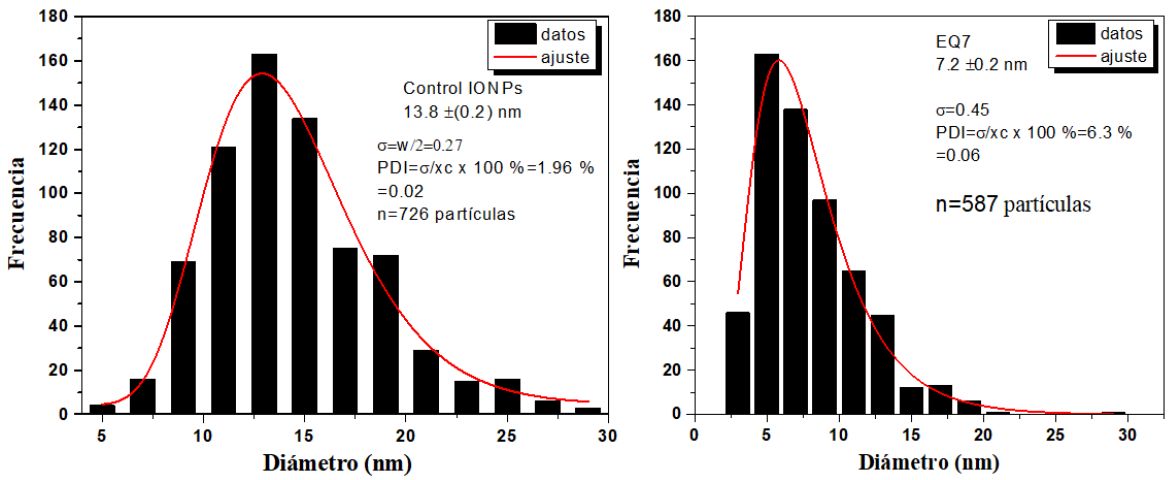


Figura 4.9

Histogramas de distribución de tamaño de partículas de las muestras EQ9 y EQ10

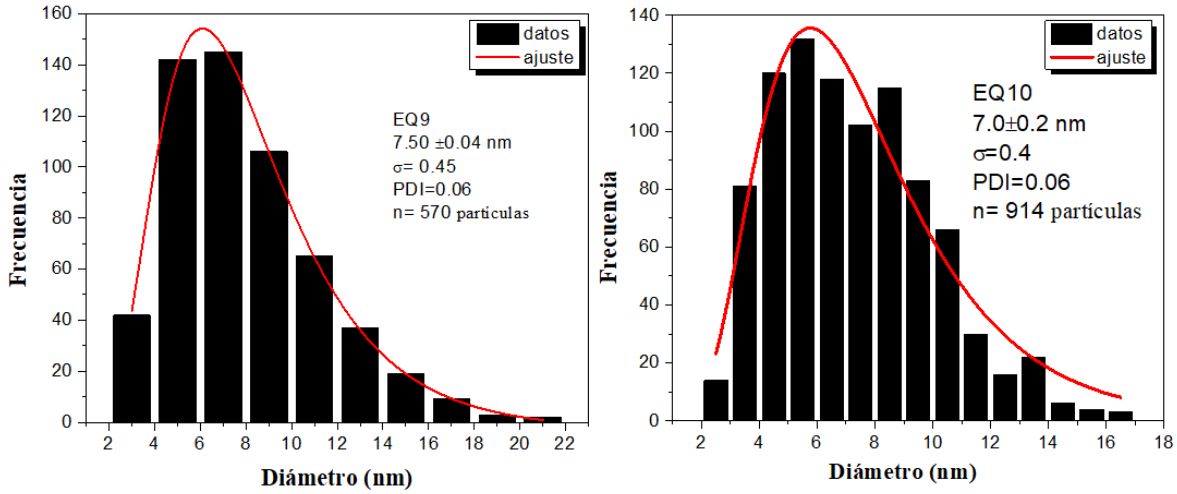


Tabla 4.2

Parámetros morfológicos obtenidos del ajuste del histograma de distribución de tamaños de partículas. D es el diámetro de partícula (nm), σ es la desviación estándar, PDI es el índice de polidispersión y n es el número de partículas

Muestra	*D*	σ	PDI	n
Control	13.8 (2)	0.27	0.02	726
EQ7	7.2(2)	0.45	0.06	587
EQ9	7.5(4)	0.45	0.06	570
EQ10	7.0(2)	0.40	0.06	914

Al realizar una comparación con otros sistemas biosintetizados con diversos extractos, véase **Tabla 1.2**, se puede concluir que la naturaleza biogénica de los compuestos orgánicos tiene influencia sobre la distribución de tamaño de las NPs, las cuales suelen ser variadas entre 2.3 a 60 nm. Sin embargo, el uso del EQ permite obtener diámetros promedios menores a 10 nm utilizando una cantidad menor de NH_4OH. Esto es una ventaja del método reportado en esta tesis, ya que se utiliza un producto peruano comercial que puede facilitar el desarrollo de un nanomaterial magnético con dimensiones muy pequeñas, sin considerar que el material adsorbe los grupos

funcionales del EQ y podría facilitar su funcionalización con otros compuestos para diversas aplicaciones tecnológicas.

4.3. Resultados y discusión física de las medidas de FTIR

Los grupos funcionales de la quinua en polvo y de las IONPs fueron identificados utilizando su espectro infrarrojo. Para ello se analizó la región entre 4000 y 400 cm^{-1}. En primer lugar, se utilizó la referencia [86] donde se estudia el efecto de la humedad relativa sobre las propiedades ópticas de la harina de *Chenopodium quinoa Willd*. En nuestro caso, se encontró la banda de la molécula de agua en la posición 3294 cm^{-1} característica de la vibración molecular simétrica de los grupos hidroxilos (OH) correspondiente a la quinua blanca en polvo.

Por otro lado, la especie *Chenopodium quinoa* en su forma de fécula y harina muestra bandas de IR características de acuerdo con la **Tabla 4.3.**

Tabla 4.3

Posiciones de números de onda en la región IR para la quinua reportado en la ref. [87] y en la quinua blanca en polvo

Grupos funcionales	Número de onda (cm^{-1}) (según literatura)	Número de onda (cm^{-1}) (tesis)	Intensidad de la banda
–CH	2915	2923(8)	Débil
$–CH_2$	2850	2850(0)	Débil
–COOH	998	1001(3)	Fuerte(característico)
O–H	855	860(5)	Medio
C=O	1737	-	Débil
Amida I	1640	1639(1)	Media
Amida II	1545	-	Débil
C–N	1237	1240(3)	Débil

La **Figura 4.10** muestra los espectros FTIR de las muestras analizadas y sus correspondientes posiciones de número de onda. La muestra control de IONPs mostró las bandas de IR características de los sitios tetraédricos y octaédricos en la región de

430 a 640 cm^{-1} [88-89]. El pico más intenso está relacionado con el sitio tetraédrico a 547 cm^{-1} y un hombro de menor intensidad a 580 cm^{-1}. Mientras el pico localizado en el número de onda de 626 cm^{-1} está relacionado con el sitio octaédrico. Esto respalda los resultados obtenidos por DRX donde se observó la fase única de maghemita en la muestra control.

Al analizar las muestras biosintetizadas con el EQ se observó las bandas vibracionales características de la maghemita y de la quinua blanca. Las posiciones de número de onda más sobresalientes son indicadas en la **Tabla 4.4.**

Tabla 4.4

Bandas de IR características y posiciones de los números de onda para las muestras EQ7, EQ9 y EQ10

EQ7	EQ9	EQ10	Banda IR
545	545	565	γ-Fe_2O_3
624	624	694	γ-Fe_2O_3
1026	1026	1026	Quinua (–COOH)
1647	1637	1628	Quinua (amida I)
1261	1263	1263	C–N

El análisis de la **Tabla 4.4** muestra cómo las bandas características de la maghemita y los grupos funcionales de la quinua se presentan en las muestras biosintetizadas con diferentes concentraciones de EQ. La presencia de bandas IR correspondientes a γ-Fe_2O_3 respalda la identificación de esta fase en las muestras, mientras que los desplazamientos en las bandas para los grupos funcionales sugieren interacciones entre la quinua y la superficie de las IONPs.

La variabilidad en las posiciones de las bandas IR, particularmente para los sitios tetraédricos y octaédricos de γ-Fe_2O_3 y los grupos amida I, indica que la interacción entre los compuestos de quinua y el óxido de hierro puede influir en la estructura y propiedades de las NPs. Esto sugiere que el EQ no solo actúa como un agente de síntesis,

sino que también puede participar activamente en la modificación de las propiedades de la superficie de las NPs, lo cual podría ser relevante para aplicaciones específicas donde la interacción entre el material y los grupos funcionales es importante.

La banda de IR principal más intensa para la quinua en polvo fue observada en 1001 cm^{-1}. Sin embargo, para las muestras con mayor concentración de EQ mostraron un corrimiento hacia 1026 cm^{-1}, lo cual sugiere una interacción química entre los grupos funcionales del Fe-O y los grupos poliméricos –COOH. Mientras que los grupos aminoácidos amida I y C–N también mostraron corrimientos significativos en sus posiciones de IR. Por lo cual, podría proponerse un mecanismo de enlace entre los diversos compuestos de la quinua blanca y la superficie del óxido de Fe. Es importante mencionar que la concentración de amidas fue mayor en los EQ, como se constata en la **Figura 4.11**.

Figura 4.10

Espectros de FTIR de la quinua en polvo, control de IONPs, EQ7, EQ9 y EQ10

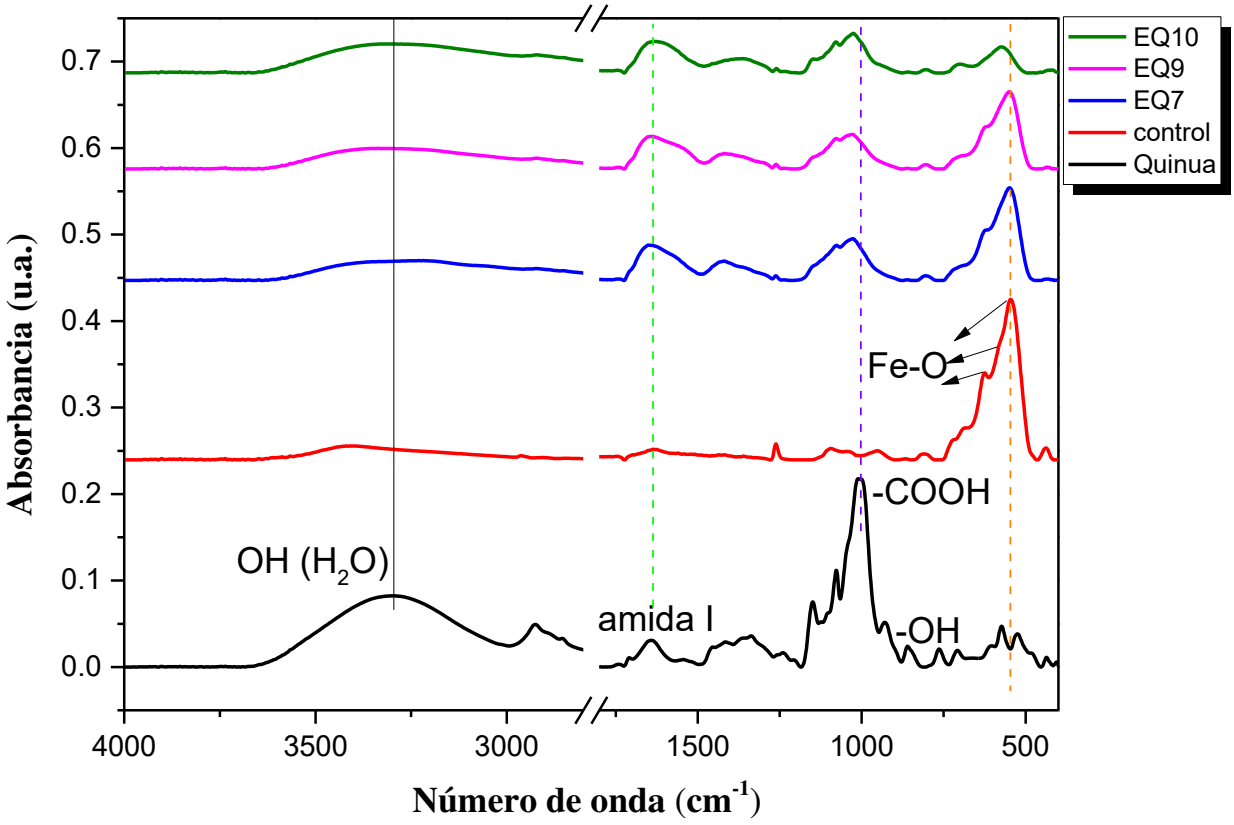
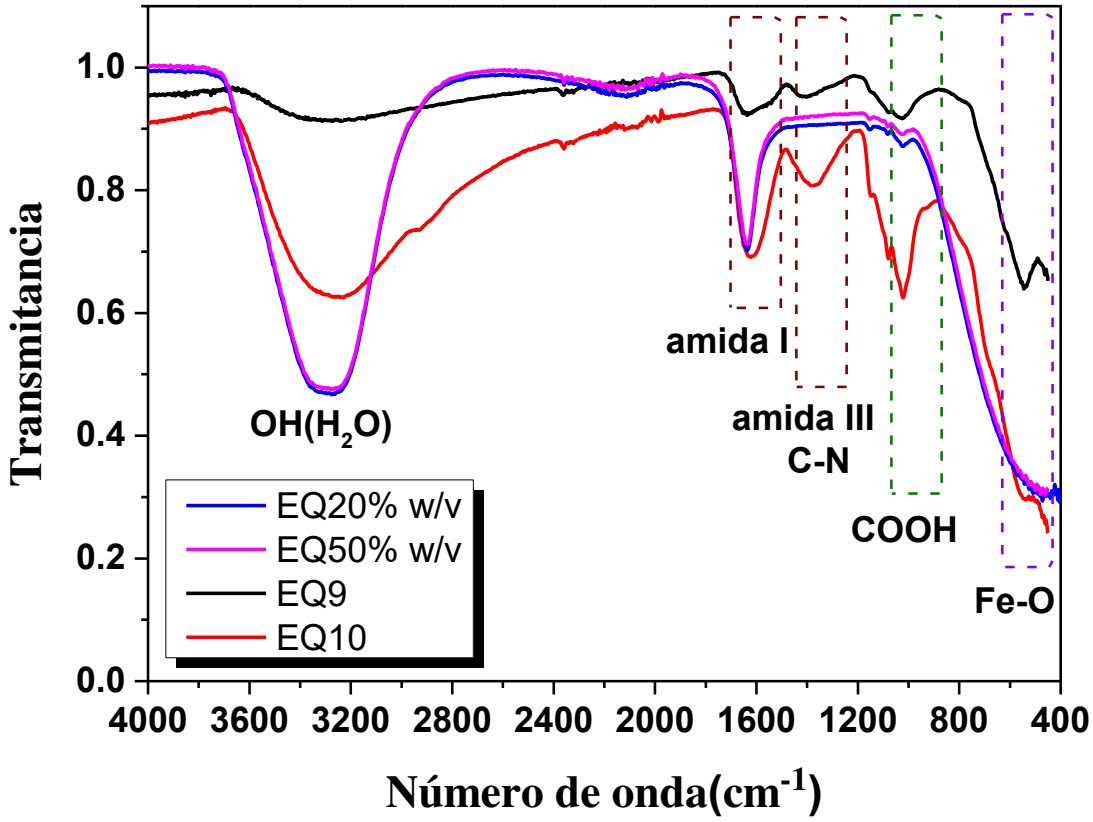


Figura 4.11

Espectros de FTIR del EQ al 20 y 50% w/v, EQ9 y EQ10



4.4. Resultados y discusión física de las medidas de diámetro hidrodinámico y potencial Zeta de la serie EQx

Los resultados de las medidas de diámetro hidrodinámico y potencial Zeta son mostradas en la **Tabla 4.5** y **Figura 4.12 a) y b)**. La **Tabla 4.5** presenta las medidas del diámetro hidrodinámico (D_H) y el punto isoeléctrico de las NPs biosintetizadas con diferentes concentraciones de EQ. A continuación, se realiza un análisis detallado de estos datos para entender cómo la concentración del EQ afecta las propiedades de las NPs.

Tabla 4.5

Medidas de diámetro hidrodinámico (D_H) y punto isoeléctrico de las NPs biosintetizadas

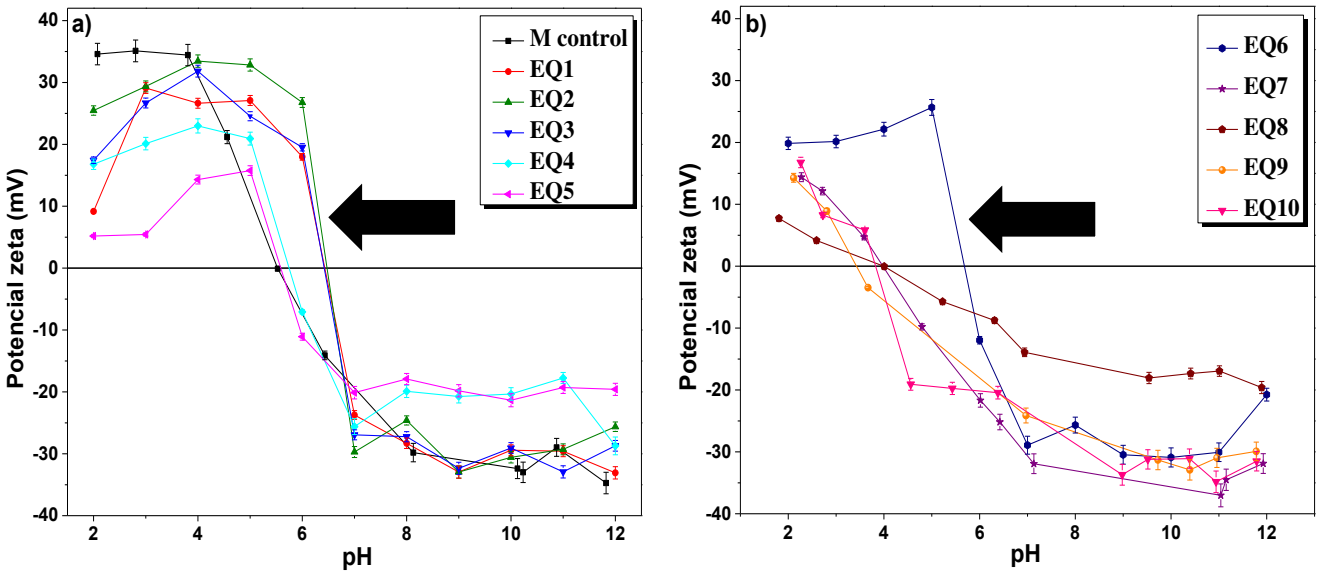
Muestra	Concentración (g L^{-1})	D_H (nm)	Punto isoeléctrico
M control	1.0	136	5.5
EQ1	7.5	242	6.4
EQ2	5.8	263	6.5
EQ3	7.3	349	6.4
EQ4	7.4	1 310	5.8
EQ5	3.6	417	5.6
EQ6	3.5	1 101	5.7
EQ7	6.4	305	4.0
EQ8	4.5	649	4.0
EQ9	0.5	396	3.4
EQ10	0.5	383	3.8

La **Tabla 4.5** indica las concentraciones de las suspensiones preparadas para las mediciones de las propiedades coloidales, así como los valores para el D_H y el punto isoeléctricoLos valores de D_H de la muestra control difiere de las demás muestras con EQ. Las muestras poseen un valor de D_H variado relacionado con la naturaleza polidispersa de los polvos suspendidos. Es importante mencionar que las IONPs se aglomeran debido a la presencia de la interacción dipolar magnética, la cual compite con las fuerzas de Van der Walls en medios acuosos. El comportamiento tipo ácido Lewis de los IONPs indican que las NPs pueden presentar una estabilidad coloidal en medio acuoso, dependiendo del pH, las IONPs pueden estar cargadas con potencial electrostático positivo o negativo. El valor del pH que separa este comportamiento

característico es definido como el punto isoeléctrico o punto de carga nula (p.z.c., del inglés point of zero charge).

Figura 4.12

a) Potencial Zeta vs. pH de las muestras M control, EQ1, EQ2, EQ3, EQ4 y EQ5
b) Potencial Zeta vs. pH de las muestras EQ6, EQ7, EQ8, EQ9 y EQ10



El valor del p.z.c. de la muestra control y de las muestras biosintetizadas con el EQ ocurren a un valor de pH ácido<7. Las muestras con mayor valor de concentración de EQ a 40 y 50% de w/v indican un valor de p.z.c que disminuye a un pH ácido. Este resultado puede estar relacionado con la disminución del diámetro de partículas respecto a la muestra control.

4.5. Mecanismo de interacción entre los compuestos del EQ y las IONPs

Pereira *et al*. [90] utilizaron la evaluación cromatográfica para estudiar la quinua comercial blanca. Su estudio reveló una estructura molecular compleja donde se observaron dos moléculas principales de flavonoides. Estos son derivados de glicósidos de Quercetina y Kaempferol; sus perfiles de intensidad y concentraciones dependen de su variedad, cultivos y acceso. La quercetina como el Kaempferol poseen una estructura

base de flavona 3-hidroxilo. Sin embargo, la Quercetina tiene un grupo hidroxilo adicional (–OH) en la posición R1 a diferencia del Kaempferol [91].

Las bandas IR activas de la quercetina están principalmente relacionadas con grupos carboxilo (–COOH) y carbonilo (C=O) en el esqueleto fenólico, ubicados aproximadamente en 1015 (intensidad media) y 1664 (fuerte) cm^{-1} [92], mientras que el Kaempferol exhibe estas bandas IR en una región IR más amplia, en 1016–1029 cm^{-1} (–COOH) y 1632–1647 cm^{-1} (C=O), respectivamente [93]. Las muestras de EQx (x = 7, 9 y 10) solo muestran la presencia de los grupos –COOH con la ausencia del grupo C=O, lo que indica que la interacción química es favorecida por los grupos carboxilo.

Se ha observado que los grupos –OH funcionalizan las IONPs utilizando diferentes polímeros como el polietileno glicol, el dextrano, el alcohol polivinílico y el plurónico [94]. Sin embargo, no se ha informado sobre el uso de extractos de quinua para recubrir la superficie de las IONPs con grupos hidroxilo. Desde el punto de vista químico, el kaempferol es una molécula más estable y es menos reactiva. Por lo tanto, se puede utilizar para explicar el mecanismo de biosíntesis y la funcionalización superficial con grupos hidroxilo que ocurre en la superficie de las IONPs. Las NPs magnéticas se comportan como una base de Lewis dependiendo del p.z.c.; por encima de este valor, ocurre la desprotonación de acuerdo con la siguiente reacción química (ver **Ecuación 4.1**) [95]:

$$\equiv Fe - OH \rightleftharpoons \equiv Fe - O^{-} + H^{+} \qquad (4.1)$$

Los valores de p.z.c. en la **Tabla 4.5** indican que los medios alcalinos favorecen la coordinación de hidroxilos. A medida que aumenta la concentración del EQ, el p.z.c. se desplaza hacia la izquierda del eje X, alcanzando 3.8 para un 50% w/v. Esta observación sugiere que altas concentraciones del EQ promueven la funcionalización superficial con

grupos hidroxilo. La **Figura 4.13** muestra el primer paso en el mecanismo de biosíntesis gobernado por los grupos hidroxilo presentes en el Kaempferol.

Por otro lado, los grupos químicos amida I y amida III encontrados en las proteínas del EQ también funcionalizan la superficie de las IONPs a través de los grupos carbonilo presentes en los grupos químicos de amida I; véase la **Tabla 4.4** y la referencia [96]. La **Figura 4.14** muestra el posible mecanismo de funcionalización con grupos amidas que ocurre durante la biosíntesis de las NPs.

Figura 4.13

Funcionalización superficial de IONPs con hidroxilos

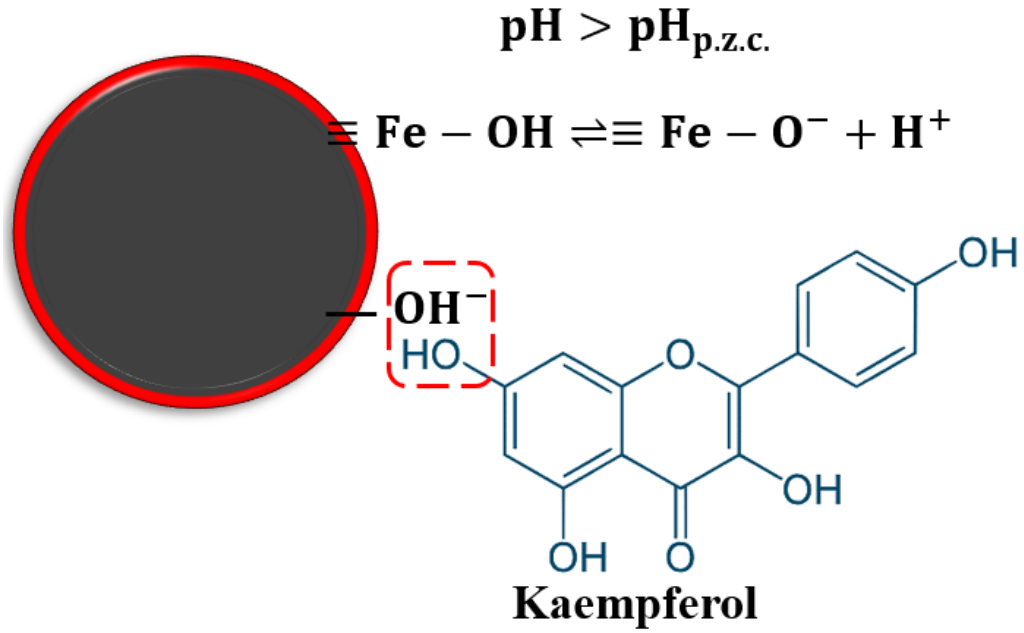
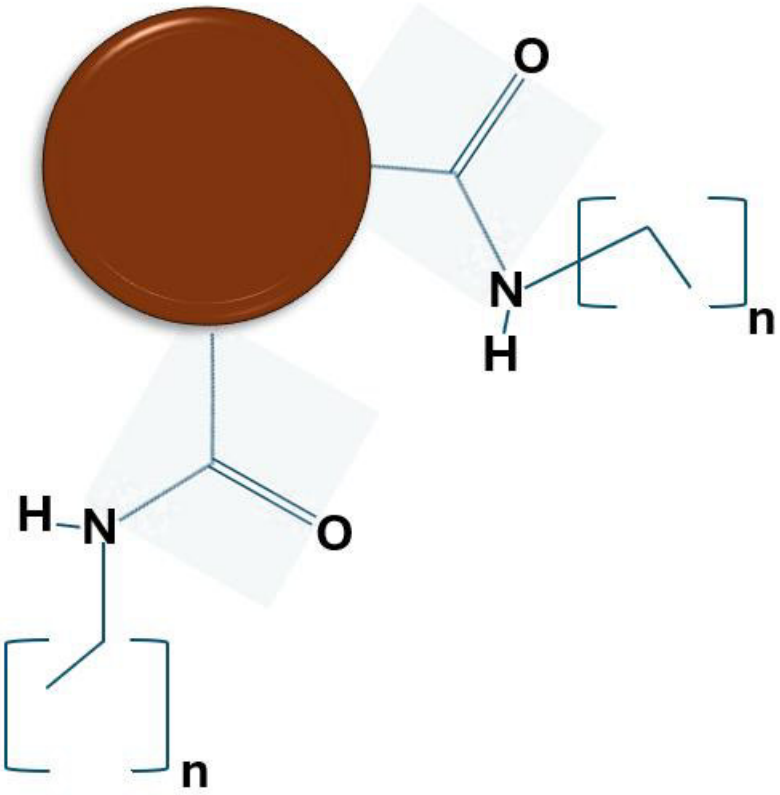


Figura 4.14

Funcionalización superficial de IONPs con amidas



Capítulo 5

Conclusiones

El EQ se preparó mediante un método de purificación que constó de ocho pasos, entre los que destacan el proceso de pasteurización de corto tiempo a alta temperatura (75 °C, 15 s), la filtración, la centrifugación (4000 r.p.m., 5 min) y el almacenamiento en condiciones oscuras de laboratorio y refrigeradas a 5 °C. Se obtuvieron los EQ a cinco concentraciones distintas y se utilizó NH_4OH en volúmenes de 10 y 15 mL, siendo que a mayores concentraciones el uso del agente precipitante fue reducido a 10 mL.

Mediante la técnica de DRX, se identificaron las fases cristalinas de las NPs biosintetizadas correspondientes a la nanomaghemita y goetita. Los difractogramas refinados revelaron que los cristalitos eran significativamente más pequeños para la concentración más alta de 50% w/v y el volumen menor de NH_4OH (10 mL). Las muestras biosintetizadas con el EQ a bajas e intermedias concentraciones mostraron una disminución en el diámetro del cristalito en comparación a la muestra control (8.9 nm), a su vez se observó un porcentaje del 5 al 10% de goetita como fase secundaria. Mientras que a concentraciones del 40% w/v y 50 %w/v se observó la fase pura de nanomaghemita.

Se demostró la efectividad en la optimización de la biosíntesis de las IONPs utilizando extractos de *Chenopodium quinoa*. Se obtuvieron NPs de maghemita pura funcionalizadas con amida e hidroxilo superficial utilizando altas concentraciones del EQ blanca comercial (40 y 50% w/v).

La muestra sintetizada usando el método convencional de coprecipitación química produjo NPs con diámetro TEM promedio de 13.8 nm. Mientras la muestra con concentración de EQ al 40% w/v (EQ7) y la muestra EQ9 y EQ10 al 50% w/v mostraron diámetros TEM que oscilan entre 7 y 8 nm en comparación con la muestra control. Las

muestras con mayor valor de concentración de EQ a 40 y 50% w/v indican un valor de p.z.c que disminuye a un pH ácido. Los valores de p.z.c también mostraron una reducción a 3,4 y 3,8 para los IONPs cuando se utilizaron al 50% w/v, lo que sugiere la presencia de grupos hidroxilo en la superficie de los IONPs.

Finalmente, las medidas de FTIR confirmaron la presencia de grupos químicos–COOH, amida I y amida III, lo que indica que la superficie de las IONPs se modificó y estabilizó con valores de potencial Zeta superiores al umbral de estabilidad (> −30 mV). Por lo tanto, el uso de EQ durante la biosíntesis de las IONPs no solo reduce el uso de productos químicos peligrosos, sino que también representa un enfoque ecológico y respetuoso con el medio ambiente para obtener IONPs cristalizados de una fase.

Recomendaciones

- Verificar la limpieza de todos los instrumentos antes de cada ensayo de biosíntesis para evitar la contaminación cruzada del EQ y de los reactivos químicos.
- Utilizar agua ultrapura nivel I en cada paso que lo requiera, asegurando la pureza del proceso de biosíntesis y evitando interferencias con la formación de NPs.
- Mantener una agitación constante durante la biosíntesis de las IONPs para asegurar una mezcla homogénea de los reactivos y mejorar la calidad del producto final.
- Controlar la temperatura cuidadosamente al calentar la solución de EQ a 80 °C para evitar la desnaturalización de componentes bioactivos que podrían influir en la calidad de las NPs.
- Utilizar guantes térmicos al manipular soluciones calientes y equipos como la manta de calentamiento, para prevenir accidentes.
- Realizar el lavado y decantación magnética con precisión, asegurando que el pH alcance un valor neutro (pH=7) después de cada lavado para estabilizar las IONPs.
- Asegurarse de medir y pesar correctamente las cantidades de reactivos ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $FeCl_3$, NH_4OH) utilizando una balanza analítica, ya que pequeñas variaciones pueden afectar el rendimiento de la biosíntesis.
- Monitorear visualmente los cambios de color durante la adición de reactivos como $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ y $FeCl_3$, para identificar posibles anomalías en la reacción de coprecipitación.

- Registrar meticulosamente los tiempos y temperaturas en cada etapa del proceso, especialmente en la agitación y calentamiento de las mezclas, para asegurar la reproducibilidad de los resultados.
- Verificar que las IONPs formadas presenten el color negro oscuro esperado, ya que esto indica una biosíntesis exitosa. Si es necesario, cotejar y uniformizar los parámetros de agitación y temperatura.
- Es importante realizar todo el procedimiento en condiciones de asepsia para evitar contaminaciones, y documentar cada etapa para garantizar la reproducibilidad del proceso.

Bibliografía

[1] M. J. Jacinto, V.C. Silva, D.M. Valladao, R.S. Souto. Biosynthesis of magnetic iron oxide nanoparticles: A review. Biotechnol. Lett., **43**, 1-12 (2021). [https://doi.org/10.1007/s10529-020-03047-0]

[2] J. A. Ramos, D.A. Flores, E.C. Passamani. Differentiating nanomaghemite and nanomagnetite and discussing their importance in arsenic and lead removal from contaminated effluents: A critical review. Nanomaterials., **11**,2310 (2021). [https://doi.org/10.3390/nano11092310]

[3] A. Miri, H. Najafzadeh, M. Darroudi, M. J. Miri, M. A. Kouhbanani, M. Sarani. Iron oxide nanoparticles: Biosynthesis, magnetic behavior, cytotoxic effect. Chemistry Open., **10**,327-333 (2021). [https://doi.org/10.1002/open.202000186]

[4] D. Sikdar, K. Roy, S.Ch. Debnath. Green and sustainable biosynthesis of iron oxide nanoparticles (ION) from pomegranate seed and the development of highly reinforced ION based natural rubber (NR) nanocomposite in presence of epoxidized natural rubber (ENR) as compatibilizer. CRGSC, **5**, 100256 (2022). [https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2021.100256]

[5] T. Shahwan, S. A. Sirriah, M. Nairat, E. Boyaci, A. E. Eroğlu, T. B. Scott, K. R. Hallam. Green synthesis of iron nanoparticles and their application as a Fenton-like catalyst for the degradation of aqueous cationic and anionic dyes. Chem. Eng. J., **172**(1), 258-266 (2011). [https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.05.103]

[6] N. Zhu, H. Ji, P. Yu, J. Niu, M. Farroq, M. Akram, X. Niu. Surface Modification of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles. Nanomater., **8**, 1-27 (2018). [https://doi:10.3390/nano8100810]

[7] Y. Yin, L. Cui, F. Yan, Z. Zhang, W. Li, L. Wang. Epigallocatechin gallate based magnetic gold nanoshells nanoplatform for cancer theranostic applications. J. Mater. Chem. B., **5**(3), 454–463 (2017).

[8] W. A. El-Said, D. M. Fouad, M. H. Ali, M. A. El-Gahami. Green synthesis of magnetic mesoporous silica nanocomposite and its adsorptive performance against organochlorine pesticides. IJEST., **15**(8), 1731–1744 (2017). [https://doi.org/10.1007/s13762-017-1530-9]

[9] A.V. Ramesh, D. R. Devi, S. Mohan, K. Basavaiah. Facile green synthesis of Fe*3*O*4* nanoparticles using aqueous leaf extract of *Zanthoxylum armatum* DC. for efficient adsorption of methylene blue. J. Asian Ceram. Soc., **6**(2): 145–155 (2018). [https://doi.org/10.1080/21870764.2018.1459335]

[10] M. Alavi, N. Karimi. Ultrasound assisted-phytofabricated Fe_3O_4 NPs with antioxidant properties and antibacterial effects on growth, biofilm formation, and spreading ability of multidrug resistant bacteria. Artif Cells Nanomed Biotechnol., **47**(1), 2405–2423 (2019). [https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1624560]

[11] Y. Campos, K. Acosta, L. Paucar. Quinoa (*Chenopodium quinoa*): Nutritional composition and bioactive compounds of grain and leaf, and impact of heat treatment and germination. Lett., **20**, 465-47(2022).

[12] M. J. Lee, K. H. Sim. Nutritional value and the kaempferol and quercetin contents of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) from different regions. Korean J. Food Sci. Technol., **50**(6), 680-687 (2018). [https://doi.org/10.9721/KJFST.2018.50.6.680]

[13] Y. Hirose, T. Fujita, T. Ishii, N. Ueno. Antioxidative properties and flavonoid composition of Chenopodium quinoa seeds cultivated in Japan. Food Chem., **119**(4), 1300–1306 (2010). [https://doi:10.1016/j.foodchem.2009.09.008]

[14] R. Carrasco, J. K. Hellström, J. M. Pihlava, P. H. Mattila. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Food Chem., **120**(1), 128-133 (2010). [https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.087]

[15] J. A. Ramos Guivar. Funcionalización de nanomateriales magnéticos de óxido de hierro con aplicaciones en biosensores y regeneración de tejidos óseos. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Físicas, Unidad de Posgrado (2015).

[16] J. A. Ramos Guivar. Híbridos de nanopartículas magnéticas funcionalizadas con diferentes agentes para la adsorción y remoción de metales pesados del agua. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Físicas, Unidad de Posgrado (2018).

[17] S. M. Dadfar, K. Roemhild, N. I. Drude, S. Stillfried, R. Knüchel, F. Kiessling, T. Lammers. Iron oxide nanoparticles: Diagnostic, therapeutic and theranostic applications. Adv. Drug Deliv. Rev., **138**, 302-325 (2019). [https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.01.005]

[18] A. H. Lu, E. L. Salabas, F. Schüth. Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application. Angew. Chem. Int. Ed., **46**(8), 1222-1244 (2007). [https://doi.org/10.1002/anie.200602866]

[19] A. K. Gupta, M. Gupta. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. Biomater., **26**(18), 3995–4021 (2005). [https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.10.012]

[20] K. Andrade-Zavaleta, Y. Chacon-Laiza, D. Asmat-Campos, N. Raquel-Checca. Green synthesis of superparamagnetic iron oxide nanoparticles with *Eucalyptus globulus* extract and their application in the removal of heavy metals from agricultural soil. Mol., **27**(4), 1367 (2022). [https://doi.org/10.3390/molecules27041367]

[21] A. A. Barzinjy, D. A. Abdul, F. H. S. Hussain, S. M. Hamad. Green synthesis of the magnetite (Fe_3O_4) nanoparticle using *Rhus coriaria* extract: a reusable catalyst for efficient synthesis of some new 2-naphthol bis-Betti bases. Inorg Nano-Met Chem., **22**(2), 308–317 (2020). [https://doi.org/10.1080/24701556.2020.1723027]

[22] A. Bouafia, S. E. Laouini, A. Khelef, M. L. Tedjani, F. Guemari. Effect of Ferric Chloride Concentration on the Type of Magnetite (Fe_3O_4) Nanoparticles Biosynthesized by Aqueous Leaves Extract of Artemisia and Assessment of Their Antioxidant Activities. J. Clust. Sci., **32**(4), 1033–1041(2020). [https://doi.org/10.1007/s10876-020-01868-7]

[23] S. Amutha, S. Sridhar. Green Synthesis and Characterization of Iron Oxide Nanoparticles Using *Clausena indica* Leaf Extract and Evaluation of Antibacterial Activity. J. Biol. Chem. Research., **35**, 441-448 (2018).

[24] M. S. H. Bhuiyan, M. Y. Miah, S. C. Paul, T. D. Aka, O. Saha, Md. M. Rahaman, Md. J. I. Sharif, O. Habiba, Md. Ashaduzzaman. Green synthesis of iron oxide nanoparticle using *Carica papaya* leaf extract: application for photocatalytic

degradation of remazol yellow RR dye and antibacterial activity. Heliyon, **6**, (2020). [https://doi.org/10.1016/j.heliyon. 2020.e04603]

[25] R. Selvaraj, S. Pai, G. Murugesan, S. Pandey, R. Bhole, D. Gonsalves, T. Vinayagam, R. Vinayagam. Green synthesis of magnetic α–Fe_2O_3 nanospheres using *Bridelia retusa* leaf extract for Fenton-like degradation of crystal violet dye. Appl. Nanosci., **11**(8), 2227–2234 (2021). [https://doi.org/10.1007/s13204-021-01952-y]

[26] J. F. W. Bowles, R. M. Cornel, U. Schwertmann. The Iron Oxides: Structure, Properties Reactions Occurrence and Uses. Mineral. Mag., **61**(408), 740–741(1997). [https://doi.org/10.1180/minmag.1997.061.408.20]

[27] R. Grau-Crespo, A. Y. Al-Baitai, I. Saadoune, N. H. De Leeuw. Vacancy ordering and electronic structure of γ-Fe_2O_3 (maghemite): a theoretical investigation. J. Phys.: Condens. Matter, **22**(25), 255401 (2010). [https://doi.org/10.1088/0953-8984/22/25/255401]

[28] D. Faivre. Iron oxides. Wiley-VCH. (2016). [https://doi.org/10.1002/9783527691395]

[29] S. Babay, T. Mhiri, M. Toumi. Synthesis, structural and spectroscopic Characterizations of maghemite γ-Fe_2O_3 prepared by one-step coprecipitation route. J. Mol. Struct., **1085**, 286-293 (2015). [https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.12.067]

[30] G. A Waychunas. Crystal chemistry of oxides and oxyhydroxides. Capítulo 2 del libro: Oxide minerals, 11-68 (1991). [https://doi.org/10.1515/9781501508684-005]

[31] G. Ennas, G. Marongiu, A. Musinu, A. Falqui, P. Ballirano, R. Caminiti. Characterization of nanocrystalline γ–Fe_2O_3 prepared by wet chemical method. J. Mater. Res., **14**(4), 1570-1575 (1999). [https://doi.org/10.1557/JMR.1999.0210]

[32] R. Zboril, M. Mashlan, D. Petridis. Iron (III) oxides from Thermal Processes-Synthesis, Structural and Magnetic Properties, Mössbauer Spectroscopy Characterization, and Applications. Chem. Mat., **14**(3), 969-982 (2002). [http://dx.doi.org/10.1021/cm0111074]

[33] P. B. Braun. A Superstructure in Spinels. Nature., **170**(4339), 1123–1123 (1952). [https://doi.org/10.1038/1701123a0]

[34] G. W. Van Oosterhout, C. J. M. Rooijmans. A new superstructure in Gamma-Ferric Oxide. Nature., **181**(4601), 44-44 (1958). [https://doi.org/10.1038/181044a0]

[35] R. Rodriguez, C. Marticorena, D. Alarcón, C. Baeza, L. Cavieres, V. L. Finot, N. Fuentes, A. Kiessling, M. Mihoc, A. Pauchard, E. Ruiz, P. Sanchez, A. Marticorena. Catálogo de las plantas vasculares de Chile. Gayana Bot., **75**(1), 1-430 (2018). [https://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432018000100001]

[36] C. A. Padrón, R. A. Oropeza, A. I. Montes. Semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willdenow): composición química y procesamiento. Aspectos relacionados con otras áreas. Rev. Venez. Cienc. Tecnol. Aliment., **5**(2), 166-218 (2014)

[37] A. M. G. Darwish, H. A. O. Al-Jumayi, H. A. Elhendy. Effect of germination on the nutritional profile of quinoa (*Cheopodium quinoa* Willd.) seeds and its anti-anemic potential in Sprague-Dawley male albino rats. Cereal Chem., **2**, 315-327 (2020). [https://doi.org/10.1002/cche.10366]

[38] M. J. Koziol. Chemical Composition and Nutritional Evaluation of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). J. Food Compos. Anal., **5**(1), 35–68 (1992). [https://doi.org/10.1016/0889-1575(92)90006-6]

[39] J. Campos-Rodriguez, K. Acosta-Coral, L. M. Paucar-Menacho. Quinoa (*Chenopodium quinoa*): Nutritional composition and bioactive compounds of grain and leaf, and impact of heat treatment and germination. Sci. Agropecu., **13**(3), 209-220 (2022). [https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.019]

[40] L. E. Abugoch, N. Romero, C. A. Tapia, J. Silva, M. Rivera. Study of Some Physicochemical and Functional Properties of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Protein Isolates. J. Agric. Food Chem., **56**, 4745–4750 (2008). [https://doi.org/10.1021/jf703689u]

[41] M. A. Iqbal. An Assessment of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Potential as a Grain Crop on Marginal Lands in Pakistan. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., **15**(1), 16-23 (2015). [https://doi.org/10.5829/idosi.aejaes.2015.15.1.12474]

[42] W. A. Atwell, B. M. Patrick, L. A. Johnson, R. W. Glass. Characterization of Quinoa Starch. Cereal Chem. **60**, 9–11 (1983).

[43] A. A. Oshodi, H. N. Ogungbenle, M. O. Oladimeji. Chemical composition, nutritionally valuable minerals and functional properties of benniseed (*Sesamum radiatum*), pearl millet (*Pennisetum typhoides*) and quinoa (*Chenopodium quinoa*) flours. Int. J. Food Sci. Nutr., **50**, 325–331 (1999). [https://doi.org/10.1080/096374899101058]

[44] S. Rafik, M. Rahmani, J. P. Rodriguez, S. Andam, A. Ezzariai, M. El Gharous, S. Karboune, R. Choukr-Allah, A. Hirich. How Does Mechanical Pearling Affect Quinoa Nutrients and Saponin Contents? Plants, **10**(6), 1133 (2021). [https://doi.org/10.3390/plants10061133]

[45] S. G. Sparg, M. E. Light, J. Staden. Biological activities and distribution of plant saponins. J. Ethnopharmacol., **94**, 219–243 (2004). [https://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2004.05.016]

[46] G. Francis, Z. Kerem, H. P. S. Makkar, K. Becker. The biological action of saponins in animal systems: a review. Br. J. Nutr., **88**(06), 587 (2002). [https://dx.doi.org/10.1079/BJN2002725]

[47] L. E. A. James. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd): Composition, Chemistry, Nutritional, and Functional Properties. Adv. Food Nutr. Res., **58**, 1-31 (2009). [http://dx.doi.org/10.1016/S1043-4526(09)58001-1]

[48] V. Gianna. Extracción, cuantificación y purificación de saponinas de semillas de *Chenopodium quinoa* Willd provenientes del Noroeste Argentino. (Tesis Doctoral) Universidad Nacional de Córdoba- Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Córdoba. (2013)

[49] M. Faraldos, C. Goberna. Técnicas de análisis y caracterización de materiales. Editorial CSIC Consejo Superior de Investigaciones Científicas (2011).

[50] M. E. Aparicio, G. G. Carbajal. Utilidad de la difracción de rayos x en las nanociencias. Mundo nano., **3**(2), 62-72 (2010).

[51] A. Authier. Dynamical theory of X-ray diffraction. International Tables for Crystallography., 534–551(2006). [https://doi.org/10.1107/97809553602060000569]

[52] L. R. B. Elton, D. F Jackson. X-ray Diffraction and the Bragg Law. Am. J. Phys., **34**(11), 1036-1038 (1966). [https://doi.org/10.1119/1.1972439]

[53] R. F. Egerton. Physical Principles of Electron Microscopy. Editorial Springer (2005).

[54] J. García-Guinea. Difracción de Rayos X. Método del polvo cristalino (2000).

[55] S. A. Maximov. Análisis Calorimétrico y de Difracción de Rayos X de Aleaciones Base Cobre, Obtenidas por Aleado Mecánico. (2008)

[56] U. Holzwarth, N. Gibson. The Scherrer equation versus the 'Debye-Scherrer equation'. Nature nanotechnology., ***6***(9), 534 (2011). [https://doi.org/10.1038/nnano.2011.145]

[57] A. K. Zak, W. H. A. Majid, M. E. Abrishami, R. Yousefi. X-ray analysis of ZnO nanoparticles by Williamson–Hall and size–strain plot methods. Solid State Sci., **13**(1), 251-256 (2011). [https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2010.11.024]

[58] V. J. Esteve Cano. El método de Rietveld. Ciències Experimentals (2014).

[59] D. Jaramillo. Desarrollo de un protocolo para la aplicación del método de Rietveld y del estándar interno en la caracterización de materiales cerámicos con contenido de amorfos. (Bachelor's thesis, Universidad EAFIT) (2015).

[60] R. Young. The Rietveld Method, Oxford University Press, pp 1-38; ISBN 0195859127 (1993).

[61] Á. Justo, E. Morillo. Técnicas de difracción de Rayos X para la identificación cualitativa y cuantitativa de minerales de la arcilla (1999).

[62] E. Garnier. Powder diffraction: theory and practice. Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr., **65**(1), 51–51 (2008). [https://doi.org/10.1107/S010876730802850X]

[63] Y. Canchanya-Huaman, A. F. Mayta-Armas, J. Pomalaya-Velasco, Y. Bendezú-Roca, J. A. Guerra, J. A. Ramos-Guivar. Strain and Grain Size Determination of CeO_2

and TiO_2 Nanoparticles: Comparing Integral Breadth Methods versus Rietveld, μ-Raman, and TEM. Nanomaterials., **11**, 2311 (2021). [https://doi.org/10.3390/nano11092311]

[64] S. C. Ghosh. Scanning electron microscopy in palaeontological studies. Indian J. Geol., **79**, 7-21 (2009).

[65] J. Renau-Piqueras, M. Faura. Principios básicos del Microscopio Electrónico de Barrido. Centro de Investigación. Hospital "La Fe" (1994).

[66] G. González. Series de Fourier, Transformadas de Fourier y Aplicaciones. Divulgaciones matemáticas, **5**(1/2), 43-60 (1997).

[67] R. Rueda-Vellasmin, N. -R. Checca-Huaman, E. C. Passamani, F. J. Litterst, J.A. Ramos-Guivar. Mössbauer studies of core-single-shell and core-double-shell polymer functionalized magnetic nanoparticles. Hyperfine Interact., **243**(1), 27 (2022). [https://doi.org/10.1007/s10751-022-01813-2]

[68] R. J. Hunter. Zeta Potential in Colloid Science: Principles and Applications. London: Academic Press (1981).

[69] J. Lyklema. Fundamentals of Interface and Colloid Science (Vol. 2). San Diego: Academic Press (1995).

[70] J. Wang, J. Zhang, L. Han, J. Wang, L. Zhu, H. Zeng. Graphene-based materials for adsorptive removal of pollutants from water and underlying interaction mechanism, Adv. Colloid Interface Sci., **289**, 102360 (2021) [https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102360]

[71] J. N. Israelachvili. Intermolecular and Surface Forces (3rd ed.). London: Academic Press (2011).

[72] W. B. Russel, D. A. Saville, W. R. Schowalter. Colloidal Dispersions. Cambridge: Cambridge University Press (1989).

[73] J. H. Masliyah, S. Bhattacharjee. Electrokinetic and Colloid Transport Phenomena. Hoboken: Wiley-Interscience (2006).

[74] L. G. Leal. Advanced Transport Phenomena: Fluid Mechanics and Convective Transport Processes. Cambridge: Cambridge University Press (2007).

[75] G. K. Batchelor. An Introduction to Fluid Dynamics. Cambridge: Cambridge University Press (1967).

[76] R. F. Probstein. Physicochemical Hydrodynamics (2nd ed.). Hoboken: Wiley-Interscience.

[77] R. J. Hunter. Foundations of Colloid Science (2nd ed.). Oxford: Oxford University Press (2001).

[78] A. V. Delgado, F. González-Caballero, R. J. Hunter, L. K. Koopal, J. Lyklema. Measurement and Interpretation of Electrokinetic Phenomena. J. Colloid Interface Sci., **309**(2), 194–224 (2007).

[79] F. A. Morrison. Understanding Rheology. Oxford: Oxford University Press (2001).

[80] B. J. Berne, R. Pecora. Dynamic Light Scattering with Applications to Chemistry, Biology, and Physics. J. Chem. Educ., **54**, 10 (1977). [https://doi.org/10.1021/ed054pA430.1]

[81] R. Borsali, U. P. Schroeder, D. Y. Yoon, R. Pecora. Dynamic light scattering studies of cholesteric and polymer-stabilized cholesteric liquid crystals. Phys. Rev. E, **58**, 3 (1998). [https://doi.org/10.1103/PhysRevE.58.R2717]

[82] B. H. Stuart. Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. John Wiley & Sons. (2004).

[83] R. Mendelsohn. Fourier Transform Infrared Spectrometry. JACS, **129**(43), 13358–13358 (2007). [https://doi.org/10.1021/ja076968d]

[84] J.A. Ramos-Guivar, R. Rueda-Vellasmin, E. V. Manrique-Castillo, F. Mendoza-Villa, N.-R. Checca-Huaman, E. C. Passamani. Synthesis and Characterization of

Maghemite Nanoparticles Functionalized with Poly (Sodium 4-Styrene Sulfonate) Saloplastic and Its Acute Ecotoxicological Impact on the Cladoceran *Daphnia magna*. Polymers, **16**, 1581 (2004). [https://doi.org/10.3390/polym16111581]

[85] K. C. Ríos. Tecnología de alimentos. Ediciones de la U, Bogotá, Colombia (2011).

[86] A. González-Muñoz, B. Montero, J. Enrione, S. Matiacevich. Rapid prediction of moisture content of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) flour by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. J. Cereal Sci., **71**, 246-249 (2016). [https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.09.006]

[87] B. Contreras-Jiménez, O. L. Torres-Vargas, M. E. Rodríguez-García. Physicochemical characterization of quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and isolated starch. Food Chem., **298**, 124982 (2019). [https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124982]

[88] J. A. Ramos-Guivar, E. C. Passamani, J. Litterst. Superspinglass state in functionalized zeolite 5A-maghemite nanoparticles. AIP Advances, **11**(3), 035223 (2021). [https://doi.org/10.1063/5.0038545]

[89] J. A. R. Guivar, E. Sadrollahi, D. Menzel, E. G. Ramos Fernandes, E. O. López, M. M. Torres, J. M. Arsuaga, A. Arencibia, F. J. Litterst. Magnetic, structural and surface properties of functionalized maghemite nanoparticles for copper and lead adsorption. RSC Advances., **7**(46), 28763-28779 (2017). [https://doi.org/10.1039/C7RA02750H]

[90] E. Pereira, V. Cadavez, L. Barros, C. Encina-Zelada, D. Stojković, M. Sokovic, R.C. Calhelha, U. Gonzales-Barron, I.C. Ferreira. *Chenopodium quinoa* Willd. (quinoa) grains: A good source of phenolic compounds. Food Res. Int., **137**, 109574 (2020). [https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109574]

[91] W. M Dabeek; M. V Marra. Dietary quercetin and kaempferol: Bioavailability and potential cardiovascular-related bioactivity in humans. Nutrients., **11**, 2288 (2019). [https://doi.org/10.3390/nu11102288]

[92] A. Kuzniarz. Infrared spectrum analysis of some flavonoids. Acta Pol. Pharm. Drug Res., **58**, 415–420 (2001).

[93] B. Yadav, R. K. Yadav, G. Srivastav, R. A. Yadav. Experimental Raman, FTIR and UV-vis spectra, DFT studies of molecular structures and barrier heights, thermodynamic functions and bioactivity of kaempferol. J. Mol. Struct., **1258**, 132637 (2022). [https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.132637]

[94] K. Hola, Z. Markova, G. Zoppellaro, J. Tucek, R. Zboril. Tailored functionalization of iron oxide nanoparticles for MRI, drug delivery, magnetic separation and immobilization of biosubstances. Biotechnol. Adv., **33**, 1162–1176 (2015). [https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.003]

[95] M. Kumari, C. U. Pittman, D. Mohan. Heavy metals [chromium (VI) and lead (II)] removal from water using mesoporous magnetite (Fe_3O_4) nanospheres. J. Colloid Interface Sci., **442**, 120–132 (2015). [https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.09.012]

[96] M. Al-Harahsheh, M. AlJarrah, M. Mayyas, M. Alrebaki. High-stability polyamine/amide-functionalized magnetic nanoparticles for enhanced extraction of uranium from aqueous solutions. J. Taiwan Inst. Chem. Eng., **86**, 148–157 (2018). [https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.03.005]

Anexos

Anexo A

Determinación del Tamaño de Nanopartícula

El tamaño y forma de las NPs pueden ser muy bien determinadas mediante la microscopía electrónica de transmisión, como se pudo estudiar en el capítulo de Conceptos fundamentales y técnicas experimentales. Por consiguiente, se presenta brevemente el uso y rutas específicas del programa Image J, que fueron necesarios para los análisis de los datos obtenidos por TEM.

Programa Image J

Para el análisis de las imágenes obtenidas por TEM se utilizó el programa *Image J*, que es un procesador de imágenes digitales que hace uso de un compilador JAVA. Debe resaltarse que se trata de un software libre.

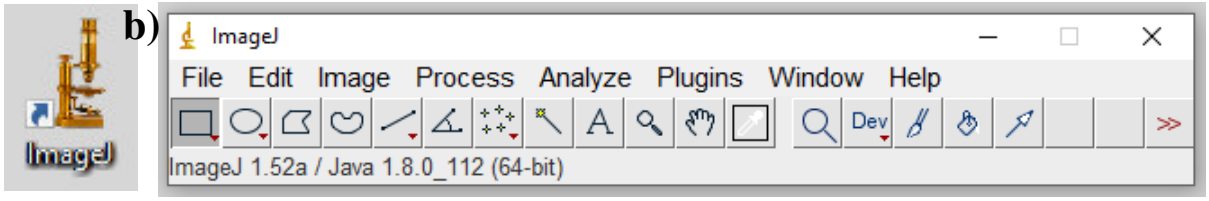
Calibración de imágenes con Image J

i. Como paso número uno, debemos identificar el programa y descargarlo, ver **Figura A1a).**

Figura A1

a) Logo del programa Image J. b) Panel de control del programa

a) **b)**

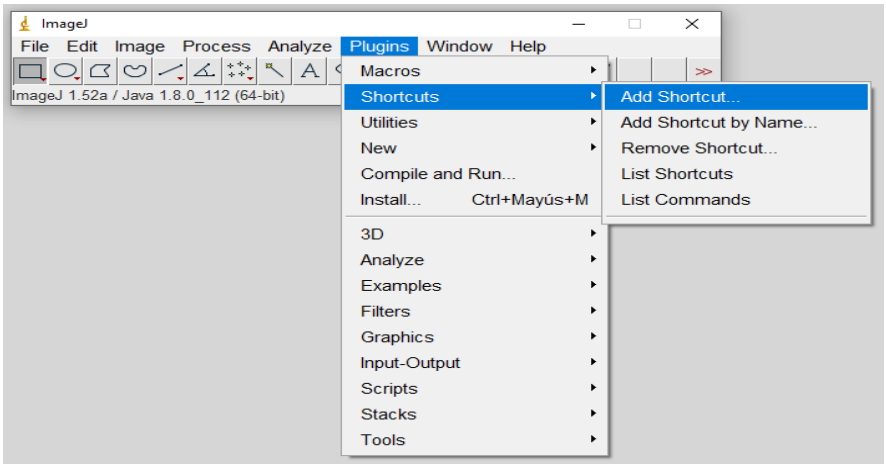


- Para poder medir y marcar las NPs que se van a contar, debemos configurarlo de la siguiente manera:

- Hacer click en “plugins” del panel de control del programa. **Figura A1b).**

Figura A2

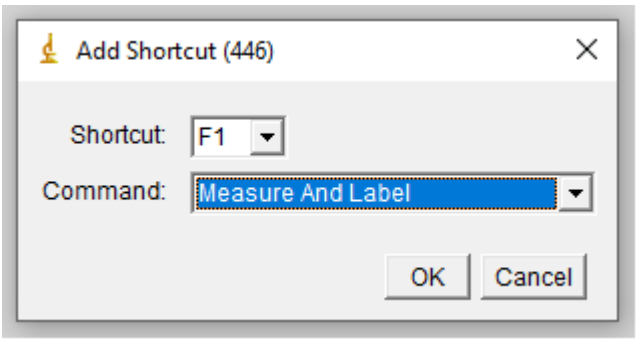
Esquema y señalización de la ruta para generar comandos útiles para poder marcar a las NPs



- Dirigirse a *shortcurts > add shortcut.* **Figura A2** Se genera una ventana, donde elegiremos las opciones:

Figura A3

Ventana con las opciones seleccionadas para poder crear la opción de marcado

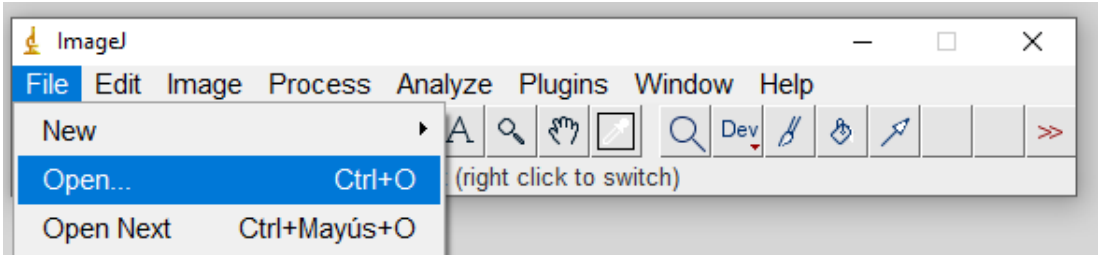


- Hacemos clic en la ventana, una vez que se logre seleccionar como se muestra en la **Figura A3**

- Para abrir la imagen que se desea analizar debemos ir a la ruta: *File > Open.* **Figura A4**

Figura A4

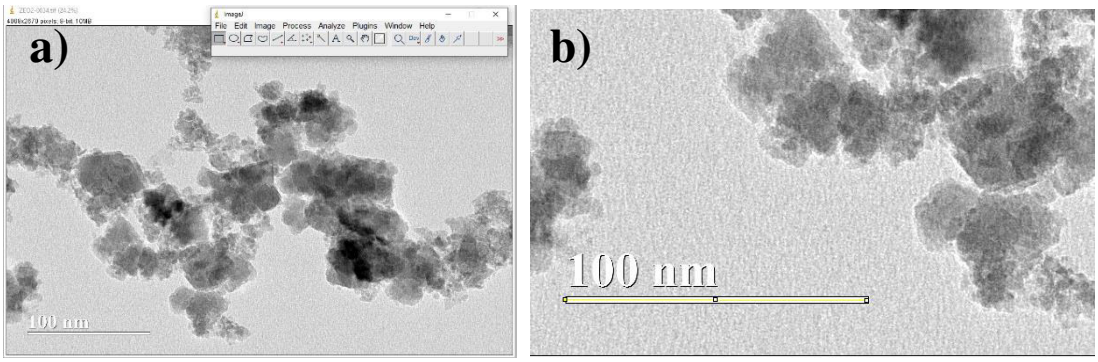
Ruta para abrir la imagen a analizar



cuidadosa tratamos de seleccionar la barra que nos presenta en la imagen, hasta ocuparla completamente. Ver **Figura A5**

Figura A5

Configuración de escala. a) Se muestra la imagen que se desea medir o analizar. b) Selección de la barra de escala de la imagen (línea amarilla)



- Seleccionamos “analysis” del panel de control.
- Nos dirigimos en la opción “set scale” (ver **Figura A6**) y surgirá una nueva ventana, en la cual debemos colocar lo siguiente, ver **Figura A7 a)** y **b)**

Figura A6

Ubicación de la opción para la configuración de escala

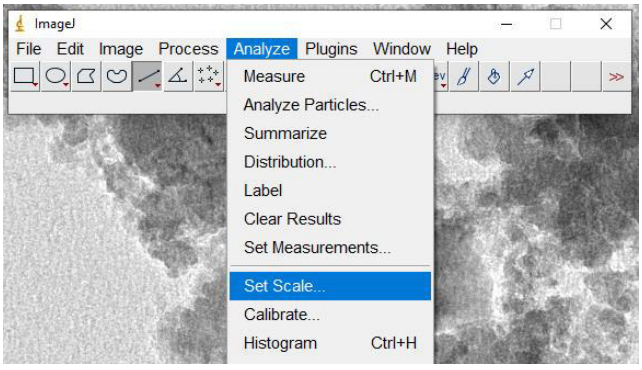
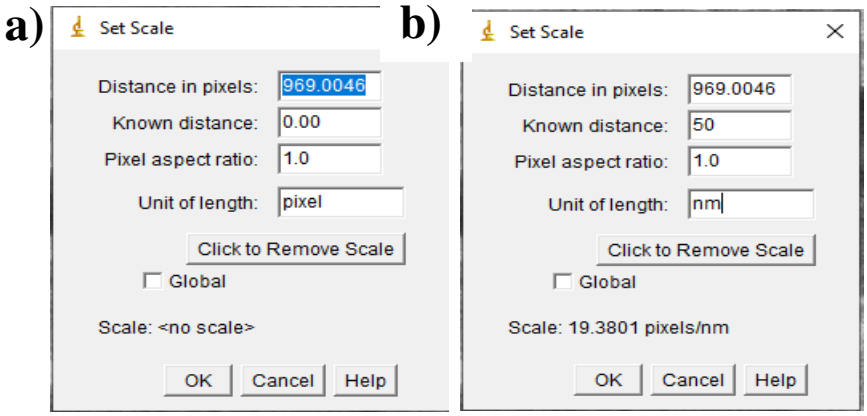


Figura A7

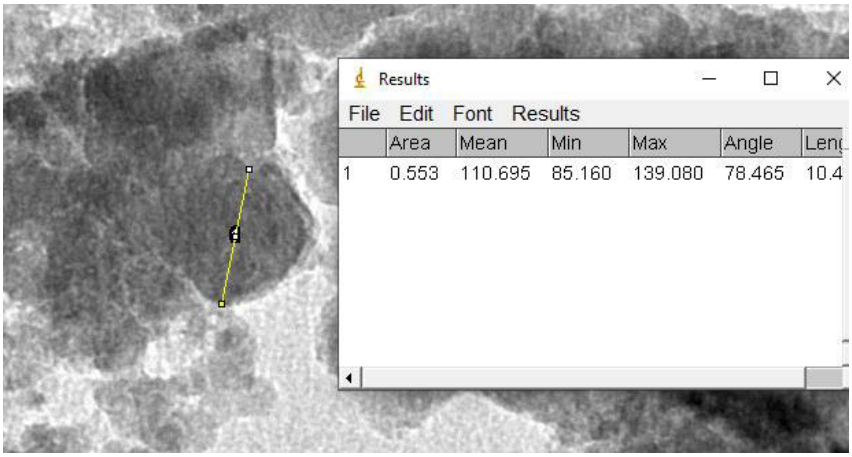
Ventana de configuración. a) Se muestra la ventana que emerge inicialmente sin configurar. b) Configuración y parámetros de escala final que se usó para el conteo de NPs



- Una vez colocado las opciones, aceptamos los cambios.
- Para iniciar el conteo, debemos de "marcar" el diámetro de una nanopartícula con la opción "línea" de la barra de Image J en la imagen a analizar. Luego, presionamos "F1" para poder obtener una nueva ventana donde se guardarán los valores de la medida y el número del marcador o número de cuenta, ver **Figura A8.**

Figura A8

Imagen con marcado del diámetro de una nanopartícula y la ventana de resultados donde se registra

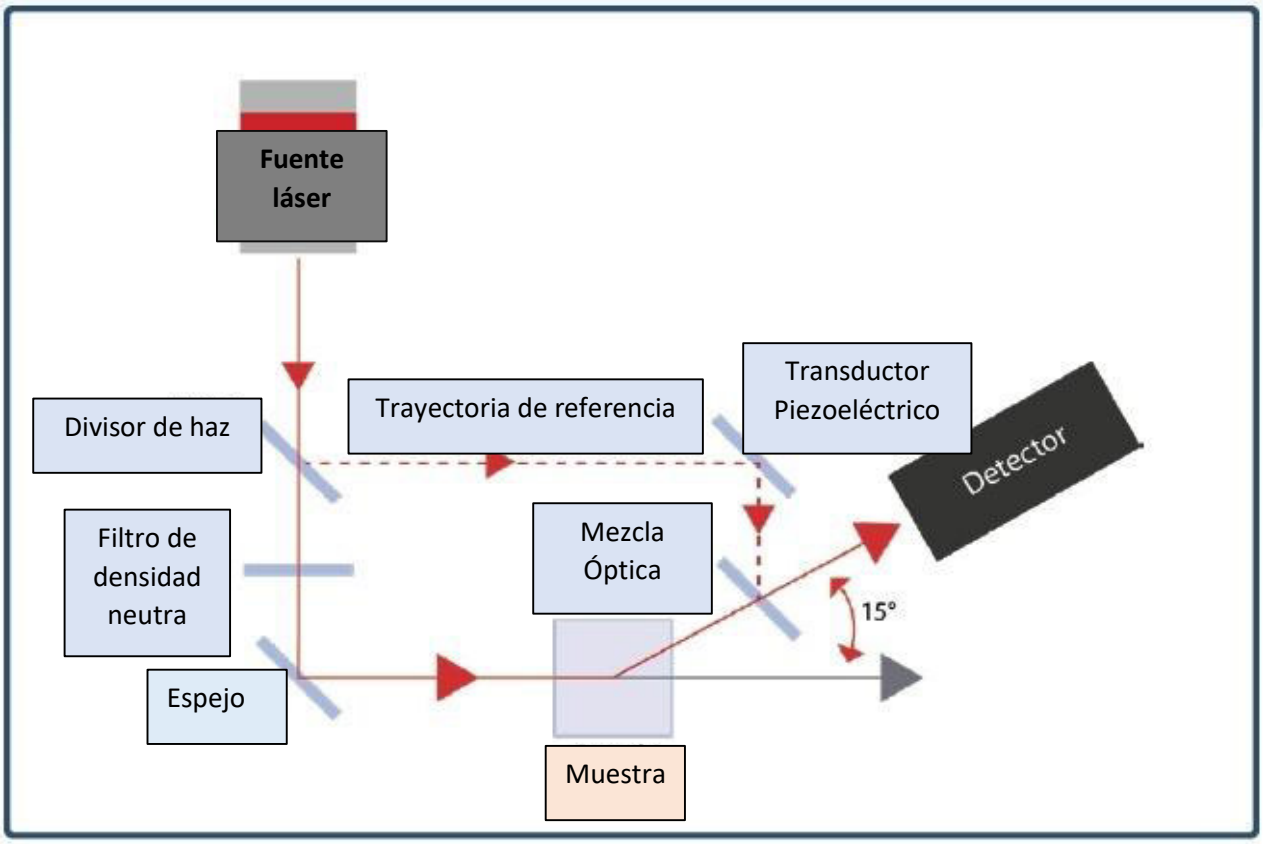


Nota:

- Para cada nueva imagen que se desee analizar, debemos calibrar o convertir las unidades, es decir usar la opción: “set scale”.
- Si no funciona en primera instancia el marcado y medida al presionar F1, se debe ir a la siguiente ruta: *analyze > set measurements > add to overlay.* Luego aceptamos la opción.
- Para poder guardar una imagen ya analizada y marcada, seguimos la siguiente dirección: ***File > save*** as y elegimos el formato de imagen que se desee guardar.
- Para guardar las medidas de la ventana “Results”, debemos hacer: ***File>save as***

Anexo B

Instrumentación del equipo de potencial Zeta



Anexo C

Publicación internacional

Marcos-Carrillo, M.d.P.; Checca-Huaman, N.-R.; Passamani, E.C.; Ramos-Guivar, J.A. Biosynthesis and Characterization of Iron Oxide Nanoparticles Using *Chenopodium quinoa* Extract. *Nanomaterials* **2024**, *14*, 1607. [https://doi.org/10.3390/nano14191607]

Anexo D

Capacitación en FTIR



CERTIFICATE

Anton Paar

Este documento Certifica que:

Mercedes del Pilar Marcos Carrillo

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS (Grupo de investigación de Nanotecnología aplicada para biorremediación ambiental, energía, biomedicina y agricultura – NANOTECH), Lima, Perú

Atendió la capacitación del Instrumento
Infrarrojo transformado de Fourier, FTIR

Fecha **23 septiembre del 2024**

La persona nombrada anteriormente cursó satisfactoriamente la capacitación en el uso del instrumento
FTIR, LYZA 7000

Tiempo de capacitación: 2 horas

Alan Pérez
Gerente General
Anton Paar Perú SAC