Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Química e Ingeniería Química
Escuela Profesional de Ingeniería Química

Biosíntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de zinc a partir de *gentianella tristicha* para un potencial uso como nano fertilizante

TESIS

Para optar el Título Profesional de Ingeniera Química

AUTOR

Fatimah Nery JACINTO RODRIGUEZ

ASESOR

Dra. María Verónica CARRANZA OROPEZA

Dr. José Vulfrano GONZÁLEZ FERNÁNDEZ (coasesor)

Lima, Perú

2024



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

Jacinto, F. (2024). *Biosíntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de zinc a partir de gentianella tristicha para un potencial uso como nano fertilizante*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química, Escuela Profesional de Ingeniería Química]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios del autor/asesor

Datos del autor	
Nombres y apellidos	Fatimah Nery Jacinto Rodriguez
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	73542894
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0005-7537-6760
Datos del asesor	
Nombres y apellidos	María Verónica Carranza Oropeza
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10727849
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-2379-1637
Datos del Co-asesor	
Nombres y apellidos	José Vulfrano González Fernández
Tipo de documento	CARNET EXTRANJERIA
Número de documento de identidad	003507591
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-0351-0914
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Leoncio Reyna Mariñas
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	06020987
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Waldir Desiderio Estela Escalante
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09548299
Datos de investigación	

Línea de investigación	Nanomateriales
Grupo de investigación	Nuevos materiales y Biotecnología
Agencia de financiación	PCONFIG 2021 (N°Contrato: C21071871) PINTERDIS 2021 (N°Contrato: B2113003i) CONCYTEC-PROCIENCIA (N°Contrato: PE501078977-2022)
Ubicación geográfica de la investigación	País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Latitud: -12.0621065 Longitud: -77.0365256
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2021-2024
URL de disciplinas OCDE	Nano-materiales http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.10.01

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, Decana de América)
FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los suscritos Miembros del Jurado Evaluador de Sustentación de Tesis, nombrados por la Dirección de la Escuela Profesional de Ingeniería Química, bajo la Presidencia del **Mg. LEONCIO REYNA MARIÑAS**, el Dr. **ESTELA WALDIR DESIDERIO ESCALANTE** (Miembro Revisor) y la **Dra. MARÍA VERÓNICA CARRANZA OROPEZA** (Asesora), habiendo presentado para el efecto la Tesis titulada:**"BIOSÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC A PARTIR *DE GENTIANELLA TRISTICHA* PARA UN POTENCIAL USO COMO NANO FERTILIZANTE"**, después de sustentar de manera presencial y **habiendo aprobado la Tesis** elaborada por la Bachiller en Ingeniería Química**: FATIMAH NERY JACINTO RODRIGUEZ**, para optar el Título Profesional de **INGENIERA QUÍMICA,** el Jurado Evaluador acuerda calificarla con la **NOTA** de:

DIECIOCHO 18
(LETRAS) (NÚMEROS)

Lima, 28 de junio de 2024

Mg. LEONCIO REYNA MARIÑAS
Presidente

Dr. WALDIR DESIDERIO ESTELA ESCALANTE
Miembro

Dra. MARÍA VERÓNICA CARRANZA OROPEZA
Asesora

Dr. RUBEN ALFREDO PALOMINO INFANTE
Director de la EPIQ.

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE
SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, MARIA VERONICA CARRANZA OROPEZA en mi condición de asesora acreditado con la Resolución Decanal N° 000483-2024-D-FQIQ/UNMSM de la tesis, cuyo título es "BIOSÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC A PARTIR DE GENTIANELLA TRISTICHA PARA UN POTENCIAL USO COMO NANO FERTILIZANTE", presentada por la bachiller Fatimah Nery Jacinto Rodriguez para optar el título Profesional de Ingeniera Química, 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 la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el 15% 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 título correspondiente.

Lima, 18 de junio de 2024

Firma del Asesora _____

Nombres y Apellidos de la asesora: Maria Veronica Carranza Oropeza

DNI : 10727849

Dedicado a mis amados padres
Raul y Nery, mis hermanos
Renzo y Raulito, mi abuelita
Justina, Diego y mis gatos.

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a la Dra. María Verónica Carranza Oropeza por su asesoría; y al Dr. José Vulfrano González Fernández por su co-asesoría. A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por el soporte académico durante todo el periodo de mi formación profesional y por el financiamiento parcial de esta tesis a través de los proyectos PCONFIG 2021 con código C21071871 y PINTERDIS 2021 con código B2113003i. También, a CONCYTEC y PROCIENCIA por el financiamiento parcial de la investigación dentro del esquema financiero E041-2022-04, denominado "Proyectos de Desarrollo Tecnológico" a través del contrato PE501078977-2022. Así mismo, mi agradecimiento al Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales, CITBM, y sus directivos por permitirme usar su infraestructura y equipamientos para experimentar, convivir y hacerme parte del grupo de investigación interdisciplinario. Dicho centro de investigación es aquel lugar donde la química y la física conviven, pero también el compañerismo, la amistad y la integración. Finalmente, agradecer al Dr. José Castañeda, Lic. Manuel Torres y Lic. Fred Montalvo por su gran apoyo con la caracterización del material sintetizado en este trabajo.

Tabla de Contenido

1. Resumen 20

2. Introducción 21

2.1 Situación problemática y planteamiento del problema de investigación 21

2.2 Justificación 31

2.2.1 Justificación tecnológica 31

2.2.2 Justificación social 31

2.2.3 Justificación Ambiental 32

2.3.1 Hipótesis general 33

2.3.2 Hipótesis específicas 33

2.4 Objetivos 34

2.4.1 Objetivo general 34

2.4.2 Objetivos específicos 34

2.5 Antecedentes 35

2.6 Estado del arte 39

3. Principios teóricos 57

3.1 Óxido de zinc 57

3.2 Nanopartículas 60

3.3 Nanopartículas de óxido de zinc 61

3.4 Agente quelante 62

3.5 Extracto de planta 65

3.6 Determinación de la cantidad de polifenoles totales 66

3.7 Determinación de la cantidad de flavonoides totales 68

3.8 Determinación de la actividad antioxidante total 69

3.9 Biosíntesis usando plantas 71

3.10 Mecanismo de reacción de la síntesis de nanopartículas de óxido de zinc73

3.11 *Gentianella tristicha* 78

3.12 Dispersión dinámica de luz (DLS) 80

3.13 Tamaño de partícula 82

3.14 Espectrofotometría UV-Visible 83

3.15 Potencial Z 85

3.16 Difracción por rayos X (DRX) 87

3.17 Microscopía electrónica de barrido (SEM) 88

3.18 Espectroscopía de energía dispersiva (EDS) 89

4. Procedimientos experimentales 90

4.1 Adquisición y preparación de la materia orgánica 90

4.2 Preparación del extracto de la planta y determinación de la capacidad antioxidante 91

4.2.1 Determinación de polifenoles totales 92

4.2.2 Determinación de flavonoides totales 93

4.2.3 Determinación de actividad antioxidante total 94

4.3 Síntesis de NPs de ZnO y tratamiento térmico 97

5. Resultados 99

5.1 Adquisición y preparación de la materia orgánica 99

5.2 Preparación del extracto de la planta 102

5.3 Determinación de polifenoles totales del extracto de *Gentianella tristicha* 103

5.4 Determinación de flavonoides totales del extracto de *Gentianella tristicha* 106

5.5 Determinación de la capacidad antioxidante total de la *Gentianella tristicha* 109

5.6 Síntesis de nanopartículas de ZnO 112

5.7 Tratamiento térmico 113

5.8 Nanopartícula de ZnO de grado comercial 129

5.8.1 Espectro UV-Visible 130

5.8.2 Análisis DLS (tamaño se partícula) 131

5.8.3 Análisis potencial Z 132

5.8.4 Análisis DRX 132

5.9 Análisis por espectrofotometría UV-Vis de las NPs de ZnO sintetizadas 134

5.10 Análisis del tamaño de partícula por DLS 143

5.11 Potencial Z 149

5.12 Análisis DRX.....156

5.13 Microscopía electrónica de barrido (SEM) 170

5.14 Análisis por dispersión de energía de rayos X(EDS) 176

6. Discusión de resultados.....183

6.1 Preparación de la materia orgánica.....183

6.2 Extracto de *Gentianella tristicha*.....184

6.3 Determinación de polifenoles totales del extracto de *Gentianella tristicha* 184

6.4 Determinación de flavonoides totales del extracto de *Gentianella tristicha* 187

6.5 Determinación de la actividad antioxidante total del extracto de *Gentianella tristicha* 189

6.6 Síntesis y tratamiento térmico de nanopartículas de óxido de zinc.....191

6.7 Espectroscopia UV-Visible 203

6.8 DLS: tamaño de partícula promedio.....209

6.9 Potencial Z.....214

6.10 Difracción de Rayos X 218

6.11 Microscopía electrónica de barrido (SEM) 224

6.12 Espectroscopía de energía dispersada (EDS) 226

6.13 Aplicación potencial a la agricultura 228

7. Gráficos de superficie de respuesta 235

7.1 Análisis por espectrofotometría UV-Vis 236

7.2 Análisis del potencial Z 240

7.3 Análisis del tamaño de cristalito por difracción de rayos X 244

8. Conclusiones 248

9. Recomendaciones 250

10. Referencias 251

11. Anexo 274

Lista de Ecuaciones

Ecuación (1) *Porcentaje de inhibición del DPPH* 94

Ecuación (2) *Porcentaje de inhibición* 95

Ecuación (3) *Ecuación de la recta de calibración con el estándar de ácido gálico* 104

Ecuación (4) *Ecuación de la recta de calibración con el estándar de quercetina* 107

Ecuación (5) *Ecuación de la recta de calibración con el estándar de Trolox* 110

Ecuación (6) Ecuación simplificada de la síntesis química de NPs de ZnO 128

Ecuación (7) *Ecuación de Scherrer* 133

Ecuación (8) Ecuación de la superficie de respuesta de la longitud de onda 238

Ecuación (9) Ecuación de la superficie de respuesta del Potencial Z 242

Ecuación (10) Ecuación de la superficie de respuesta del tamaño de cristal 246

Lista de Diagramas

Diagrama 1 *Preparación de la materia orgánica.* 91

Diagrama 2 *Proceso de preparación de la planta y evaluación de la capacidad antioxidante* ... 96

Diagrama 3 *Procedimiento de síntesis de NPs de ZnO y tratamiento térmico respectivo* 98

Diagrama 4 *Comparación entre las síntesis que tienen diferencias significativas en la media* . 126

Diagrama 5 *Comparación entre las síntesis que tienen diferencias significativas entre la media de la prueba Dunn-Bonferroni para los resultados del análisis UV-Vis* 143

Diagrama 6 *Comparación entre las síntesis que tienen diferencias significativas entre la media de la prueba Dunn-Bonferroni para los resultados del análisis del Potencial Z.* 154

Diagrama 7 *Comparación entre las síntesis que tienen diferencias significativas entre la media de la prueba Dunn-Bonferroni para los resultados del análisis DRX.* 164

Lista de Figuras

Figura 1 *Estructura de la wurtzita óxido de zinc. Barzinyi & Azees (2020).* 59

Figura 2 *Reacción entre el ácido gálico y el reactivo Folin- Ciocalteu (Munos et al., 2017).*.....68

Figura 3 *Formación de complejos de las flavonas con el tricloruro de aluminio (Valenzuela-Bustamante, 2015)*.....68

Figura 4 *Reacción del oxidante DPPH (Brand et al., 1995)* 70

Figura 5 *Reacción de reducción del DPPH (Brand et al., 1995)* 71

Figura 6 *Mecanismo de reacción de diferentes partes de la Moringa oleifera Ngom et al. (2020)* 74

Figura 7 *Mecanismo de reacción de ZnO. Thi et al. (2020)* 75

Figura 8 *Mecanismo de reacción mediante el método quelante y la bioreducción. (Bandeira et al.,2020)* 76

Figura 9 *Mecanismo de reacción propuesto para la biosíntesis de NPs de ZnO a partir de Moringa oleífera.* 77

Figura 10 *Mecanismo de reacción para la síntesis de NPs de ZnO a partir de Camelia sinensis* 78

Figura 11 *Distribución de Gentianella canoi S.J Castillo & J.S Pringle, G. gilgiana (Reimers) Fabris ex. J.S Pringle, G. tristicha (Gilg) J.S. Pringle.- Castillo y Pringle (2018)*.....79

Figura 12 Esquema del potencial Z. Nicomp®(2024) 85

Figura 13 *Limpieza y secado de la planta Gentianella tristicha* 102

Figura 14 *Preparación del extracto de la planta Gentianella tristicha*.....103

Figura 15 *Síntesis de nanopartículas de óxido de Zinc*.....113

Figura 16 *Resultados de la síntesis de NPs de ZnO en las diferentes fases del tratamiento térmico*.....114

Figura 17 *Etapa final de la elaboración de NPs de ZnO*.....115

Figura 18 *Nomenclatura de las distintas síntesis desarrolladas* 116

Figura 19 *Empaque con información de las nanopartículas comerciales* 130

Figura 20 *Análisis topológico de la muestra 01HE01* 171

Figura 21 *Análisis topológico de la muestra 01HE02* 172

Figura 22 *Análisis topológico de la muestra 01HE03* 172

Figura 23 *Análisis topológico de la muestra 01HE04* 173

Figura 24 *Análisis topológico de la muestra 01HE05* 173

Figura 25 *Análisis topológico de la muestra 01HE06* 174

Figura 26 *Análisis topológico de la muestra 01HE07* 175

Figura 27 *Análisis topológico de la muestra 01HE08* 175

Figura 28 *Análisis topológico de la muestra 01HE09* 176

Lista de tablas

Tabla 1 *Capping agents y estabilizadores frecuentemente utilizados en la síntesis de NPs de ZnO. Naveed et al. (2017)* 23

Tabla 2 *Gentianella canoi S.J Castillo & J.S Pringle sp. nov. (Gentianaceae), una nueva especie del Perú. Castillo y Pringle (2018)* 80

Tabla 3 *Rendimiento entre el peso bruto de la planta y el peso neto de la planta* 99

Tabla 4 *Tratamiento estadístico de Shaphiro-Wilk para determinar el tipo de distribución de los datos.* 100

Tabla 5 *Estadísticos descriptivos de Peso bruto, Peso Neto y Rendimiento.* 101

Tabla 6 *Concentración de los estándares y absorbancia para la medida de polifenoles totales* 104

Tabla 7 *Concentración de polifenoles totales en el extracto de Gentianella tristicha* 105

Tabla 8 *Prueba de normalidad para los datos de absorbancia para la determinación de polifenoles totales* 105

Tabla 9 *Estadísticos descriptivos para la absorbancia de polifenoles totales.* 106

Tabla 10 *Concentración del estándar de quercetina y absorbancia resultante*.....107

Tabla 11 *Concentración de flavonoides en el extracto de Gentianella tristicha* 108

Tabla 12 *Prueba de normalidad para los datos de absorbancia para la determinación de flavonoides* 108

Tabla 13 *Estadísticos descriptivos para los valores de absorbancia de flavonoides totales*.....109

Tabla 14 *Concentración de Trolox y absorbancia resultante*.....110

Tabla 15 *Absorbancia para la actividad antioxidante para el extracto de Gentianella tristicha* 111

Tabla 16 *Prueba de normalidad para los datos de absorbancia de la actividad antioxidante* ..111

Tabla 17 *Estadísticos descriptivos para la absorbancia de actividad antioxidante total.*.....112

Tabla 18 *Parámetros para los nueve tipos 9 síntesis de nanopartículas de óxido de zinc.* 116

Tabla 19 *Diseño factorial de los experimentos realizados* 117

Tabla 20 *Masa de la sal precursora y peso de nanopartícula de la síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09*.....117

Tabla 21 *Estadísticos descriptivos para la masa de la sal precursora* $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ *utilizadas para la preparación de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09* 118

Tabla 22 *Estadísticos descriptivos para las masas de nanopartículas de óxido de zinc obtenidos de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.*.....119

Tabla 23 *Prueba de normalidad para datos de masas obtenidos de nanopartículas* 120

Tabla 24 *Estadístico de Levene para determinar homogeneidad de varianzas*.....121

Tabla 25 *Análisis ANOVA para las masas obtenidos de las partículas de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09* 122

Tabla 26 *Análisis de Kruskal- Wallis para las masas de las NPs de ZnO de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09* 123

Tabla 27 *Comparación de tipos de síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 mediante la prueba post-hoc Dunn-Bonferroni* 124

Tabla 28 *Rendimiento de ZnO con respecto a la masa del* $[Zn(NO_3)_2].6H_2O$ *(mg) de entrada y las NPs ZnO(mg) a la salida del proceso* 129

Tabla 29 *Resultado de análisis por difracción de rayos X para la nanopartícula comercial de ZnO* 133

Tabla 30 *Longitud de onda donde se da la máxima intensidad en el barrido UV-Visible de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.* 135

Tabla 31 *Prueba de normalidad para la longitud de onda donde se presenta la máxima absorbancia.* 135

Tabla 32 *Estadísticos descriptivos para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09* 136

Tabla 33 *Prueba de Levene para los datos de las longitudes de onda donde ocurren las máximas absorbancias para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09* 138

Tabla 34 *Prueba ANOVA de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09* 139

Tabla 35 *Análisis de Kruskal- Wallis para los pesos de las NPs de ZnO de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.* 140

Tabla 36 *Comparación de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 mediante el método post-hoc Dunn Bonferroni.* 141

Tabla 37 *Diámetro de partícula hidrodinámico de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09*.....144

Tabla 38 *Estadísticos descriptivos para los datos de diámetro hidrodinámico medido por DLS de las reacciones HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09* 144

Tabla 39 *Prueba de normalidad para los diámetros de partícula de la síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09*.....145

Tabla 40 *Cálculo del estadístico Levene para determinar la homogeneidad de varianza de los datos de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09* 146

Tabla 41 *Análisis ANOVA de los diámetros de partícula de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09* 147

Tabla 42 *Tamaño promedio de las 3 repeticiones de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09* 148

Tabla 43 *Potencial Z promedio de las nueve síntesis distintas con tres repeticiones*.....149

Tabla 44 *Estadísticos descriptivos para los datos de Potencial Z obtenidos de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09* 150

Tabla 45 *Prueba de normalidad para los datos de Potencial Z de la síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09*.....151

Tabla 46 *Pruebas de Kruskal-Wallis para los datos de potencial Z de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09*.....151

Tabla 47 *Comparación de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 mediante el método post-hoc Dunn Bonferroni.* 153

Tabla 48 *Promedio de los datos de potencial Z de las 3 repeticiones de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09*.....155

Tabla 49 *Tamaño de cristalito de las síntesis de nanopartículas de óxido de Zinc provenientes de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09* 159

Tabla 50 *Estadísticos descriptivos para el tamaño de cristalito de las nanopartículas provenientes de la síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09*.....159

Tabla 51 *Prueba de normalidad realizada a los datos de tamaño de cristalito provenientes de las síntesis de NPs de ZnO HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09*.....160

Tabla 52 *Estadístico de Levene para el conjunto de datos de tamaño de cristalito obtenidos de las síntesis de NPs de ZnO HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09* 161

Tabla 53 *Prueba de Kruskal-Wallis para los datos de tamaño de cristalito de NPs de ZnO obtenidos de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09* 161

Tabla 54 *Comparación de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 mediante el método post-hoc Dunn Bonferroni.* 163

Tabla 55 *Variación del tamaño de cristalito promedio con respecto a los parámetros de temperatura y concentración de la sal.* 170

Tabla 56 *Análisis elemental de la muestra 01HE01* 177

Tabla 57 *Análisis elemental de la muestra 01HE02* 177

Tabla 58 *Análisis elemental de la muestra 01HE03* 178

Tabla 59 *Análisis elemental de la muestra 01HE04* 179

Tabla 60 *Análisis elemental de la muestra 01HE05* 179

Tabla 61 *Análisis elemental de la muestra 01HE06* 180

Tabla 62 *Análisis elemental de la muestra 01HE07* 181

Tabla 63 *Análisis elemental de la muestra 01HE08* 181

Tabla 64 *Análisis elemental de la muestra 01HE09* 182

Tabla 65 *Estimación de los costos de energía de los equipos utilizados en la fabricación de NPs de ZnO* 230

Tabla 66 *Costo estimado de los materiales utilizados para la elaboración de NPs de ZnO* 231

Tabla 67 *Factores (temperatura (°C) y concentración(g/mL)) y sus respectivas variables de respuesta en un modelo aleatorio en un modelo aleatorio* 236

Tabla 68 *Estadísticos de ajuste con respecto a los datos obtenidos mediante espectrofotometría UV-Vis* 238

Tabla 69 *Análisis de varianza con respecto a los datos obtenidos mediante espectrofotometría UV-Vis* 239

Tabla 70 *Estadísticos de ajuste con respecto a los datos obtenidos mediante el análisis de potencial Z* 242

Tabla 71 *Análisis de varianza con respecto a los datos obtenidos mediante Potencial Z* 243

Tabla 72 *Estadísticos de ajuste con respecto a los datos obtenidos mediante la difracción de rayos X* 246

Tabla 73 *Análisis de varianza con respecto a el tamaño de cristal obtenidos mediante DRX* ... 247

Lista de gráficas

Gráfica 1 *Curva de calibración con el estándar de ácido gálico para determinar el contenido de polifenoles totales* 104

Gráfica 2 *Curva de calibración del estándar de quercetina para la determinación de flavonoides totales* 107

Gráfica 3 *Curva de calibración con el estándar Trolox para determinar la actividad antioxidante* 110

Gráfica 4 *Masa promedio obtenido de las NPs de ZnO (mg) en función a la masa promedio de la sal precursora $[Zn(NO_3)_2].6H_2O$ (mg) empleada en la síntesis HE01, HE02 y HE03 a 400°C* . 127

Gráfica 5 *Masa obtenido de las NPs de ZnO (mg) en función a la masa promedio de la sal precursora [$Zn(NO_3)_2$].6H_2O (mg) empleada en la síntesis HE04, HE05 y HE06 a 500°C* 127

Gráfica 6 *Masa promedio obtenido de las NPs de ZnO (mg) en función a la masa promedio de la sal precursora [$Zn(NO_3)_2$].6H_2O (mg) empleada en la síntesis a 600°C* 128

Gráfica 7 *Espectro Uv-Vis de las nanopartículas de óxido de zinc de grado comercial*.....131

Gráfica 8 *Espectro de difracción de rayos X de las NPs de ZnO de grado comercial comparado con el patrón de ZnO*.....133

Gráfica 9 *Espectro UV-Visible de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09* 134

Gráfica 10 *Variación del tamaño de partícula con respecto a la temperatura de calcinado y la concentración de Nitrato de Zinc hexahidratado.* 148

Gráfica 11 *Variación del tamaño del potencial Z con respecto a la temperatura de calcinado y la concentración de Nitrato de Zinc hexahidratado* 156

Gráfica 12 *Espectro DRX de las síntesis de nanopartículas de óxido de zinc HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09*.....158

Gráfica 13 *Difractograma de la síntesis HE01 y* la ficha de Zincita #96-900-4179 165

Gráfica 14 *Difractograma de la síntesis HE01 y* la ficha de Zincita #96-900-4179 166

Gráfica 15 *Difractograma de la síntesis HE01 y* la ficha de Zincita #96-900-4179 166

Gráfica 16 *Difractograma de la síntesis HE01 y* la ficha de Zincita #96-900-4179 167

Gráfica 17 *Difractograma de la síntesis HE01 y* la ficha de Zincita #96-900-4179 167

Gráfica 18 *Difractograma de la síntesis HE01 y* la ficha de Zincita #96-900-4179 168

Gráfica 19 *Difractograma de la síntesis HE01 y* la ficha de Zincita #96-900-4179 168

Gráfica 20 *Difractograma de la síntesis HE01 y* la ficha de Zincita #96-900-4179 169

Gráfica 21 *Difractograma de la síntesis HE01 y* la ficha de Zincita #96-900-4179 169

Gráfica 22 *Relación del tamaño de cristalito de la nanopartícula de óxido de zinc, temperatura de recocido y concentración de la sal de zinc*.....170
Gráfica 23 *Identificación del Zn y O en la muestra 01HE01*.....177
Gráfica 24 *Identificación del Zn y O en la muestra 01HE02*.....178
Gráfica 25 *Identificación del Zn y O en la muestra 01HE03*.....178
Gráfica 26 *Identificación del Zn y O en la muestra 01HE04*.....179
Gráfica 27 *Identificación del Zn y O en la muestra 01HE05*.....180
Gráfica 28 *Identificación del Zn y O en la muestra 01HE06*.....180
Gráfica 29 *Identificación del Zn y O en la muestra 01HE07*.....181
Gráfica 30 *Identificación del Zn y O en la muestra 01HE08*.....182
Gráfica 31 *Identificación del Zn y O en la muestra 01HE09*.....182
Gráfica 32 *Gráfico de contorno de los datos de longitud de onda donde se presenta la máxima absorbancia obtenido mediante espectrofotometría UV-Vis de las NPs de ZnO* 237
Gráfica 33 *Gráfico de superficie de los datos centrales y extremos de longitud de onda donde se presentó la máxima absorbancia obtenido mediante espectrofotometría UV-Vis.*.....238
Gráfica 34 *Gráfico de contorno de los datos de Potencial Z de las NPs de ZnO*.....241
Gráfica 35 *Gráfico de superficie de los datos centrales y extremos de Potencial Z de las NPs de ZnO*.....242
Gráfica 36 *Gráfico de contorno de los datos de tamaños de cristal obtenidos mediante difracción de rayos X* 245
Gráfica 37 *Gráfico de superficie de los datos centrales y extremos del tamaño de cristal de las NPs de ZnO* 246

Abreviaturas:

- NPs de ZnO: Nanopartículas de óxido de zinc
- DPPH: 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo
- GT: *Gentianella tristicha*
- EGT: Extracto de *Gentianella tristicha*

1.Resumen

Las nanopartículas de óxido de zinc tienen diversos usos en diferentes campos del conocimiento. Sin embargo, uno de los principales problemas de este nanomaterial es la forma de sintetizarlo, pues muchos métodos tienen un alto impacto en el medio ambiente. Es por ello que se buscan alternativas de síntesis con menos impacto en los ecosistemas y sean sostenibles a largo plazo. En ese contexto, el objetivo de este estudio es sintetizar de manera óptima partículas de óxido de zinc a escala nanométrica a partir de *Gentianella tristicha*, una planta nativa del Perú, determinar sus propiedades fisicoquímicas y evaluar su potencial su aplicación como nanofertilizante para cultivos de *Zea mays*. Para ello, se utiliza la denominada síntesis verde, en donde se emplea el extracto de la planta y se hace reaccionar con una sal precursora, nitrato de zinc hexahidratado; luego se somete a una calcinación y se obtiene el polvo gris blanquecino característico de las nanopartículas. Para optimizar esta síntesis que permita obtener óxido de zinc (ZnO) con características adecuadas para su uso como nanofertilizante se estudiaron 2 parámetros de la síntesis a través de un diseño factorial de 3^k (k=2) con tres repeticiones: concentración inicial de la sal precursora que vario entre 0.04, 0.06 y 0.08 g de $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ por cada mL de extracto de *Gentianella tristicha* y la temperatura de calcinación que vario entre 400 °C, 500 °C y 600 °C. Las partículas resultantes fueron analizadas en sus propiedades físicoquímicas de pico de absorbancia, diámetro hidrodinámico, estabilidad coloidal, tamaño de partícula y composición elemental a través de la espectrofotometría UV-Vis, dispersión de luz dinámica (DLS), análisis de potencial Z, difractometría de rayos X (DRX), microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopía de energía dispersiva (EDS), respectivamente. Finalmente, Los resultados obtenidos indicaron que los parámetros adecuados para la síntesis de

nanopartículas de ZnO fueron de 0.08 g de $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ por cada mL de extracto de *Gentianella tristicha* y 600°C de temperatura de calcinación para obtener 4032.9 mg de nanopartículas de ZnO con una longitud de onda máxima de 381 nm, diámetro hidrodinámico 50.2 nm, potencial Z con un valor de -34.7 mV, tamaño de cristalito de 28.4 nm, un difractograma acorde con el ZnO, forma esférica, un porcentaje atómico de 38.8% de O y 61.2% de Zn y un porcentaje en peso de 13.4% de O y 86.6% de Zn, además se estimó de forma preliminar que para fertilizar 1 Ha de cultivo de *Zea mays* se necesita una cantidad de 16.5 g de NPs de ZnO con un costo de S/80.00.

2.Introducción

2.1 Situación problemática y planteamiento del problema de investigación

En las últimas décadas, con el afloramiento de la nanotecnología se han diversificado las rutas de síntesis de óxidos metálicos de tamaño nanométrico; producto de ello, la síntesis de nanopartículas de óxido de zinc por métodos químicos y físicos convencionales están provocando un gran impacto en el medio ambiente.

Nasrollahzadeh et al (2015) manifestaron que los métodos de síntesis química de NPs incluyen: método de extracción de un solvente en emulsión, método de doble emulsión y evaporación, método de emulsión y difusión y método del desplazamiento/ precipitación del solvente. En consecuencia, la producción a escala industrial de las NPs de ZnO ha conllevado a un nuevo tipo de contaminación en el medio ambiente. Por lo tanto, es preferible reducir la carga de residuos químicos contaminantes para lograr

superar a las desventajas de los métodos de síntesis, incrementar el rendimiento y reducir costos en el proceso.

Por su lado, Naveed et al. (2017) describen el dilema de la ecotoxicidad involucrado en el proceso de síntesis de NPs de ZnO, en este artículo se menciona que las rutas sintéticas para poder elaborar dicho nanomaterial hacen uso de una gran cantidad de químicos y rigurosas condiciones de reacción que contribuyen a la contaminación ambiental en términos de: alto consumo de energía, generación de calor, consumo de agua y residuos químicos. De igual forma, establecen una comparación entre los contaminantes y peligros que son generados de los métodos químicos, físicos y biológicos usados para la síntesis de NPs de ZnO de donde concluyen que la síntesis química se reafirma en un extenso consumo de reactivos químicos, lo cual es extenuante para el medio ambiente pues se contribuye a los residuos generados por el ser humano. A la vez, se mencionan las limitaciones y desventajas provenientes de este tipo de síntesis que pueden ser sobrellevadas con innovadoras técnicas de síntesis que conllevan un menor impacto en el medio ambiente. Es por ello que este artículo da un enfoque a las técnicas eco-amigables de síntesis de ZnO, especialmente los métodos biológicos que son menos dañinos comparados a los métodos utilizados actualmente, las denominadas síntesis verdes de NPs de ZnO (procesos que emplean plantas, microbios, hongos y residuos) ofrecen mecanismos de síntesis relativamente libres de contaminación para obtener las características deseadas del producto final e incrementar la tasa de producción del proceso.

Naveed et al. (2017) enfatizan que la síntesis verde necesita ser optimizada en términos de mecanismos de reacción y técnicas de preparación para incrementar la calidad de las características finales de las NPs de ZnO y el rendimiento del proceso. Así

mismo, los autores ratificaron que muchos de los reactivos químicos utilizados en los procesos de síntesis de las NPs de ZnO están presentes en las listas de productos químicos peligrosos y en los límites máximos permisibles en el medio ambiente en la mayoría de los países.

De acuerdo con Raveendran et al. (2003), los tres factores más importantes en la síntesis química a escala industrial que se deben tener en cuenta para salvaguardar la sostenibilidad del proceso son: el solvente, el agente reductor y un material no tóxico para la estabilización de la reacción.

Del mismo modo, Tanner et al. (2015) manifestaron que en la síntesis química los agentes de terminación de cadena (capping agents) y estabilizadores son extensamente usados para controlar el tamaño de partícula y evitar la aglomeración en la reacción.

Zhou et al. (2015) postularon que, sumado a la toxicidad inherente, los agentes de terminación de cadena orgánicos e inorgánicos, los cuales son ampliamente utilizados en la síntesis química de las NPs de ZnO, están contribuyendo a la contaminación de ecosistemas; dichos autores estudiaron el efecto de las superficies no modificadas y modificadas de NPs de ZnO en el animal *Danio rerio.* En este experimento se concluyó que existe una diferencia significativa en el nivel de toxicidad de las NPs de ZnO modificadas y sin modificar sobre el *Danio rerio*.

La toxicidad de algunos de los *capping agents* más utilizados son mencionados en la tabla a continuación:

Tabla 1
Capping agents y estabilizadores frecuentemente utilizados en la síntesis de NPs de ZnO. Naveed et al. (2017)

Capping agent / estabilizador	Toxicidad inherente
Trietil amina	Efectos oculares que incluyen hinchazón corneal en humanos.
Ácido oleico	Promueve la apoptosis y necrosis mitocondrial, despolarización, acumulación de lípidos y sobreexpresión del gen C-MYC y P53.
Tioglicerol	Es irritante para la piel, los ojos y al ser inhalado. Peligroso en caso de ingestión.
EDTA	Citotóxico y genotóxico.
Tetraetil amoniobromida	Produce temblores, descoordinación, prestación flácida, y muerte producto de un fallo respiratorio en animales.
Tetraetil ortosilicato	Alto daño a los ojos.
Polietilen glicol (PEG)	Inmunogénico.
Polietile ftalato (PEP)	Irruptor hormonal.
Etilen glicol	Efector adversos en la reproducción y el desarrollo.
Gelatina	Tóxico.
Alcohol polivinílico (PVA)	Tóxico.
Polyvinil pirrolidina (PVP)	Incremento de peso en ratones de laboratorio.

Como se describió anteriormente, muchos de los métodos de síntesis de NPs de ZnO utilizan un agente reductor para reducir la sal y para potenciar el medio de reacción, bien a un medio básico o ácido. El método de coprecipitación es el más sencillo y ampliamente usado para la síntesis de este nanomaterial. Para ilustrar, Naveed et al. (2017) mencionan que el método de coprecipitación emplea principalmente hidróxido de sodio (NaOH) como agente reductor, el cual es altamente corrosivo y degrada todo tipo de proteínas. Así mismo, se menciona que el NaOH es exotérmico y puede causar daños por quemadura o ignición. En contacto con metales, se produce hidrógeno inflamable. También, Naveed et al. (2017) sostienen que se utilizan grandes cantidades de NaOH en

la síntesis de las NPs de ZnO con el fin de asegurar que la reacción se lleve al cabo hasta el final. Agregado a ello, en la filtración de la mezcla de reacción, el flotante es descartado y va directamente a las aguas residuales para terminar en distintos cuerpos acuáticos. En última instancia, no solo se degradan las partes metálicas del sistema de drenaje, sino que también se altera el pH de los cuerpos de agua, causando daños a la flora y fauna acuática.

A continuación, se describirán los daños causados por reactivos químicos mayormente utilizados en la síntesis de NPs de ZnO.

La hidracina usada para la síntesis de NPs de ZnO es un álcali altamente reactivo principalmente utilizado como un agente reductor en la industria. Liu et al. (1974) afirman que este compuesto químico requiere estrictos instrumentos de protección al ser manipulado debido a que puede causar quemaduras en la piel y daños severos en el tracto respiratorio mientras que la sobreexposición a este reactivo puede llevar a la muerte. Lunn et al. (1983) manifiestan que, debido a su potencial corrosivo y su reactividad con un agente oxidante, la hidracina es de gran preocupación ecológica. Los metabolitos producto de la hidracina poseen aún más capacidad de daño que el compuesto en sí mismo.

Rajendram et al. (2006) sugirieron que las exposiciones crónicas al etanol, un reactivo utilizado mayormente en la síntesis por co-precipitación de NPs de ZnO y el lavado de NPs ZnO, puede llevar a la deshidratación, supresión del sistema nervioso central, descoordinación de la sensibilidad y función motriz, pérdida del conocimiento y posible muerte.

Al mismo tiempo, Jacobsen & McMartin (1986) afirmaron que el etilen glicol, un reactivo utilizado usualmente en la síntesis química de NPs de ZnO, en estados iniciales

del metabolismo es responsable de acidosis o intoxicación. Por el contrario, en estados finales se puede acumular el lactato debido al formato inhibido en la cadena respiratoria. Así mismo, Scott et al. (2008) demostraron que altas concentraciones de 1,3 propanodiol, un reactivo empleado en la síntesis química de NPs de ZnO, provocaron intoxicación en ratas de laboratorio.

Por lo que refiere a la sonicación empleada en la síntesis de NPs de ZnO, los sonicadores usan ultrasonido o la energía del sonido para agitar las partículas en la mezcla. La Health, Safety and Environment, Ocupational Safety Unit (2012) expresó que en un laboratorio regular los sonicadores emplean 20 Hz de frecuencia de ultrasonido. Es decir que los mayores daños asociados con el uso del sonicador es la incapacidad auditiva. Así pues, síntesis sonoquímica de las NPs de ZnO ha sido recientemente reportada por diversos grupos de investigación, tales como Zak et al. (2013) y Phonalk et al. (2013).

Taurozzi et al. (2011) describieron distintos parámetros del uso del método sonoquímico para la síntesis de NPs ZnO, además recomendaron que el uso del sonicador debe ser racional debido a los efectos negativos en el sistema auditivo del ser humano cuando no se brinda la atención necesaria.

Con respecto a la variable térmica en la síntesis, el uso de procesos que involucren altas temperaturas está alterando el balance total de calor sobre la tierra, es decir, se incrementa la entropía terrestre. La mayor desventaja de los procesos con altas temperaturas es el consumo de energía. En efecto Edinger et al. (1974) afirman que la exposición a procesos de alta temperatura, pueden causar un edema de calor, erupciones cutáneas por calor, calambres, agotamiento, síncope y golpes por calor en trabajadores y seres vivos expuestos. Por otra parte, se han dado a conocer diversos métodos que involucran altas temperaturas; por ejemplo: Soni & Koser (2015) utilizaron un método

híbrido electroquímico y térmico (60- 700°C), Rana et al. (2010) dieron a conocer un método por condensación de gases (595°C), Prabhu et al. (2013) propusieron un método por descomposición termal a 600 °C, Chang & Tsai (2008) contribuyeron con el método de spray pirólisis (1200°C), y finalmente, Wen et al. (2014) dan indicios de la alta temperatura mezclando procesos hidrotermales (160-200°C).

Adicionalmente, Wang et al. (2002) propusieron un innovador método de bajo costo y fácil manejo. Este enfoque consiste en usar calor de descomposición en estado sólido a baja temperatura, lo cual permite la producción de NPs de ZnO con alta dispersividad, ahorrando recursos en términos energéticos luego se analizaron las propiedades ópticas de las NPs en cuestión. Esta investigación ejemplifica una búsqueda constante de la optimización de recursos disponibles con un fin económico y medioambiental

Finalmente, Ramos (2018) manifestó que, a pesar de las diversas propiedades antimicrobianas de las nanopartículas metálicas, es muy poca la información que existe sobre el uso de dichas NPs en diversos campos, como por ejemplo en cultivos agrícolas para la prevención y control ocasionada por bacterias fitopatógenas.

En relación al valor agregado a una planta oriunda del Perú, Gomez (2011) definió el valor agregado como el valor adicional que adquieren los bienes y servicios al ser transformados durante el proceso productivo, este se estudia desde el enfoque económico (en donde el valor agregado se encuentra en el proceso productivo, de esta manera los bienes y servicios reciben un valor adicional mientras son transformados en su producción) y el enfoque contable (la diferencia del valor entre los precios de mercado y los costes de producción). Así, el autor describe la necesidad de otorgar un valor agregado a la papa *Solanum tuberosum*, la cual es un producto oriundo en el Perú.

Así mismo, Peceros (2016) afirmó que no existe una variación de la demanda de productos del biocomercio con valor agregado, derivados de la biodiversidad nativa, ante la variación del factor precio, y por el contrario si existe una variación ante el factor calidad. Por lo cual se puede deducir que el precio no afecta la demanda mientras de la calidad de un producto sí.

La *Gentianella tristicha* es una planta oriunda del Perú, la cual junto a la *Gentianella thyrsoidea* son denominadas como Hercampuri. Vadillo & Suni (2018) afirmaron que el cultivo de esta planta hasta ahora es extractivo, y además la germinación de estas plantas necesitan de poca luz, finalmente concluyen con la importancia del conocimiento biológico de las especies debido a que esto permite establecer las bases para un manejo sostenible y de conservación. Entonces, se deben encontrar diversas formas de aprovechar este recurso disponible en el Perú. Si bien, la *Gentianella trsiticha* en conjunto con otras especies pertenecientes a esta familia Gentianaceae, han demostrado una efectiva actividad antioxidante [Vasquez (2018), Carbonel et al. (2016), Vasquez et al. (2017)], y reparadora del daño hepático [Delgado (2020), Carbonel (2017)] es importante encontrar otras aplicaciones de las propiedades de dicha planta y el campo de la nanotecnología y la síntesis verde es una potencial área de desarrollo de esta misma.

En relación con la problemática con respecto a la deficiencia de zinc en los suelos de cultivo, Almendros et al. (2008) señaló que una gran cantidad de cultivos se ven afectados por la disminución progresiva de dicho mineral en los suelos; dentro de ellos se encuentran los forrajes, leguminosas, arbustos, frutales, algodón y tabaco. En consecuencia, pueden ocurrir pérdidas de hasta un 30% en la producción de cereales de grano como maíz, trigo y arroz. Sumado a esto, las plantas no presentan síntomas visibles

de estrés ante la deficiencia de dicho mineral. Las deficiencias más notables pueden presentarse en las hojas, que pueden conducir a la pérdida total o parcial de la producción.

Ahmad et al. (2012) indicaron que la deficiencia de zinc es más preocupante en suelos calcáreos/alcalinos, con bajo contenido de carbono, propensos a las sales y que presentan aniegos. Además, afirmaron que el rendimiento de los cultivos mejora en un 120% en trigo, 48% en arroz, 50% en algodón ,18% en maíz, 22% en papa, 30% en alfalfa y 50% en semillas de soya mediante la aplicación de dosis controladas de zinc en distintas presentaciones. Así, al controlar el déficit de zinc en plantas se contribuye mejorar la absorción de zinc en humanos.

Por su parte, Alloway (2009) afirmó que el zinc es esencial para las plantas y los animales debido a que es un constituyente estructural y un regulador en enzimas y proteínas con importante participación en el metabolismo. Así mismo, el autor menciona que diversas hectáreas de cultivo son afectadas por la deficiencia de zinc, y aproximadamente un tercio de la población sufre de una inadecuada ingesta de zinc proveniente de dichos cultivos. Los factores que afectan la disponibilidad de zinc en las plantas son: bajos niveles de zinc en suelos, altos pH, altos niveles de calcita, Na, Mg, Ca, bicarbonatos y fosfatos. El maíz es el cultivo más susceptible a este tipo de deficiencia cuando se encuentra sobre suelos calcáreos o inundados con agua. Cabe destacar que Barbieri et al. (2015) postuló que la disponibilidad del zinc podría limitar el rendimiento del cultivo de maíz.

Con referencia a lo anteriormente expuesto, Taheri et al. (2015) postularon que la suplementación de cultivos puede incrementar el crecimiento de las plantas. Por lo tanto, realizaron un estudio en donde compararon *Zea mays* SC 704 que fueron suplementados con: nanocoloides de ZnO, NPs de ZnO y partículas micrométricas de ZnO. Los

resultados indicaron que; si bien, la implementación de estas 3 formas de ZnO había incrementado el crecimiento de la planta, los mejores resultados se obtuvieron con las NPs de ZnO, incrementando parámetros como materia seca e índice de área foliar en un 63.8% y 69.7% respectivamente.

Un informe del Minagri (2020) sobre el estado del maíz revela que el mayor productor de esta hortaliza es la región Piura (28.3%), seguido de La Libertad (15.9%), este informe concluye reportando que la situación nacional de producción del maíz es preocupante principalmente para los productores medianos y pequeños debido a los bajos costos que reciben por las cosechas, lo cual no cubre los costos de producción, sumado a ello está la desigual competencia del maíz importado que en la mayoría de casos es subsidiado en el lugar de origen. En consecuencia, de esta problemática el gobierno ha iniciado un plan de intervención para dotar de competitividad a dicho sector.

Así pues, en el informe del Minagri (2020) se menciona la innovación agraria como punto importante en el plan de intervención mencionado anteriormente, para finalizar, los nanofertilizantes compuestos por NPs de ZnO se proponen como como alternativa para la mejora de cultivos en el sector agricultura.

En ese contexto, el enfoque principal de este trabajo se centra en seleccionar un tipo de síntesis más amigable con el medio ambiente y evaluar las condiciones de reacción más eficientes para sintetizar ZnO en escala nanométrica, optimizando los recursos, y otorgando valor agregado a una planta oriunda del Perú. Para ello, se propone emplear el extracto de *Gentianella tristicha* como agente reductor y quelante en la síntesis de las NPs de ZnO. Finalmente se evalúa su potencial aplicación en cultivos de *Zea mays* validándola a través del cálculo de costos preliminares.

2.2 Justificación

2.2.1 Justificación tecnológica

Es fundamental estar en búsqueda constante de nuevos tipos de síntesis para elaborar nanopartículas. Jamkhande et al. (2019) afirmó que las nanopartículas son empleadas en diversos campos como la química orgánica e inorgánica, la biología molecular y la física; además, la selección del método de preparación de la nanopartícula metálica es igual de importante pues durante el proceso de síntesis factores como la cinética e interacción de los iones metálicos con agentes reductores influencian de manera notable la morfología y tamaño del producto final. Adicional a ello, es importante aumentar el potencial tecnológico de nuestro país.

Botello-Salinas et al. (2007) señala que la producción de tales óxidos de minerales ha permitido el desarrollo de diferentes métodos de síntesis con el fin de controlar características esenciales como composición química, tamaño y monodispersidad, así mismo, la búsqueda de tecnologías amigables con el medio ambiente ha llevado a los investigadores a aprovechar la biotecnología como una opción viable para la síntesis de estos compuestos.

2.2.2 Justificación social

A medida que se incrementan los estudios de biosíntesis de NPs de ZnO, se incrementa la variedad de plantas y cultivos que pueden ser empleados en dicha síntesis, lo cual puede incentivar y promocionar el cultivo de plantas nativas de una zona a escala familiar, así esta actividad económica se vería revalorizada y representaría ingresos notables para quienes la ejercen. Acosta (2001) sostuvo que la tradición del cultivo doméstico de algunas especies con fines medicinales y diversos existe en diversos países

desde la antigüedad. Estas áreas de cultivo pueden organizarse en parcelas, patios y jardines; todo esto resulta propicio para desarrollar en forma comunitaria. Los huertos caseros tradicionales y familiares son sistemas de cultivo que tienen el potencial de brindar un ingreso económico a diversas unidades familiares en poblaciones rurales. Para ellos se debe enfatizar en la educación ambiental, el desarrollo sostenible, y en la medida de lo posible, fomentar proyectos que puedan desarrollar las comunidades locales.

Así mismo, incrementar y descubrir los nuevos métodos de sintetizar NPs de ZnO eleva el número de aplicaciones que se pueden dar a estas, una de ellas es a los cultivos. Según Méndez et al. (2016) las aplicaciones de la nanotecnología en los sistemas agrícolas son variados, ofreciendo el potencial para mejorar significativamente su productividad y eficiencia al reducir costos y cantidades de agroquímicos aplicados. Las nanopartículas metálicas de óxido de zinc, cobre y hierro, ya sean puras o mezcladas con plata, están siendo estudiadas globalmente por su potencial agrícola como promotores de crecimiento, nanofertilizantes y antimicrobiales. Por lo tanto, mediante un programa social estos cultivos familiares podrían ser beneficiados con NPs de ZnO enfocado a la agricultura y así se podrían incrementar el rendimiento y eficiencia de las cosechas.

2.2.3 Justificación Ambiental

Es de suma importancia determinar los nuevos métodos de síntesis NPs de ZnO pues esto genera alternativas a las síntesis de producción industrial en la actualidad, las cuales poseen un gran impacto en los ecosistemas y medio ambiente pues se emplean distintos reactivos y procesos físicos para este propósito. Como sostienen Naveed et al. (2017) las rutas sintéticas de síntesis de nanopartículas de óxido de zinc están usando una gran cantidad de químicos y rigurosas condiciones de reacción que están contribuyendo a

la contaminación del ambiente en forma de un alto consumo de energía, generación de calor, consumo de agua y desechos químicos. Además, estos investigadores mencionan que se debe hacer un énfasis en técnicas eco amigables para la síntesis de ZnO con profundización en métodos biológicos, los cuales son menos dañinos en comparación con los métodos convencionales.

2.3 Hipótesis

2.3.1 Hipótesis general

La síntesis de nanopartículas de óxido de zinc a partir de extracto de *Gentianella tristicha* y Nitrato de Zinc hexahidratado, produce nanopartículas con características óptimas en tamaño y forma para su potencial aplicación como nanofertilizante.

2.3.2 Hipótesis específicas

- La concentración de 0.08g de Nitrato de zinc hexahidratado/mL de extracto de *Gentianella Tristicha* en la síntesis de la nanopartícula y la temperatura de calcinación de estas de 600°C permite obtener partículas de ZnO menores a 100 nm y con forma esférica.
- Es relevante el efecto de la relación de los factores concentración de la sal Nitrato de zinc hexahidratado y temperatura de calcinación sobre las propiedades de tamaño y forma de las nanopartículas de óxido de zinc sintetizadas a partir del extracto de *Gentianella tristicha*.
- Las nanopartículas de óxido de zinc tienen un elevado potencial como nanofertilizante respaldado por el cálculo de g de NPs ZnO por área de terreno

de cultivo de *Zea mays*, considerando el requerimiento de zinc en un cultivo de maíz.

2.4 Objetivos

2.4.1 Objetivo general

Sintetizar nanopartículas de óxido de zinc a partir de extracto de *Gentianella tristicha* y Nitrato de Zinc hexahidratado con características óptimas de tamaño y forma para su potencial aplicación como nanofertilizante.

2.4.2 Objetivos específicos

- Definir las condiciones óptimas para la síntesis de nanopartículas de óxido de zinc para obtener tamaño medio de partículas menor a 100 nm y forma esférica, evaluando los factores de concentración de la sal Nitrato de zinc hexahidratado por mL extracto de *Gentianella tristicha* (0.04 g/mL, 0.06 g/mL y 0.08 g/mL) y temperatura de calcinación a 400°C, 500°C y 600°C, a través de un diseño factorial 3^k (k = 2).
- Analizar el efecto de la relación de los factores de concentración de la sal Nitrato de zinc hexahidratado y temperatura de calcinación sobre las propiedades de tamaño y forma de las nanopartículas de óxido de zinc sintetizadas a partir del extracto de *Gentianella tristicha* mediante un análisis estadístico.
- Evaluar el potencial de producción de nanopartículas de óxido de zinc sintetizadas a partir del extracto de *Gentianella tristicha* para su uso como

nanofertilizante calculando preliminarmente el costo de NPs de ZnO que se necesita para fertilizar 1 Ha de cultivo de *Zea mays.*

2.5 Antecedentes

A lo largo de los años se ha teorizado en diversas ocasiones sobre la nanotecnología, y aunque años atrás parecía una utopía llegar a los mínimos niveles en la escala de medición, ahora es una realidad tangible y comprobable mediante diversas caracterizaciones. Sanz (2016) señaló que la nanotecnología y nanociencia, ciencia aplicada y ciencia básica respectivamente, se puede definir como el estudio de la manipulación de la materia a escala atómica y molecular. Así mismo, la nanotecnología trata con estructuras cuyos tamaños varían desde 1 hasta 100 nanómetros (el prefijo nano significa una mil millonésima $1x10^{-9}$) en al menos una dimensión, e incluye el desarrollo de nuevos materiales compuestos por dichas estructuras.

Francisco-Escudero et al. (2017) afirmaron que las nanopartículas de óxidos metálicos destacan debido a su alta especificidad con las superficies de contacto y por su elevada fracción de átomos superficiales que un material en estado masivo no presenta, razón por la cual sus propiedades físico-químicas están relacionadas con el tamaño de la partícula, forma y estructura cristalina, se debe tomar en cuenta que el óxido de zinc (ZnO) es un compuesto inorgánico generalmente reconocido como producto de uso seguro con amplias aplicaciones cotidianas.

Las ventajas de las nanopartículas son diversas hoy en día, Jamkhande et al. (2019) argumentaron que el uso de nanopartículas en diferentes campos como la biología molecular, física, química orgánica e inorgánica, medicina y ciencias de los materiales se ha incrementado en los últimos años. La propiedad del área superficial de las

nanopartículas es un factor que influye en las propiedades intrínsecas como fuerza y reactividad de superficie. Así mismo, Jamkhandle et al (2019) señalaron que en la actualidad los investigadores se enfocan en las nanopartículas de metales, nanoestructuras y síntesis de nanomateriales por sus notables propiedades para catálisis, preparación de polímeros, diagnóstico y tratamiento de enfermedades, etc.

Se han presentado diferentes enfoques para la síntesis de nanopartículas, ello depende del objetivo que se quiera alcanzar con estas. Agarwal et al. (2017) sugirió dos enfoques para la síntesis de nanopartículas: bottom up y top-down. El enfoque top-down abarca la molienda y desgaste de grandes partículas de tamaños microscópicos. Esto involucra la sintetización inicial de patrones a gran escala y luego la reducción a la escala nanométrica mediante la denominada deformación plástica. Esta técnica no se puede implementar a la producción a gran escala por que el proceso es lento y costoso. La litografía interferométrica es la técnica más común que aplica en enfoque Top-down para la síntesis de nanomateriales. Esta técnica incluye la síntesis de nanopartículas de componentes previamente miniaturizados mediante el autoensamblaje. Esto abarca la formación por medios químicos y es un enfoque más económico basado en el enfoque del equilibrio termodinámico y cinético.

A lo largo del tiempo, se han presentado diversos procesos y formas de caracterización en cuanto a nanopartículas de óxido de zinc. Por ejemplo, Botello et al. (2007) presentaron los resultados de un trabajo de nanopartículas de sulfuro de zinc por una ruta biotecnológica empleando cepas de hongos (B-1) y *Fusarim sp*. Estos fueron colocados con disoluciones de $ZnSO_4$ a una concentración $10^{-3}M$, con un valor de pH 5. Estos nanocompuestos resultantes fueron caracterizados mediante espectroscopía UV-Vis, electroscopía de fluorescencia y microscopía de fuerza. Los resultados del análisis

espectrofotométrico indicaron el confinamiento cuántico característico de los materiales semiconductores con una distribución de tamaños de partícula en escala nanométrica.

De la misma manera, Selvarajan y Mohanasrinivasan (2013) postularon un método de biosíntesis de NPs de ZnO usando *Lactobacillus plantarum* VITES07, una bacteria probiótica. La morfología, estructura y estabilidad de las NPs de ZnO sintetizadas fueron estudiadas usando XRD, FTIR, SEM, FE-TEM y potencial Z. Los resultados mostraron que las NPs sintetizadas son moderadamente estables, hexagonales, aproximadamente esféricas con un máximo de rango de partículas entre 7-19 nm en diámetro.

Las NPs de ZnO tienen diversas aplicaciones, Ngom et al. (2020) señalaron que, entre las nanopartículas de metales, el óxido de zinc es uno de los más estudiados en estos últimos 15 años debido a su síntesis sencilla por medio físico, químico y biológico. Las técnicas físicas que demostraron más efectividad fueron la ablación laser por pulsación, la epitaxia de haz molecular, la evaporación termal, la deposición química por vapor; de igual manera las técnicas químicas como sol-gel, electrodeposición spray de pirolisis, hidrotermal entre otras que requieren altas temperaturas, presiones y en otros casos solventes nocivos.

En cuanto a las aplicaciones, Aquino (2016) menciona que el óxido de zinc es un polvo blanco muy utilizado en numerosos ámbitos, uno de ellos es en productos cosméticos, como los filtros UV o los colorantes. Generalmente se considera de uso seguro porque no penetra en el cuerpo.

Actualmente, las nuevas tecnologías han permitido el uso de partículas de óxido de zinc de tamaño nanométrico. Las nanopartículas de óxido de zinc y dióxido de titanio en las cremas solares hacen que no tengan ese aspecto blanquecino poco estético que suelen tener estos productos, en otras palabras, se tornan de apariencia transparente, por lo

que la gente repite su aplicación, facilitando así una mayor protección contra los rayos UV.

Zhao et al. (2019) investigaron los efectos individuales y combinados del óxido de zinc, norfloxacina, y sulfamethazina en el lodo anaeróbico asociado a la producción de metano, metabolismo de carbohidratos y la diversidad microbacteriana. La norfloxacina y sulfametazina (500 mg/Kg) no inhibieron la producción de metano, sin embargo, si lograron inhibir su propia tasa de producción. NPs de ZnO junto a los antibióticos mencionados inhibieron la hidrólisis, fermentación y metanogénesis a lo largo de la variación de periodos de digestión. La contaminación con complejos tiene un mayor impacto en la producción de metano que la del ZnO por separado, con una aguda toxicidad sinérgica a la metanogénesis por cortos periodos. Así mismo, la contaminación por complejos tiene efectos variados en la actividad antibacterial durante la gesta de comunidades bacterianas en el lodo. Estos resultados ayudan al entendimiento de la toxicidad de los contaminantes emergentes en el lodo de digestión, con un potencial de la mejora del removimiento de contaminación y reducción de los riesgos asociados.

De la misma manera, Betancour et al. (2016) postularon que la aparición frecuente de microorganismos multirresistentes (bacterias, virus, hongos), ha incrementado el esfuerzo por la búsqueda de materiales antibacterianos, que sean efectivos para su aplicación en áreas tan diversas como la industria textil, alimentación animal, el tratamiento de aguas, industria médica, farmacéutica y cosmética. Por lo tanto, los agentes antibacterianos inorgánicos tales como las nanopartículas de plata, de cobre, de óxido de zinc y de óxido de cobre, han atraído una atención especial a lo largo del tiempo, debido a su estabilidad y a que no presentan problemas de bioseguridad.

Una aplicación con notoriedad para las NPs de ZnO fue estudiada por Helaly et al. (2014) quienes determinaron los efectos de NPs de ZnO en la eliminación de algunas bacterias y contaminantes fúngicos y su influencia en la regeneración sobre la planta Musa paradisiaca. Fueron estudiados nueve tipos de bacterias y cuatro tipos de hongos quienes afectaron al funcionamiento del organismo de la planta *Musa paradisiaca*. Las muestras libres de contaminación de *Musa paradisiaca* se obtuvieron como resultado de la aplicación de NPs de ZnO al medio. El crecimiento del callo de la planta disminuyó mientras que la prolina total, así como actividades metabólicas, aumentaron significativamente cuando aumentaron las dosis de nanopartículas. El mayor porcentaje de embriogénesis somática se observó en el medio suplementado con 100 mg / L de NPs de ZnO. También se observaron plántulas de excelente brote, enraizamiento y regeneración en medios de 100 mg NPs de ZnO/ L. Las plántulas regeneradas se aclimataron con éxito con aproximadamente un 98% de eficiencia durante el período experimental (un mes). Los somaclones tratados con nanopartículas acumularon más prolina, clorofila, actividad de enzimas antioxidantes y desarrollaron más acumulación de peso seco que el control. Se concluyó que, los contaminantes microbianos en el cultivo in vitro de *Musa paradisiaca* pueden eliminarse eficazmente mediante la incorporación de NPs de ZnO y nanopartículas de Zn en medios de cultivo a diferentes concentraciones. A pesar de eso, la dosis de 100 mg/L fue preferible porque mostró los mejores efectos en el aumento de la regeneración de plántulas con sistemas de raíces bien formados.

2.6 Estado del arte

A lo largo de los años, se han sintetizado NPs de ZnO por diferentes métodos, en esta sección del trabajo bibliográfico se presenta una especial revisión a aquellos métodos

que utilizaron alguna planta o derivado, denominado biosíntesis (aunque este término puede referirse para las NPs de ZnO sintetizadas a partir de bacterias u hongos). Para ilustrar, Ngom et al. (2019) sintetizó nanopartículas de ZnO usando extracto de *Moringa oleifera* y analizó las propiedades ópticas y estructurales, se utilizaron los extractos naturales de flores semillas y hojas de la planta *Moringa olifeira* como un agente quelante y oxidante reductor en agentes con nitrato de zinc. Se concluyó que el tamaño promedio del cristalito ZnO-NPs es alrededor de 13.2; 13.9 y 10.8 nm para los NPs de ZnO sintetizado por flores, semilla y hojas, respectivamente.

Matinise et al. (2017) señala que la caracterización adecuada para las nanopartículas sintetizadas a partir de *Moringa oleifera* son variadas técnicas como por ejemplo: voltametría cíclica (CV) , difracción de rayos X (XRD) , transmisión de microscopía electrónica de alta resolución (HRTEM), difracción del área seleccionada del electrón (SEAD), barrido de calorimetría diferencial/análisis de termogravimetría (DSC/TGA), análisis infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) y espectroscopía ultravioleta (UV-Vis).

Por otro lado, cuando las NPs de ZnO se sintetizan con objetivos medicinales las caracterizaciones suelen ser de otro tipo. Thi et al. (2020) realizaron un estudio de síntesis de nanopartículas de ZnO para evaluar la actividad antibacterial, en ella se realiza una caracterización por medio de difracción rayos X para determinar la cristalinidad de las nanopartículas. Adicional a eso se realizó el análisis termogravimétrico (TGA) y la morfología de tamaño de partícula. Finalmente se utilizaron dos bacterias: *S. aureus* y *E. coli* para probar la actividad antibacterial mediante el método de la microdilución de caldo.

De modo similar, Francisco et al. (2017) realizó la síntesis de NPs de ZnO a partir del extracto acuoso del *Opuntla amychalea* (nopal tunero), este fue usado como un agente reductor de iones metálicos/ estabilizantes de partículas, en la biosíntesis de nanopartículas de óxido de zinc. Como resultado se determinó que las NPs de ZnO presentaron tamaños submicrométricos con estructura cristalina hexagonal, sin embargo, no se presentó actividad bacteriana frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus*, esto se debió al encapsulamiento de polisacáridos y proteínas de mucílago empleado.

Paralelamente, Dobrucka & Długaszewska (2015) reportaron la síntesis de NPs de ZnO usando el extracto de la flor de *Trifolium pratense*. Las NPs preparadas fueron caracterizadas por espectroscopía de absorción UV-Vis, difracción de rayos X, espectroscopía de la transformada de Fourier, microscopía electrónica de barrido y análisis de dispersión de rayos X. Los métodos de análisis confirmaron las dimensiones de la nanopartícula entre 60-70nm, las nanopartículas de mayor tamaño fueron resultantes de la aglomeración de las nanopartículas más pequeñas. Además, las NPs de ZnO mostraron una notable actividad en contra de *S. aureus* ATCC 4163, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 6749, *S. aureus* y *P. aeruginosa*.

También, Vanathi et al. (2014) sintetizaron y caracterizaron NPs de ZnO a partir de extracto de algas marinas, debido a la gran cantidad de este recurso presente en el mar, esta técnica corresponde a una iniciativa ecoamigable. Estas algas fueron usadas como agente reductor y quelante durante la síntesis. La formación del producto final fue evaluada mediante los métodos XRD, SEM con EDX, y TEM. Se concluyó que las NPs poseían forma esférica y un tamaño que oscila entre 32 ±4 nm.

Ciertos estudios de obtención de NPs de ZnO se centran más en la aplicación foto catalítica y antibacterial del producto obtenido. Para mencionar un ejemplo Bhuyan et al.

(2015) sintetizaron NPs de ZnO a partir de un extracto 25% (w/v) de *Azadirachta indica*, el producto fue analizado por transmisión microscópica de electrones, espectroscopia de rayos X dispersos, espectroscopia UV-Vis, difracción de rayos X y la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier. Se determinó que las NPs de ZnO fueron puras, predominantemente esféricas con un rango de 9.6 a 25.5 nm.

Así mismo, Bhuyan et al. (2015) caracterizaron la actividad antibacterial de NPs de ZnO usando concentraciones del material sintetizado frente a las bacterias Gram-positive y Gram- negative: *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli* los resultados indicaron que el crecimiento bacterial disminuye con el incremento de la concentración de NPs de ZnO, además la bacteria Gram-positiva sería más sensitiva a la bacteria Gram-negativa. Finalmente, las NPs ZnO mostraron actividad catalítica frente a la luz UV- Visible y aumento a la degradación del azul de metileno, el cual es un importante producto contaminante de la industria textil.

Rajeshkumar et al. (2018)) sintetizaron NPs de ZnO a partir de hojas de *Mangifera indica* para ser evaluadas por su actividad antioxidante y efectos en el cáncer ubicado en las células A549, estas fueron caracterizadas usando espectroscopía UV- Visible, XRD, SEM y análisis ED. Los resultados mostraron la forma hexagonal de las nanopartículas y 45-60 nm de longitud. La capacidad antioxidante fue estimada usando el método barrido de radicales libres con el reactivo colorimétrico DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo). El porcentaje de células fue inversamente proporcional a la concentración de nanopartículas 25 μg/mL, entonces se vio una actividad antioxidante incrementada a medida que aumenta la concentración de NPs lo cual se traduce en un potencial anticáncer.

Así mismo Azizi et al. (2013) sintetizaron NPs de ZnO a través de un proceso ecoamigable utilizando el extracto de la macroalga parda *Sargassum muticul*. El análisis

FTIR demostró la participación del ion sulfato e hidroxilo en la formación de NPs de ZnO. Se obtuvieron NPs de ZnO puros después de la calcinación de *S. muticum* formado ZnO en 450 °C. El análisis de FESEM muestra que las NPs de ZnO puro sintetizado tiene estructuras hexagonales de wurtzita y el tamaño medio se extiende desde 30 a 57 nm. El espectro de absorción UV-Vis del NPs de ZnO puro exhibe picos de absorción en la región UV (195nm-400nm) que se atribuye a la brecha de banda de las NPs de ZnO.

Las rutas y enfoques de la síntesis de NPs de ZnO son diversas, sin embargo, recientemente se ha buscado elaborarlas a partir de residuos de la industria alimentaria, tal es el caso de Thi et al. (2020) quienes mencionan que un enfoque acertado es aquel que conlleva a minimizar el uso de reactivos nocivos en la fabricación de nanopartículas y mejorar la actividad antibacterial para la aplicación biomédica de las NPs de ZnO. Para ello, este equipo sintetizó NPs de ZnO a partir de extracto de piel de naranja como un agente reductor biológico del acetato dihidratado de zinc. Se determinó que las dimensiones y morfología de las NPs de ZnO dependen significativamente de los parámetros fisicoquímicos empleados como temperatura de cocción y pH al momento de la síntesis. Las NPs de ZnO demostraron una fuerte actividad antibacteriana contra la *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Staphylococcus (S.aureus*) sin la iluminación UV a la concentración de $0.025\ mg\ mL^{-1}$ luego de 8h de incubación. Para este caso la actividad bacteriana contra *S. aureus* varía en gran manera con los parámetros de cada síntesis.

De la misma manera, Zare et al. (2017) postularon un método ecoamigable en la síntesis de NPs de ZnO a partir de *Cuminum cyminum* como un recurso natural y nitrato $[Zn(NO_3)_2]$ que contienen el ión Zn^{2+}. Los resultados mostraron que los parámetros como la concentración, tiempo, temperatura y pH tienen un diferente impacto en la síntesis de nanopartículas. Las propiedades de las NPs sintetizadas fueron examinadas por

espectrofotometría UV-Vis, espectroscopía de difracción de rayos X y microscopio de transmisión electrónica. La espectroscopía Uv- visible presentó el pico de absorción en un rango de 370 nm. La evaluación con un microscopio de transmisión electrónica mostró una fuerte tendencia a los óvalos esféricos que en promedio medían 7nm. El efecto antimicrobial de la NPs fue calculado usando el método de difusión de disco, lo cual demostró que la bacteria Gram positive y negative fueron sensibles a NPs de ZnO. Se debe resaltar que la sensibilidad de la bacteria Gram-negative era mayor.

En el mundo de los componentes antimicóticos y citotóxicos también destacan las NPs de ZnO.

Un estudio realizado por Miri et al. (2019) en donde se sintetizó nanopartículas a partir de $Zn(SO_4).7H_2O$ y extracto acuoso de *Prosopis farcta*, la caracterización se dio mediante los métodos: absorción UV-Vis, espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier, Raman, Difracción de rayos X, microscopía de transmisión electrónica, microscopía electrónica de barrido de emisión de campo y análisis de rayos X por energía dispersiva. Los resultados mostraron que las NPs tienen una forma hexagonal y tamaños de 40-80 nm. La actividad antimicótica de NPs de ZnO ante la *Candida albicans* ha mostrado que la concentración mínima inhibitoria (MIC) y mínima fungicida (MFC) fue 128 y 256 µg/mL, respectivamente. La actividad citotóxica de las nanopartículas sintetizadas fue evaluada ante células de seno cancerosas (MCF7), el IC_{50} fue 90 µg/mL.

El ZnO ha demostrado influenciar positivamente en distintos cultivos en distintos aspectos de estos. Es por ello que a lo largo de los años se ha reportado diversas investigaciones.

En primer lugar, Avinash et al. (2010) sintetizaron NPs de ZnO mediante el método hidrotermal, luego realizaron las respectivas caracterizaciones, el tamaño de

las nanopartículas fue de 20 nm las cuales demostraron incrementar el ácido indol-3-acético en la planta *Cicer arietinun*, y por ende, resultó en un incremento en la tasa de crecimiento de la planta.

Después, Prasad et al. (2012) reportaron un estudio que evaluó el efecto de nanopartículas de ZnO en maní. En este estudio se compararon las NPs de ZnO (25 nm), $ZnSO_4$ y un suplemento comercial de zinc en suspensión. Dichos autores comprobaron que el ZnO a una concentración de 1000 ppm promovía la germinación y el vigor de la planta, la cual mostró un asentamiento temprano en el suelo mediante un florecimiento temprano y un nivel elevado de contenido de clorofila. Prasad et al. (2012) afirmaron que el rendimiento de las vainas de la planta tratada con NPs de ZnO por cada una fue 34% mayor, comparada con el $ZnSO_4$.

También, Laware & Raskar (2014) estudiaron el impacto de NPs de ZnO en cultivos de cebolla (*Allium cepa L.)*. En este experimento las plantas fueron roseadas 3 veces en un intervalo de 15 días con concentraciones controladas de NPs de ZnO. Las plantas tratadas con ZnO a una concentración de 20 a 30 $\mu g\ mL^{-1}$ mostraron un mejor crecimiento y floración de 12 a 14 días antes que la muestra control. Además, las plantas suplementadas con NPs de ZnO mostraron mayores valores de fruto con semilla y peso de semilla frente al grupo control. Finalmente, Laware & Raskar (2014) indicaron que las NPs de ZnO pueden reducir el periodo de floración de 12 a 14 días y producir semillas más saludables.

Luego, Elizabath et al. (2017) estudiaron el impacto de nanopartículas de ZnO y FeO en cultivos de *Daucus carota L.*, este estudio se realizó de noviembre a abril de 2016, Elizabath et al. (2017) concluyeron que la mejor proporción para la

mencionada planta fue ZnO y Feo con concentración de 1000 ppm y 50 ppm respectivamente.

En adición a ello, Thuguntha et al. (2018) estudiaron el efecto de las NPs de ZnO en berenjenas (*S.melongena*). Dichos autores llegaron a la conclusión que mientras las NPs de ZnO retrasaron el crecimiento en el medio Murashige-Skog de cultivo, el cultivo en suelo este mejoró el crecimiento de la *S.melongena*.

Además, Awan et al. (2020) estudiaron la influencia del óxido de zinc en cultivos de *B. oleracea var itálica*; para ello, se utilizaron NPs de ZnO de forma esférica y tamaño 24 nm. La aplicación resultó en un mejoramiento de 37.5% de germinación de semilla, 56.6% en tamaño de raíz, 16.6% en tamaño de brote, 24% en área de hoja. Así mismo, se incrementaron en 50%, 67%, 14% y 36.2% los valores de clorofila, compuestos fenólicos, prolina y azúcar respectivamente. En adición a ello los resultados probaron que las NPs de ZnO conducían a un mayor crecimiento de cultivos que la sal $ZnSO_4$. Por lo tanto, Awan et al. (2020) postularon que las NPs de ZnO pueden ser utilizadas como un suplemento para mejorar la producción de *B. oleracea var itálica.*

Cabe agregar que Hosseinpour et al (2020) utilizaron NPs de ZnO junto a bacterias promovedoras de crecimiento (*Bacillus subtilis, Lactobacillus casei, Bacillus pumilus*) para reducir los efectos de estrés que puede provocar un medio salino a la planta *Solanum lycopersicum L.* Los autores concluyeron que, en efecto, las NPs y las bacterias promovedoras del crecimiento tienen un efecto positivo al reducir el estrés genético y daño del ADN de *Solanum lycopersicum L.* en un medio salino.

Esta investigación se centró en reunir evidencia de la potencial aplicación de NPs de ZnO aplicada en cultivos de *Zea mays* para su mejoría. Durante estos últimos

años, diversos autores han investigado sobre el impacto que tiene dicho nanomaterial en cultivos de uno de los alimentos más consumidos del mundo como es el maíz.

En primer lugar, Adhikari et al. (2015) caracterizaron NPs de ZnO y estudiaron su impacto en el cultivo de *Zea mays L.* El óxido de zinc demostró tener menos de 100 nm de diámetro, por lo cual se pudo considerar un nanomaterial, además presentó forma esférica y un potencial Z con valor de -26.99mV. Los parámetros que estudiaron fueron de altura de planta, volumen de la raíz, peso de materia seca. Adhikari et al. (2015) postularon que todos los parámetros estudiados fueron mejorados por las NPs de ZnO (0.05ppm y 0.5 ppm) en comparación al $ZnSO_4$ (0.05ppm y 0.5 ppm) y a la muestra control, además dichos autores indicaron que la raíz de esta planta podría tener un mecanismo que asimiló de mejor manera las NPs y los utilizó para el crecimiento y desempeño de la planta.

Paralelamente a lo reportado por Adhikari et al. (2015) en esta investigación se reportaron valores de potencial Z promedio de -18.85mV y -30.69mV en promedio de las síntesis HE06 y HE07 (Tabla 43, Tabla 48); y además las síntesis en su totalidad tuvieron valores menores a 100 nm (Tabla 49), esto indicó que las síntesis mencionadas podrían tener un correcto desempeño a la hora de utilizarse en la suplementación de cultivos de *Zea mays L.*

También, Taheri et al. (2015) realizaron una investigación donde estudiaron el impacto de las NPs de ZnO (20nm, forma esférica), ZnO nanocoloides y ZnO micrométrico en cultivos de maíz (SC704), la concentración de estudio de dichos materiales fue 2 ppm. Los parámetros evaluados fueron: área de hoja y peso de hoja seca. Los resultados demostraron que todos los compuestos de zinc tienen un efecto positivo en los parámetros estudiados; sin embargo, el más destacado fue el óxido de

zinc en nanopartículas. Taheri et al. (2015) postularon que las NPs de ZnO tuvieron un mejor desempeño debido a que presentaron una mayor área superficial y esto permitió un mejor contacto entre el ZnO y los elementos de suelo.

Con relación a lo anterior, en la Tabla 49 todos los tipos de síntesis que tuvieron un valor un tamaño cercano a 20 nm fueron HE05 y HE06; por otro lado, en la Figura 24 y Figura 25 se reportaron nanopartículas de forma esférica pertenecientes a la síntesis HE05 y HE09 respectivamente. Por lo tanto, se puede aseverar que las síntesis mencionadas anteriormente son propicias para la suplementación de cultivos de NPs de ZnO.

En tercer lugar, Gowayed (2017) investigó el impacto de NPs de ZnO en suelos inducidos a un estrés por Cadmio en la germinación de granos y sistema antioxidante del *Zea mays L.* los parámetros de germinación estudiados fueron porcentaje final de germinación, germinación diaria media, coeficiente de velocidad de germinación, índice de germinación entre otros. Gowayed (2017) manifestó que una concentración de 500 mg L^{-1} contribuyó a una mayor protección de la toxicidad del cadmio e impactó de manera positiva en los parámetros estudiados.

En adición a ello, Tiwari (2017) sintetizó NPs de ZnO a partir del método de descomposición del oxalato, a dicho material se le hicieron pruebas de DRX, SEM, DLS, UV-Vis entre otras, finalmente se estudió el impacto en el crecimiento de *Zea mays* sumergiendo sus semillas en diluciones de NPs de ZnO a diferentes concentraciones por 2 y 4 horas para su posterior cultivo. De los análisis, las nanopartículas obtuvieron un tamaño de 65nm hallado mediante la ecuación de Scherrer, presentó partículas aglomeradas y forma de nanorods en las imágenes SEM, el radio hidrodinámico fue de 65nm, y la longitud de onda donde se presentó la

máxima absorbancia en el espectro UV-Vis fue 262nm. Finalmente, Tiwari (2017) postuló que a una concentración de 1000 ppm se obtuvo un óptimo rendimiento en los parámetros de estudio del crecimiento del *Zea mays L*.

En este trabajo se reportó NPs de ZnO con tamaños inferiores a 65 nm reportados en la Tabla 49. Las imágenes SEM que presentaron aglomeraciones fueron HE01, HE02, HE03, HE04, HE06 y HE07, HE08 en la sección 5.13 sin embargo, la única síntesis que otorgó indicios de presencia de nanorods fue HE02 en la Figura 21. Los radios hidrodinámicos que tuvieron cercanía con el valor de 65 nm fueron los pertenecientes a las síntesis HE01, HE03 y HE07 en la Tabla 37. Finalmente, la longitud de onda donde se presentó la máxima absorbancia distó mucho de lo reportado en el texto anterior. Resumiendo, la concentración propuesta por Tiwari (2017) de 1000 ppm hubiera sido adecuada si se utilizara la técnica de sumergimiento de semilla antes de cultivar; sin embargo, en este estudio se reportará una aplicación potencial a la agricultura mediante el regado constante con una concentración de NPs de ZnO adecuada.

En relación, Riswan et al. (2019) evaluó el impacto de las NPs de ZnO y el biocarbón en cultivos de *Zea mays* en suelos con cadmio. Todas las concentraciones empleadas redujeron el escape de electrolitos, malondialdehído y peróxido de hidrógeno; por otro lado, mejoró la actividad antioxidante de enzimas en hojas, raíces con respecto al control. En síntesis, Riswan et al. (2019) concluyeron que en todas las evaluaciones mejoraron la concentración de zinc en los brotes mientras que se redujo el cadmio presente.

En adición a ello, Uma et al. (2019) estudiaron el efecto de las nanopartículas de óxido de zinc en cultivos de *Zea mays L*. Se estudiaron los parámetros de longitud

de mazorca, número de granos por mazorca, rendimiento de granos retorno bruto y retorno neto. Uma et al. (2019) postularon que la adecuada concentración para la mejora de los parámetros mencionados fue 800 ppm en la etapa de cebado de semillas y 500 ppm en la aplicación foliar.

En relación con las ideas anteriores, Itroutwar et al. (2020) investigaron acerca del impacto de las NPs de ZnO utilizado como un agente para la mejora de la germinación y el crecimiento de las semillas del *Zea mays.* Los parámetros analizados fueron longitud del brote, ancho del brote, longitud de raíz, ancho de raíz, longitud de hoja, ancho de hoja, índice del vigor y materia seca de producción. Las nanopartículas utilizadas tuvieron un tamaño de 37nm con formas esféricas y tubulares. Al final, Itroutwar et al. (2020) indicaron que la concentración adecuada para estos fines fue 100 mg/L.

Paralelamente, en la Tabla 37 se reportaron valores cercanos a 37 nm por parte de las síntesis HE02 y HE05. En adición, las síntesis que presentaron forma esférica fueron HE05 y HE09 en la Figura 24 y la Figura 28. Finalmente, se infirió que las síntesis de NPs de ZnO expuestas en este trabajo bajo la adecuada concentración propiciaría adecuados parámetros en cultivos de *Zea mays L.*

En adición a ello, Mohsen & Abed (2020) estudiaron el impacto de óxido de zinc regular y NPs de ZnO (50 nm, forma cúbica) en concentraciones de 12 kg $Zn.h^{-1}$ etapa de formación inflorescencia masculina del *Zea mays L.* Los resultados demostraron que la adición de óxido de zinc y NPs de ZnO tuvieron un incremento en parámetros como área de hoja, peso de brote seco, peso de raíz seca se incrementaron en un 5.47%, 3.77% y 5.40% respectivamente. En resumen, Mohsen & Abed (2020) postularon que todos los factores estudiados demostraron un incremento en los

parámetros, sin embargo, se destacaron las NPs de ZnO con una concentración de 18 kg $Zn.Ha^{-1}$.

En relación con el párrafo anterior, Sabir et al. (2020) investigaron el papel de las NPs de ZnO a concentraciones de 2, 4, 8, 16 mg/L en el crecimiento de *Zea Mays L.* Se biosintetizó NPs de ZnO mediante *Bacillus subtilis,* estas fueron caracterizadas mediante SEM, DRX, Z potencial, DLS, UV-Vis entre otros; se obtuvieron resultados fueron: características de forma pura, 11.9nm, 17.00 mV±7.88, 89.06nm±10.20 y 331 nm respectivamente. Los parámetros estudiados fueron tamaño de brote, tamaño de raíz y nivel de proteínas de *Zea mays* con resultados de incremento en 61.7%, 56.9%, 77.3%. Finalmente, Sabir et al. (2020) señalaron que la concentración a la cual se incrementó significativamente todos los parámetros estudiados fue de 8 mg/L en cultivos maíz.

Umar et al. (2020) evaluaron el efecto de las NPs de ZnO en comparación a $ZnSO_4$ en una aplicación en el suelo, foliar y contenido de Zn en el maíz. Las NPs de ZnO tenían revelaron aglomeraciones mediante SEM y un tamaño de cristalito de 30-70nm mediante la ecuación de Scherrer por el difractograma DRX. Los parámetros evaluados fueron altura de la planta, peso del brote fresco, peso del brote seco, peso de raíz seca entre otros. El mejor resultado en la mayoría de los parámetros fue el perteneciente a las NPs de ZnO en una concentración de 8 kg Zn ha^{-1} en aplicación en suelo y 2% de solución en una aplicación foliar.

En adición, Kumar et al. (2021) llevaron al cabo una investigación en donde estudiaron el impacto de la aplicación foliar de nanopartículas de zinc que fueron sintetizadas mediante métodos químicos y métodos utilizando microbios. Los parámetros estudiados fueron de crecimiento, contenido de clorofila y rendimiento

con NPs de ZnO a concentraciones de (250, 500, 750, 1000, 1250 ppm). Finalmente, Kumar et al (2020) postularon que concentración que mostró un mejoramiento significativo en los parámetros mencionados fue de 750 ppm.

En relación con las investigaciones anteriores, Srivastav et al. (2021) realizaron una investigación en donde se analizaron bajas y altas concentraciones de zinc (0-200 mg/L) en forma de NPs de ZnO a cultivos de maíz y trigo en un periodo de 21 días. Las NPs fueron analizadas mediante SEM en donde se encontró que las nanopartículas poseían una forma esférica y DRX de donde se calculó que el tamaño de cristalito de las nanopartículas estaba entre 10-40 nm. La acumulación del zinc se incrementó en el maíz a medida que se iba incrementando la dosis (95 mg/kg en raíces y 48 mg/kg en el brote). En respuesta a las NPs de ZnO, la actividad de la alfa amilasa mostró incremento. La longitud y biomasa de las plantas y pigmentos fotosintéticos se incrementaron levemente debido al suplemento de NPs de ZnO. Finalmente, Srivastav et al. (2021) sugirieron que las NPs de ZnO a una concentración de 100 mg/L fueron estimulatorias y recomendadas como una fuente de fertilización.

En adición, Tondey et al. (2021) compararon la influencia de las NPs de ZnO versus la sal $ZnSO_4$ en el crecimiento, rendimiento y calidad del *Zea mays L.* Los niveles de concentración empleados en esta investigación fueron 0, 20 y 40 mg L^{-1}. Las NPs de ZnO fueron analizadas por SEM, donde presentaron formas semiesféricas e irregular, DRX de donde se obtuvo el tamaño de cristalito de 10-40nm y finalmente analizados por UV-Vis de donde se obtuvo el pico de absorbancia en 210 nm. Los parámetros estudiados fueron parámetros de rendimiento (número de plantas, altura de las plantas, rendimiento en estufa, biomasa de la planta, contenido de

hemicelulosa, contenido de zinc en el brote. La concentración con la cual se demostró mejoras en los parámetros estudiados fueron 40 mgL^{-1}, así mismo se demostró un incremento en los niveles de zinc y potasio en el suelo a una concentración de $20mgL^{-1}$.

En relación con los párrafos anteriores, Loufty et al. (2022) llevaron al cabo una investigación en donde evaluaron el impacto del cebado de semillas tratado con NPs de ZnO en concentraciones de 0 ppm y 100ppm en maíz triple híbrido 321 que crecieron en un suelo que contenían diferentes niveles de salinidad de 0, 50, 100, y 150 nM NaCl por tres semanas. Los parámetros estudiados fueron masa fresca y seca, concentración osmótica de solutos inorgánicos, contenido de pigmento fotosintético y sistema antioxidante selectivo. Al final, Loufty et al. (2022) determinaron que el cebado de semillas con NPs de ZnO atenuó los efectos nocivos que provocan la salinidad en el *Zea mays L.* e incrementó la actividad antioxidante de las enzimas, solutos orgánicos y contenido de iones (Na^+, K^+, Ca^{2+} y Mg^{2+}) lo cual propició un mecanismo de defensa contra el estrés provocado por la salinidad en los suelos.

En relación con lo anterior, Alhammad et al. (2023) estudió el cebado de las semillas de maíz (*Zea mays L*, Híbrido 310, obtenido del Centro de Investigación Agrícola, Giza, Egipto) con NPs de ZnO (Sigma-Aldrich, adquiridas en forma de hidrosuspensión al 20% (w/v) con un tamaño medio de partícula menores a 40 nm y concentraciones de 0, 50 y 100 mg/L) y EBL (24-epibrassinolide) por separado y mezcladas a distintas concentraciones sobre suelo con diferentes concentraciones de salinidad en el suelo (control, 50 mM NaCl y 100 mM NaCl). El cebado de las semillas de maíz con NPs de ZnO mejoró significativamente la absorción de agua de las semillas de maíz, la tasa de imbibición, el porcentaje de germinación y la energía germinativa en

comparación con la prueba de control. El tratamiento combinado de cebado de semillas de 100 mg/L NPs de ZnO con 0.2 μM EBL resultó en una mejora significativa para la mayoría de las características de germinación, actividad α-amilasa, y el equilibrio iónico en semillas de maíz cultivadas bajo estrés salino en comparación con todos los demás tratamientos.

En adición, Mahesh et al. (2022) estudiaron el efecto de la concentración y tamaño de NPs de ZnO en la etapa de cebado de semillas en cultivos de maíz. Las semillas de *Zea mays L.* fueron sumergidas en NPs de ZnO de los tamaños 20-30 nm, 40-50 nm, 60-80nm, 80-100nm a concentraciones de 0, 5, 10, 15, mg/L. por 3 horas y fueron usadas para pruebas de germinación y pruebas de campo. Los parámetros estudiados fueron tamaño de raíz, tamaño de brote, peso de plántula fresca, peso de plántula seca, índice de vigor, tasa de crecimiento de plántula, eficiencia metabólica de la semilla, altura de la planta, número de hojas, días de maduración, contenido de clorofila, rendimiento, índice de cosecha, entre otros. En base a los resultados Mahesh et al. (2022) indicaron que las NPs de ZnO que tenían tamaños de 20-30 nm a una concentración de 15 mg/L tuvieron un mejor desempeño en el crecimiento, germinación, rendimiento, y parámetros nutricionales del zinc en cultivos de maíz.

Vijay et al. (2022) investigaron acerca del efecto de las NPs de ZnO en función a su rendimiento en cultivos de *Zea mays L.* los experimentos se llevaron al cabo con nanopartículas con un tamaño menos a 100 nm en concentraciones de 50, 100, 200 y 300 ppm, estos fueron administrados en dos etapas, la etapa a la altura de la rodilla (30-65 días), y la etapa de las borlas (46-56 días). Con los datos hallados Vijay et al. (2022) determinaron que, entre las concentraciones estudiadas, las NPs de

ZnO a 300 ppm otorgó los mayores atributos en parámetros como longitud de mazorca, peso de mazorca, circunferencia de mazorca y rendimiento de grano.

Yan Zha et al. (2022) llevaron al cabo una investigación acerca del mejoramiento del crecimiento del maíz *(Zea mays L.)* y la reducción de la adsorción de cadmio en suelos contaminados con dicho metal (provenientes de Wangyan, China) mediante la aplicación de NPs de ZnO (tamaño de partícula de 20-30 nm) y biocarbón de bambú (Henan Lize Environmental Protection Technology Company). El estudio se centró en el impacto del abonado foliar de NPs de ZnO solas a distintas concentraciones (0, 50, 75, 100 mg/L, disueltas en agua desionizada) o combinadas con biocarbón de bambú (1.0 %w/w) aplicado sobre cultivos de maíz en suelos contaminados con Cd. La aplicación foliar de NPs de ZnO mejoró el crecimiento, la biomasa, el contenido de clorofila y la concentración de Zn del maíz, al tiempo que redujo el estrés oxidativo y las concentraciones de Cd. La aplicación de 100 mg/L de solo NPs de ZnO sobre el maíz fue la que obtuvo el mayor efecto de crecimiento. Agregando el biocarbón de bambú con los 100 mg/L de NPs de ZnO se obtuvo un potenciado efecto de crecimiento y reducción de Cd. Además, las concentraciones de Zn en lo brotes, raíces y granos tuvieron un aumento de 168.01%, 113.48% y 50.72% respectivamente, por medio de la aplicación de NPs de ZnO a una concentración de 100 mg/L. Por todo ello, Yan Zha et al (2022) postularon que el biocarbón de bambú y las nanopartículas de óxido de zinc a una concentración de 100 mg/L y en combinación con biocarbón de bambú mejoran el crecimiento del maíz (*Zea mays L.*) y reducen la absorción de cadmio en suelos contaminados con Cd

Por otro lado, Seleiman et al. (2023) realizaron un estudio sobre la mitigación de la salinidad (0mM NaCl, 60mM NaCl, 120mM NaCl) del maíz (*Zea mays L*.) con NPs de ZnO (Sigma-Aldrich, adquiridas en forma de hidrosuspensión al 20% (w/v) con un

tamaño medio de partícula menores a 40 nm) a distintas concentraciones 0, 50 y 100 mg/L). Las NPs de ZnO demostraron ser mitigadores de la salinidad, debido a que contrarrestan los efectos de la salinidad en la planta de maíz. El resultado óptimo resulto ser la aplicación foliar de 100 mg/L a la planta de maíz, bajo estrés de 120 mM NaCl, debido a que mejoró la disminución inducida por la salinidad en los parámetros involucrados en el crecimiento de la planta, eficiencia fotosintética, intercambio gaseoso, mecanismo fisiológico, absorción de minerales, perfil antioxidante y rendimiento de grano de maíz.

En relación con los estudios anteriores, Ahmad et al. (2023) realizaron un estudio sobre el cebado semillas de maíz (*Zea mays L.*; TWC 310) con NPs de ZnO (0, 50, and 100 mg/L) y EBL (24-epibrassinolide; 0.0 μM, 0.2 μM, y 0.4 μM) solas y mezcladas a distintas concentraciones sobre suelo con diferentes concentraciones de salinidad (control, 5 dS m^{-1}, 10 dS m^{-1}). El cebado de semillas de maíz con NPs de ZnO mostró una mejora en el crecimiento de la planta de maíz. El cebado de semillas con NPs de ZnO con 100 mg/L y EBL con 0.2 μM demostró una mejora significativa en la regulación iónica, el equilibrio osmótico, las actividades metabólicas, el rendimiento fisiológico y el crecimiento en plantas de maíz cultivadas bajo estrés salino en comparación con los otros tratamientos.

Por otro lado, Naseer et al. (2023) estudiaron la síntesis verde de NPs de ZnO (obtenida a partir del *Pisum sativum Linn*, forma esférica, tamaño medio de 68-89nm) y su efecto como nanofertilizante a distintas concentraciones (control, 0.2, 0.5, 0.8, 1, 20, 60, 100, 200, 400, 600, 700, 800, 900 y 1000 mg/L) en la planta de maíz (*Zea mays L*). La presencia de NPs de ZnO se confirmó por el espectro de absorción de la espectrofotometría UV-Vis (BMS, UV-2600) con un rango de 200nm a 700nm, la

longitud de onda de absorción máxima se observó en 350nm. Las NPs de ZnO demostraron ser aptos como nanofertilizantes, debido a que inducen a la germinación temprana de las plantas y mejoran el crecimiento de las plántulas y los procesos bioquímicos de la planta de maíz, además se encontró 57 mg de zinc por cada 100 g de granos secos para las plantas tratadas con nanopartículas de zinc con una concentración de 1000 mg/L. Al comparar los resultados de la influencia de NPs de ZnO con $ZnSO_4$ con concentraciones de 1000 mg/L las plantas tratadas con nanopartículas de óxido de zinc presentaron predominantemente un mayor porcentaje de germinación, longitud de los brotes, longitud de las raíces, área foliar y mazorcas por planta, esto es debido a su biodisponibilidad del zinc en forma nanométrica. Por lo tanto, Naseer et al. (2023) postularon que a una concentración de 1000 mg/L se presentaron mejoras en los parámetros de cultivos de *Zea mays L.*

3.Principios teóricos

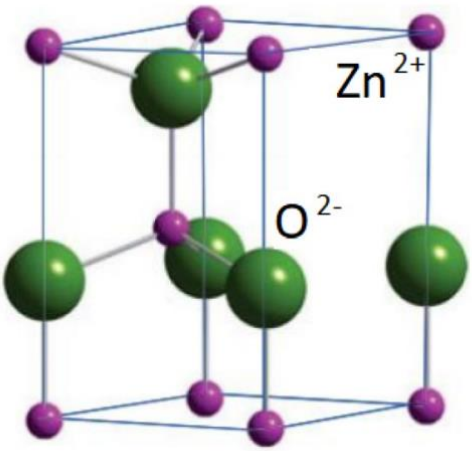
3.1 Óxido de zinc

Aquino (2016) señala que el óxido de zinc (ZnO) es un material semiconductor del grupo II- VI que se encuentra en la naturaleza en el mineral llamado Zincita, del cual se puede obtener con técnicas sencillas y a bajo coste. Durante las últimas décadas se ha mantenido vivo el reclamo de este óxido en la investigación debido a la existencia de numerosos campos de estudio aún por descubrir. En la actualidad es uno de los semiconductores más estudiados tanto en el desarrollo de nuevas técnicas de crecimiento que aporten nuevas propiedades físicas, como en el estudio de posibles aplicaciones tecnológicas que puedan llevarse a cabo. El óxido de zinc tiene un gran interés

tecnológico en estructuras de baja dimensionalidad. Se pueden obtener múltiples nanoestructuras en forma de nanopartículas, nanohílos, nanofibras.

De la misma forma, Ngom et al. (2019) afirmaron que el óxido de zinc es un semiconductor de tipo n (Rajeshkumar et al., 2017) con un ancho de banda de 3.3 eV a temperatura ambiente, pero esto puede depender de las condiciones de síntesis. Las estructuras cristalinas más comunes son la wurtzita y la cincita. Además, también señalaron que el ZnO es un óxido transparente semiconductor caracterizado por una energía de excitación de enlace de 60 meV, lo cual permite su aplicación en transistores incolores, láseres semiconductores y detectores espectrofotométricos UV-Vis.

Figura 1
Estructura de la wurtzita óxido de zinc. Barzinyi & Azees (2020).



Francisco et al. (2017) sostuvieron que el óxido de zinc es un compuesto inorgánico frecuentemente reconocido como un producto seguro que posee diferentes aplicaciones en la vida cotidiana. En cuanto al nivel nanométrico, el ZnO posee el comportamiento de un semiconductor con un ancho de banda de 3.37 eV, es común encontrarla en su estructura natural como Wurtzita en condiciones ambientales.

Matinise et al. (2017) postularon que el ZnO es un miembro del grupo II-VI de la familia de semiconductores, cuya covalencia está en el límite entre los semiconductores iónicos y covalentes. Además, el ZnO tiene un amplio y directo ancho de banda (3.2 eV), a temperatura ambiente, este se deposita en forma de wurtzita en comparación con otros óxidos de metales como GaN, el ZnO es estable, con un punto de fusión de 2248 K, siendo compatibles con procesos que involucran altas temperaturas. Las propiedades intrínsecas del ZnO son: amplio rango de radiación de absorción, alta fotoestabilidad y un gran coeficiente de acoplamiento electrotérmico; todas estas propiedades hacen posible que el ZnO sea una buena opción para las medidas de ondas fotoeléctricas. La propiedad

más notable es la particular alta energía de unión de 60 meV, lo cual permite una alta eficiencia de operación de dispositivos por encima de la temperatura ambiente.

Sangeetha et al. (2011) postularon que el ZnO es un importante semiconductor que tiene una gran brecha (3.37 eV, 387 nm, Violeta intenso/ ultravioleta al límite) y una gran energía de unión y excitación (60 meV), esta es sobresaliente entre la variedad de óxidos de metales debido a sus atractivas propiedades. Debido a sus propiedades ópticas y eléctricas es considerado como un potencial material en aplicaciones fotoeléctricas que operan en el rango visible y cerca de las regiones del espectro ultravioleta.

3.2 Nanopartículas

Rajeshkumar et al. (2017) indicaron que las nanopartículas son aquellas que poseen una escala nanométrica (10^{-9} m), estas pequeñas partículas se encuentran dotadas de características mejoradas como, por ejemplo: reactividad catalítica, conductividad térmica, desenvolvimiento óptico no-lineal y firmeza química; esto último depende del tamaño de superficie de área y el volumen de radio de la partícula en cuestión.

De manera similar Sangeetha et al. (2011) señalan que los nanomateriales que están controlados por los tamaños de nanocristalitos (es decir menos de 100 nm) pueden mostrar comportamientos similares a los de los átomos como resultado de una mayor energía de superficie debido a la gran cantidad de tamaño superficial y una brecha de banda más amplia entre la valencia y el ancho de conducción cuando estos son seccionados en tamaños cercanos al tamaño atómico.

Elumalai y Velmurugan (2015) sostienen que las nanopartículas inorgánicas como las de plata, oro, CuO, TiO_2 y ZnO tienen importante actividad antibacterial.

De acuerdo con Sangeetha et al. (2011), los óxidos de metales de transición que poseen nanoestructuras y semiconductores con dimensiones en el grupo de los nanómetros son de especial interés en diversas áreas de la química, física, ciencias de los materiales y biotecnología; se puede afirmar que esta es la tecnología de la siguiente generación.

Como señala Jamkhande et al (2019) el término nanopartícula fue acuñado del griego "Nano" que significa "enano o pequeño" y es usado como prefijo cuando indica tamaños de 10^{-9}. Las nanopartículas tienen propiedades de fase soluto y dispersa. La relación de la superficie y el volumen de una nanopartícula es 35-45% veces mayor comparado con el tamaño de una partícula o átomo.

3.3 Nanopartículas de óxido de zinc

Elumalai y Velmurugan (2015) expresaron que, a lo largo del amplio catálogo de nanopartículas inorgánicas, las nanopartículas de ZnO despiertan un especial interés debido a que son de simple preparación, de bajo costo y con materiales aptos para humanos y animales. Estas son muy utilizadas en la formulación de productos de cuidado personal.

De acuerdo con Sangeetha et al. (2011), las nanopartículas de óxido de zinc han sido usadas en diversas áreas industriales como celdas solares, emisión de luz UV, sensores de gas, fotocatálisis y la industria cosmética y farmacéutica.

Fakhari et al. (2019) señalaron que, entre diversas clases de nanopartículas, las nanopartículas de óxido de zinc son semiconductores versátiles que desempeñan propiedades ópticas y luminiscentes en el rango UV-Visible. Estas nanopartículas han tomado relevancia en los años recientes debido a su gran estabilidad térmica y química.

Rajeshkumar et al. (2017) expresaron que las nanopartículas de óxido de zinc han despertado especial interés debido a su amplio rango de aplicación en campos como la electrónica, la óptica, la biomedicina. Diversos tipos de nanopartículas de óxidos de metales han sido sintetizados como el TiO_2, CuO; sin embargo, las nanopartículas de óxido de zinc destacan entre ellas debido al bajo costo de producción, la inocuidad y facilidad del proceso. Así también los autores mencionan que las nanopartículas de óxido de zinc tienen una notable actividad antibacteriana, son empleadas en la industria del caucho, pinturas y aplicaciones dentales. Las nanopartículas de óxido de zinc han sido reportadas en diferentes morfologías, por ejemplo: nanoflor, nanoescama, nanobarra, etc.

3.4 Agente quelante

Un agente quelante es una sustancia que forma complejos con iones de metales pesados. Los complejos formados reciben el nombre de quelatos, una de las aplicaciones de los quelantes es evitar la toxicidad de los metales pesados para los seres vivos. Oviedo y Rodriguez (2003) afirmaron que los metales pesados causan efectos nocivos en distintos procesos de la industria, así como en la formulación de nuevos productos. Los alcalino térreos divalentes como Ca(II), Mg(II) y Ba(II) forman soluciones que presentan precipitado con los iones carbonato, sulfato y fosfato. Además, la presencia de los metales de transición como el cobre, hierro, zinc y manganeso, pueden desencadenar procesos químicos de corrosión, así como procesos catalíticos de degradación. En los procesos industriales, estos cationes metálicos pueden venir del agua y los equipos que están sufriendo corrosión. Ellos pueden reaccionar con diferentes especies metálicos y experimentar alteraciones indeseables debido a los cambios en la concentración, pH, oxidación.

De la misma forma, los agentes quelantes tienen papeles fundamentales a la hora de control de suelos. Mertens et al. (2018) mencionaron que muchos micronutrientes, pero a la vez metales tóxicos, se encuentran distribuidos alrededor de la capa de suelo, esto hace que las plantas y distintos organismos del suelo no puedan consumirlos. Los agentes quelantes pueden competir por los lugares de enlace en los suelos, es por ello que remueven los enlaces de la partícula en la distribución del suelo y mejoran su solubilidad. Esta propiedad es usada para la fitorremediación de los suelos contaminados con metales pesados. Sin embargo, la presencia de los agentes quelantes en los suelos puede indicar un efecto perjudicial al remover los metales tóxicos para el consumo de los organismos del suelo, debido a que las plantas que absorben estos complejos metálicos suelen inhibirlos y esta solo se puede aumentar cuando la distribución de los metales es homogénea en la rizosfera.

El cuerpo humano no tiene la capacidad de metabolizar metales pesados, estos pueden persistir en el organismo a lo largo del tiempo, en donde pueden desempeñar efectos tóxicos en el organismo humano al juntarse con grupos reactivos o ligandos. El papel principal de los quelantes es competir por los metales con los grupos reactivos fisiológicos, como resultado se reducen los efectos tóxicos e incrementa la excreción de sustancias nocivas para el cuerpo humano.

Lestan et al. (2007) señalaron que se pueden usar agentes quelantes para la remoción de metales tóxicos en los suelos contaminados. Ellos señalan que este proceso puede darse en el lugar y ser mejorado por fitoextracción, extracción electrocinética mejorada de quelante y lavado de suelo; o fuera del lugar como la extracción del suelo líquido.

Así mismo, Pinto et al. (2013) indicaron que aminopolicarboxilatos como el EDTA son agentes quelantes ampliamente usados en la industria, agricultura y ámbito doméstico. Sin embargo, estos no son biodegradables en ambientes acuáticos, eso tiene consecuencias nocivas para el medio ambiente, por lo tanto, se ha investigado en el reemplazo de estas sustancias, con otras que sean eco amigables. Oviedo y Rodriguez (2003) sostienen que el EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) es un ligando de tipo quelato que presenta una tendencia constante a formar complejos entre el metal y el EDTA.

Hassan et al. (2020) postularon que el EDTA y el diacetato de glutamato tetrasódico han reemplazado a los ácidos convencionales, como el ácido clorhídrico (HCl), el ácido fluorhídrico (HF) y los ácidos orgánicos, a altas temperaturas y condiciones de la salinidad para estimular los carbonatos y los reservorios de sales sin efectos negativos en la formación de estos compuestos. Además, el dietilentiaminapentaacético (DTPA) y GLDA (Diacetato de glutamato tetrasódico) son eficientes removiendo distintos tipos de materiales, como carbonatos, sulfatos, sulfidos sin usar inhibidores de corrosión. En adición a ellos el DTPA, EDTA y GLDA, son muy activos disolviendo tortas residuales de filtros que puedes ser insertadas en reservorios de arena y carbonatos para ajustar las condiciones de humedad y mejorar la extracción de petróleo. Los agentes quelantes como la GLDA, EDTA y DTPA optimizan la conductividad, a la vez, minimizan el número de aditivos en fractura hidráulica que reduce significativamente los costos de operación. En este estudio se concluyó que los agentes quelantes son agentes químicos que despiertan interés en el campo económico para diversas operaciones en el *upstream*.

En conclusión, los agentes quelantes tienen diversos usos para el ser humano y los ecosistemas, pero al mismo tiempo, son una parte fundamental en la síntesis de NPs de ZnO debido a su papel en el mecanismo de reacción y favoreciendo el medio para la formación de dicho nanomaterial.

3.5 Extracto de planta

Las plantas han sido empleadas por siglos en la historia humana, han tenido diversos usos, pero el más destacado es el uso medicinal que le dieron las antiguas civilizaciones humanas. Veiga et al. (2018) declararon que los compuestos activos biológicos presentes en las plantas son complejos de extraer o aislar. Es por ello por lo que los extractos de plantas han sido el principal objeto de estudio, así como la posibilidad de extraer las fracciones biológicas con menos relevancia de la planta, adicional a ello los extractos de plantas tienen diversas aplicaciones medicinales como la medicina y agricultura. La producción del extracto de una planta permite que se remuevan compuestos no beneficiosos o perjudiciales para el ser humano, el objetivo principal de estos procesos es extraer los compuestos activos para ser incorporados en otros productos finales. Sin embargo, la extracción requiere de solventes orgánicos que pueden ser perjudiciales cuando estos son consumidos por los seres humanos, por ejemplo: acetona, metanol y etanol.

La producción de extractos utilizando residuos de plantas que desechan las agroindustrias son propuestas llamativas para el reaprovechamiento de material orgánico residual debido a que los productos usados como materia prima son de bajo costo y contribuyen al manejo eficiente de residuos y la economía circular de mercado.

Rajeshkumar et al. (2017) señalaron que utilizar extractos naturales de plantas es un método ecoamigable y un proceso económico, que no involucra el uso de un intermediario. La síntesis mediante este método es de corta duración, y no involucra el uso de un equipo costoso, además que el precursor garantiza una alta pureza y un producto final libre de interferencias y adulteraciones.

De acuerdo con Jhamkhande et al. (2019), los métodos biológicos de síntesis de nanopartículas involucran la aplicación de diferentes microorganismos, enzimas y productos de plantas como extractos en distintos tipos de solventes. Diversos productos de plantas como los extractos son usados en la preparación de una amplia variedad de nanopartículas como oro, plata, cobre y zinc.

De la misma forma Ngom et al. (2020) declararon que se puede utilizar extracto *Moringa Oleifera* como un agente quelante eficiente, siendo la totalidad de la planta la que se utiliza para dicho extracto, el agente precursor fue $Zn(NO_3)_2$.

3.6 Determinación de la cantidad de polifenoles totales

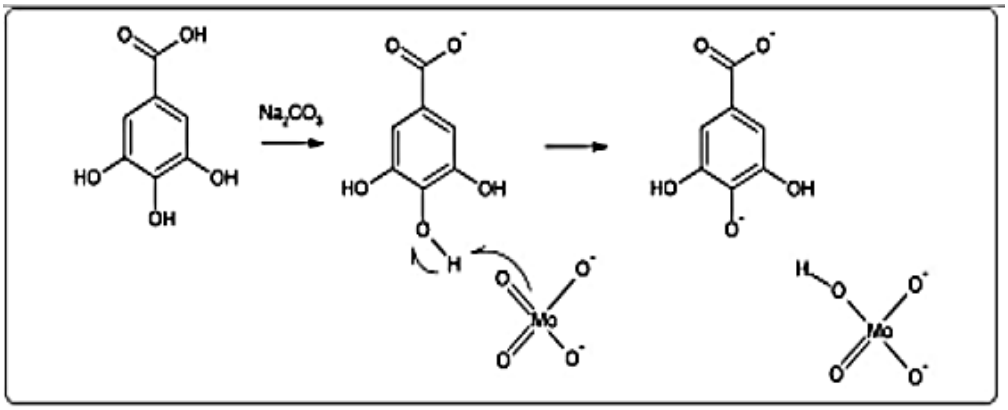
La determinación de los polifenoles totales presenta un reto en la industria de los alimentos, porque este parámetro está estrechamente relacionado con la actividad antioxidante de una muestra biológica. Por tanto, Gutierrez et al. (2008) plantearon que el método Folin-Ciocalteu está basado en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reacciona con cualquier tipo de fenol para formar complejos fosfomolíbdicos-fosfotúngstico. Cuando se transfieren electrones a un pH básico, se reduce los complejos fosfomolíbdicos-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno

(W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), este color es proporcional al número de grupos hidroxilo de la molécula.

Desde los inicios de la ciencia, se intentaron calcular distintos parámetros en biomoléculas presentes en seres vivos y alimentos, tal es así que Munoz et al. (2017) indicaron que este ensayo fue empleado en sus inicios para la cuantificación de tirosina en proteínas, sin embargo, con el paso de los años fue modificado para analizar compuestos polifenólicos en una variedad de alimentos o extractos vegetales. El reactivo más importante de este método consta de una mezcla de ácido fosfomolíbdico y fosfotúngstico color amarillo, que se le denomina usualmente como reactivo F-C y a partir de una mezcla con ambos ácidos se producen iones de molibdato y tungsteno. Actualmente existen más iones de molibdato y estos funcionan mejor como agentes reductores. La reacción debe realizarse en condiciones de pH básicas (pH =10), esto es con el objetivo de generar un ión felonato que reduce al F-C mediante una reacción tipo oxidación/reducción, generando así la formación de un complejo de Mo (V) que se muestra en la **Figura 2**, el cual presenta una coloración azul y una absorbancia que debe ser medida a 765 nm.

Figura 2

Reacción entre el ácido gálico y el reactivo Folin- Ciocalteu (Munos et al., 2017).

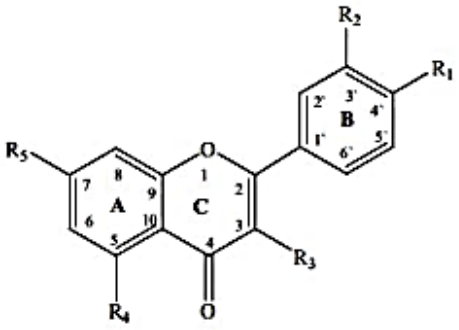


3.7 Determinación de la cantidad de flavonoides totales

La cuantificación de flavonoides totales basa su principio en el colorimétrico con el compuesto $AlCl_3$, este compuesto forma un complejo estable con el grupo ceto de C-4, los hidroxilos del C-3 de los flavonoles y C-5 de flavonas como se muestra en la **Figura 3**. (Valenzuela-Bustamante, 2015)

Figura 3

Formación de complejos de las flavonas con el tricloruro de aluminio (Valenzuela-Bustamante, 2015)



	R1	R2	R3	R4	R5
Flavonas	H	H	H	H	H
Favonoles	H	H	OH	H	H
Quercetina	OH	OH	OH	OH	OH

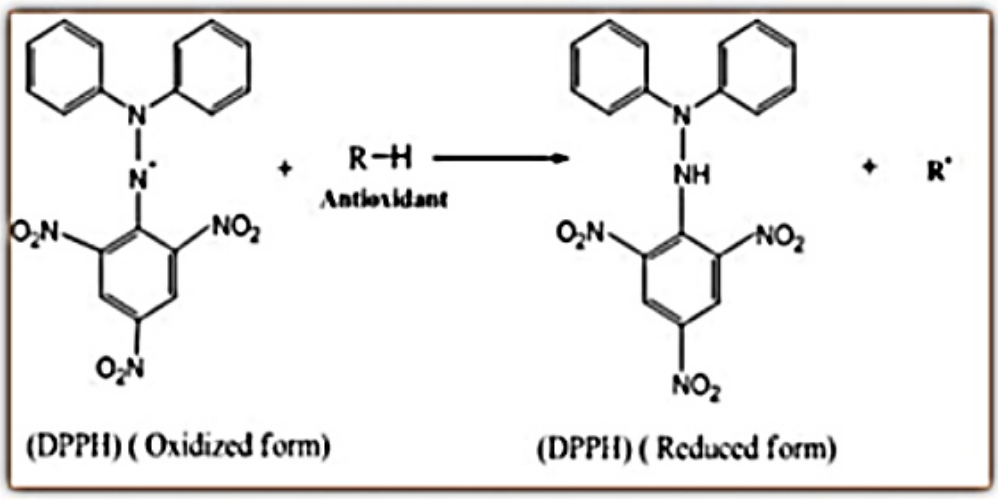
Cruz-Gallegos (2012) determinó que el principio de este método utilizando el reactivo $AlCl_3$, está basado en medir la reacción de los iones de aluminio con los flavonoides en medio alcalino, es así como, se forma un complejo con color rojo. Se debe medir la absorbancia a 490nm para determinar la concentración de flavonoides totales. En la primera etapa de reacción los grupos hidroxilo del anillo B en las posiciones C2' y C3', en contacto con el $NaNO_2$ van a pasar por una oxidación para convertirse en carbonilos. Debido a esta reacción, se genera HNO_2. En la segunda etapa el HNO_2 en presencia del $AlCl_3$ facilita la nitrosilación del anillo B en C5'. En adición, el aluminio se enlaza con el oxígeno en C4' y se coordina con el grupo carbonilo en C3'. En dicha etapa este compuesto se torna amarillo. Al finalizar, debido a la adición de NaOH se reduce el oxígeno del grupo nitrosilo, entonces la muestra adquiere un color rojo que caracteriza a esta prueba.

3.8 Determinación de la actividad antioxidante total

Brand et al. (1995) determinaron un método para calcular la actividad antioxidante. Se aprovechó la reducción del radical 2,2- difenil-1- picrilhidrazilo como se muestra en la **Figura 4**, con este método se pone a prueba la capacidad de los antioxidantes en un analito de poder actuar sobre los radicales libres que tenemos en el cuerpo o en una determinada muestra, para este caso, un extracto, solo que en lugar de un radical libre corporal, usaremos el DPPH, este radical tiene una absorción característica a 517 nm, y puede ser reducido por interacción con un producto con actividad antioxidante, lo cual forma 2,2- difenil-1 picrilhidrazilo.

Figura 4

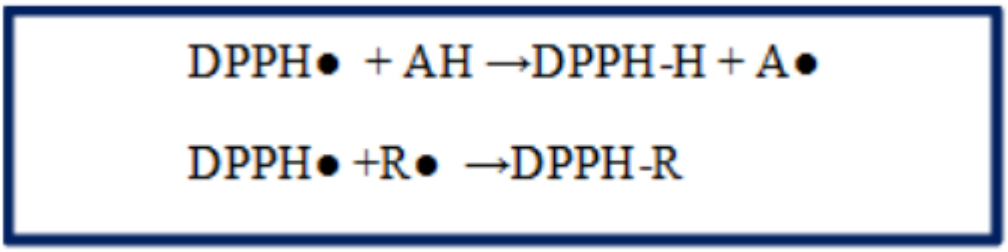
Reacción del oxidante DPPH (Brand et al., 1995)



OXIDANTE (DPPH) + ANTIOXIDANTE → OXIDANTE REDUCIDO + ANTIOXIDANTE OXIDADO

En adición a ello Brand et al. (1995) señalaron que la capacidad de metabolitos para reducir DPPH depende del potencial para donar átomos de hidrógeno y la conformación estructural. En forma usual, se usa el patrón Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido). Pero también se puede usar ácido ascórbico. Los resultados se pueden expresar en mg equivalentes a trolox o en el IC50 (concentración mínima necesaria para inhibir al 50% el DPPH). La reducción del DPPH como se observa en la **Figura 5** es seguida de una disminución en su absorbancia. En su forma de radical se absorbe a 515 nm, pero sobre la reducción por un antioxidante (AH) o una especie radical (R●), la absorción desaparece.

Figura 5
Reacción de reducción del DPPH (Brand et al., 1995)



3.9 Biosíntesis usando plantas

Las plantas son el sustrato biológico más usado para la síntesis de nanopartículas, en comparación con las algas, bacterias y hongos. Esto guarda relación con el hecho que las plantas presenten una buena relación costo-rendimiento, se procesan fácilmente y son menos tóxicas que los microorganismos. Bandeira et al. (2020) plantearon que la salud de las personas no se expone cuando se usan procesos basados en plantas, como sí sucede con los microorganismos. De la misma forma, Bandeira et al. (2020) sostuvieron que los extractos de plantas pueden ser obtenidos de manera directa usando un solvente eco amigable, por ejemplo, agua o etanol. Y diferentes partes de las plantas pueden ser usadas para la extracción, por ejemplo, semillas, raíces, hojas y frutas.

Así mismo, Sharmilla et al. (2018) expresaron que las sustancias tóxicas se podrían ubicar dentro de una nanopartícula si se prepara mediante el método químico o físico, esto limitaría su aplicación para diversos usos como la biomedicina y un uso cosmético.

Francisco et al. (2017) indicaron que la síntesis de sistemas biológicos surge como una opción para la obtención de nanopartículas, entre las que destacan la bacteria, hongos, algas o extractos de plantas, estos han sido utilizado para realizar biosíntesis de

nanopartículas debido a su capacidad para reducir iones metálicos mediante los diversos metabolitos secundarios presentes.

Algunas plantas tienen elevada concentración de compuestos como ácidos fenólicos, flavonoides y saponinas, estos son conocidos como compuestos antioxidantes y pueden neutralizar las especies reactivas de oxígeno (ROS), los radicales libres y los quelatos metálicos. Bandeira et al (2020) concluyeron que los antioxidantes presentes en la planta son responsables de la síntesis de metal u óxido de nanopartícula debido a la capacidad de bioreducir o quelar los iones metálicos y actuar como estabilizador de la nanopartícula sintetizada.

Rajeshkumar et al. (2017) manifiesta que las partes de la planta como tallos, hojas, raíces y flores han sido usadas en la síntesis de nanopartículas de óxido de zinc debido a los fitoquímicos inherentes a la planta. La bio-reducción involucra reducir los iones metálicos a 0 de valencia con la intermediación de fitoquímicos como polisacáridos, compuestos fenólicos, vitaminas, aminoácidos, alcaloides, terpenoides; todos ellos secretados y sintetizados por las plantas.

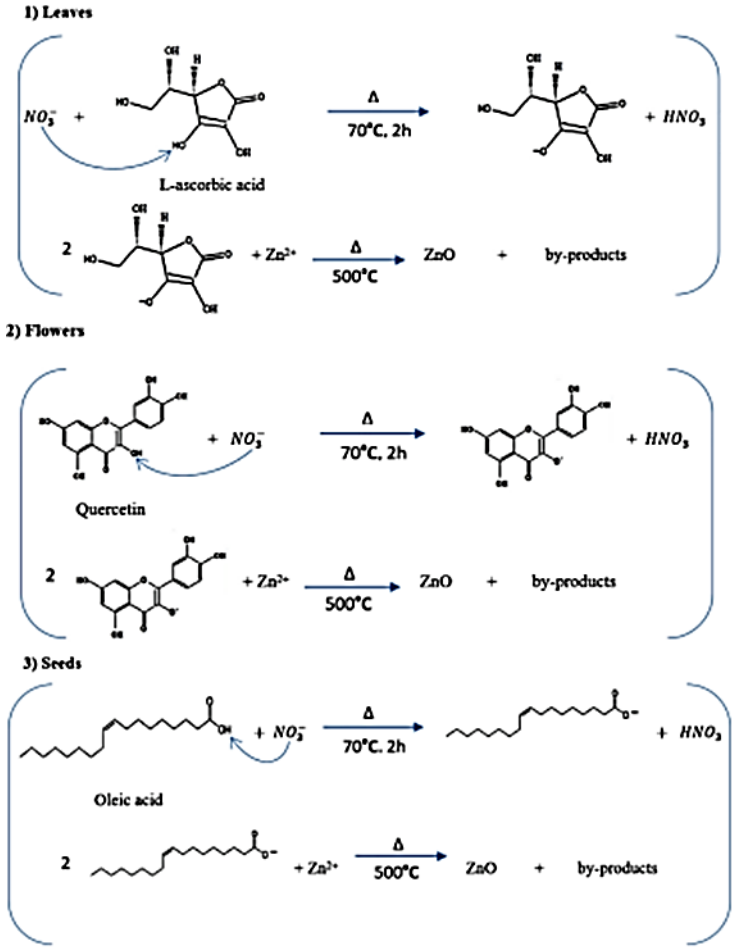
3.10 Mecanismo de reacción de la síntesis de nanopartículas de óxido de zinc

Bandeira et al. (2020) afirman que solo se ha producido las nanopartículas de óxido de zinc a escala de laboratorio, a pesar de que se ha demostrado la efectividad de la biosíntesis con extractos de plantas.

Ngom et al, (2020) sintetizaron nanopartículas de óxido de zinc a partir de los extractos de hojas de *Moringa oleifera.* En este artículo, se describe el mecanismo de reacción que se observa en la **Figura 6** en donde se toma como ejemplo a la reacción a base de quercetina, ácido oleico y ácido L-ascórbico. En donde el HNO_3 se presenta como un componente intermedio en diferentes reacciones.

Figura 6

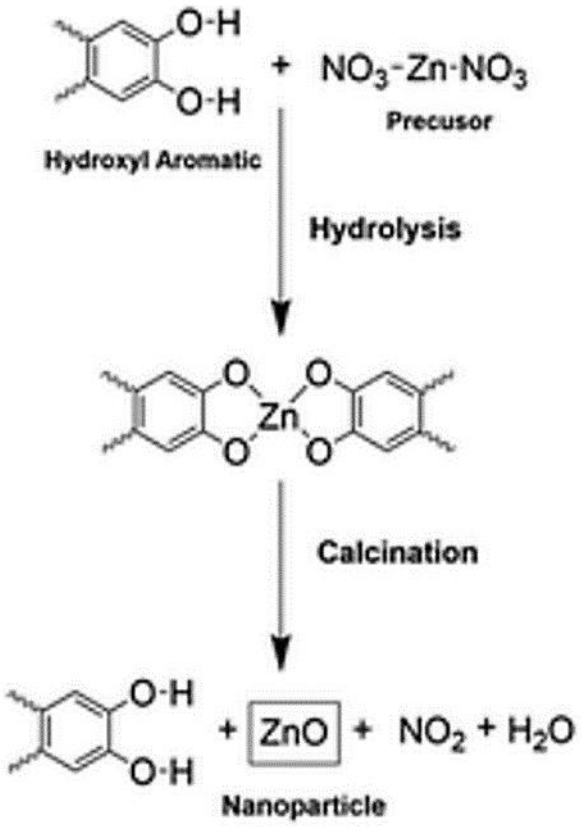
Mecanismo de reacción de diferentes partes de la Moringa oleifera Ngom et al. (2020)



Adicional a ello, Thi et. al (2020) sintetizaron nanopartículas de óxido de zinc a partir de cáscara de naranja, en la **Figura 7** se describe la posible reacción del mecanismo para el proceso de síntesis, en el cual los ligandos tienen lugar entre los componentes funcionales de la cáscara de naranja y el zinc como precursor.

Figura 7

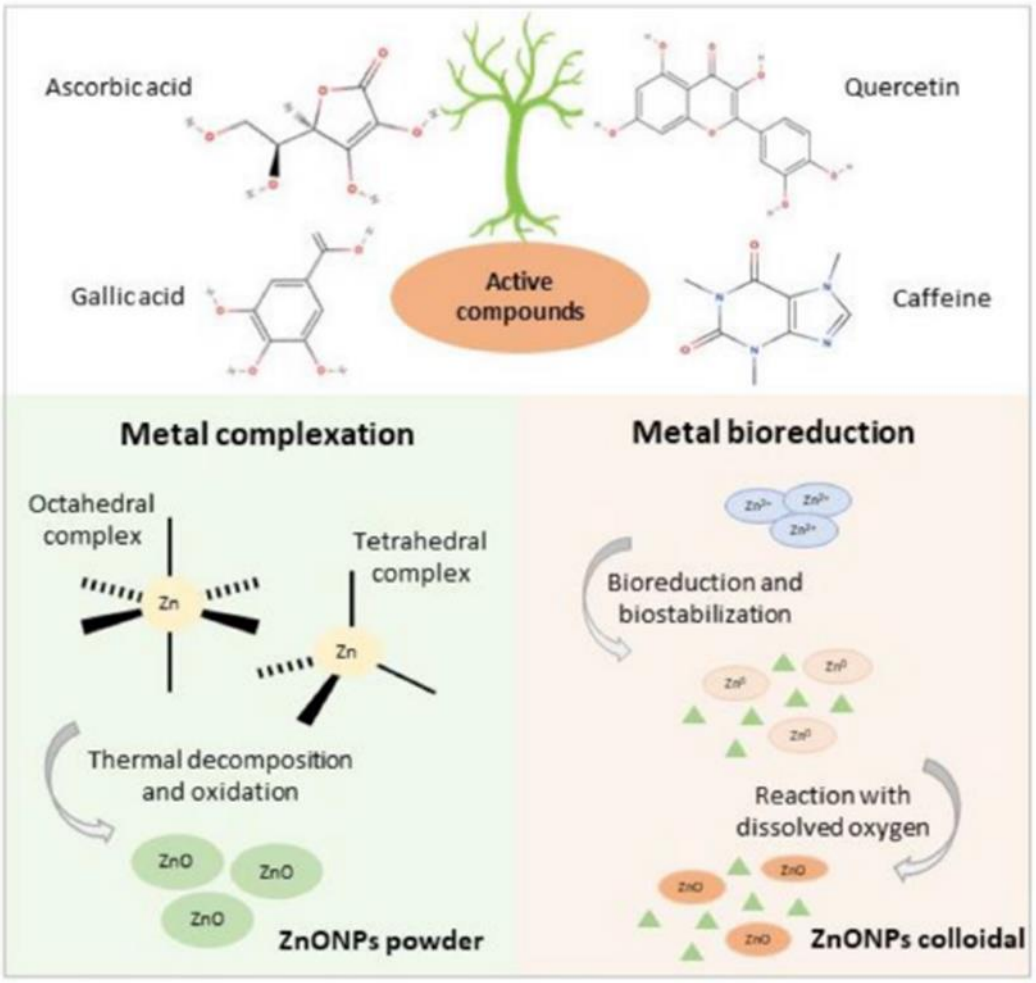
Mecanismo de reacción de ZnO. Thi et al. (2020)



Bandeira et al. (2020) señalaron que la determinación del mecanismo de reacción de formación de nanopartículas de óxido de zinc que se ilustra en la **Figura 8** es de gran interés para diseñar y estabilizar procesos a gran escala.

Figura 8

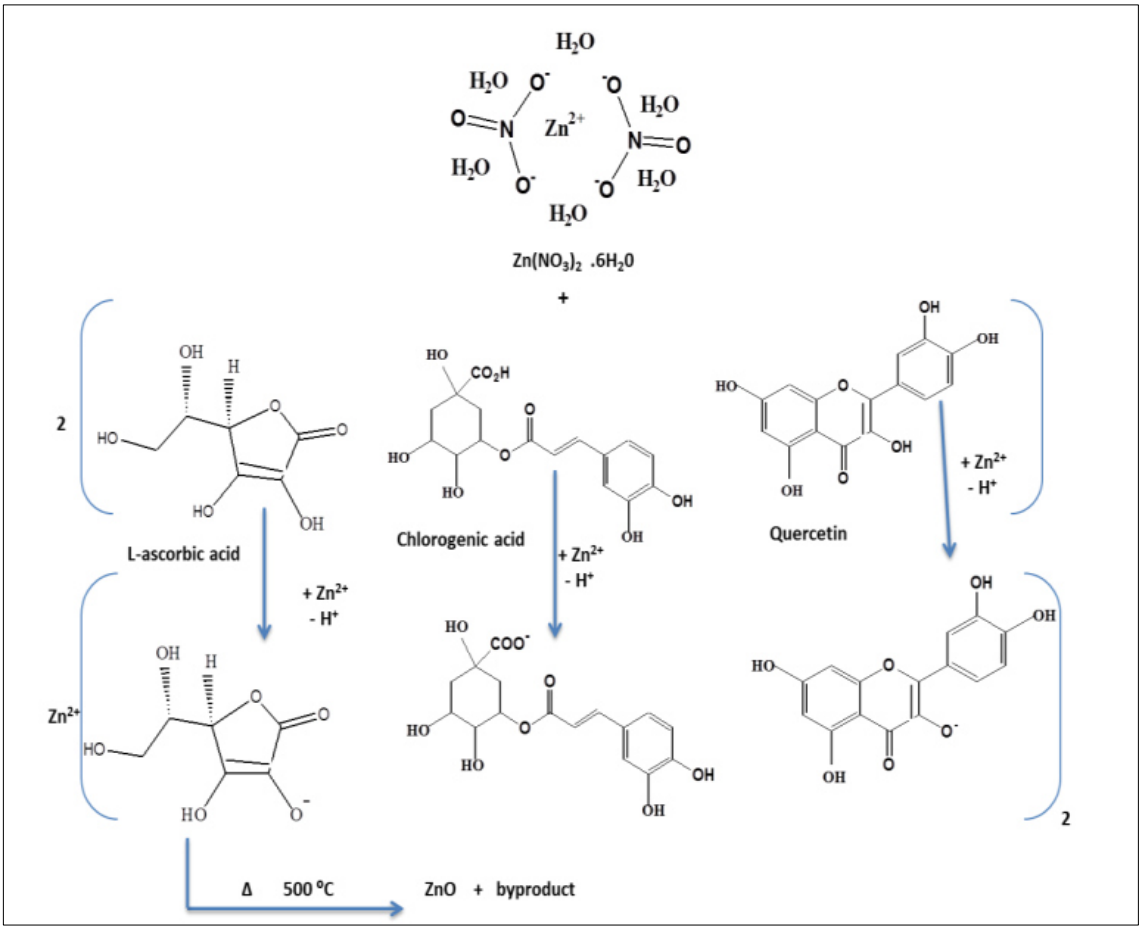
Mecanismo de reacción mediante el método quelante y la bioreducción. (Bandeira et al.,2020)



Jhamkhande et al. (2019) señalaron que en el método de la bio reducción los iones metálicos son químicamente reducidos a la forma biológicamente estable usando microorganismos y sus enzimas. Las nanoestructuras metálicas formadas son estables e inertes en la naturaleza y pueden ser separadas de la muestra contaminada. A lo largo de los años se han planteado diferentes mecanismos de reacción para la biosíntesis de NPs de ZnO (Ver la **Figura 9** y la **Figura 10**).

Figura 9

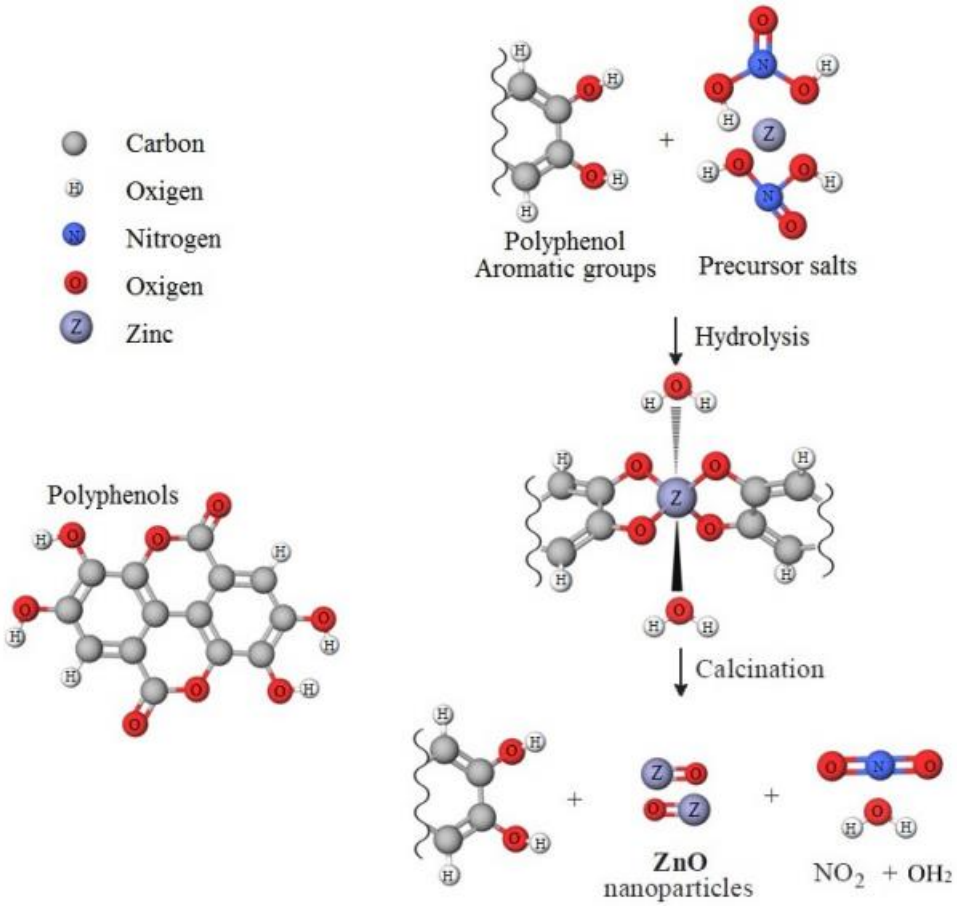
Mecanismo de reacción propuesto para la biosíntesis de NPs de ZnO a partir de Moringa oleífera.



Nota: fuente de información *Matinise et al. (2017). Applied Surface Science.*

Figura 10

Mecanismo de reacción para la síntesis de NPs de ZnO a partir de Camelia sinensis



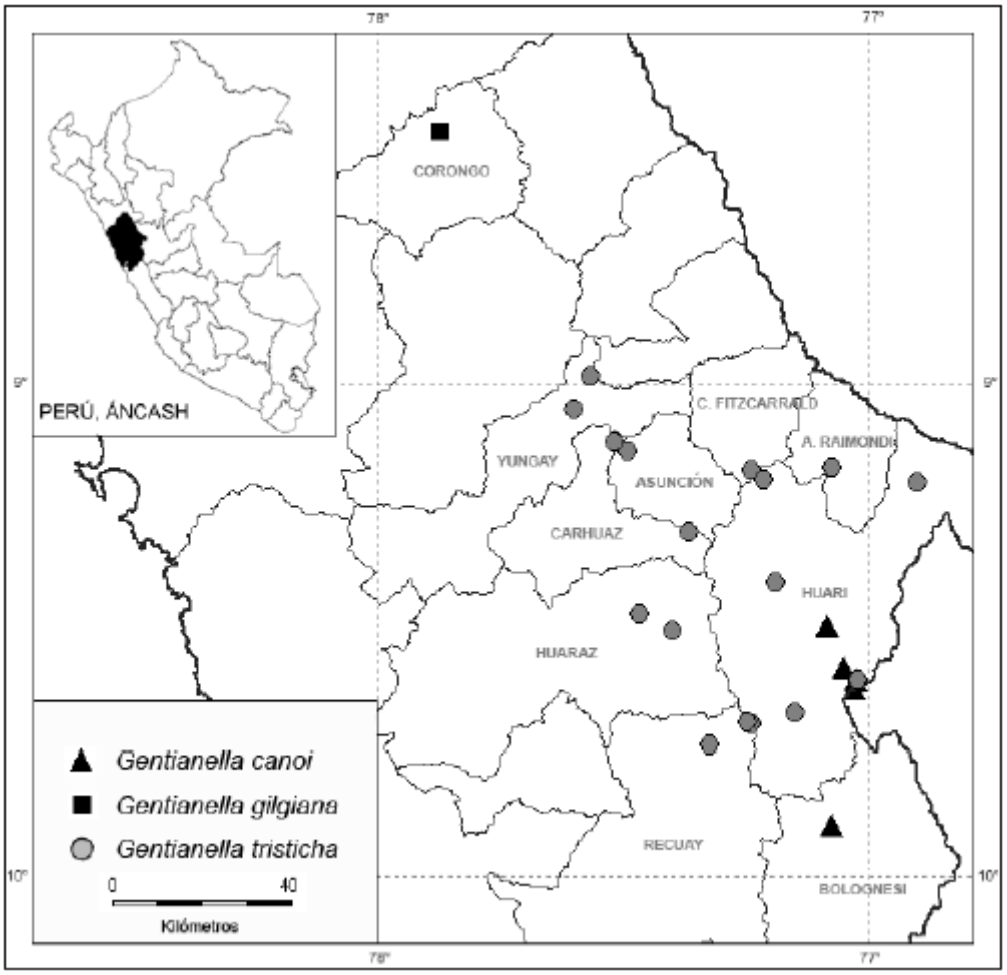
Nota: Fuente de información *Nava et al. (2017). Journal of Molecular Structure*

3.11 *Gentianella tristicha*

Castillo y Pringle (2018) sostienen que la *Gentianella tristicha* comparte hábito cespitoso, hojas basales muy angostas, tallos floríferos de 20 a más y corolas ampliamente abiertas con la *Gentianellla Canoi* y la *Gentianella Gilgiana*. Además, señala que la *Gentianella tristicha* se diferencia de la *Gentianella canoi* por sus hojas opuestas y su color pálido amarillo. Los autores también señalan que las flores son de color lila.

Figura 11

Distribución de Gentianella canoi S.J Castillo & J.S Pringle, G. gilgiana (Reimers) Fabris ex. J.S Pringle, G. tristicha (Gilg) J.S. Pringle.- Castillo y Pringle (2018)



De manera similar, Pringle (2012) añadió que la *Gentianella tristicha* era similar a la *Gentianella arenarioides, Gentianella lilacina y Gentianella mesembryanthemoides;* todas ellas provenientes del departamento de Ancash (Ver **Figura 11**). Las plantas de *Gentianella tristicha* son más grandes que las de *Gentianella arenarioides*, cuyo tallo usualmente llega a los 20 cm de alto, tiene la mayoría de sus hojas verticiladas, y de 1 a 3 milímetros de ancho, además posee de 3 a más flores por tallo.

Según Walter (2017) la *Gentianella tristicha* y *Gentianella nítida*, poseen flores color lavanda similares, sin embargo, las dos hierbas se distinguen por el tamaño, mientas

la primera crece hasta 1m de alto y es macho, la segunda crece a 3 cm de alto y es la hembra.

De acuerdo con Castillo y Pringle (2018) la *Gentianella tristicha* está distribuida en Ancash, se caracteriza por tener hierbas policárpicas de 20 a 50 cm de altura, cespitosas, con un tallo principal postrado y ramas erguidas. Las hojas de las rosetas presentan láminas lineares y lanceoladas que tienen más de 4.8-8.5 cm de largo y menos de 0.3 cm de ancho, con el tubo corolino en los lóbulos, sus flores son de color lila, y su distribución geográfica total comprende las provincias de Antonio Raimondi, Asunción, Carhuaz, Carlos F. Fitzcarrald, Huaraz, Recuay y Yungay; a lo largo de la cordillera blanca.

Tabla 2
Gentianella canoi S.J Castillo & J.S Pringle sp. nov. (Gentianaceae), una nueva especie del Perú. Castillo y Pringle (2018)

Carácter	***Gentianella tristicha***
Filotaxis	Hojas verticiladas
Forma de lámina de las hojas (roseta)	Lineal- lanceoladas, ápice agudo
Dimensiones de la lámina de las johas (roseta)	4-48.5 cm x 0.2-0.3 cm
Número de flores por inflorescencia	10-19
Color de lóbulos de la corola	Lilacino
Longitud de la corola	19-28 nm
Tricomas de la corola	Sí
Nectarios	0.8-1.3 x 0.3-0.8 mm

3.12 Dispersión dinámica de luz (DLS)

La dispersión de luz dinámica (DLS), también llamada dispersión de luz cuasi elástica (QELS), es una técnica de tipo no invasiva, consolidada para medir el tamaño y

distribución de las macromoléculas y partículas en la región submicrométrica, con tamaños inferiores a 1 μm.

Posee diversas aplicaciones típicas, entre ellas se encuentran la caracterización de nanopartículas, nanoemulsiones o macromoléculas que se han dispersado o disuelto en un líquido.

Esta técnica es basada en el movimiento Browniano de las partículas o macromoléculas en suspensión, este movimiento aleatorio hace que la luz laser se disperse en diferentes intensidades. Mediante el análisis de estas fluctuaciones en la intensidad se obtiene la velocidad del movimiento Browniano, en consecuencia, el tamaño de partícula mediante la relación Stokes- Einstein.

Bhattacharjee (2016) postuló que una adecuada caracterización de nanopartículas es de gran relevancia para desarrollar óptimas nanoformulaciones de relevancia terapéutica. La determinación del tamaño de partícula es indispensable para una apropiada caracterización de las NPs. En los últimos años el DLS se ha atribuido la popularidad de ser una herramienta simple de usar, reproducible para determinar el tamaño promedio de partícula.

Según Nicomp® el DLS (dynamic light scattering) es un método ideal para medir el tamaño de partícula, en suspensiones de 1 nm a 10 μm (esto dependerá de la densidad de partícula). La dispersión de la luz del movimiento Browniano de las partículas causa fluctuaciones en el recuento de fotones del detector, aquel tiempo asignado para las fluctuaciones es usado para crear la función de correlación en la cual el coeficiente de traslación de difusión D es determinado. Luego el tamaño de partícula es calculado usando la ecuación Stokes-Einstein.

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta R}$$

K= Constante de Boltzman
η=viscosidad del solvente
T= temperatura (K)
R= radio de partícula

Así mismo Ghorbani et al. (2015) declararon que la técnica de dispersión dinámica de la luz es una técnica ampliamente usada para la determinación del tamaño de partículas en una solución coloidal, para este caso en particular se sintetizaron nanopartículas de óxido de zinc por el método de precipitación, teniendo como agente precursor al $Zn(NO_2)_3$ y como agente quelante al KOH.

Además, Ashkarran et al. (2009) postularon las primeras bases para la síntesis de nanopartículas de óxido de zinc en un solo paso por medio de una corriente eléctrica en agua destilada donde se encontraba diluida la sal de zinc, en este experimento se analizaron las nanopartículas obtenidas por DLS, y mediante este análisis se comprobó que incrementando la corriente de 10 a 15 A, el tamaño de distribución se amplia y el tamaño promedio se incrementa.

3.13 Tamaño de partícula

El tamaño de partícula es un concepto que permite comparar dimensiones de partículas sólidas (manchas), partículas líquidas (gotitas) o partículas gaseosas (burbujas). El concepto de tamaño de partícula se aplica a: partículas coloidales, partículas presentes en material granular (ya sea en el aire o no) y partículas que forman un material granular.

De la misma manera Abbireddy et al. (2009) manifestaron que existen distintos métodos para determinar la distribución del tamaño de partícula los cuales son: tamizado, sedimentación, zona de detección eléctrica, difracción láser, dimensionamiento óptico de

una sola partícula, imágenes. Existe un potencial para el reemplazo de los métodos existentes con nueva tecnología aplicando estos métodos en un amplio rango de campos, aunque en la investigación hacen énfasis en suelos naturales y sintéticos.

Así mismo, Tayali y Bates (1990) afirmaron que existe una vasta cantidad de técnicas con el fin de medir el tamaño de partículas; pero se debe poner atención especial en las técnicas ópticas que emplean dispersión de múltiples partículas, o que dependen de la dispersión de una sola partícula.

Silva et al. (2013) señalaron que el tamaño de partícula de una muestra es determinado utilizando diversas técnicas. Los resultados pueden variar considerablemente de una técnica a otra, en dicha investigación se analizaron diversas técnicas de medida de partículas (Velocidad de filtrado espacial, *Photometric Stereo Imaging*) y se compararon a los conocidos métodos de referencia fuera de línea (difracción de láser).

3.14 Espectrofotometría UV-Visible

La espectroscopia ultravioleta-visible o espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Vis) es una espectroscopia de emisión de fotones que utiliza radiación electromagnética (luz) de las regiones visible, ultravioleta cercana (UV) e infrarroja cercana (NIR) del espectro electromagnético, es decir, una longitud de onda entre 195 nm y 780 nm. La radiación absorbida por las moléculas desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas.

Esta técnica se utiliza para identificar algunos grupos funcionales de moléculas y para determinar el contenido de una sustancia. Se emplea de manera general en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados.

En laboratorios de química y bioquímica, se aplica este fundamento para determinar pequeñas cantidades de cierta sustancia, como las trazas de metales en aleaciones o la concentración de cierto medicamento que puede llegar a ciertas partes del cuerpo.

Jamdagni et al. (2016) sintetizaron nanopartículas de óxido de zinc a partir de *Nycanthes arbor-tristis*, en donde se realizó un análisis UV- visible al polvo obtenido, este fue suspendido en agua desionizada, el espectro mostró un pico de absorción en 369 nm que permaneció estable luego de dos horas de reacción. Finalmente, el pico de absorbancia en condiciones óptimas fue 365nm.

Sangeetha et al. (2011) postularon que las nanopartículas de metales tienen una absorbancia de superficie de resonancia en el rango UV-Visible. En su trabajo se sintetizaron nanopartículas de óxido de zinc a partir de extracto de *Aloe barbarensis miller,* se analizó el espectro UV-Visible a temperatura ambiente en el cual todas las muestras mostraron absorción en el rango UV con un pico que va desde 358 a 375 nm para muestras con distintas concentraciones de extracto.

Francisco-Escudero et al. (2017) señalan que el pH de la síntesis tiene influencia sobre el tamaño de partículas de óxido de zinc y por ende en el pico máximo de absorbancia formado en el espectro UV visible. En su trabajo se sintetizaron nanopartículas de óxido de zinc a partir de extracto de *Opuntia Amychlaea* en donde se concluyó que los máximos picos de absorbancia para estos polvos de nanopartículas varían desde 377 nm a 361 nm.

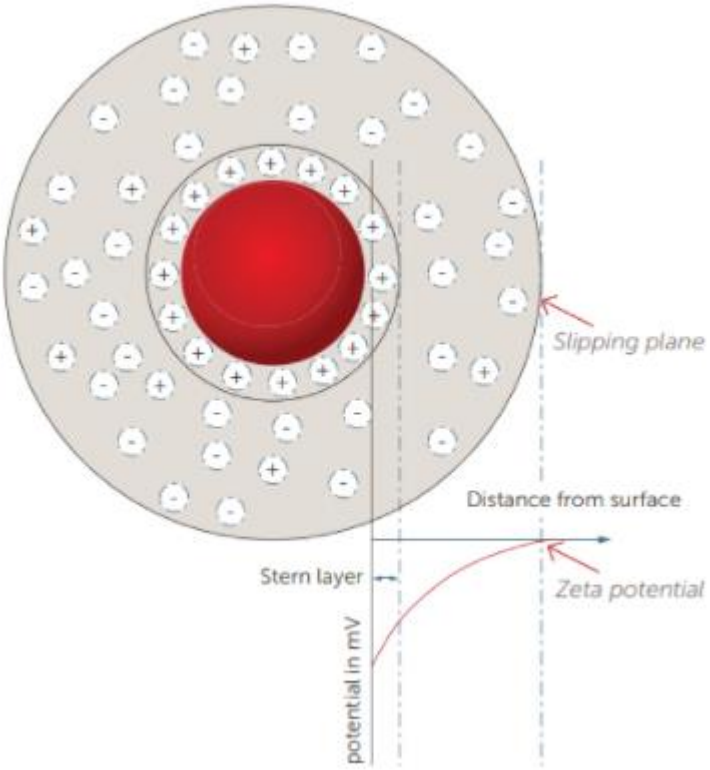
De manera similar Matinise et al. (2017) sintetizaron nanopartículas de óxido de zinc a partir de *Moringa Oleifera* de donde postularon que el pico de absorbancia empieza a decrecer en 350 nm con un punto de inflexión en 380 nm, lo cual equivale a 3.2 eV.

Este valor reafirma el valor de la brecha de banda del ZnO y por lo tanto la pureza de una única fase de las nanopartículas sintetizadas con una temperatura de calcinación a 500°C.

3.15 Potencial Z

Según Nicomp® (2024) el potencial Z es la carga de una distancia corta de la superficie de la partícula (Ver **Figura 12**).

Figura 12
Esquema del potencial Z. Nicomp®(2024)



El potencial Z es analizado aplicando un campo eléctrico a la suspensión y midiendo la velocidad y dirección del movimiento de partícula. El resultado primario de la medida del potencial Z es el movimiento electroforético μ que es usado para calcular el potencial Z utilizando la ecuación.

$$\xi = \frac{\eta\mu}{\varepsilon}$$

ξ = Potencial Z
η=viscosidad del solvente
μ=movilidad electroforética
ε= constante dieléctrica del solvente

Yoval et al. (2013) señalaron que el potencial Z es una medida de la estabilidad que posee una partícula, además indica el potencial que se requiere para que la capa de iones circuncidante sea penetrada y así poder desestabilizarla. En consecuencia, el potencial Z se refiere a la potencia electroestática que existe entre la separación de las capas que rodean a la partícula.

Mantilla et al. (2018) postularon que la medición de hidrofobicidad de unas partículas de flotación de feldespato se puede realizar mediante la medición del potencial Z de los principales minerales del sistema particulado. Los notables cambios del potencial Z se asocian a la mejora de la hidrofobicidad del feldespato y la flotabilidad del cuarzo.

Así mismo, Mayoral et al. (2014) señalaron que la propiedad de potencial Z que mide el potencial de la doble capa se puede aplicar para controlar la estabilidad y mantener homogénea la distribución del tamaño de liposomas. Los liposomas son empleados para transportar fármacos en su interior ya que son excelentes vehículos por su tamaño y biocompatibilidad.

Flores et al. (2017) expresaron que el potencial catiónico es mayor a 25 mV para la síntesis de nanobarras de oro utilizando la ruta química por el método de “semillas”. Se comprobó que el pH del coloide formado es inversamente proporcional al potencial Z e intensidad de absorción de la luz, en donde el coloide de mayor estabilidad y menor pH es 100 µL de AA.

3.16 Difracción por rayos X (DRX)

La cristalografía de rayos X es una técnica experimental para el estudio y análisis de materiales, basada en el fenómeno de difracción de los rayos X por sólidos en estado cristalino.

Los rayos X son difractados por los electrones que rodean los átomos por ser su longitud de onda del mismo orden de magnitud que el radio atómico. El haz de rayos X emergente tras esta interacción contiene información sobre la posición y tipo de átomos encontrados en su camino. Los cristales, gracias a su estructura periódica, dispersan elásticamente los haces de rayos X en ciertas direcciones y los amplifican por interferencia constructiva, originando un patrón de difracción. Existen varios tipos de detectores especiales para observar y medir la intensidad y posición de los rayos X difractados, y su análisis posterior por medios matemáticos permite obtener una representación a escala atómica de los átomos y moléculas del material estudiado.

Bunaciu et al. (2015), explicaron que la difracción de rayos X es una poderosa técnica no destructiva para caracterizar los materiales cristalinos. A la vez, se provee información de la estructura, fase, la preferencia de orientación de los cristales, entre otros parámetros estructurales, como un tamaño de grano promedio, cristalinidad, presión y defectos cristalinos. Los picos que se generan en el espectro son producidos por la interferencia constructiva de un haz monocromáticos de difracción de rayos X dispersados en ángulos específicos de cada set de planos entretejidos en una muestra.

De la misma manera Amesh (2015) señala que, aunque muchos trabajos de investigación han sido llevados al cabo en cristalografía de rayos X, hay un número limitado de investigadores en teoría cristalográfica y aplicaciones industriales para los

rayos X. Como resultado, dicho autor concluye mencionando que hoy en día las estructuras cristalinas determinan y miden el tamaño de grano, estrés residual y tensión de materiales sólidos metálicos y no metálicos y diversas aplicaciones son desempeñadas con un automatizado procedimiento si se cuenta con equipamiento sofisticado.

Así mismo Bunaciu et al (2015) argumentaron que la intensidad de los picos es determinada por la distribución de los átomos en las redes entretejidas, en consecuencia, los patrones de difracción de rayos X son como la huella digital de los arreglos de los átomos periódicos en un material dado.

Por su parte, Fewster (1993) dio a conocer los usos y limitaciones del difractómetro de doble cristal; como ventajas, se tiene del mapeo recíproco de espacio, con un difractómetro de múltiple cristal. Por lo general, la difracción de rayos X ha sido utilizada para la medida de composición y grosor en una estructura de baja dimensión. Cabe señalar que dicho autor también teorizó sobre la posibilidad del uso de la difracción de rayos X para determinar la calidad de interfaz, la evolución de las redes de relajación, la microestructura detallada, entro otros.

De los párrafos anteriores, se puede inferir que la difracción por rayos X ha tenido un significativo aporte a la ciencia en el ámbito de la identificación y determinación de diversas estructuras. Con referencia a las nanopartículas de metales y óxidos metálicos, la difracción por rayos X se utiliza como un método de caracterización para la determinación de la estructura formada y el tamaño de grano que esta posee, tal como lo emplean en diversos estudios. [Dorofeev et al. (2012), Petkov et al. (2015), Tomita et al. (2002)]

3.17 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Penagos (2013) postuló que la microscopía electrónica de barrido SEM (*Scanning Electron Microscopy*) es una técnica de análisis topográfico, estructural y composicional. En lugar de registrar fotones como la tradicional microscopía óptica, un equipo de SEM es capaz de detectar la respuesta del material al impacto de un haz de electrones. Luego de ser impactada por el haz de electrones de alta energía, la muestra produce señales que son registradas por los detectores del equipo, finalmente cada señal ofrece información acerca de la topografía, composición, conductividad eléctrica de la muestra.

Este sistema está compuesto de una cámara de vacío en la cual se coloca la muestra, ya sea conductora o aislante. Esta muestra es impactada por un haz de electrones que son emitidos por un filamento de tungsteno (W) o de hexaboruro de lantano (LaB_6). Este haz de electrones tiene la capacidad de moverse y barrer el área de interés. Cuando el haz de electrones impacta sobre la muestra obtenemos electrones retrodispersados los cuales son detectados por el sensor CBS (*Circular Backscatter Detector*) que nos brinda información superficial de la muestra. Por otro lado, en el impacto del haz con la muestra también se obtienen electrones secundarios los cuales son censados por el detector EDT (*Everhart-Thornley Detector*) el cual nos brinda información topológica de la muestra a analizar. Además, Torres (2023) indicó que en los sistemas SEM se utilizan los rayos X emitidos por la muestra debido a la interacción con el haz de electrones y se obtiene información de la composición atómica de la muestra. El equipo que se empleó en esta investigación fue el SEM modelo Prisma E de la marca Thermo Fisher, el cual tiene la capacidad de ampliación que le permite llegar hasta la escala micrométrica y nanométrica.

3.18 Espectroscopía de energía dispersiva (EDS)

La espectroscopia de energía dispersiva EDS (*Energy dispersive spectroscopy*) es una técnica de caracterización química y análisis elemental de diversos materiales (T.F.Scientific, 2021). El principio de esta técnica está basado en la excitación de una muestra por una fuente de energía, que puede ser un haz de electrones generado en un SEM. La muestra excitada disipa parte de la energía absorbida expulsando un electrón de un átomo de la muestra. El electrón de la capa exterior de mayor energía procede a ocupar su lugar, y libera la diferencia de energía como un rayo X que tiene un espectro característico para cada elemento de la muestra. Esto posibilita determinar la composición de la muestra que se está analizando. Las gráficas EDS muestran picos característicos de los elementos determinando su posición y la intensidad de los picos nos dan información de su concentración en una determinada zona de análisis. (T.F.Scientific, 2021)

4.Procedimientos experimentales

4.1 Adquisición y preparación de la materia orgánica

El procedimiento se llevó al cabo según la metodología de Carbonel et al. (2016) quienes sostienen que se debe comprar la planta procedente de Junín, y se debe identificar la especie en el Museo de Historia Natural Mayor de San Marcos. La planta entera debe ser lavada con agua del grifo y luego con agua destilada, luego se debe secar en una estufa a 45°C y posteriormente debe ser molida.

Diagrama 1

Preparación de la materia orgánica.



4.2 Preparación del extracto de la planta y determinación de la capacidad antioxidante

De acuerdo con la metodología de Thi et al. (2020) se debe colocar 1 gramo de la materia orgánica que se desee analizar, en esta investigación se utilizaron las hojas de la planta en 50 mL de agua desionizada y se lleva a agitación por 3 horas, una vez macerado, la mezcla se calienta en una cocinilla a 60°C por 1 hora.

4.2.1 Determinación de polifenoles totales

a. Preparación de reactivo Folin- Ciocalteu: En una fiola volumétrica de 10 ml se agregó 1 mL de Reactivo Folin-Ciocalteu y se completó con 9 mL agua destilada hasta aforar el volumen (FC1).

b. Preparación del carbonato de sodio: En una fiola volumétrica de 10 mL se disolvió 0.4 g de Na_2CO_3 y se completó con agua destilada (FC2).

c. Preparación de la muestra de blanco o referencia: a 0.5 mL de agua destilada se agregó 2.5 mL de FC1, y se homogenizó en un vortex a 750 rpm por 5 minutos, luego se agregó 2 mL de FC2 y se homogenizó la mezcla en un vortex a 750 rpm por 5 minutos, se dejó en reposo durante dos horas en la oscuridad. Se midió la absorbancia a 740 nm en un espectrofotómetro Uv-Vis Biochrom Libra S22 ubicado en el laboratorio de Rayos X de la facultad de Ciencias Físicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

d. Preparación de los patrones y la curva de calibración: Se prepararon las disoluciones patrón con ácido gálico en las concentraciones de [10, 20, 30, 40, 50, 75 y 100 µg/mL]. Se tomó una alícuota de 0.5 mL de cada dilución, se agregó 2.5 mL de FC1, y se homogenizó en un vortex de 750 rpm por 5 minutos, luego se agregaron 2 mL de FC2. Se homogenizó la mezcla en un vortex a 750 rpm por 5 minutos, se dejó en reposo durante dos horas en la oscuridad. Se midió la absorbancia a 740 nm en el espectrofotómetro UV-Vis Biochrom Libra S22. El mismo proceso se ejecutó para cada concentración de ácido gálico. Se graficó la curva de calibración Absorbancia vs. Concentración µg ácido gálico/mL agua, de ello se obtuvo la ecuación de la recta.

e. Preparación y evaluación de la muestra problema: Se toma una alícuota de 0.5 mL, para este caso se diluyó al 25% ya que la coloración al 100% era muy intensa, se agregaron 2.5 mL de FC1, y se homogenizó en un vortex a 750 rpm por 5 minutos, luego se agregaron 2 mL

de FC2. Se homogenizó la mezcla en un vortex a 750 rpm por 5 minutos, se dejó en reposo durante dos horas en la oscuridad. Se midió la absorbancia a 740 nm en el espectrofotómetro uv – visible Biochrom Libra S22. Con la ecuación de la recta obtenida en "c" se halló la concentración de polifenoles totales, la cual se expresó en grados (equivalentes de ácido gálico/mL agua).

4.2.2 Determinación de flavonoides totales

a. Preparación de Metanol 80%: En una fiola volumétrica de 50 mL, se agregaron 40 mL de metanol y se completó con 10 mL. Luego de cerrar la fiola se mezcló por agitación manual (FL1).

b. Preparación de la solución $AlCl_3$: En una fiola de 10 mL se agregó 0.2 mL de $AlCl_3$ y se completó con FL1 hasta aforar el volumen (FL2).

c. Preparación del blanco o referencia: a 0.4 mL de FL1 se agregó 0.4 mL de FL2 y 4.2 de FL1, se llevó a agitación en un vortex por 5 minutos a 750 rpm, se dejó en reposo 25 minutos en la oscuridad. Posterior a ello se midió la absorbancia a 427 nm en el espectrofotómetro Uv- Visible Biochrom Libra S22.

d. Curva de calibración: Se prepararon concentraciones de 10, 20, 30, 40, 50, 75 y 100 µg Quercetina/mL metanol 80%. Se tomó una alícuota de 0.4 mL de la dilución anterior y se agregó 0.4 mL de FL2 y 4.2 de FL1, se llevó a agitación en un vortex por 5 minutos a 750 rpm, se dejó en reposo 25 minutos en la oscuridad. Posterior a ello se midió la absorbancia a 427 nm en el espectrofotómetro uv- visible Biochrom Libra S22. Se graficó la curva Absorbancia vs concentración (µg Quercetina/mL metanol 80%) y se obtuvo la ecuación de la recta.

e. Dilución de las muestras: Se tomó una alícuota de 0.4 mL de la dilución de 5%, posterior a ello se agregó 0.4 mL de FL2 y 4.2 mL de FL1, se llevó a agitación en un vortex por 5

minutos a 750 rpm, se dejó en reposo por 25 minutos en la oscuridad. Posterior a ello se midió la absorbancia a 427 nm en el espectrofotómetro uv- visible Biochrom Libra S22. Con la ecuación de la recta obtenida en "c", se halló la concentración de flavonoides en (equivalentes de Quercetina/mL metanol 80%).

4.2.3 Determinación de actividad antioxidante total

a. Preparación del reactivo DPPH: Se pesó 0.100 g de DPPH, y se disolvió con etanol en una fiola de 50 mL (ST1). Luego se tomó de ST1 una alícuota de 2 mL y se llevó a una fiola de 100 mL que se completó con etanol (ST2).

Preparación de patrones de Trolox: Se usa como patrón el Trolox, se prepara una solución madre de 100 µl del Trolox/mL etanol. Luego se lleva a dilución con las concentraciones 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100 µg/mL etanol en un volumen total de 800 µl. Luego a esos 800 µl de cada concentración se añade ST2. Homogenizar y dejar reposar por 30 minutos a la oscuridad. Medir la absorbancia a 517 nm. La siguiente ecuación se utiliza para hallar el porcentaje de inhibición en la gráfica [% de inhibición vs concentración del Trolox]

$$\%\ Inhibición = \frac{Abs\ DPPH - Abs\ trolox}{Abs\ DPPH}\ x\ 100 \quad \textbf{(1)}$$

Donde:

Abs DPPH: absorbancia cuando la concentración del extracto es 0, en otras palabras, cuando solo se encuentra la disolución con metanol del DPPH.

Abs Trolox: absorbancia que se registró cuando se evaluó cada disolución de Trolox.

b. Curva de calibración: Se prepararon diluciones de Trolox a las concentraciones 10, 20, 30, 40, 50, 60, 75 y 100 µg Trolox/mL etanol. Se tomó una alícuota de 0.8 mL de la primera solución (ST1)

c. Preparación de la dilución del extracto: Se preparó una solución de 1.5 mL del extracto de *Gentianella tristicha.*

Se completa la solución con etanol hasta llegar a 1.5 mL, luego se añade 7.5 mL de la solución de DDPH ST2. Se agita manualmente y se guarda 30 minutos de la luz, luego se mide en el espectrofotómetro Uv-Visible Biochrom Libra S22 a 517 nm con un barrido lento, para el blanco o muestra de referencia se utilizó etanol.

[Absorbancia vs concentración de extracto] Vs. [% de inhibición vs concentración del extracto]

$$\%Inhibición = \frac{Abs\ DPPH - Abs\ muestra}{Abs\ DPPH}\ x\ 100 \quad \textbf{(2)}$$

Donde:

Abs DPPH = absorbancia cuando la concentración del extracto es 0, en otras palabras, cuando solo se encuentra la disolución con etanol del DPPH.

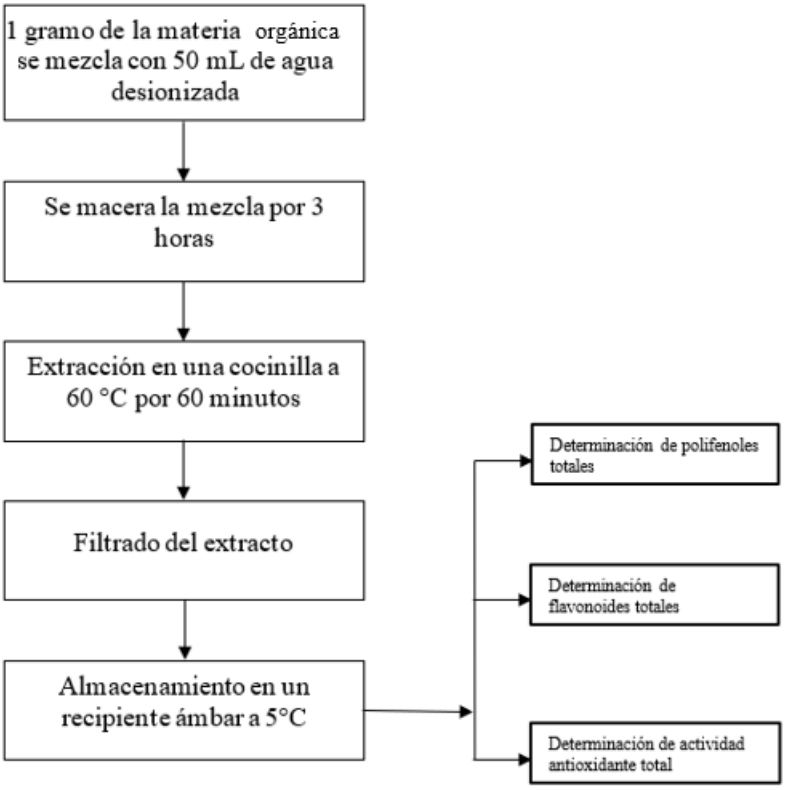
Abs muestra = absorbancia que se registró cuando se evaluó la muestra.

e. Cálculo del IC50: De la gráfica 2 y 4 se calcula el IC 50, el cual es la cantidad mínima necesaria para inhibir al 50% el extracto de *Gentianella Tristicha.*

El extracto también puede expresarse en equivalentes trolox μM/g de muestra fresca.

Diagrama 2

Proceso de preparación de la planta y evaluación de la capacidad antioxidante

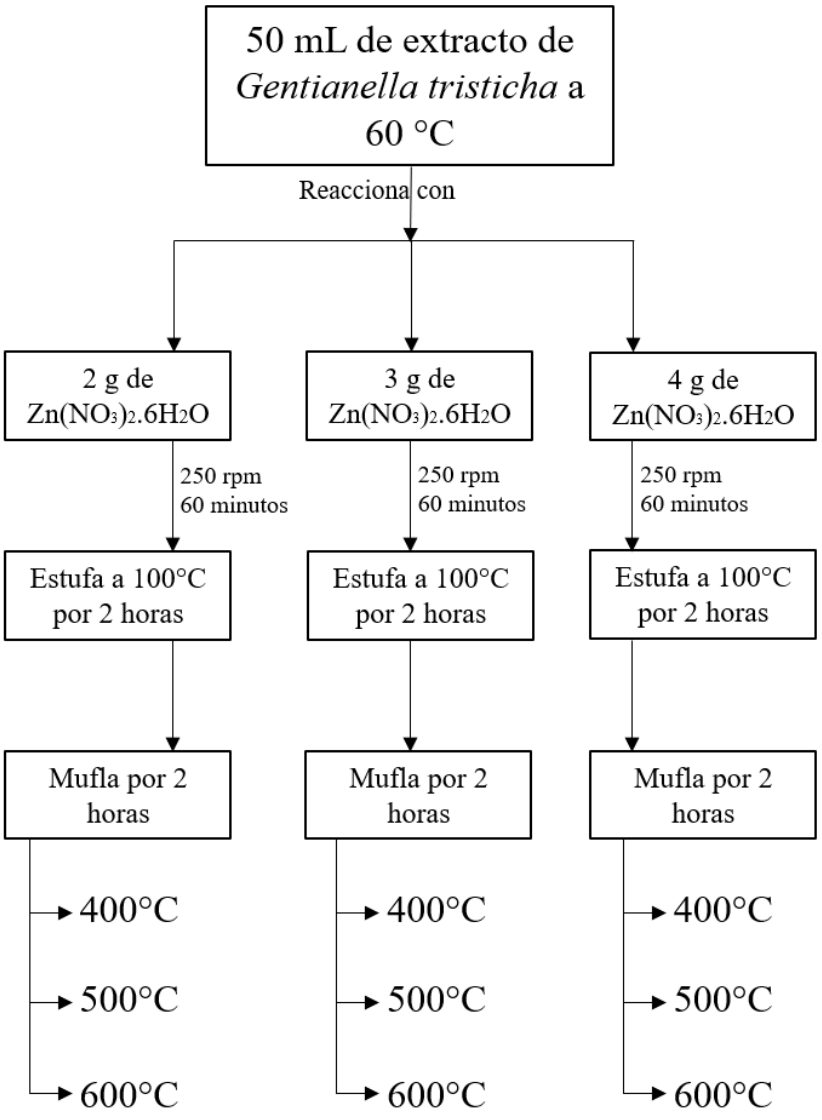


4.3 Síntesis de NPs de ZnO y tratamiento térmico

Según Thi et al. (2020) para la preparación de nanopartículas de ZnO se añaden 2 g de acetato de zinc a 50 mL del extracto y se lleva a una cocinilla eléctrica, por 60 minutos a 60°C. Luego se lleva al primer tratamiento térmico en una estufa a 100 °C hasta secado, después se lleva al segundo tratamiento térmico a 400°C por 1 hora. Tomando en consideración a estos autores y otras referencias más, el procedimiento adoptado para este trabajo considera el estudio de 2 parámetros: la concentración del precursor y la temperatura de calcinación, para cada uno de ellos 3 valores diferentes a fin de encontrar la mejor relación de parámetros que permita obtener nanopartículas de ZnO con características adecuadas en tamaño y forma de la nanopartícula para su aplicación en agricultura. En el diagrama 3 se ilustra el procedimiento a seguir. Además, las nanopartículas resultantes serán comparadas con nanopartículas comerciales sintetizadas mediante métodos químicos y físicos convencionales que ofrecen los proveedores actuales, para ello se adquirió 500 gramos de nanopartículas de ZnO en *US Research Manomaterials, Inc*., (valuada en US$ 128.00). Los análisis que se realizaron fueron por espectrofotometría UV-Vis, DLS, Potencial Z y DRX.

Diagrama 3

Procedimiento de síntesis de NPs de ZnO y tratamiento térmico respectivo



5.Resultados

5.1 Adquisición y preparación de la materia orgánica

Se compraron 4 kg de *Gentianella tristicha* en el mercado de la avenida Aviación N°342 en el comercial Lirio de los Valles, distrito del Agustino, Lima-Perú, que tuvo un costo de 52 nuevos soles.

En cuanto a la preparación de la muestra, los 4 kilogramos de planta bruta contenían tierra, pequeñas piedras, plantas pequeñas incrustadas, por lo que se procedió a separar las hojas, flores y tallos de la raíz e impurezas. El proceso se realizó por lote, en total fueron 3 lote de 1 kilogramos cada uno. Así mismo, un kilogramo se reservó para alguna síntesis de emergencia y para la identificación botánica en el Herbario de San Marcos (USM) del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Ver anexo 10). Los resultados de la limpieza de cada kilogramo de planta se muestran en la tabla 3 a continuación.

Tabla 3
Rendimiento entre el peso bruto de la planta y el peso neto de la planta

Número de lote	Peso bruto (g)	Peso neto (g)	Rendimiento $\frac{\text{g de Gentianella tristicha neta}}{\text{g de Gentianella tristicha en bruto}} x100\%$
1	1004	748	74.50
2	1003	796	79.36
3	1004	742	73.90
4	Se reservó	Se reservó	0

Se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk por que la muestra poseía menos de 50 datos, si se utilizara la prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov podría producir un sesgo en los resultados, hallar la normalidad de los datos es importante para poder apreciar la distribución de estos y decidir el tratamiento estadístico adecuado para óptimos resultados.

Tabla 4

Tratamiento estadístico de Shaphiro-Wilk para determinar el tipo de distribución de los datos.

	Estadístico	**Grados de libertad**	**p**
Peso bruto	0.750	3	0.000
Peso Neto	0.832	3	0.194
Rendimiento	0.831	3	0.191

De donde se plantean las siguientes hipótesis; Ho: Los datos poseen una distribución normal, Ha: Los datos no poseen una distribución normal. Si $p<0.05$, se rechaza Ho. Con los valores de la fila p de la Tabla 4, con un nivel de significancia del 95%, se determina que los datos de “Peso bruto” no tienen una distribución normal, los datos de “Peso neto” y “Rendimiento” sí poseen una distribución normal.

Tabla 5

Estadísticos descriptivos de Peso bruto, Peso Neto y Rendimiento.

Parámetro / Estadístico		Peso bruto (g)	Peso neto (g)	Rendimiento (%)
Media		1003.6667	762.0000	75.9228
95% de intervalo de confianza	**Límite inferior**	1002.2324	688.4762	68.4869
	Límite superior	1005.1009	835.5238	83.3586
Mediana		1004.0000	748.0000	74.5020
Varianza		0.333	876.000	8.960
Desviación estándar		0.57735	29.59730	2.99334
Mínimo		1003.00	742.00	73.90
Máximo		1004.00	796.00	79.36
Rango		1.00	54.00	5.46

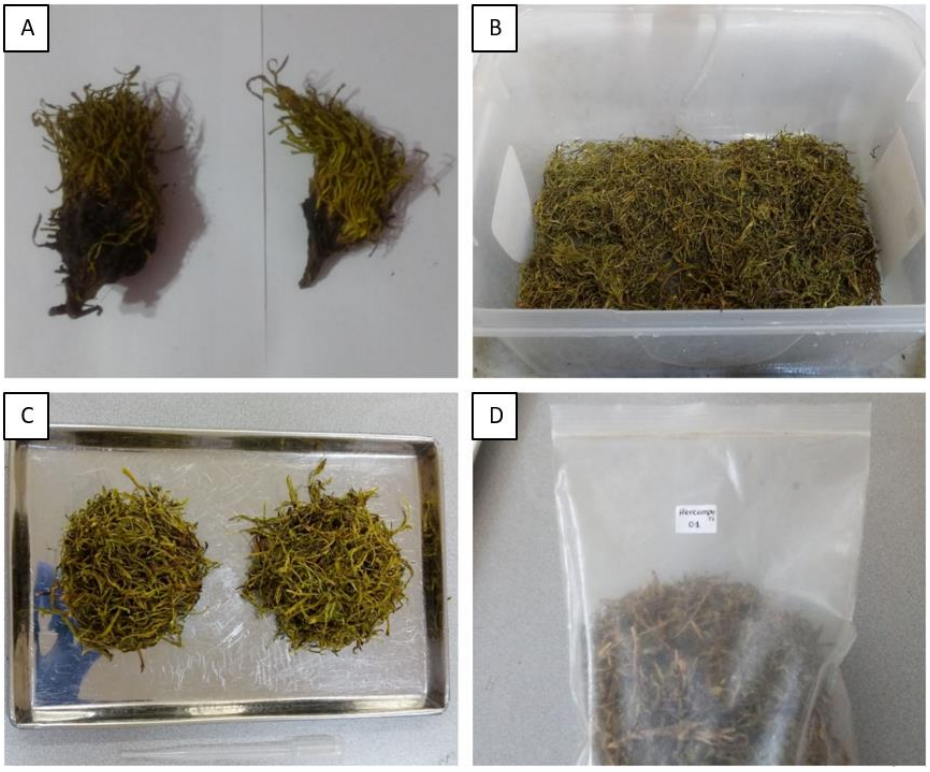
Una vez obtenido el material limpio de impurezas como piedras y otras hierbas, se lavó con agua potable con tres enjuagues, para retirar las impurezas restantes. Luego se desinfectó con lejía comercial al 5%. Finalmente se enjuagó con agua de desionizada dos veces con agitación intensa, se dejó escurrir y luego reposar sobre papel toalla para quitar todo excedente posible de humedad.

Se colocaron las hojas en una bandeja de aluminio y se procedió al secado en un horno ubicado en el laboratorio de preparación de muestras del CITBM (Sótano del pabellón de facultad de Ciencias Físicas), a 50°C por 4 horas.

Luego del secado, las hojas se encuentran en un punto quebradizo, se almacenan en bolsas con cierre hermético, un lugar seco y oculto de la luz solar (Ver **Figura 13**).

Figura 13

Limpieza y secado de la planta Gentianella tristicha



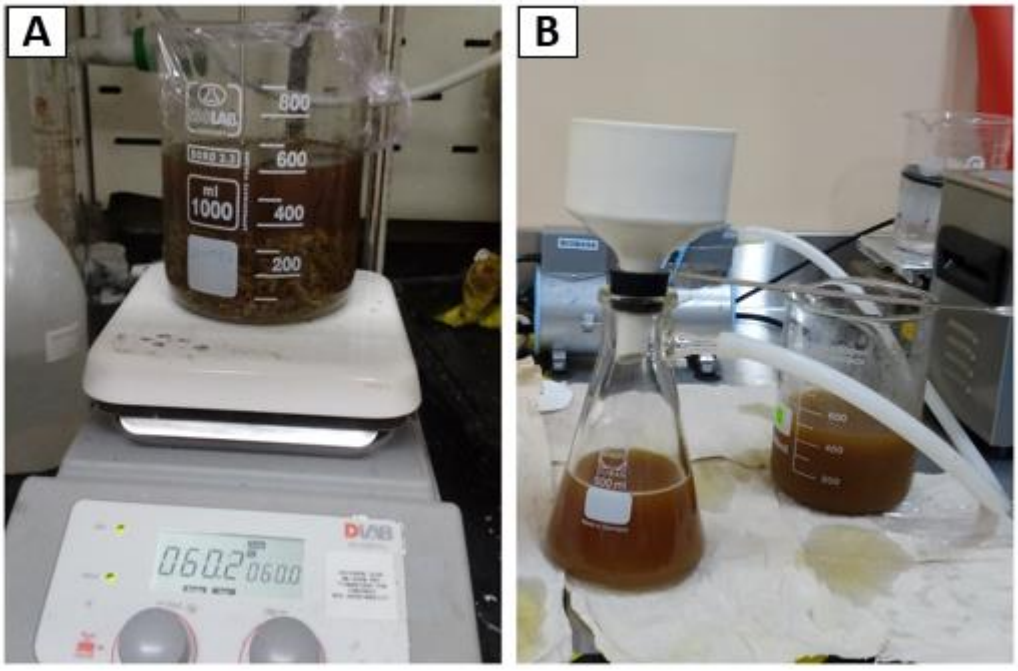
Nota: (A) Planta entera. (B) Lavado de planta con lejía comercial, agua de grifo y agua de ósmosis inversa. (C) Secado de planta. (D) Almacenamiento de la planta seca en bolsas con cierre hermético.

5.2 Preparación del extracto de la planta

Se pesan 20 gramos de la planta *Gentianella tristicha* y se mezclan con 500 mL de agua ultrapura en un vaso de precipitado (concentración 2g/50 mL de agua ultrapura). En una cocinilla eléctrica se realiza la extracción a la mezcla a 250 rpm, 60°C por 60 minutos (Ver **Figura 14**).

Figura 14

Preparación del extracto de la planta Gentianella tristicha



Nota: (A) Se muestra la extracción en un vaso de precipitado de 1L a 60°C por 1 hora. (B) Filtración al vacío del extracto.

Luego de eso se deja reposar la mezcla y se filtra con un cernidor de cocina, luego una malla metálica número 300. Finalmente se hace el filtrado mediante una bomba de vacío y papel filtro estándar. Se almacena en un envase de plástico a 5°C en un refrigerador.

5.3 Determinación de polifenoles totales del extracto de *Gentianella tristicha*

- **Preparación de curva de calibración para determinación de polifenoles totales**.

Se realizaron diluciones a partir de una solución madre de ácido gálico y se reportaron las siguientes absorbancias.

Tabla 6

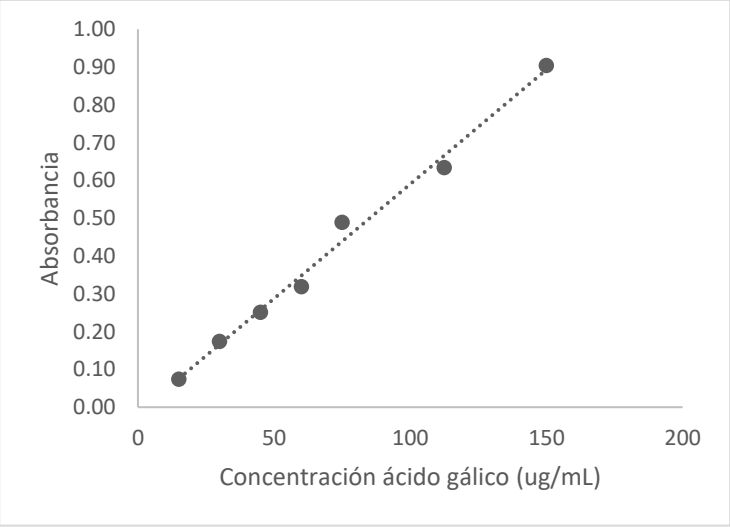
Concentración de los estándares y absorbancia para la medida de polifenoles totales

Concentración (µg ácido gálico/mL)	Absorbancia
15	0.07
30	0.17
45	0.25
60	0.32
75	0.49
112.5	0.63
150	0.90

Con la concentración y absorbancia de cada solución de ácido gálico se elaboró la curva de calibración.

Gráfica 1

Curva de calibración con el estándar de ácido gálico para determinar el contenido de polifenoles totales



De donde se obtiene la ecuación

$$y = 0.00605x - 0.01692$$

Ecuación (3)

Con un coeficiente de correlación de Pearson igual a 0.9952 y un R^2 de 0.988851.

- **Medición de la concentración de polifenoles totales en el extracto de *Gentianella tristicha***.

Se analizó por espectrofotometría de absorción UV-Visible el extracto de *Gentianella tristicha* que será empleado en la síntesis de las nanopartículas de óxido de zinc, de donde se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 7
Concentración de polifenoles totales en el extracto de Gentianella tristicha

Repetición	Absorbancia a 740 nm	Mediana	Desviación estándar	Polifenoles totales (equivalente µg ácido gálico/mL)
1	0.93			
2	0.93	0.930	0.006	156.516
3	0.94			

Se realizó una prueba de normalidad a los datos de la Tabla 7, estos resultados se muestran en la tabla 8.

Tabla 8
Prueba de normalidad para los datos de absorbancia para la determinación de polifenoles totales

Prueba Shapiro-Wilk	Estadístico	Grados de libertad	Significancia
Absorbancia de polifenoles totales	0.750	3	0.000

De donde se plantean las hipótesis estadísticas:

Ho: La distribución de los datos de absorbancia de polifenoles totales posee una distribución normal.

Ha: La distribución de los datos de absorbancia de polifenoles totales no posee una distribución normal.

Si p<0.05, entonces se rechaza Ho. De la **Tabla 8**, p<0.05, entonces se rechaza Ho, se acepta Ha: Con una probabilidad del 95%, los datos no poseen una distribución normal.

Tabla 9
Estadísticos descriptivos para la absorbancia de polifenoles totales.

Media		0.9333
95% de intervalo de confianza para la media	**Límite inferior**	0.9190
	Límite superior	0.9477
Mediana		0.9300
Varianza		0.000
Desviación estándar		0.00577
Mínimo		0.93
Máximo		0.94
Rango		0.01

Nota: Se utilizará la mediana debido a que los datos no poseen una distribución normal.

Del extracto preparado en 7.2 se obtiene la absorbancia promedio de 0.930 con una desviación estándar de 0.006 y, por ende, reemplazando en la Ecuación 4 y multiplicando por el factor de dilución del extracto explicado en 3.6 parte "e" se obtiene una concentración de $156.516\ \frac{equivalente-\ \mu\ gramos\ ácido\ gálico}{mL} \pm 3.63x10^{-5}$.

5.4 Determinación de flavonoides totales del extracto de *Gentianella tristicha*

Se realizaron diluciones a partir de una solución estándar de quercetina y se obtuvieron las siguientes absorbancias:

Tabla 10

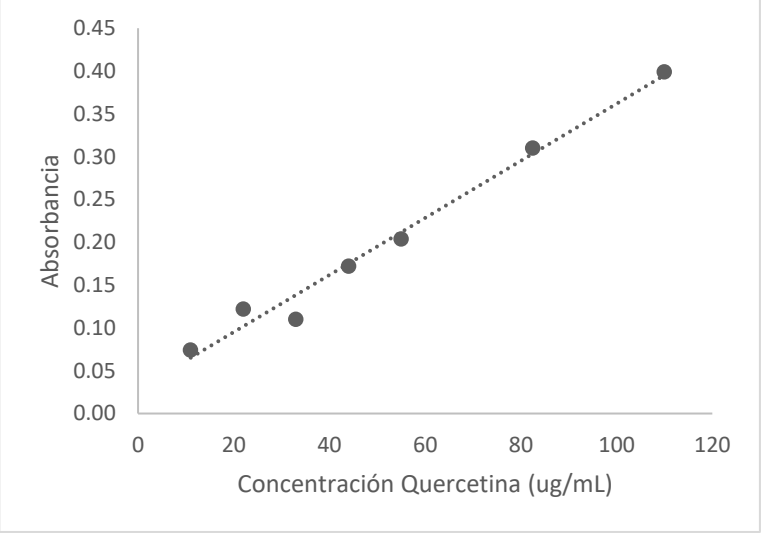
Concentración del estándar de quercetina y absorbancia resultante

Concentración (µg Quercetina/mL)	Absorbancia
11	0.07
22	0.12
33	0.11
44	0.17
55	0.20
82.5	0.31
110	0.40

Con la concentración y absorbancia de cada estándar de quercetina se realizó la curva de calibración.

Gráfica 2

Curva de calibración del estándar de quercetina para la determinación de flavonoides totales



De donde se obtiene la ecuación

$$y = 0.00337x + 0.025 \quad \textbf{(4)}$$

con un coeficiente de Pearson de 0.99185 y un R^2=0.98051.

Se analizó por espectrofotometría de absorción UV-Visible el extracto empleado en la síntesis de las nanopartículas de óxido de zinc, de donde se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 11
Concentración de flavonoides en el extracto de Gentianella tristicha

Repetición	Absorbancia a 527nm	Mediana	Desviación estándar	Flavonoides (µg quercetina/mL)
1	0.87			
2	0.88	0.88	0.006	253.709
3	0.88			

Se realizó la prueba de normalidad a los datos de la **Tabla 11** de donde se obtuvo:

Tabla 12
Prueba de normalidad para los datos de absorbancia para la determinación de flavonoides

Prueba Shapiro-Wilk	Estadístico	Grados de Libertad	Significancia
Absorbancia de polifenoles totales	0.750	3	0.000

Nota: Se utiliza la prueba Shapiro Wilk debido a que la muestra posee menos de 50 datos.

De donde se plantean las hipótesis estadísticas:

Ho: La distribución de los datos de absorbancia de flavonoides totales posee una distribución normal.

Ha: La distribución de los datos de absorbancia de flavonoides totales no posee una distribución normal.

Si p<0.05, entonces se rechaza Ho. De la **Tabla 12**, p<0.05, entonces se rechaza Ho, se acepta Ha: Con una probabilidad del 95%, los datos no poseen una distribución normal. Luego se calculan los estadísticos descriptivos para la Tabla 11.

Tabla 13
Estadísticos descriptivos para los valores de absorbancia de flavonoides totales

Media		0.8767
95% de intervalo de confianza para la media	**Límite inferior**	0.8623
	Límite superior	0.8910
Mediana		0.8800
Varianza		0.000
Desviación estándar		0.00577
Mínimo		0.87
Máximo		0.88
Rango		0.01

Nota: se utilizará la mediana para posteriores cálculos debido a que la distribución de los datos no es normal.

Del extracto preparado en 7.2 se obtiene la absorbancia 0.88 con una desviación estándar de 0.006 y por ende reemplazando en la Ecuación 5 se obtiene una concentración de $253.709 \frac{equivalente - \mu\ gramos\ quercetina}{mL} \pm 2.022x10^{-5}$.

5.5 Determinación de la capacidad antioxidante total de la *Gentianella tristicha*

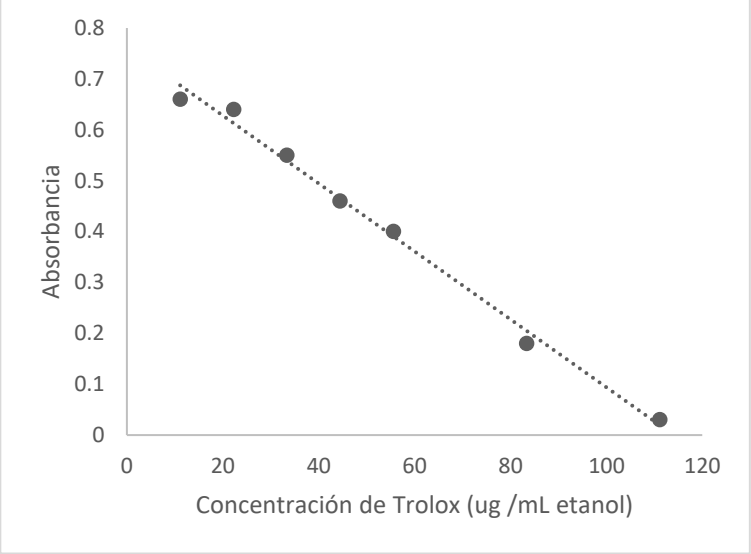
Se realizaron diluciones a partir de una solución estándar de Trolox y se obtuvieron las siguientes absorbancias:

Tabla 14
Concentración de Trolox y absorbancia resultante

Concentración de trolox (µg/ mL etanol)	Absorbancia
11.11	0.66
22.22	0.64
33.33	0.55
44.44	0.46
55.55	0.40
83.33	0.18
111.11	0.03

Con la concentración y absorbancia de cada estándar de trolox se realizó la curva de calibración.

Gráfica 3
Curva de calibración con el estándar Trolox para determinar la actividad antioxidante



De donde se obtiene la ecuación

$$y = -0.00666x - 0.76132 \quad \textbf{(5)}$$

con un r=-0.9961 y un R^2 de 0.99188

Del extracto preparado en 7.2 se obtiene la absorbancia que se muestra en la tabla a continuación:

Tabla 15
Absorbancia para la actividad antioxidante para el extracto de Gentianella tristicha

Repetición	Absorbancia a 517 nm	Promedio	Desviación estándar	Actividad Antioxidante (equivalente µg Trolox/mL)
1	0.15			
2	0.19	0.173	0.021	88.286
3	0.18			

Entonces se realizó la prueba de normalidad para los datos de absorbancia de las Tablas 7, 9 y 11. Para ello se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk debido a que la muestra tenía menos de 50 datos.

Tabla 16
Prueba de normalidad para los datos de absorbancia de la actividad antioxidante

Prueba Shapiro-Wilk	Estadístico	Grados de Libertad	Sig.(p)
Absorbancia de actividad antioxidante total	0.750	3	0.463

De donde se plantean las hipótesis:

Ho: Los datos presentan una distribución normal.

Ha: los datos no presentan una distribución normal.

Si $p<0.05$, se rechaza Ho, de la **Tabla 16** $p>0.05$, entonces no se rechaza Ho, se acepta Ho, que expresa que con una probabilidad del 95% los datos sí presentan una distribución normal.

Tabla 17
Estadísticos descriptivos para la absorbancia de actividad antioxidante total.

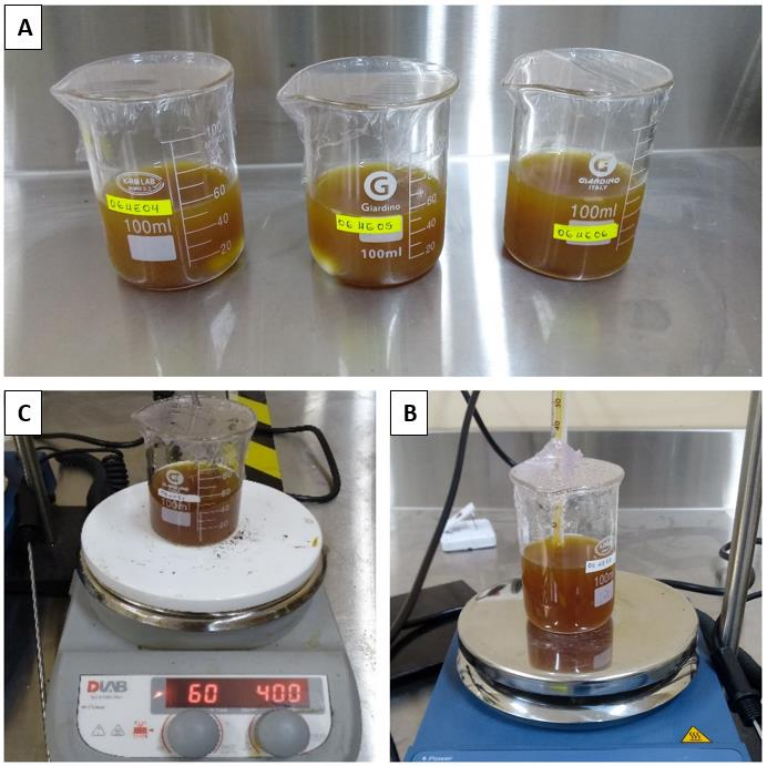
Media		0.1733
95% de intervalo de confianza para la media	**Límite inferior**	0.1216
	Límite superior	0.2250
Mediana		0.1800
Varianza		0.000
Desviación estándar		0.0208
Mínimo		0.15
Máximo		0.19
Rango		0.04

Como es una distribución normal, se reemplazará la media la Ecuación 5 se obtiene una concentración de $88.286 \frac{equivalente - \mu\ gramos\ de\ trolox}{mL} \pm 0.00014$.

5.6 Síntesis de nanopartículas de ZnO

Se realizó la reacción con 50 mL del extracto de *Gentianella tristicha* obtenido según se describió en la sección 5.2, luego se agregó 2 gramos de nitrato de zinc hexahidratado $[Zn(NO_3)_2].6H_2O$ en un vaso precipitado con capacidad de 50 mL a 60 °C por 60 minutos a 250 rpm de agitación (Ver **Figura 15**) . Finalmente, se procedió a lavar las nanopartículas sintetizadas con 100 mL de agua ultrapura por 4 veces, luego se filtró con papel filtro Whatman número 42. El mismo proceso se repitió con 3 y 4 gramos de nitrato de zinc hexahidratado $[Zn(NO_3)_2].6H_2O$, los pesos exactos se muestran en la **Tabla 20**.

Figura 15
Síntesis de nanopartículas de óxido de Zinc



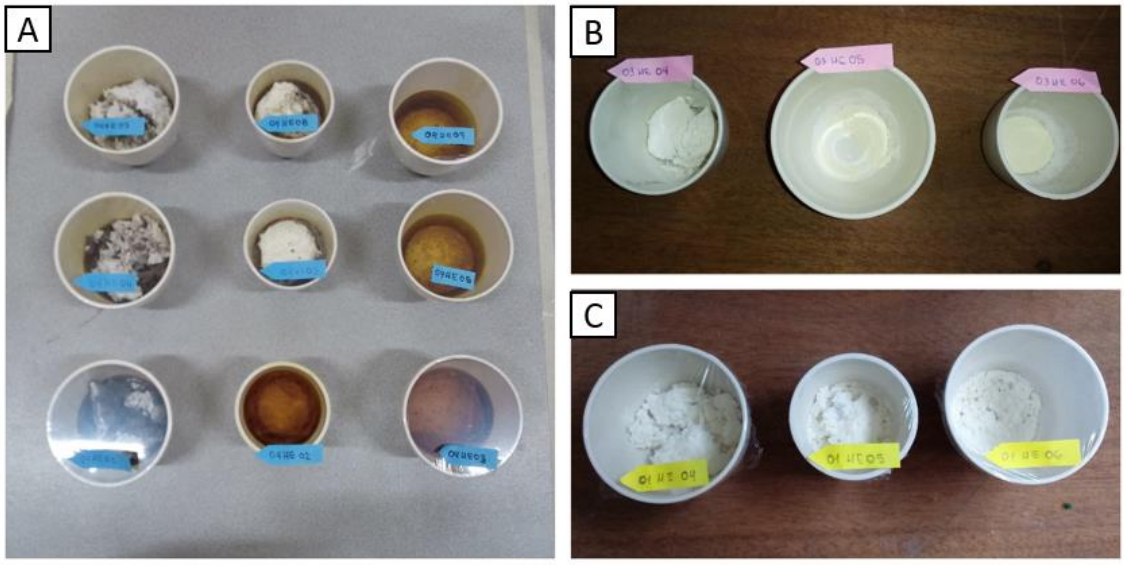
Nota: (A) Vasos precipitados previos a la síntesis que contienen el extracto de Gentianella tristicha y la sal de nitrato de zinc. (B)Síntesis de NPs de ZnO en una cocinilla con control de temperatura. (C) Síntesis de óxido de zinc en una cocinilla con termómetro utilizando extracto de *Gentianella tristicha*.

5.7 Tratamiento térmico

Con el fin de proporcionar un adecuado pretratamiento térmico se llevó el resultado de la síntesis realizada en el ítem anterior a un horno de secado por 2 horas a 100°C (Ver **Figura 16**). Finalmente se realizó el tratamiento térmico en una mufla a 400°C por 2 horas. Se repitió el mismo proceso para las otras 2 muestras a 500°C y 600°C.

Figura 16

Resultados de la síntesis de NPs de ZnO en las diferentes fases del tratamiento térmico

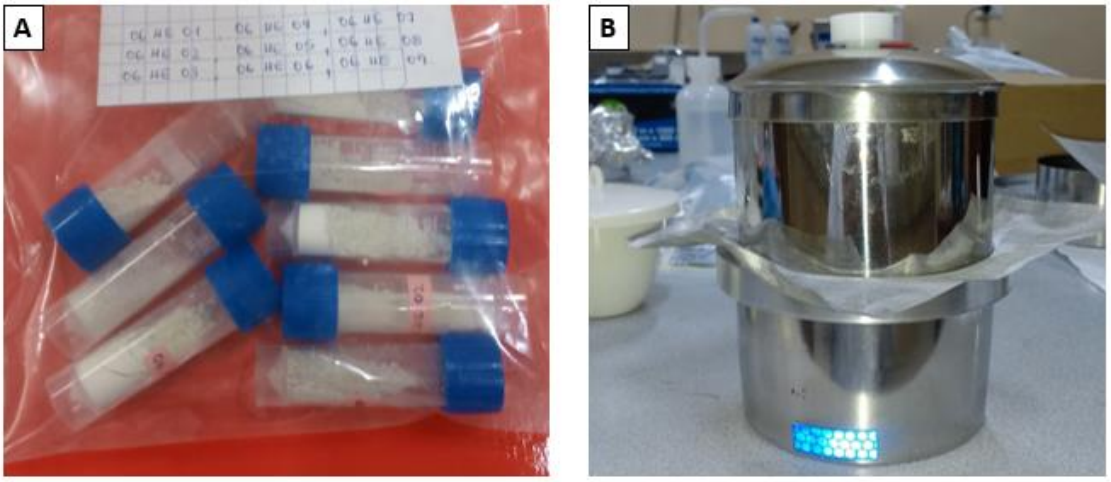


Nota: (A) Muestras después del pretratamiento térmico. (B) y (C) Muestras después del tratamiento térmico en la mufla.

Luego se obtuvo un polvo blanquecino que se tamizó y se almacenó en un tubo porta muestras de plástico con capacidad de 5 mL (Ver **Figura 17**), el cual fue cubierto con papel aluminio para evitar la exposición a la luz solar, finalmente se almacenó en un lugar seco para su posterior análisis.

Figura 17

Etapa final de la elaboración de NPs de ZnO



Nota: (A) Polvo de NPs de ZnO final almacenado en porta muestras antes de ser recubiertas con papel aluminio. (B) Tamizaje de NPs de ZnO para otorgar un tamaño uniforme al producto final.

Todas las combinaciones experimentales se hicieron según la **Tabla 18**:

El número de síntesis y repetición se expresó como se indica en la **Figura 18**.

Figura 18

Nomenclatura de las distintas síntesis desarrolladas

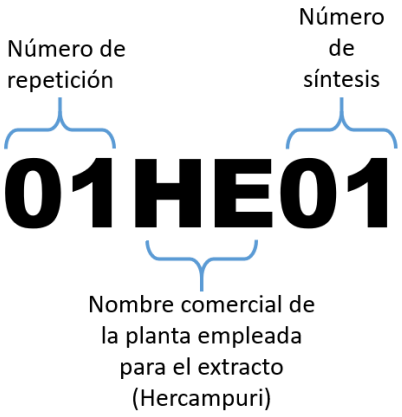


Tabla 18

Parámetros para los nueve tipos 9 síntesis de nanopartículas de óxido de zinc.

Nombre de síntesis	Temperatura [°C]	Concentración de la sal precursora en la síntesis $[\frac{g\ Zn(NO_3)_2.6H_2O}{mL\ extracto\ Gentianella\ tristicha}]$
HE01	400	0.04
HE02	400	0.06
HE03	400	0.08
HE04	500	0.04
HE05	500	0.06
HE06	500	0.08
HE07	600	0.04
HE08	600	0.06
HE09	600	0.08

Tabla 19

Diseño factorial de los experimentos realizados

		Concentración [g Zn $(NO_3)_2$/mL extracto de *Gentianella tristicha*]								
		0.04			0.06			0.08		
Temperatura de calcinación (°C)	400	01HE01 (Repetición 1)	02HE01 (Repetición 2)	03HE01 (Repetición 3)	01HE02 (Repetición 1)	02HE02 (Repetición 2)	03HE04 (Repetición 3)	01HE03 (Repetición 1)	02HE03 (Repetición 2)	03HE07 (Repetición 3)
	500	01HE04 (Repetición 1)	02HE04 (Repetición 2)	03HE02 (Repetición 3)	01HE05 (Repetición 1)	02HE05 (Repetición 2)	03HE05 (Repetición 3)	01HE06 (Repetición 1)	02HE06 (Repetición 2)	03HE08 (Repetición 3)
	600	01HE07 (Repetición 1)	02HE07 (Repetición 2)	03HE03 (Repetición 3)	01HE08 (Repetición 1)	02HE08 (Repetición 2)	03HE06 (Repetición 3)	01HE09 (Repetición 1)	02HE09 (Repetición 2)	03HE09 (Repetición 3)

Nota: Se trabajó con un total de dos factores con tres niveles por cada factor. ($3^k=3^2$), y además se realizaron 3 repeticiones por cada síntesis.

Tabla 20

Masa de la sal precursora y peso de nanopartícula de la síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

Muestra	N° Repetición					
	1		2		3	
	Masa de Zn $(NO_3)_2$ (mg)	Masa de nano partícula ZnO (mg)	Masa de Zn $(NO_3)_2$ (mg)	Masa de nano partícula ZnO (mg)	Masa de Zn $(NO_3)_2$ (mg)	Masa de nano partícula ZnO(mg)
HE01	2028.0	502.9	2080.5	524.9	2016.5	400.9
HE02	3067.4	770.6	3050.7	792.4	3096.6	809.5
HE03	4062.3	1054.2	4006.7	1043.2	4013.0	1059.6
HE04	2059.4	512.6	2072.6	537.9	2015.6	445.3
HE05	3040.5	770.2	3008.1	774.7	3004.7	778.5
HE06	4026.8	1046.1	4003.7	1046.0	4003.1	1054.0
HE07	2050.2	498.8	2024.6	494.2	2021.1	491.1
HE08	3068.6	772.8	3040.1	773.2	3022.7	784.6
HE09	4024.5	1043.1	4055.8	1068.8	4018.3	1065.3

Se calcularon los estadísticos descriptivos para poder caracterizar las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

Tabla 21

Estadísticos descriptivos para la masa de la sal precursora $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ utilizadas para la preparación de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

Síntesis / Estadístico		HE01	HE02	HE03	HE04	HE05	HE06	HE07	HE08	HE09
Media		2041.7	3071.6	4027.3	2049.2	3017.8	4011.2	2032.0	3043.8	4032.9
95% de intervalo de confianza	**Límite inferior**	1956.9	3013.9	3951.7	1975.1	2968.7	3977.6	1992.5	2986.2	3982.9
	Límite superior	2126.4	3129.3	4103.0	2123.3	3066.9	4044.8	2071.4	3101.4	4082.8
Mediana		2028.0	3067.4	4013.0	2059.4	3008.1	4003.7	2024.6	3040.1	4024.5
Varianza		1164.1	539.7	926.9	890.3	390.5	182.6	252.4	537.0	404.1
Desviación estándar		34.1	23.2	30.4	29.8	19.8	13.5	15.9	23.2	20.1
Mínimo		2016.5	3050.7	4006.7	2015.6	3004.7	4003.1	2021.1	3022.7	4018.3
Máximo		2080.5	3096.6	4062.3	2072.6	3040.5	4026.8	2050.2	3068.6	4055.8
Rango		64.0	45.9	55.6	57.0	35.8	23.7	29.1	45.9	37.5

Tabla 22

Estadísticos descriptivos para las masas de nanopartículas de óxido de zinc obtenidos de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

Síntesis / Estadístico		HE01	HE02	HE03	HE04	HE05	HE06	HE07	HE08	HE09
Media		476.2	790.8	1052.3	498.6	774.5	1048.7	494.7	776.9	1059.1
95% de intervalo de confianza	**Límite inferior**	311.9	742.4	1031.6	379.7	764.1	1037.3	485.1	760.2	1024.4
	Límite superior	640.6	839.3	1073.1	617.5	784.8	1060.1	504.3	793.5	1093.7
Mediana		502.9	792.4	1054.2	512.6	774.7	1046.1	494.2	773.2	1065.3
Varianza		4377.3	380.1	69.9	2290.7	17.3	21.1	15.0	44.9	194.3
Desviación estándar		66.2	19.5	8.4	47.9	4.2	4.6	3.9	6.7	13.9
Mínimo		400.9	770.6	1043.2	445.3	770.2	1046.0	491.1	772.8	1043.1
Máximo		524.9	809.5	1059.6	537.9	778.5	1054.0	498.8	784.6	1068.8
Rango		124.0	38.9	16.4	92.6	8.3	8.0	7.7	11.8	25.7

En base a la **Tabla 21** y **Tabla 22** se graficaron como varían las masas de las NPs de ZnO obtenidos a partir de la sal precursora $[Zn(NO_3)_2].6H_2O$ en función a cada temperatura empleada.

Tabla 23

Prueba de normalidad para datos de masas obtenidos de nanopartículas

Grupos de muestras	Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	Sig.	¿La población está normalmente distribuida?
HE01	0.878	3	0.319	Si
HE02	0.995	3	0.867	Si
HE03	0.963	3	0.628	Si
HE04	0.936	3	0.511	Si
HE05	0.998	3	0.907	Si
HE06	0.759	3	0.021	No
HE07	0.988	3	0.786	Si
HE08	0.775	3	0.057	Si
HE09	0.850	3	0.240	Si

De la Tabla 23 se pueden plantear las hipótesis estadísticas:

Ho= La población se distribuye normalmente.

Ha= La población no se distribuye normalmente.

Si $p<0.050$…(V), entonces se rechaza Ho.

Para todo HE0N, siendo N=1,2,3,4,5,7,8,9; $p>0.05$, entonces no se rechaza Ho. Por lo tanto, con una confianza del 95% los datos de HE0N, siendo N=1,2,3,4,5,7,8,9 los datos presentan una distribución de tipo normal a excepción de HE06. Con respecto a HE06, $p<0.05$, entonces se rechaza Ho y se acepta Ha, la población no se encuentra normalmente distribuida. En consecuencia, se cumple el supuesto que los datos de los pesos de las nanopartículas de óxido de zinc tienen una distribución normal excepto para el conjunto de datos de la síntesis HE06.

Para poder realizar el análisis ANOVA los datos deben cumplir con dos supuestos, el primero es el supuesto de normalidad de los datos. El cual fue comprobado en el párrafo inmediato anterior, el segundo supuesto del ANOVA es la prueba de Levene, que se utilizó para determinar la homogeneidad de varianzas.

Tabla 24

Estadístico de Levene para determinar homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	Grados de libertad	Significancia
Se basa en la media	6.696	8	0.000

Donde se plantean las siguientes hipótesis:

Ho=Las varianzas de los datos obtenidos de los pesos resultantes de las nanopartículas son homogéneas.

Ha=Las varianzas de los datos obtenidos de los pesos resultantes de las nanopartículas no son homogéneas.

Si $p<0.05$, se rechaza Ho. De la **Tabla 24**, $p<0.05$, entonces se rechaza Ho, y se acepta Ha. Se determinó que, con un 95% de confianza, las varianzas de los datos obtenidos de los pesos resultantes de las nanopartículas no son homogéneos, es decir no hay homocedasticidad. Por lo tanto, no resulta adecuado un ANOVA, en su lugar se utilizará la prueba de Kruskal- Wallis.

Para tener una referencia, primero se realizó un análisis ANOVA para determinar si las muestras varían de un grupo poblacional a otro.

Tabla 25

Análisis ANOVA para las masas obtenidos de las partículas de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Esta-dístico F	Significancia (p)
Entre grupos	1,430,997.7	8	178,874.7	217.241	0.000
Dentro de grupos	14,821.0	18	823.4	-	-
Total	1,445,818.7	26	-	-	-

Nota: El análisis ANOVA se realizó solamente como una referencia, pues en la discusión de resultados se tomó en consideración el análisis por Kruskal-Wallis.

De donde se plantean las siguientes hipótesis estadísticas:

Ho: No existen diferencias significativas entre las medias de los grupos poblacionales HE0N, siendo N=1,2,3…9.

Ha: Existe al menos una diferencia significativa entre las medias de los grupos poblacionales HE0N, siendo N=1,2,3…9.

Si $p<0.05$, se rechaza Ho. De la **Tabla 25**, $p<0.05$, entonces se rechaza Ho y se acepta Ha. Existe al menos una diferencia significativa entre las medias de los grupos poblacionales HE0N, siendo N=1,2,3…,9. Por lo tanto, el tratamiento en particular a dichas poblaciones especificado en la **Tabla 18** tuvo un impacto significativo en su media, pero se comprueba definitivamente con la prueba de Kruskal-Wallis realizada a continuación.

Tabla 26

Análisis de Kruskal- Wallis para las masas de las NPs de ZnO de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

	H de Kruskal-Wallis	Grados de libertad	Significancia (p)
Resultado	23.471	8	0.003

Se plantearon las siguientes hipótesis:

Ho: las medianas de la población no presentan diferencias significativas.

Ha: Las medianas de la población presentan diferencias significativas.

Si $p<0.05$, entonces se rechaza Ho.

De la **Tabla 26**; $p<0.050$, entonces se rechaza Ho, y se acepta Ha: Con un 95% de confianza, las medianas de la población presentan diferencias significativas, eso quiere decir que sí se presentan cambios significativos en las masas resultantes de las NPs de ZnO con las diferentes temperaturas y concentraciones planteadas en la **Tabla 18**. Finalmente se comprueba que el tratamiento en particular a dichas poblaciones especificado en la **Tabla 18** tuvo un impacto significativo en su media.

Para averiguar el nivel de impacto de cada factor en las poblaciones se realizó una prueba post hoc.

Tabla 27

Comparación de tipos de síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 mediante la prueba post-hoc Dunn-Bonferroni

Muestra 1-Muestra 2	Significancia	¿Existe diferencia significativa entre Muestra 1 y Muestra 2?
HE07-HE09	0.002	SI
HE07-HE03	0.003	SI
HE01-HE09	0.003	SI
HE01-HE03	0.005	SI
HE07-HE06	0.005	SI
HE04-HE09	0.005	SI
HE01-HE06	0.009	SI
HE04-HE03	0.009	SI
HE04-HE06	0.014	SI
HE07-HE02	0.080	NO
HE05-HE09	0.090	NO
HE01-HE02	0.111	NO
HE08-HE09	0.111	NO
HE05-HE03	0.123	NO
HE07-HE08	0.136	NO
HE04-HE02	0.150	NO
HE08-HE03	0.150	NO
HE05-HE06	0.165	NO
HE07-HE05	0.165	NO
HE01-HE08	0.181	NO
HE02-HE09	0.181	NO
HE08-HE06	0.198	NO
HE01-HE05	0.217	NO
HE02-HE03	0.237	NO
HE04-HE08	0.237	NO
HE04-HE05	0.280	NO
HE02-HE06	0.304	NO
HE05-HE02	0.719	NO
HE07-HE04	0.758	NO
HE06-HE09	0.758	NO
HE08-HE02	0.797	NO
HE01-HE04	0.877	NO
HE07-HE01	0.877	NO
HE06-HE03	0.877	NO
HE03-HE09	0.877	NO
HE05-HE08	0.918	NO

Entonces se plantean las siguientes hipótesis para el primer par de muestras:

Muestra 1= HE07

Muestra 2= HE09

Ho: No hay diferencias significativas entre la muestra 1 (HE07) y la muestra 2 (HE09).

Ha: Sí hay diferencias significativas entre la muestra 1 (HE07) y la muestra 2. (HE09).

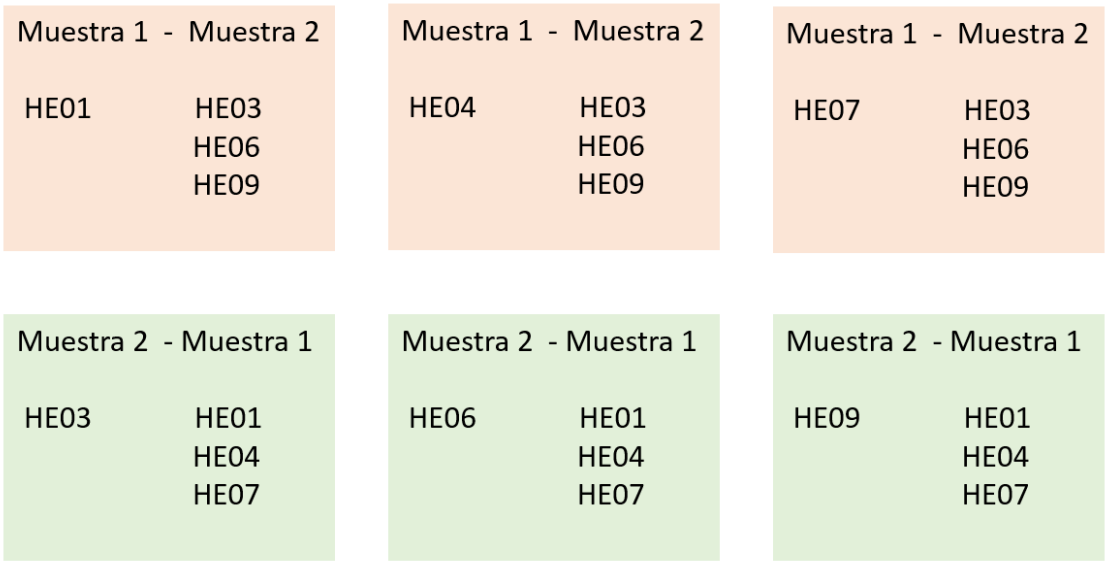
Si $p<0.05$ se rechaza Ho. De la **Tabla 27** $p<0.050$, se rechaza Ho, se acepta Ha: Sí hay diferencias significativas entre la mediana de las repeticiones de la muestra 1 (HE07) y la mediana de las repeticiones de muestra 2. (HE09).

De la misma manera se plantearon hipótesis para cada par de muestras de la **Tabla 27** de donde se concluyó que para un nivel de confianza del 95% los pares de grupos que representan diferencias significativas son: HE07-HE09, HE07-HE03, HE01-HE09, HE01-HE03, HE07-HE06, HE04-HE09, HE01-HE06, HE04-HE03, HE04-HE06. El resto de los pares de muestras no presentó diferencias significativas.

Se resumió el análisis post hoc en un diagrama con los tipos de síntesis entre los cuales existen diferencias significativas entre la media.

Diagrama 4

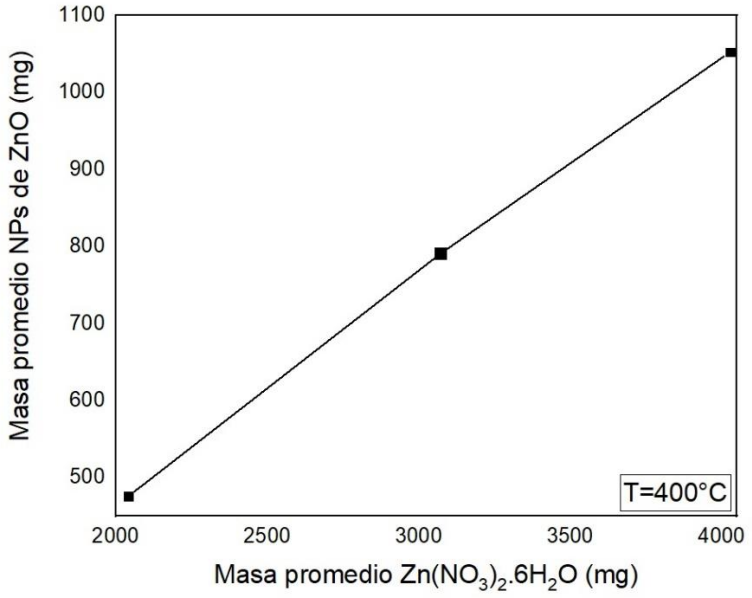
Comparación entre las síntesis que tienen diferencias significativas en la media



A continuación, se realizaron gráficas que relacionan la sal $[Zn(NO_3)_2].6H_2O]$ empleada y la masa de las NPs de ZnO obtenido por cada temperatura.

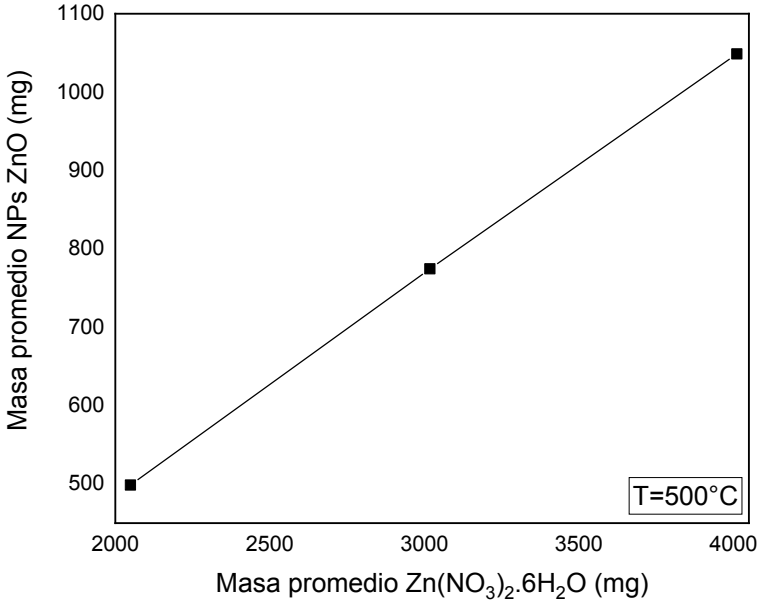
Gráfica 4

Masa promedio obtenido de las NPs de ZnO (mg) en función a la masa promedio de la sal precursora [$Zn(NO_3)_2$].6H_2O (mg) empleada en la síntesis HE01, HE02 y HE03 a 400°C



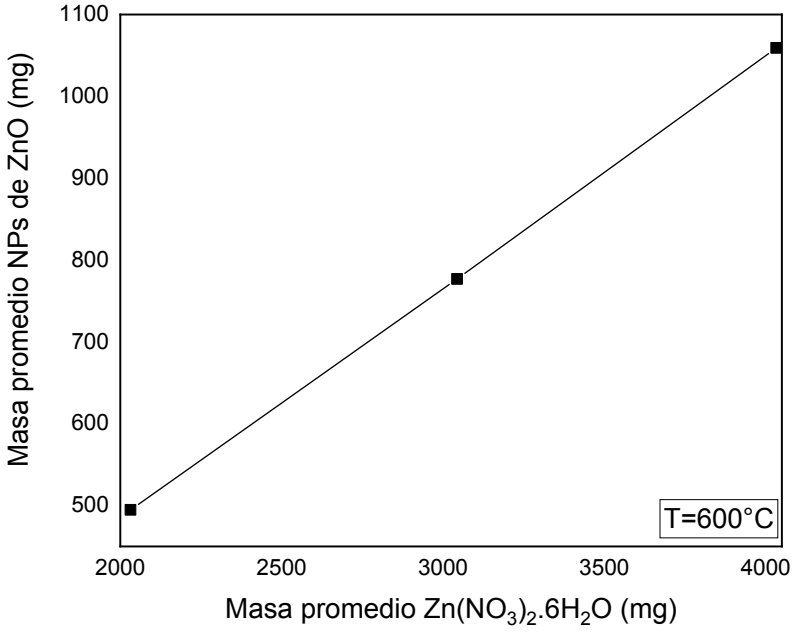
Gráfica 5

Masa obtenido de las NPs de ZnO (mg) en función a la masa promedio de la sal precursora [$Zn(NO_3)_2$].6H_2O (mg) empleada en la síntesis HE04, HE05 y HE06 a 500°C



Gráfica 6

Masa promedio obtenido de las NPs de ZnO (mg) en función a la masa promedio de la sal precursora [$Zn(NO_3)_2$].6H_2O (mg) empleada en la síntesis a 600°C



Los rendimientos respecto a la masa del [$Zn(NO_3)_2$].6H_2O de entrada y la masa de las NPs de ZnO de salida se calcularon según la reacción química balanceada y simplificada:

$$2NaOH+1Zn(NO_3)_2.6H_2O \longrightarrow 1ZnO+2NaNO_3+7H_2O$$

(6)

El objetivo fue comparar el rendimiento teórico que se hubiera obtenido por una síntesis química de coprecipitación de NPs de ZnO y el rendimiento real obtenido mediante la biosíntesis de NPs de ZnO, para ello calcularon los porcentajes de rendimiento empleando los datos de masas promedio de la **Tabla 21** y la **Tabla 22**.

Tabla 28

Rendimiento de ZnO con respecto a la masa del $[Zn(NO_3)_2].6H_2O$ (mg) de entrada y las NPs ZnO(mg) a la salida del proceso

Síntesis	$Zn(NO_3)_2.6H_2O$ (mg)	RT NPs de ZnO (mg)	RR NPs de ZnO (mg)	Rendimiento (%)
HE01	2041.7	558.5	476.2	85.3
HE02	3071.6	840.3	790.8	94.1
HE03	4027.3	1101.7	1052.3	95.5
HE04	2049.2	560.6	498.6	88.9
HE05	3017.8	825.6	774.5	93.8
HE06	4011.2	1097.3	1048.7	95.6
HE07	2032	555.9	494.7	89.0
HE08	3043.8	832.7	776.9	93.3
HE09	4032.9	1103.3	1059.1	96.0

Nota: RT NPs ZnO es el rendimiento teórico de las nanopartículas de ZnO a la salida del proceso, RR NPs de ZnO es el rendimiento real de las nanopartículas de ZnO.

El rendimiento teórico para la síntesis HE01 se obtuvo mediante un cálculo estequiométrico con la Ecuación 6 de la siguiente manera:

$$RT\ ZnO\ (mg) = 2041.7\ mg\ Zn(NO_3)_2.6H_2O\ x\frac{1\ g\ Zn(NO_3)_2.6H_2O}{1000\ mg\ Zn(NO_3)_2.6H_2O}x$$

$$x\frac{1\ mol\ Zn(NO_3)_2.6H_2O}{297.48\ g\ Zn(NO_3)_2.6H_2O}x\frac{1mol\ ZnO}{1\ mol\ Zn(NO_3)_2.6H_2O}x\frac{81.38\ g\ ZnO}{1\ mol\ ZnO}x$$

$$x\frac{1000\ mg\ ZnO}{1\ g\ ZnO} = 558.5\ mg\ ZnO$$

Y el porcentaje de rendimiento se calculó según:

$$Rendimiento\ (\%) = \frac{RR}{RT}x100 = \frac{476.2\ mg}{558.5\ mg}x100\ \% = 85.3\%$$

De igual manera fue calculado para las síntesis HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

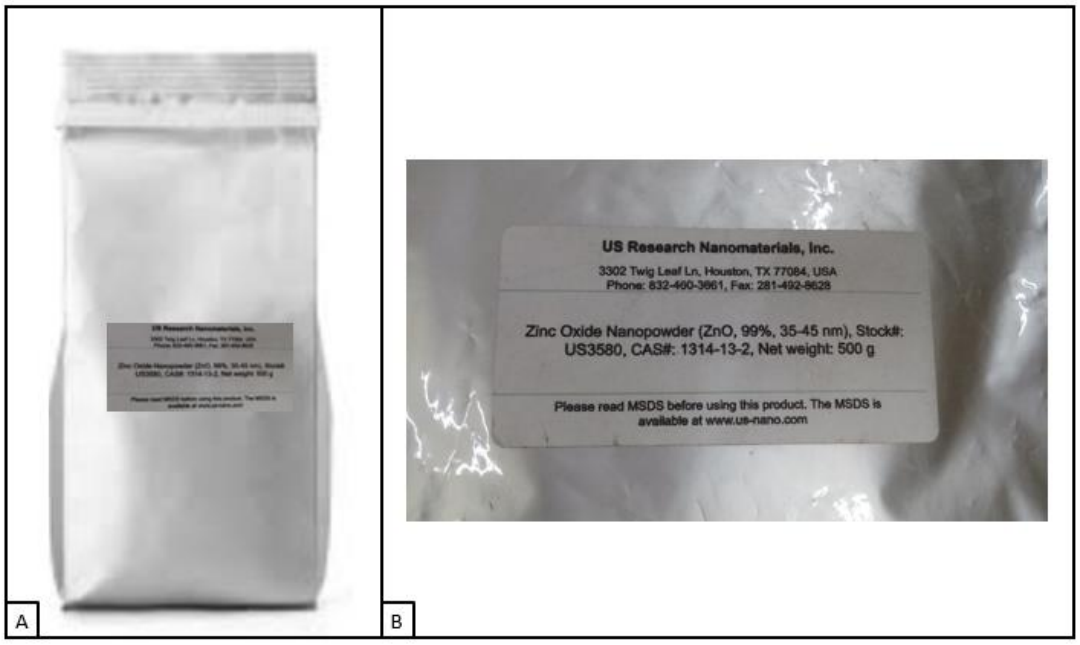
5.8 Nanopartícula de ZnO de grado comercial

Las NPs de ZnO fueron compradas a la empresa US Research Nanomaterials Inc. Una cantidad de 500 g de NPs de ZnO tuvieron un costo de $118. Se abrió con cuidado la

nanopartícula de ZnO de grado comercial (Ver **Figura 19**), posterior a ello se almacena en un tubo porta muestras de 5mL para su posterior análisis por UV-Vis, DLS, potencial Z y DRX.

Figura 19

Empaque con información de las nanopartículas comerciales

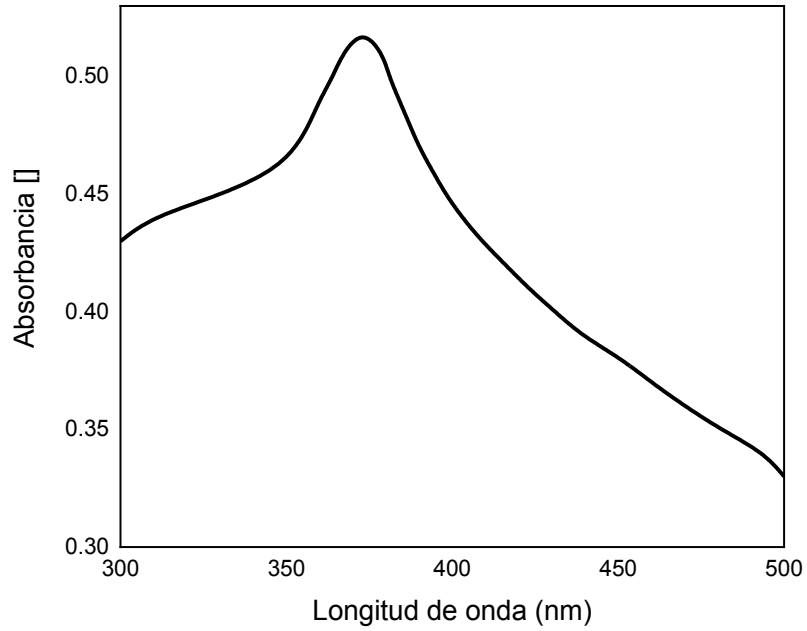


5.8.1 Espectro UV-Visible

Se pesaron 4 mg de la muestra de nanopartícula comercial óxido de Zinc y se colocó en un tubo de centrífuga. A continuación, se añadieron 5 mL de agua ultra pura, se llevó a un vortex por 5 minutos a 1000 rpm, finalmente se llevó a un baño con ultrasonido a temperatura ambiente por 10 minutos. En el espectrofotómetro UV- Visible Libra S22 se analizó la nanopartícula comercial de ZnO con un rango del espectro de 300 a 500 nm con un paso de 1 nm obteniéndose la siguiente curva.

Gráfica 7

Espectro Uv-Vis de las nanopartículas de óxido de zinc de grado comercial



El pico máximo se obtuvo en la longitud de onda de 373±0.000 nm con una absorbancia máxima de 0.52±0.003, esto confirmó la presencia de nanopartículas en la muestra de grado comercial, pero también es un punto de comparación con las nanopartículas sintetizadas en este trabajo.

5.8.2 Análisis DLS (tamaño se partícula)

Se pesan 4 mg de la muestra de nanopartícula comercial óxido de Zinc y se vierten en un tubo de centrífuga, a continuación, se añade 5 mL de agua ultra pura, se llevó a un vortex por 5 minutos a 1000 rpm, finalmente se lleva a un baño con ultrasonido a temperatura ambiente por 10 minutos. En el DLS Nicomp ® Nano DLS/ZLS Systems ubicado en el Centro de Investigaciones Tecnológicas Biomédicas y medioambientales (CITBM) en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Físicas de la Universidad Nacional

Mayor de San Marcos; se analizó la nanopartícula comercial de ZnO, obteniéndose un tamaño de partícula de 48.5 nm±6, con una desviación estándar de 6 nm y una prevalencia del 98%.

5.8.3 Análisis potencial Z

Se pesaron 4 mg de la muestra de nanopartícula comercial óxido de Zinc y se vierten en un tubo de centrífuga, a continuación, se añadió 5 mL de agua ultra pura, se llevó a un vortex por 5 minutos a 1000 rpm, finalmente se llevó a un baño con ultrasonido a temperatura ambiente por 10 minutos. En el DLS Nicomp ® Nano DLS/ZLS Systems se analizó la nanopartícula comercial de ZnO, con un campo eléctrico de 15 V/m obteniéndose un potencial Z promedio de 32.72±0.003 mV, lo cual indica alta estabilidad coloidal de la partícula.

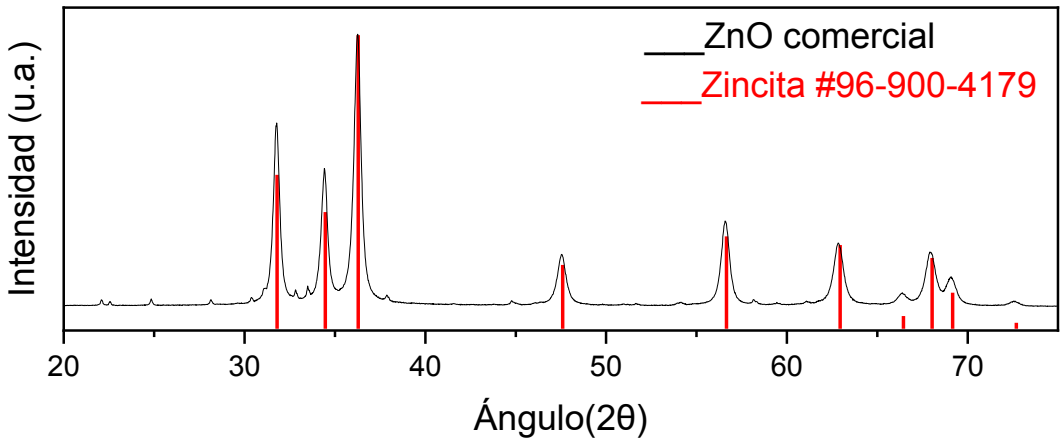
5.8.4 Análisis DRX

Para el análisis por Difracción de rayos X, se tomaron de 3 gramos de muestra de nanopartícula comercial y se compacta en un disco de aluminio con ayuda de una placa porta muestras nuevo, posterior a eso se analizó en el Difractor de rayos X. El análisis por difracción de rayos X en polvos fue realizado en un difractómetro D8 Focus (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Alemania) ubicado en el laboratorio de Rayos X de la Facultad de Ciencias Físicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Las condiciones de medidas fueron las siguientes: el rango de medición fue de 5° a 85° en 2θ en simetría Bragg-Brentano, con paso de 0.03° y 0.5 segundos por paso, usando una fuente de rayos X de CuKα (λ = 1.5418 Å) a 40 kV y 40 mA.

Se obtuvo el siguiente difractograma una vez apartado el ruido:

Gráfica 8

Espectro de difracción de rayos X de las NPs de ZnO de grado comercial comparado con el patrón de ZnO



Se obtuvo como resultado el ángulo de difracción y la intensidad correspondiente:

Tabla 29

Resultado de análisis por difracción de rayos X para la nanopartícula comercial de ZnO

DosTheta	Intensidad	Error Absoluto
36.01835	15.956	4
36.47835	15.946	6

Mediante la ecuación de Scherrer

$$D = \frac{K\lambda}{(B cos\theta)} \quad \textbf{(7)}$$

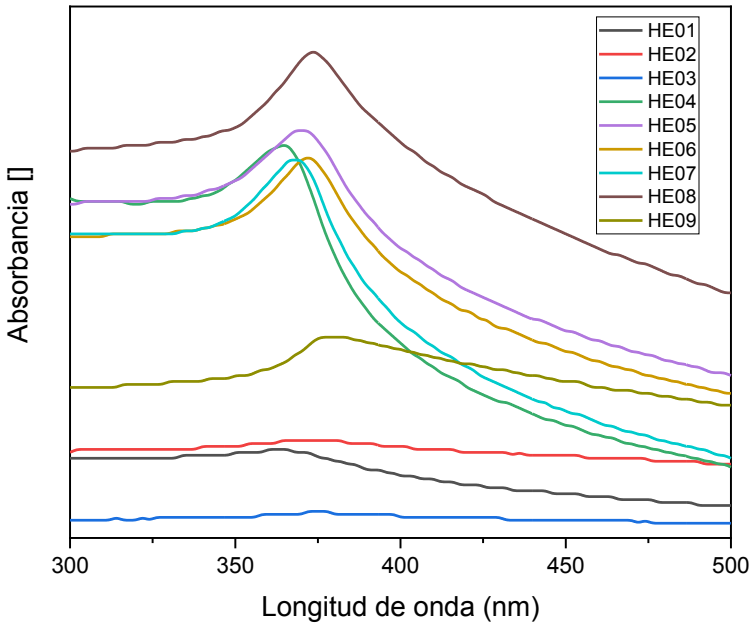
De donde D es el tamaño del cristalito, Kes una contante determinada por la forma de las nanopartículas, λes la longitud de onda del rayo X, B es el ancho a media altura del pico y θes el ángulo de difracción.

Finalmente utilizando la Ecuación 7 se obtuvo el tamaño de grano de 17.751±0.003 nm.

5.9 Análisis por espectrofotometría UV-Vis de las NPs de ZnO sintetizadas

Se pesaron 4 mg de la muestra de óxido de Zinc y se colocaron en un tubo de centrífuga, a continuación, se añadió 5 mL de agua ultrapura, se llevó a un vortex por 5 minutos a 1000 rpm, finalmente se llevó a un baño con ultrasonido a temperatura ambiente por 10 minutos. En el espectrofotómetro Libra S22, se analizaron las diferentes muestras de 200 a 500 nm con un paso de 1 nm obteniéndose la siguiente curva.

Gráfica 9
Espectro UV-Visible de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09



Los picos de absorbancia para cada síntesis fueron:

Tabla 30

Longitud de onda donde se da la máxima intensidad en el barrido UV-Visible de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

	Pico de absorbancia (nm)		
Número de síntesis	**Repetición 1**	**Repetición 2**	**Repetición 3**
HE01	363	365	361
HE02	373	375	371
HE03	375	373	372
HE04	365	367	369
HE05	370	372	374
HE06	372	374	375
HE07	368	372	370
HE08	374	373	374
HE09	384	379	382

Tabla 31

Prueba de normalidad para la longitud de onda donde se presenta la máxima absorbancia.

Síntesis	**Estadístico**	**gl**	**Sig. (p)**	**¿La distribución de datos es normal?**
HE01	1.000	3	1.000	Sí
HE02	1.000	3	1.000	Sí
HE03	0.964	3	0.637	Sí
HE04	1.000	3	1.000	Sí
HE05	1.000	3	1.000	Sí
HE06	0.964	3	0.637	Sí
HE07	1.000	3	1.000	Sí
HE08	0.750	3	0.000	No
HE09	0.987	3	0.780	Sí

Se analizó si los datos siguen una distribución normal, para ello se plantean las siguientes hipótesis:

Ho: Los datos poseen una distribución normal

Ha: Los datos no poseen una distribución normal.

Si p<0.05, entonces se rechaza Ho. De la **Tabla 31**, para la síntesis HE01, p>0.050, entonces no se rechaza Ho, se acepta Ho, Con un 95% de confianza la distribución de los datos de la síntesis HE01 se encuentra normalmente distribuida. De la misma manera, todas las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07 y HE09 poseen distribución normal a excepción de HE08.

Se procedió a analizar los estadísticos descriptivos para las diferentes síntesis

Tabla 32

Estadísticos descriptivos para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09

Síntesis / Estadístico		HE01	HE02	HE03	HE04	HE05	HE06	HE07	HE08	HE09
Media		363.000	373.000	373.3333	367.000	372.0000	373.6667	370.0000	373.6667	381.6667
95% de intervalo de confianza	**Límite inferior**	358.0317	368.0317	369.5388	362.0317	367.0317	369.8721	365.0317	372.2324	375.4151
	Límite superior	367.9863	377.9683	377.1279	371.9683	376.9683	377.4612	374.9683	375.1009	387.9183
Mediana		363.000	373.000	373.000	367.0000	372.0000	374.0000	370.0000	374.0000	382.0000
Varianza		4.000	4.000	2.333	4.000	4.000	2.333	4.000	0.333	6.333
Desviación estándar		2.000	2.000	1.5275	2.000	2.000	1.52753	2.000	0.57735	2.51661
Mínimo		361.00	371.000	372	365.00	370.00	372.00	368.00	373.00	379.00
Máximo		365.00	375.000	375	369.00	374.00	375.00	372.00	374.00	384.00
Rango		4.000	4.000	3	4.00	4.00	3.00	4.00	1.00	5.00

Los datos de las repeticiones de todos los tipos de síntesis dieron como respuesta una distribución normal, a excepción de la síntesis HE08; por lo tanto, una prueba de Kruskal-Wallis se consideró adecuada para este grupo de datos.

Previo a la prueba de Kruskal-Wallis se realizó una prueba ANOVA para determinar las características de la media de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

Tabla 33

Prueba de Levene para los datos de las longitudes de onda donde ocurren las máximas absorbancias para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	0.364	8	18	0.926
Se basa en la mediana	0.338	8	18	0.939
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0.338	8	15.622	0.938
Se basa en la media recortada	0.363	8	18	0.927

Donde se plantean las siguientes hipótesis:

Ho=Las varianzas de los datos obtenidos de los pesos resultantes de las nanopartículas son homogéneos.

Ha=Las varianzas de los datos obtenidos de los pesos resultantes de las nanopartículas no son homogéneos.

Si $p<0.05$, se rechaza Ho, $p>0.050$, entonces no rechaza Ho, se acepta Ho: Las varianzas de los datos obtenidos de los pesos resultantes de las nanopartículas son homogéneos, es decir, existe homocedasticidad.

Se comprobó que se cumple el supuesto de homocedasticidad necesario para realizar la prueba ANOVA.

Posterior a ello se realizó un análisis ANOVA para determinar si las muestras varían de un grupo poblacional a otro.

Tabla 34

Prueba ANOVA de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Esta-dístico F	Signi-ficancia
Entre grupos	635.185	8	79.398	22.806	0.000
Dentro de grupos	62.667	18	3.481	-	-
Total	697.852	26	-	-	-

De donde se plantean las siguientes hipótesis estadísticas:

Ho: No existen diferencias entre las medias de los grupos poblacionales HE0N, siendo N=1,2,3…,9.

Ha: Sí existen diferencias entre las medias de los grupos poblacionales HE0N, siendo N=1,2,3…,9.

Si $p<0.05$, se rechaza Ho, de la **Tabla 34** $p<0.05$, entonces se rechaza Ho y se acepta Ha, Sí existen diferencias entre las medias de los grupos poblacionales HE0N, siendo N=1,2,3…,9. Por lo tanto, se comprueba que el tratamiento en particular a dichas poblaciones tuvo un impacto significativo en su media.

Este análisis sería el adecuado si se cumpliera el supuesto de normalidad de datos del ANOVA, sin embargo, en la **Tabla 31** se determinó que no se cumple dicho supuesto para todos los grupos de datos, por lo tanto, se procedió con el análisis mediante la prueba Kruskal-Wallis.

Tabla 35

Análisis de Kruskal- Wallis para los pesos de las NPs de ZnO de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

	H de Kruskal-Wallis	Grados de libertad	Sig. asintótica
Resultado	21.162	8	0.007

Se plantearon las siguientes hipótesis:

Ho: Las medianas de la longitud de onda de absorbancia máxima es la misma entre las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

Ha: Las medianas de la longitud de onda de absorbancia máxima no es la misma entre las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

Si $p<0.05$, entonces se rechaza Ho, de la **Tabla 35**, $p<0.050$, entonces en efecto se rechaza Ho, y se acepta Ha: Las medianas de la longitud de onda de absorbancia máxima no es la misma entre las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09, eso quiere decir que sí se presentan cambios significativos con las diferentes temperaturas y concentraciones planteadas. Finalmente se comprueba que el tratamiento en particular a dichas poblaciones especificado en la **Tabla 18** sí tuvo un impacto significativo.

Para averiguar el nivel de impacto de cada factor en las poblaciones se realizó una prueba post hoc Dunn-Bonferroni.

Tabla 36

Comparación de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 mediante el método post-hoc Dunn Bonferroni.

Muestra 1-Muestra 2	Significancia	¿Existe diferencia significativa entre Muestra 1 y Muestra 2?
HE01-HE09	0.000	SI
HE04-HE09	0.001	SI
HE07-HE09	0.008	SI
HE01-HE06	0.012	SI
HE01-HE08	0.012	SI
HE01-HE03	0.020	SI
HE01-HE02	0.028	SI
HE04-HE06	0.041	SI
HE04-HE08	0.041	SI
HE05-HE09	0.053	NO
HE04-HE03	0.063	NO
HE01-HE05	0.079	NO
HE04-HE02	0.083	NO
HE02-HE09	0.134	NO
HE07-HE06	0.148	NO
HE07-HE08	0.148	NO
HE03-HE09	0.171	NO
HE04-HE05	0.196	NO
HE07-HE03	0.206	NO
HE06-HE09	0.235	NO
HE08-HE09	0.235	NO
HE07-HE02	0.256	NO
HE01-HE07	0.289	NO
HE05-HE06	0.454	NO
HE05-HE08	0.454	NO
HE07-HE05	0.485	NO
HE04-HE07	0.552	NO
HE05-HE03	0.57	NO
HE01-HE04	0.642	NO
HE05-HE02	0.661	NO
HE02-HE06	0.757	NO
HE02-HE08	0.757	NO
HE03-HE06	0.856	NO
HE03-HE08	0.856	NO
HE02-HE03	0.897	NO
HE06-HE08	1.000	NO

Entonces se plantean las siguientes hipótesis para el primer par de muestras:

Muestra 1= HE01

Muestra 2= HE09

Ho: No hay diferencias significativas entre la muestra 1 (HE01) y la muestra 2 (HE09).

Ha: Sí hay diferencias significativas entre la muestra 1 (HE01) y la muestra 2. (HE09).

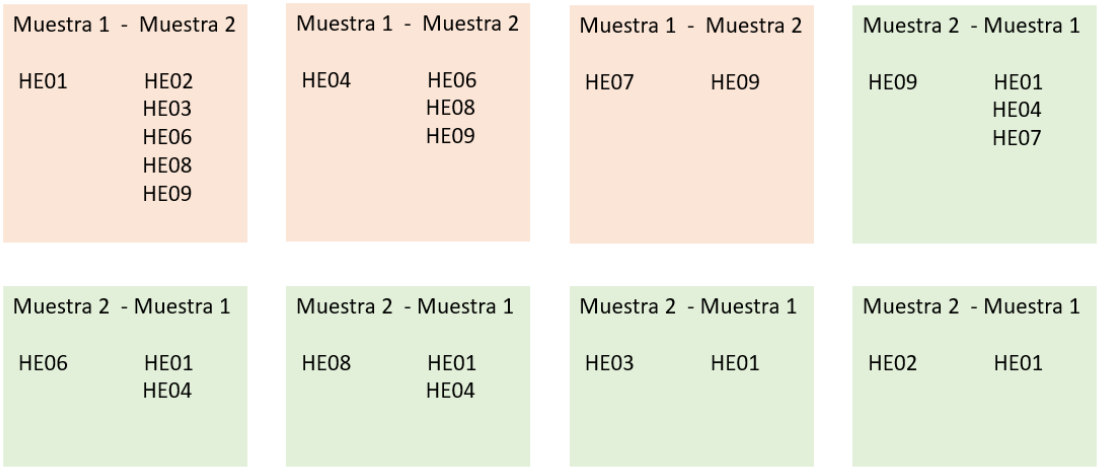
Si $p<0.05$ se rechaza Ho. De la **Tabla 36**, $p<0.050$, se rechaza Ho, se acepta Ha, sí hay diferencias significativas entre la mediana de las repeticiones de la muestra 1 (HE01) y la mediana de las repeticiones de muestra 2. (HE09).

De la misma manera se plantearon hipótesis para cada par de muestras, y se plasmaron en la **Tabla 36** de donde se concluyó que los pares de grupos que representan diferencias significativas son: HE01-HE09, HE04-HE09, HE07-HE09, HE01-HE06, HE01-HE08, HE01-HE03, HE01-HE02, HE04-HE06, HE04-HE08.

Se resumió el análisis post hoc en un diagrama con los tipos de síntesis entre los cuales existen diferencias significativas entre la media.

Diagrama 5

Comparación entre las síntesis que tienen diferencias significativas entre la media de la prueba Dunn-Bonferroni para los resultados del análisis UV-Vis



5.10 Análisis del tamaño de partícula por DLS

Se pesaron 4 mg de la muestra de óxido de Zinc y se colocaron en un tubo de centrífuga, a continuación, se añadieron 5 mL de agua ultrapura, se llevó a un vortex por 5 minutos a 1000 rpm, finalmente se llevó a un baño con ultrasonido a temperatura ambiente por 10 minutos. La caracterización del tamaño hidrodinámico se llevó al cabo por medio del equipo DLS Nicomp ® Nano DLS/ZLS System's ubicado en el Laboratorio de Rayos X de la Facultad de Ciencias Físicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos obtuvo los siguientes resultados:

Tabla 37

Diámetro de partícula hidrodinámico de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

	Diámetro de partícula (nm)		
	N° Repetición		
Muestra	**01**	**02**	**03**
HE01	62.7	11.1	42.9
HE02	32.5	54.1	53.3
HE03	79.1	45.5	70.3
HE04	91.4	10	55.7
HE05	142.9	84.1	34.9
HE06	88.6	99.2	100.9
HE07	110.8	78.5	103.65
HE08	41.4	54.8	53.1
HE09	47.1	52	51.55

Se realizaron las estadísticas descriptivas de las síntesis: HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09:

Tabla 38

Estadísticos descriptivos para los datos de diámetro hidrodinámico medido por DLS de las reacciones HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

Síntesis / Estadístico		HE01	HE02	HE03	HE04	HE05	HE06	HE07	HE08	HE09
Media		38.9000	46.6333	64.9667	52.3667	87.3000	96.2333	97.6500	49.7667	50.2167
95% de intervalo de confianza	**Límite inferior**	-25.7659	16.2117	21.6847	-48.9917	-47.0200	79.6763	55.5058	31.6438	43.4884
	Límite superior	103.5659	77.0550	108.2487	153.7251	221.6200	112.7903	139.7942	67.8895	56.9449
Mediana		42.9000	53.3000	70.3000	55.7000	84.1000	99.2000	103.6500	53.1000	51.5500
Varianza		677.640	149.973	303.573	1664.823	2923.680	44.423	287.823	53.223	7.336
Desviación estándar		26.03152	12.24636	17.42336	40.80225	54.07106	6.66508	16.96533	7.29543	2.70847
Mínimo		11.10	32.50	45.50	10.00	34.90	88.60	78.50	41.40	47.10
Máximo		62.70	54.10	79.10	91.40	142.90	100.90	110.80	54.80	52.00
Rango		51.60	21.60	33.60	81.40	108.00	12.30	32.30	13.40	4.90

Luego se realizó una prueba de normalidad para determinar si los datos seguían una tendencia normal:

Tabla 39

Prueba de normalidad para los diámetros de partícula de la síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

Síntesis	Estadístico	Grados de libertad	Sig.	¿La distribución de datos es normal?
HE01	0.982	3	0.745	Sí
HE02	0.778	3	0.062	Sí
HE03	0.930	3	0.488	Sí
HE04	0.995	3	0.865	Sí
HE05	0.997	3	0.902	Sí
HE06	0.851	3	0.244	Sí
HE07	0.906	3	0.405	Sí
HE08	0.843	3	0.223	Sí
HE09	0.818	3	0.159	Sí

Nota: Se utilizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk debido a que se tiene menos de 50 datos por cada síntesis.

Se plantearon las siguientes hipótesis.

Ho: La distribución de datos presenta una tendencia normal.

Ha: La distribución de datos no presenta una tendencia normal.

Si $p<0.05$; entonces se rechaza Ho.

Para la síntesis HE01, si $p<0.05$ se rechaza Ho; de la **Tabla 39** $p>0.050$, entonces no se rechaza Ho, se acepta Ho, por lo tanto, con una confianza del 95% la distribución de datos de HE01 es de tipo normal. Así mismo se plantearon las hipótesis para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09; y se plasmaron los resultados en **Tabla 39**, tercera columna. De la **Tabla 39** se tiene que todos los datos de todas las síntesis presentan una distribución normal.

Luego, se procedió a realizar la prueba de homogeneidad de varianzas mediante el estadístico Levene.

Tabla 40

Cálculo del estadístico Levene para determinar la homogeneidad de varianza de los datos de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

	Estadístico de Levene	**Grados de libertad 1**	**Grados de libertad 2**	**Significancia**
Se basa en la media	2.228	8	18	0.075
Se basa en la mediana	1.520	8	18	0.219
Se basa en la mediana y con gl ajustado	1.520	8	7.690	0.288
Se basa en la media recortada	2.187	8	18	0.080

Nota: Se tomó en cuenta la significancia del estadístico de Levene de valor 0.075

Entonces se plantean las siguientes hipótesis:

Ho: Existe homogeneidad en las varianzas.

Ha: No existe homogeneidad en las varianzas.

Si $p<0.05$, entonces se rechaza Ho. De la **Tabla 40**, $p>0.050$, entonces no se rechaza Ho, se acepta Ho: existe homogeneidad en las varianzas.

Se comprobaron los supuestos de homogeneidad de varianzas comprobadas y la distribución de los datos de tipo normal, en consecuencia, se procedió con el análisis ANOVA.

Tabla 41

Análisis ANOVA de los diámetros de partícula de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Media cuadrática	Estadístico F	Sig.
Entre grupos	12502.434	8	1562.804	2.301	0.068
Dentro de grupos	12224.990	18	679.166	-	-
Total	24727.424	26	-	-	-

Para el análisis ANOVA se plantean las siguientes hipótesis:

Ho: no existen diferencias entre las medias de los tamaños de partícula de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

Ha: Existen diferencias entre las medias de los tamaños de partícula de cada síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

Si $p<0.05$, se rechaza Ho, de la Tabla 41, $p>0.050$, entonces no se rechaza Ho, se acepta Ho. Con un 95% de confianza se decretó que no existen diferencias significativas entre las medias de los tamaños de partícula de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09. Por lo tanto, aunque se hallan utilizado distintos tratamientos térmicos y concentraciones de la sal precursora, esto no afectó la media de los diámetros de las nanopartículas de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

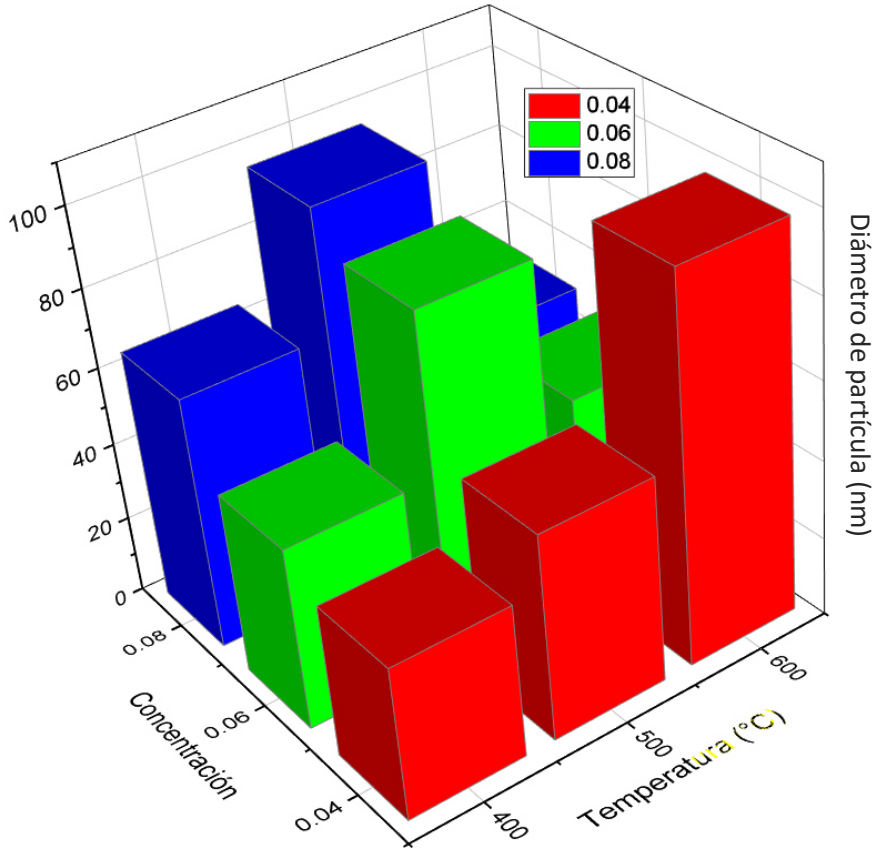
Tabla 42

Tamaño promedio de las 3 repeticiones de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

	Concentración (g Nitrato de Zinc/mL de extracto *Gentianella tristicha*)		
Temperatura (°C)	0.04	0.06	0.08
600	97.65	49.77	50.22
500	52.37	87.3	96.23
400	38.9	46.63	64.97

Gráfica 10

Variación del tamaño de partícula con respecto a la temperatura de calcinado y la concentración de Nitrato de Zinc hexahidratado.



Nota: La concentración se encuentra en unidades de Concentración (gramos Nitrato de Zinc/mL de extracto *Gentianella tristicha*)

5.11 Potencial Z

Se pesan 4 mg de la muestra de óxido de Zinc y se vierten en un tubo de centrífuga, a continuación, se añade 5 mL de agua ultrapura, se llevó a un vortex por 5 minutos a 1000 rpm, finalmente se lleva a un baño con ultrasonido a temperatura ambiente por 10 minutos. Finalmente se llevó al DLS Nicomp ® Nano DLS/ZLS System's ubicado en el laboratorio de Rayos X de la Facultad de Ciencias Físicas de la Universidad Nacional mayor de San Marcos. Se obtuvo la siguiente gráfica con el potencial Z para cada repetición:

Tabla 43

Potencial Z promedio de las nueve síntesis distintas con tres repeticiones

Muestra	Potencial Z promedio (-mV)		
	Número de repetición		
	01	02	03
HE01	8.62	8.35	6.45
HE02	10.85	10.83	10.97
HE03	13.22	13.21	12.83
HE04	14.04	13	14.24
HE05	16.67	17.07	16.07
HE06	19.29	18.58	18.69
HE07	30.35	30.2	31.53
HE08	32.5	32.63	30.48
HE09	33.53	35.8	34.75

Se calcularon los estadísticos descriptivos para los datos de potencial Z.

Tabla 44

Estadísticos descriptivos para los datos de Potencial Z obtenidos de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

Síntesis / Estadístico		HE01	HE02	HE03	HE04	HE05	HE06	HE07	HE08	HE09
Media		7.8067	10.8833	13.0867	13.7600	16.6033	18.8533	30.6933	31.8700	34.6933
95% de intervalo de confianza	**Límite inferior**	4.8688	10.6952	12.5344	12.1062	15.3530	17.9040	28.8838	28.8753	31.8712
	Límite superior	10.7445	11.0714	13.6390	15.4138	17.8537	19.8026	32.5029	34.8647	37.5155
Mediana		8.3500	10.8500	13.2100	14.0400	16.6700	18.6900	30.3500	32.5000	34.7500
Varianza		1.399	0.006	0.049	0.443	0.253	0.146	0.531	1.453	1.291
Desviación estándar		1.18264	0.07572	0.22234	0.66573	0.50332	0.38214	0.72845	1.20553	1.13606
Mínimo		6.45	10.83	12.83	13.00	16.07	18.58	30.20	30.48	33.53
Máximo		8.62	10.97	13.22	14.24	17.07	19.29	31.53	32.63	35.80
Rango		2.17	0.14	0.39	1.24	1.00	0.71	1.33	2.15	2.27

Luego se realizó una prueba de normalidad para determinar la distribución de los datos.

Tabla 45

Prueba de normalidad para los datos de Potencial Z de la síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

Síntesis	Estadístico	gl	Sig.	¿La distribución de datos es normal?
HE01	0.842	3	0.218	Sí
HE02	0.855	3	0.253	Sí
HE03	0.769	3	0.043	No
HE04	0.867	3	0.288	Sí
HE05	0.987	3	0.780	Sí
HE06	0.863	3	0.276	Sí
HE07	0.833	3	0.197	Sí
HE08	0.795	3	0.103	Sí
HE09	0.998	3	0.917	Sí

Se planteó la hipótesis:

Ho: La distribución sigue una tendencia normal.

Ha: La distribución no sigue una tendencia normal.

Si $p<0.050$, se rechaza Ho. De la **Tabla 45**, para HE01 $p>0.050$, entonces no se rechaza Ho, se acepta Ho, la distribución sigue una tendencia normal.

Solo en el caso de HE03, $p<0.050$, entonces sí se rechaza Ho, se acepta Ha, la distribución no sigue una tendencia normal.

Como una población no cumple la distribución normal, se analizaron las medianas de los grupos con la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis.

Tabla 46

Pruebas de Kruskal-Wallis para los datos de potencial Z de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

	H de Kruskal-Wallis	gl	Sig. asintótica
Resultado	25.481	8	0.001

Se plantearon las siguientes hipótesis:

Ho: las medianas de las poblaciones son iguales.

Ha: Las medianas de las poblaciones no son iguales.

Si $p<0.05$, entonces se rechaza Ho. De la **Tabla 46**, $p<0.050$, entonces se rechaza Ho, y se acepta Ha. Las medianas de la población no son iguales, eso quiere decir que sí se presentan cambios significativos con las diferentes temperaturas y concentraciones planteadas.

Se concluyó que con un 95% de confianza las medianas de los datos de potencial Z de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 no son iguales, en consecuencia, el tratamiento térmico a temperaturas y concentración se la sal precursora distinta sí tuvo influencia en las medianas de cada síntesis.

Para determinar en donde se encontraban las diferencias entre cada síntesis se realizó una la prueba post-hoc Dunn-Bonferroni.

Tabla 47

Comparación de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 mediante el método post-hoc Dunn Bonferroni.

Muestra 1-Muestra 2	Sig	¿Existe diferencia significativa entre Muestra 1 y Muestra 2?
HE01-HE09	0.000	SI
HE01-HE08	0.001	SI
HE02-HE09	0.001	SI
HE01-HE07	0.005	SI
HE02-HE08	0.006	SI
HE03-HE09	0.007	SI
HE04-HE09	0.016	SI
HE02-HE07	0.018	SI
HE01-HE06	0.021	SI
HE03-HE08	0.031	SI
HE04-HE08	0.057	NO
HE01-HE05	0.064	NO
HE02-HE06	0.064	NO
HE05-HE09	0.064	NO
HE03-HE07	0.072	NO
HE04-HE07	0.123	NO
HE02-HE05	0.165	NO
HE06-HE09	0.165	NO
HE05-HE08	0.181	NO
HE01-HE04	0.198	NO
HE03-HE06	0.198	NO
HE01-HE03	0.304	NO
HE04-HE06	0.304	NO
HE05-HE07	0.328	NO
HE06-HE08	0.382	NO
HE07-HE09	0.382	NO
HE02-HE04	0.411	NO
HE03-HE05	0.411	NO
HE02-HE03	0.572	NO
HE04-HE05	0.572	NO
HE06-HE07	0.607	NO
HE08-HE09	0.607	NO
HE01-HE02	0.643	NO
HE05-HE06	0.643	NO
HE07-HE08	0.719	NO
HE03-HE04	0.797	NO

Entonces se plantean las siguientes hipótesis para el primer par de muestras:

Muestra 1= HE01

Muestra 2= HE09

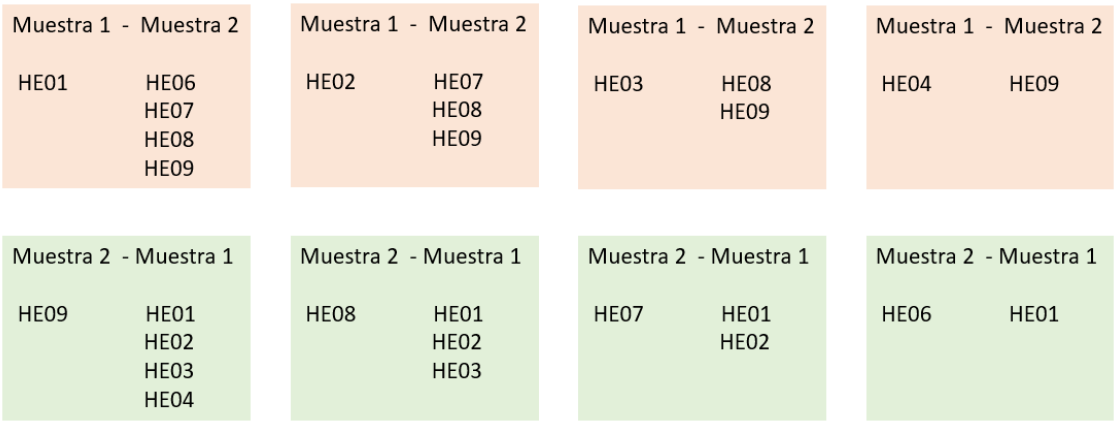
Ho: No hay diferencias significativas entre la muestra 1 (HE01) y la muestra 2 (HE09).

Ha: Sí hay diferencias significativas entre la muestra 1 (HE01) y la muestra 2. (HE09).

Si $p<0.05$ se rechaza Ho. De la **Tabla 47**, $p<0.050$; se rechaza Ho, se acepta Ha: Sí hay diferencias significativas entre la mediana de las repeticiones de la muestra 1 (HE01) y la mediana de las repeticiones de muestra 2. (HE09).

De la misma manera se plantearon hipótesis para cada par de muestras en la **Tabla 47**, y se plasmaron en la tercera columna de la Tabla 47 de donde se concluyó que los pares de grupos que representan diferencias significativas son: HE01-HE09, HE01-HE08, HE02-HE09, HE01-HE07, HE02-HE08, HE03-HE09, HE04-HE09, HE02-HE07, HE01-HE06, HE03-HE08.

Diagrama 6
Comparación entre las síntesis que tienen diferencias significativas entre la media de la prueba Dunn-Bonferroni para los resultados del análisis del Potencial Z.



Luego, con los promedios de las 3 repeticiones, se realizó una gráfica relacionando la temperatura de recocido y la concentración de la sal y el potencial Z resultante:

Tabla 48

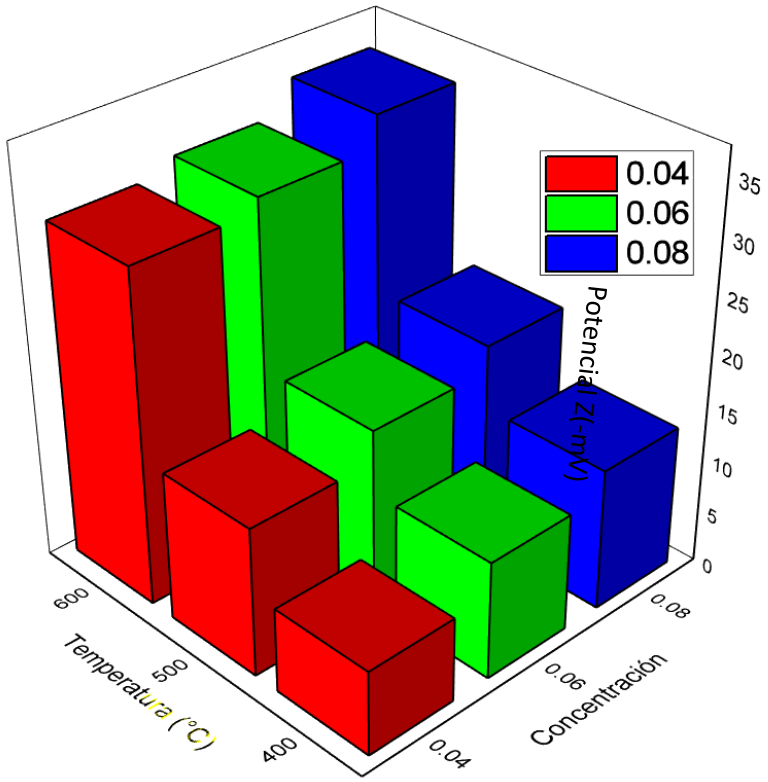
Promedio de los datos de potencial Z de las 3 repeticiones de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

Temperatura (°C)	**Concentración (g Nitrato de Zinc/mL de extracto de Gentianella Tristicha)**		
	0.04	0.06	0.08
600	30.69	31.87	34.69
500	13.76	16.60	18.85
400	7.81	10.88	13.09

Luego, con los promedios de las 3 repeticiones, se realizó una gráfica relacionando la temperatura de recocido y la concentración de la sal y el Potencial Z resultante:

Gráfica 11

Variación del tamaño del potencial Z con respecto a la temperatura de calcinado y la concentración de Nitrato de Zinc hexahidratado



Nota: La concentración se encuentra en unidades de (gramos Nitrato de Zinc/mL de extracto *Gentianella tristicha*)

5.12 Análisis DRX

Se toma aproximadamente de 2 a 3 gramos de la muestra y se compacta en un disco metálico adecuado para ser leído por el equipo DRX, posterior a ello, se coloca la placa en el equipo y programa el ángulo de paso y un barrido lento para detectar los picos que caracterizaron al óxido de zinc.

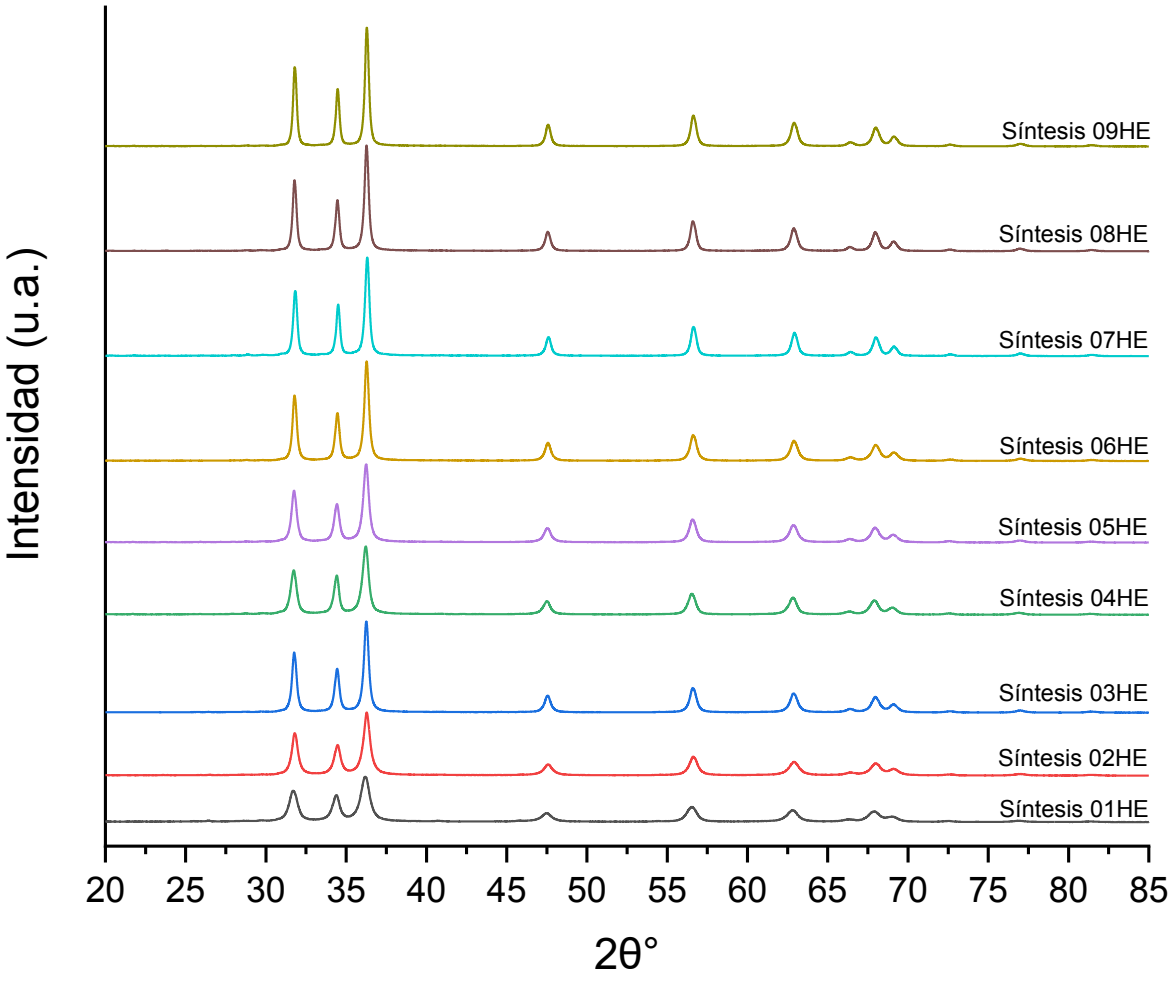
El análisis por difracción de rayos X en polvos fue realizado en un difractómetro D8 Focus (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Alemania) del Laboratorio de Síntesis y Caracterización de Materiales (SyCAM) de la Facultad de Ciencias Físicas de la

Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Las condiciones de medidas fueron las siguientes: el rango de medición fue de 5° a 85° en 2θ en simetría Bragg-Brentano, con paso de 0.03° y 0.5 segundos por paso, usando una fuente de rayos X de CuKα (λ = 1.5418 Å) a 40 kV y 40 mA.

Los difractogramas de las muestras mostraron los picos de difracción característicos de la estructura zincita (Ficha ICDD N° 00-036-1451) de simetría hexagonal y grupo espacial P 63 m c (186). Los picos principales encontrados fueron 31.67°, 34.40°, 36.17°, 47.51°, 56.53°, 62.83°, 66.30°, 67.94°, 69.02°. Además, se observaron picos pequeños alrededor de 8.51° y 17.20° que corresponderían a algunos subproductos generados durante la síntesis, aunque la intensidad de estos es despreciable. Se obtuvieron los espectros para los 9 tipos de síntesis:

Gráfica 12

Espectro DRX de las síntesis de nanopartículas de óxido de zinc HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09



Usando la fórmula de Scherrer se estimó el tamaño de grano promedio en cada muestra.

Tabla 49

Tamaño de cristalito de las síntesis de nanopartículas de óxido de Zinc provenientes de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

Muestra	Tamaño de grano (nm)		
	N° Repetición		
	01	02	03
HE01	12.450	12.665	13.178
HE02	16.289	15.303	15.836
HE03	21.804	21.039	22.232
HE04	17.751	16.854	17.953
HE05	19.578	15.993	18.455
HE06	23.794	24.210	24.962
HE07	25.477	29.609	28.183
HE08	25.958	24.140	25.549
HE09	27.520	29.083	28.552

Se determinaron los estadísticos descriptivos para los tamaños de grano

Tabla 50

Estadísticos descriptivos para el tamaño de cristalito de las nanopartículas provenientes de la síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

Síntesis / Estadístico		HE01	HE02	HE03	HE04	HE05	HE06	HE07	HE08	HE09
Media		12.7643	15.8093	21.6917	17.5193	18.0087	24.3220	27.7563	25.2157	28.3850
95% de intervalo de confianza	**Límite inferior**	11.8352	14.5833	20.1903	16.0662	13.4535	22.8514	22.5427	22.8465	26.4107
	Límite superior	13.6935	17.0354	23.1930	18.9725	22.5638	25.7926	32.9700	27.5849	30.3593
Mediana		12.6650	15.8360	21.8040	17.7510	18.4550	24.2100	28.1830	25.5490	28.5520
Varianza		0.140	0.244	0.365	0.342	3.362	0.350	4.405	0.910	0.632
Desviación estándar		0.37403	0.49354	0.60438	0.58498	1.83370	0.59200	2.09878	0.95374	0.79477
Mínimo		12.45	15.30	21.04	16.85	15.99	23.79	25.48	24.14	27.52
Máximo		13.18	16.29	22.23	17.95	19.58	24.96	29.61	25.96	29.08
Rango		0.73	0.99	1.19	1.10	3.59	1.17	4.13	1.82	1.56

Tabla 51

Prueba de normalidad realizada a los datos de tamaño de cristalito provenientes de las síntesis de NPs de ZnO HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

Síntesis	Estadístico	gl	Sig.	¿La distribución de datos es normal?
HE01	0.947	3	0.557	Sí
HE02	0.998	3	0.911	Sí
HE03	0.974	3	0.691	Sí
HE04	0.882	3	0.331	Sí
HE05	0.956	3	0.594	Sí
HE06	0.973	3	0.686	Sí
HE07	0.969	3	0.662	Sí
HE08	0.908	3	0.413	Sí
HE09	0.967	3	0.651	Sí

Nota: Se utilizó la prueba Shapiro-Wilk debido a que se obtuvo menos de 50 datos por cada síntesis.

Se plantea la hipótesis:

Ho: La distribución sigue una tendencia normal.

Ha: La distribución no sigue una tendencia normal.

Si $p<0.05$, se rechaza Ho. De la **Tabla 51**, para HE01, $p>0.050$, entonces no se rechaza Ho, se acepta Ho, con una confianza del 95% la distribución sigue una tendencia normal.

De la misma manera se realizó para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09. De donde se llegó a la conclusión que la población que todas las síntesis tienen una población con distribución normal, y se aplicó el análisis ANOVA para evaluar cual es el impacto de la variación de las condiciones experimentales en la síntesis.

Tabla 52

Estadístico de Levene para el conjunto de datos de tamaño de cristalito obtenidos de las síntesis de NPs de ZnO HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	2.516	8	18	0.049590
Se basa en la mediana	0.918	8	18	0.525
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0.918	8	7.544	0.549
Se basa en la media recortada	2.374	8	18	0.061

Entonces se plantean las siguientes hipótesis:

Ho: Existe homogeneidad en las varianzas.

Ha: No existe homogeneidad en las varianzas.

Si $p<0.05$, entonces se rechaza Ho. De la **Tabla 52**, $p<0.050$, entonces se rechaza Ho, se acepta Ha: con una confianza del 95% no existe homogeneidad en las varianzas.

Como no hubo homogeneidad en las varianzas con la prueba Levene se incumplió un supuesto de la prueba ANOVA, entonces se realizó la prueba Kruskal- Wallis.

Tabla 53

Prueba de Kruskal-Wallis para los datos de tamaño de cristalito de NPs de ZnO obtenidos de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

	H de Kruskal-Wallis	gl	Sig. asintótica
Resultado	24.741	8	0.002

Se plantearon las siguientes hipótesis:

Ho: las medianas de la población son iguales.

Ha: Las medianas de la población no son iguales.

Si $p<0.05$, entonces se rechaza Ho. De la **Tabla 53**, $p<0.050$, entonces se rechaza Ho, y se acepta Ha: Las medianas de la población no son iguales, eso quiere decir que sí se presentan cambios significativos con las diferentes temperaturas y concentraciones planteadas.

Se concluyó que con un 95% de confianza las medianas de los datos de potencial Z de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 no son iguales, en consecuencia, el tratamiento térmico a temperaturas y concentración se la sal precursora distinta sí tuvo influencia en las medianas de cada síntesis.

Para determinar en donde se encontraban las diferencias entre el tamaño de cristalito cada síntesis se realizó una la prueba post-hoc Dunn-Bonferroni.

Tabla 54

Comparación de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 mediante el método post-hoc Dunn Bonferroni.

Muestra 1-Muestra 2	Sig	¿Existe diferencia significativa entre Muestra 1 y Muestra 2?
HE01-HE09	0.000	SI
HE01-HE07	0.001	SI
HE02-HE09	0.003	SI
HE01-HE08	0.005	SI
HE02-HE07	0.005	SI
HE01-HE06	0.016	SI
HE04-HE09	0.016	SI
HE05-HE09	0.021	SI
HE02-HE08	0.024	SI
HE04-HE07	0.024	SI
HE05-HE07	0.031	SI
HE02-HE06	0.057	NO
HE01-HE03	0.064	NO
HE04-HE08	0.090	NO
HE03-HE09	0.100	NO
HE05-HE08	0.111	NO
HE03-HE07	0.136	NO
HE02-HE03	0.181	NO
HE04-HE06	0.181	NO
HE05-HE06	0.217	NO
HE01-HE05	0.237	NO
HE01-HE04	0.280	NO
HE06-HE09	0.280	NO
HE03-HE08	0.355	NO
HE06-HE07	0.355	NO
HE04-HE03	0.440	NO
HE08-HE09	0.471	NO
HE02-HE05	0.504	NO
HE05-HE03	0.504	NO
HE02-HE04	0.572	NO
HE03-HE06	0.572	NO
HE08-HE07	0.572	NO
HE01-HE02	0.607	NO
HE06-HE08	0.719	NO
HE07-HE09	0.877	NO
HE04-HE05	0.918	NO

Entonces se plantean las siguientes hipótesis para el primer par de muestras:

Muestra 1= HE01

Muestra 2= HE09

Ho: No hay diferencias significativas entre la muestra 1 (HE01) y la muestra 2 (HE09).

Ha: Sí hay diferencias significativas entre la muestra 1 (HE01) y la muestra 2. (HE09).

Si $p<0.05$ se rechaza Ho. De la **Tabla 54**, $p<0.050$. Se rechaza Ho, se acepta Ha: Sí hay diferencias significativas entre la mediana de las repeticiones de la muestra 1 (HE01) y la mediana de las repeticiones de muestra 2. (HE09).

De la misma manera se plantearon hipótesis para cada par de muestras, y se plasmaron en la **Tabla 54** de donde se concluyó con un 95% de confianza que los pares de grupos que representan diferencias significativas son: HE01-HE09, HE01-HE07, HE02-HE09, HE01-HE08, HE02-HE07, HE01-HE06, HE04-HE09, HE05-HE09, HE02-HE08, HE04-HE07, HE05-HE07.

Diagrama 7

Comparación entre las síntesis que tienen diferencias significativas entre la media de la prueba Dunn-Bonferroni para los resultados del análisis DRX.

Muestra 1 - Muestra 2	
HE01	HE06
	HE07
	HE08
	HE09

Muestra 1 - Muestra 2	
HE02	HE07
	HE08
	HE09

Muestra 1 - Muestra 2	
HE04	HE07
	HE09

Muestra 1 - Muestra 2	
HE05	HE07
	HE09

Muestra 2 - Muestra 1	
HE09	HE01
	HE02
	HE04
	HE05

Muestra 2 - Muestra 1	
HE08	HE01
	HE02

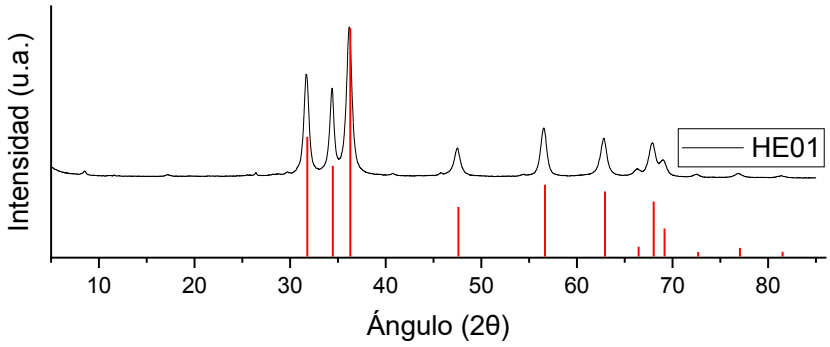
Muestra 2 - Muestra 1	
HE07	HE01
	HE02
	HE04
	HE05

Muestra 2 - Muestra 1	
HE06	HE01

Se contrastaron los difractogramas con la ficha de Zincita #96-900-4179 y se obtuvieron las siguientes gráficas.

Gráfica 13

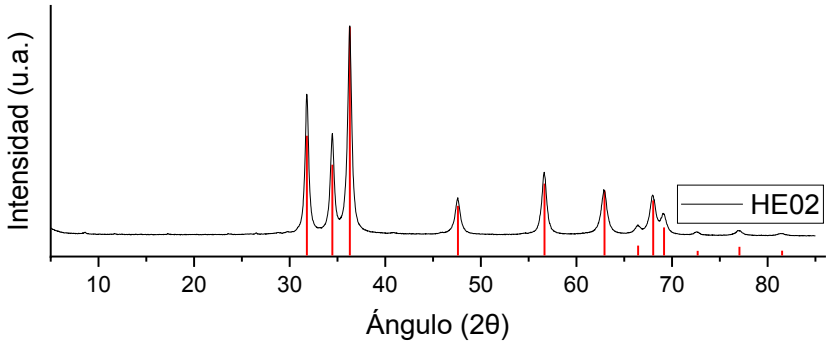
Difractograma de la síntesis HE01 y la ficha de Zincita #96-900-4179



Nota: La ficha de la zincita #96-900-4179 se encuentra graficada en color rojo.

Gráfica 14

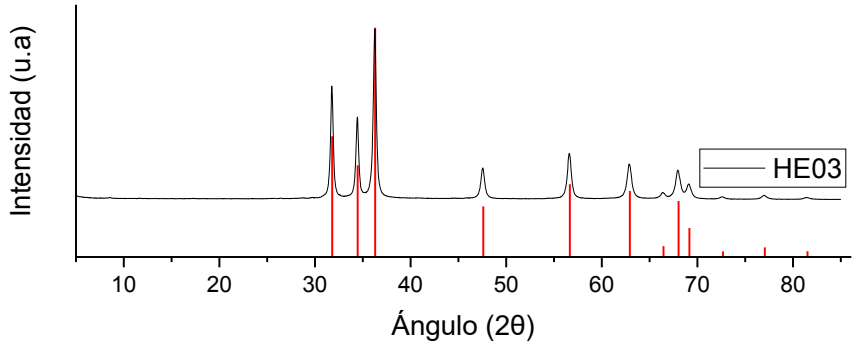
Difractograma de la síntesis HE02 y la ficha de Zincita #96-900-4179



Nota: La ficha de la zincita #96-900-4179 se encuentra graficada en color rojo.

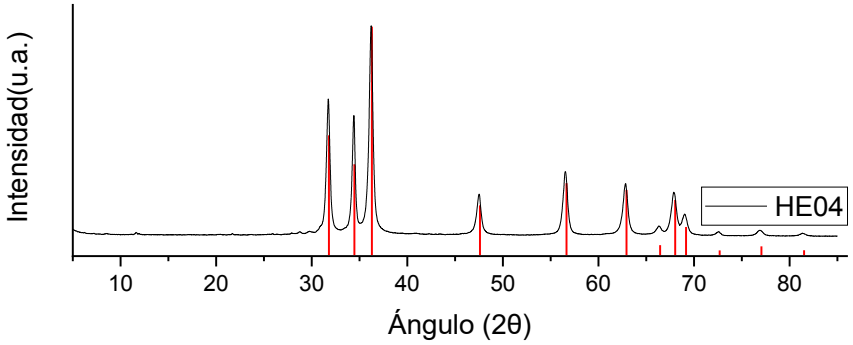
Gráfica 15

Difractograma de la síntesis HE03 y la ficha de Zincita #96-900-4179



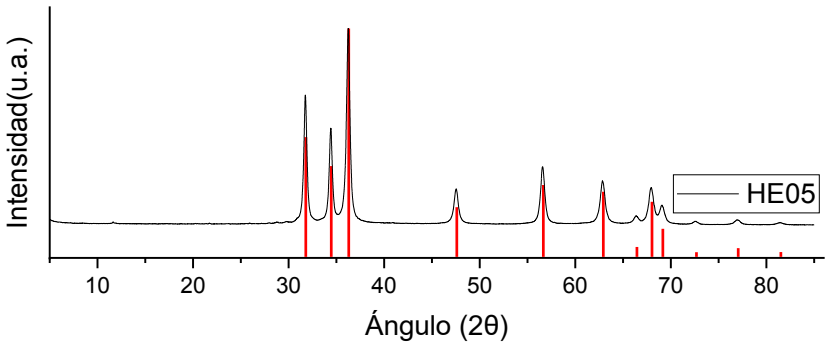
Nota: La ficha de la zincita #96-900-4179 se encuentra graficada en color rojo.

Gráfica 16
Difractograma de la síntesis HE05 y la ficha de Zincita #96-900-4179



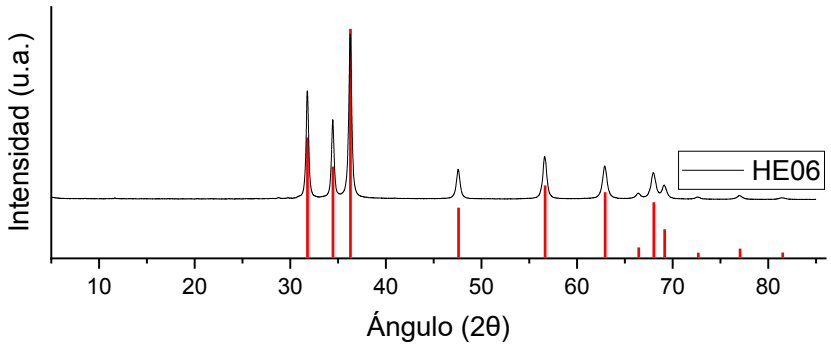
Nota: La ficha de la zincita #96-900-4179 se encuentra graficada en color rojo.

Gráfica 17
Difractograma de la síntesis HE05 y la ficha de Zincita #96-900-4179



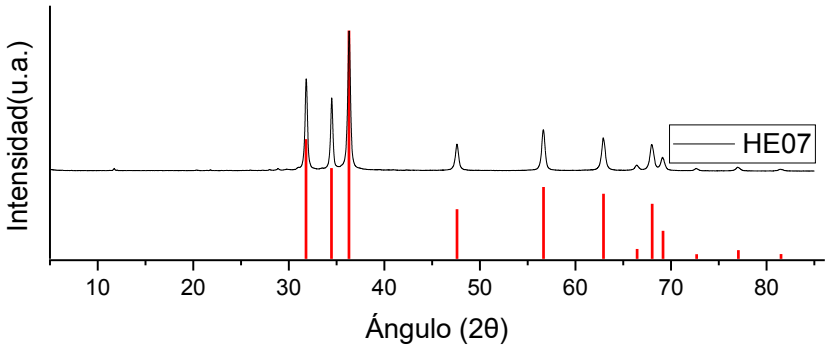
Nota: La ficha de la zincita #96-900-4179 se encuentra graficada en color rojo.

Gráfica 18
Difractograma de la síntesis HE06 y la ficha de Zincita #96-900-4179



Nota: La ficha de la zincita #96-900-4179 se encuentra graficada en color rojo.

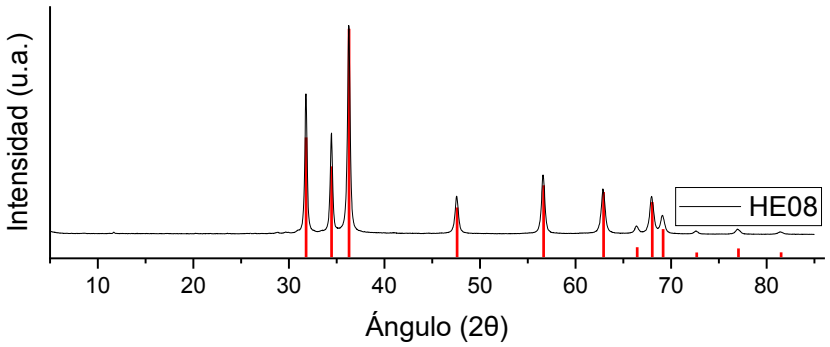
Gráfica 19
Difractograma de la síntesis HE07 y la ficha de Zincita #96-900-4179



Nota: La ficha de la zincita #96-900-4179 se encuentra graficada en color rojo.

Gráfica 20

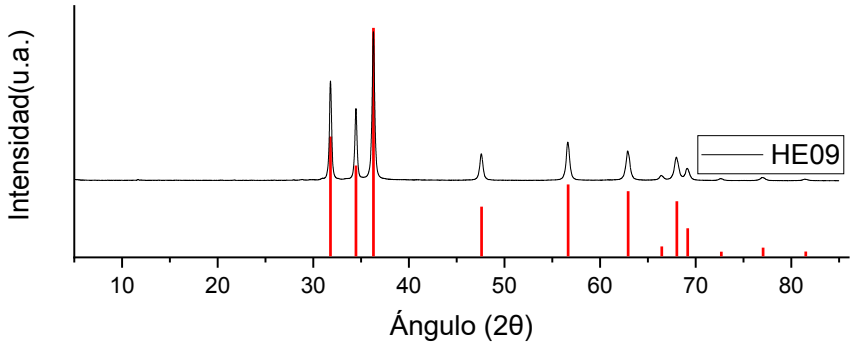
Difractograma de la síntesis HE08 y la ficha de Zincita #96-900-4179



Nota: La ficha de la zincita #96-900-4179 se encuentra graficada en color rojo.

Gráfica 21

Difractograma de la síntesis HE09 y la ficha de Zincita #96-900-4179



Nota: La ficha de la zincita #96-900-4179 se encuentra graficada en color rojo.

Luego, con los promedios de las 3 repeticiones, se realizó una gráfica relacionando la temperatura de recocido y la concentración de la sal y el tamaño de grano resultante:

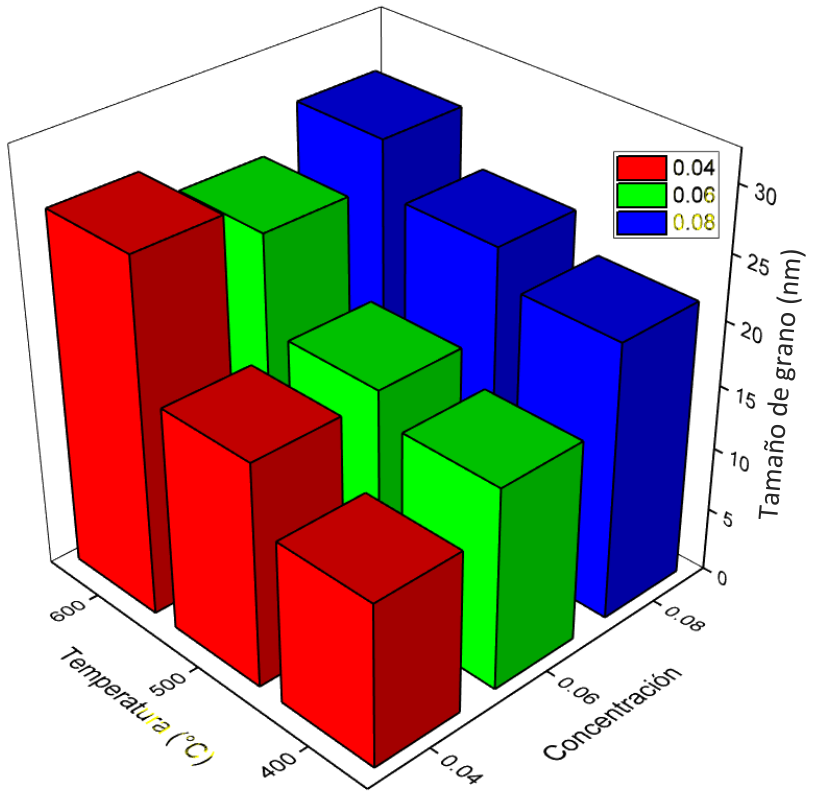
Tabla 55

Variación del tamaño de cristalito promedio con respecto a los parámetros de temperatura y concentración de la sal.

Temperatura (°C)	Concentración (g Nitrato de Zinc hexahidratado/ mL de extracto de *Gentianella tristicha*)		
	0.04	**0.06**	**0.08**
400	12.76 nm	15.81 nm	21.69 nm
500	17.52 nm	18.01 nm	24.32 nm
600	27.76 nm	25.22 nm	28.38 nm

Gráfica 22

Relación del tamaño de cristalito de la nanopartícula de óxido de zinc, temperatura de recocido y concentración de la sal de zinc



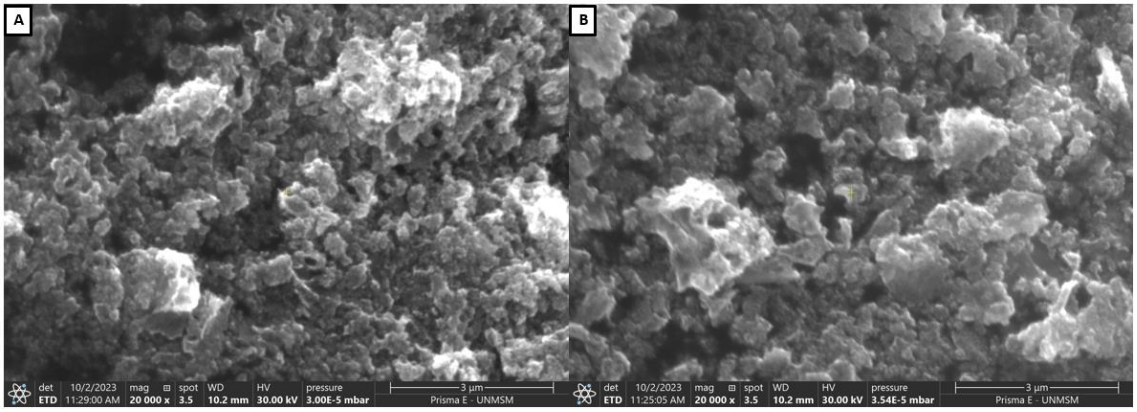
Nota: La concentración se encuentra en unidades de (gramos Nitrato de Zinc/mL de extracto *Gentianella tristicha*)

5.13 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Se reportaron las imágenes por SEM para las síntesis: HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09. (Ver **Figura 20**, **Figura 21**, **Figura 22**, **Figura 23**, **Figura 24**, **Figura 25**, **Figura 26**, **Figura 27**, **Figura 28** respectivamente)

Figura 20

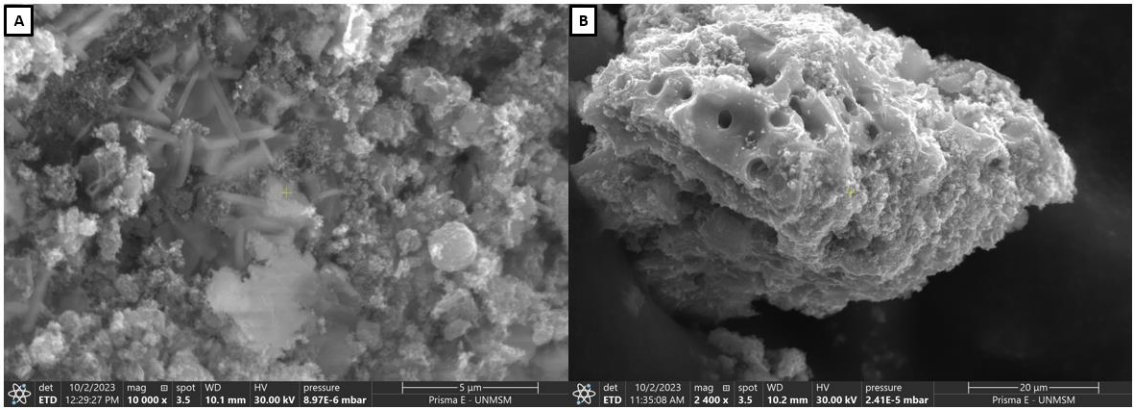
Análisis topológico de la muestra 01HE01



Nota: (A)Detector ETD, Magnitud de aumento:20000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.2mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:3.00E-5 bar. (B) Detector ETD, Magnitud de aumento:20000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.2mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:3.00E-5 bar.

Figura 21

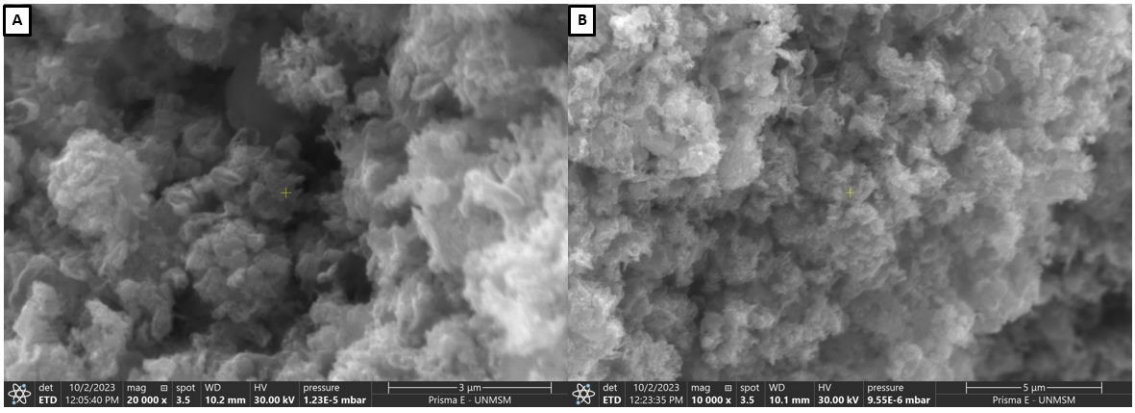
Análisis topológico de la muestra 01HE02



Nota: (A)Detector ETD, Magnitud de aumento:10000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.1mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:8.79E-6 bar. (B) Detector ETD, Magnitud de aumento:2400x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.2mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:2.41E-5 bar.

Figura 22

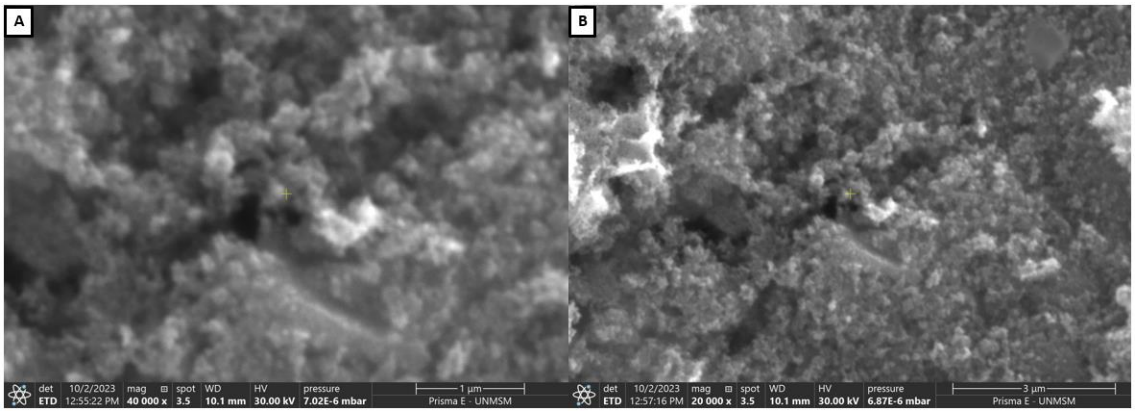
Análisis topológico de la muestra 01HE03



Nota: (A)Detector ETD, Magnitud de aumento:20000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.2mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:1.23E-5 bar. (B) Detector ETD, Magnitud de aumento:10000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.1mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:9.55E-6 bar.

Figura 23

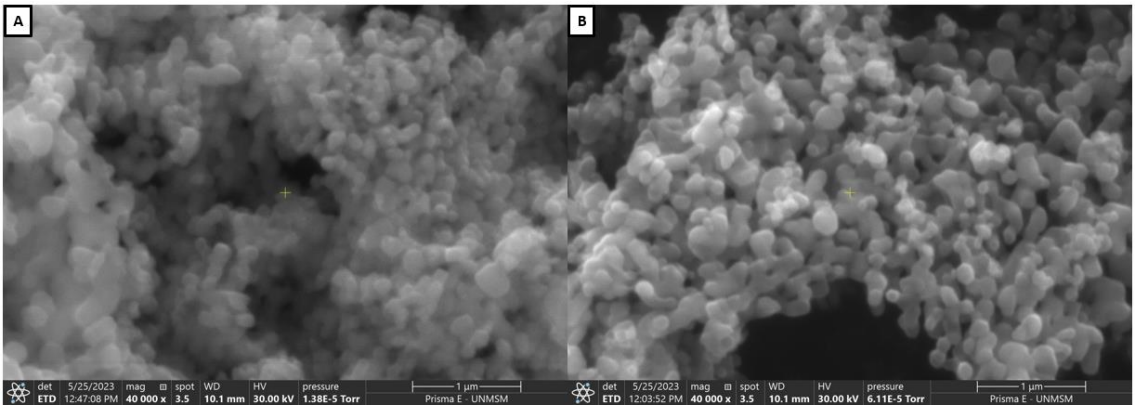
Análisis topológico de la muestra 01HE04



Nota: (A)Detector ETD, Magnitud de aumento:40000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.1mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:7.02E-6 bar. (B) Detector ETD, Magnitud de aumento:20000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.1mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:6.875E-6 bar.

Figura 24

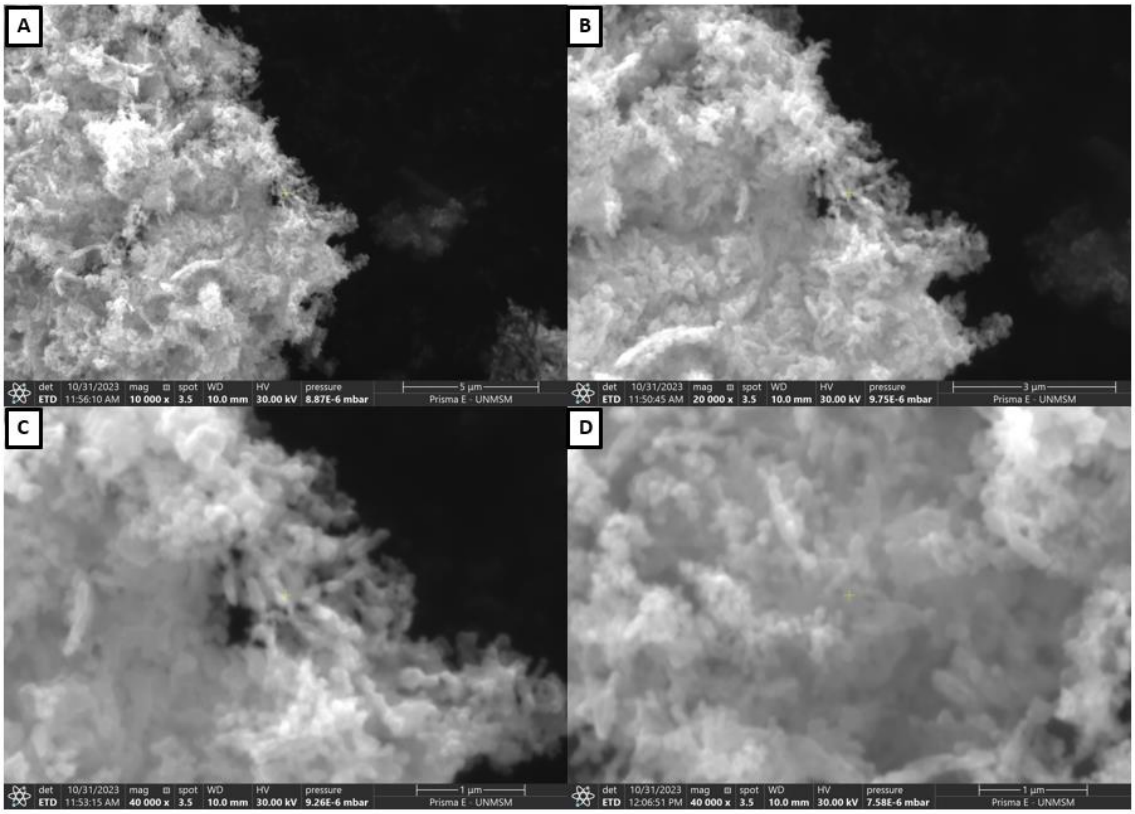
Análisis topológico de la muestra 01HE05



Nota: (A)Detector ETD, Magnitud de aumento:40000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.1mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:1.38E-5 bar. (B) Detector ETD, Magnitud de aumento:40000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.1mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:6.11E-5 bar.

Figura 25

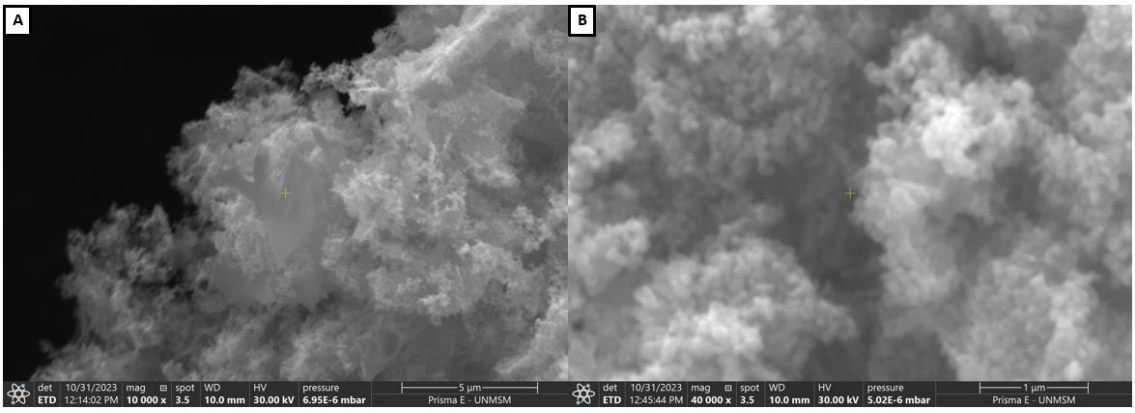
Análisis topológico de la muestra 01HE06



Nota: (A)Detector ETD, Magnitud de aumento:10000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.0mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:8.87E-6 bar. (B) Detector ETD, Magnitud de aumento:20000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.0mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:9.57E-6 bar. (C)Detector ETD, Magnitud de aumento:40000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.0mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:9.26E-6 bar. (D) Detector ETD, Magnitud de aumento:40000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.0mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:7.58E-6 bar.

Figura 26

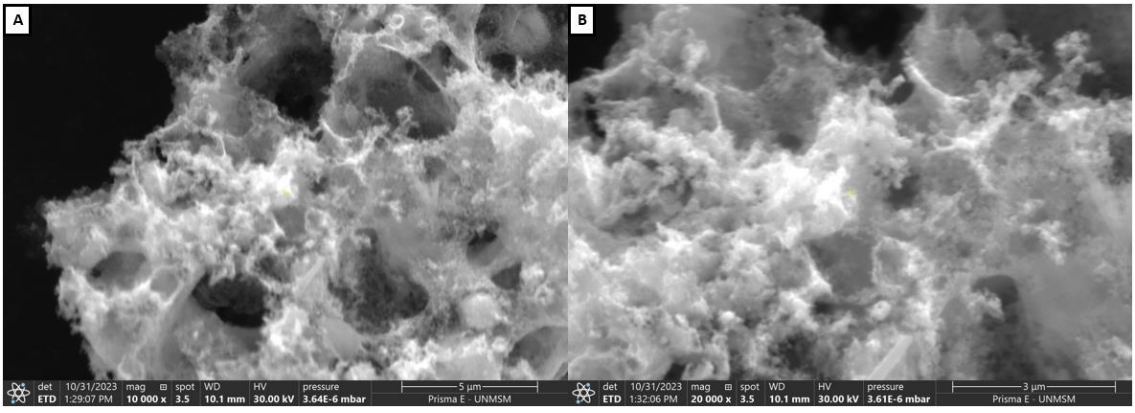
Análisis topológico de la muestra 01HE07



Nota: (A)Detector ETD, Magnitud de aumento:10000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.0mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:6.95E-6 bar. (B) Detector ETD, Magnitud de aumento:40000x, Spot(apertura):3.5, WD (work distance, distancia de trabajo):10.0mm, HV (high voltaje):30.00kV, presión:5.02E-6 bar.

Figura 27

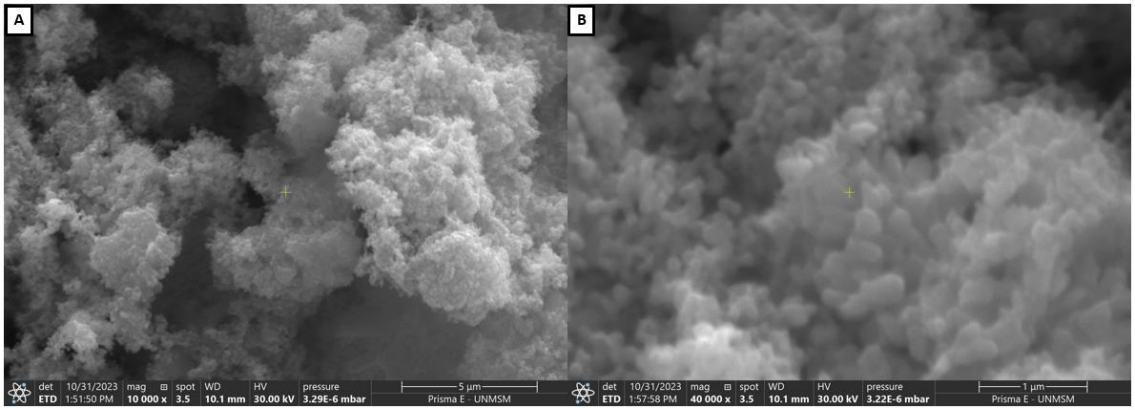
Análisis topológico de la muestra 01HE08



Nota: (A)Detector ETD, Magnitud de aumento:10000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.1mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:3.64E-6 bar. (B) Detector ETD, Magnitud de aumento:20000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.1mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:3.61E-6 bar.

Figura 28

Análisis topológico de la muestra 01HE09



Nota: (A)Detector ETD, Magnitud de aumento:10000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.1mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:3.29E-6 bar. (B) Detector ETD, Magnitud de aumento:40000x, Spot(apertura):3.5, WD(work distance, distancia de trabajo):10.1mm, HV(high voltaje):30.00kV, presión:3.22E-6 bar.

5.14 Análisis por dispersión de energía de rayos X(EDS)

Se reportaron los resultados del análisis EDS y las gráficas respectivas.

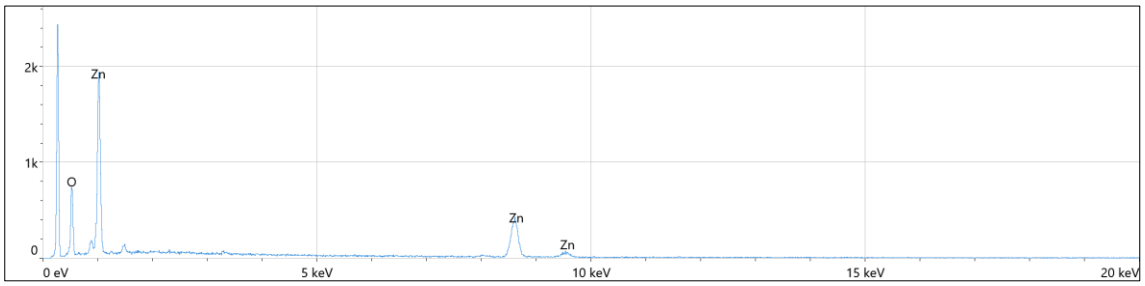
Tabla 56

Análisis elemental de la muestra 01HE01

Elemento	Porcentaje atómico (%)	Error del porcentaje atómico (%)	Porcentaje del peso (%)	Error del porcentaje del peso (%)
O	78.9	0.9	47.8	0.6
Zn	21.1	0.1	52.2	0.3

Gráfica 23

Identificación del Zn y O en la muestra 01HE01



Nota: En el eje de las abscisas se encuentra la energía dispersada (keV) por elemento y en el eje de las ordenadas se encuentran las cuentas (k cuentas) de estos.

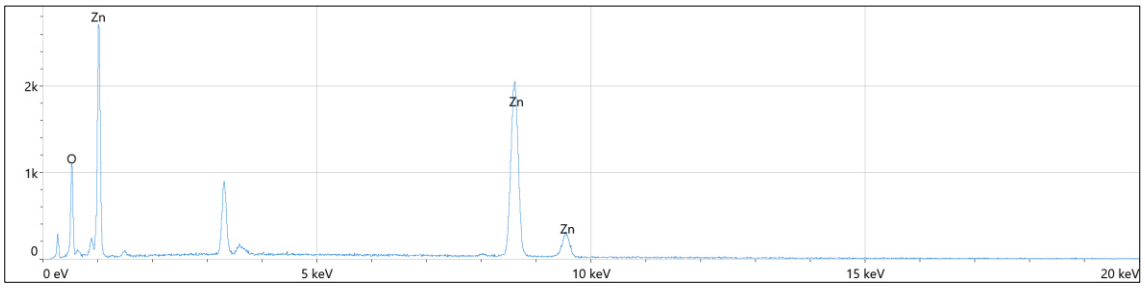
Tabla 57

Análisis elemental de la muestra 01HE02

Elemento	Porcentaje atómico (%)	Error del porcentaje atómico (%)	Porcentaje del peso (%)	Error del porcentaje del peso (%)
O	57.8	0.5	25.1	0.2
Zn	42.2	0.1	74.9	0.1

Gráfica 24

Identificación del Zn y O en la muestra 01HE02



Nota: En el eje de las abscisas se encuentra la energía dispersada (keV) por elemento y en el eje de las ordenadas se encuentran las cuentas (k cuentas) de estos.

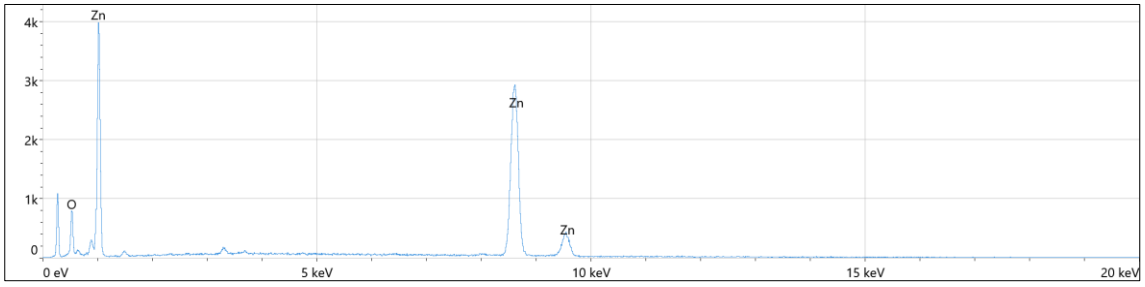
Tabla 58

Análisis elemental de la muestra 01HE03

Elemento	Porcentaje atómico (%)	Error del porcentaje atómico (%)	Porcentaje del peso (%)	Error del porcentaje del peso (%)
O	40.3	0.5	14.2	0.2
Zn	59.7	0.1	85.8	0.1

Gráfica 25

Identificación del Zn y O en la muestra 01HE03



Nota: En el eje de las abscisas se encuentra la energía dispersada (keV) por elemento y en el eje de las ordenadas se encuentran las cuentas (k cuentas) de estos.

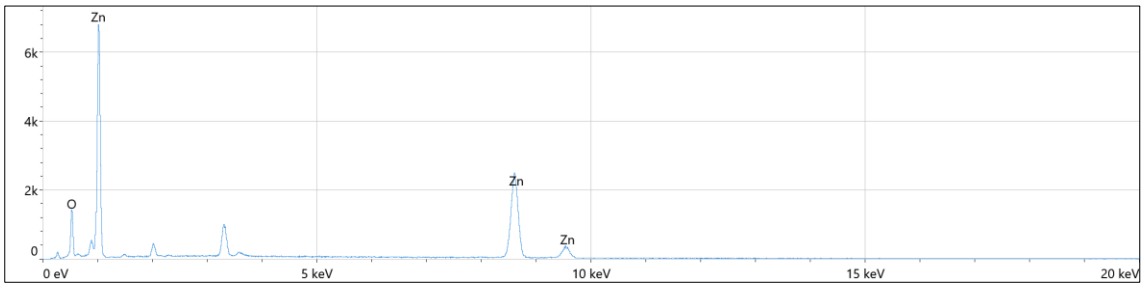
Tabla 59

Análisis elemental de la muestra 01HE04

Elemento	Porcentaje atómico (%)	Error del porcentaje atómico (%)	Porcentaje del peso (%)	Error del porcentaje del peso (%)
O	59.9	0.4	26.8	0.2
Zn	40.1	0.1	73.2	0.2

Gráfica 26

Identificación del Zn y O en la muestra 01HE04



Nota: En el eje de las abscisas se encuentra la energía dispersada (keV) por elemento y en el eje de las ordenadas se encuentran las cuentas (k cuentas) de estos.

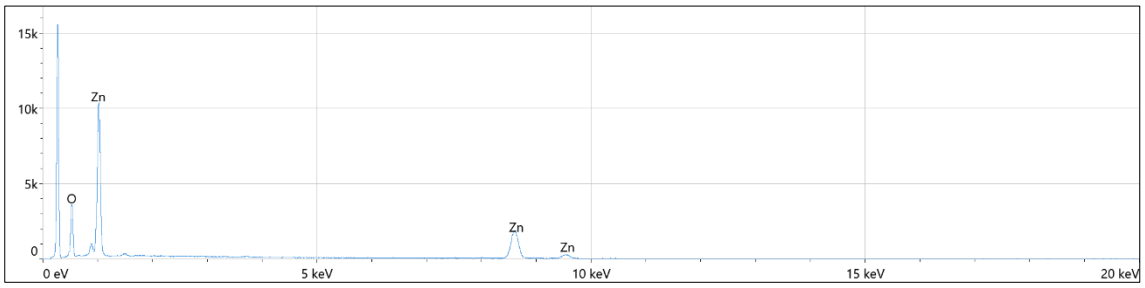
Tabla 60

Análisis elemental de la muestra 01HE05

Elemento	Porcentaje atómico (%)	Error del porcentaje atómico (%)	Porcentaje del peso (%)	Error del porcentaje del peso (%)
O	78.3	0.5	46.9	0.3
Zn	21.7	0.1	53.1	0.1

Gráfica 27

Identificación del Zn y O en la muestra 01HE05



Nota: En el eje de las abscisas se encuentra la energía dispersada (keV) por elemento y en el eje de las ordenadas se encuentran las cuentas (k cuentas) de estos.

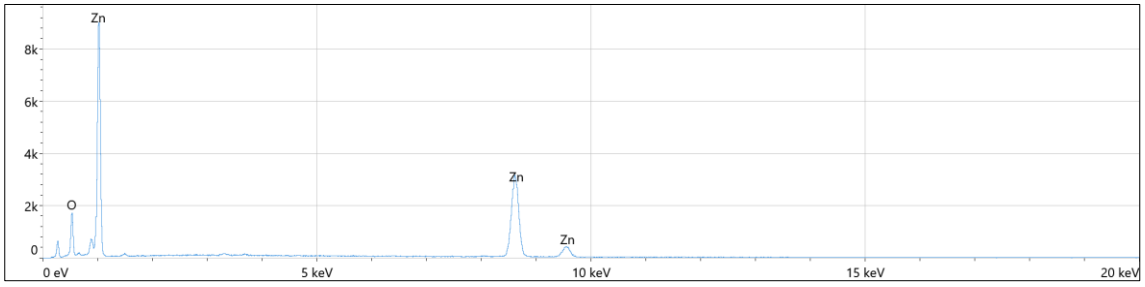
Tabla 61

Análisis elemental de la muestra 01HE06

Elemento	Porcentaje atómico (%)	Error del porcentaje atómico (%)	Porcentaje del peso (%)	Error del porcentaje del peso (%)
O	58.1	0.4	25.4	0.2
Zn	41.9	0.1	74.6	0.1

Gráfica 28

Identificación del Zn y O en la muestra 01HE06



Nota: En el eje de las abscisas se encuentra la energía dispersada (keV) por elemento y en el eje de las ordenadas se encuentran las cuentas (k cuentas) de estos.

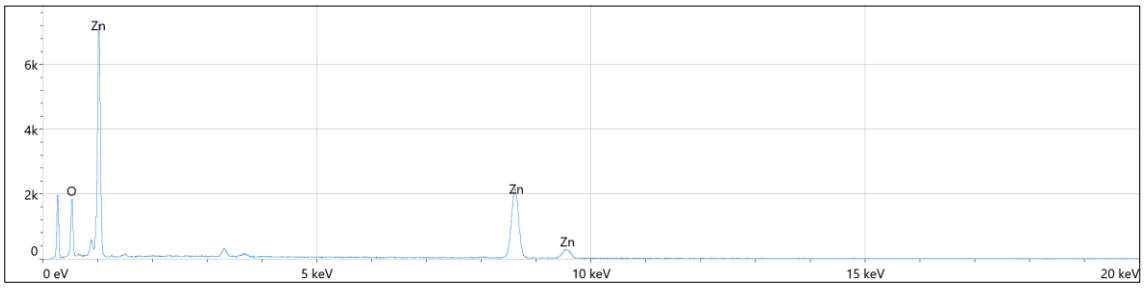
Tabla 62

Análisis elemental de la muestra 01HE07

Elemento	Porcentaje atómico (%)	Error del porcentaje atómico (%)	Porcentaje del peso (%)	Error del porcentaje del peso (%)
O	67.0	0.5	33.1	0.2
Zn	33.0	0.1	66.9	0.2

Gráfica 29

Identificación del Zn y O en la muestra 01HE07



Nota: En el eje de las abscisas se encuentra la energía dispersada (keV) por elemento y en el eje de las ordenadas se encuentran las cuentas (k cuentas) de estos.

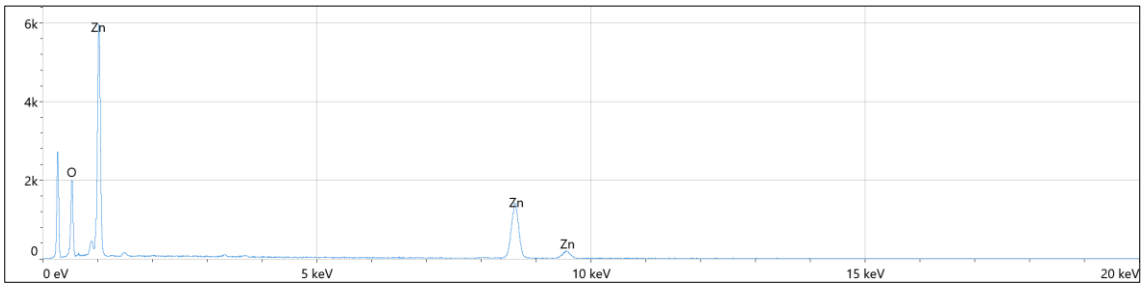
Tabla 63

Análisis elemental de la muestra 01HE08

Elemento	Porcentaje atómico (%)	Error del porcentaje atómico (%)	Porcentaje del peso (%)	Error del porcentaje del peso (%)
O	75.5	0.5	43.1	0.3
Zn	24.5	0.1	56.9	0.2

Gráfica 30

Identificación del Zn y O en la muestra 01HE08



Nota: En el eje de las abscisas se encuentra la energía dispersada (keV) por elemento y en el eje de las ordenadas se encuentran las cuentas (k cuentas) de estos.

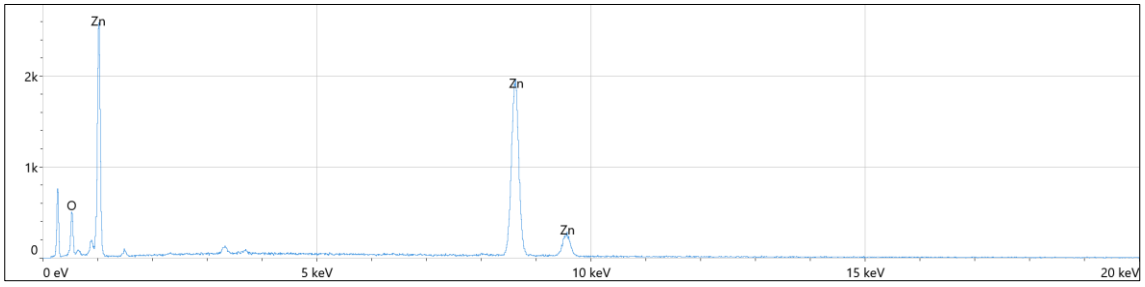
Tabla 64

Análisis elemental de la muestra 01HE09

Elemento	Porcentaje atómico (%)	Error del porcentaje atómico (%)	Porcentaje del peso (%)	Error del porcentaje del peso (%)
O	38.8	0.7	13.4	0.2
Zn	61.2	0.1	86.6	0.1

Gráfica 31

Identificación del Zn y O en la muestra 01HE09



Nota: En el eje de las abscisas se encuentra la energía dispersada (keV) por elemento y en el eje de las ordenadas se encuentran las cuentas (k cuentas) de estos.

6.Discusión de resultados

6.1 Preparación de la materia orgánica

Para el rendimiento obtenido de la relación de la planta en bruto se reportaron resultados de 74.50%, 79.36% y 73.90% en la **Tabla 3**, los cuales se consideraron rendimientos altos con respecto a la planta en bruto comprada. Un rendimiento alto permite aprovechar la totalidad o mayor parte de la planta, pero este depende de diversos factores, que van desde el cultivo de la planta, hasta el recolecta y selección. Veobides et al. (2018) postularon que los factores externos que puede afectar el rendimiento de una planta son los bióticos y abióticos. Dentro de estos componentes, son los abióticos los de mayor impacto en el rendimiento de una planta, pues puede disminuir este en hasta 50%. Son ejemplos de componentes abióticos la temperatura, el agua, las radiaciones, las sustancias químicas, etc.

En este caso, la *Gentianella tristicha* fue cultivada en el departamento de Junín-Perú, lo cual disminuye la probabilidad de presencia de factores abióticos que reduzcan el rendimiento de dicha planta. En cuanto a la prueba de normalidad realizada en la **Tabla 4** a los resultados peso bruto, peso neto y rendimiento con un nivel de significancia del 95% se determinó que los datos de peso neto y los datos de rendimiento sí poseen una distribución normal, en cambio los datos de peso bruto no poseen una distribución normal. Esto puede deberse a que el peso bruto de la planta puede contener impurezas externas a ella, como por ejemplo tierra, piedras, ramitas, otras pequeñas plantas, insectos muertos, etc.; por lo que, el contenido proveniente del kilo neto de una planta a otra puede variar. Por otro lado, en la **Tabla 5** se calcularon los estadísticos descriptivos para el peso

bruto, el peso neto y el rendimiento. Se observó que el que posee mayor desviación estándar es el peso neto, pues como fue explicado anteriormente, depende mucho del contenido en bruto y este puede contener impurezas, además el rendimiento tiene una desviación estándar con un valor de 2.99%, lo cual implica que se obtuvieron valores de rendimiento muy cercanos para los tres lotes de *Gentianella tristicha,* por ende, se trabajó de manera similar y eficiente para los tres lotes de plantas. Una técnica estandarizada y adecuada fue fundamental para que los intervalos del rendimiento no tengan un rango amplio y esta fue descrita en la sección 5.1.

6.2 Extracto de *Gentianella tristicha*

Se preparó un extracto con concentración 2g de *Gentianella tristicha* para cada 50 mL de agua ultrapura y se guardó bajo almacenamiento en un refrigerador a 5 °C. Como resultado se prepararon alrededor 2.5 litros en días distintos para poder realizar las 3 repeticiones de las síntesis de las nanopartículas de ZnO: HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

6.3 Determinación de polifenoles totales del extracto de *Gentianella tristicha*

Según el método descrito en el ítem 5.3 se analizaron los polifenoles totales del extracto de *Gentianella tristicha.* Primero se construyó la curva de calibración con el estándar ácido gálico, reflejado en la Gráfica 1, de donde se obtuvo un coeficiente de Pearson igual a 0.9952 y un R^2 de 0.98885, el coeficiente de Pearson cercano a 1 indica que la correlación es positiva y que las variables se correlacionan de forma directamente proporcional, es decir la concentración del estándar de ácido gálico es directamente

proporcional a la absorbancia en el equipo de espectrofotometría Uv-Visible. En el caso de R^2 se obtuvo un valor de 0.98885, esto indicó que el modelo predice con los valores en el campo de destino, en este caso la absorbancia, por lo cual se concluye que es adecuado utilizarlo para determinar la concentración de polifenoles totales del extracto de *Gentianella tristicha.*

Luego de ello se registró la absorbancia por triplicado del extracto de *Gentianella tristicha* de donde se obtienen los resultados de la Tabla 7. En la Tabla 8 se presenta una prueba de normalidad que permite concluir que los datos no presentaban una distribución normal. Por ello se usa la mediana (Tabla 9) de los tres valores de absorbancia junto a la Ecuación (**3**) para poder calcular la concentración de polifenoles totales del extracto de *Gentianella Tristicha* que se utilizó para preparar las NPs de ZnO, este valor fue $156.516\ \frac{equivalentes\ \mu g\ ácido\ gálico}{mL} \pm 3.63x10^{-5}$, el valor de la desviación estándar de la concentración de polifenoles totales resultó ser ínfimo, debido a ello se pudo afirmar que el valor de la concentración de los polifenoles es una medida confiable.

Vera et al. (2023) demostraron que existe una correlación positiva lineal entre los compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante de 4 diferentes plantas, además los autores sugirieron que los compuestos fenólicos totales contribuyen significativamente a la actividad antioxidante en extractos de plantas. Así mismo, se confirmó el aporte de los compuestos fenólicos totales en la formación de NPs de ZnO mediante la reducción durante la síntesis. En dichos resultados la planta *A. chilensis* mostró alto rendimiento y un menor tamaño de partícula.

Por lo anterior, es importante analizar la cantidad de compuestos fenólicos en el extracto de *Gentianella tristicha,* ya que según lo planteado por Vera et al. (2023) a

mayor cantidad de compuestos fenólicos, podría obtenerse mayor rendimiento de formación de nanopartícula y menor diámetro de nanopartícula. La cantidad de compuestos fenólicos del extracto de *Gentianella Tristicha* es de $156.516\,\frac{equivalentes\ \mu g\ ácido\ gálico}{mL} \pm 3.63x10^{-5}$ (Tabla 8) lo cual puede considerarse una cantidad notoriamente alta en comparación con las plantas descritas y analizadas en la investigación de Vera et al. (2023). La elevada cantidad de compuestos fenólicos totales fue de $156.516\,\frac{equivalentes\ \mu g\ ácido\ gálico}{mL}$ y contribuyó como agente reductor y a la formación de partículas nanométricas de óxido de zinc.

Rajendran & Sengodan (2017) sintetizaron NPs de ZnO a partir del extracto de hojas de *Sesbania grandiflora* en distintas concentraciones, los autores indicaron que las hojas de dicha planta son un gran recurso de fitoquímicos tales como polifenoles, en dicha síntesis el extracto de la planta en cuestión actuaba como un agente reductor que reaccionó con el agente precursor para obtener las nanopartículas. En la investigación se concluyó que a medida que se incrementaba la concentración del extracto, se optimizaba la tasa de reducción de NPs de ZnO. De dicho estudio se puede concluir que al incrementar la concentración del extracto se incrementa la concentración de polifenoles y esto posibilita la óptima síntesis de NPs de ZnO.

Se puede inferir que, el incremento de la concentración del extracto de *Gentianella Tristicha* genera mayor cantidad de compuestos fenólicos en la síntesis de NPs de ZnO. Finalmente, se sugiere ampliar estudios que relacionen la concentración de polifenoles totales el extracto de *Gentianella tristicha* y el rendimiento de las NPs de ZnO.

6.4 Determinación de flavonoides totales del extracto de *Gentianella tristicha*

En cuanto a la determinación de flavonoides totales del extracto de *Gentianella tristicha* se preparó la curva de calibración que se presenta en la Gráfica 2 de donde se obtuvo un R^2 de 0.98051, lo cual indicó una correlación lineal positiva entre la concentración del patrón de calibración y la absorbancia de la solución. A la vez, este valor de R^2 cercano a 1 indicó que el modelo predice con los valores en el campo de destino, en este caso la absorbancia, por lo cual se concluye que es posible utilizarlo para determinar la concentración de flavonoides del extracto de *Gentianella tristicha.*

Luego se analizó por espectrofotometría UV-Vis el extracto empleado en la síntesis de NPs de ZnO (Tabla 11) obteniéndose resultados por triplicado. Se evaluó la normalidad de la distribución de los datos que se presenta en la Tabla 12, luego se llegó a la conclusión que los datos no poseen una distribución normal, por lo tanto se utilizó la mediana para calcular la concentración en la ecuación de donde se obtuvo un valor de $253.709 \frac{equivalente- \ \mu \ gramos \ quercetina}{mL} \pm 2.022x10^{-5}$ (Tabla 11), la desviación estándar calculada de este valor, indicó una referencia de confiabilidad con respecto a esta determinación de la medida de la cantidad de flavonoides del extracto de *Gentianella tristicha,* además este valor hace referencia a los equivalentes de quercetina que es la forma en que se expresa los flavonoides totales. Vera et al. (2023) compararon 4 biosíntesis y a la vez midieron la cantidad de flavonoides de las plantas empleadas para cada biosíntesis, llegaron a demostrar que la planta *E. globulus* poseía la mayor cantidad de flavonoides (361.8 mg Catequinas/L, 20.2 mg Malvidina/L, 85.01 mg Quercetina/L) , y si bien no obtuvo el menor tamaño de nanopartícula comparado a las otras plantas

evaluadas, la biosíntesis a partir de esta planta logró alcanzar una distribución de tamaño de 15.71 nm ± 8.25, lo cual si se considera un tamaño adecuado para ser un nanomaterial. Por lo tanto, a partir de dicha investigación se pudo concluir que los flavonoides totales presentes en el extracto de las plantas poseen una influencia directa sobre la biosíntesis de NPs de ZnO, finalmente se determinó que la cantidad de flavonoides totales presente en el extracto de *Gentianella tristicha* fue suficiente e idónea para llevar a cabo la biosíntesis de NPs de ZnO.

Rajendran y Sengodan (2017) llevaron a cabo la síntesis de nanopartículas de ZnO utilizando extracto obtenido de hojas de *Sesbania grandiflora* en diversas concentraciones. Los autores señalaron que estas hojas constituyen una valiosa fuente de fitoquímicos como los flavonoides. En esta síntesis, el extracto de la planta actuó como un agente reductor, interactuando con el precursor para dar lugar a la formación de las nanopartículas.

Los resultados de la investigación indicaron que a medida que se aumentaba la concentración del extracto, se mejoraba la reducción en tamaño de las nanopartículas de ZnO. Por lo tanto, se deduce de este estudio que el incremento en la concentración del extracto contiene mayor concentración de flavonoides y esto a su vez, facilita una síntesis óptima de las nanopartículas de ZnO.

Finalmente, concluyó que la concentración óptima de flavonoides es un factor esencial en la síntesis de nanopartículas de ZnO para lograr alto rendimiento. Por lo tanto, se sugiere ampliar estudios que relacionen la concentración de flavonoides del extracto de *Gentianella tristicha* con el tamaño de las NPs de ZnO que se ha obtenido.

6.5 Determinación de la actividad antioxidante total del extracto de *Gentianella tristicha*

Con respecto a la actividad antioxidante del extracto de *Gentianella tristicha*, al igual que con los polifenoles totales y flavonoides, este parámetro estuvo estrechamente ligado a la capacidad reductora del extracto cuando este reaccionó con la sal de nitrato de zinc hexahidratada. En la curva de calibración, **Gráfica 3**, se obtuvo un r = -0.9961 lo cual indicó que existe una correlación negativa entre las variables, mientras la concentración de Trolox se incrementó, la absorbancia resultante disminuyó, en conjunto a un R^2 de 0.99188, lo cual indicó que se presentó un ajuste óptimo entre la variable dependiente (concentración de Trolox) y la variable independiente (absorbancia resultante), esto indicó que la ecuación de la recta (Ecuación 5) predice de manera óptima la concentración de las sustancias analizadas.

En la **Tabla 15** se presentó la absorbancia registrada para el extracto de *Gentianella Tristicha,* con 3 repeticiones. De la **Tabla 16** se demostró que los datos pertenecen a una distribución normal, por lo tanto, se utilizó la media de estos datos para poder calcular la concentración de equivalentes Trolox en el extracto. Esta media, junto a otros datos estadísticos fue calculada en la **Tabla 17**, y su valor es 0.1733 con una desviación estándar de ±0.02082, utilizando este valor para calcular la actividad antioxidante, esta resultó $88.286 \frac{equivalente - \mu g\ de\ trolox}{mL} \pm 0.00014$, se reportó un valor de desviación estándar de $0.00014 \frac{equivalente - \mu g\ de\ trolox}{mL}$, lo cual indica confiabilidad en el valor calculado de la capacidad antioxidante del extracto de *Gentianella tristicha.*

Rajendran y Sengodan (2017) llevaron a cabo la síntesis de nanopartículas de ZnO utilizando extracto derivado de hojas de *Sesbania grandiflora* en diferentes

concentraciones. En este estudio, los autores señalaron que estas hojas son una rica fuente de fitoquímicos, incluidos ácidos fenólicos, polifenoles y flavonoides; todos y cada uno de ellos presentan actividad antioxidante. En el proceso de síntesis, el extracto vegetal actuó como un agente reductor que reaccionó con el precursor, dando lugar a la formación de las nanopartículas de ZnO. Rajendran y Sengodan (2017) revelaron que a medida que aumentaba la concentración del extracto, se mejoraba la reducción de las nanopartículas de ZnO. En consecuencia, se puede inferir de este estudio que el aumento en la concentración del extracto conllevó un aumento en la cantidad de actividad antioxidante total. El incremento de dicha actividad facilitó la síntesis eficiente de las nanopartículas de ZnO.

Así mismo, Vera et al. (2023) sintetizaron NPs de ZnO utilizando 4 tipos diferentes de plantas: *Galega officinalis, Buddleja globosa, Eucalyptus globulus, Aristotelia chilensis*. A su vez, compararon las actividades antioxidantes de cada planta. De este estudio se concluyó que las plantas con una menor actividad antioxidante conllevan a una disminución de la producción de NPs de ZnO y un incremento en la cantidad de residuos orgánicos del extracto remanentes en las nanopartículas. Finalmente se indicó que es posible utilizar la actividad antioxidante como un indicador del potencial reductor de los extractos de plantas.

De los estudios mencionados anteriormente y los datos de las tablas de la sección 5.5, se concluyó que la actividad antioxidante total es un indicador del potencial reductor de un extracto de planta en la síntesis de NPs de ZnO. Además, la óptima concentración de antioxidantes y cantidad del extracto empleada en la síntesis fue fundamental para lograr sintetizar NPs de ZnO. Finalmente, se sugiere ampliar estudios que relacionen la

actividad antioxidante el extracto de *Gentianella tristicha* y el tamaño de las NPs de ZnO que son obtenidos.

6.6 Síntesis y tratamiento térmico de nanopartículas de óxido de zinc

Se calculó el rendimiento con respecto a la masa del nitrato de zinc hexahidratado de entrada y la masa de las NPs de ZnO de salida, este presentó valores de 85.3% a 96%. Además, se realizaron los análisis estadísticos respectivos, la prueba de Kruskal-Wallis determinó que existieron diferencias significativas entre las medias de los grupos evaluados. Mediante la prueba post-hoc Dunn-Bonferroni se identificó la condición experimental perteneciente a las síntesis que tuvo mayor influencia sobre la masa de ZnO resultante, esta fue la concentración del precursor en el extracto. Finalmente, se determinó que a mayor cantidad de sal [$Zn(NO_3)_2$].$6H_2O$] en el extracto de *Gentianella tristicha*, se incrementó la cantidad de NPs de ZnO obtenida.

Los estadísticos descriptivos calculados para las masas de la sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ en la síntesis de NPs de ZnO descrita en 5.6 y 5.7 fueron la media, mediana, límite inferior, límite superior, varianza, desviación estándar, valor mínimo, valor máximo y rango. Según la **Tabla 21** se obtuvieron valores de media de 2041.7, 3071.6, 4027.3, 2049.2, 3017.8, 4011.2, 2032.0, 3043.8 y 4032.9 mg para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09, respectivamente, estos valores correspondieron a la media de las masas experimentales planteados en la sección 5.6 y establecidos en la **Tabla 18**, los cuales fueron 2 g de $Zn(NO_3)_2.6H_2O$, 3 g de $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ y 4 g de $Zn(NO_3)_2.6H_2O$, de manera que se puede estimar una correcta correspondencia entre los pesos planteados y la media de los pesos efectuados de manera

experimental en la balanza analítica de 4 dígitos. De acuerdo a la **Tabla 21**, los límites del intervalo de confianza de 95% fueron aceptables para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09, pues los valores de las masas de la sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ en las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09, descritos en **Tabla 20**, están dentro de los límites de confianza establecidos en la **Tabla 21**, por consiguiente, los valores de las masas son confiables al 95%. Así mismo, en la **Tabla 21**, se reportaron los valores de la mediana de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09; estos valores fueron 2028.0, 3067.4, 4013.0, 2059.4, 3008.1, 4003.7, 2024.6, 3040.1 y 4024.5 mg respectivamente, dichos valores se reportaron cercanos a la media de cada síntesis, esto dio un primer indicio que las masas de la sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ poseen una distribución normal. Después, se determinaron las varianzas de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09 en la **Tabla 21** en donde se obtuvieron valores de 1164.1, 539.7, 926.9, 890.3, 390.5, 182.6, 252.4, 537.0 y 404.1 respectivamente; esto quiere decir que la dispersión es mínima con respecto a la media de cada síntesis teniendo en cuenta que se trata de miligramos, es decir la dispersión de las masas experimentales de la sal de $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ no fue elevada, lo cual agrega confiabilidad al ensayo y las repeticiones. Luego, se determinaron las desviaciones estándar para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09 en donde se obtuvieron valores de 34.1, 23.2, 30.4, 29.8, 19.8, 13.5, 15.9, 23.2 y 20.1, respectivamente. Estos resultados de desviación estándar sugirieron que los valores de las repeticiones de las masas de la sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ estuvieron numéricamente cercanos a la media de las síntesis respectivas. Además, este bajo valor de la desviación estándar implicó que hay una medida consistente de la masa de la sal dentro del sistema, lo cual fue beneficioso a la hora de realizar las tres

repeticiones de cada síntesis de NPs de ZnO. Finalmente, en la **Tabla 21** también se determinaron los valores mínimo y máximo de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09, esto contribuyó a medir el rango de masas para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09, estos valores fueron 64.0, 45.9, 55.6, 57.0, 35.8, 23.7, 29.1, 45.9 y 37.5, respectivamente, así, estos valores bajos de rango indicaron que no existe una dispersión muy amplia en cuanto a los pesos de la sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ y agregó más confiabilidad a la medida. En conclusión, las masas de las sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ se mantuvieron consistentes a lo largo de cada síntesis planteada en la **Tabla 20**; por lo tanto, esto sentó un buen precedente debido a que la concentración de la sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ en la síntesis de NPs ZnO es uno de los dos factores que se modificaron en la presente investigación, y además dicha medida experimental fue el paso inicial de la síntesis de NPs de ZnO descrita en la sección 5.6.

Los estadísticos descriptivos calculados para los pesos de las NPs de ZnO obtenidos al final de la síntesis descrita en 5.7 fueron la media, mediana, límite inferior, límite superior, varianza, desviación estándar, valor mínimo, valor máximo y rango. Según la **Tabla 22** se obtuvieron valores de media de 476.2, 790.8, 1052.3, 498.6, 774.5, 1048.7, 494.7, 776.9 y 1059.1 para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09, respectivamente, estos valores correspondieron a la media de las masas experimentales de las NPs de ZnO obtenidos al final de los pasos descritos en la sección 5.6 y 5.7. De acuerdo con la Tabla 22, los límites del intervalo de confianza de 95% fueron aceptables para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09, pues los valores de los pesos de las NPs de ZnO obtenidos al final de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09 están dentro de los límites de confianza establecidos en la **Tabla 22**, por consiguiente, los valores de las

masas son confiables al 95%. Así mismo, en la **Tabla 22**, se reportaron los valores de la mediana de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09; estos valores fueron 502.9, 792.4, 1054.2, 512.6, 774.7, 1046.1, 494.2, 773.2 y 1065.3 respectivamente, dichos valores se reportaron cercanos a la media de cada síntesis, esto indicó que las masas de la NPs de ZnO sintetizadas poseen una distribución normal, a la vez, esto se confirmó en la **Tabla 23**. Después, se determinaron las varianzas de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09, en la **Tabla 22**, en donde se obtuvieron valores de 4377.3, 380.1, 69.9, 2290.7, 17.3, 21.1, 15.0, 44.9 y 194.3, respectivamente; esto quiere decir que la dispersión es media con respecto a la media de cada síntesis (considerando que se encuentra en la escala de miligramos); es decir la dispersión de las masas experimentales de las NPs de ZnO no fue elevada, lo cual agregó confiabilidad a cada repetición de las síntesis planteadas. Luego, se determinaron las desviaciones estándar para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09 en donde se obtuvieron valores de 66.2, 19.5, 8.4, 47.9, 4.2, 4.6, 3.9, 6.7 y 13.9, respectivamente, estos resultados de desviación estándar sugirieron que los valores de las repeticiones de las masas de las NPs de ZnO estuvieron numéricamente cercanos a la media. En adición a esto, el bajo valor de la desviación estándar implicó que hay una medida consistente de la masa resultante en la síntesis de NPs de ZnO, este hecho dio un indicio de la reproducibilidad y repetibilidad del ensayo; además, se contribuyó a la correcta estimación del cálculo del balance de materia por cada síntesis. Para finalizar, en la Tabla 22 también se determinaron los valores mínimos y los valores máximos para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09, esto contribuyó a medir el rango de masas para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09, estos valores fueron 124.0, 38.9, 16.4, 92.6, 8.3, 8.0, 7.7,

11.8 y 25.7, respectivamente, así, estos valores bajos de rango señalaron que no existe una dispersión muy extensa en cuanto a las masas de las NPs de ZnO y añadió mayor confiabilidad a la medida. Sintetizando, las masas de la NPs de ZnO variaron en correspondencia a las masas de la sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ empleada para realizar cada síntesis (**Tabla 20**), esto se reafirmó con la elaboración de la Gráfica 4**,** Gráfica 5 **y** Gráfica 6.

De acuerdo con la Tabla 23 se pudo comprobar que las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE07, HE08, HE09 presentaron una distribución normal con una confianza de 95%. De la misma forma, gracias a dicha distribución fue posible realizar inferencias estadísticas adecuadas; además se añadió precisión y valides a los resultados obtenidos en la síntesis NPs de ZnO. De no haberse cumplido con la distribución normal, las técnicas como el ANOVA, T Student podrían otorgar resultados sesgados o incorrectos. En resumen, en este caso se pudo comprobar la distribución normal con una confianza del 95% para los datos obtenidos de las masas de las NPs de ZnO en las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE07, HE08, HE09.

Con el fin de realizar el ANOVA, se analizaron dos supuestos, el primero fue el supuesto de normalidad, el cual fue comprobado en la **Tabla 23** y el segundo fue supuesto de homogeneidad de varianzas que fue comprobado mediante el estadístico de Levene. Según la **Tabla 24** el valor de significancia para el estadístico de Levene fue 0.000, lo cual hace rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna. Es decir, con una confianza del 95% las varianzas de las masas de las NPs de ZnO obtenidas de la biosíntesis no presentaron homocedasticidad; en consecuencia, no se cumplió uno de los supuestos del ANOVA, y se debió utilizar la prueba de Kruskal. Wallis.

Adicionalmente, se realizó la prueba ANOVA a los datos de masa de NPs de ZnO de la Tabla 20 para tener como una referencia, esta prueba otorgó una significancia de

0.000, lo cual indicó que se debió rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna que mencionó que sí existen diferencias significativas entre las medias; por lo tanto, con una confianza del 95% los factores planteados en la **Tabla 18** tuvieron un impacto significativo en las medias de las masas de las NPs de ZnO obtenidas de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09. Finalmente, se debe tener en cuenta que se realizó esta prueba ANOVA solamente como una referencia, debido a que no se cumplió el segundo supuesto de homocedasticidad.

De la misma forma, en la **Tabla 26** se calculó la significancia para la prueba de Kruskal-Wallis, esta obtuvo un valor de 0.003, en consecuencia, se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alternativa que indicaba que las medianas de la población presentan diferencias significativas. Entonces con un 95% de confianza, se afirmó que las medianas de la población de las masas de las NPs de ZnO obtenida mediante las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 presentan diferencias relevantes; como resultado, se determina que los factores y niveles planteados en la **Tabla 18** tuvieron un impacto significativo en la mediana de las masas de las NPs de ZnO obtenida mediante biosíntesis.

Se debe agregar que, debido a que se realizó el ANOVA y la prueba Kruskal Wallis, fue posible comparar sus resultados; estas pruebas presentaron resultados similares pues en ambos se hallaron diferencias significativas entre los tratamientos planteados en la Tabla 18.

Solo se cumplió con un requisito del ANOVA (distribución normal) y no se cumplió como el supuesto de homocedasticidad; debido a eso, los resultados del ANOVA y prueba Kruskal-Wallis otorgaron conclusiones similares.

En cuanto a la prueba post-hoc, se realizó la prueba Dunn-Bonferroni, expresada en la **Tabla 27**, en el Diagrama 4 se concluyó que las diferencias significativas entre la muestra 1 y la muestra 2 se encuentran en las síntesis HE01, HE04 y HE07, mientras que las diferencias significativas entre la muestra 2 y la muestra 1 se encuentran en las síntesis HE03, HE06 y HE09. Con base a esto, se pueden relacionar estas síntesis donde se obtuvieron las mayores diferencias significativas entre las medianas con la **Tabla 18**; es decir, las síntesis HE01, HE04 y HE07 fueron aquellas en donde se utilizó la menor concentración de sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ en el extracto de *Gentianella tristicha* y las distintas temperaturas planteadas en la **Tabla 18**, por el contrario, las síntesis HE03, HE06 y HE09 fueron las síntesis donde se utilizó la mayor concentración de sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ en el extracto de *Gentianella tristicha* y además cada una de ellas se realizó bajo temperaturas diferentes como se indicó en la **Tabla 18**. En definitiva, las síntesis que presentaron diferencias significativas en las medias fueron aquellas que utilizaron los menores (HE01, HE04, HE07), y mayores valores (HE03, HE06, HE09) de concentración de $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ en el extracto de *Gentianella tristicha* al momento de la síntesis.

En lo que respecta a la correspondencia entre la masa de la sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ en el extracto de *Gentianella Tristicha*, y la masa de la NPs de ZnO obtenidas después de la síntesis, se construyeron las gráficas que relacionan estos valores a las diferentes temperaturas empleadas; por lo tanto, en la Gráfica 4, Gráfica 5 y Gráfica 6 se determinó una correspondencia directamente proporcional entre la masa de la sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ y la masa de las NPs de ZnO obtenidas al final de la síntesis. Así mismo, se concluyó que la sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ es el reactivo limitante en los diferentes mecanismos de reacción planteados en la sección 3.10. Se recomienda ampliar estudios a mayores concentraciones

de la sal precursora $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ para determinar el punto estequiométrico de las reacciones planteadas en la sección 3.10.

En la Tabla 28 se reportaron los valores calculados para el nitrato de zinc hexahidratado de entrada y el óxido zinc de salida en miligramos. Este balance de masa se realizó en función a la proporción estequiométrica de la reacción para poder comparar la síntesis química por coprecipitación y la biosíntesis; debido a que, a diferencia de la síntesis química de NPs de ZnO, en la biosíntesis pueden verse involucrados más de un componente propio de la planta como agente reductor, lo cual dificultó predecir la proporción estequiométrica. Kahani et al. (2014) realizaron una investigación en donde se comparó la síntesis química con la biosíntesis de nanopartículas de magnetita, en dicho estudio se determinó la ruta química y la serie de reacciones adecuadas para la formación de la nanomagnetita; sin embargo, en el caso de la biosíntesis realizada por bacterias se señaló que los mecanismos de formación de las nanopartículas de magnetita aún se encuentran bajo investigación, además los procesos por los cuales los magnetosomas son producidos y organizados no han sido caracterizados completamente.

En lo que respecta al rendimiento, en la Tabla 28 las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 poseen rendimientos en un rango de 85.3% a 96.0%, se debe tener en cuenta que el ZnO es higroscópico. De acuerdo con Carrero et al. (2014) el agua presente del óxido de zinc se debió a que este compuesto es higroscópico, es decir que absorben la humedad del medio ambiente. Cozzoli et al. (2003) indicaron que a menos que se apliquen complejos tratamientos térmicos en la síntesis de NPs de ZnO, hay altas posibilidades que el material resultante de la síntesis posea cantidades significantes de agua adsorbida. En vista a ello, en este trabajo se emplearon temperaturas de 400 °C, 500°C y 600°C. Se teorizó sobre la formación de otras fases y otros

compuestos en la síntesis, sin embargo, estos fueron descartados con los difractogramas reportados en el ítem 5.12, pues la formación de otros compuestos hubiera alterado la forma de la gráfica, y desplazado los picos característicos del ZnO en las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

Acosta (2022) sintetizó NPs de ZnO dopadas con Co, CR, Fe, Mn y Ni, estudió sus propiedades y su aplicación en la degradación foto catalítica de compuestos orgánicos contaminantes. En dicho trabajo se registraron todas las masas del precursor $Zn(NO_3)_2.6H_2O$, así como $C_6H_8O_7.H_2O$ y el agente dopante. De acuerdo con el proceso experimental utilizado en la investigación Acosta (2022) sugirió que las masas de los reactivos iniciales en la síntesis de las NPs de ZnO dopadas y sin dopar fueron fundamentales, en especial cuando se trabaja con una proporción molar de dopaje.

De la misma manera, en este trabajo fueron registradas las masas de la sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09; con sus respectivas repeticiones (**Tabla 20**).

Bala et al. (2015) realizaron un estudio en donde se sintetizó NPs de ZnO utilizando como agente reductor al *Hibiscus subdariffa*. En dicha síntesis se estudió el impacto de la concentración del acetato de zinc en el extracto de la planta, y el rendimiento del ZnO esperado. Bala et al. (2015) determinaron que las concentraciones de 5 $\frac{mL\ de\ extracto}{g\ Acetato\ de\ zinc}$, 10 $\frac{mL\ de\ extracto}{g\ Acetato\ de\ zinc}$ y 15 $\frac{mL\ de\ extracto}{g\ Acetato\ de\ zinc}$ que resultaban en un 55%, 70% y 85% de rendimiento respectivamente, sin embargo, las concentraciones de 20$\frac{mL\ de\ extracto}{g\ Acetato\ de\ zinc}$ y 25 $\frac{mL\ de\ extracto}{g\ Acetato\ de\ zinc}$ resultaban en un 95% de rendimiento en cuanto al ZnO, el cual resultó ser el máximo del estudio. En síntesis, Bala et al. (2015)

determinaron que una concentración de 20 $\frac{mL\ de\ extracto}{g\ Acetato\ de\ zinc}$ en adelante, optimiza el rendimiento en cuanto a la síntesis de NPs de ZnO.

De manera similar, en esta investigación se utilizó una concentración 0.04 $\left[\frac{g\ Zn(NO_3)_2.6H_2O}{mL\ extracto\ Gentianella\ tristicha}\right]$, 0.06 $\left[\frac{g\ Zn(NO_3)_2.6H_2O}{mL\ extracto\ Gentianella\ tristicha}\right]$ y 0.08 $\left[\frac{g\ Zn(NO_3)_2.6H_2O}{mL\ extracto\ Gentianella\ tristicha}\right]$. La primera concentración fue equivalente a la concentración máxima del estudio mencionado anteriormente (25 $\frac{mL\ de\ extracto}{g\ Acetato\ de\ zinc}$) y resultó en un porcentaje de rendimiento de 85.3% según la **Tabla 28**. Para las concentraciones posteriores, se obtuvieron rendimientos de NPs de ZnO elevados, por ejemplo, para las síntesis HE03, HE06 y HE09 se obtuvieron porcentajes de hasta 95.5%, 95.6% y 96.0%, respectivamente (**Tabla 28**), esto ratificó lo estudiado por Bala et al. (2015) pues de acuerdo con la **Tabla 28**, el rendimiento se mantiene constante y elevado en las síntesis que contenían la mayor cantidad de $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ al inicio de la reacción, las cuales fueron HE03, HE06 y HE09 planteadas en **Tabla 18**. Finalmente se concluyó que en caso se utilicen concentraciones equivalentes a $0.08\left[\frac{g\ Zn(NO_3)_2.6H_2O}{mL\ extracto\ Gentianella\ tristicha}\right]$ se obtendrá un alto porcentaje de rendimiento en la síntesis de NPs de ZnO.

Wojnarowickz et al. (2017) realizaron una investigación en donde estudiaron el control de tamaño de partículas con respecto a la cantidad de precursor involucrada en la síntesis de nanopartículas de ZnO, utilizando como precursor el acetado de zinc dihidratado. Dichos investigadores determinaron que la cantidad experimental obtenida para el óxido de zinc fue de 1.714 g, y la cantidad teórica calculada estequiométricamente para el óxido de zinc fue de 1.7530 g, esto dio como resultado una eficiencia de 98%, lo

cual es un valor alto para una síntesis de nanopartículas de ZnO. De manera análoga, en este trabajo se reportaron en la **Tabla 28** elevados porcentajes de rendimiento para las síntesis HE03, HE06 y HE09; se concluyó que la concentración de $0.08\left[\frac{g\ Zn(NO_3)_2\ .6H_2O}{mL\ extracto\ Gentianella\ tristicha}\right]$ resultó en altos porcentajes de rendimiento con respecto a la formación de NPs de ZnO.

Bala et al. (2015) postularon que el mecanismo de la biosíntesis de NPs de ZnO no ha sido comprendido en la totalidad. Sin embargo, dichos autores postularon que los grupos amino y carboxílicos de las proteínas, alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides presentes en las diversas plantas a las cuales le atribuyen propiedades antioxidantes tienen interferencia en la biosíntesis de NPs de ZnO. Los autores señalaron que dichos compuestos se unen al Zn^{2+} y propicia la formación de las NPs de ZnO. En adición, las amidas de las proteínas y los grupos C=O, C=O-C, C=C de los compuestos heterocíclicos actúan como estabilizadores.

De la misma manera, la *Gentianella tristicha* pertenece a la familia *Gentianaceae* la cual posee compuestos como xantonas, glucoxantonas y glucoflavonas de acuerdo con Jensen & Schripsema (2002). En conclusión, estos compuestos tuvieron un protagonismo en la síntesis del nanomaterial, pues de acuerdo con lo mencionado en el párrafo anterior, dichos fitocomponentes y enlaces químicos actuaron sobre el Zn^{2+}, logrando así la biosíntesis de NPs de ZnO.

Simultáneamente, Matinise et al. (2017) sugirieron que la transformación de la sal $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ en NPs de ZnO se produce debido a la acción de diferentes componentes biológicos que actúan como agentes quelantes y cobertor resaltado en la **Figura 9**.

Matinise et al. (2017) mencionó que el mecanismo de reacción para el Zn^{2+} ionizado propuesto para la biosíntesis se ejemplificó para tres compuestos fitoquímicos presentes en la *Moringa Oleifera*, estos son: ácido fenólico (ácido clorogénico), flavonoide (quercetina) y una vitamina (L-ácido ascórbico). En donde se presentó un comportamiento atípico para el L-ácido ascórbico y el nitrato de zinc, ocurrió una oxidación del L-ácido ascórbico a L-dehidroácido ascórbico mediante un radical libre, seguido por una atracción electrostática entre el radical libre y el catión del precursor.

De manera similar Nava et al. (2017) sintetizaron NPs de ZnO utilizando un extracto de *Camelia sinensis* en donde se planteó una reacción de formación de NPs de ZnO donde los polifenoles actuaron como agente ligante como se ejemplificó en la **Figura 10**. Los grupos aromáticos hidroxilos que estuvieron presentes en los polifenoles se ligaron con los iones de zinc y formaron un complejo. Este sistema pasó por una descomposición durante la calcinación, lo cual condujo a la formación de ZnO a partir del complejo de zinc.

En línea con lo expuesto anteriormente, en el extracto de *Gentianella tristicha* se comprobó la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides, a su vez, la actividad antioxidante presente en dicho extracto (apartado 4.2.1, 4.2.2.y 4.2.3 respectivamente). Debido a la gran cantidad de compuestos fitoquímicos presentes en el extracto de *Gentianella tristicha*, es de gran complejidad predecir la totalidad de las reacciones y la estequiometría correspondiente, sin embargo, se tomó como referencia la reacción del ácido clorogénico y la quercetina expuestos en la **Figura 9** y los grupos aromáticos polifenoles en la **Figura 10**.

6.7 Espectroscopia UV-Visible

Los resultados con respecto a la espectroscopía UV-Visible indicaron que los valores de la longitud de onda donde se presenta el pico de máxima absorbancia de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 se encuentran en un rango de 358 nm a 387 nm, además los picos del espectro UV-Vis de las síntesis en la Gráfica 10 en adición a la literatura [González et al. (2022); Fakhari et al. (2019); Samy et al.(2019)] confirmaron que se trata de NPs de ZnO. Se realizaron los análisis estadísticos descriptivos, la prueba de Kruskal-Wallis reportó que existen diferencias significativas entre las muestras, posterior a ello, se realizó el análisis de Dunn-Bonferroni de donde se concluyó que el factor más importante para las longitudes de onda fue el de la temperatura. En conclusión, cuando se incrementó la temperatura, se elevó la longitud de onda donde se presentó la máxima absorbancia en el espectro UV-Vis en 381.7 nm.

En la Tabla 32 se presentaron los estadísticos descriptivos para los datos de longitud de onda en donde se presentó la absorbancia máxima en el espectro UV. Para el caso de la **Tabla 32**, se puede observar que la media de los datos tuvo valores de 363nm, 373nm, 373.33nm, 367nm, 372nm, 373.67nm, 370nm, 373.67nm, 381.67nm para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09,89 respectivamente. Como se observó, los valores de las medias tuvieron un rango de 363nm a 381 nm; esto concordó con diversa literatura [González et al. (2022); Fakhari et al. (2019); Samy et al. (2019)] en la cual se mencionó que la mayor absorbancia en el espectro UV-Vis para el ZnO se da en un valor de 360nm a 380nm.

Dentro de ese orden de ideas, de la **Tabla 32** se apreció que los límites inferior y superior para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09

no se encontraron muy distanciados uno de otro, esto es debido a que los ensayos de lectura del espectro UV-Visible se realizaron con extrema precaución y altamente parametrizado, reduciendo así el margen de error; además, debido a que la media para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 fue muy cercana en valor, los límites superior e inferior también lo fueron.

Por su parte, la mediana expuesta en la **Tabla 32** también presentó valores similares a lo largo de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09; esto fue debido a que la bibliografía [Chaudhuri & Malodia (2017); Barzinjy & Azeez (2020)] demostró que el rango para la longitud de onda en donde se presenta la máxima absorbancia fue 360nm-380nm, por lo tanto, los valores reportados de la mediana fueron consecuentes con la literatura científica.

En relación con la varianza y la desviación estándar presentada en la **Tabla 32**, estas presentaron valores bajos, esto se debió a que los datos se encontraron muy cerca a la media, dicho acontecimiento indicó que los ensayos se llevaron a cabo de manera correcta y que el ensayo posee reproducibilidad.

Por su parte, los valores mínimos, valores máximos y valores de rango fueron expuestos en la Tabla 30, al ser bastante bajo el valor de los rangos de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09, se demostró la reproducibilidad de dichos procesos experimentales, así mismo, el espectro UV del ZnO es característico y se utiliza como un identificador de dicho compuesto.

En relación con la prueba de normalidad expuesta en la **Tabla 31** todos los datos de todas las síntesis presentaron una distribución normal a excepción de la síntesis HE08, esto se pudo deber a la naturaleza de los datos de HE08, esto quiere decir que las 3 repeticiones de HE08 no forman la campana de característica de una distribución normal.

Por otro lado, las síntesis: HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE09 sí presentan una distribución normal, es decir que sí se puede ajustar a la distribución de Gauss-Laplace.

Debido a que los datos de HE08 no presentan una distribución gaussiana, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis en lugar de la prueba ANOVA para analizar como influyeron los factores y niveles que fueron aplicados a dicho estudio.

Adicional a ello, se realizó el ANOVA para comprobar qué resultado se hubiera obtenido si los datos de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 hubieran tenido una distribución normal en su totalidad. Para el ANOVA, se deben cumplir dos supuestos, el primero es el supuesto de normalidad, el cual no se cumplió, el segundo es el supuesto de homogeneidad de varianzas (homocedasticidad), este se demostró en la **Tabla 33** de donde se demostró que no existe homocedasticidad. En adición, la prueba de ANOVA demostró en la **Tabla 34** que los factores y niveles modificados en esta investigación no tuvo un impacto significativo en las medias de la longitud máxima de onda en el espectro UV-Vis. Finalmente, no se pudieron tomar en cuenta los resultados del ANOVA, debido a que los datos no presentaron una distribución normal en su totalidad, y el resultado puede presentar un error. Por lo tanto, se utilizaron pruebas no paramétricas.

En consecuencia, se empleó la prueba de Kruskal-Wallis para determinar si los factores y niveles aplicados en esta investigación tuvieron un impacto sobre el valor de la longitud de onda máxima del espectro UV. En la **Tabla 35** se comprobó que las medianas de longitud de onda donde se presenta la máxima absorbancia no son iguales, esto demostró que sí se presentaron cambios significativos con las diferentes temperaturas y concentraciones planteadas en la Tabla 18. Finalmente se comprobó que el tratamiento en

particular a dichas poblaciones especificado tuvo un impacto significativo en la longitud de onda a la cual se expresa la máxima absorbancia en el espectro UV (195 nm-400nm) cuando es analizado por espectrofotometría Uv-Vis.

Para averiguar el grado de impacto de cada factor en las poblaciones se realizó una prueba post hoc Dunn-Bonferroni expresada en la **Tabla 36**, se relacionaron los pares de muestras en donde sí existen diferencias significativas expresadas en el **Diagrama 5**, se concluyó que las síntesis que obtuvieron mayor diferencia con las otras síntesis fueron dos grupos, el primer grupo fueron HE01, HE04 y HE09 y el segundo grupo fue HE03, HE06 y HE09; estas síntesis se caracterizan por haber recibido un tratamiento térmico distinto según la **Tabla 18**, pues estas fueron calcinadas a 400°C, 500°C y 600°C respectivamente. Se concluyó que la temperatura de calcinación es el mayor factor determinante con respecto a la longitud de onda en donde se presenta la máxima absorbancia en el espectro UV-Vis del ZnO. En la **Gráfica 9** se apreció que los espectros UV-Vis de las NPs de ZnO se pronuncia notoriamente el pico en donde se presenta la máxima absorbancia, estos fueron: HE08, HE04, HE05 y HE06. Esto se debió al tratamiento térmico que recibieron dichas síntesis, las cuales se calcinaron a 600°C, 500°C, 500°C y 500°C respectivamente. Por otro lado, los espectros UV-Vis del ZnO que no demostraron un pico prominente fueron las síntesis HE01, HE02 y HE03, se debe añadir que dichas síntesis fueron calcinadas a 400°C. Por todo lo anterior, se dedujo que el factor de la temperatura de calcinación fue de mayor impacto que la concentración de la sal en los resultados del análisis por espectroscopía UV-Vis.

La longitud de onda a la cual se presentó el pico de máxima absorbancia de la nanopartícula comercial hallada en 5.8 fue de 373 nm lo cual se encuentra cercano a los valores de la HE02, HE03 y HE06, además, en las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04,

HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 los valores de máxima absorbancia reflejados en la Tabla 30 fueron muy cercanos a el valor de máxima absorbancia de las NPs de ZnO comercial en la sección 5.8.1. Esto confirmó la presencia de NPs de ZnO en dichas síntesis mediante la comparación con NPs de ZnO de grado comercial.

Barzinjy & Azeez (2020) sintetizaron NPs de ZnO a partir de extracto de *Eucalyptus globulus* la cual resultó en una forma esférica y tamaño de 27-35 nm. Dichos autores mencionaron que un pico con forma "afilada" confirma la construcción de una estructura monodispersa. En esta investigación, de acuerdo con la Gráfica 9 las síntesis que obtuvieron un pico con forma puntiaguda y sobresaliente fueron HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08 y HE09, por ende, dichas síntesis resultaron en nanopartículas monodispersas; por otro lado, las síntesis que no presentaron un pico prominente fueron HE01, HE02 y HE03. Como expresaron Barzinjy & Azeez (2020), los picos de absorción máxima del ZnO se dan en el rango de 300 a 380 nm, aunque la mayoría se da en 380 nm. En el caso de las NPs de ZnO obtenidas por dichos investigadores el pico donde se presentó la máxima absorbancia fue 375nm. Las síntesis que obtuvieron un máximo de absorbancia en esa longitud de onda fueron HE02, HE03 y HE06, sin embargo, todas las síntesis tuvieron picos de absorbancia en una longitud cercana a 380 nm. esta comparación contribuyó a confirmar el tamaño nanométrico de las partículas y la forma esférica de las mismas.

Givaland et al. (2020) sintetizaron NPs de ZnO a partir de *Magnoliae officinalis,* dichas NPs fueron analizadas mediante espectroscopía UV-Vis, el pico en donde tomó lugar la máxima absorbancia fue 371.25 nm y fue atribuido a la formación de ZnO. La absorbancia del pico del espectro UV-Vis aparece en el rango de 300-380nm. Este rango

es relacionado con la transferencia de electrones de voltaje de la banda de conducción correspondiente a la formación de las NPs de ZnO.

Por su parte, en la **Tabla 30**, la síntesis que reportó una longitud de onda similar a la determinada por Givaland et al. (2020) fue HE02. Por otro lado, las síntesis HE01, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 se encontraron en los valores dentro del rango mencionados en el párrafo anterior. En resumen, los resultados del análisis por espectroscopía UV-Vis de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 se encontraron en un rango adecuado para ser identificados como ZnO.

Chaudhuri & Malodia (2017) sinterizaron nanopartículas de óxido de zinc a partir del extracto de *Calotropis gigantea*, el pico máximo de absorbancia de las NPs de ZnO fue hallado en 350 nm, el cual es menor que todos los valores hallados de máxima absorbancia descritos en la Tabla 30 y sus respectivas medias en la Tabla 32, sin embargo, dichos autores indicaron que el resultado es coherente con los valores asociados a las NPs de ZnO. Cabe destacar que el espectro UV-Visible determinado por Chaudhuri & Malodia (2017) posee una forma puntiaguda y bastante pronunciada, el cual es similar a HE08, lo cual confirmó la presencia de NPs de ZnO.

Givaland et al. (2020) indicaron que el pico donde se presenta la máxima absorbancia en el espectro UV-Visible de las NPs biosintetizadas es de 371.25nm y presenta una forma puntiaguda junto a un segundo pequeño pico. Esta forma puntiaguda y pronunciada coincidió con los espectros de las síntesis HE08, HE05, HE04, HE06 y HE07 en la **Gráfica 9**, los autores también presentaron imágenes SEM que indican una forma esférica y un tamaño nanométrico para estas partículas, lo cual coincide con los resultados presentados para las síntesis HE08, HE05, HE04, HE06 y HE07.

6.8 DLS: tamaño de partícula promedio

Los resultados de tamaño promedio de partícula para las síntesis presentadas en la Gráfica 18 están en un rango de 10 nm a 110.8 nm, esto quiere decir que se logró la formación de partículas de óxido de zinc a escala nanométrica. Se realizaron los análisis estadísticos respectivos, posteriormente, la prueba Kruskal-Wallis, de donde se determinó, que no existen diferencias significativas entre las medias de los tratamientos. Finalmente, se elucidó que a una temperatura de 400°C y 500°, el tamaño de partícula se incrementó a medida que se incrementó la concentración de la sal y la temperatura; por el contrario, a una temperatura de 600°C el tamaño de partícula disminuyó a medida que decreció la concentración de la sal.

De acuerdo con la **Tabla 38** los valores de la media de los tamaños de partícula fueron bastantes variados para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09; así mismo los rangos de tamaño de partícula de cada síntesis representados en Tabla 38 son bastante amplios, de igual forma la varianza y la desviación estándar presentaron valores bastante elevados, los valores mínimos y valores máximos fueron bastante distantes entre sí, al igual que los límites inferior y superior. Por su parte, la mediana resultó en valores alejados de la media de los tamaños de partícula para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08; sin embargo, para las síntesis HE09, la mediana y la media tuvieron valores cercanos. Con respecto a la prueba de normalidad reflejada en la **Tabla 39** los resultados de tamaño de partícula de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 obtuvieron una distribución normal, es decir, su distribución se adecuó con la curva de Laplace-Gauss por lo cual se aplicó el ANOVA. En la **Tabla 40** se comprobó que existe homogeneidad con

el estadístico de Levene. En la **Tabla 41** con un 95% de confianza se decretó que no existieron diferencias entre las medias los tamaños de las nanopartículas de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09; por lo tanto, se concluyó que la concentración de la sal en el extracto y la temperatura de calcinación no influyeron notoriamente en los tamaños de partículas determinados mediante DLS.

De la **Gráfica 10** se puede notar que a 400°C se incrementó el tamaño de partícula a medida que se incrementó la concentración de la sal acetato de zinc. De manera similar, a 500°C disminuyó el tamaño de partícula a medida que disminuyó la concentración de la sal. Además, a la concentración de 0.04 $\left[\frac{\text{g } Zn(NO_3)_2 .6H_2O}{\text{mL extracto Gentianella tristicha}}\right]$ aumentó el tamaño de la nanopartícula a medida que aumentó la temperatura de calcinación. Finalmente, a la temperatura de 600°C disminuyó el tamaño de partícula a medida que se redujo la concentración.

El tamaño promedio de la nanopartícula comercial hallada en 5.8 fue de 48.6 nm lo cual se encuentra cercano a los valores de la HE02 y HE08. Esto confirmó que el tamaño promedio de las nanopartículas sintetizadas mediante biosíntesis tuvo una cercanía a las NPs de ZnO de grado comercial.

Bala et al. (2015) realizaron la biosíntesis de NPs de ZnO y estudiaron el tamaño de partícula en función de la temperatura. En dicho estudio se realizó la comparación de la síntesis PZN60 y PZN100, las cuales fueron realizadas a 60°C y 100°C respectivamente. Dichas síntesis obtuvieron como resultado un tamaño de partículas con rangos de 12-46nm y 50-60nm respectivamente. Finalmente, Dichos autores concluyeron que bajo una concentración equivalente a 1g de acetato de zinc y 20 mL de extracto, a mayor temperatura, se logró un mayor tamaño de partícula.

En relación con lo anterior, en la Gráfica 10, exclusivamente para una concentración de 0.04 g de Zn $(NO_3)_2.6H_2O$/mL de extracto *Gentianella tristicha*, se cumplió que a medida que se producía un incremento en la temperatura de calcinación (400°C, 500°C y 600°C), se incrementa el tamaño promedio de partículas (38.9 nm, 52.37nm, 97.65nm). Esto reafirmó lo expuesto por Bala et al. (2015), pues la concentración de 0.04 g de $Zn(NO_3)_2.6H_2O$/mL de extracto *Gentianella tristicha* fue equivalente a la concentración de síntesis de Bala et al. (2015). Finalmente, esto comprobó que cuando la concentración se mantiene en un valor de $0.04\ \frac{\text{g } Zn(NO_3)_2.6H_2O}{\text{mL extracto } Gentianella\ tristicha}$, a medida que se incrementa la temperatura, se incrementa el tamaño de partícula del ZnO.

Barzinjy & Azeez (2020) investigaron la biosíntesis de NPs de ZnO a partir del extracto de *Eucalyptus globulus* y acetato de zinc. Dichos autores mencionaron que el tamaño de partícula que reporta el DLS es mayor que el tamaño de cristalito. Al igual que lo postulado por Barzinjy & Azeez (2020), las medidas de NPs de ZnO evaluadas en esta investigación para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 mediante DLS (**Tabla 37**), fueron mayores al tamaño de cristalito evaluado mediante DRX (Tabla 49) para las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

En adición, Barzinjy & Azeez (2020) obtuvieron un valor promedio de NPs de ZnO de 32 nm mediante DLS, utilizando para ello un tratamiento térmico de 60°C de temperatura de reacción y 400°C de temperatura de calcinación. De la misma forma, en la presente investigación las síntesis que fueron sintetizadas a 60°C y calcinadas a 400°C alcanzaron un tamaño cercano a 32 nm, estas fueron HE02 y HE03. Por lo tanto, en

concordancia con lo postulado por Barzinjy & Azeez (2020) y lo hallado para las síntesis HE01 y HE02 en esta investigación; la temperatura de reacción (60°C) y temperatura de calcinación (400°C) tuvieron un papel importante en el resultado del tamaño promedio (32nm) de las NPs de ZnO evaluado mediante DLS.

Givaland et al. (2020) mencionaron que el radio hidrodinámico de las NPs es afectado por los metabolitos de la planta, en especial los compuestos fenólicos que pueden atrapar las nanopartículas y prevenir la aglomeración; por lo tanto, debido a la presencia de metabolitos presentes en el extracto de *Gentianella tristicha*, las nanopartículas sintetizadas expuestas en la Tabla 37 no se aglomeraron en su mayoría.

Davar et al. (2015) sintetizaron NPs de ZnO utilizando acetato de zinc como precursor y jugo de limón; estudiaron el tamaño de partícula en función a la concentración de la sal precursora en la síntesis, 0.004 mol de acetato de zinc se diluyó en diferentes volúmenes de jugo de limón (5, 10, 30, 50 y 70 mL). Davar et al. (2015) determinaron que, a mayor concentración de la sal precursora en el jugo de limón, se incrementó el tamaño de partícula hallado. En ese orden de ideas, en la Gráfica 10 también se registró la tendencia explicada por Davar et al. (2015), para la temperatura de calcinación de 400°C se cumplió que a mayor concentración de la sal de nitrato de zinc en el extracto de *Gentianella tristicha*, aumentó el tamaño de partícula; de manera similar se registró para la temperatura de calcinación de 500°C.

Nithya et al. (2019) produjeron NPs de ZnO mediante biosíntesis con extracto de *C.halicacabum*, utilizando como precursor al acetato de zinc. Los autores evaluaron el tamaño de partícula mediante DLS en función al volumen de extracto (0.2, 0.4, 0.6 ml *C. halicacabum).* Finalmente, Nithya et al. (2019) postularon que el tamaño de partícula disminuía a medida que se incrementaba el volumen de extracto de *C. halicacabum* en la

síntesis. Se debe recordar que el volumen es inversamente proporcional a la concentración, pues la sal acetato de zinc se mantiene constante (10mL de $Zn(NO_3)_2.6H_2O$. 1mM), por lo tanto, se infirió del estudio de Nithya et al. (2019) que a medida que se incrementó el tamaño de partícula, se incrementó la concentración del precursor acetato de zinc en el extracto de *C. halicacabum*. Comparativamente, en la **Gráfica 10**, se determinó que, a la temperatura de calcinación de 500°C, a medida que se incrementó la concentración del precursor, aumentó el tamaño de partícula, de igual forma ocurrió con una calcinación a 400° en la **Gráfica 10**. En conclusión, la evidencia reforzó el argumento de que a 400°C y 500°, la concentración del precursor en el extracto y el tamaño de partícula son directamente proporcionales.

Adicionalmente, Anzlovar et al. (2014) estudiaron como varía el radio hidrodinámico reportaron por DLS de las NPs de ZnO sintetizadas con acetato de zinc como precursor a distintas concentraciones (0.1M, 0.01M, 1M). Se postuló que a medida que se incrementaba la concentración del precursor, aumentaba el tamaño de radio hidrodinámico; dicha condición concordó con los resultados de tamaño de cristalito de las muestras evaluadas mediante DRX; esta condición se cumplió para todas sus evaluaciones de radio hidrodinámico menos la de concentración más elevada (1M). Paralelamente, en la **Gráfica 10**, se reportaron los datos para los tamaños promedio de partícula hallados mediante DLS, la evidencia de la **Gráfica 10** confirmó lo postulado por Anzlovar et al. (2014) cuando se trabajó a temperaturas de 400° y 500°C; sin embargo, a 600°C ocurrió una disminución del tamaño de partículas a medida que se incrementó la concentración, esto coincidió con la lectura de DLS de la concentración 1M reportada por Anzlovar et al. (2014), quienes sugirieron que pudo deberse a gran cantidad de partículas en la preparación con mayor concentración y a la carga que ejercen entre sí.

6.9 Potencial Z

El potencial Z de las NPs de ZnO obtenidas se encuentran en un rango de -6.45mV a -35.8mV, esto comprobó que la síntesis HE01 presentó una rápida coagulación, HE02, HE03, HE04, HE05 y HE06 mostraron incipiente estabilidad; además, HE07, HE08 y HE09 poseen moderada estabilidad. Se realizaron los análisis estadísticos respectivos, la prueba de Kruskal-Wallis demostró que sí se presentan cambios significativos entre las medias del potencial Z de las diferentes síntesis. Del análisis de Dunn-Bonferroni concluyó que el factor más determinante fue la temperatura de calcinación. Finalmente se concluyó que se elevó el potencial Z a medida que se incrementó la concentración del precursor y la temperatura de calcinación.

El potencial Z de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 posee distintos valores de estabilidad, las síntesis que obtuvieron un valor de potencial Z más estables fueron HE07, HE08 y HE09; por lo tanto, las síntesis de NPs de ZnO calcinadas a 600°C tuvieron un potencial Z mayor y superior estabilidad. El análisis estadístico reveló que no existen altos valores de desviación estándar entre las repeticiones. El potencial Z de las síntesis propuestas en la **Tabla 18** está acorde con otras investigaciones en donde se reportó el potencial Z de NPs de ZnO.

En la **Tabla 44** se reflejaron los valores de media del potencial Z de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09; estos tuvieron valores diferentes para cada uno, por ejemplo, para la síntesis HE01 la media fue de 7.8067 nm y la media para la síntesis HE09 fue de 34.6933 nm. En la mayoría de la síntesis la mediana fue el valor central. Los límites inferiores fueron bastante cercanos para cada síntesis, así mismo los valores de mínimo y máximo de potencial Z no se encontraron muy lejanos

para dichas síntesis. Por lo tanto, la amplitud rango fue ínfima. La varianza y la desviación estándar fueron valores pequeños debido a que los resultados del potencial Z de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 no variaban notablemente entre sí.

De la **Tabla 45**, se concluyó que todos los resultados de potencial Z de las síntesis tuvieron una distribución normal a excepción de la síntesis HE03, por lo cual se aplicó el análisis de Kruskal-Wallis en la **Tabla 46**, este reveló que sí existen diferencias significativas entre las medianas de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09; por lo tanto, en la **Tabla 47** y **Diagrama 6** se demostró que las síntesis que obtuvieron más diferencias con las demás fueron las HE01, HE02, HE03, HE04, en contraposición con las síntesis HE07, HE08, HE09. El gran diferenciador de estos dos grupos de síntesis fue la temperatura de calcinación, mientras el primer grupo se calcinó a 400°C, el segundo grupo se calcinó a 600°. Por lo tanto, la temperatura de calcinación fue el factor más importante en los resultados del potencial Z de las NPs de ZnO.

El valor de potencial Z de la NPs de ZnO de grado comercial fue de -32.72 mV ± 0.003, según Barzinjy &Azeez (2020) este valor de estabilidad corresponde a una buena estabilidad y es similar al valor de potencial Z resultante de las síntesis HE07, HE08 y HE09. Por lo tanto, las síntesis calcinadas a 600°C tienen un potencial Z similar a las NPs de ZnO de grado comercial.

De la **Gráfica 11**, se concluyó que, a mayor temperatura de calcinación y concentración de la sal, se incrementó el valor del potencial Z.

El valor del potencial Z entre 0 a ±10mV, 10 a ±30mV, 30 a ±40mV, 40 a ±60mV y >±61mV es un indicador de rápida coagulación, incipiente inestabilidad, moderada

estabilidad, buena estabilidad, excelente estabilidad, respectivamente. (Barzinjy & Azeez ,2020)

Barzinjy &Azeez (2020) sintetizaron NPs de ZnO a partir del extracto de *Eucalyptus globulus* y acetato de zinc. La reacción tuvo una temperatura de reacción de 60°C y una temperatura de calcinación de 400°C finalmente obtuvieron un potencial Z de -40 mV lo cual indicó que las NPs de ZnO estuvieron mayormente cubiertas con cargas negativas y que son estables. Así mismo, en la **Tabla 43**, la síntesis que obtuvo un valor cercano a -40 mV fue HE09, lo cual indicó que dicha síntesis tuvo una moderada estabilidad. En definitiva, el tratamiento térmico tuvo una influencia en el potencial Z resultante y en el nivel de estabilidad obtenido.

Givaland et al. (2020) sintetizaron NPs de ZnO a partir de extracto de *Magnolie officinalis* y en la evaluación del potencial Z se obtuvo un valor de 28 mV lo cual indicó que hay presencia de acumulación de partículas e incipiente estabilidad y pudo haber sido causada por una heterogeneidad en los tamaños de partícula. Por su parte, las síntesis con los valores más cercanos a 28 mV fueron HE07, HE08 y HE09 (**Tabla 43**), las cuales tuvieron los mayores tamaños de cristalito en la **Tabla 55** y medianos tamaños de radio hidrodinámico (**Tabla 42**); por ende, en concordancia con lo postulado por Givaland et al. (2020), las síntesis HE07, HE08 y HE09 tuvieron una mayor aglomeración en base a su potencial Z.

Ba-Abbad et al. (2013) sintetizaron NPs de ZnO utilizando el método sol-gel, y estudiaron el potencial Z en función a diferentes temperaturas de calcinación. Dichos autores señalaron que, a un pH de 6, a medida que aumentaba la temperatura de calcinación aumentaba el potencial Z. En concordancia con lo expuesto, en la **Gráfica 22**

y **Tabla 55** se postuló que a medida que se incrementa la temperatura, se incrementa el valor del potencial Z de las NPs de ZnO.

La concentración del precursor en la síntesis de NPs de ZnO ha suscitado diversas investigaciones e interés por parte de los académicos, ya que es un factor de gran importancia en la síntesis; a continuación, se reportó bibliografía que relacionaba dichas variables y su correlación con esta investigación.

Nithya et al. (2019) fabricaron NPs de ZnO mediante biosíntesis con extracto de *C.halicacabum*, se empleó como precursor al acetato de zinc (10ml de $Zn(NO_3)_2.6H_2O$. 1mM). Los autores evaluaron el potencial Z en función al volumen de extracto (0.2, 0.4, 0.6 ml *C. halicacabum).* Luego, se demostró que el valor absoluto del potencial Z se incrementó a medida que aumentó el volumen del extracto de *C. halicacabum* en la síntesis. Se debe tomar en cuenta que, el volumen es inversamente proporcional a la concentración, cuando el precursor se mantiene constante; por lo tanto, se infirió del estudio de Nithya et al. (2019) que a medida que se incrementó el valor absoluto del potencial Z, se disminuyó la concentración del precursor acetato de zinc en el extracto de *C. halicacabum*. En cambio, en la **Gráfica 11**, la concentración es directamente proporcional al potencial Z; esta diferencia se debió a la composición química de las plantas con las cuales fueron sintetizadas las NPs, mientras que el componente principal del jugo de limón es el ácido cítrico, los componentes principales de la *Gentianella tristicha* son los flavonoides y compuestos fenólicos; en adición, un factor determinante para el potencial Z fue el tratamiento térmico en la síntesis; mientras que en la síntesis de Nithya et al. (2019) no se aplicaron tratamientos térmicos consistentes; mientras que en esta investigación se aplicaron 60°C de pretratamiento térmico y temperaturas de calcinación desde 400°C hasta 600°C.

Adicionalmente, Anzlovar et al. (2014) sintetizó NPs de ZnO utilizando diferentes concentraciones del precursor acetato de zinc (1M, 0.1M, 0.001M). Dichos autores determinaron que a medida que se incrementaba la concentración del precursor, se incrementaban los valores del potencial Z, dichos valores fueron -25.4 mV, -28.1mV y -34.1mV, lo cual indicó una estabilidad moderada de acuerdo con Barzinjy & Azeez (2020). De modo similar, en la **Gráfica 11** se cumplió que a medida que se incrementó la concentración, se elevó el valor de potencial Z.

Chaudhuri & Malodia (2017) reportaron un valor de -20.7 mV para las NPs de ZnO sintetizadas a partir de *Calotropis gigantea*, esto indicó que las nanopartículas son estables debido a las fuerzas electrostáticas de repulsión. Un alto valor de carga negativa confirma la repulsión entre las partículas y demuestra que las nanopartículas son estables; la medida del potencial Z depende del movimiento de las nanopartículas bajo la influencia de un campo eléctrico, este movimiento depende de la superficie de carga y del entorno local de la partícula.

En la **Tabla 43** se indicó que las síntesis que cumplen las características mencionadas anteriormente son HE07, HE08 y HE09. Por lo cual se infirió que estas 3 son las síntesis con mayor estabilidad electrostática.

Por todo lo anterior expuesto, se concluyó que a medida que se incrementó la concentración de la sal y la temperatura de calcinación, el potencial Z de las NPs de ZnO aumentó.

6.10 Difracción de Rayos X

Los resultados de tamaño de cristalito de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 estuvieron en un rango de 12.5 nm -29.1 nm y se

identificaron todas las síntesis como zincita con la ficha N°96-900-4179. Se realizó el análisis estadístico respectivo, con la prueba de Kruskal-Wallis, se determinó que sí existen diferencias entre las medias de los tamaños de cristalito de las síntesis. De la prueba Dunn-Bonferroni, se determinó que los factores que tuvieron influencia fueron la temperatura de calcinación y la concentración del precursor. En conclusión, el tamaño de cristalito se incrementó a medida que aumentó la temperatura de calcinación y la concentración del precursor.

Con respecto a los estadísticos descriptivos establecidos en la **Tabla 50**, se expresó la media y la mediana del tamaño de cristalito de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09, los límites superiores e inferiores no estuvieron muy distanciados, su diferencia fue alrededor de 2 unidades, la varianza y desviación estándar fueron insignificantes; así mismo, los valores de mínimo y máximo no estuvieron distanciados numéricamente, es por ello que la amplitud del rango de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 fue insignificante; sin embargo, la amplitud del rango de HE05 fue el que mayor valor presentó con un valor de 3.59 nm.

En ese orden de ideas, en la Tabla 51 se presentó una prueba de normalidad en donde resultó que los valores de tamaño de cristalito de las repeticiones de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 poseen una distribución normal, además en la **Tabla 52** se comprobó que no existe homocedasticidad en los tamaños de cristalito de estas mismas. Por lo tanto, no se puede aplicar ANOVA, aunque se cumpla la prueba de normalidad no se cumple la homocedasticidad, debido a ello, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis. En la **Tabla 53** el estadístico comprobó que con un 95% de confianza, sí existieron diferencias significativas entre las medianas de los tamaños de cristalito de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07,

HE08, HE09, debido a ello, se aplicó el análisis post-hoc Dunn Bonferroni presentado en la **Tabla 54**. Del **Diagrama 7** se comprobó que las síntesis que poseen mayores diferencias fueron las HE01 y HE02 en contraparte con HE07, HE08, HE09. La principal diferencia de estos dos grupos de síntesis fue la temperatura de calcinación; mientras HE01 y HE02 fueron calcinados a 400°; HE07, HE08, HE09 fueron calcinados a 600°C. Por lo tanto, la temperatura de calcinación fue el principal factor que influenció el tamaño de cristalito resultante de la síntesis de las NPs de ZnO.

En la **Gráfica 22** se comparó el tamaño de cristalito con respecto a los factores: concentración de la sal en el extracto y temperatura de calcinación. De esta gráfica se dedujo que, a mayor temperatura de calcinación y mayor concentración de la sal, mayor será el tamaño de cristalito de las NPs de ZnO bio sintetizadas.

La nanopartícula de grado comercial de NP ZnO reportada en el ítem 5.8 presentan un tamaño de grano de 17.751±0.003, de los datos de la **Tabla 29**. Este tamaño es similar al de HE04; es decir, la síntesis HE04 posee un tamaño de cristalito que emula a las NPs de ZnO de grado comercial. Por otro lado, todos los tamaños de grano de las síntesis NPs de ZnO presentados en la **Tabla 49** son de tamaño dentro de una escala nanométrica. Además, el patrón de difracción de las NPs de ZnO reportados en la **Gráfica 8** es correspondiente al patrón de la zincita #96-900-4179; y se adecua con los patrones reportados en la Gráfica 13, Gráfica 14, Gráfica 15, Gráfica 16, Gráfica 17, Gráfica 18, Gráfica 19, Gráfica 20 y Gráfica 21. Por lo tanto, se comprobó que las NPs de ZnO sintetizadas en esta investigación tuvieron un patrón de difracción equivalente a las NPs de ZnO de grado comercial.

Uno de los factores más importantes a la hora de determinar el tamaño de cristalito de las NPs de ZnO fue la temperatura de calcinación, es por ello que diversos académicos mencionados en los siguientes párrafos estudiaron este factor.

Karthik et al. (2017) realizaron una síntesis de NPs de ZnO utilizando *Acalypha indica* variando la temperatura de calcinación (100°C, 300°C y 600°C). Karthik et al. (2017) postularon que, a mayor temperatura de calcinación, se incrementó el tamaño de cristalito. En ese orden de ideas, en la **Gráfica 22** se reportó que a medida que la temperatura de calcinación se elevó (400°C, 500°C y 600°C), el tamaño de cristalito se incrementó; esto se debió a que a mayor calcinación de temperatura se mejora la cristalización de los óxidos metálicos por la disminución de defectos en los cristales (Karthik et al., 2017).

Soares et al. (2019) realizaron la biosíntesis de NPs de ZnO mediante un precursor y suero de leche; además, evaluaron distintas temperaturas de calcinación (400°C, 600°C, 800°C y 1000°C). Dichos autores postularon que, a mayor temperatura de calcinación, se obtuvo un mayor tamaño de cristalito. Similarmente, en la **Gráfica 22** a medida que se incrementó la temperatura del tratamiento térmico, aumentó el tamaño de cristalito.

Adicionalmente, Vidya et al. (2017) reportaron la síntesis de NPs de ZnO mediante el extracto de *Artocarpus heterophyllus* evaluado a diferentes temperaturas de calcinación (400°C, 600°C y 800°C), luego, dichos autores determinaron que, a mayor temperatura de calcinación, se elevó el tamaño de cristalito. Vidya et al. (2017) afirmaron que el incremento de la cristalinidad de las nanopartículas se debió a el crecimiento nuclear de las mismas, lo cual coincidió con lo hallado en la **Gráfica 22**.

Con todo lo anterior expuesto, se concluyó que a medida que se incrementa la temperatura de calcinación en la síntesis de ZnO, aumenta el tamaño de cristalito.

Uno de los factores que ha tomado relevancia los últimos años fue la concentración del precursor en la síntesis o el extracto; es por ello que, diferentes investigaciones han reportado como varía el tamaño de cristalito según la concentración de la sal nitrato de zinc.

Noozori et al. (2012) sintetizaron NPs de ZnO reacción química del estado sólido, en esta investigación se estudió como varía el tamaño promedio de grano en función a la cantidad de precursores utilizados, en este caso fueron $ZnSO_4.7H_2O$ y NaOH. Dichos autores indicaron que mientras que la proporción de precursores se mantiene constante (relación de 1:2), el tamaño de grano aumenta (33 nm, 40nm, 42nm y 44nm). Estos resultados reafirmaron lo expuesto en la **Gráfica 22** y **Tabla 36**, pues cuando la concentración del precursor en el extracto se mantuvo constante (por ejemplo, a 0.04 gramos Nitrato de Zinc/mL de extracto *Gentianella tristicha;* el tamaño de grano alcanza valores de 12.76 nm, 12.52nm y 27.76nm), es decir, el tamaño de grano se incrementó. El tamaño promedio del cristalito se determinó utilizando la ecuación de Debye-Scherrer's. Barzinjy & Azeez (2020) sintetizó NPs de ZnO utilizando acetato de zinc y extracto de *Eucalyptus globulus* y obtuvo un tamaño de cristalito promedio de 27 nm mediante DRX.

Para ejemplificar otro caso, Nithya et al. (2019) sintetizaron NPs de ZnO mediante síntesis verde con extracto de *C.halicacabum*(0.2, 0.4, 0.6 ml), utilizando como precursor al acetato de zinc (10ml de $Zn(NO_3)_2.6H_2O$ 1mM concentración constante). Los autores evaluaron el tamaño de cristalito mediante la ecuación de Scherrer del difractograma DRX en función al volumen de extracto. Finalmente, Nithya et al. (2019) postularon que el tamaño de cristalito de NPs de ZnO disminuía a medida que se incrementaba el volumen de extracto de *C. halicacabum* en la síntesis. Nótese, que el volumen es inversamente proporcional a la concentración, pues la sal acetato de zinc se mantiene

constante; por lo tanto, se dedujo del estudio de Nithya et al. (2019) que a medida que se incrementó la concentración del precursor acetato de zinc en el extracto de *C. halicacabum,* se elevó el tamaño de cristalito de las NPs de ZnO. Comparativamente, en la Gráfica 22, se postuló que la concentración del precursor en el extracto es directamente proporcional al tamaño de cristalito de las NPs de ZnO.

En ese orden de ideas, Matinise et al. (2017) sintetizaron NPs de ZnO utilizando de zinc a diferentes (0.3444 g-10.333 g) y 50 mL de extracto de *Moringa Oliefera*; posterior a ello, se determinó que a medida que se incrementaba la concentración del precursor, aumentaba el tamaño de cristalito calculado mediante la ecuación de Scherrer proveniente del difractograma DRX. Igualmente, en la **Gráfica 22** se reportó que el tamaño de cristalito es directamente proporcional a la concentración el precursor en el extracto; esto se cumplió para todas las temperaturas de calcinación.

Por todo esto, se ratificó que a medida que se incrementa la concentración de la sal precursora en el extracto de una biosíntesis, se eleva el tamaño de cristalito de las NPs de ZnO generadas.

El difractograma de ZnO fue fundamental para la identificación del compuesto y la revelación de sus fases, es por ello que en diversas investigaciones en donde se ha sintetizado NPs de ZnO se reportaron los difractogramas respectivos.

De acuerdo con lo expuesto con Noozori et al (2012) a medida que se incrementa la temperatura de calcinación, los picos se vuelven más afilados, esto explicó porque en la **Gráfica 12**, los difractogramas de las síntesis que fueron calcinadas a 400°C (HE01, HE02 y HE03) tienen picos anchos en su base; sin embargo, los picos de los difractogramas de las síntesis que fueron sintetizadas a 600°C (HE07, HE08 y HE09) sí tienen una forma más definida o afilada.

Barzinjy & Azeez (2020) señalaron que las nanopartículas más grandes en la muestra fueron causadas por la aglomeración de nanopartículas y que el método DRX permite identificar hasta las más pequeñas nanopartículas; además, mencionaron que los fitoquímicos presentes en el extracto de planta produjeron picos más angostos en el difractograma.

Con base a lo mencionado anteriormente, en la **Gráfica 12**, el ancho de los picos cambia a medida que cambia la síntesis, por ejemplo, la síntesis HE01 tiene picos más anchos que HE09, en conclusión, la temperatura de calcinación y la concentración de la sal en el extracto fueron factores que afectaron al ancho de los picos de los difractogramas de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

Davar et al. (2015) sintetizaron NPs de ZnO utilizando acetato de zinc como precursor y jugo de limón; además se determinó tamaño de cristalito (20 nm) mediante la fórmula de Scherrer. Además, se reportó el difractograma de las NPs de ZnO indexado según JCPDS N°36-1451. Este presentó los planos de (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200), (112), (201), (004), (202). Similarmente, en la síntesis HE05 y HE06 de la **Tabla 49** se reportaron valores cercanos al hallado por Davar et al. (2015). En adición, los planos hallados coinciden con HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 identificados con la ficha #96-900-4179.

De lo expuesto anteriormente, se concluyó que la ficha de identificación fue fundamental para poder identificar la zincita en la síntesis de NPs de ZnO.

6.11 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Se identificó el ZnO a escala nanométrica de forma esférica y con crecimiento hexagonal en las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

Barzinjy & Azeez (2020) mencionaron que las NPs de ZnO se aglomeran en las imágenes SEM debido a la biosíntesis con la cual fueron fabricadas; al mismo tiempo, los factores ecológicos poseen gran influencia en la estabilidad y aglomeración; finalmente, se recalcó que, mediante el proceso de formación de las NPs, estas se adhieren unas a otras en conglomerados asimétricos.

Por ejemplo, en la Figura 22 se logró apreciar la aglomeración de NPs de ZnO, en la sección (B) de la Figura 22 se pudo apreciar un gran conglomerado de NPs de ZnO, esto se debió al extrado de GT utilizado en la síntesis HE03.

Givaland et al. (2020) postularon que en las imágenes SEM las nanopartículas pueden encontrarse ligeramente aglomeradas, así mismo las nanopartículas esféricas pueden ser vistas en un rango aproximado de 50-150nm. Así, en la síntesis HE05 de la **Figura 24** se pudo apreciar una vista hasta 1000 nm (1µm) y se avistó una cierta aglomeración, lo cual representó el comportamiento natural de las NPs de ZnO sintetizadas con extracto de plantas.

Davar et al. (2015) sintetizaron NPs de ZnO utilizando acetato de zinc como precursor y jugo de limón con una temperatura de calcinación de 600°C; luego se analizaron dichos nanomateriales mediante SEM, de ello se reportó que las NPs de ZnO poseían una forma esférica. De manera similar, en esta investigación las síntesis que demostraron una forma esférica fueron HE05 (**Figura 24**) y HE09 (**Figura 28**). Se concluyó que la temperatura de calcinación tuvo gran influencia debido a que HE09 y las NPs de ZnO producidas por Davar et al. (2015), ambas fueron calcinadas a 600°C.

En la **Figura 20** correspondiente a la síntesis HE01 se detectaron aglomerados de NPs de ZnO, los más grandes se detectaron con un tamaño aproximado de 1.5 µm. En la

Figura 21 perteneciente a la síntesis HE02 se presentó crecimiento tubular y a la vez aglomerados esféricos y amorfos de las NPs de ZnO.

En la **Figura 22** correspondiente a la síntesis HE03 se presentaron aglomerados con formas de anillos. En cuanto a la Figura 23, que describe la imagen SEM de la síntesis HE04 se visualizaron aglomerados; sin embargo; la imagen no posee alta resolución debido a la propiedad semiconductora de la muestra de ZnO. El SEM es una técnica basada en el barrido electrónico a lo largo de toda la muestra, por lo tanto, mientras más conductora sea la muestra, será mejor la resolución que tenga la imagen, materiales semiconductores (como el ZnO) analizados en el SEM conllevan a una baja resolución, pero con la pericia del operario se logró captar imágenes adecuadas para reportar la forma de las NPs de ZnO. Con respecto a la Figura 24, esta describió la imagen SEM de la síntesis HE05, en esta se puede apreciar las nanopartículas con forma esférica, estas se encuentran aglomeradas entre sí, pero su tamaño estuvo de acuerdo con la escala nanométrica. En cuanto a la **Figura 25**, se presentó la imagen SEM de la síntesis HE06, estos presentaron aglomerados en formas tubulares. Ya en la **Figura 26**, correspondiente a la síntesis HE07, se presentaron las nanopartículas de forma esférica, dichas partículas aún se encuentran agrupadas entre sí. En adición, en la **Figura 27**, la cual corresponde a la muestra HE08, se notaron conglomerados, algunos seguían las formaciones tubulares, mientras otros tomaron una forma esférica. Y en la **Figura 28**, se demostró que la síntesis HE09 da como resultado nanopartículas esféricas y ligeramente aglomeradas.

6.12 Espectroscopía de energía dispersada (EDS)

Los resultados EDS demostraron el espectro de formación del Zn y el O, además se reportó la proporción adecuada de elementos (Zn, O) de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09.

Barzinjy & Azeez (2020) sintetizaron NPs de ZnO y evaluaron el resultado mediante EDS, este indicó que las muestras contenían zinc, oxígeno y oro. El espectro EDS reveló dos picos de zinc entre 1keV y 8.7keV; y el pico correspondiente al oxígeno fue en 0.5 keV aproximadamente, finalmente se determinó que el porcentaje atómico fue de 79.39% Zn y 20.61% O, resultando una relación atómica de 4:1.

De modo similar, en la **Gráfica 23**, se determinaron picos en valores semejantes a los determinados por Barzinjy & Azeez (2020) para el Zn, O. Por su parte, en la **Tabla 56** se determinó un porcentaje atómico de 78.9% para el zinc y de 21.1% para el O con una proporción de 4:1. En definitiva, los resultados en cuanto a la gráfica y el porcentaje atómico son similares a los estimados por Barzinjy & Azeez (2020), lo cual indicó que se sintetizó satisfactoriamente ZnO.

Givaland et al. (2020) sintetizaron NPs de ZnO a partir del extracto de *Magnoliae officinalis* y en el análisis EDS hallaron los picos distintivos a 1.1kV, 8.6kV y 9.5 kV los cuales se encontraron relacionados a la constitución del ZnO; en adición, la constitución atómica fue de 72.35% y 27% para el zinc y oxígeno respectivamente.

En relación con el párrafo anterior, en la síntesis HE03 se hallaron picos similares retratados en la **Gráfica 25**, sin embargo, los valores de porcentaje atómico fueron 40.3% para el O, y 59.7% para el Zn; lo cual generó una proporción fue de 2:3.

Matinise et al. (2017) sintetizó NPs de ZnO utilizando acetato de zinc como precursor y hojas de *Moringa oleífera* de ello se obtuvo el espectro EDS y en este

resaltaron los picos de Zn, O, Cu, y C debido a impurezas presentadas en las NPs de ZnO proveniente del extracto de la planta; similar a ello en esta investigación, en la **Gráfica 27** se presentó el EDS para las nanopartículas síntesis HE05, sin embargo no se presentaron picos de Cu y C; esto de originó a la diferencia de las plantas utilizadas y al tratamiento térmico empleado en las síntesis.

6.13 Aplicación potencial a la agricultura

En esta sección se realizó un estimado de la aplicación de NPs de ZnO a la agricultura, en especial a cultivos de *Zea mays*. Se realizó un estimado del costo de producción de un batch correspondiente a la síntesis HE09 con las condiciones reportadas en la Tabla 18 , de donde se obtuvo el resultado en la **Tabla 66** que el costo por gramo de NPs de ZnO fue de $4.80\frac{\text{Soles}}{\text{g NPs de ZnO}}$. Finalmente, en conjunto con los resultados reportados por Tiwari (2017) se calculó cuánto costaría suplementar una hectárea con NPs de ZnO, el resultado fue de S/ 80.00 por cada hectárea de cultivo de *Zea mays*.

A continuación, se calculó la cantidad necesaria para la producción de un lote de 1.0591 g de nanopartículas siguiendo la síntesis HE09 de la Tabla 18 debido a las propiedades óptimas y el rendimiento adecuado descrito en la sección 6:

$$\text{HE09}=[\frac{4\text{ g Zn}(NO_3)_2.6H_2O}{50\text{ mL EGT}}]$$

Para la realización de una repetición de la síntesis HE09 se necesitó 4 g de $Zn(NO_3)_2].6H_2O$ y 50 mL de EGT (extracto de *Gentianella tristicha*). Según la sección 4.2 para la preparación del extracto de la planta se utilizó una concentración de $\frac{2g\ \text{Gentianella Tristicha neta}}{50\ mL\ Agua\ ultrapura}$ de donde se obtuvo 50 mL de EGT, por lo tanto, podemos

considerar el factor $\frac{2g\ G\text{entianella Tristicha neta}}{50\ mL\ \text{EGT}}$ entonces la cantidad de planta utilizada para preparar 50 mL de extracto de *Gentianella tristicha* (EGT) es:

$$G\text{TN}(Gentianella\ trsiticha\ \text{Neta})\ \text{total} = 50\ \text{ml EGT} * \frac{2g\ G\text{TN}}{50\ mL\ \text{EGT}} = 2\text{g GTN}$$

Sin embargo, se debe recordar que la GTN debe ser multiplicada por el porcentaje promedio del rendimiento de la GTN con respecto a la GTB(*Gentianella tristicha* bruta) indicado en la **Tabla 5** el cual tuvo un valor de 75.9228 %. Entonces:

$$GT\text{B} = GT\text{N}\ x\ \frac{100}{75.9228} = 2\ x\ \frac{100}{75.9228} = 2.6342\ g\ GT\text{B}$$

En base a la GTB se calculó el costo de la planta empleada en la preparación de la síntesis HE09.

Este fue el **Costo total de la planta** dividido entre los 4 kilogramos de planta bruta o **4000g de GTB**.

$$\text{Precio GTB} = \frac{\text{Costo total de la planta}}{4000\ \text{g de GT bruta}}\text{x}2.6342\ g\ GT\text{B}$$

$$Precio\ GT\text{B} = \frac{\text{S}/52}{4000\ g\ de\ GT\ bruta}x2.6342\ g\ GT\ bruta = \text{S}/0.0342$$

Se realizó una estimación del precio de la energía de los equipos involucrados en la síntesis de NPs de ZnO.

Tabla 65

Estimación de los costos de energía de los equipos utilizados en la fabricación de NPs de ZnO

Equipo	W	Tiempo (h)	Wh	kWh	Costo de la energía en Cercado de Lima-Lima-Perú (S/)	Costo bruto	Resultado del equipo	unidad	Cantidad requerida	unidad	Factor de uso (Resultado del equipo/cantidad requerida)	Costo neto
Cocinilla para realización del EGT	550	1	550	0.55	S/ 0.66	S/ 0.37	1000	ml de extracto	50	ml de extracto	20.00	S/ 0.0182
Cocinilla para síntesis NPs deZnO	550	3	1650	1.65	S/ 0.66	S/ 1.09	50	ml de síntesis	50	ml de síntesis	1.00	S/ 1.0911
Estufa para secado de planta	600	4	2400	2.4	S/ 0.66	S/ 1.59	2286	g GTN	2	g GTN	1143.00	S/ 0.0014
Estufa para tratamiento termico de NPs ZnO	600	2	1200	1.2	S/ 0.66	S/ 0.79	19063.8	mg NPs deZnO	1059.1	mg NPs deZnO	18.00	S/ 0.0441
Mufla	2000	2	4000	4	S/ 0.66	S/ 2.64	6354.1	mg NPs de ZnO	1059.1	mg NPs de ZnO	5.99	S/ 0.4409
Bomba de vacío	372.9	0.5	186.43	0.19	S/ 0.66	S/ 0.12	2286	g GTN	2	g GTN	1143.0	S/ 0.0001
											Total	S/ 1.5958

De la misma manera, se realizó una estimación de los costos de cada implemento y reactivo necesario para hallar el costo de las NPs de ZnO pertenecientes a la síntesis HE09.

Tabla 66

Costo estimado de los materiales utilizados para la elaboración de NPs de ZnO

Material	Precio total (Anexo 10.2)	Precio unitario	Unidades requeridas	Costo ($)	Costo (S/)	Estimación de uso	Costo neto
Tina de plástico	$320.00	$0.32	1	$ 0.32	S/ 1.19	100	S/ 0.0119
Colador de plástico	$3,300.00	$0.33	1	$ 0.33	S/ 1.22	100	S/ 0.0122
Bandeja de metal	$6,720.00	$2.24	1	$ 2.24	S/ 8.31	500	S/ 0.0166
Vaso precipitado 1000 mL	$900.00	$0.18	1	$ 0.18	S/ 0.67	100	S/ 0.0067
Agitador magnético	$140.00	$0.14	1	$ 0.14	S/ 0.52	50	S/ 0.0104
Botella de cristal oscuro (250mL)	$13.00	$0.13	1	$ 0.13	S/ 0.48	100	S/ 0.0048
Vaso precipitado 50 mL	$2,100.00	$2.10	1	$ 2.10	S/ 7.79	100	S/ 0.0779
Crisol de porcelana	$0.10	$0.10	1	$ 0.10	S/ 0.37	50	S/ 0.0074
Vial oscuro con tapa	$3.00	$0.13	1	$ 0.13	S/ 0.48	100	S/ 0.0048
Espátula de metal	$1.00	$0.30	1	$ 0.30	S/ 1.11	500	S/ 0.0022
Matraz kitasato	$1.00	$0.90	1	$ 0.90	S/ 3.34	100	S/ 0.0334
Embudo para matraz	$1.00	$0.50	1	$ 0.50	S/ 1.86	100	S/ 0.0186
Bolsa con cierre hermético	$60.00	$0.03	1	$ 0.03	S/ 0.11	1	S/ 0.1113
Nitrato de Zinc hexahidratado	$94.86	$0.19	4	$ 0.76	S/ 2.82	1	S/ 2.8154
Papel filtro	$2.00	$0.05	2	$ 0.10	S/ 0.37	1	S/ 0.3710
Planta *Gentianella tristicha*	S/ 52.00	S/ 0.01	2.6342	-	S/ 0.03	1	S/ 0.0342
Costos de energía		De la Tabla 65			S/ 1.60	1	S/ 1.5958
						Total	S/ 5.1347
						Cantidad de NPs de ZnO promedio producida (g)	1.0591
						Costo de NPs ZnO (soles/g)	S/ 4.8482

Nota: La tabla indica valores del costo total de las NPs de ZnO según la síntesis HE09, La **Estimación de uso** es la cantidad aproximada de veces que un artefacto será utilizado antes de que colapse o se rompa, varía en función al material (metal, porcelana, vidrio, plástico); o si son materiales de un solo uso (por ejemplo: bolsas de cierre hermético, Nitrato de zinc hexahidratado, etc.) o de uso prolongado (por ejemplo: bandeja de metal, crisol de porcelana, etc.)

Según la empresa de venta de insumos químicos Merck (2014) el costo de 10g de NPs de ZnO Sigma-Aldrich ® (tamaño de partícula < 100 nm) de grado comercial es 44.17 US$, con la síntesis planteada en esta sección, 10 g de NPs de ZnO costaría S/48.48 o 12.76 US$. Lo cual es 31.33 US$ dólares menos que las nanopartículas de grado comercial, otorgando ventaja en el aspecto económico a la biosíntesis.

Este cálculo no es detallado, es un cálculo aproximado o estimación preliminar que presentará ventajas competitivas al momento de escalamiento a una producción industrial.

Con referencia a las NPs de ZnO de grado comercial vendidas por la empresa US Research Nanomaterials Inc. Caracterizadas en la sección 5.8, 500 g de NPs de ZnO tuvieron un costo de US$118. (US Research Nanomaterials Inc., 2024). En comparación a ello 500 g NPs de ZnO sintetizadas en este trabajo tendrían un costo de:

$$4.8482 \frac{\text{soles}}{\text{g NPs ZnO}} \text{x} 500 \text{ g NPs ZnO} = \text{S}/2424.1 \approx \text{US\$}642.66$$

Este valor es notablemente superior al costo de las NPs de ZnO proporcionadas por US Research Nanomaterials Inc. Lo cual indica que el costo de las NPs de ZnO dependerá del proceso, la pureza y la morfología del producto entregado.

Es importante recalcar que las empresas que poseen la capacidad de la producción en masa o a gran escala tienden a reducir los costos de sus productos finales debido a diversos factores como reducción en el precio de sus insumos por comprar en gran volumen, automatización de equipos, proceso continuo (en lugar de la producción por lotes) entre otros; como resultado, el costo del producto final disminuye, haciéndolo más competitivo en el mercado.

El proceso descrito en esta investigación se realizó a nivel de laboratorio por lo cual, en comparación con algunas empresas, se presentan costos mayores en el producto final; sin embargo, si se realiza un escalamiento de la síntesis descrita en esta investigación a nivel industrial, se estima que se reducirían aún más los costos del producto; además de contar con el valor agregado de ser un producto proveniente de una síntesis verde, sustentable, pues durante el proceso de fabricación se evita el uso de un reactivo químico altamente alcalino y es reemplazado por el extracto de una planta nativa utilizando un solvente no pernicioso para la salud, dichos procedimientos tienen el fin de disminuir el impacto sobre el medio ambiente y sobre los seres vivos del mismo.

De acuerdo con la bibliografía revisada en esta sección, se tomó en cuenta los resultados de la aplicación en suelos de Tiwari (2017), según dicho autor, la aplicación de 1000 ppm de NPs de ZnO en disolución a semillas de *Zea mays* demostró ser más beneficiosa en distintos parámetros como incremento en la germinación de la semilla, tamaño de raíz e índice de vigor de semilla en comparación a tratamientos que no recibieron compuestos con ZnO. Por lo tanto, se realizó el cálculo del costo de NPs de ZnO necesario para suplementar y mejorar los parámetros en cultivos de *Zea mays* en 1 hectárea.

Se calculó la cantidad de gramos de NPs de ZnO para suplementar eficientemente una hectárea de cultivos de *Zea mays* basado en los resultados de Tiwari (2017). Dicho autor indicó que el proceso con mejores beneficios para la planta fue sumergir 200 semillas de *Zea mays* en suficiente disolución de NPs de ZnO con una concentración de 1000 ppm, llevar a agitación y finalmente a sonicación. Se pesaron 200 semillas de *Zea mays* sin germinar y resultaron en un peso de 40 g, además, Tiwari (2017) mencionó que se deben sumergir en una cantidad suficiente de disolución, se logró cubrir eficientemente

200 semillas de *Zea mays* con 30 ml de agua, es decir, que a 200 semillas de *Zea mays* se mezclaron con 30 mL de disolución para cubiertas y sumergidas totalmente. Además, de acuerdo con el Instituto Nacional de Investigación y experimentación Agraria (2004) se reportó que para una adecuada siembra de *Zea mays* se debe plantar 22 kg de semillas de *Zea mays* (SZM) por cada hectárea.

Se estimó la cantidad de NPs de ZnO necesaria para suplementar un 1Ha de cultivos de *Zea mays* según lo planteado por Tiwari (2017).

$$\text{Cantidad de NPs (g)} = \frac{22\ \text{kg SZM}}{1\ \text{ha}} \text{x} \frac{10^3\ \text{g SZM}}{1\ \text{kg SZM}} \text{x} \frac{30\ \text{mL disolución}}{40\ \text{g SZM}} \text{x}\ 10^3\ \text{ppm x} \frac{1\ \text{g NPs} \frac{\text{ZnO}}{\text{mL}} \text{disolución}}{10^6 \text{ppm}}$$

$$\text{Cantidad de NPs } (g) = 16.5\ \text{g de NPs de ZnO}$$

Así mismo, se calculó el costo que implicaría suplementar 1 Ha de cultivos de *Zea mays* con NPs de ZnO según lo planteado por Tiwari (2017).

$$\text{Costo}\left(\frac{\text{Soles}}{\text{Ha}}\right) = \frac{22\ \text{kg SZM}}{1\ \text{ha}} \text{x} \frac{10^3\ \text{g SZM}}{1\ \text{kg SZM}} \text{x} \frac{30\ \text{mL disolución}}{40\ \text{g SZM}} \text{x}\ 10^3\ \text{ppm x} \frac{1\ \text{g NPs} \frac{\text{ZnO}}{\text{mL}} \text{disolución}}{10^6 \text{ppm}} \text{x} \frac{4.8482\ \text{soles}}{\text{g NPs ZnO}}$$

$$\text{Costo}\left(\frac{\text{Soles}}{\text{Ha}}\right) = 79.99\left(\frac{\text{Soles}}{\text{Ha}}\right) \approx 80\left(\frac{\text{Soles}}{\text{Ha}}\right)$$

De manera complementaria, Soto-Gonzales et al. (2024) estudiaron el impacto de cultivos de *Chenopodium quinoa* con hidrogel y NPs de ZnO. En dicha investigación, el terreno total poseía 20m x 7.2m (144 m^2), se emplearon 1.5 g de NPs de ZnO en combinación con 9 g de hidrogel diluidos en 20 L de agua de lluvia en una hilera de cultivo (14 hileras en total). Esta cantidad de reactivos en combinación con fertilizantes complementarios otorgó una mejora notable en parámetros como contenido de Zinc del producto, área de hoja, rendimiento, tamaño de raíz, porcentaje de germinación y número de plantas. Por lo tanto, se calculó el costo de la suplementación de una hectárea de *Chenopodium quinoa* con las NPs de ZnO sintetizadas en la sección 5.7.

$$1.5\,\frac{\text{g } NPs\ ZnO}{hilera}\,x\,\frac{14\ hileras}{7.2m\ \text{x}\ 20\text{m}}\,x\,\frac{10^4\ m^2}{1\ Ha}\,x\,\frac{4.8482\ \text{soles}}{g\ NPs\ ZnO} = 7070.30\ \text{soles} = \text{S/}7070.30$$

Debido a los cálculos anteriores se comprobó que la cantidad de dinero que costaría suplementar 1 Ha de cultivo con NPs de ZnO depende de diversos factores como el tipo de planta, el suelo utilizado y sobre todo la forma y etapa de aplicación de las NPs de ZnO.

Finalmente, la estimación de costos calculados para suplementar los cultivos de *Zea mays* y *Chenopodium quinoa* fueron calculados con las proyecciones a escala de laboratorio por lo cual pueden presentarse costos elevados para suplementar una hectárea de algunos tipos de plantas; sin embargo, se puede inferir que de realizarse una producción a mayor escala, el costo de las NPs de ZnO para la suplementación de cultivos serán menores, pero se seguirán manteniendo los beneficios en los parámetros de las plantas cultivadas, lo cual mejoraría la rentabilidad de los cultivos.

7.Gráficos de superficie de respuesta

Se realizaron los gráficos de superficie para los análisis obtenidos mediante el potencial Z, longitud de máxima absorbancia (espectrofotometría UV-Vis), tamaño de cristalito (difracción de rayos X) y diámetro hidrodinámico (DLS). Se reportó la tabla con los factores utilizados en esta investigación (factor 1: Temperatura (°C) y factor 2: Concentración g/mL) con sus respectivas variables de respuesta para cada ensayo que fue cuantificado de la sección 5.8.

Tabla 67

Factores (temperatura (°C) y concentración(g/mL)) y sus respectivas variables de respuesta en un modelo aleatorio en un modelo aleatorio

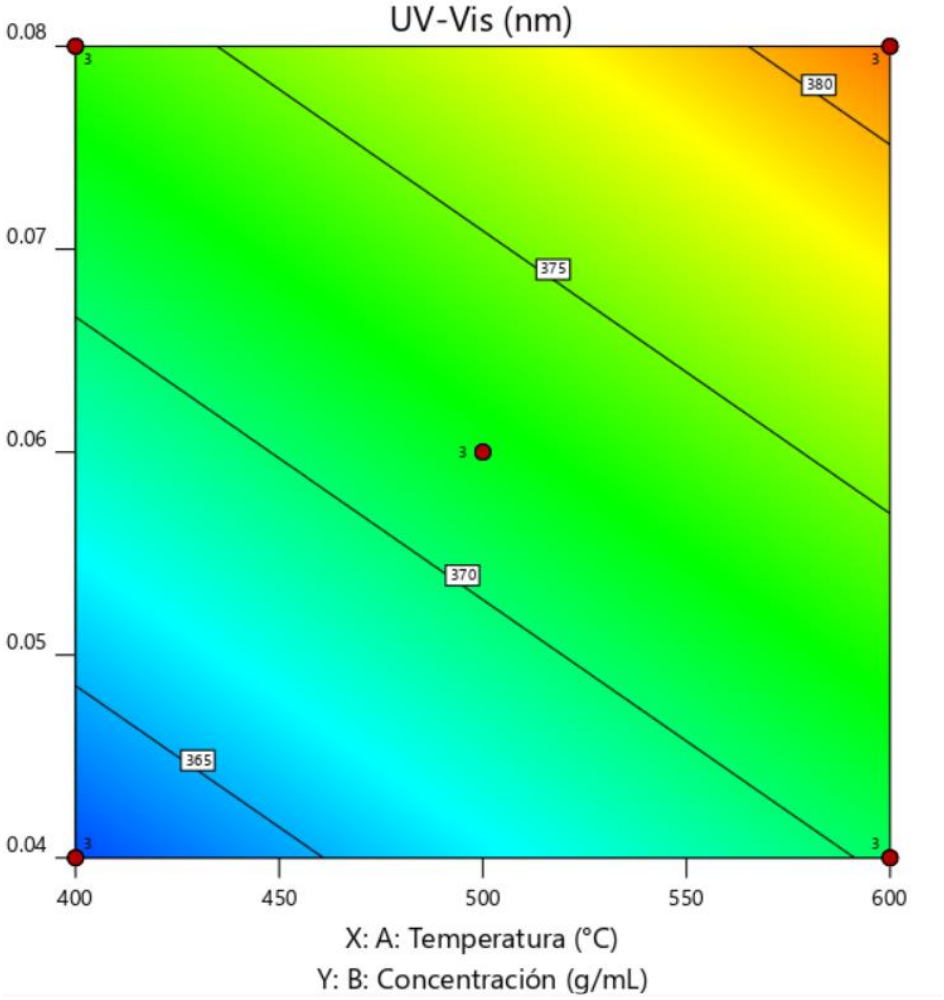
		Factor 1	Factor 2	Respuesta 1	Respuesta 2	Respuesta 3
Std	Corrida	Temperatura (°C)	Concentración g/mL	Potencial Z(-mV)	Longitud de onda (nm)	Tamaño de Cristal (nm)
3	1	400	0.04	8.35	363	12.45
7	2	400	0.08	12.83	375	21.804
8	3	400	0.08	13.22	373	21.039
9	4	400	0.08	13.21	372	22.232
4	5	600	0.04	30.2	368	25.477
14	6	500	0.06	17.07	370	19.578
5	7	600	0.04	30.35	372	29.609
2	8	400	0.04	8.62	365	12.665
11	9	600	0.08	33.53	384	27.52
13	10	500	0.06	16.67	372	15.993
15	11	500	0.06	16.07	374	18.455
1	12	400	0.04	6.45	361	13.178
10	13	600	0.08	35.8	379	29.083
12	14	600	0.08	34.75	382	28.552
6	15	600	0.04	31.53	370	28.183

7.1 Análisis por espectrofotometría UV-Vis

En la presente sección se realizó un gráfico de contorno, gráfico de superficie, ecuación de la superficie, estadísticos de ajuste, análisis de varianza y se calculó la falta de ajuste (Lack of fit), utilizando los datos de la **Tabla 67** con respecto a la respuesta 2 que reportó los datos extremos y centrales de la longitud de onda en donde se presentó la máxima absorbancia en el análisis de espectrofotometría UV-Vis de las NPs de ZnO.

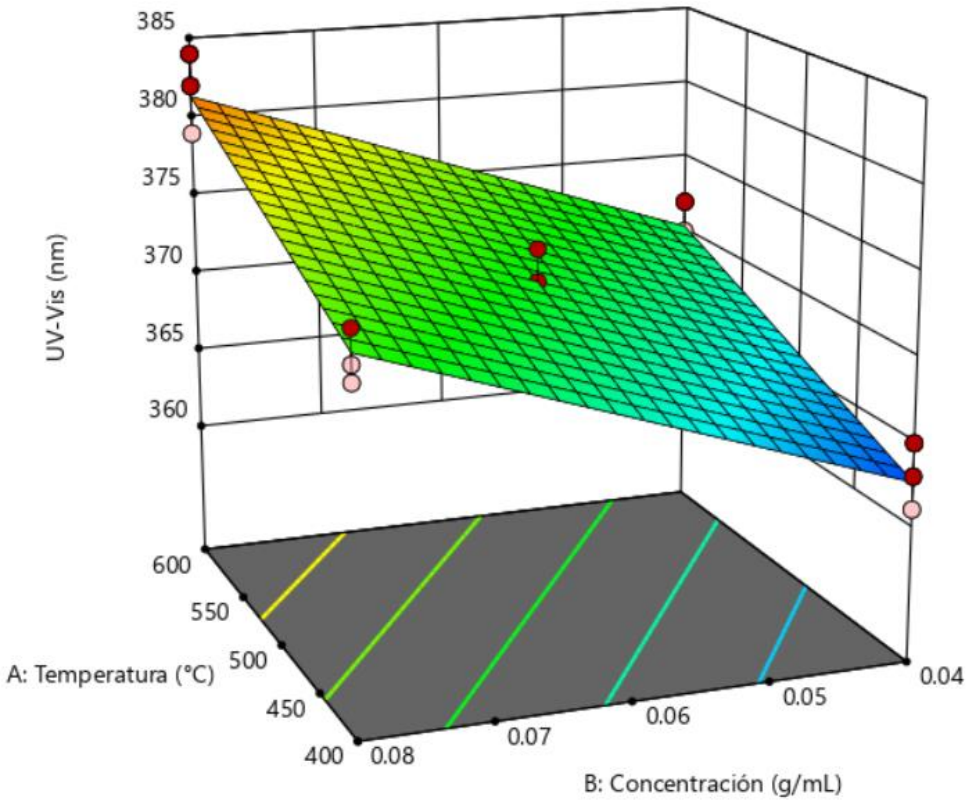
Gráfica 32

Gráfico de contorno de los datos de longitud de onda donde se presenta la máxima absorbancia obtenido mediante espectrofotometría UV-Vis de las NPs de ZnO



Gráfica 33

Gráfico de superficie de los datos centrales y extremos de longitud de onda donde se presentó la máxima absorbancia obtenido mediante espectrofotometría UV-Vis.



Ecuación de la superficie: UV-Vis= 336.33 + 0.004 A + 275.00 B (8)

Tabla 68

Estadísticos de ajuste con respecto a los datos obtenidos mediante espectrofotometría UV-Vis

R^2	0.9267
R^2 ajustado	0.9145
R^2 de predicción	0.8829

Tabla 69

Análisis de varianza con respecto a los datos obtenidos mediante espectrofotometría UV-Vis

Recurso	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Valor P	
Modelo	539.33	2	269.67	75.84	< 0.0001	significante
A-Temperatura	176.33	1	176.33	49.59	< 0.0001	
B-Concentración	363.00	1	363.00	102.09	< 0.0001	
Residuales	42.67	12	3.56			
Lack of Fit	1.33	2	0.6667	0.16	0.8532	No significante
Pure Error	41.33	10	4.13			
Cor Total	582.00	14				

En la **Gráfica 32** se presentó la información con los factores temperatura y concentración, la variable de respuesta está interpretada por la intensidad de los colores (naranja para valores elevados y azul para los valores inferiores) y delimitada por valores estratégicos (365, 370, 375 y 360).

De la **Tabla 68** se tiene un R^2 de 0.9267, este valor se encuentra cercano a 1, lo cual indica que la variabilidad de la variable dependiente (longitud de onda) está explicada por las variables independientes del modelo (temperatura y concentración). Se tiene un valor de R^2 ajustado de 0.9145, el cual habría sido más útil si se hubiera armado otro modelo con factores añadidos y la misma variable de respuesta (Ej.: factores: temperatura, concentración y capacidad antioxidante, variable dependiente :longitud de onda) como no se cuenta con otros modelos con más factores no es pertinente una comparación de R^2 ajustado, se debe resaltar que el R^2 ajustado y el R^2 simple no se diferencian por una elevada cantidad, por lo que se puede concluir que ambos factores (temperatura y concentración) fueron relevantes para el modelo planteado. Finalmente, el R^2 de predicción determinó que el modelo planteado posee una moderada capacidad para predecir valores nuevos que no fueron utilizados en la estimación del modelo, por lo que se recomienda ampliar en los niveles de los factores para poder determinar una

generalización del comportamiento del factor temperatura y concentración en la determinación de la variable de respuesta denominado longitud de onda.

La **Gráfica 33** es un gráfico de superficie lineal que nos permite interpretar como las variables independientes (temperatura y concentración) influyen en una variable dependiente (longitud de onda) , los colores como en naranja y el amarillo señalan la elevada magnitud de la variable dependiente, lo contrario ocurre con los colores azul y celeste, la gráfica es de superficie plana, lo cual indica una moderada interacción entre los factores; y la **ecuación 8** puede ser utilizada para realizar predicciones en cuanto a la variable de respuesta (longitud de onda) para los niveles dados de cada factor. En futuros estudios se sugiere ampliar los niveles en el factor de temperatura (de 600 °C en adelante) y el factor de concentración (0.08 g/mL) en adelante, con el fin de optimizar la longitud de onda resultante un valor elevado de longitud de onda indica la formación eficiente e identificación de las NPs de ZnO. Un valor de longitud de onda en donde se presenta el pico del espectro UV-Vis adecuado se considera en un valor de 360 nm en adelante, en donde se tiene predilección por los valores de 380 nm en adelante (González et al. 2022; Fakhari et al. 2019; Samy et al. 2019), cuando el valor de longitud de onda se incrementa, y la sección del espectro donde se presenta la máxima absorbancia presenta una forma afilada, se confirma la correcta confirmación del ZnO (Barzinjy & Azeez ,2020). La adecuada confirmación del ZnO es esencial para la suplementación de cultivos de *Zea mays,* pues el zinc es un micronutriente muy decisivo a la hora del cebado y germinación de las semillas de dicha planta (Tiwari, 2017).

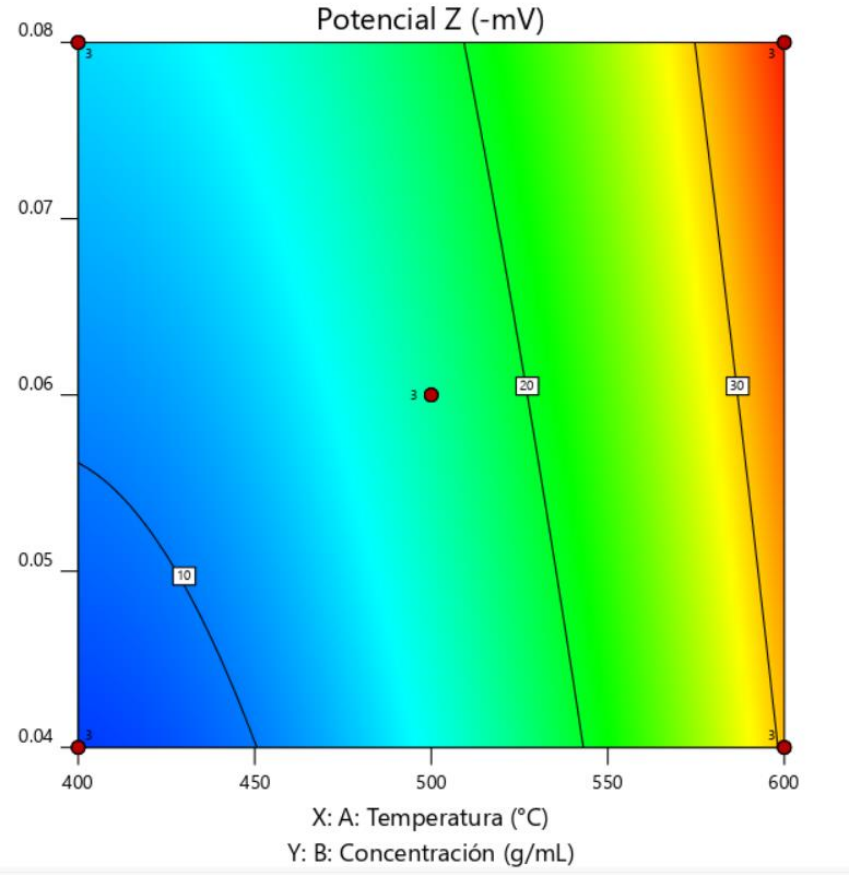
7.2 Análisis del potencial Z

En esta sección se elaboró un gráfico de contorno, un gráfico de superficie, se determinó la ecuación de la superficie, se calcularon los estadísticos de ajuste, se realizó un análisis de

varianza y se evaluó la falta de ajuste (Lack of fit), utilizando los datos de la Tabla 67 en relación con la respuesta que reportó los datos extremos y centrales del potencial Z de las nanopartículas de ZnO.

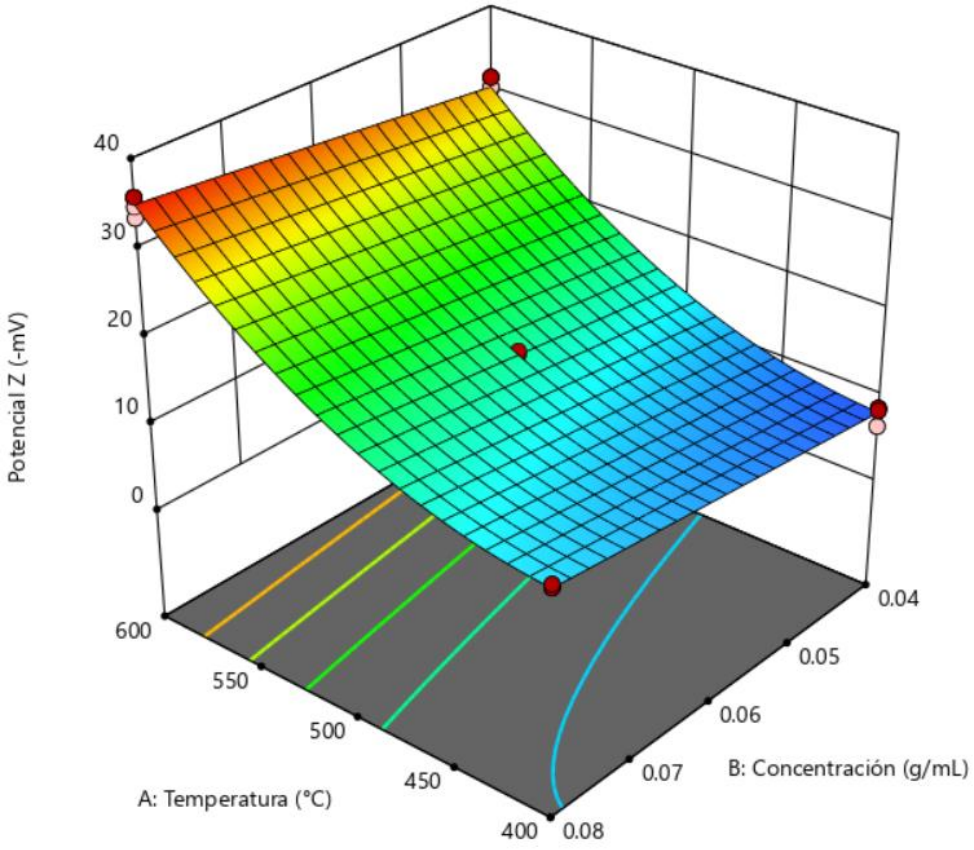
Gráfica 34

Gráfico de contorno de los datos de Potencial Z de las NPs de ZnO



Gráfica 35

Gráfico de superficie de los datos centrales y extremos de Potencial Z de las NPs de ZnO



Ecuación de la superficie: Potencial Z= 78.193 -0.385 A+ 116.000 B + 0.0000497 A^2 (9)

Tabla 70

Estadísticos de ajuste con respecto a los datos obtenidos mediante el análisis de potencial Z

R^2	0.9949
R^2 ajustado	0.9935
R^2 de predicción	0.9908

Tabla 71

Análisis de varianza con respecto a los datos obtenidos mediante Potencial Z

Recurso	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Valor P	
Modelo	1608.53	3	536.18	712.82	< 0.0001	significante
A-Temperatura	1484.74	1	1484.74	1973.88	< 0.0001	
B-Concentración	64.59	1	64.59	85.87	< 0.0001	
A^2	59.20	1	59.20	78.71	< 0.0001	
Residuales	8.27	11	0.7522			
Lack of Fit	1.23	1	1.23	1.74	0.2160	No significante
Error puro	7.05	10	0.7045			
Cor Total	1616.81	14				

En la **Gráfica 34** se mostraron los datos con los factores de temperatura y concentración. La variable de respuesta se interpretó mediante la intensidad de los colores, usando naranja para los valores altos y azul para los valores bajos, y se delimitó por valores estratégicos (10, 20 y 30).

De la Tabla 70, se obtiene un R^2 de 0.9949, lo cual indica que la variabilidad de la variable dependiente (Potencial Z) está muy bien explicada por las variables independientes del modelo (temperatura y concentración). El R^2 ajustado es de 0.9935, y aunque hubiera sido más útil si se hubiera creado otro modelo con factores adicionales y la misma variable de respuesta (por ejemplo, factores: temperatura, concentración y capacidad antioxidante; variable dependiente: longitud de onda), no es pertinente comparar el R^2 ajustado debido a la falta de otros modelos con más factores. Es importante destacar que el R^2 ajustado y el R^2 simple son valores muy cercanos, lo que indica que ambos factores (temperatura y concentración) son relevantes para el modelo propuesto. Finalmente, el R^2 de predicción muestra que el modelo tiene una alta capacidad para predecir valores nuevos que no fueron utilizados en la estimación del modelo. Por ello, se recomienda ampliar los niveles extremos de los factores para poder generalizar el comportamiento de la temperatura y la concentración en la determinación del potencial Z.

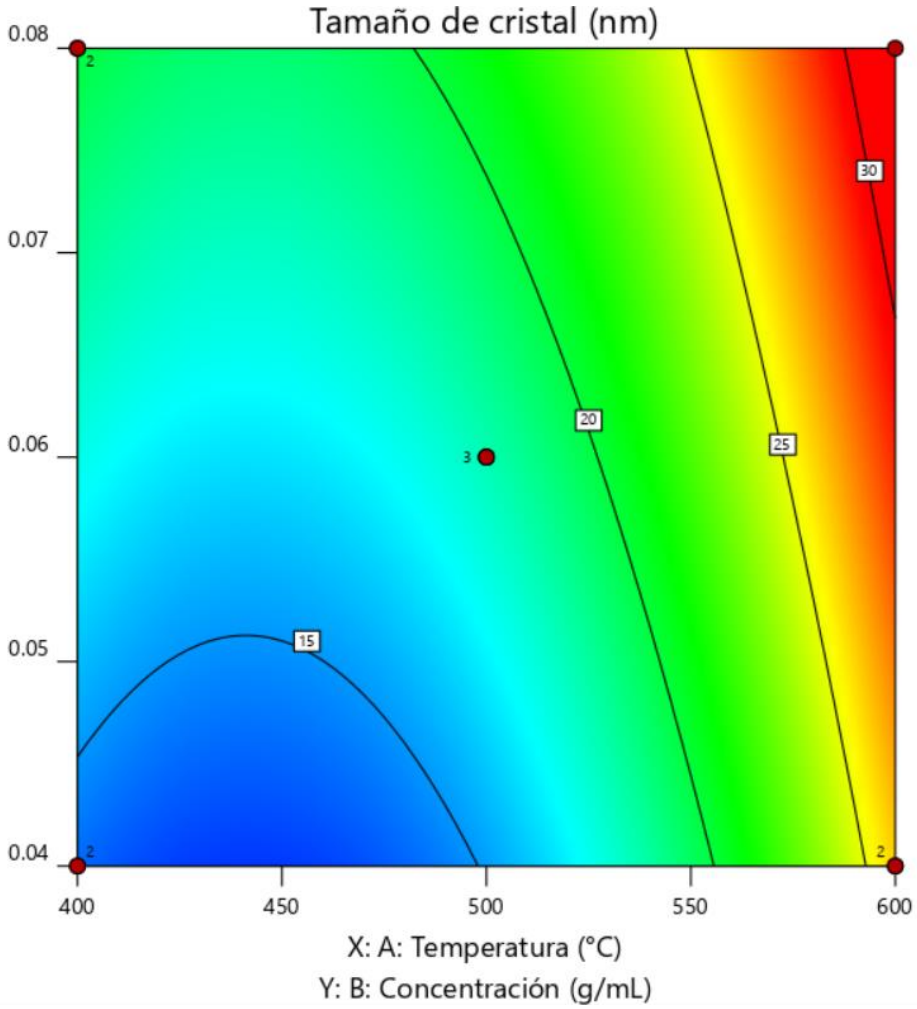
La Gráfica 35 es un gráfico de superficie cuadrática que muestra cómo las variables independientes (temperatura y concentración) afectan a una variable dependiente (Potencial Z). Los colores naranja y amarillo indican una alta magnitud de la variable dependiente, mientras que los colores azul y celeste indican lo contrario. La gráfica 35 presenta una superficie curva, lo que sugiere una interacción significativa entre los factores. La ecuación 9 se puede utilizar para hacer predicciones sobre la variable de respuesta (Potencial Z) para los niveles dados de cada factor. En estudios futuros, se recomienda ampliar los niveles del factor de temperatura (a partir de 600 °C) y del factor de concentración (a partir de 0.08 g/mL) debido a que a medida que aumentaba la temperatura de calcinación aumentaba el potencial Z (Ba-Abbad et al. ,2013), con el fin de obtener elevados valores de Potencial Z resultante, ya que un elevado potencial Z indica que las NPs de ZnO tendrán mucha estabilidad en soluciones acuosas (Barzinjy &Azeez ;2020 Givaland et al. 2020), lo cual lo hace ideal para su aplicación en el regado y suplementación de cultivos de *Zea mays* (Tiwari, 2017; Taheri et. al., 2015)).

7.3 Análisis del tamaño de cristalito por difracción de rayos X

En este apartado se generó un gráfico de contorno y un gráfico de superficie, se estableció la ecuación correspondiente a la superficie, se analizaron los estadísticos de ajuste y se llevó a cabo un análisis de varianza, junto con la evaluación de la falta de ajuste (Lack of fit). Todo esto se realizó utilizando los datos presentes en la Tabla 67, centrándose en la respuesta que los datos extremos y centrales del potencial Z de las nanopartículas de ZnO proporcionaron.

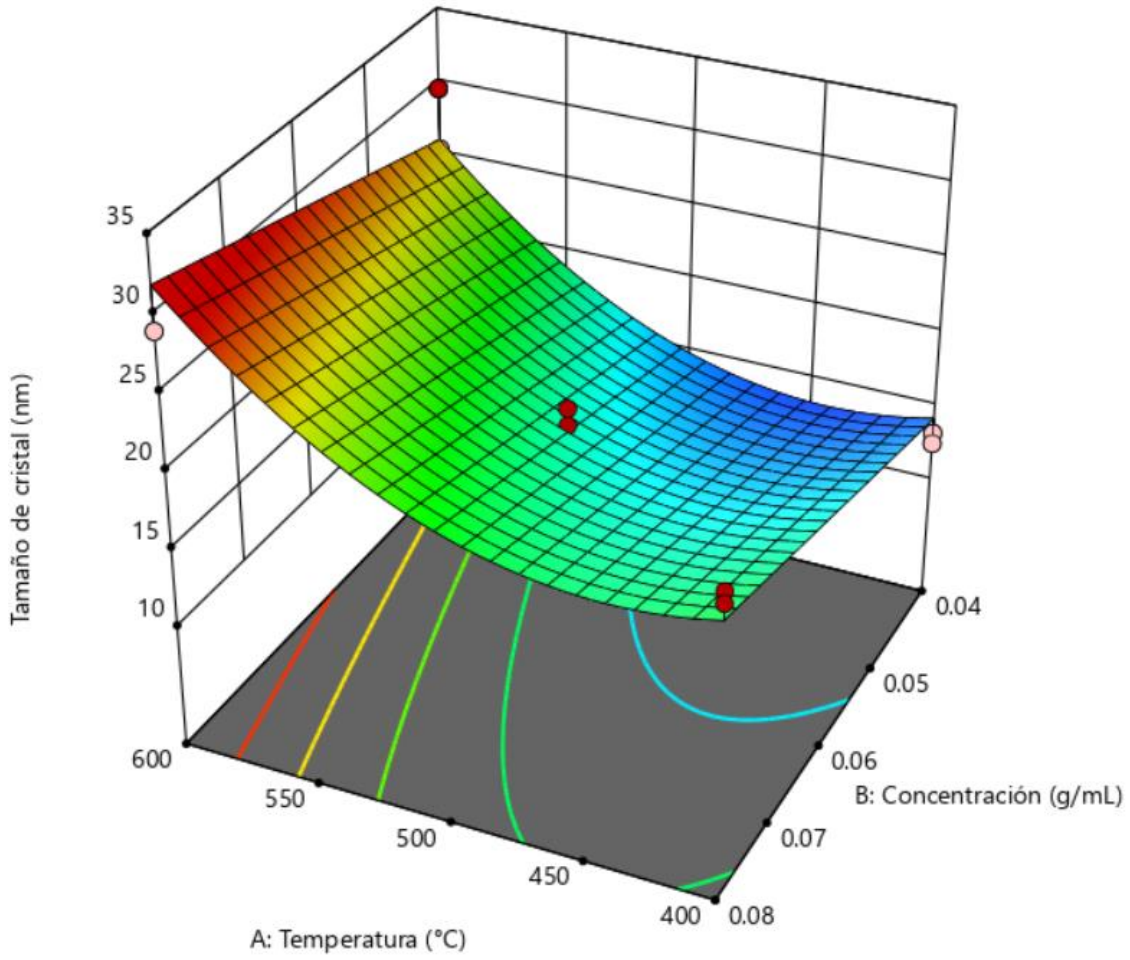
Gráfica 36

Gráfico de contorno de los datos de tamaños de cristal obtenidos mediante difracción de rayos X



Gráfica 37

Gráfico de superficie de los datos centrales y extremos del tamaño de cristal de las NPs de ZnO



Ecuación de la superficie:

$$\text{Tamaño de cristal} = 106.085 - 0.446\ A + 144.512\ B + 0.000506\ A^2 \quad (10)$$

Tabla 72

Estadísticos de ajuste con respecto a los datos obtenidos mediante la difracción de rayos X

R^2	0.8905
R^2 ajustado	0.8357
R^2 de predicción	0.6218

Tabla 73

Análisis de varianza con respecto a el tamaño de cristal obtenidos mediante DRX

Recurso	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Valor P	
Modelo	291.09	3	97.03	16.26	0.0028	significante
A-Temperatura	236.10	1	236.10	39.57	0.0008	
B-Concentración	55.69	1	55.69	9.33	0.0224	
A^2	52.97	1	52.97	8.88	0.0246	
Residuales	35.80	6	5.97			
Lack of Fit	19.98	1	19.98	6.32	0.0536	no significante
Error puro	15.82	5	3.16			
Cor Total	326.89	9				

En la Gráfica 36 se presentaron los datos relacionados con los factores de temperatura y concentración. La variable de respuesta fue representada por la intensidad de los colores, utilizando tonos de naranja y rojo para indicar valores altos, y azul para valores bajos. Además, se establecieron límites definidos por valores estratégicos de 15, 20, 25 y 30.

De la Tabla 72 se obtiene un R^2 de 0.8905, lo cual indica que la variabilidad de la variable dependiente (tamaño de cristal) está relativamente bien explicada por las variables independientes del modelo (temperatura y concentración). El R^2 ajustado es de 0.8357, sería más adecuado si se hubiera desarrollado otro modelo con factores adicionales y la misma variable de respuesta (por ejemplo, factores: temperatura, concentración y capacidad antioxidante; variable dependiente: longitud de onda), no es pertinente comparar el R^2 ajustado debido a la falta de otros modelos con más factores. Es importante destacar que el R^2 ajustado y el R^2 simple no difieren significativamente, lo que sugiere que ambos factores (temperatura y concentración) son relevantes para el modelo planteado. Finalmente, el R^2 de predicción indica que el modelo tiene una capacidad moderada para predecir valores nuevos que no se utilizaron en la estimación del modelo. Por lo tanto, se recomienda ampliar los niveles de los factores para determinar una

generalización del comportamiento de la temperatura y la concentración en la determinación de la variable dependiente, tamaño de cristal.

La Gráfica 37 representa un gráfico de superficie cuadrática que ilustra cómo las variables independientes (temperatura y concentración) influencian a una variable dependiente (tamaño de cristal). Los tonos naranja y amarillo denotan una elevada magnitud de la variable dependiente, mientras que los tonos azul y celeste indican lo contrario. La superficie de la gráfica exhibe una curvatura, sugiriendo una interacción significativa entre los factores. La ecuación 10 puede emplearse para predecir la variable de respuesta (tamaño de cristal) para los niveles especificados de cada factor. Los tamaños de cristal obtenidos en esta investigación se consideran ideal para la suplementación de cultivos de NPs de ZnO (Tondey et al., 2021; Alhammad et al. (2023)). En futuras investigaciones, se sugiere investigar otros rangos de temperatura (inferiores a 400°C) y concentración (inferior 0.04 g/mL) con el fin de obtener valores reducidos de tamaño de cristal resultante. Un tamaño de cristal bajo es indicativo de una mayor eficacia de las nanopartículas de ZnO en la interacción con las semillas de *Zea mays* (Umar et al. 2020; Srivastav et al. 2021) lo que las convierte en una opción ideal para la mejora de cultivos de *Zea mays* (Mahesh et al.,2022; Vijay et al.,2022).

8.Conclusiones

- Las nanopartículas de óxido de zinc fueron sintetizadas utilizando un método eco amigable en lugar de métodos químicos o físicos convencionales, se obtuvo 4032.9 mg de NPs de ZnO con una longitud de onda máxima de 381 nm, diámetro hidrodinámico 50.2 nm, potencial Z con un valor de -34.7 mV, tamaño de cristalito de 28.4 nm, un difractograma acorde con el ZnO, forma esférica, un

porcentaje atómico de 38.8% de O y 61.2% de Zn y un porcentaje en peso de 13.4% de O y 86.6% de Zn. Además, de acuerdo con el análisis basado en literatura científica, dichas NPs de ZnO demostraron ser adecuadas para la aplicación en cultivos de *Zea mays,* finalmente basado en el balance de costos el potencial agrícola y la rentabilidad de la producción de NPs presentaría un incremento cuando se realice el escalamiento industrial del proceso.

- Las condiciones adecuadas para la síntesis de NPs de ZnO fueron 0.08 g de nitrato de zinc hexahidratado por cada mL de extracto de *Gentianella Tristicha* y 600°C de temperatura de calcinación.
- De las caracterizaciones de las síntesis HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE08, HE09 se concluyó que se obtuvo mayor cantidad resultante de NPs de ZnO resultante cuando se incrementó concentración de nitrato de zinc hexahidratado empleado en la síntesis, las longitudes de onda en el rango UV donde se presentó la máxima absorbancia de las NPs estuvo en el rango de 363 nm a 381.7nm, el potencial Z (-mV) y el tamaño de cristalito se incrementaron a medida que se elevó la temperatura de calcinación y la concentración del nitrato de zinc, en las imágenes de la caracterización SEM se identificó el ZnO a escala nanométrica de forma esférica y crecimiento hexagonal. En cuando a las caracterizaciones por DLS y EDS, los ensayos no permitieron ver una tendencia directa, pero estos se encuentran plasmados en la sección 5.10 y 5.14.
- Considerando el tipo de suplementación “Cebado de semillas”, la cantidad y costo estimado para suplementar y mejorar el rendimiento en cultivos de *Zea mays* fue

de 16.5 g de NPs de ZnO y S/80.00 por cada hectárea respectivamente en función al costo calculado en esta investigación.

9.Recomendaciones

- Ampliar estudios en donde se incremente el rango de concentración de la sal precursora $[Zn(NO_3)_2].6H_2O$ en el extracto de *Gentianella tristicha*, con el fin de determinar el punto estequiométrico de la reacción.
- Realizar la etapa de calcinación con sumo cuidado, pues el polvo de nanopartículas presenta un peso ínfimo y se podría derramar la muestra.
- Ampliar estudios de síntesis de NPs de ZnO donde la cantidad del extracto de *Gentianella tristicha* sea un factor, con el fin de evaluar el impacto del extracto de *Gentianella tristicha* como agente reductor.
- Del punto anterior, evaluar la cantidad de compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante de dichos extractos para evaluar la influencia de las propiedades antioxidantes en la síntesis de NPs de ZnO.
- Inmediatamente luego que se cumplió el tiempo de calcinación de la muestra, transferir el crisol a un desecador cerrado herméticamente, puesto que el óxido de zinc es un compuesto higroscópico y puede humedecerse con mucha facilidad.
- En futuras investigaciones, realizar un escalamiento del proceso descrito en esta investigación para transformarlo de una síntesis de laboratorio a un proceso de escala industrial; finalmente, analizar su rentabilidad.

10. Referencias

Abbireddy, C. O., & Clayton, C. R. (2009). A review of modern particle sizing methods. *Proceedings of the Institution of Civil Engineers-Geotechnical Engineering*, *162*(4), 193-201.

Acosta de la Luz, L. (2005). Cultivo de plantas medicinales, su producción agroecológica. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 10(3-4) Recuperado en 20 de mayo de 2020, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962005000300001&lng=es&tlng=es

Acosta Humánez, M. F (2022). *Nanopartículas de Óxido de Zinc Dopadas con Co, Cr, Fe, Mn y Ni. Propiedades Y Aplicación En La Degradación Fotocatalítica De Compuestos Orgánicos Contaminantes*. [Tesis para optar por el grado de Doctor]. Universidad Nacional de Colombia.

Adhikari, T., Kundu, S., Biswas, A. K., Tarafdar, J. C., & Subba Rao, A. (2015). Characterization of zinc oxide nano particles and their effect on growth of maize (Zea mays L.) plant. *Journal of Plant Nutrition*, *38*(10), 1505-1515.

Agarwal, H., Venkat Kumar, S., & Rajeshkumar, S. (2017). A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles – An eco-friendly approach. Resource-Efficient Technologies, 3(4), 406–413. doi:10.1016/j.reffit.2017.03.002

Ahmad, A., Tola, E., Alshahrani, T. S., & Seleiman, M. F. (2023). Enhancement of morphological and physiological performance of Zea mays L. under saline stress using ZnO nanoparticles and 24-Epibrassinolide seed priming. *Agronomy*, *13*(3), 771.

Ahmad, W., Watts, M. J., Imtiaz, M., Ahmed, I., & Zia, M. H. (2012). Zinc deficiency in soils, crops and humans: a review. *Agrochimica*, *56*(2), 65-97.

Alhammad, B. A., Ahmad, A., Seleiman, M. F., & Tola, E. (2023). Seed priming with nanoparticles and 24-epibrassinolide improved seed germination and enzymatic performance of Zea mays L. in salt-stressed soil. *Plants*, *12*(4), 690.

Alloway, B. J. (2009). Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environmental geochemistry and health*, *31*(5), 537-548.

Almendros García, P., Rico Selas, M. I., López Valdivia, L. M., & Álvarez Álvarez, J. M. (2008). Deficiencia de zinc en los cultivos y correctores de carencia del micronutriente. *Vida Rural*, *19*(280), 12-16.

Ameh, E. S. (2019). A review of basic crystallography and x-ray diffraction applications. *The international journal of advanced manufacturing technology*, *105*(7), 3289-3302.

Anžlovar, A., Kogej, K., Orel, Z. C., & Žigon, M. (2014). Impact of inorganic hydroxides on ZnO nanoparticle formation and morphology. *Crystal Growth & Design*, *14*(9), 4262-4269.

Aquino,P. (2016). Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de zinc obtenidas por el método de precipitación para su aplicación en pintura esmalte commercial. [Tesis de título profesional de Químico, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Cybertesis unmsm

Armando-Romero C. & Moreyra-Muñoz,J.C. Ministerio de Agricultura y Riego. (2020). *Observatorio de commodities*. Boletín de publicación trimestral (enero-marzo). Gobierno del Perú.

Ashkarran, A. A., Mahdavi, S. M., & Ahadian, M. M. (2009). ZnO nanoparticles prepared by electrical arc discharge method in water. *Materials Chemistry and Physics*, *118*(1), 6-8.

Avinash C. Pandey, Sharda S. Sanjay & Raghvendra S. Yadav (2010) Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of Cicer arietinum , *Journal of Experimental Nanoscience*, 5:6, 488-497, DOI: 10.1080/17458081003649648

Awan, S., Shahzadi, K., Javad, S., Tariq, A., Ahmad, A., & Ilyas, S. (2021). A preliminary study of influence of zinc oxide nanoparticles on growth parameters of Brassica oleracea var italic. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *20*(1), 18-24.

Awwad,A. Mohammad,W. Salem,N & Abdennn,A.(2019). Green synthesis of zinc nanoparticles (ZnO- NPs) using *Ailanthus altissima* fruits extract and antibacterial activity. *Chemistry International* 6(3) , 151-159. https://doi.org/10.5281/zenodo.3559520

Azizi, S., Ahmad, M. B., Namvar, F., & Mohamad, R. (2014). *Green biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using brown marine macroalga Sargassum muticum aqueous extract. Materials Letters, 116, 275–277.* doi:10.1016/j.matlet.2013.11.038

Ba-Abbad, M. M., Kadhum, A. A. H., Mohamad, A. B., Takriff, M. S., & Sopian, K. (2013). The effect of process parameters on the size of ZnO nanoparticles synthesized via the sol–gel technique. *Journal of Alloys and Compounds*, *550*, 63-70.

Bala, N., Saha, S., Chakraborty, M., Maiti, M., Das, S., Basu, R., & Nandy, P. (2015). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Hibiscus subdariffa leaf extract: effect of temperature on synthesis, anti-bacterial activity and anti-diabetic activity. *RSC Advances*, *5*(7), 4993-5003.

Bandeira, M., Giovanela, M., Roesch-Ely, M., Devine, D. M., & da Silva Crespo, J. (2020). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: A review of the synthesis methodology and mechanism of formation. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 15, 100223. doi:10.1016/j.scp.2020.100223

Barbieri, P., Sainz Rozas, H. R., Echeverria, H. E., Salvagiotti, F., Barbagelata, P. A., Barraco,M., Colazo, J.C., Ferraris, G. Sánchez, H. Cáceres, R, Reussi,N. Esposito, G. Eyherabide, M.& Larsen, B. (2015). ¿El análisis de suelo permite diagnosticar la deficiencia de zinc en el cultivo de maíz?.

Barzinjy, A. A., & Azeez, H. H. (2020). Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using Eucalyptus globulus Labill. leaf extract and zinc nitrate hexahydrate salt. *SN Applied Sciences*, *2*(5), 1-14.

Basnet, P., Inakhunbi Chanu, T., Samanta, D., & Chatterjee, S. (2018). A review on bio-synthesized zinc oxide nanoparticles using plant extracts as reductants and stabilizing agents. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 183, 201–221. doi:10.1016/j.jphotobiol.2018.04.036

Betancur-Henao, C.P., Hernández-Montes, V., & Buitrago-Sierra, R. (2016). Nanopartículas para materiales antibacterianos y aplicaciones del dióxido de titanio. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 35(4), 387-402. Recuperado en 28 de abril de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002016000400009&lng=es&tlng=es.

Bhattacharjee, S. (2016). *DLS and zeta potential – What they are and what they are not? Journal of Controlled Release, 235, 337–351.* doi:10.1016/j.jconrel.2016.06.017

Bhuyan, T., Mishra, K., Khanuja, M., Prasad, R., & Varma, A. (2015). *Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles from Azadirachta indica for antibacterial and photocatalytic applications. Materials Science in Semiconductor Processing, 32, 55–61.* doi:10.1016/j.mssp.2014.12.053

Botello, L. Garza,M. Gómez,I. Hinojosa,M. (2007). Biosíntesis de nanopartículas de ZnS utilizando cepas de hongos. *Ingenierías.* 10(37).

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C.(1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Sci Technol*. 28 (1): 25-30.

Bunaciu, A. A., UdriŞTioiu, E. G., & Aboul-Enein, H. Y. (2015). X-ray diffraction: instrumentation and applications. Critical reviews in analytical chemistry, 45(4), 289-299.

Carbonel Villanueva, K. N. (2017). Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de Gentianella nitida en un modelo experimental inducido por paracetamol.[Tesis para optar por el grado de Magíster Bioquímica]

Carbonel Villanueva, K. N., Suárez Cunza, S., & Arnao Salas, A. I. (2016, October). Características fisicoquímicas y capacidad antioxidante in vitro del extracto de Gentianella nitida. In *Anales de la Facultad de Medicina* (Vol. 77, No. 4, pp. 333-337). UNMSM. Facultad de Medicina.

Carrero, A., Sagredo, V., Pernechele, C., & Larionova, J. (2015). Propiedades estructurales, ópticas y magnéticas del ZnO: Co preparado por el método sol gel autocombustión. *Ciencia*, *22*(3). Recuperado a partir de https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/19802

Castillo, S., & Pringle, J. S. (2018). " Gentianella canoi" SJ Castillo & JS Pringle sp. nov.(" Gentianaceae"), una nueva especie del Perú. In Anales del Jardín Botánico de Madrid (Vol. 75, No. 1, p. 4). Real Jardín Botánico.

Chang, H., & Tsai, M. H. (2008). Synthesis and characterization of ZnO nanoparticles having prism shape by a novel gas condensation process. *Rev. Adv. Mater. Sci*, *18*(2008), 734-743.

Chaudhuri, S. K., & Malodia, L. (2017). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of Calotropis gigantea: characterization and its evaluation on tree seedling growth in nursery stage. *Applied Nanoscience*, *7*(8), 501-512.

Cozzoli, P. D., Curri, M. L., Agostiano, A., Leo, G., & Lomascolo, M. (2003). ZnO nanocrystals by a non-hydrolytic route: synthesis and characterization. *The Journal of Physical Chemistry B*, *107*(20), 4756-4762.

Cruz-Gallegos, J. (2012). Relación flavonoides totales-actividad antidiabética (in vitro por difusión de glucosa) en extracto de *Colubrinaelliptica* (tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos). Universidad Tecnológica de la Mixteca, México.

Davar, F., Majedi, A., & Mirzaei, A. (2015). Green synthesis of ZnO nanoparticles and its application in the degradation of some dyes. *Journal of the American Ceramic Society*, *98*(6), 1739-1746.

Delgado Valverde, D. P. (2020). Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de Gentianella Bicolor "Corpus Huay" en el daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono. [Tesis para optar por el título profesional de químico farmacéutico]

Dobrucka, R., & Długaszewska, J. (2016). Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using Trifolium pratense flower extract. Saudi Journal of Biological Sciences, 23(4), 517–523. doi:10.1016/j.sjbs.2015.05.016

Edinger, J. E., Brady, D. K., & Geyer, J. C. (1974). *Heat exchange and transport in the environment. Report No. 14* (No. NP-2900127). Johns Hopkins Univ., Baltimore, MD (USA). Dept. of Geography and Environmental Engineering.

Elizabath, A., Bahadur, V., Misra, P., Prasad, V. M., & Thomas, T. (2017). Effect of different concentrations of iron oxide and zinc oxide nanoparticles on growth and yield of carrot (Daucus carota L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *6*(4), 1266-1269.

Elumalai, K., & Velmurugan, S. (2015). Green synthesis, characterization and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles from the leaf extract of Azadirachta indica (L.). *Applied Surface Science*, *345*, 329-336.

Eslami, A., Nasseri, S., Yadollahi, B., Mesdaghinia, A., Vaezi, F., Nabizadeh, R., & Nazmara, S. (2008). Photocatalytic degradation of methyltert-butyl ether (MTBE) in contaminated water by ZnO nanoparticles. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 83(11), 1447–1453. doi:10.1002/jctb.1919

Ezealisiji, K. M., Siwe-Noundou, X., Maduelosi, B., Nwachukwu, N., & Krause, R. W. M. (2019). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Solanum torvum (L) leaf extract and evaluation of the toxicological profile of the ZnO nanoparticles–hydrogel composite in Wistar albino rats. *International Nano Letters*, *9*(2), 99-107.

Fakhari, S., Jamzad, M., & Kabiri Fard, H. (2019). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: a comparison. *Green chemistry letters and reviews*, *12*(1), 19-24.

Fewster, P. F. (1993). X-ray diffraction from low-dimensional structures. *Semiconductor science and technology*, *8*(11), 1915.

Flores-Alayo, R. E. (2017). Efecto de la concentración de ácido ascórbico sobre la razón de aspecto y potencial Z de Nanobarras de oro crecidas por ruta química en presencia de dos surfactantes.

Francisco,J. Villanueva,M. Lucho,B. Coronel,C. Hernandez,M & Flores,M. (2017). –biosíntesis de nanopartículas de ZnO con extracto acuoso
de mucílado de *Opuntia Amychlaea*. *Simposio Iberoamericano multidisciplinario de ciencias e ingenierías.* 5(5) 12-18.

Ghorbani, H. R., Mehr, F. P., Pazoki, H., & Rahmani, B. M. (2015). Synthesis of ZnO nanoparticles by precipitation method. *Orient. J. Chem*, *31*(2), 1219-1221.

Gilavand, F., Saki, R., Mirzaei, S. Z., Esmaeil Lashgarian, H., Karkhane, M., & Marzban, A. (2020). Green synthesis of zinc nanoparticles using aqueous extract of Magnoliae officinalis and assessment of its bioactivity potentials. *Biointerface Research in Applied Chemistry*.

Gomez-Palomino E. (2011). Determinar el tipo de valor agregado de la papa y su influencia en los ingresos de los agricultores de Puente Piedra- Huamachuco año 2011. [Tesis para optar por la Licenciatura en Administración, Universidad Nacional de Trujillo]

González-Fernández, J. V., Pinzón-Moreno, D. D., Neciosup-Puican, A. A., & Carranza-Oropeza, M. V. (2022). Green method, optical and structural characterization of ZnO nanoparticles synthesized using leaves extract of M. oleifera. *Journal of Renewable Materials*, *10*(3), 833.

Gowayed, S. (2017). Impact of zinc oxide nanoparticles on germination and antioxidant system of maize (Zea mays L.) seedling under cadmium stress. *Journal of Plant Production Sciences*, *6*(1), 1-11.

Gutierrez, D. Ortiz, C. Mendoza, A .(2008). Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. *Simposio de Metrología (1)* 1. Recuperado

de: https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf

Hassan, A., Mahmoud, M., Bageri, B. S., Aljawad, M. S., Kamal, M. S., Barri, A. A., & Hussein, I. A. (2020). Applications of chelating agents in the upstream oil and gas industry: a review. *Energy & Fuels*, *34*(12), 15593-15613.

Health, Safety and Environment, Occupational Safety Unit UoR. Environmental Health & Safety Occupational Safety Unit 2012.

Helaly, M. N., El-Metwally, M. A., El-Hoseiny, H., Omar, S. A., & El-Sheery, N. I. (2014). Effect of nanoparticles on biological contamination of "in vitro" cultures and organogenic regeneration of banana. Australian Journal of Crop Science, 8(4), 612–624. https://search.informit.org/doi/10.3316/informit.292361135647023

Hoo, C. M., Starostin, N., West, P., & Mecartney, M. L. (2008). A comparison of atomic force microscopy (AFM) and dynamic light scattering (DLS) methods to characterize nanoparticle size distributions. *Journal of Nanoparticle Research*, *10*(1), 89-96.

Hosseinpour, A., Haliloglu, K., Tolga Cinisli, K., Ozkan, G., Ozturk, H. I., Pour-Aboughadareh, A., & Poczai, P. (2020). Application of zinc oxide nanoparticles and plant growth promoting bacteria reduces genetic impairment under salt stress in tomato (Solanum lycopersicum L.'Linda'). *Agriculture*, *10*(11), 521.

Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria.(2004). Híbrido Simple INIA-605"Perú".https://www.inia.gob.pe/wp-content/uploads/investigacion/programa/sistProductivo/variedad/maiz-amarillo-duro/INIA_605.pdf

Itroutwar, P. D., Kasivelu, G., Raguraman, V., Malaichamy, K., & Sevathapandian, S. K. (2020). Effects of biogenic zinc oxide nanoparticles on seed germination and seedling vigor of maize (Zea mays). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *29*, 101778.

Jacobsen, D., & McMartin, K. E. (1986). Methanol and ethylene glycol poisonings. Medical toxicology, 1(5), 309-334.

Jamdagni, P., Khatri, P., & Rana, J. S. (2018). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using flower extract of Nyctanthes arbor-tristis and their antifungal activity. *Journal of King Saud University-Science*, *30*(2), 168-175.

Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H., & Kalaskar, M. G. (2019). Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. Journal of Drug Delivery Science and Technology. 53(1), 101174. doi:10.1016/j.jddst.2019.101174

Jensen, S. R., & Schripsema, J. (2002). Chemotaxonomy and pharmacology of Gentianaceae. *Gentianaceae: systematics and natural history. Cambridge University Press, Cambridge*, 573-631.

Kahani, S. A., & Yagini, Z. (2014). A comparison between chemical synthesis magnetite nanoparticles and biosynthesis magnetite. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, *2014*.

Karthik, S., Siva, P., Balu, K. S., Suriyaprabha, R., Rajendran, V., & Maaza, M. (2017). Acalypha indica–mediated green synthesis of ZnO nanostructures under differential thermal treatment: Effect on textile coating, hydrophobicity, UV resistance, and antibacterial activity. *Advanced Powder Technology*, *28*(12), 3184-3194.

Kumar, K. H., Adithya, S., & Savalgi, V. P. (2021). Evaluation of foliar application of zinc nanoparticles on growth and yield parameters of maize (Zea mays L.) grown under greenhouse conditions. *International Journal of Chemical Studies*, *9*(1), 1464-1467.

Laware, S. L., & Raskar, S. (2014). Influence of zinc oxide nanoparticles on growth, flowering and seed productivity in onion. *International Journal of Current Microbiology Science*, *3*(7), 874-881.

Leštan, D., Luo, C. L., & Li, X. D. (2008). The use of chelating agents in the remediation of metal-contaminated soils: a review. *Environmental pollution*, *153*(1), 3-13.

Liu, Y. Y., Schmeltz, I., & Hoffmann, D. (1974). Chemical studies on tobacco smoke. Quantitative analysis of hydrazine in tobacco and cigarette smoke. *Analytical Chemistry*, *46*(7), 885-889.

Loutfy, N., Abou Alhamd, M. F., & Ramadan, R. A. (2022). Effect of seed priming with zinc oxide nanoparticles on growth rate and antioxidant system of maize seedling (Triple-hybrid 321) under salinity stress. *Journal of Environmental Studies*, *28*(1), 14-23.

Lunn, G., Sansone, E. B., & Keefer, L. K. (1983). Reductive destruction of hydrazines as an approach to hazard control. *Environmental Science & Technology*, *17*(4), 240-243.

Mahesh, R. H., Dayal, A., Nasakar, J., & Sharan, E. A. (2022). Effect of particle size and concentration of zinc oxide nanoparticles on growth, yield and yield attributing traits of maize (Zea mays L.).*International journal of novel research and development*. 12(7).

MANTILLA, C. C., Pedraza, J., & LAVERDE, D. (2008). Utilización de estudios de potencial zeta en el desarrollo de un proceso alternativo de flotación de mineral feldespático. *Dyna*, *75*(154), 65-71.

Maruthupandy, M., Zuo, Y., Chen, J.-S., Song, J.-M., Niu, H.-L., Mao, C.-J., … Shen, Y.-H. (2016). Synthesis of metal oxide nanoparticles (CuO and NPs de ZnO) via biological template and their optical sensor applications. Applied Surface Science, 397, 167–174. doi:10.1016/j.apsusc.2016.11.118

Matinise, N., Fuku, X. G., Kaviyarasu, K., Mayedwa, N., & Maaza, M. J. A. S. S. (2017). ZnO nanoparticles via Moringa oleifera green synthesis: Physical properties & mechanism of formation. *Applied Surface Science*, *406*, 339-347.

Mayoral, J. B., Moreno, A. C., & Martínez, E. S. M. (2014). Potencial zeta en la determinación de carga superficial de liposomas. *Latin-American Journal of Physics Education*, *8*(4), 19.

Méndez-Argüello, B., Vera-Reyes, I., Mendoza-Mendoza, E., García-Cerda, L.A., Puente-Urbina, B.A., & Lira-Saldívar, R.H.. (2016). Promoción del crecimiento en plantas de Capsicum annuum por nanopartículas de óxido de zinc. Nova scientia, 8(17), 140-156. Recuperado en 30 de abril de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-07052016000200140&lng=es&tlng=es.

Mertens, M., Höss, S., Neumann, G., Afzal, J., & Reichenbecher, W. (2018). Glyphosate, a chelating agent relevant for ecological risk assessment? Environmental Science and Pollution Research, 25(6), 5298–5317. doi:10.1007/s11356-017-1080-1

Merk.(26 de febrero del 2024). Nanopartículas de Óxido de zinc. Merk. Recuperado el 26 de febrero del 2024. https://www.sigmaaldrich.com/PE/es/product/aldrich/544906

Miri, A., Mahdinejad, N., Ebrahimy, O., Khatami, M., & Sarani, M. (2019). *Zinc oxide nanoparticles: Biosynthesis, characterization, antifungal and cytotoxic activity. Materials Science and Engineering: C, 104, 109981.* doi:10.1016/j.msec.2019.109981

Mohsen Al-Aaraji, H. T., & Al-Rubaye, M. A. (2020). EFFECT OF NANOPARTICLES AND ORDINARY ZINC OXIDE FERTILIZER AND HUMIC ACID ON GROWTH OF MAIZE ZEA MAYS L. *Plant Archives (09725210)*, *20*(1).

Munoz-Bernal, O. Torres-Aguirre, G., Nuñez-Gastelum, J. De la Rosa, L. Rodrigo-García, J. Ayala-Zavala, F. Alvares-Parrila, E. (2017). NUEVO ACERCAMIENTO A LA INTERACCIÓN DEL REACTIVO DE FOLIN-CIOCALTEU CON AZÚCARES DURANTE LA CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, *TIP(20)* 2. Recuperado de: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1405888X17300037

Nagajyothi, P. C., Minh An, T. N., Sreekanth, T. V. M., Lee, J., Joo Lee, D., & Lee, K. D. (2013). *Green route biosynthesis: Characterization and catalytic activity of ZnO nanoparticles. Materials Letters, 108, 160–163.* doi:10.1016/j.matlet.2013.06.095

Naseer, I., Javad, S., Shah, A. A., Tariq, A., & Ahmad, A. Influence Of Phyto-Mediated Zinc Oxide Nanoparticles On Growth Of (Zea Mays L.). *Pak. J. Bot*, *56*, 3.

Nasrollahzadeh, M., & Sajadi, S. M. (2015). Green synthesis of copper nanoparticles using Ginkgo biloba L. leaf extract and their catalytic activity for the Huisgen [3+ 2] cycloaddition of azides and alkynes at room temperature. *Journal of Colloid and Interface Science*, *457*, 141-147.

Nava, O. J., Luque, P. A., Gómez-Gutiérrez, C. M., Vilchis-Nestor, A. R., Castro-Beltrán, A., Mota-González, M. L., & Olivas, A. (2017). Influence of Camellia sinensis extract on Zinc Oxide nanoparticle green synthesis. *Journal of Molecular Structure*, *1134*, 121-125.

Naveed ul Haq, A., Nadhman, A., ullah, I., Mustafa, G., Yasinzai, M., & Khan, I. (2017). Synthesis approaches of zinc oxide nanoparticles: the dilemma of ecotoxicity. *Journal of Nanomaterials*, *2017*.

Ngom,I. Ngom,B. Sackey,J. Khamlich,S. (2020). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using extracts of *Moringa oleifera*: Structural & optical properties. *Materials today*. Recuperado de: hpptps://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.323

Nicomp ® . (2015). DLS data interpretation Nicomp Systems. Advanced materials handling (1).USA.

Nithya, K., & Kalyanasundharam, S. (2019). Effect of chemically synthesis compared to biosynthesized ZnO nanoparticles using aqueous extract of C. halicacabum and their antibacterial activity. *OpenNano*, *4*, 100024.

Noroozi, A. H., Sadeghi, M., Tehrani, A. A., Sarabadani, P., Rajabaifar, S., & Mirzaee, M. (2013). Synthesis and characterization of zinc oxide nano-particles by solid state chemical reaction method. *Journal of Cluster Science*, *24*, 757-770.

Oliveira, A. (2015). Procedimiento Operacional para determinación de actividad antioxidantes, flavonoides totales y compuestos fenólicos totales. Nanofitotec 1(1). Pg 1, 2.

Oviedo, C., & Rodríguez, J. (2003). EDTA: The chelating agent under environmental scrutiny. Química Nova, 26(6), 901–905. doi:10.1590/s0100 40422003000600020

Peceros Giraldo, K. S. (2016). Biocomercio en el Perú: Desarrollo de oferta exportable de productos, con valor agregado, derivados de la biodiversidad nativa. [Tesis para optar por el grado de Licenciada en Administración de Negocios Internacionales, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]

Penagos, J. I. C. (2013). Caracterización de materiales a través de medidas de microscopía electrónica de barrido (SEM). *Elementos*, *3*(3), 133-146.

Petkov, V., Peng, Y., Williams, G., Huang, B., Tomalia, D., & Ren, Y. (2005). Structure of gold nanoparticles suspended in water studied by x-ray diffraction and computer simulations. *Physical review B*, *72*(19), 195402.

Pholnak, C., Sirisathitkul, C., Danworaphong, S., & Harding, D. J. (2013). Sonochemical synthesis of zinc oxide nanoparticles using an ultrasonic homogenizer. *Ferroelectrics*, *455*(1), 15-20.

Pinto, I. S., Neto, I. F., & Soares, H. M. (2014). Biodegradable chelating agents for industrial, domestic, and agricultural applications—a review. *Environmental Science and Pollution Research*, *21*(20), 11893-11906.

Povey, M. J. (2013). ultrasound particle sizing: A review. *Particuology*, *11*(2), 135-147.

Prabhu, Y. T., Rao, K. V., Kumar, V. S. S., & Kumari, B. S. (2013). Synthesis of ZnO nanoparticles by a novel surfactant assisted amine combustion method. *Advances in Nanoparticles*, *2*(01), 45.

Prasad, T. N. V. K. V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K. R.& Pradeep, T. (2012). Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of plant nutrition*, *35*(6), 905-927.

Pringle, J. S. (2012). Two taxonomic innovations in South American Gentianella (Gentianaceae). Novon: A Journal for Botanical Nomenclature, 22(2), 217-219.

Rajendram, R., & Preedy, V. R. (2005). Effect of alcohol consumption on the gut. Digestive Diseases, 23(3-4), 214-221.

Rajendran, S. P., & Sengodan, K. (2017). Synthesis and characterization of zinc oxide and iron oxide nanoparticles using Sesbania grandiflora leaf extract as reducing agent. *Journal of Nanoscience*, *2017*.

Rajeshkumar, S., Kumar, S. V., Ramaiah, A., Agarwal, H., Lakshmi, T., & Roopan, S. M. (2018). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using Mangifera indica leaves and evaluation of their antioxidant and cytotoxic properties in lung cancer (A549)

cells. *Enzyme and microbial technology*, *117*, 91-95. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2018.06.009

Ramos, E. (2018). ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO E IN VIVO DE NANOPARTÍCulAS DE Ag, CuO Y ZnO CONTRA BACTERIAS FITOPATÓGENAS. [Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de Nuevo León]. UANL Repositorio académico digital.

Rana, S. B., Singh, P., Sharma, A. K., Carbonari, A. W., & Dogra, R. (2010). Synthesis and characterization of pure and doped ZnO nanoparticles. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, *12*(2), 257.

Raveendran, P., Fu, J., & Wallen, S. L. (2003). Completely "green" synthesis and stabilization of metal nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, *125*(46), 13940-13941.

Rizwan, M., Ali, S., ur Rehman, M. Z., Adrees, M., Arshad, M., Qayyum, M. F., ... & Imran, M. (2019). Alleviation of cadmium accumulation in maize (Zea mays L.) by foliar spray of zinc oxide nanoparticles and biochar to contaminated soil. *Environmental Pollution*, *248*, 358-367.

Sabir, S., Zahoor, M. A., Waseem, M., Siddique, M. H., Shafique, M., Imran, M., ... & Muzammil, S. (2020). Biosynthesis of ZnO nanoparticles using bacillus subtilis: characterization and nutritive significance for promoting plant growth in Zea mays L. *Dose-Response*, *18*(3), 1559325820958911.

Samy, A., El-Sherbiny, A. E., & Menazea, A. A. (2019). Green synthesis of high impact zinc oxide nanoparticles. *Egyptian Journal of Chemistry*, *62*(The First International Conference on Molecular Modeling and Spectroscopy 19-22 February, 2019), 29-37.

Sangeetha, G., Rajeshwari, S., & Venckatesh, R. (2011). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by aloe barbadensis miller leaf extract: Structure and optical properties. *Materials Research Bulletin*, *46*(12), 2560-2566.

Sanz,A. (2016). *Nanopartículas de óxido de zinc para la mejora de dispositivos de almacenamiento de energía*. [tesis de máster, Universidad Politécnica de Cartagena]. Escuela técnica superior de Ingeniería Industrial.

Seleiman, M. F., Ahmad, A., Alhammad, B. A., & Tola, E. (2023). Exogenous application of zinc oxide nanoparticles improved antioxidants, photosynthetic, and yield traits in salt-stressed maize. *Agronomy*, *13*(10), 2645.

Seleiman, M. F., Alotaibi, M. A., Alhammad, B. A., Alharbi, B. M., Refay, Y., & Badawy, S. A. (2020). Effects of ZnO Nanoparticles and Biochar of Rice Straw and Cow Manure on Characteristics of Contaminated Soil and Sunflower Productivity, Oil Quality, and Heavy Metals Uptake. Agronomy, 10(6), 790. doi:10.3390/agronomy10060790

Selvarajan, E., & Mohanasrinivasan, V. (2013). *Biosynthesis and characterization of ZnO nanoparticles using Lactobacillus plantarum VITES07. Materials Letters, 112, 180 182*. doi:10.1016/j.matlet.2013.09.020

Shamhari,N. Wee,B. Chin,S & Kok,K. Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles with small particle size distribution. (2018). *Acta Chim Slov.* 1(1). 65,578-585. Acta Chim. Slov. 2018, 65, 578–585 DOI: 10.17344/acsi.2018.4213.

Sharmila, G., Muthukumaran, C., Sandiya, K. et al. Biosynthesis, characterization, and antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles derived from Bauhinia tomentosa leaf extract. Journal of Nanostructur e in Chemistry 8, 293–299 (2018). https://doi.org/10.1007/s40097-018-0271-8

Silva, A. F., Burggraeve, A., Denon, Q., Van der Meeren, P., Sandler, N., Van Den Kerkhof, Hellings,M, Vervaet,C, Remon,J, Lopes,J. & De Beer, T. (2013). Particle sizing measurements in pharmaceutical applications: Comparison of in-process methods versus off-line methods. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *85*(3), 1006-1018.

Soares, V. A., Xavier, M. J. S., Rodrigues, E. S., de Oliveira, C. A., Farias, P. M. A., Stingl, A.,& Silva, M. S. (2019). Green synthesis of ZnO nanoparticles using whey as an effective chelating agent. *Materials Letters*, *259*, 126853.

Soni, J., & Koser, A. (2015). Synthesis of ZnO nanoparticle using different concentration of capping agent. *International Journal of Technology Innovations and Research*, *16*, 1-7.

Soto-Gonzales,J.L.;González-Fernández,J.V.;Pinzón-Moreno,D.D.;Vicuña-Galindo,E.C.&Carranza-Oropeza,M.V.(2024).Influence of Hydrogel and Zinc Oxide Nanoparticles on Germination and Establishment of Chenopodium quinoa.*Life,13*(13).www.mdpi.com/journal/life

Srivastav, A., Ganjewala, D., Singhal, R. K., Rajput, V. D., Minkina, T., Voloshina, M, & Shrivastava, M. (2021). Effect of ZnO nanoparticles on growth and biochemical responses of wheat and maize. *Plants*, *10*(12), 2556.

T. F. Scientific, “Espectroscopia de energía dispersiva.” https://www.thermofisher.com/pe/en/home/materials-science/eds-technology.html, 2021. Consultado: (2023-12-12).

Taheri, M., Qarache, H. A., Qarache, A. A., & Yoosefi, M. (2016). The effects of zinc-oxide nanoparticles on growth parameters of corn (SC704). *STEM Fellowship Journal*, *1*(2), 17-20.

Tanner, E. E., Tschulik, K., Tahany, R., Jurkschat, K., Batchelor-McAuley, C., & Compton, R. G. (2015). Nanoparticle capping agent dynamics and electron transfer: polymer-gated oxidation of silver nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*, *119*(32), 18808-18815.

Taurozzi, J. S., Hackley, V. A., & Wiesner, M. R. (2011). ultrasonic dispersion of nanoparticles for environmental, health and safety assessment–issues and recommendations. *Nanotoxicology*, *5*(4), 711-729.

Tayali, N. E., & Bates, C. J. (1990). Particle sizing techniques in multiphase flows: a review. *Flow Measurement and Instrumentation*, *1*(2), 77-105.

Thema, F. T., Manikandan, E., Dhlamini, M. S., & Maaza, M. (2015). Green synthesis of ZnO nanoparticles via Agathosma betulina natural extract. Materials Letters, 161, 124–127. doi:10.1016/j.matlet.2015.08.052

Thi,T. Nguyen,T. THi,Y. Thi,K. Phan,B. Pham,K. (2020). Green synthesis of ZnO nanoparticles using orange fruit peel extract for antibacterial activities. *The Royal Society of Chemistry.* 10(1) 23899-23907. Recuperado de 10.1039/d0ra04926c.

Thunugunta, T., Channa Reddy, A., Kodthalu Seetharamaiah, S., Ramanna Hunashikatti, L., Gowdra Chandrappa, S., Cherukatu Kalathil, N., & Dhoranapalli Chinnappa Reddy, L. R. (2018). Impact of zinc oxide nanoparticles on eggplant (*S. melongena*): studies on growth and the accumulation of nanoparticles. *IET nanobiotechnology*, *12*(6), 706-713.

Tiwari, P. K. (2017). Effect of zinc oxide nanoparticles on germination, growth and yield of maize (Zea mays L.). *AAU, Anand*.

Tomita, S., Burian, A., Dore, J. C., LeBolloch, D., Fujii, M., & Hayashi, S. (2002). Diamond nanoparticles to carbon onions transformation: X-ray diffraction studies. *Carbon*, *40*(9), 1469-1474.

Tondey, M., Kalia, A., Singh, A., Dheri, G. S., Taggar, M. S., Nepovimova, E., ... & Kuca, K. (2021). Seed priming and coating by nano-scale zinc oxide particles improved vegetative growth, yield and quality of fodder maize (Zea mays). *Agronomy*, *11*(4), 729.

Torres M. (2023) .*Montaje de un sistema de magnetron sputtering de caras opuestas para la producción de películas delgadas de Hidroxiapatita.* [Tesis para optar por el grado de Licenciado en Física]. Universidad Nacional mayor de San Marcos.

Uma, V., Jayadeva, H. M., Rehaman, H. A., Kadalli, G. G., & Umashankar, N. (2019). Influence of nano zinc oxide on yield and economics of maize (Zea mays L.). *Mysore J Agric Sci*, *53*(4), 44-8.

Umar, W., Hameed, M. K., Aziz, T., Maqsood, M. A., Bilal, H. M., & Rasheed, N. (2021). Synthesis, characterization and application of ZnO nanoparticles for improved growth and Zn biofortification in maize. *Archives of Agronomy and Soil Science*, *67*(9), 1164-1176.

Us Research Nanomaterials, Inc. (2024). https://www.us-nano.com/inc/sdetail/354

Valenzuela-Bustamante, Paula. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de diferentes genotipos de *ugnimolinaeturcz* (Memoria de Título de Químico Farmacéutico). 2015. Universidad de Chile, Chile.

Vanathi, P., Rajiv, P., Narendhran, S., Rajeshwari, S., Rahman, P. K. S. M., & Venckatesh, R. (2014). *Biosynthesis and characterization of phyto mediated zinc oxide nanoparticles: A green chemistry approach. Materials Letters, 134, 13–15.* doi:10.1016/j.matlet.2014.07.029

Vanathi,P. Rajiv,P. Naredhram,S. Rajeshwari,S. Rahman,P & Venkatesh,R. (2014). Biosyntesis a nd caracterization of phyto mediated zinc oxide nanoparticle: Agreen chemistry approach. *Material letters.* 1(1), pag 1-7. Recuperado de: http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2014.07.029

Vasquez Huaman, M. A. (2018). Polifenoles y actividad antioxidante del extracto etanólico de Gentianella dianthoides (Kunth) Fabris y elaboración de una crema dermocosmética.[Tesis para obtar por el grado de Magister en Ciencias Famacéuticas con mención en Ciencia y tecnología cosmética, Universidad Nacional Maroy de San Marcos]

Vásquez, M. A., Castro, A., & Ramos, N. (2017). Composición química, polifenoles y actividad antioxidante del extracto etanólico de Gentianella dianthoides (kunth) fabris. *Científica*, *14*(2), 19-27.

Veiga, M., Costa, E. M., Silva, S., & Pintado, M. (2018). Impact of plant extracts upon human health: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1–14. doi:10.1080/10408398.2018.1540969

Veobides-Amador, H., Guridi-Izquierdo, F., & Vázquez-Padrón, V. (2018). Las sustancias húmicas como bioestimulantes de plantas bajo condiciones de estrés ambiental. *Cultivos tropicales*, *39*(4), 102-109.

Vera, J., Herrera, W., Hermosilla, E., Díaz, M., Parada, J., Seabra, A. B., Tortella G., Pesenti H., Ciudad G., & Rubilar, O. (2023). Antioxidant Activity as an Indicator of the Efficiency of Plant Extract-Mediated Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles. *Antioxidants*, *12*(4), 784.

Vijay, F. V. (2022). Effect of zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) on yield attributes and yield of hybrid maize (Zea mays L.).*The Pharma innovation journal.* 11(8):225-228.

Vijayakumar, S., Mahadevan, S., Arulmozhi, P., Sriram, S., & Praseetha, P. K. (2018). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Atalantia monophylla leaf extracts: Characterization and antimicrobial analysis. *Materials Science in Semiconductor Processing*, *82*, 39-45.

Walter, D. (2017). Algunos aportes a la etnobotánica en la Cordillera Blanca (Sierra de Ancash). Indiana, 34(1), 149-176.

Wang, Z., Zhang, H., Zhang, L., Yuan, J., Yan, S., & Wang, C. (2002). Low-temperature synthesis of ZnO nanoparticles by solid-state pyrolytic reaction. *Nanotechnology, 14*(1), 11–15. doi:10.1088/0957-4484/14/1/303

Wen, J., Hu, Y., Zhu, K., Li, Y., & Song, J. (2014). High-temperature-mixing hydrothermal synthesis of ZnO nanocrystals with wide growth window. *Current Applied Physics*, *14*(3), 359-365.

Wojnarowicz, J., Chudoba, T., Koltsov, I., Gierlotka, S., Dworakowska, S., & Lojkowski, W. (2018). Size control mechanism of ZnO nanoparticles obtained in microwave solvothermal synthesis. *Nanotechnology*, *29*(6), 065601.

Yedurkar, S., Maurya, C., & Mahanwar, P. (2016). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using ixora coccinea leaf extract—a green approach. *Open Journal of Synthesis Theory and Applications*, *5*(1), 1-14.

Yoval, L. S., Palacios, L. M., Soberanis, M. P., & Guzmán, L. O. S. (2013). Potencial zeta como una herramienta para determinar la aglomeración de las partículas en la reducción del volumen del lodo a disponer. *Instituto Mexicano de tecnología del Agua. Disponível em www. bvsde. paho. org/bvsaidis/tratagua/mexicona*.

Zak, A. K., Abd Majid, W. H., Wang, H. Z., Yousefi, R., Golsheikh, A. M., & Ren, Z. F. (2013). Sonochemical synthesis of hierarchical ZnO nanostructures. *ultrasonics sonochemistry*, *20*(1), 395-400.

Zare, E., Pourseyedi, S., Khatami, M., & Darezereshki, E. (2017). *Simple biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using nature's source, and it's in vitro bio-activity. Journal of Molecular Structure, 1146, 96 103.* doi:10.1016/j.molstruc.2017.05.118

Zha, Y., Zhao, B., & Niu, T. (2022). Bamboo Biochar and Zinc Oxide Nanoparticles Improved the Growth of Maize (Zea mays L.) and Decreased Cadmium Uptake in Cd-Contaminated Soil. *Agriculture*, *12*(9), 1507.

Zhao, L., Ji, Y., Sun, P., Deng, J., Wang, H., & Yang, Y. (2019). Effects of individual and combined zinc oxide nanoparticle, norfloxacin, and sulfamethazine contamination on sludge anaerobic digestion. *Bioresource technology*, *273*, 454-461.

Zhou, Z., Son, J., Harper, B., Zhou, Z., & Harper, S. (2015). Influence of surface chemical properties on the toxicity of engineered zinc oxide nanoparticles to embryonic zebrafish. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, *6*(1), 1568-1579.

11. Anexo

11.1 Constancia de autenticidad de la planta

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

C O N S T A N C I A Nº023-USM-MHN-2022

EL JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta fértil), recibida de **Fatimah Nery JACINTO RODRIGUEZ,** estudiantes de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; sido estudiada y clasificada como: ***Gentianella tristicha*** (Gilg.) J.S. Pringle; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Clasificación de Clasificación de APG IV (2016):

ORDEN: GENTIANALES

FAMILIA: GENTIANACEAE

GENERO: ***Gentianella***

ESPECIE: ***Gentianella tristicha*** (Gilg.) J.S. Pringle.

Nombre vulgar: "hercampuri", japanshaco (muestra B)
Determinado por: Mag. Susy J. Castillo R.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 18 de abril de 2022

UNMSM Firmado digitalmente por CANO ECHEVARRIA Asuncion Alipio FAU 20148092282 soft. Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 18.04.2022 13:25:00 -05:00

Dr. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA
JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

11.2 Precios de materiales

Material	Link de compra
Tina de plástico	https://spanish.alibaba.com/product-detail/Plastic-50043411916.html?spm=a2700.8699010.29.21.4365709fMwb54i
Colador de plástico	https://spanish.alibaba.com/p-detail/100Italian-1600453798756.html?spm=a2700.galleryofferlist.p_offer.d_image.76344d189dyfe1&s=p
Bandeja de metal	https://spanish.alibaba.com/p-detail/Restaurant-1600854652595.html?spm=a2700.galleryofferlist.topad_classic.d_image.4b3f55beMWrku5
Vaso precipitado 1000 mL	https://spanish.alibaba.com/product-detail/10ml-1600915023256.html?spm=a2700.7724857.0.0.35cd5cf66cfGWh
Agitador magnético	https://spanish.alibaba.com/p-detail/Laboratory-1600875043726.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.4f6f7c14aR4z83
Botella de cristal oscuro (250 mL)	https://spanish.alibaba.com/p-detail/100ml-1600596178199.html?spm=a2700.galleryofferlist.p_offer.d_image.536c5ad1OYwNXn&s=p
Vaso precipitado 50 mL	https://spanish.alibaba.com/p-detail/100ml-1600596178199.html?spm=a2700.galleryofferlist.p_offer.d_image.536c5ad1OYwNXn&s=p
Crisol de porcelana	https://spanish.alibaba.com/p-detail/Ceramic-60810185362.html?spm=a2700.galleryofferlist.topad_classic.d_image.2bfc1771pO81Mw
Vial oscuro con tapa	https://spanish.alibaba.com/p-detail/Essential-1600316910522.html?spm=a2700.details.0.0.54a0a9f4pixxnM
Espátula de metal	https://spanish.alibaba.com/p-detail/Lab-60043189089.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.2329112aZlfw8x
Matraz kitasato	https://spanish.alibaba.com/p-detail/Lab-1600754635331.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.6ab0dad1JcVspz
Embudo para matraz	https://spanish.alibaba.com/p-detail/100mm-1600666031426.html?spm=a2700.galleryofferlist.p_offer.d_image.667b69394n8x82&s=p
Bolsa con cierre hermético	https://spanish.alibaba.com/p-detail/Transparent-1600965922432.html?spm=a2700.galleryofferlist.p_offer.d_image.77eb7432B60sA2&s=p
Nitrato de Zinc hexahidratado	https://www.spectrumchemical.com/zinc-nitrate-crystal-reagent-z1075
Papel filtro	https://spanish.alibaba.com/p-detail/New-60527314978.html?spm=a2700.galleryofferlist.p_offer.d_image.78486a31KVMqsp&s=p