



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**Síntesis y caracterización de nanocompositos a partir de nanopartículas de plata
con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis* L.).**

Villarreal Estévez, Misshell Noemí

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del título de Ingeniera
Biotecnóloga

Ing. Izquierdo Romero, Andrés Ricardo Ph.D.

25 de agosto de 2023

Copyleaks

Plagiarism report

PUIC Antiplagio Villarreal Misshell.do...

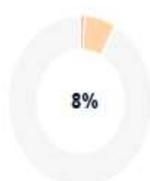
Scan details

Scan time: September 4th, 2023 at 20:37 UTC

Total Pages: 28

Total Words: 6889

Plagiarism Detection



Types of plagiarism	Words
Identical	0.9% 59
Minor Changes	0.1% 9
Paraphrased	7% 480
Omitted Words	0% 0

AI Content Detection



Text coverage

- AI text
- Human text

Plagiarism Results: (17)

- TESIS - VANESSA ESCOBAR FALCONÍ.pdf?sequence=1** 2.7%

<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/9933...>

toshiba

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS Síntesis y...
- Documento sin título** 1.6%

<https://lagranja.ups.edu.ec/index.php/granja/article/downloa...>

ARTICULO CIENTIFICO ELABORACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA SINTETIZADAS A PARTIR DE EXTRACTO DE HOJAS DE R...
- ELABORACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA SINT...** 1.6%

<https://www.redalyc.org/journal/4760/476070058004/movil/>

La Granja. Revista de Ciencias de la VidaLa GranjaUniversidad Politécnica Salesiana ELABORACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA SINTETIZ...





Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: :“Síntesis y caracterización de nanocompositos a partir de nanopartículas de plata con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis* L.)” fue realizado por la señorita Villarreal Estévez, Misshell Noemí el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 14 de septiembre del 2023



Msc. Izquierdo Romero, Andrés Ricardo Ph.D.

C. I. 1714479506



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Yo **Villarreal Estévez, Misshell Noemí** con cédula de ciudadanía n°1724972474, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: "**Síntesis y caracterización de nanocompositos a partir de nanopartículas de plata con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis* L.)**" es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 14 de septiembre del 2023



Villarreal Estévez, Misshell Noemí

C. I. 1724972474



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo **Villarreal Estévez, Misshell Noemí** con cédula de ciudadanía n°1724972474, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **"Síntesis y caracterización de nanocompositos a partir de nanopartículas de plata con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis* L.)"** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 14 de septiembre del 2023



.....
Villarreal Estévez, Misshell Noemí

C. I. 1724972474

Dedicatoria

A DIOS por darme la fuerza para seguir este camino con sabiduría, inspiración y salud para terminar con esta meta de obtener la ingeniería, afrontando las adversidades de la vida.

El trabajo realizado va dedicado especialmente a mis padres por el apoyo incondicional que me han brindado durante la carrera y en todos los momentos de mi vida respetando mis decisiones e inculcando valores siendo una fuente de inspiración a seguir, por ustedes pude llegar hasta aquí y cumplir uno de mis sueños, es un orgullo y privilegio ser su hija, son los mejores padres.

A mi hermana por ser el pilar fundamental para salir adelante, la cual siempre me ayudado a cumplir mi objetivo y estar en este momento de mi vida, te dedico el esfuerzo, dedicación de estos años porque sin ti no lo hubiera logrado, te quiero con toda el alma porque con el corazón no es suficiente.

A mis abuelitos por estar presentes en cada etapa de mi vida motivándome a salir adelante con sus enseñanzas quienes con sus palabras de aliento me han dado la fuerza para salir adelante contando con su apoyo en las buenas y en las malas.

A mi novio por ser esa persona especial que llego a mi vida con la que he pasado los mejores momentos, siendo una motivación para afrontar el destino ayudándome a crecer profesionalmente y por permitirme aprender más de la vida a su lado.

Agradecimiento

Al Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT) de la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE que me brindaron un espacio con el uso de reactivos y equipos necesarios para realizar el trabajo.

A mi mejor amigo Jonathan por la ayuda brindada en los primeros semestres para lograr alcanzar la meta con resultados satisfactorios.

A las ingenieras Carina Stael y Geovana Arroyo que, con su apoyo y aportación de conocimientos ayudaron a la formación profesional.

A mi amigo Danilo por ser una ayuda en este proceso del desarrollo de este trabajo y brindar su amistad durante todo este tiempo.

Índice de contenidos

Portada.....	1
Informe antiplagio	2
Certificado docente.....	3
Autorización de publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimiento.....	7
Índice de contenidos.....	8
Índice de Tablas.....	12
Índice de figuras	13
Lista de abreviaturas.....	15
Resumen	16
Abstract	17
Capítulo I: Introducción	18
Planteamiento del problema.....	18
Justificación del problema	20
Objetivo general	21
Objetivos específicos	21
Hipótesis	21
Capítulo II: Marco teórico.....	22
Muestra vegetal.....	22
<i>Romero (Rosmarinus officinalis L)</i>	22
<i>Extracto</i>	22

<i>Extracto de romero (Rosmarinus officinalis L)</i>	23
<i>Aceites esenciales</i>	23
<i>Aceites esenciales de romero (Rosmarinus officinalis L)</i>	24
Nanopartículas	25
<i>Nanopartículas de plata</i>	26
Nanocompositos	28
Métodos de caracterización.....	28
<i>Espectroscopía ultravioleta – visible (UV-vis)</i>	28
<i>Dispersión de luz dinámica (DLS)</i>	29
Capítulo III: Metodología.....	30
Obtención de extracto de Romero (<i>Rosmarinus officinalis L.</i>)	30
Extracción de aceites esenciales de romero (<i>Rosmarinus officinalis L.</i>).....	31
Síntesis de nanopartículas de plata.....	32
Síntesis de Nanocompositos de romero	32
Caracterización de nanopartículas de plata y nanocompositos	32
<i>Espectroscopia ultravioleta-visible</i>	32
<i>Dispersión de Luz Dinámica (DLS)</i>	32
<i>Microscopia electrónica de transmisión (TEM)</i>	33
Análisis Estadístico	34
<i>Síntesis de nanocompositos</i>	34
<i>Variable de respuesta</i>	35
<i>Factores controlables</i>	35
<i>Factores no controlables</i>	36

	10
Capítulo IV: Resultados	37
Obtención del extracto de romero	37
Aceite esencial de romero	39
Síntesis de Nanopartículas de plata (AgNPs).....	40
<i>Caracterización de las nanopartículas de plata con espectroscopia UV-Vis</i>	40
<i>Caracterización de nanopartículas de plata por Dispersión de Luz Dinámica (DLS).</i>	42
<i>Microscopia electrónica de transmisión (TEM)</i>	44
Síntesis de Nanocompositos de plata con aceite esencial de romero	45
<i>Caracterización de nanocompositos con espectroscopia UV-Vis</i>	45
<i>Caracterización de Nanocompositos con aceite esencial de romero por Dispersión de Luz Dinámica (DLS).</i>	48
<i>Microscopia electrónica de transmisión (TEM)</i>	52
Diseño experimental.....	52
<i>Análisis de la varianza</i>	54
<i>Inferencia basada en una muestra</i>	56
Supuesto de homogeneidad u homocedasticidad	56
<i>Análisis de Levene</i>	57
Capítulo V: Discusión.....	58
Extracción del extracto de romero	58
Extracción de aceites esenciales.....	59
Síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs)	59
Síntesis de nanocompositos.....	60
Capítulo VI: Conclusiones.....	62

Capítulo VII: Recomendaciones.....	64
Capítulo VIII: Bibliografía	65

Índice de Tablas

Tabla 1. Compuestos químicos presentes en el romero.	24
Tabla 2. Análisis del volumen de extracto vs aceite de romero.	35
Tabla 3. Variables que intervienen en el diseño experimental.....	35
Tabla 4. Características físicas del extracto de romero.....	37
Tabla 5. Parámetros del aceite de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	39
Tabla 6. Datos del tamaño de las nanopartículas de plata (AgNPs).	42
Tabla 7. Datos del tamaño de las nanocompositos de plata (AgNPs) con aceite esencial de romero.	49
Tabla 8. Tabla de contingencia de promedios volumen de extracto y aceite de romero.	53

Índice de figuras

Figura 1. Compuestos activos encontrados en la planta de Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	25
Figura 2. Esquema representativo de la síntesis de nanopartículas (Nanoparticle synthesis technique).	27
Figura 3. Representación esquemática de la síntesis de nanopartículas de plata.....	27
Figura 4. Obtención de extracto de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	30
Figura 5. Extracción de aceite de romero por la técnica de arrastre a vapor.	31
Figura 6. Proceso de síntesis y caracterización de nanopartículas de plata (AgNPs). 33	
Figura 7. Proceso de síntesis y caracterización de nanocompositos (NCs).....	34
Figura 8. Obtención del extracto de romero.	37
Figura 9. Caracterización del extracto de romero en el equipo UV-vis.....	38
Figura 10. Aceite esencial de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	39
Figura 11. Caracterización AgNPs en el equipo de espectroscopia UV-vis.....	40
Figura 12. Caracterización AgNPs en el equipo de espectroscopia UV-vis.	41
Figura 13. Caracterización AgNPs en el equipo de espectroscopia UV-vis.	41
Figura 14. Caracterización de AgNPs con volumen de extracto 0.5mL en el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS).....	43
Figura 15. Caracterización de AgNPs con 2mL de extracto de romero en el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS).....	44
Figura 16. Nanopartículas de plata (AgNPs) visualizadas en TEM.....	44
Figura 17. Síntesis de nanocompositos de AgNPs con aceite esencial de romero.	45
Figura 18. Caracterización de Nanocompositos con AgNPs al 0.5 de extracto y 1uL de aceite de romero en el equipo de espectroscopia UV-vis.....	45
Figura 19. Caracterización de Nanocompositos con AgNPs al 0.5mL de extracto y 2uL de aceite de romero en el equipo de espectroscopia UV-vis.	46
Figura 20. Caracterización de Nanocompositos con AgNPs al 2mL de extracto y 1uL de aceite de romero en el equipo de espectroscopia UV-vis.	47

Figura 21. Caracterización de Nanocompositos con AgNPs al 2mL de extracto y 2uL de aceite de romero en el equipo de espectroscopia UV-vis.	48
Figura 22. Caracterización de nanocompositos a partir de AgNPs con 0.5mL de extracto y 1uL de aceite de romero en el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS).	50
Figura 23. Caracterización de nanocompositos a partir de AgNPs con 0.5mL de extracto y 1uL de aceite de romero en el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS).	50
Figura 24. Caracterización de nanocompositos a partir de AgNPs con 2mL de extracto y 1uL de aceite de romero en el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS).....	51
Figura 25. Caracterización de nanocompositos a partir de AgNPs con 2mL de extracto y 2uL de aceite de romero en el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS).....	51
Figura 26. Nanocompositos (NCs) visualizadas en TEM.....	52
Figura 27. Gráfica de interacción volumen de extracto de romero vs volumen de aceite esencial de romero.....	53
Figura 28. Gráfica de interacción volumen de aceite vs volumen de extracto de romero.....	54
Figura 29. Gráfica de normalidad de los residuos Q-Qplot.....	56
Figura 30. Diagrama de dispersión de los residuos vs los predichos.	57

Lista de abreviaturas

NPs	Nanopartículas
AgNPs	Nanopartículas de plata
NCs	Nanocompositos
mL	Mililitros
g	Gramos
mg	Miligramos
m	Metros
°C	Grados centígrados
uL	Microlitros
UV-vis	Espectroscopia
CENCINAT	Centro de Investigación de Nanociencia y Nanotecnología
L	Litro
nm	Nanómetros
DLS	Dispersión de Luz Dinámica
TEM	Microscopia electrónica de transmisión

Resumen

La nanotecnología es una ciencia encargada de obtener nuevos productos que sirvan para la remediación de problemas abarcando distintas áreas de la ciencia consiguiendo alternativas para obtener un bienestar tanto para la humanidad como para el medio ambiente, con la utilización de recursos renovables sin generar residuos tóxicos por la eliminación del uso de químicos; esto se consigue gracias a la creación de nanopartículas que poseen tamaños reducidos entre 1 a 100nm; y cuando se encapsula una nanopartícula se logra crear un nanocomposito con un tamaño hasta 300nm, presentando una notable actividad biológica con efectos antibacterianos, antifúngicos e insecticidas; por lo cual la obtención de nanopartículas de plata por síntesis verde a partir de extractos naturales como el romero, utilizado como agente reductor en la formación del nanomaterial ayuda a combinar las diferentes propiedades del metal como del extracto para aplicaciones futuras.

Este estudio es la primera etapa del proyecto logrando encontrar la síntesis verde de nanocompositos con nanopartículas de plata y aceite esencial de romero que se adhiere al metal para formar el nanocompuesto que ayuda con la liberación de los principios activos de manera directa, se realizó un diseño experimental factorial 2x2; el cual depende de la cantidad de extracto (0.5 y 2mL) y aceite esencial de romero (1 y 2uL); utilizado que puede influir en el tamaño, este diseño presenta 4 tratamientos o combinaciones con 5 repeticiones que fueron caracterizadas mediante las técnicas de espectroscopia UV-visible y Dispersión de Luz Dinámica (DLS).

Se concluye que para obtener un menor tamaño de nanocompuestos se debe utilizar la menor cantidad de extracto y aceite de romero teniendo datos significativos en el tamaño, sin embargo, el volumen de aceite no representa un incremento mayoritario como con el volumen de extracto de romero.

Palabras clave: Extracto, nanopartículas de plata, aceite, nanocompositos.

Abstract

Nanotechnology is a science dedicated to developing new products for addressing problems across various scientific domains, providing alternatives to enhance well-being for both humanity and the environment. This is achieved by employing renewable resources and eliminating the generation of toxic waste through the avoidance of chemical use. This is made possible through the creation of nanoparticles, which have reduced sizes ranging from 1 to 100 nm. When a nanoparticle is encapsulated, it leads to the formation of a nanocomposite with a size of up to 300 nm, exhibiting significant biological activity with antibacterial, antifungal, and insecticidal effects. Consequently, the production of silver nanoparticles through green synthesis, using natural extracts such as rosemary as a reducing agent, demonstrates potential for combining the unique properties of the metal and the extract in future applications.

This study represents the initial phase of the project, successfully achieving the green synthesis of nanocomposites containing silver nanoparticles and rosemary essential oil. The nanocomposites, formed by bonding the oil to the metal, facilitate the direct release of active ingredients. An experimental factorial 2x2 design was employed, varying the amount of extract (0.5 and 2 mL) and rosemary essential oil (1 and 2 μ L) to potentially impact the size. This design comprises four treatment combinations, each replicated five times. The nanocomposites were characterized using UV-visible spectroscopy and Dynamic Light Scattering (DLS) techniques.

In conclusion, to obtain smaller nanocomposites, it is advisable to utilize minimal amounts of extract and rosemary oil. The data reveals significant size differences, indicating that while the oil volume does not lead to a substantial increase, the volume of rosemary extract does.

Keywords: Extract, silver nanoparticles, oil, nanocomposites

Capítulo I: Introducción

Planteamiento del problema

La nanotecnología es considerada una ciencia multidisciplinaria que relaciona diferentes áreas como la física, química, biología y la ingeniería, en la que por medio de la aplicación del conocimiento científico se llega a crear nuevos compuestos a escala nanométrica que ayuda con la síntesis de nanopartículas de diversos materiales, formas y tamaños (ISO, 2015; Campos y Páez, 2022).

En el Ecuador se lleva a cabo la síntesis de nanopartículas mediante métodos que producen residuos tóxicos y dañinos para el medio ambiente, con la utilización de reactivos costosos, sin aprovechar la amplia biodiversidad del entorno, existiendo un constante problema con la utilización de síntesis verde al obtener una estabilidad para las nanopartículas, por lo cual, se considera el uso de extractos y aceites esenciales que ayuden con la durabilidad de dichos compuestos, esta problemática se ve solventada con la formación de los nanocompositos, por lo tanto, existe una inclinación en el estudio de nanopartículas de metales nobles por su versatilidad funcional (Bartoli et al., 2021).

Actualmente, se busca una alternativa que sea amigable con el medio ambiente considerando a la nanotecnología verde como una solución en el desarrollo de técnicas que utilicen los principios fundamentales de la misma, fabricando nanomateriales que sean provenientes de insumos renovables, el Ecuador cuenta con una gran variedad de especies de plantas vegetales que presentan un alto potencial para ser utilizadas, por lo cual se considera importante darles prioridad a las plantas vegetales que se encuentran en el país (Flores C. , 2014; Arias y Palma, 2019).

Los nanocompositos ayudan con la estabilidad en el tiempo de la nanopartícula, ya que es formado por la unión de dos o más compuestos que presentan diferentes propiedades que son identificados por una interface que existe entre ellos, por lo tanto, se considera que la síntesis de nanopartículas de plata tiene un impacto ambiental y económico de gran interés, ya que se trabaja con química

verde aprovechando los efectos antifúngicos, antimicrobianos e insecticidas que tienen los aceites esenciales (Pardo et al., 2022), podemos lograr la encapsulación de la nanopartícula obteniendo el nanocomposito que brinda una ventaja al tener una liberación directa y controlada de los principios activos con menor cantidad de residuos tóxicos que se utilizan en otros procedimientos (Quinzi y Di Francesco, 2020).

Justificación del problema

Actualmente en el Ecuador se busca nuevos agentes reductores naturales para la síntesis de nanopartículas de plata por el método de reducción química, esto nos ayuda a evitar el uso de sustancias tóxicas y disminuir los desechos que se producen, por lo que se busca trabajar con síntesis alternativas para obtener un impacto positivo con el medio ambiente y la sociedad (Torres, 2017). El motivo de este trabajo es utilizar extractos vegetales que funcionen como agentes reductores e incluso estabilizantes para la formación de nanocompositos aprovechando recursos biológicos renovables.

El método a utilizar se basa en la reducción química que es una técnica sencilla que nos brinda resultados óptimos en la síntesis de nanopartículas de plata con una distribución y tamaño muy reducido de 1 a 100nm, que además presenta mayor reactividad, biodisponibilidad y poder catalítico (Arias y Palma, 2019).

En este estudio se emplea la metodología de síntesis verde partiendo de un extracto de romero, el cual actuará como agente reductor en la formación de las nanopartículas, se utilizará una técnica instrumental como espectroscopia UV-vis para diversas detecciones químicas como lo son la presencia de nanopartículas de plata y la intervención del extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) (Flores C. , 2014; Sánchez, 2017).

Esta investigación está enfocada en la utilización de recursos que sean amigables con el medio ambiente, por este motivo se ha decidido realizar la síntesis de nanocompositos de plata como una alternativa en la cual se prevé utilizar materiales vegetales como el romero y naturales como los aceites esenciales, representando así un menor costo para la producción con resultados satisfactorios (Sahoo, 2014).

Objetivo general

- Sintetizar y caracterizar nanocompositos a partir de nanopartículas de plata con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis* L.).

Objetivos específicos

- Obtener extractos y aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) mediante maceración y método de arrastre de vapor respectivamente, para su utilización a diferentes concentraciones.
- Sintetizar nanopartículas de plata utilizando extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) obtenido por maceración, para su posterior caracterización.
- Caracterizar nanopartículas de plata con la utilización de técnicas instrumentales como Dispersión de luz dinámica (DLS) y Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-VIS) para su utilización en la síntesis de nanocompositos.
- Sintetizar nanocompositos utilizando las nanopartículas de plata con aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) por el método de precipitación para su posterior caracterización
- Caracterizar nanocompositos con la utilización de técnicas instrumentales como Dispersión de luz dinámica (DLS) y Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-VIS); para verificar el tamaño y distribución del nanocomposito.

Hipótesis

La utilización de diferentes concentraciones de extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) que funciona como agente reductor de las nanopartículas de plata con distintas concentraciones de aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) influyen en el tamaño de los nanocompositos.

Capítulo II: Marco teórico

Muestra vegetal

Romero (*Rosmarinus officinalis* L)

Rosmarinus officinalis L conocida popularmente como romero perteneciente a la familia Lamiaceae, considerada una planta aromática y de uso medicinal de gran interés por el beneficio que puede aportar a la humanidad, cuenta con una gran variedad de metabolitos secundarios y aceites esenciales tales como flavonoides, terpenos, ácidos fenólicos, entre otros (Purca, 2013). Se puede obtener productos derivados de mayor interés como los de extracto acuoso y aceites esenciales (Pardo et al., 2022).

Es una planta considerada un arbusto por sus hojas pequeñas y forma de espigas presentando un color verde, con una altura de dos metros, siendo una planta resistente a los diferentes cambios de temperatura (Lax Vivancos, 2014). Autóctona de la región mediterránea de Europa y del Norte de África, el romero crece de manera espontánea, sembrada en varios países del mundo (Castaño, 2010).

Presenta propiedades químicas, bioquímicas y organolépticas que son utilizadas por poseer varios elementos principales de aceites esenciales como ácidos orgánicos, saponinas y taninos, entre otros, por sus propiedades antifúngicas, antiinflamatorias, antimicrobianas, antioxidantes, antibacterianas, insecticidas y acaricidas (Lemjallad et al., 2019; Zinicovscaia et al., 2020). En la actualidad se ha incrementado el uso del romero con varias participaciones científicas para aplicaciones futuras (Flores et al., 2020).

Extracto

Es una sustancia vegetal concentrada que se extrae por diferentes procesos como la maceración para obtener una parte de la materia prima de la planta utilizando como disolventes el etanol, agua o aceite; con el fin de conseguir sustancias biológicamente activas. Posee una alta gama de compuestos activos más que los

aceites esenciales, por lo que son más eficaces en varias aplicaciones (Andrade et al., 2018).

Extracto de romero (Rosmarinus officinalis L)

El romero presenta varios metabolitos encargados de la capacidad antioxidante como estructuras fenólicas, compuestos fenólicos-tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos, moléculas nitrogenadas- alcaloides, aminoácidos y aminas o carotenoides (Pastene, 2009); considerada una fuente de compuestos que poseen una actividad biológica antioxidante que participa en reacciones de óxido-reducción que generan radicales libres con una alta reactividad química que debe neutralizarse para que se genere el estrés oxidativo. Por lo cual, los compuestos antioxidantes en bajas concentraciones son capaces de evitar el daño oxidativo (Arazo et al., 2015).

Los antioxidantes naturales son posibles de conseguir en el extracto de romero por el ácido rosmarínico y el ácido cafeico que poseen una potente actividad antioxidante; por lo tanto; son las sustancias que impiden la oxidación del sustrato. Pudiendo ser utilizado en diferentes aplicaciones como en la síntesis de nanopartículas de plata como agente reductor (Nieto et al., 2018).

Aceites esenciales

Los aceites esenciales que podemos obtener de las plantas son constituyentes aromáticos existentes en las glándulas en forma líquida siendo inmisible en agua y solubles en compuestos apolares; pueden adquirirse a partir de material fresco por el método de destilación por arrastre de vapor; generalmente constituye del 0,1 al 1% del peso seco de la planta (Naccari et al., 2017).

Su extracción puede ser de toda la planta como hojas, flores, tallos, ramas, semillas; que esta almacenado en células, canales, glándulas. Teniendo metabolitos secundarios que aportan propiedades antibacterianas, antifúngicas e insecticidas (Bakkali et al., 2008).

Aceites esenciales de romero (Rosmarinus officinalis L)

El aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L) presenta compuestos químicos, como moléculas bioactivas conocidas como metabolitos secundarios detallados en la Tabla 1. La obtención de estas moléculas puede variar por condiciones externas como el clima, el suelo, condiciones agroecológicas donde los componentes pueden variar (Beltrán et al., 2017).

Tabla 1.

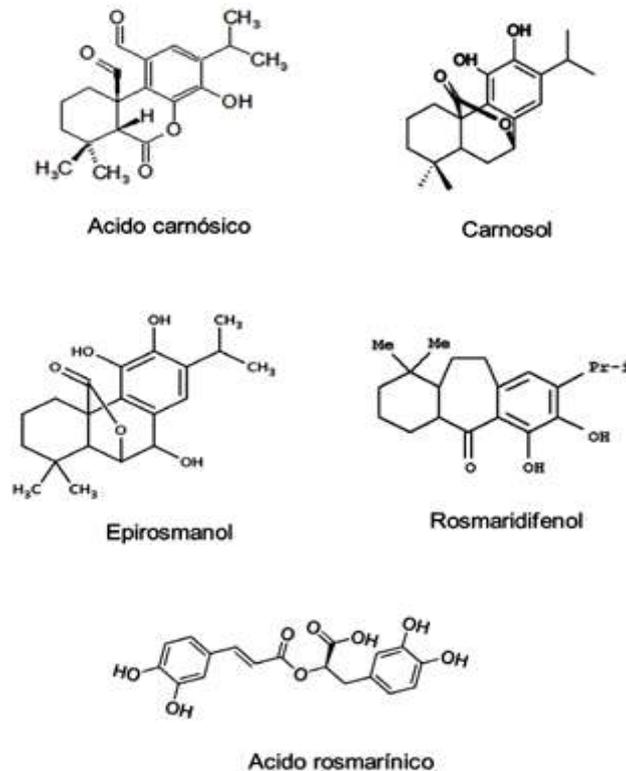
Compuestos químicos presentes en el romero.

Componentes químicos	
Ésteres terpénicos	Ácidos
1,8 cineol	Vanílico
Alcanfor	Caféico
Linalol	Clorogénico
Verbinol	Rosmarínico
Terpineol	Carnósico
Carnosol	Ursólico
Rosmanol	Oleanólico
Isorosmanol	Butilínico
3 Octanona	Betulínico
Isobanil-acetato	Betulina
B cariofileno	A-amirina
	B amirina
	Borneol
	Acetato de bornilo

Nota. Recuperado de (Datiles y Acevedo, 2014).

Figura 1.

Compuestos activos encontrados en la planta de romero (*Rosmarinus officinalis* L.).



Nota. Estructura química de ácido carnósico, carnosol, epirosmanol, rosmaridifenol, ácido rosmarínico. Tomado de (Shahidi et al., 1992; Zheng y Wang., 2001).

Nanopartículas

La nanotecnología se desarrolla con materiales, procesos y sistemas con una escala de 1 a 100 nanómetros (nm), por lo tanto, la manipulación y control de la materia se trabaja a nanoescala brindando varias aplicaciones a la ciencia en ingeniería, química y biología, la investigación de nuevos comportamientos y propiedades de los materiales se ha desarrollado gracias al uso de la tecnología a pequeña escala (Ruzzene et al., 2019).

Entonces las nanopartículas (NPs) deben presentar una dimensión de menos 100 nanómetros (nm) que poseen características químicas más reactivas siendo utilizadas en diferentes áreas para futuras aplicaciones potenciales como en diferentes campos biomédicos, ópticos, electrónicos, agricultura, entre otros. Se las puede

obtener por varios métodos como químicos, físicos o de manera natural con metales nobles (Dong et al., 2016).

Los diferentes tipos de obtención de nanopartículas (NPs) se dan por el método químico, método electroquímico, reducción fotoquímica e irradiación ultravioleta, los cuales utilizan reactivos químicos que son contaminantes para el ambiente generando una gran cantidad de residuos químicos perjudiciales para la salud y contaminantes de suelos, agua y aire (Torres, 2017).

Actualmente la síntesis de nanopartículas se está enfocando en generar menor cantidad de residuos cambiando los compuestos químicos por extractos naturales como agentes reductores, los cuales se encuentran en concentraciones elevadas, además de contener estabilizadores naturales (Kim et al., 2010)., siendo una técnica más amigable con el ambiente brindando un método eficaz, y ecológico conocido como síntesis verde o fisicoquímica verde (Flores C. , 2014).

Nanopartículas de plata

Los metales nobles tienen propiedades químicas y físicas especiales que serán utilizadas en nanopartículas para nuevas aplicaciones potenciales que se pueden explotar en diversos campos. Para la síntesis de nanopartículas de plata se considera tres pasos principales la nucleación, crecimiento y estabilización (Faraday y Turkevich, 2009).

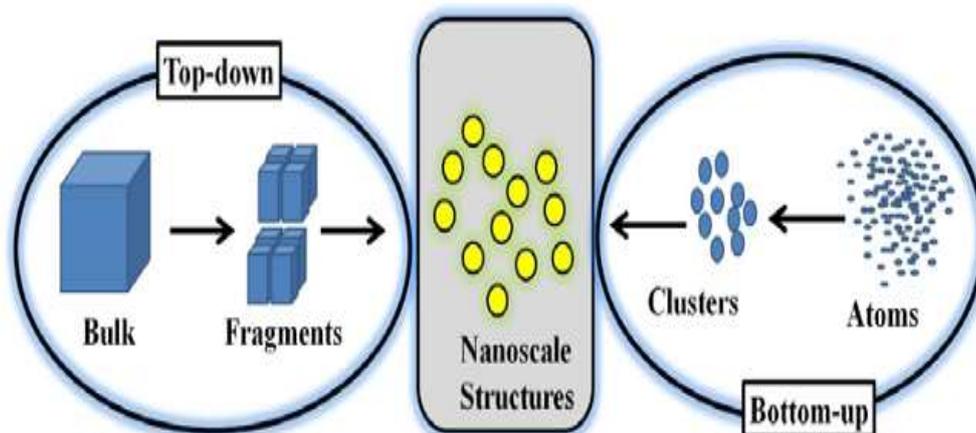
Existen dos métodos generales que son:

- ✓ **Top-down:** este método consiste en la reducción del tamaño de agregación obteniendo un tamaño a nanoescala. Es decir, obtenemos un descenso del tamaño hasta alcanzar el tamaño correspondiente a la escala nanométrica.
- ✓ **Bottom-up:** este método obtiene la escala nanométrica por dispersión molecular, por ejemplo; en la síntesis verde de nanopartículas de plata (Ag-NPs) se utiliza como agente reductor un extracto natural que al diluirse con la sal precursora (AgNO_3) se obtendrá nanopartículas metálicas, considerando

que el tipo de agente reductor que se utilice haría que varíe el tamaño y morfología de las partículas.

Figura 2.

Esquema representativo de la síntesis de nanopartículas (Nanoparticle synthesis technique).

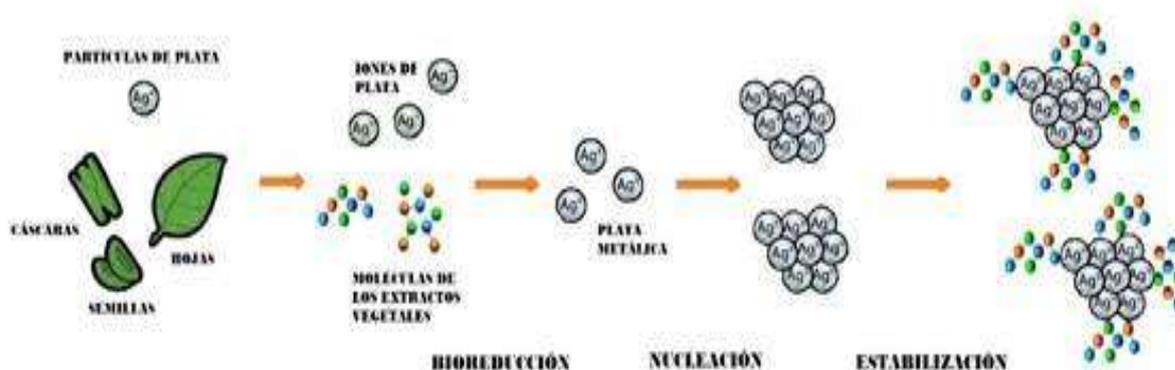


Nota. Tomado de (Neto, 2019).

Entonces la reacción que se obtiene para la formación de nanopartículas de plata es gracias a la reducción de la plata Ag^+ presente en el nitrato de plata acuoso, es decir, que se debe adquirir un catión Ag^+ el cual debe reducirse ganando un electrón para transformarse en Ag^0 (Barzinjy y Azeez, 2020). Para el tamaño de las nanopartículas de plata debemos considerar variables como la concentración de iones metálicos, pH, temperatura y el agente reductor que se utilice.

Figura 3.

Representación esquemática de la síntesis de nanopartículas de plata.



Nota. Tomado de (Gómez-Garzón, 2018).

Nanocompositos

Los nanocompositos, conocidos también como nanocompuestos están constituidos por dos fases, las cuales se pueden identificar como matriz polimérica conformado por el aceite esencial y la segunda fase conformada de nanopartículas; son elaborados con el objetivo de brindar estabilidad a la molécula y poder distribuir los principios activos de manera directa (Okpala, 2013).

Podemos encontrar una mezcla de varios sistemas unidimensionales, bidimensionales y amorfos conformados de diferentes mezclas a escala nanométrica; por varios métodos se logra la síntesis de nanocompositos donde se aplica técnicas de mezclado en solución para lograr la unión de la molécula (Saleh, 2022).

Métodos de caracterización

Espectroscopía ultravioleta – visible (UV-vis)

Es una técnica utilizada para la caracterización de moléculas como las nanopartículas siendo muy sensible con la presencia de coloides del metal analizado ya que se forma un pico de absorción intenso por la excitación de plasmones superficiales, existen varios factores que pueden alterar los resultados como el tamaño y la forma que tengan las nanopartículas (Alarcon et al., 2015).

Los resultados adquiridos por esta técnica son espectros obtenidos por la relación entre absorbancia con la longitud de onda en nanómetros (nm). Ya que el fundamento de la técnica es la absorción de radiación ultravioleta y visible por la muestra que inicia un estado activado conlleva a una eliminación del exceso de energía representado en forma de calor (Alarcon et al., 2015).

La ley de Beer Lambert es un método matemático que es aprovechado para expresar el modo en que la materia absorbe la luz. Los factores que pueden influir cuando se analiza la muestra con respecto a la luz que emana y se disminuye, son por la física, la concentración, longitud de la luz y la absorbancia (Vanlalveni et al., 2021).

Una característica de la absorbancia es que se requiere de una mezcla absorbente y la longitud de onda; como resultado obtenemos un espectro de absorción el que puede indicar en qué punto se proyecta la longitud de onda característica de la muestra a estudiar (Anandalakshmi y Venugobal, 2017).

Dispersión de luz dinámica (DLS)

Las nanopartículas pueden ser caracterizadas por dispersión de luz dinámica conocida como DLS una técnica que ayuda a determinar el tamaño, distribución y área superficial; el sistema brinda el diámetro de una esfera dura y la potencial zeta de las nanopartículas (Hoo et al., 2008).

Se utiliza celdas de cuarzo para leer los volúmenes muy pequeños presentes en la solución, gracias a la alta sensibilidad podemos lograr medir diminutas cantidades; siendo un método que se puede utilizar para observar las aglomeraciones de las nanopartículas (Cho y Hackley, 2010).

El método de análisis de la técnica se basa en la suspensión de nanopartículas expuestas a un haz de luz, por lo tanto, la dirección y la intensidad del haz pasan por un proceso de dispersión; las nanopartículas se encuentran en movimiento aleatorio a su energía cinética produciendo una variación a la intensidad respecto al tiempo que presenta la información para medir el coeficiente de difusión de las partículas (Hiemenz y & Rajagopalan, 2016).

Capítulo III: Metodología

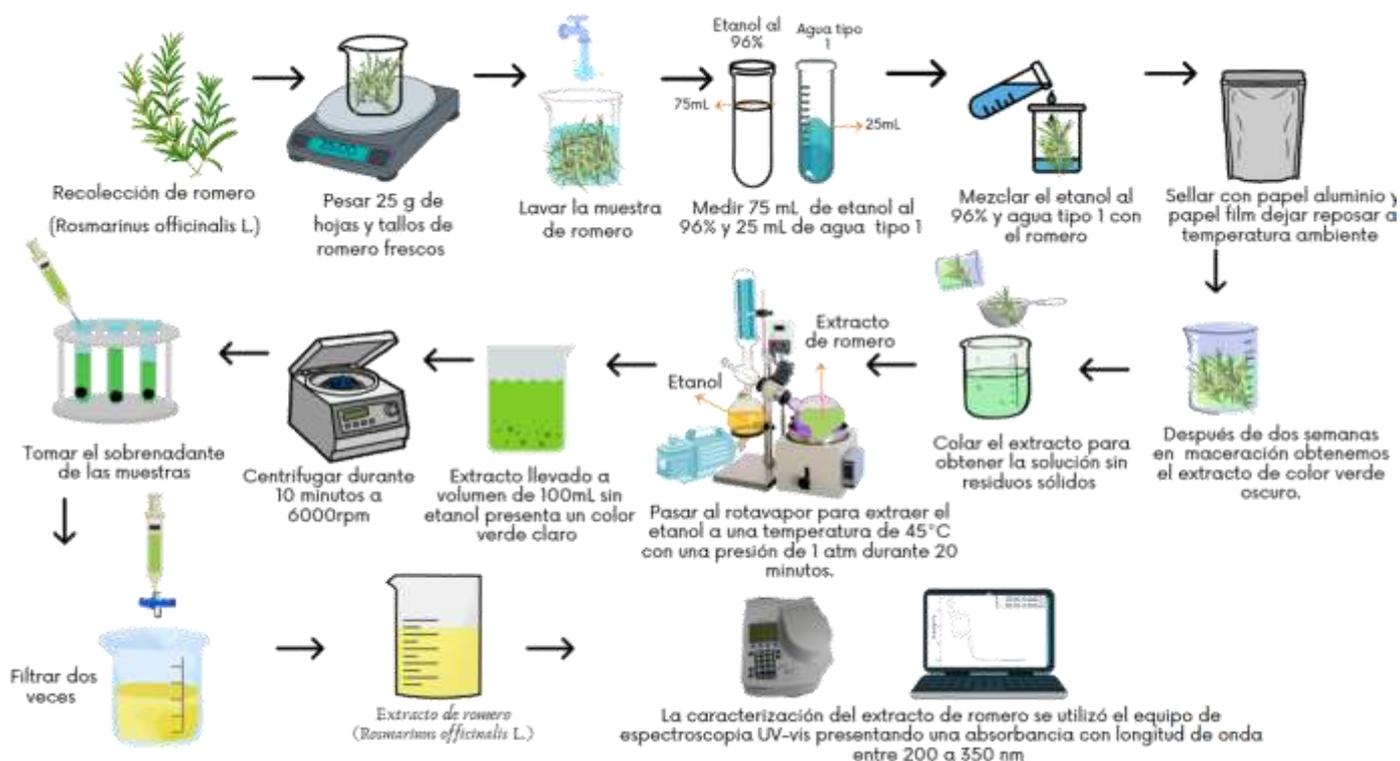
Obtención de extracto de Romero (*Rosmarinus officinalis* L.)

Se consiguió hojas y tallos frescos de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) que fueron pesados y lavados con agua destilada previo a la obtención de extracto por la técnica de maceración. Para la elaboración del extracto se procedió a pesar 25 gramos de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) a los que se les añadió 75mL de etanol al 96% y 25mL de agua destilada; se dejó reposar por dos semanas para conseguir un extracto de color verde intenso.

Después se procedió a sacar el extracto, colar y pasar al rota vapor con bomba al vacío, a una temperatura de 45°C por 20 minutos, el cual separa todo el etanol, quedándonos un volumen de 20mL, llevando a volumen de 100mL. Utilizamos 20mL de la solución que pesamos para colocarlos en la centrifuga y luego procedemos a filtrar el sobrenadante, esto ayuda en el tamaño de las nanopartículas y nanocompositos.

Figura 4.

Obtención de extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.)



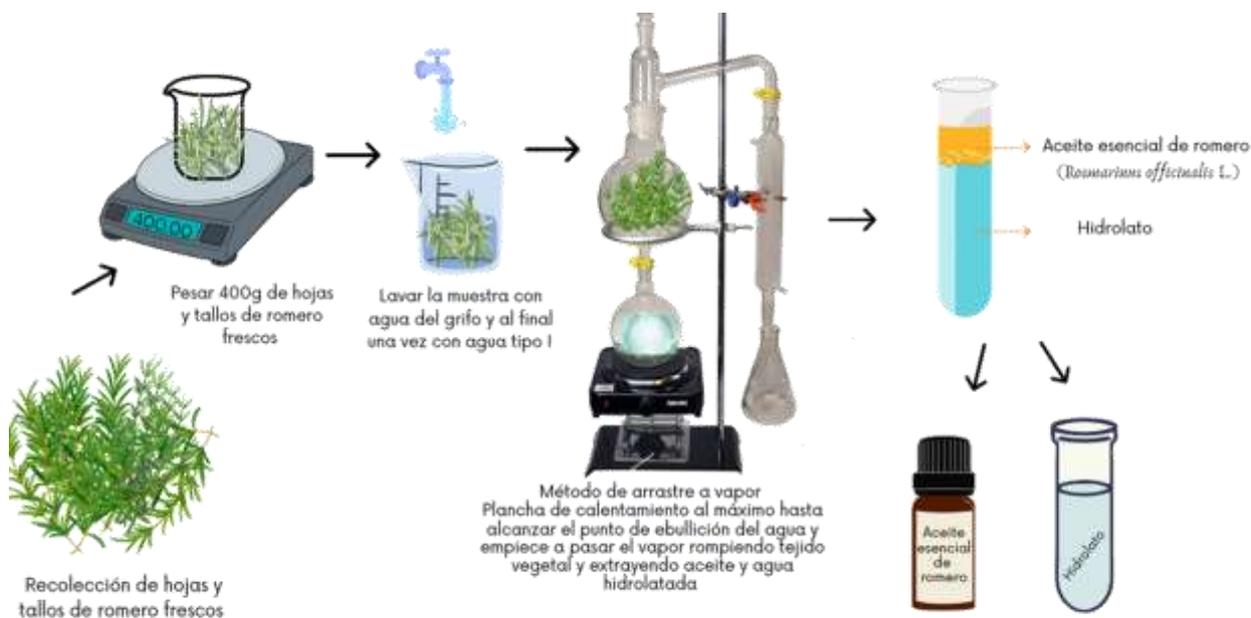
Extracción de aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis* L.)

Para la obtención de aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) necesitamos que la muestra sea fresca para mayor rendimiento, por lo cual se toma las hojas y tallos que presenten mayor pigmentación, entonces se debe pesar y lavar la muestra con agua destilada para colocarlas en el balón de 2000mL, para conseguir el aceite esencial por el método de arrastre a vapor por 120 minutos.

Se mantiene la temperatura a lo máximo de la plancha de calentamiento aproximadamente unos 30 minutos para que empiece la ebullición del agua a 100°C comenzando la ruptura del tejido de la muestra vegetal liberando el aceite esencial que presentan un carácter apolar, por lo cual, se puede evidenciar dos fases ya que el hidrolato es polar y no se mezclan, empezó el vapor a los 20 minutos de la ebullición del agua, donde se puede visualizar las primeras gotas de hidrolato, después de unos 20 minutos podemos ya visualizar como empezamos a recolectar el aceite de romero (*Rosmarinus officinalis* L.).

Figura 5.

Extracción de aceite de romero por la técnica de arrastre a vapor.



Nota. Se utiliza 400 gramos de romero para la extracción de aceite esencial.

Síntesis de nanopartículas de plata

Se procedió a preparar soluciones madre de Hidróxido de sodio al 0.1M y Nitrato de Plata al 0.01M para ser utilizados en la síntesis.

De la solución de Nitrato de Plata (AgNO_3) al 0.01M utilizamos 5mL a la cual se añadió 1.5mL de agua destilada y 0.5mL de extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) obteniendo un pH que varía entre 4 a 5. Posterior a esto se añadió Hidróxido de Sodio (NaOH) al 0.1M hasta alcanzar un pH de 10.5 con una variación (\pm) 0.05, logrando soluciones de un color marrón oscuro, las cuales deben permanecer cubiertas con papel aluminio, esto debido a que la plata es fotosensible a la luz y puede causar su degradación. Finalmente se lleva al baño maría por 3 horas a una temperatura de 40°C.

Síntesis de Nanocompositos de romero

Se utiliza las muestras de nanopartículas de plata donde se procedió hacer una dilución de 1.5:30mL de AgNPs-agua obteniendo una mezcla homogénea de un color amarillo claro, tomando 5 mL de AgNPs diluidos donde se añadió 1uL o 2uL de aceite de romero pasando la mezcla a la punta ultrasónica por un tiempo de 3 minutos, amplitud de 40 y pulsaciones de 30, esto nos ayuda con la homogenización de las muestras y obtener los nanocompositos.

Caracterización de nanopartículas de plata y nanocompositos

Espectroscopia ultravioleta-visible

En el UV-vis se colocó una longitud de onda UV de 200-750nm con intervalo de 1nm, donde se visualizará al metal y el extracto de romero de la solución de las nanopartículas de plata. Para los nanocompositos mantenemos la misma longitud de onda para obtener la caracterización de la plata y el aceite de romero.

Los datos conseguidos en cada ensayo se compararon en el software ORIGIN 2023b.

Dispersión de Luz Dinámica (DLS)

Para la medición en el equipo se utilizó una celda de cuarzo limpia donde se colocó una proporción de 1:350 de AgNPs -agua para poder visualizar el tamaño de

las nanopartículas de plata y su distribución, es importante establecer parámetros de funcionamiento como el índice de refracción Ag y medio disolvente el agua. Para los nanocompositos se utiliza la misma proporción observando el incremento de tamaño y la distribución de los nanomateriales con la implementación del aceite de romero.

Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Mediante el uso del microscopio electrónico de transmisión (TEM) se determinó el tamaño promedio y morfología de las nanopartículas y nanocompositos.

Figura 6.

Proceso de síntesis y caracterización de nanopartículas de plata (AgNPs).

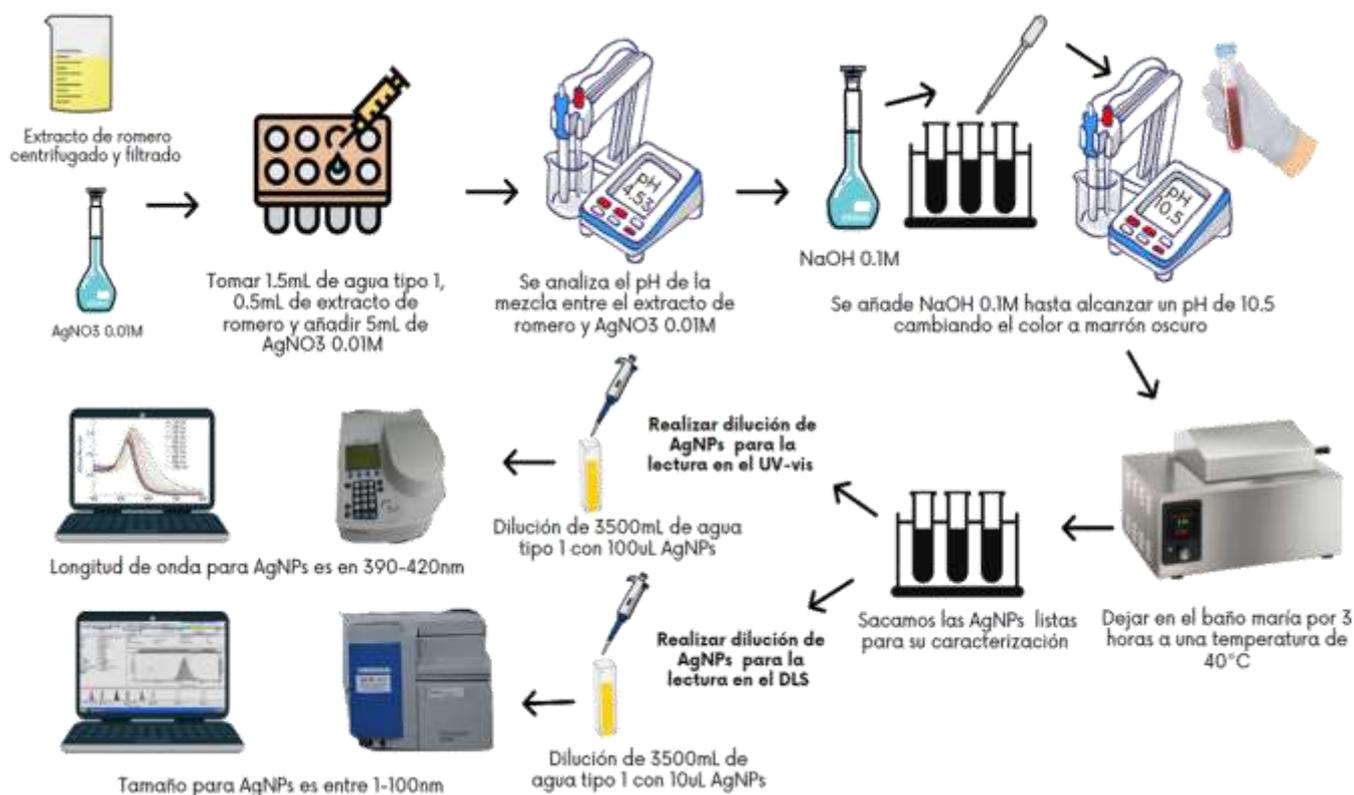
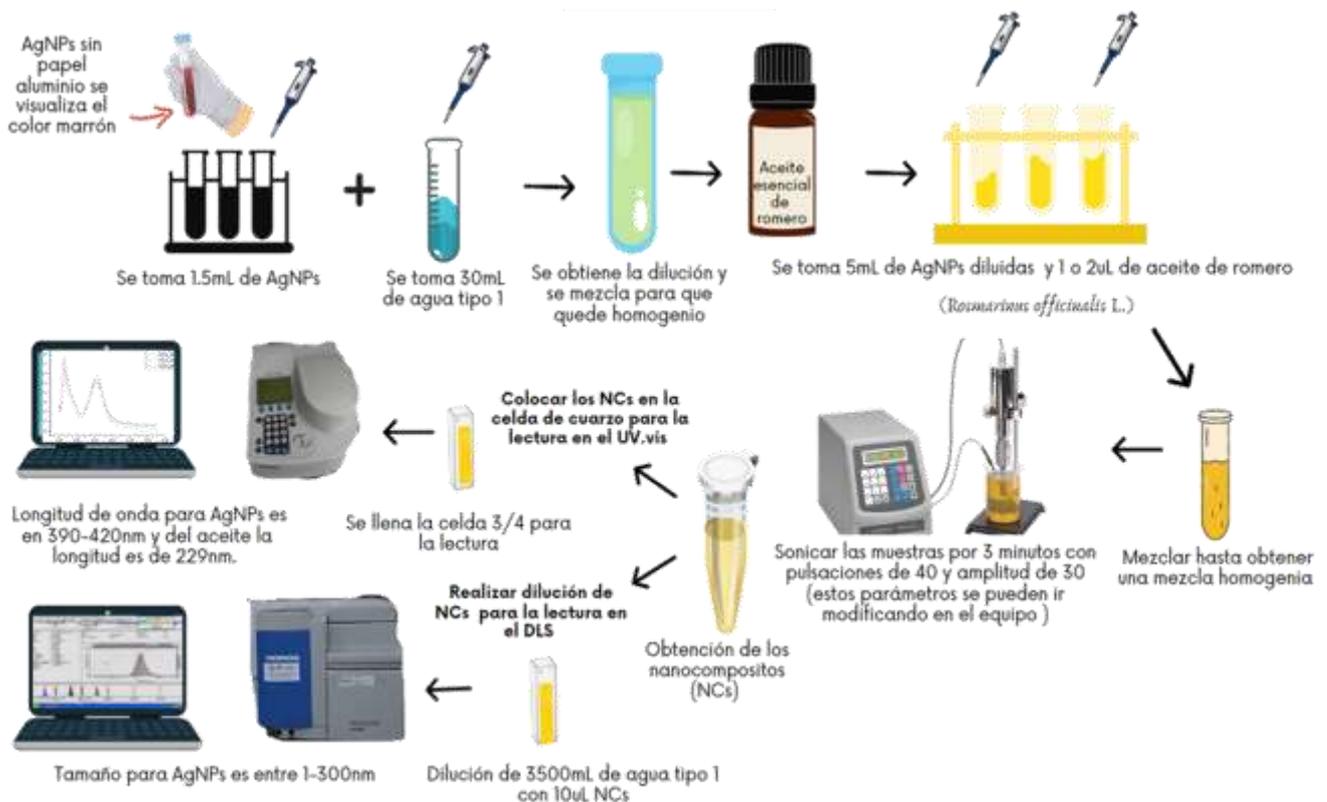


Figura 7.

Proceso de síntesis y caracterización de nanocompositos (NCs).



Análisis Estadístico

Para la síntesis de nanocompositos con aceite de romero se fijó el siguiente análisis estadístico:

Síntesis de nanocompositos

Para determinar los parámetros adecuados en la síntesis de los nanocompositos se debe establecer un diseño experimental factorial 2x2; el cual depende de la cantidad de extracto y aceite utilizado que puede influir en el tamaño, este diseño presenta 4 tratamientos o combinaciones con 5 repeticiones.

Tabla 2.

Análisis del volumen de extracto vs aceite de romero.

	Volumen de aceite de romero (uL)	
	1	2
Volumen de extracto de romero (mL)	0,5	2

El análisis se realizó en el programa estadístico InfoStat para conseguir los datos del análisis de varianza (ANOVA) y asociaciones. En la siguiente tabla se muestra las variables a estudiar en este trabajo:

Tabla 3.

Variables que intervienen en el diseño experimental.

Variable dependiente	Variable Independiente
	Extracto de romero
Tamaño	Aceite de romero

Variable de respuesta

Como variables de respuesta podemos considerar la síntesis de nanocompositos de plata con aceite esencial de romero caracterizadas en el equipo de espectroscopia UV-vis por la absorbancia y longitud de onda en nanómetros (nm); y el tamaño de cada nanocompuesto en el equipo de dispersión de luz dinámica DLS.

Factores controlables

Podemos controlar en la muestra factores como el pH, las soluciones madre de AgNO₃ 0.01M, NaOH 0.1M, temperatura del baño maría, parámetros en los equipos de caracterización.

Factores no controlables

Al momento de pipetear para la síntesis y lecturas en los equipos, la cantidad de reducción de la plata con relación al extracto, la cantidad de aceite encapsulante por nanopartícula de plata. Esto se debe a errores que se pueden presentar por mediciones de equipos, siendo error del ejecutor.

Capítulo IV: Resultados

Obtención del extracto de romero

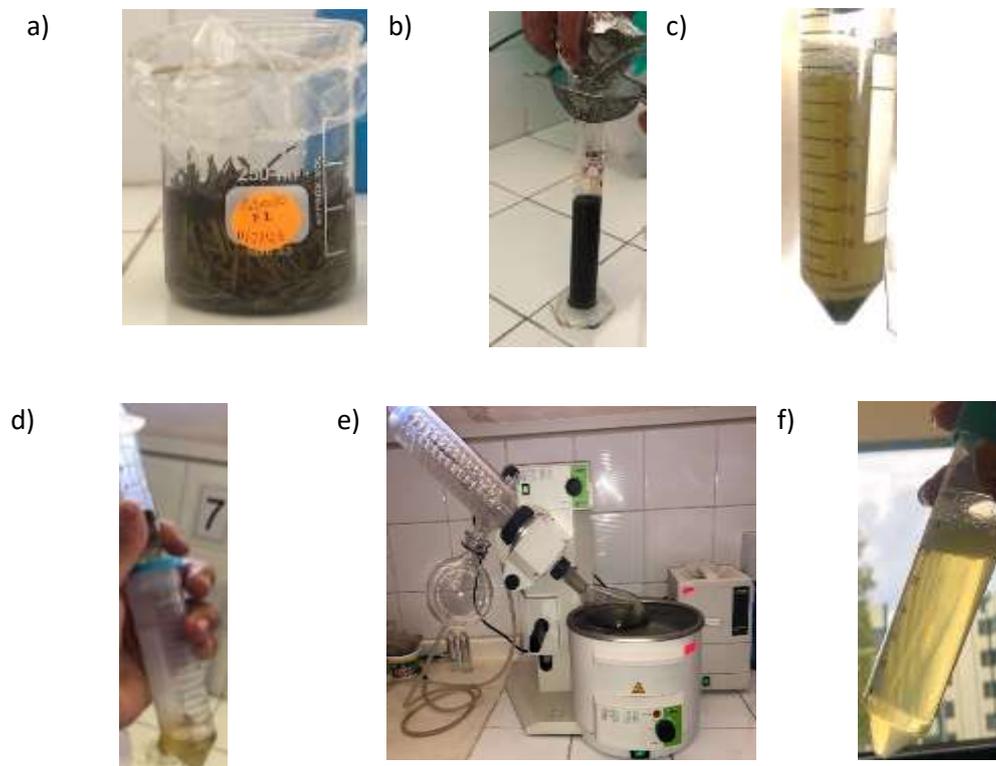
Tabla 4.

Características físicas del extracto de romero.

Condiciones finales de cada proceso	Extracto	
	Color	Volumen
Maceración	Verde intenso	80mL
Rota vapor	Verde oscuro	20mL
Centrifuga	Verde claro	18mL
Filtrado	Amarillo claro	17mL

Figura 8.

Obtención del extracto de romero.



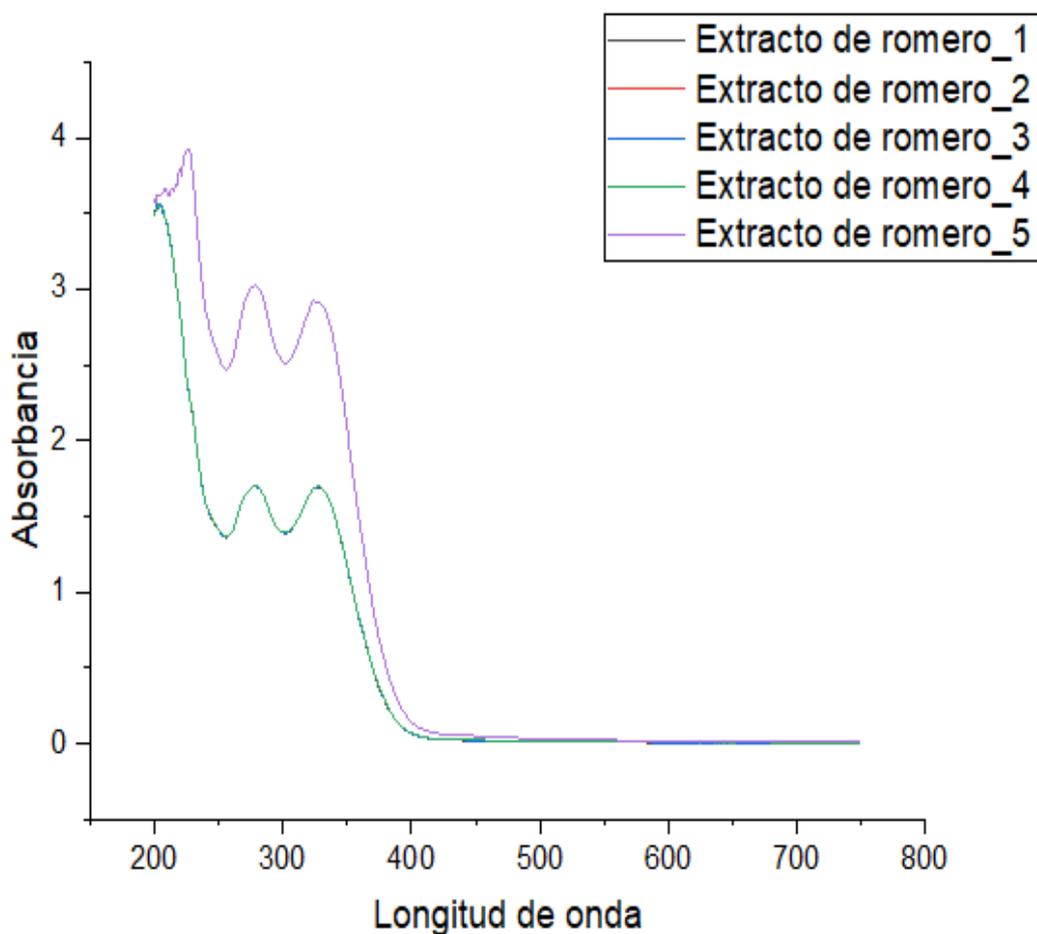
Nota. Proceso de obtención del extracto de romero para la síntesis de nanopartículas de plata. a) Extracto luego de dos semanas de maceración en 75:25 etanol al 96%-

agua, b) Extracto colado a las dos semanas, c) Extracto pasado a la centrifuga por 10 minutos a 6000 rpm, d) Filtración del sobrenadante de extracto de romero centrifugado, e) Extracto de romero en el rota vapor al vacío a 45°C, f) extracto centrifugado y filtrado listo para la síntesis de nanopartículas.

Se caracterizo el extracto por su longitud de onda en el equipo de espectroscopia UV-vis teniendo una estabilidad en las curvas sin variaciones significantes en las absorbancias de polifenoles existentes en el extracto de romero.

Figura 9.

Caracterización del extracto de romero en el equipo UV-vis.



Nota. Absorbancia con longitud de onda entre 200- 350nm sin variación significativa, la muestra del extracto de romero 5 presenta una mayor concentración a comparación de las muestras restantes.

Aceite esencial de romero

Se obtuvo el aceite de romero por el método de arrastre a vapor, en las figuras podemos visualizar la muestra fresca previa a su obtención. Se realizó la caracterización del aceite por sus propiedades físicas y químicas.

Figura 10.

Aceite esencial de romero (Rosmarinus officinalis L.).



Nota. Se pesa 400g de hojas y tallos frescos de romero para el proceso de arrastre por vapor para la obtención de aceite esencial de 4mL aproximadamente.

Tabla 5.

Parámetros del aceite de romero (Rosmarinus officinalis L.).

Parámetros	Aceite de Romero
Rendimiento de extracción (%)	1.10%
Índice de refracción	1.4695
Densidad relativa (g/cm ³)	0.8111

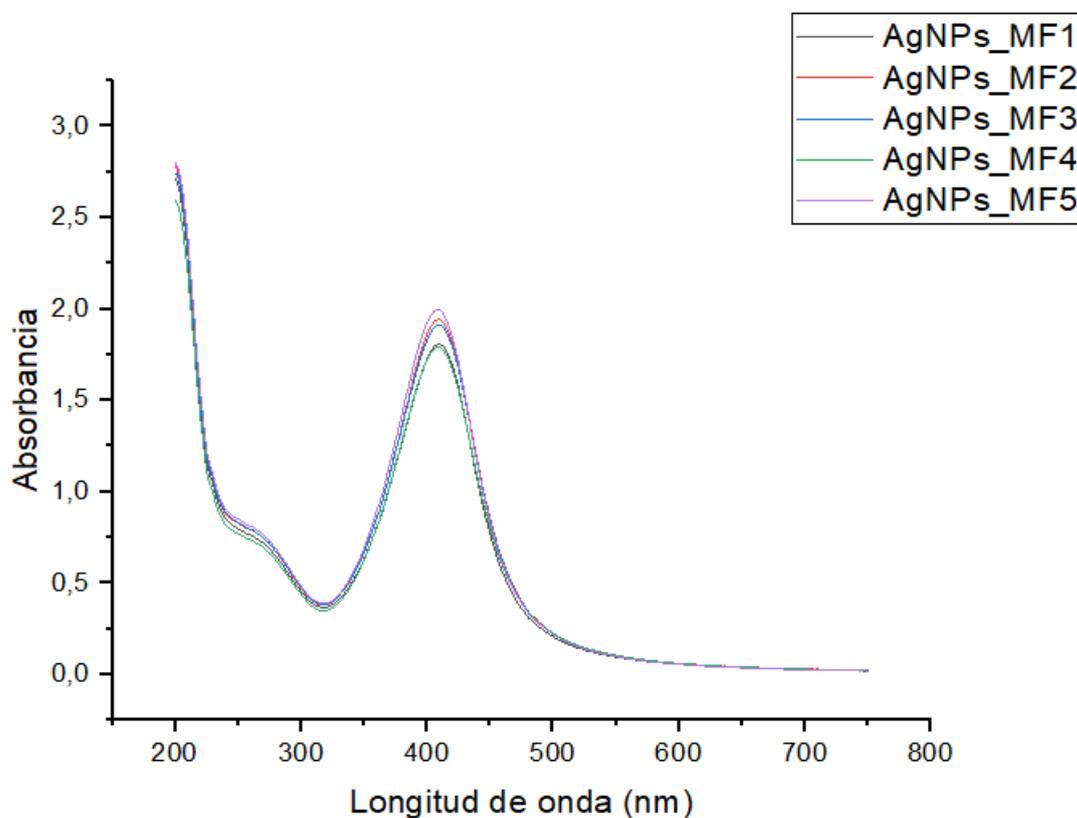
Síntesis de Nanopartículas de plata (AgNPs)

Caracterización de las nanopartículas de plata con espectroscopia UV-Vis

En las gráficas obtenidas por espectroscopia UV-vis podemos visualizar la caracterización de las nanopartículas con un pico de absorción en 409 nm que corresponde a la plata (Figura 9). Se realizaron 5 réplicas las cuales presentan una estandarización del protocolo realizado.

Figura 11.

Caracterización AgNPs en el equipo de espectroscopia UV-vis.

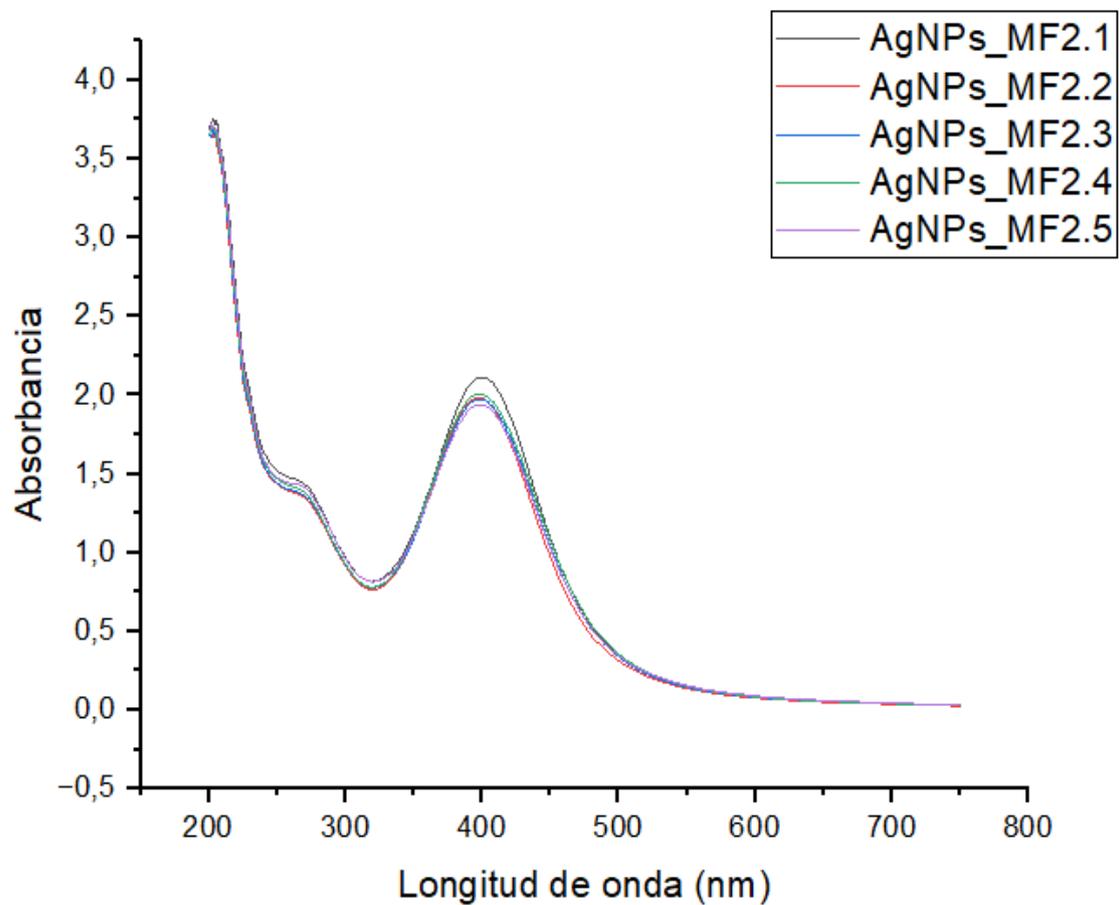


Nota. Gráfica de las cinco muestras de nanopartículas de plata (AgNPs) con un volumen de 0.5mL de extracto de romero obtenidos por medio de síntesis verde.

Cuando se aumenta la cantidad de extracto se puede visualizar en las gráficas del UV-vis como varía la curva de absorción presentando una curva más ancha y desplazada, con un pico de absorción de 399 nm obteniendo las nanopartículas de plata con tamaños y formas diferentes.

Figura 12.

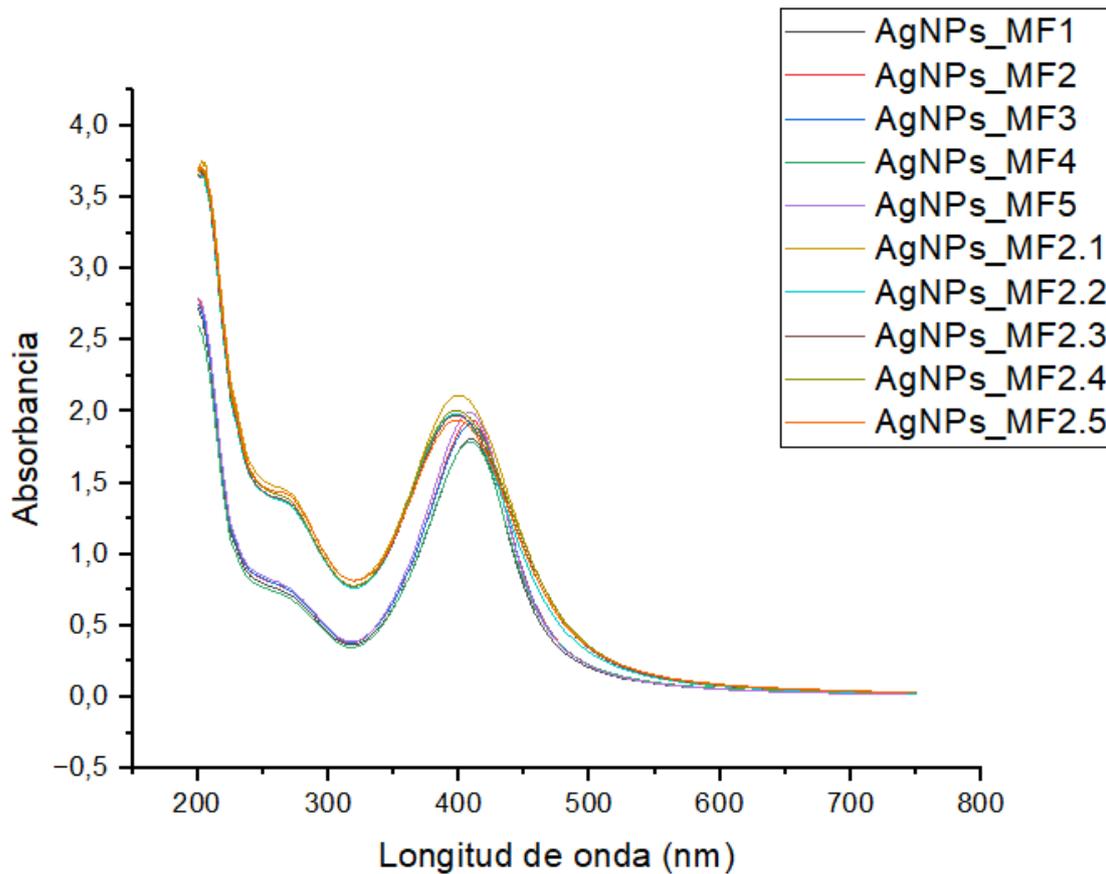
Caracterización AgNPs en el equipo de espectroscopia UV-vis.



Nota. Gráfica de las cinco muestras de nanopartículas de plata (AgNPs) con 2mL de extracto de romero utilizados en la síntesis verde.

Figura 13.

Caracterización AgNPs en el equipo de espectroscopia UV-vis.



Nota. Comparación entre las diferentes concentraciones de extracto de romero con respecto a la absorbancia en el equipo de espectroscopia UV-vis.

Caracterización de nanopartículas de plata por Dispersión de Luz Dinámica (DLS).

Para la primera concentración de 0.5mL de extracto de romero en la síntesis de nanopartículas de plata obtuvimos los siguientes tamaños en nanómetros con una distribución adecuada sin presentar aglomeraciones y con la concentración de 2mL de extracto de romero, el tamaño incrementó ya que se encuentra más concentrado y esto influye en la agrupación de nanopartículas, los datos se registraron en la tabla 6.

Tabla 6.

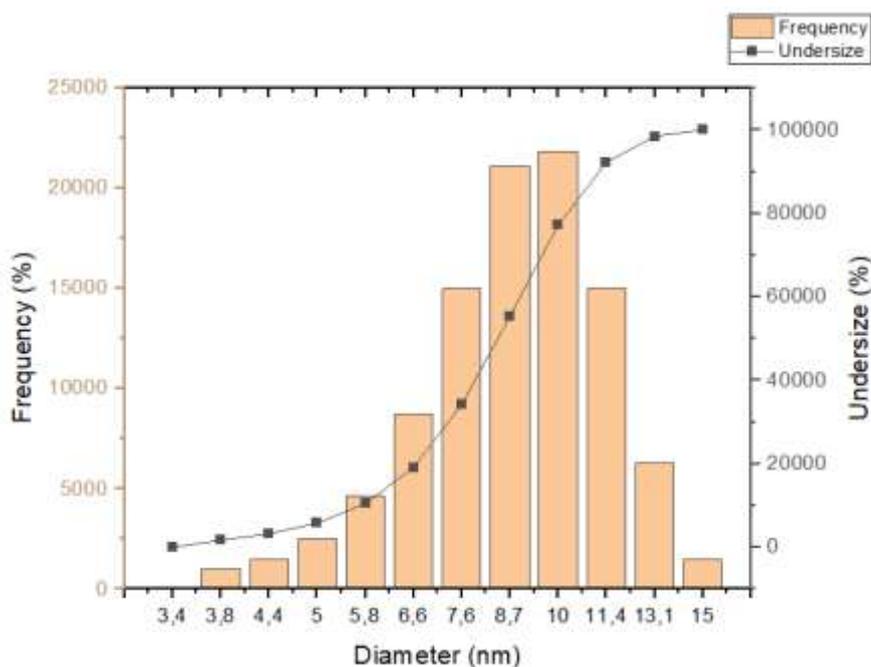
Datos del tamaño de las nanopartículas de plata (AgNPs).

Concentración de plata (M)	Volumen de extracto de romero (uL)	Muestras de AgNPS	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4	Medición 5	Promedio (nm)
0.01	0.50	MF1	6,7	6,6	6,4	7,1	6,8	6,72
		MF2	8,1	8,4	7,2	9,7	8,8	8,44
		MF3	9,6	9,5	8,9	9,5	9,3	9,36
		MF4	7,6	6,8	8	7,9	6,9	7,44
		MF5	8,1	7,9	8,2	8	7,8	8,00
	2	MF2.1	18,7	18,5	18,9	18,4	18,6	18,62
		MF2.2	18,6	19,1	19,5	19,3	19,9	19,28
		MF3.3	19,5	18,8	18,9	18,4	18,6	18,84
		MF2.4	20	21,3	20,3	20,7	21,8	20,82
		MF2.5	19,7	19,9	19,8	19,9	19,7	19,80

Nota. esta tabla muestra la variación de tamaños de nanopartículas de plata respecto al volumen de extracto utilizado en la síntesis verde.

Figura 14.

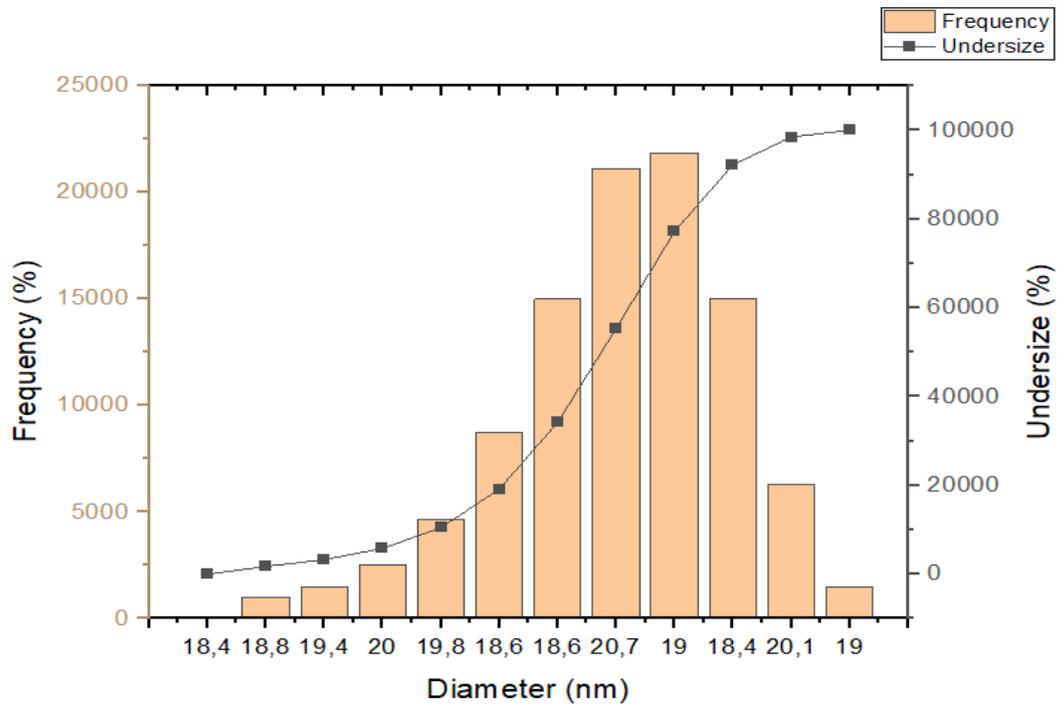
Caracterización de AgNPs con volumen de extracto 0.5mL en el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS).



Nota. Representación del tamaño de nanopartículas de plata con una media de 9.5nm sin distribución acumulada.

Figura 15.

Caracterización de AgNPs con 2mL de extracto de romero en el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS).

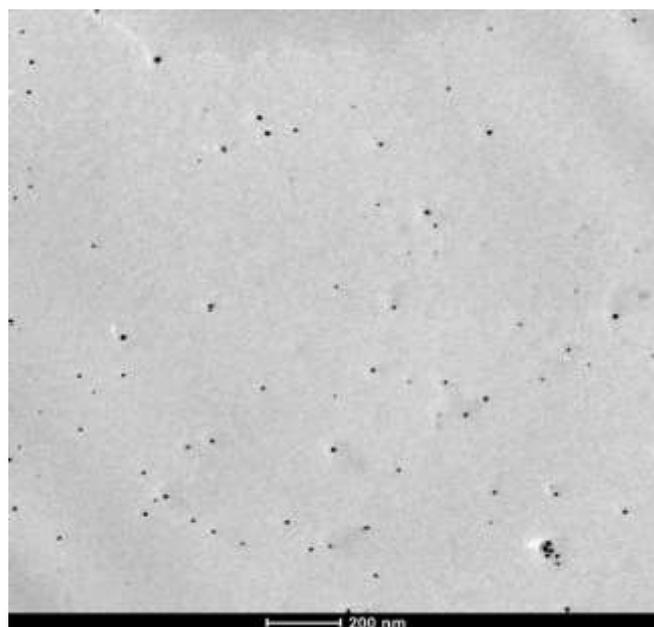


Nota. Gráfica del tamaño de las nanopartículas de plata con una media de 19.2nm

Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Figura 16.

Nanopartículas de plata (AgNPs) visualizadas en TEM



Síntesis de Nanocompositos de plata con aceite esencial de romero

Figura 17.

Síntesis de nanocompositos de AgNPs con aceite esencial de romero.



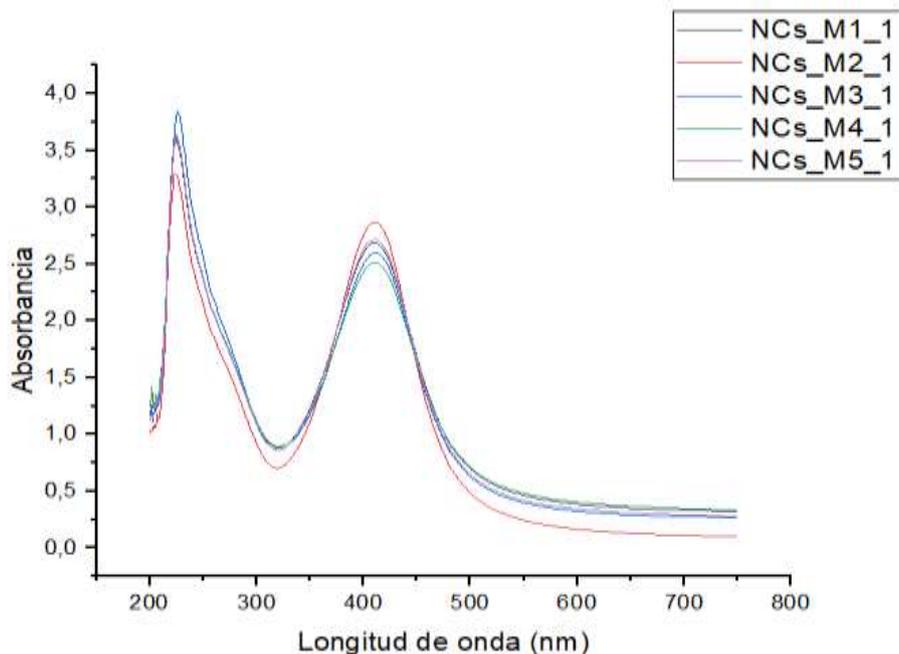
Nota. Solución de nanocompositos con su color característico amarillo claro, pudiendo observar que no existe fases y se mezcló correctamente las AgNPs con el aceite esencial de romero.

Caracterización de nanocompositos con espectroscopia UV-Vis

Podemos visualizar en las imágenes obtenidos en el UV-vis la caracterización del aceite en 229 nm y de la plata en 411 nm esto se realizó con la finalidad de poder caracterizar la unión de la nanopartícula de plata con el aceite esencial de romero.

Figura 18.

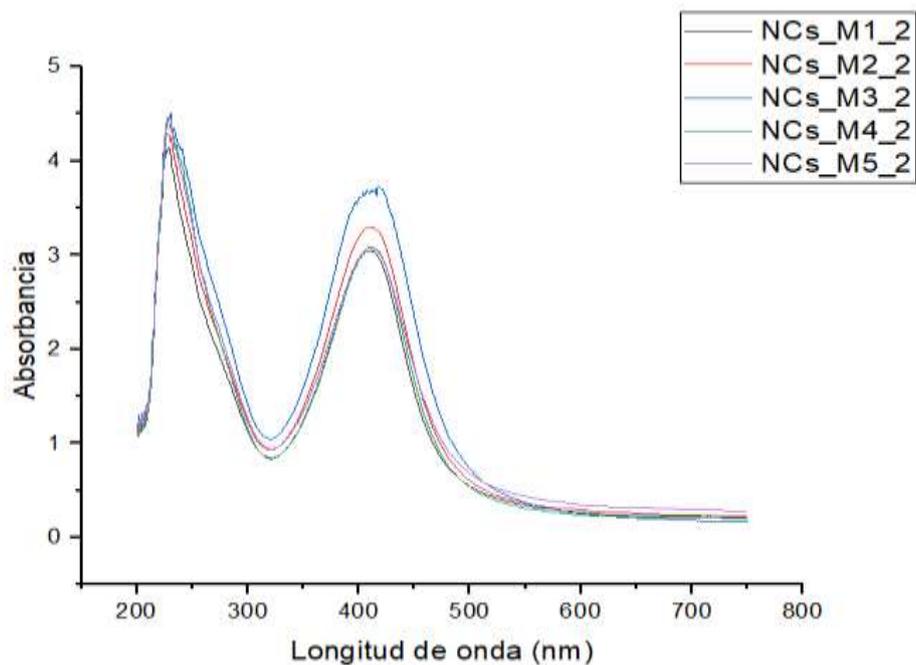
Caracterización de Nanocompositos con AgNPs al 0.5 de extracto y 1uL de aceite de romero en el equipo de espectroscopia UV-vis.



Nota. Comparación de las muestras de nanocompositos existiendo una relación en los picos de absorción con longitud de onda para el aceite de 229nm y para el metal 411nm.

Figura 19.

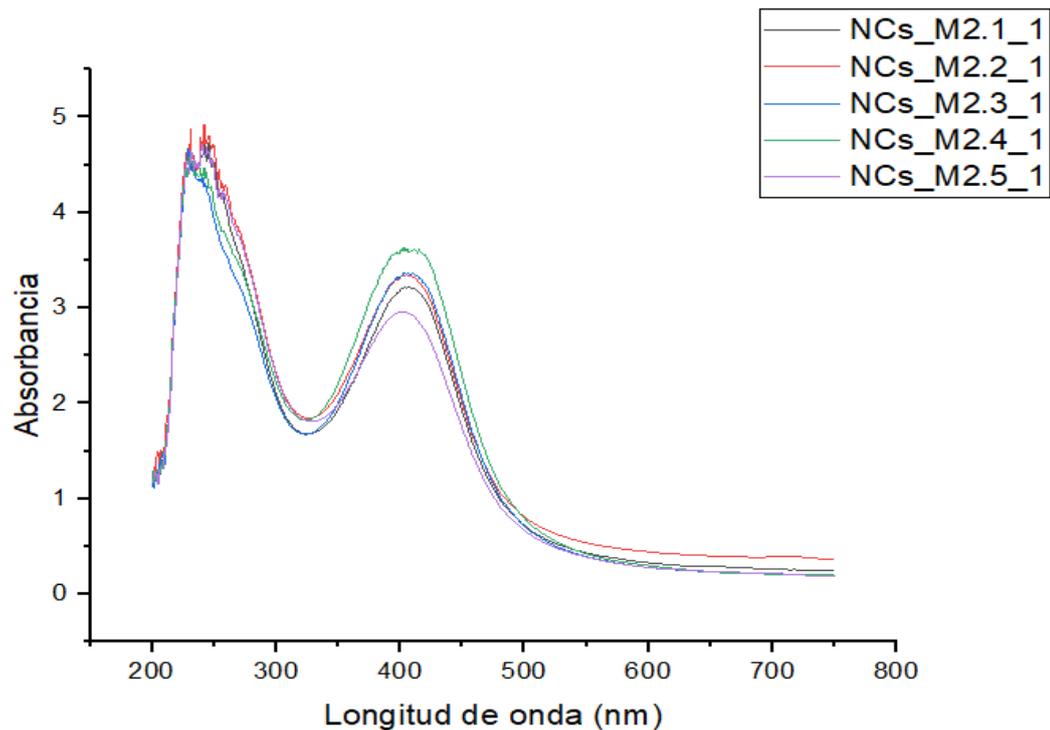
Caracterización de Nanocompositos con AgNPs al 0.5mL de extracto y 2uL de aceite de romero en el equipo de espectroscopia UV-vis.



Nota. Comparación de nanocompositos con un pico de absorbancia de 229nm para el aceite y 413nm para la plata.

Figura 20.

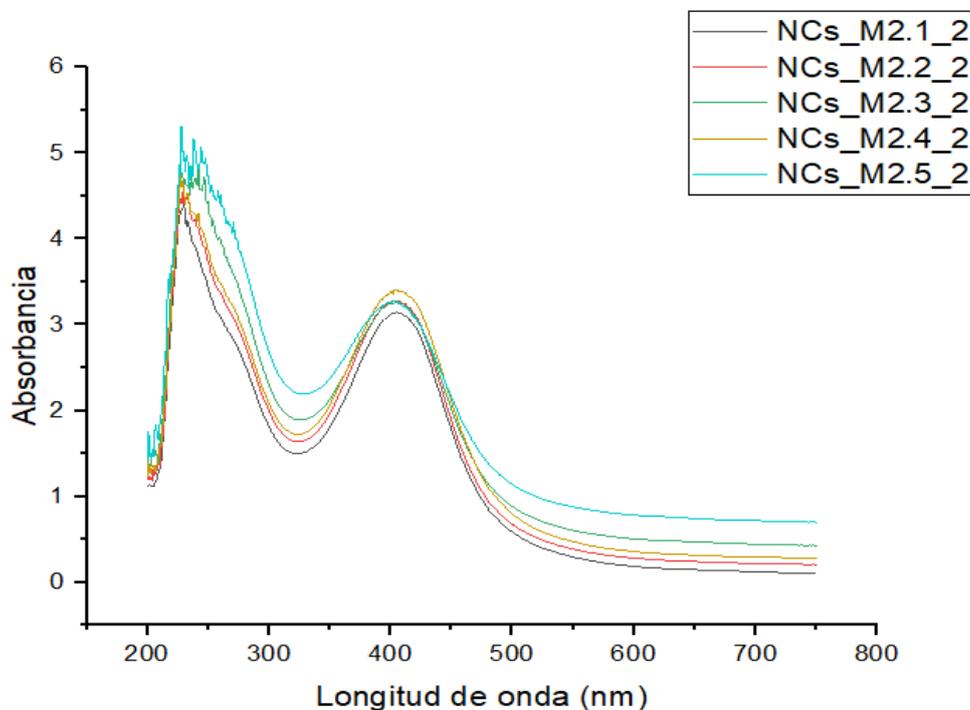
Caracterización de Nanocompositos con AgNPs al 2mL de extracto y 1uL de aceite de romero en el equipo de espectroscopia UV-vis.



Nota. Gráfica de comparación de longitudes de onda para las muestras de nanocompositos con AgNPs a 2mL de extracto y 1uL de aceite de romero con picos de absorción entre 225 a 250 con un pico más prominente de 228nm para aceite y para el metal entre 402 a 405 nm.

Figura 21.

Caracterización de Nanocompositos con AgNPs al 2mL de extracto y 2uL de aceite de romero en el equipo de espectroscopia UV-vis.



Nota. Gráfica de comparación de longitudes de onda para las muestras de nanocompositos con AgNPs a 2mL de extracto y 2uL de aceite de romero con picos de absorción para el aceite entre 220 a 240 siendo el pico más prominente en 229nm y para el metal entre 405 a 411 nm.

Caracterización de Nanocompositos con aceite esencial de romero por Dispersión de Luz Dinámica (DLS).

El tamaño de los nanocompositos se registró en la Tabla 7, donde se compara los diferentes volúmenes utilizados en el extracto para las nanopartículas con el aceite esencial y verificar el incremento de tamaño respecto al volumen utilizado.

Tabla 7.

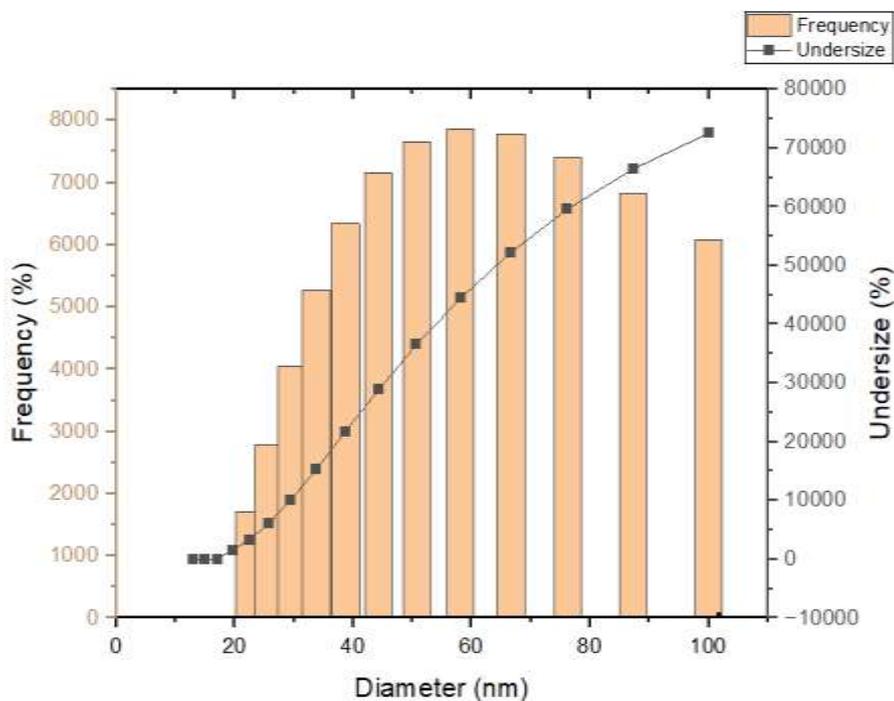
Datos del tamaño de las nanocompositos de plata (AgNPs) con aceite esencial de romero.

Volumen de extracto de romero (mL)	Volumen de aceite de romero (uL)	AgNps	NCs MF1				
0,5	1	M1	77,3	80,2	82,6	85,7	87,6
		M2	87,5	92,4	86,2	97,9	81,4
		M3	88,6	89,1	93,3	95,5	92,9
		M4	92,3	87,6	86,1	91,9	94,6
		M5	89,7	85,9	97,7	86,5	92,2
	NCs MF2						
	2	M2.1	127,8	135,7	132,6	126,7	117,8
		M2.2	137,9	146,5	138,4	135,2	134,5
		M3.3	142,2	152,3	141,9	145,4	142,2
		M2.4	141,7	142,2	144,1	156,1	155,3
M2.5		147,3	156,1	157,2	153,9	167,1	
NCs MF3							
2	1	M1	177,2	178,3	182,3	175,8	170
		M2	178,5	178,5	168,7	174,2	175,7
		M3	184,6	181,6	177,3	186,4	165,3
		M4	177,7	172,2	176,1	180,6	175,2
		M5	189,8	188,1	186,9	185,7	175,9
	NCs MF4						
	2	M2.1	190,4	185,3	198,3	193,9	195,4
		M2.2	190,3	185,8	198,2	193,7	194,6
		M3.3	190,6	182,1	198,5	192,8	191,7
		M2.4	190,9	184,3	198,8	193,8	190,9
M2.5		190,3	185,1	197,9	192,9	193,5	

Nota. tabla de tamaños de nanocompositos (NCs) con respecto a los diferentes volúmenes de extracto y aceite de romero en la síntesis verde, obtenidos en 5 repeticiones por cada muestra de nanopartículas de plata (AgNPs).

Figura 22.

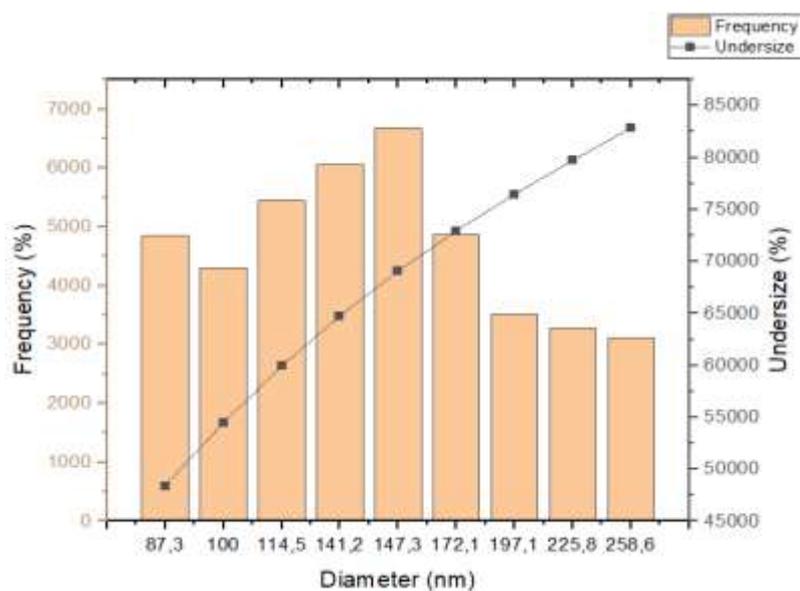
Caracterización de nanocompositos a partir de AgNPs con 0.5mL de extracto y 1uL de aceite de romero en el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS).



Nota. Tamaño de nanocompositos respecto al volumen de 0.5mL de extracto y 1uL de aceite esencial de romero obteniendo un tamaño de 88.9nm.

Figura 23.

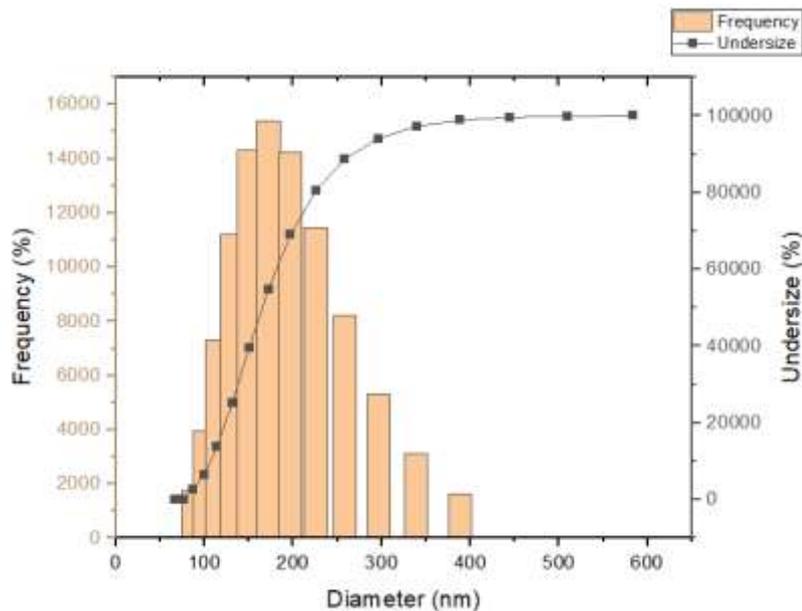
Caracterización de nanocompositos a partir de AgNPs con 0.5mL de extracto y 1uL de aceite de romero en el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS).



Nota. Tamaño de nanocompositos respecto al volumen de 0.5mL de extracto y 2uL de aceite esencial de romero obteniendo un tamaño de 141.1nm.

Figura 24.

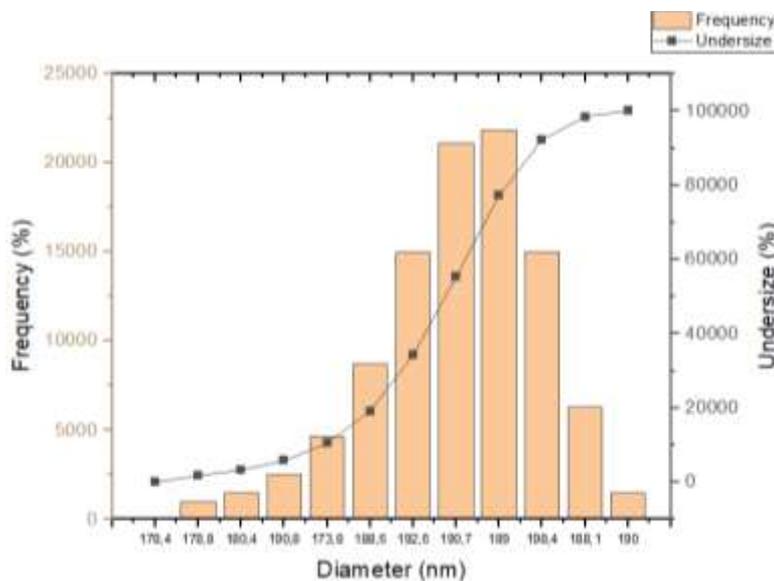
Caracterización de nanocompositos a partir de AgNPs con 2mL de extracto y 1uL de aceite de romero en el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS).



Nota. Tamaño de nanocompositos respecto al volumen de 2mL de extracto y 1uL de aceite de romero nos da 178,5 nm

Figura 25.

Caracterización de nanocompositos a partir de AgNPs con 2mL de extracto y 2uL de aceite de romero en el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS).

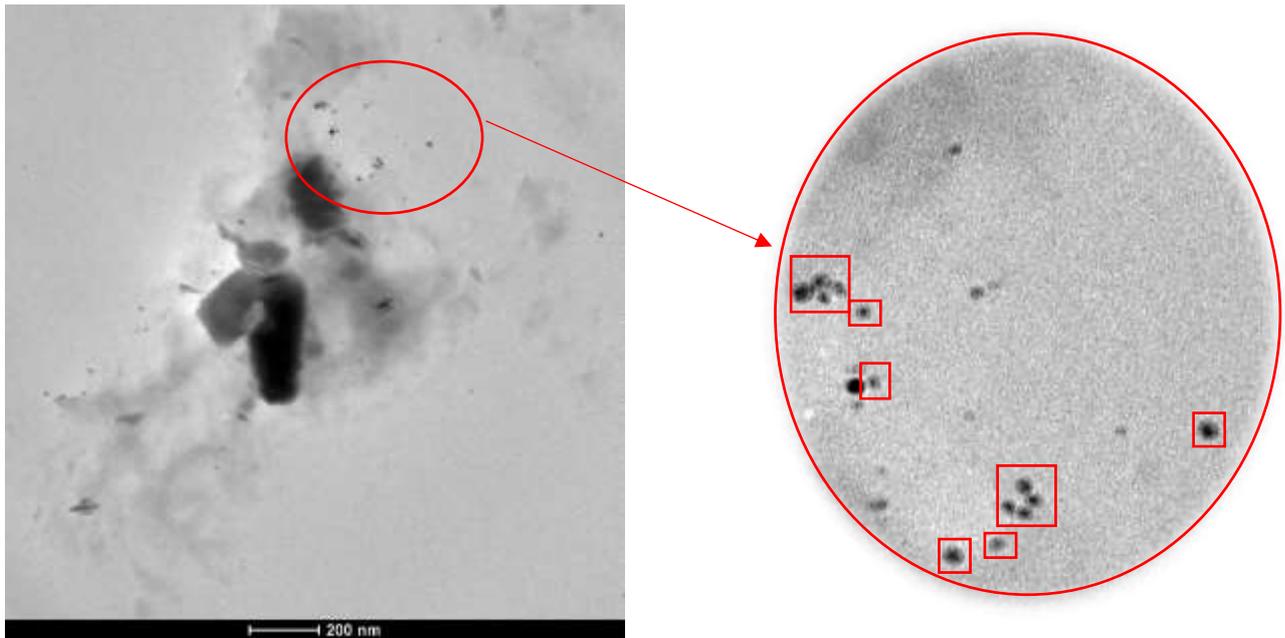


Nota. Tamaño de nanocompositos respecto al volumen de 2mL de extracto y 2uL de aceite de romero nos da 192 nm.

Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Figura 26.

Nanocompositos (NCs) visualizadas en TEM



Nota. Nanocompositos (NCs) visualizados en el TEM realizados zoom para una mejor observación de la formación del nanocompuesto que se encuentra encapsulado por el aceite esencial de romero recubriendo las nanopartículas de plata (AgNPs), son los que se encuentran en un cuadro rojo evidenciando la nanomicela formada por el método de sonicación.

Diseño experimental

Se realizó una tabla de contingencia de promedios en base a datos extraídos en múltiples iteraciones variando tanto el volumen de aceite (entre 1 y 2uL) y el volumen del extracto de romero (entre 0.5 y 2mL) obteniendo diferentes tamaños según la combinación entre aceite y extracto de romero.

Tabla 8.

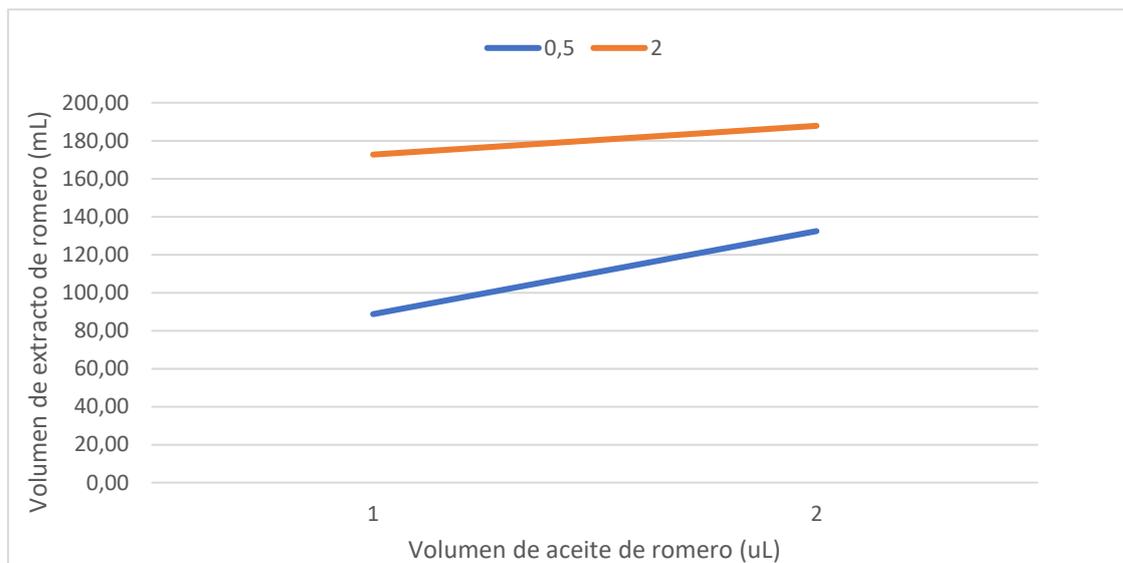
Tabla de contingencia de promedios volumen de extracto y aceite de romero.

		(Volumen de aceite)	
		1	2
(Volumen de extracto de romero)	0.5	88.70	132.40
	2	172.70	187.84

Una vez encontrada dicha tabla, se procedió a realizar dos gráficas de interacción

Figura 27.

Gráfica de interacción volumen de extracto de romero vs volumen de aceite esencial de romero.

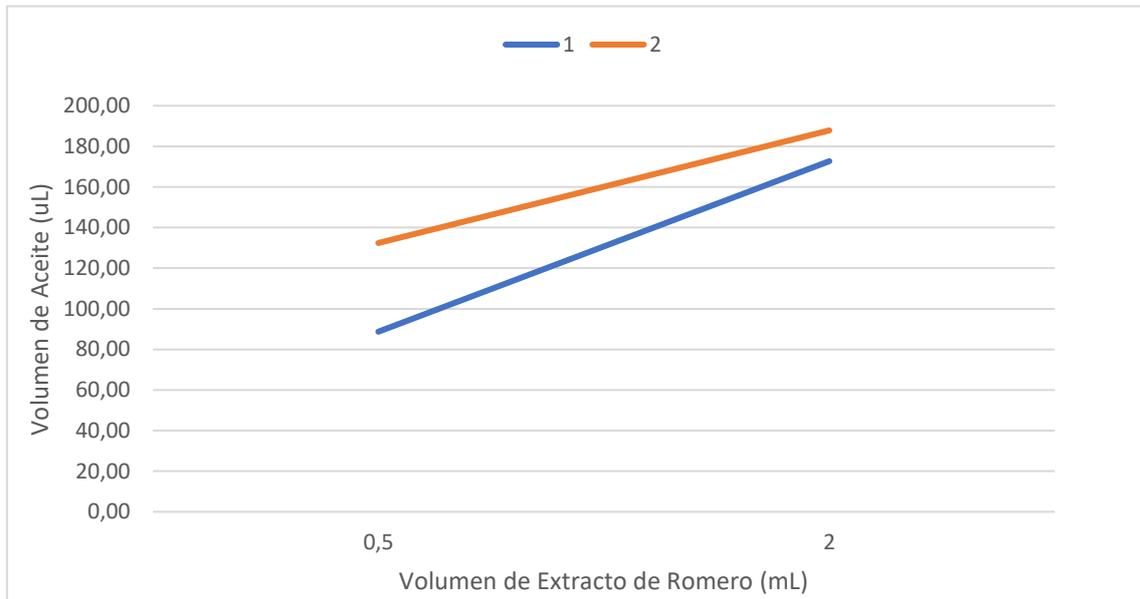


Según la evidencia muestral, se puede analizar de manera descriptiva que, para minimizar el tamaño de los nanocompositos, el volumen de aceite puede ser entre 1 y 2uL, considerando necesario trabajar con un volumen de extracto de Romero de 0.5mL. De igual manera se puede constatar que hay un cambio más significativo en el tamaño si se trabaja con un volumen de extracto de Romero de 0.5mL siendo cada vez mayor el tamaño a mayor volumen de aceite, sin embargo, si se trabaja con un

volumen de extracto de Romero de 2mL, si bien se mantiene la relación de crecimiento entre el tamaño y el volumen de aceite, el tamaño no cambia de manera significativa.

Figura 28.

Gráfica de interacción volumen de aceite vs volumen de extracto de romero.



De igual forma, según la evidencia muestral, se analiza que, para minimizar el tamaño, es recomendable trabajar con un volumen de aceite con 1 (uL), sin embargo, el tamaño puede crecer fácilmente a mayor cantidad de volumen de extracto de Romero, por lo que se puede decir que dicho volumen es el que determina realmente el tamaño que deseamos obtener.

Análisis de la varianza

Análisis de la varianza

Variable N R² R² Aj CV
 Tamaño 20 0,99 0,99 2,31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	31771,91	3	10590,64	871,72	<0,0001
[Extracto]	23968,12	1	23968,12	1972,83	<0,0001
[Aceite]	5731,14	1	5731,14	471,73	<0,0001
[Extracto]*[Aceite]	2072,65	1	2072,65	170,60	<0,0001
Error	194,39	16	12,15		
Total	31966,30	19			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 12,1491 gl: 16

[Extracto] Medias n E.E.

0,50 116,02 10 1,10 A

2,00 185,25 10 1,10 B*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)***Test:Duncan Alfa=0,05***Error: 12,1491 gl: 16*[Aceite] Medias n E.E.

1 133,71 10 1,10 A

2 167,56 10 1,10 B*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)***Test:Duncan Alfa=0,05***Error: 12,1491 gl: 16*[Extracto] [Aceite] Medias n E.E.

0,50 1 88,91 5 1,56 A

0,50 2 143,12 5 1,56 B

2,00 1 178,50 5 1,56 C

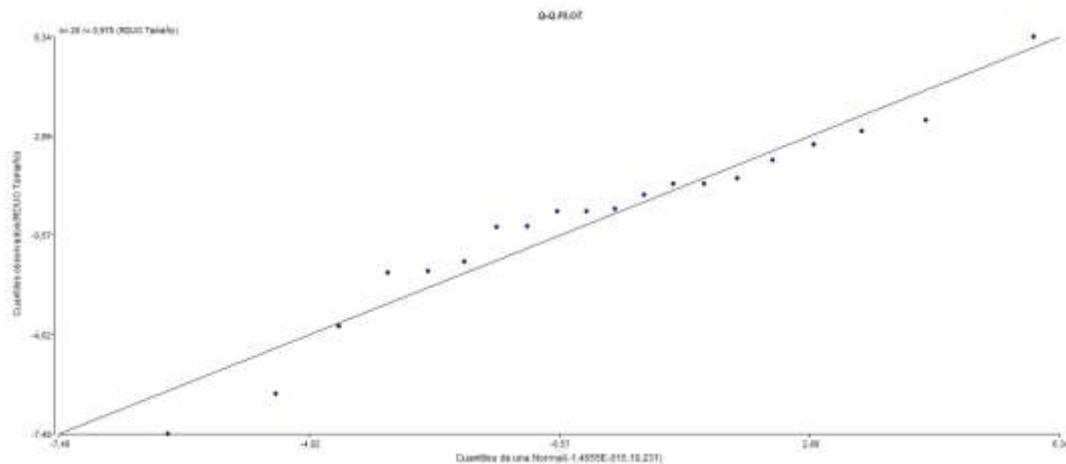
2,00 2 192,00 5 1,56 D*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)*

Para el análisis estadístico se realizó promedios de los datos obtenidos para trabajar con una muestra de 20 datos, haciendo un ANOVA con las variables independientes que son volumen del extracto y volumen de aceite de romero, con la variable dependiente que es el tamaño del nanocomposito, agregando interacciones se realizó comparaciones utilizando Duncan ya que es un estudio de laboratorio, se logra explicar que el cambio del tamaño de los nanocompositos tiene relación con las diferentes concentraciones utilizadas de las variables mencionadas anteriormente, dando como resultado valores $p > 0,0001$ que indican un correcto modelo estadístico con interacciones estadísticamente significativas comprobando que el mejor tratamiento es el que presenta menor concentración de extracto y aceite de romero.

Se verificó supuestos utilizando la gráfica Q-Qplot para comprobar la normalidad del conjunto de datos teniendo una tendencia lineal y próximos a la recta si existen datos muy alejados son datos atípicos que no se ajustan a la distribución normal por esto se realizó la gráfica de probabilidad en InfoStat, donde se puede ver la relación de los datos de manera lineal teniendo veracidad en los análisis realizados.

Figura 29.

Gráfica de normalidad de los residuos Q-Qplot.



Inferencia basada en una muestra

Prueba de normalidad (Shapiro- Wilks) es una prueba de comprobación obteniendo un valor p alto a 1% para demostrar que está correcta la normalidad que analizamos en la gráfica Q-Qplot.

Shapiro-Wilks (modificado)

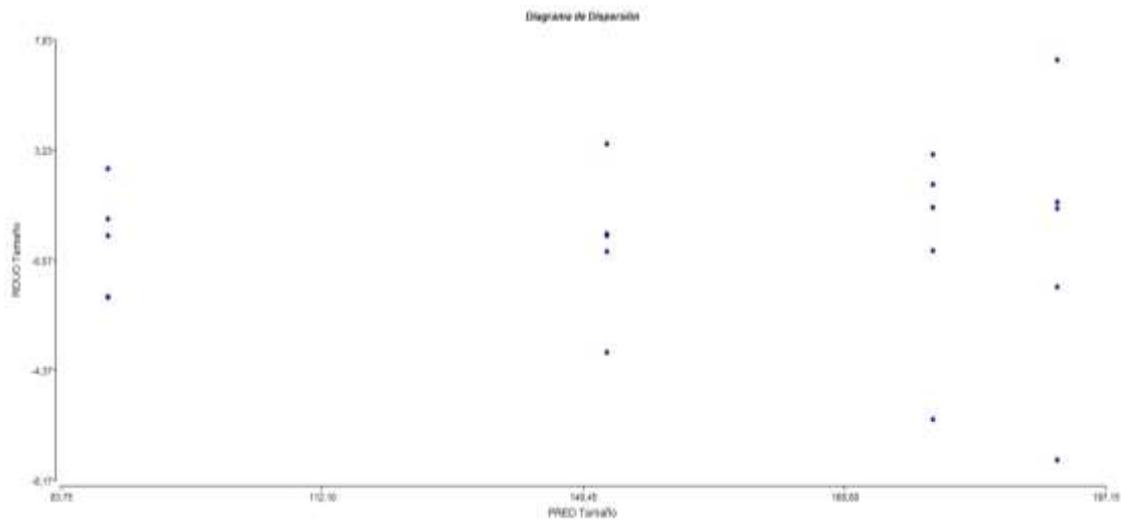
Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Tamaño	20	0,00	3,20	0,96	0,7028

Supuesto de homogeneidad u homocedasticidad

Por un diagrama de dispersión obtenido por residuos vs valores predichos en el programa InfoStat, confirmó el supuesto del valor-P siendo 0.05 sin presentar diferencia estadísticamente significativa con respecto a la desviación estándar evaluado en intervalos de confianza al 95%.

Figura 30.

Diagrama de dispersión de los residuos vs los predichos.



Análisis de Levene

Se considera este análisis estadístico inferencial para comprobar la igualdad de las varianzas de la variable calculada de residuos absolutos obtenidos de la parte experimental con las variables independientes teniendo el valor p del modelo <0.05 suponiendo que las varianzas son iguales por lo cual tenemos la homocedasticidad de las varianzas.

Análisis de la varianza

Variable N R² R² Aj CV
RABS Tamaño 20 0,16 0,01 93,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	14,36	3	4,79	1,04	0,4033
[Extracto]	11,50	1	11,50	2,49	0,1342
[Aceite]	1,78	1	1,78	0,39	0,5435
[Extracto]*[Aceite]	1,08	1	1,08	0,23	0,6359
Error	73,93	16	4,62		
Total	88,29	19			

Capítulo V: Discusión

Extracción del extracto de romero

La extracción de metabolitos secundarios obtenidos en el laboratorio por maceración es considerada una de las técnicas más utilizadas en adquirir extractos acuosos del romero a partir de hojas y tallos fresco, controlando parámetros de temperatura para impedir el desarrollo de microorganismos (Zoral et al., 2018). Por lo tanto, el extracto se mantiene a temperatura ambiente sellado con papel aluminio y papel film para evitar el ingreso de luz y microorganismos logrando un extracto de color verde intenso (figura 6b.)

Se consiguió el extracto de romero por el método de maceración siendo un tipo de extracción sólido- líquido, con el uso de disolventes orgánicos para tener resultados satisfactorios sin residuos tóxicos, por lo cual utilizamos etanol al 96% y agua destilada, coincidiendo con la bibliografía se adquiere una solución hidroalcohólica que funciona como agente extractor en las hojas y tallos del romero (Endo et al., 2018), ganando moléculas fenólicas como el ácido carnosínico, carnosol y ácido rosmárico que presentan propiedades antioxidantes.

Para conseguir un producto libre de residuos sólidos se puede centrifugar logrando la separación rápida por la fuerza gravitacional acelerada y la filtración para facilitar la remoción de sólidos. por lo tanto, se aplicó los métodos de centrifugar y filtrar para obtener un extracto libre de impurezas con la eliminación de sólidos, presentando un color amarillo claro (figura 6e).

En la caracterización del extracto de romero se utilizó el equipo de espectroscopia UV-vis presentando una absorbancia con longitud de onda entre 200 a 350 nm (figura 7), que pueden corresponder a los componentes bioactivos mayoritarios como compuestos fenólicos (ácido carnosínico, carnosol y ácido rosmárico), bibliográficamente los espectros de absorción UV de la muestra pura para el ácido rosmárico (AR) con picos máximos de absorbancia a 330 nm y 280 nm, por otro lado el ácido carnosínico (AC) a 240 nm y 280 nm (Baroni, 2014).

Extracción de aceites esenciales

Utilizando la técnica de arrastre por vapor logramos obtener el aceite esencial de romero (figura 8), siendo un método por el que se consigue dos líquidos inmiscibles a temperaturas menores de la ebullición del agua adquiriendo componentes volátiles por una corriente de vapor de agua. Los vapores condensados forman dos líquidos inmiscibles que se separan por gravedad (Armijo C. et al., 2012).

Propiedades físicas que presenta el aceite esencial de romero es un aroma intenso a alcanfor (Bilska et al., 2019). Como componentes principales encontrados en el aceite esencial de romero tenemos a α -pineno, el acetato de bornilo, el alcanfor y el 1,8-cineol (Ebrahimi et al., 2020).

Síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs)

Las nanopartículas de plata con extractos naturales son un método eficaz, fácil, no tóxico siendo eco-amigable con el ambiente (Flores C. , 2014). Aprovechando la reducción de la plata con extracto de romero que presenta una composición de moléculas fenólicas que tienen actividad antioxidante.

El análisis de espectroscopia UV-vis se lo realizó para detectar la presencia de nanopartículas de plata teniendo picos de absorbancia con longitud de onda de 409 y 399 nm a dos volúmenes de extracto de romero (0.5 y 2mL) respectivamente (figura 9 y 10). También podemos indicar que la forma de las AgNPs es esférica ya que se encuentran dentro del rango de 390 a 420 nm que pertenecen a este tipo de forma; si la longitud de onda se presenta entre 420 y 553 nm las estructuras son cúbicas o triangulares (Rojas-Lema et al., 2015).

Es importante mencionar que si el ancho de banda es amplio no tendríamos tamaños pequeños si no tamaños grandes de nanopartículas En la figura 11 podemos observar las bandas obtenidas en el UV-vis y se comprueba que a más volumen de extracto se obtiene un tamaño mayor de nanopartícula por la banda más ancha y esto se verifico en el equipo de dispersión de luz dinámica DLS con los tamaños obtenidos

de la media, por lo tanto, es mejor trabajar con volúmenes más pequeños de extracto (figuras 12 y 13) (Rojas-Lema et al., 2015).

El equipo utilizado en la caracterización de nanopartículas que ayuda con la visualización de tamaños, distribución y forma esféricas se presenta en las AgNPs, es la microscopía electrónica de transmisión conocida como TEM (figura 14).

Síntesis de nanocompositos

La observación del aceite esencial de romero en el UV-vis nos permite determinar la posible composición del aceite por el grupo funcional con una longitud de onda entre 215 a 250nm que representa la presencia de compuestos insaturados, mientras que si supera los 250 hasta 270nm son compuestos aromáticos.

En las muestras obtenidas se analiza la absorbancia con una longitud de onda de 229nm para el aceite esencial, con 1uL y 2uL de aceite con 0.5mL de extracto de romero (figuras 14 y 15), también tenemos nanopartículas de plata con 2mL de extracto con 1uL y 2uL de aceite de romero (figuras 16 y 17), se puede evidenciar que la longitud de onda del aceite se mantiene a diferentes volúmenes existiendo la presencia de varios picos por la concentración de aceite que aumenta y esto interfiere en la medición, mientras que las nanopartículas de plata (AgNPs) se visualiza su curva entre los 399 a 415 nm teniendo como resultado mejores gráficas a menores volúmenes de aceite y extracto de romero que nos indica la presencia de compuestos insaturados en mayor proporción.

Los aceites esenciales presentan varios componentes como: ácidos orgánicos, saponinas y taninos, que tienen propiedades antifúngicas, antiinflamatorias, antimicrobianas, antioxidantes, antibacterianas, insecticidas (Zinicovscaia et al., 2020), los componentes mencionados son los posibles valores en la curva de absorbancia.

Como método de verificación de los tamaños de los nanocompositos se utilizó el equipo de dispersión de luz dinámica DLS con tamaños de 80 – 200 nm dependiendo la cantidad de extracto y aceite esencial de romero utilizado (figuras 18, 19, 20 y 21) que concuerda con el aumento de tamaño ya que el equipo mide el aceite

esencial de romero y nanopartículas de plata adherido a éste (Niño-Martínez et al., 2008)

El uso del ultrasonido para homogenizar la muestra ayuda a incrementar la eficiencia en la obtención de los compuestos bioactivos y formación del nanocomposito a diferentes volúmenes de extracto y aceite de romero. Considerando que la mezcla debe ser homogenia esto puede indicar que se formaron los nanocompositos de manera correcta para verificar la unión de nanopartículas de plata con aceite esencial de romero presentando un color amarillo sin fases formando una solución (figura 14). (Hosseinie et al., 2018)

El método utilizado en la caracterización de nanocompositos (NCs) de tamaños, distribución dispersa y forma esférica nos determina la microscopia electrónica de transmisión conocida como TEM (figura 24).

Capítulo VI: Conclusiones

- La maceración y filtración son métodos utilizados para obtener un extracto acuoso con capacidad antioxidante por la presencia de compuestos fenólicos como el ácido carnosínico, carnosol y ácido rosmárico interviniendo en reacciones redox generando radicales libres; con una absorbancia con longitud de onda entre 200 a 350nm, que se encuentra el ácido rosmárico (AR) con picos máximos de absorbancia entre 330 nm y 280 nm, por otro lado el ácido carnosínico (AC) a 240 nm y 280 nm, siendo los componentes más destacados en la muestra.
- La obtención de aceites esenciales de romero se obtuvo por el método de arrastre por vapor, con valores de rendimiento 1.10%, índice de refracción 1.4695 y densidad 0.8111 del romero, estando dentro del rango encontrado bibliográficamente.
- Se aplicó síntesis verde para la obtención de nanopartículas de plata con el extracto de romero actuando como agentes reductores en la reacción ayudando a la reducción de la plata cero valente.
- En la caracterización de nanopartículas de plata se obtuvo una absorbancia con longitud de onda de 409 y 399nm con un diámetro de 9,5 y 19.2nm, para el volumen de extracto (0.5 y 2mL) respectivamente; presentando forma esférica con tamaños pequeños a menor volumen de extracto de romero.
- Se obtienen nanocompositos de plata con aceite esencial de romero a diferentes volúmenes de extracto (0.5 y 2mL) y de aceite (1 y 2uL), formando nanomicelas con fase acuosa y la fase oleosa logrando la unión por sonicación.
- En la caracterización de nanocompositos en el UV-vis se puede comparar las bandas que demuestra un incremento en el tamaño dependiendo el volumen de extracto y aceite que se utilice, definiendo que el tratamiento 1 con valores pequeños (extracto: 0.5mL y aceite: 1uL) es el adecuado para obtener nanocompositos esféricos.

- Si se aumenta el volumen de extracto de romero tenemos datos significativos con respecto al aumento de tamaño, que cuando se aumenta el volumen de aceite de romero.

Capítulo VII: Recomendaciones

- Buscar alternativas para elaborar un proceso de caracterización del extracto de romero más idóneo que presente una estabilidad que no influya en la síntesis de nanocompositos con un tamaño adecuado.
- Se recomienda sintetizar nanocompositos con citrato trisódico como solvente para el aceite de romero en las nanopartículas de plata, utilizando diferentes volúmenes para probar su efectividad.
- Realizar estudios de estabilidad a los nanocompositos variando las concentraciones de solventes y probando cual sea más óptimo para conservar mejor el nanomaterial con respecto al tiempo.
- Seguir trabajando con compuestos orgánicos sin adicionar químicos que sean perjudiciales a la salud considerando la síntesis verde para conseguir productos amigables con el ambiente.
- Se recomienda mandar las muestras a los equipos de microscopia electrónica de barrido (SEM) y de transmisión (TEM) para tener datos exactos del tamaño y forma que presentan las nanopartículas de plata y los nanocompositos.

Capítulo VIII: Bibliografía

- Alarcon, E., Griffith, M., & Udekwu, K. (2015). *Silver Nanoparticle Applications: In the Fabrication and Design of Medical and Biosensing Devices*. Springer, New York.
- Anandalakshmi, K., & Venugobal, y. J. (2017). *Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using Vitex negundo (Karu Nochchi) Leaf Extract and its Antibacterial Activity*. *Medicinal Chemistry* 07.07, 218-225: <https://bit.ly/3xddb5u>. Ávalos, A., A. Haza y P. M.
- Andrade, J., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C., & Rijo, P. (2018). *Rosmarinus officinalis L.: an update review of its phytochemistry and biological activity*. *FUTURE SCIENCE OA*, 4(4).
<https://doi.org/https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0124>
- Arazo, M., Alarcón, A. B., Becerra, M. M., & Roche, L. D. (2015). Rendimiento y poder reductor de diferentes extractos de frutos de garcinia tinctoria (choisy) w. F. Wight. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 25(1), 37-40.
<https://www.revcitecal.iiiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/304/262>
- Arias, O. J., & Palma, H. M. (2019). *Elaboración de un compuesto antimicrobial con nanoparticulas de plata sintetizadas a partir del extracto de hojas de romero (rosmarinus officinalis), para ser aplicado en frutas frescas*.
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39845/1/401-1347%20-%20Elaborac%20compuesto%20antimicrobial%20con%20nanoparticulas%20de%20plata.pdf>
- Armijo C., J., Vicuña G., E., Romero y Otiniano, P., Condorhuamán C., C., & Hilario R., B. (2012). MODELAMIENTO Y SIMULACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES MEDIANTE LA DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR. *Revista Peruana De Química E Ingeniería*

Química.

<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4967>

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & al., e. (2008). *Biological Effects of Essential Oils A Review*.

Baroni, M. V. (2014). *Acción antitumoral del ácido carnósico, sobre células humanas de cáncer colorrectal*. <http://ridaa.unq.edu.ar/handle/20.500.11807/87>

Bartoli, F., Zuena, M., Sodo, A., & Caneva, G. (2021). *The efficiency of biocidal silica nanosystems for the conservation of monuments: Comparative in vitro tests against Epilithic Green Algae*. *Applied Sciences*.

<https://doi.org/10.3390/app11156804>

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(991).

<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s42452-020-2813-1>

Beltrán, K. L., Déciga, M., Aguilar, H., González, M. E., Martínez, M. F., Ramírez, M. A., . . . Y López, F. J. (2017). *Synergistic antinociceptive interaction of Syzygium aromaticum or Rosmarinus officinalis coadministered with ketorolac in rats*.

Biomedicine & Pharmacotherapy,

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.166>

Bilska, A., Kobus, J., Kmiecik, D., Danyluk, B., Kowalski, R., Szymanowska, D., . . . & Szczepaniak, O. (2019). Cholinesterase inhibitory activity, antioxidative potential and microbial stability of innovative liver pâté fortified with rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*). *Electronic Journal of Biotechnology*, 40, 22-29.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2019.03.007>

- Campos, Y., & Páez, T. (2022). Nanotecnología en el mundo: marco regulatorio. Universidad Internacional SEK:
<https://repositorio.uisek.edu.ec/handle/123456789/4603>
- Castaño, H. (2010). Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. *Vitae, revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169815396006.pdf>.
- Cho, T., & Hackley, V. (2010). *Fractionation and characterization of gold nanoparticles in aqueous solution: asymmetric-flow field flow fractionation with MALS, DLS, and UV-Vis detection*. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-4133-6>
- Datiles, M., & Acevedo, P. (2014). *Rosmarinus officinalis* (rosemary). *CABI Compendium*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1079/cabicompendium.47678>
- Dong, C., X, Z., H, C., & Ch., y. C. (2016). *Green synthesis of biocompatible silver Nanoparticles mediated by Osmanthus fragrans extract in aqueous solution*.
- Ebrahimi, E., Haghjou, M., Nematollahi, A., & Goudarzian., &. (2020). Effects of rosemary essential oil on growth performance and hematological parameters of young great sturgeon (*Huso huso*). *. Aquaculture*(521), 1-6.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734909>
- Endo, E. H., Costa, G. M., Makimori, R. Y., Ueda-Nakamura, T., & Nakamura, C. V. (2018). Anti-biofilm activity of *Rosmarinus officinalis*, *Punica granatum* and *Tetradenia riparia* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and synergic interaction with penicillin. *. Journal of Herbal Medicine*.
<https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.07.001>
- Faraday, J., & Turkevich, E. (2009). *Nanopartículas de plata*.
- Flores, C. (2014). *Nanopartículas de plata con potenciales aplicaciones en materiales implantables: síntesis, caracterización fisicoquímica y actividad bactericida*.

http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/34946/Documento_completo.%20Flores%20-%20Area%20Qu%C3%ADmica.pdf?sequence=1.

Flores, E., Sáenz, A., Castañeda, A., & Narro, R. (2020). *Romero (Rosmarinus officinalis L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios*. *Tip revista especializada en ciencias químico-biológicas*: <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266>

Gómez-Garzón, M. (2018). Nanomateriales, Nanopartículas y Síntesis verde. *Revista Repertorio de Medicina y Cirugía*. 27. <https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.v27.n2.2018.191>.

Hiemenz, P. C., & Rajagopalan, R. (2016). *Principles of Colloid and Surface Chemistry*.

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*.

Hosseinie, H., Bolourian, S., & Yaghoubi, E. &. (2018). Optimization of heat and ultrasound-assisted extraction of polyphenols from dried rosemary leaves using response surface methodology. *Journal of Food Processing and Preservation*.

ISO, I. (2015). *nanotechnologies-Vocabulary part 1: Core terms*. International Organization for Standardization. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:68058:en>.

Kim, J., Rheem, Y., Yoo, B., Chong, Y., Bozhilov, K., Kim, D., . . . Myung, N. (2010). Peptide-mediated shape- and size-tunable synthesis of gold nanostructures. *Acta Biomaterialia*, 6, 2681-2689. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.01.019>

- Lax Vivancos, V. (2014). *Estudio de la Variabilidad Química, Propiedades Antioxidantes y Biocidas de Poblaciones Espontáneas de Rosmarinus Officinalis L.* <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/284820/TVLV.pdf>.
- Lemjallad, L., Chabir, R., Kandri, Y., El Ghadraoui, L., Ouazzani, F., & Errachidi, F. (2019). Improvement of Heliciculture by Three Medicinal Plants Belonging to the Lamiaceae Family. *The Scientific World Journal*.
<https://doi.org/10.1155/2019/2630537>
- Logeswari, P., Silambarasan, S., & Abraham, J. (2015). Synthesis of silver nanoparticles using plants extract and analysis of their antimicrobial property. *Journal of Saudi Chemical Society*, 19(3), 311-317.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jscs.2012.04.007>
- Naccari, V., Orlandella, B. M., Fisichella, V., Naccari, F., & Caracappa, S. (2017). Effectiveness of Thymus vulgaris essential oil in the treatment of skin infections in dogs. *Open Journal of Veterinary Medicine*.
- Neto, V. (2019). *Esquema representativo de la síntesis de nanopartículas (Nanoparticle synthesis technique)*.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nanoparticle_synthesis_techniques.jpg
- Nieto, G., Ros, G., & Castillo, J. (2018). Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (Rosmarinus officinalis, L.): A Review. *Medicines*, 5(3), 98.
[https://doi.org/ https://doi.org/10.3390/medicines5030098](https://doi.org/https://doi.org/10.3390/medicines5030098)
- Niño-Martínez, N., Martínez Castañón, G., Aragón-Piña, A., Martínez-Gutiérrez, F., Martínez-Mendoza, J., & Ruiz, F. (2008). Characterization of silver nanoparticles synthesized on titanium dioxide fine particles. *Nanotechnology*, Vol 19(6), 1-8. <https://doi.org/10.1088/09574484/19/6/065711>

- Okpala, C. (2013). *Nanocomposites - an Overview*. .
<https://www.semanticscholar.org/paper/Nanocomposites-An-Overview-Okpala/1dc6d21b90dfb16028f536a0643aa3953e836011>
- Pardo, L., Arias, J., & Molleda, P. (2022). Elaboración de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extracto de hojas de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y su uso como conservante. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. Vol. 35(1):45-58., 35(1), 45-58.
<https://doi.org/http://doi.org/10.17163/lgr.n35.2022.04>.
- Pastene, E. R. (2009). Estado actual de la búsqueda de plantas con actividad antioxidante. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 8,(6), 449-455.
<https://doi.org/https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85617461001>
- Purca, P. (2013). *Efectividad antibacteriana "in vitro" del extracto de Rosmarinus officinalis (romero) sobre flora salival*. <https://bit.ly/3vfogRY>.
- Quinzi, M., & Di Francesco, G. (2020, Abril 6).
- Rojas-Lema, Guerrero, S. &, & Alexis., V. &. (2015, Junio). *ResearchGate*.
ResearchGate:
https://www.researchgate.net/publication/277555627_Propiedad_Bactericida_de_Telas_de_Algodon_Impregnadas_con_Nanoparticulas_de_Plata
- Ruzzene, S., Sete, R. M., Botelho, E. L., & Alberton, O. (2019). Meta-analysis of Lamiaceae and Euphorbiaceae medicinal plants inoculated with Arbuscular mycorrhizal fungi. *Australian Journal of Crops Science*.
- Sahoo, S. (2014). *Use of nanotechnology in agriculture*. . *Science Horizon*(19), 577 – 581.

- Saleh, T. A. (2022). *Development and synthesis of nanoparticles and nanoadsorbents*.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-849876-7.00004-x>
- Sánchez, M. M. (2017). *Nanopartículas de plata: preparación, caracterización y propiedades con aplicación en inocuidad de los alimentos Master Thesis*.
- Shahidi, F., P.K., Janitha, & Wanasundara., & P. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. (32), 67-103.
- Torres, I. (2017). *Síntesis verde y caracterización de nanopartículas de oro y plata*.
<https://bit.ly/3gyO0Er>.
- Vanlalveni, C., Lallianrawna, S., Biswas, A., Selvaraj, M., Changmai, B., & Rokhum, S. L. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: a review of recent literature. *Royal Society of Chemistry*, 11, 2804-2837. <https://doi.org/10.1039/D0RA09941D>
- Zheng, W., & Wang., & S. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49(11), 5165-5170.
- Zinicovscaia, I., Gundorina, S., Vergel, K., Grozdov, D., Ciocarlan, A., Aricu, A., & Dragalin, I. &. (2020). *Elemental analysis of Lamiaceae medicinal and aromatic plants growing in the Republic of Moldova using neutron activation analysis*.
<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.10.009>
- Zoral, M., Ishikawa, Y., Ohshima, T., Futami, K., Endo, M., & Maita, M. &. (2018). *Toxicological effects and pharmacokinetics of rosemary (Rosmarinus officinalis) extract in common carp (Cyprinus carpio)*. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.048>