

Síntesis de nanopartículas de oro utilizando nano-emulsiones y extractos naturales como agentes reductores.

Synthesis of gold nanoparticles using nano-emulsions and natural extracts as reducing agents.

Frausto Gascón Juan Salvador¹, García Fimbres Alexa Yael¹, Gutierrez Aranda Celia Paola¹, Hernández Muñoz Ximena Dannae¹, Orozco Fernández Paola¹, Razo Lazcano Teresa Alejandra¹, González Muñoz María del Pilar¹

¹Departamento de Química, sede Pueblito de Rocha, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Cerro de la Venada s/N, C.P. 36040, Guanajuato, Guanajuato, México.

Resumen.

En este trabajo se han utilizado los sistemas de micro y nano emulsiones para la síntesis de nanopartículas de oro. El sistema de emulsión está conformado por una fase oleosa, la cual esta compuesta por aceite de ricino, Brij O 10 y 1,2-hexanodiol como surfactante y co-surfactante respectivamente, y una fase acuosa que esta compuesta por el extracto de hojas de chaya maya (*Cnidoscolus chayamansa*) ó malva (*Pelargonium odoratissimum*) que actúa como agente reductor más el precursor inorgánico de A(III). Se lograron sintetizar nanopartículas que fueron caracterizadas por espectroscopía Uv-Vis, DLS y STEM. El uso de los sistemas aquí descritos pueden ser utilizados para la síntesis de nanopartículas metálicas, mediante una metodología sencilla, en condiciones de reacción suaves y con una baja o nula toxicidad.

Palabras clave: Nanopartículas de oro; Micro emulsión; Chaya maya; Malva.

Introducción.

La nanotecnología se emplea para describir la creación y manipulación de materiales con características estructurales a nivel nanométrico, escala en la cual las propiedades físicas y químicas de los sistemas son diferentes y únicas.¹ Uno de los intereses de la nanotecnología, son las nanopartículas metálicas. Estas se definen como agregados aislados de átomos de tamaño entre 1 y 100 nm,² rodeados de una cápsula estabilizadora o protectora que les permite dispersarse y evitar la aglomeración [1]. Las nanopartículas metálicas son uno de los tantos nanomateriales que se pueden sintetizar. Su reducido tamaño abre una amplia gama de aplicaciones como sensores para especies químicas y biológicas, remediación en procesos ambientales, catalizadores en reacciones de importancia a nivel industrial, etc. [2]. Las AuNPs convierten la luz en calor con alta eficiencia, y la longitud de onda de absorción se puede ajustar alterando la forma y tamaño de las AuNPs [3].

Los métodos para obtener nanopartículas metálicas se han diversificado enormemente, por lo que existen variadas técnicas de síntesis. La síntesis de nanopartículas metálicas utilizando microemulsiones y nano-emulsiones, ofrece la ventaja de controlar el tamaño y forma de la nanopartícula a sintetizar y debido a la estabilidad termodinámica y cinética que éstos sistemas muestran, no se necesita de equipos especializados para su formación, por lo que en los últimos años las microemulsiones del tipo W/O como nanoreactores es una técnica que está en constante evolución e investigación en el área de síntesis de nanomateriales. De forma análoga la novedosa síntesis en sistemas del tipo O/W ha demostrado ser eficaz en la obtención de nanopartículas metálicas obteniéndose además la ventaja de la reducción en la cantidad de disolventes orgánicos utilizados para su formulación.

Es importante mencionar que muchos de los sistemas de microemulsiones y nano-emulsiones estudiados hasta el momento para la síntesis de nanopartículas metálicas utilizan grandes cantidades de tensoactivos y disolventes orgánicos, lo cual hace a estos sistemas tóxicos, tanto para los seres vivos como para el medio ambiente. Es por esto que en las investigaciones previas realizadas en el grupo de trabajo se han formulado microemulsiones y nano-emulsiones con bajo impacto en el medio ambiente, utilizando aceites naturales y tensoactivos con una baja o nula toxicidad. Además, de reducir los iones metálicos con extractos de plantas los cuales han mostrado ser eficaces en la síntesis de nanopartículas metálicas debido a los múltiples

componentes con actividad antioxidante, sobre todo en la obtención de nanopartículas de oro y plata. Las plantas presentan compuestos orgánicos como fenoles, terpenoides, alcaloides, esteroides, coenzimas y otros, que actúan como agentes reductores [5]. En este trabajo se utilizó el extracto acuoso de las hojas de *cnidoscolus chayamansa*, comúnmente conocida como chaya maya; y el extracto acuoso de las hojas de *pelargonium odoratissimum*, mejor conocido como malva.

La chaya maya es una planta endémica de la península de Yucatán, México, cuyas hojas se consumen en platillos tradicionales del país y se usan también como tratamiento de enfermedades de origen inflamatorio [6]. Es considerado un recurso renovable ya que crece en una gran variedad de suelos de forma silvestre y puede encontrarse en los traspatios de casas, en jardines y macetas, lo que permite una mayor disponibilidad. Por otra parte la malva es una planta herbácea nativa de Europa pero que se encuentra muy comúnmente en México sobre todo en las casas, su alto contenido en mucílagos le confiere propiedades antiinflamatorias también es utilizada en el tratamiento para afecciones del aparato digestivo [7].



Figura 1. Hojas de *cnidoscolus chayamansa* (chaya maya).



Figura 2. Hojas de *pelargonium odoratissimum* (malva).

La síntesis de nanopartículas metálicas coloidales se realiza con sistemas emulsionados que permiten la estabilización de la reacción. Las nano-emulsiones son sistemas bifásicos que nos permiten obtener un tamaño nanométrico de partículas, poseen un tamaño de gota entre 20 y 200 nm. Las micro-emulsiones son sistemas monofásicos, translúcidas, termodinámicamente estables, en las que pueden coexistir cantidades equivalentes de líquidos no miscibles; poseen un tamaño de gota dispersa en la fase continua entre los 10 a 50 nm [8]. En estos sistemas emulsionados, la presencia de un surfactante hace posible la coexistencia entre aceite y agua. Las nano-emulsiones y las micro-emulsiones se comportan como una fase única, es incoloro y presenta interfase definida al estar en equilibrio con agua y aceite [8].

El objetivo del proyecto fué la síntesis y caracterización de nanopartículas de oro utilizando agentes reductores de extractos vegetales como chaya maya y malva utilizando los sistemas emulsionados. Se utilizaron emulsiones de aceite de ricino como fase oleosa, Brij O 10 como surfactante, 1,2-hexanodiol como co-surfactante, y finalmente extracto natural (chaya maya o malva) con estándar de Au^{3+} como fase acuosa, para facilitar la estabilización de la emulsión. Los reactivos utilizados son de baja toxicidad lo que promueve la aplicación de una química amigable con el ambiente.

Las técnicas que se utilizaron mayoritariamente para la caracterización es la espectroscopía UV-Vis y DLS (dispersión de luz dinámica). La espectroscopía UV-Vis se emplea para la medición de especies presentes en la muestra como las NPs que reflejan un plasmón de resonancia distintivo dependiendo de la morfología y color. La técnica DLS sirve para analizar el tamaño aproximado de las NPs por medio de la medida de su radio hidrodinámico (R_H) [9].

Sección Experimental.

Materiales y reactivos.

Se utilizó como precursor una solución estándar cloruro de áurico de 1000 ppm. Se utilizaron hojas de Chaya maya fueron recolectadas de tres diferentes arbustos todos ubicados en la ciudad de Guanajuato. Para la realización de emulsiones fue utilizado un surfactante Brij 010 y un co-surfactante 1,2-hexanodiol, finalmente para la fase oleosa se utilizó aceite de ricino.

MÉTODOS.

Obtención del extracto de hojas de Chaya Maya.

Se cortó un puño de hojas frescas de chaya maya y se lavaron con agua desionizada para eliminar toda la suciedad. Posterior a esto las hojas se pesaron y se pusieron a secar en una estufa a 50° C - 55° C durante 72 horas. Una vez que las hojas están secas se pesaron y luego se trituraron en el mortero.

Para el extracto realizado se trabajaron y utilizaron dos concentraciones distintas 4 % (m/V) y 5% (m/V) por lo que se pesaron cantidades exactas para su uso en porcentaje en masa de hojas de chaya maya secas sobre volumen de solución, se pone en contacto con 50 mL de agua hirviendo durante 5 minutos con agitación [10]. Finalizando el tiempo de ebullición, se deja enfriar a temperatura ambiente y se inicia con los procesos de filtración mediante filtros de papel No. 4, y membranas hidrófilas de microfiltración de 0.22 μm de diámetro de poro. Finalmente el extracto se afora a 50 mL y se almacena en refrigeración hasta su uso.

Cuantificación de fenoles totales.

Se utilizó el Método Azul de Prussian, esta prueba se basa en una reacción de óxido-reducción donde los iones Fe^{3+} son reducidos a Fe^{2+} por los polifenoles naturales. La determinación se realiza de la siguiente manera: A x del extracto acuoso se le adicionó una cantidad de agua Milli-Q, seguido de la adición de 1 mL $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 0.016 M y 1 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.02 M (en HCl 0.10 M), las soluciones se agitaron con un vórtex y se dejaron reposar por 10 min a temperatura ambiente. Después se adicionó 1 mL de una solución de H_3PO_4 1M y las muestras se aforaron a 10 mL. Se agitaron nuevamente las soluciones y se dejaron reaccionar por 30 min a temperatura ambiente. La reducción de los iones Fe^{3+} del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ por los fenoles tornaron la solución de color azul, formando el complejo ferrocianuro-férrico. Se registró una máxima absorbancia de este complejo entre 700 a 720 nm que fue determinado por UV-Vis. Los estándares y las muestras se prepararon por triplicado y cada serie se determinó por duplicado.

Como estándar se utilizó una solución de ácido gálico (AG) a una concentración de 1 mM. La curva de calibración se realizó en el rango de 0.002-0.012 mM. El contenido de fenoles totales se expresa como mmol AG/g de extracto seco.

Síntesis directa de nanopartículas de oro

Para la síntesis directa se trabajó con 150 ppm y 250 ppm de estándar de Au^{3+} , por lo que para 150 ppm se adicionaron 0.750 μl de solución estándar de Au^{3+} y 1.250 μl para 250 ppm. Posteriormente se completó el volumen a 5 ml con el extracto preparado a dos diferentes concentraciones 4 % y 5 % (porcentaje en masa de hojas de chaya maya sobre volumen de solución). Se deja reaccionar hasta ver su cambio de coloración (puede ser inmediato) y se mide la absorbancia mediante espectroscopia UV - vis.

Síntesis de nanopartículas de oro en nano-emulsiones.

La síntesis de AuNPs en microemulsiones se realizó mezclando las cantidades necesarias de surfactante, co-surfactante y aceite. Se adiciona el precursor en fase acuosa y a la microemulsión formada, se le adiciona lentamente el reductor en agitación constante. La concentración de oro en el sistema está relacionada con la

cantidad total de fase acuosa, manteniendo una concentración de oro de 150 ppm o 250 ppm. El sistema de reacción se mantiene en baño a temperatura constante de 25 °C., se separan las nanopartículas mediante centrifugación y se lavan con acetona y etanol para su posterior caracterización. Posterior a este tiempo, las AuNps se separan por centrifugación a 12000 rpm durante 20 minutos lavando con dos ciclos de etanol y dos ciclos de acetona. Finalmente las nanopartículas se re – suspenden en agua desionizada y realizar su caracterización con UV–Vis, DLS, Potencial Z y STEM.

Comportamiento fásico empleando extracto de Malva al 2%.

La evaluación del sistema fase acuosa / surfactante : co-surfactante (1:1) / fase oleosa se realizó utilizando extracto de Malva al 2% como fase acuosa, Brij O10: 1,2-hexanodiol (1:1) como surfactante y co-surfactante, y aceite de ricino como fase oleosa. Se parte de relaciones iniciales de porcentaje en peso de aceite y surfactante : co-surfactante, a esta relación se le añaden 5% la fase acuosa siguiendo las líneas de dilución (Figura 3). Entre cada adición de extracto se analiza visualmente la mezcla determinando los puntos donde se forma una o más fases. Usando polarizadores cruzados se observan los puntos del diagrama en los que hay formación de cristales líquidos. Una vez que se delimita la zona multifásica, se observa el comportamiento fásico mediante el método de pesado directo, donde se escogen puntos de interés cercanos a la zona delimitada anteriormente y se pesan los componentes en un vial plástico. La emulsión se pone a baño a temperatura constante (25°C) por 30 min, y se observa con polarizadores cruzados en busca de cristales líquidos. Posterior a esto se centrifuga a 4500 rpm por 5 min y se congela por al menos 3 horas para observar la composición de la emulsión [10].

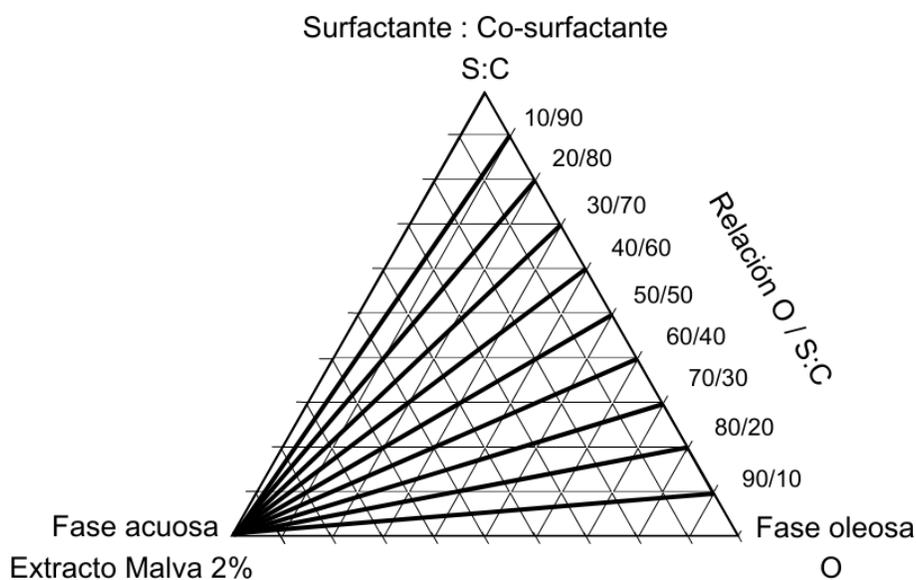


Figura 3. Diagrama ternario de fases: se utilizan las líneas de dilución para hacer un barrido rápido de comportamiento fásico.

Resultados y Discusión.

Cuantificación de fenoles totales.

La naturaleza química de los fenoles que se encuentran en las plantas varía desde formas simples hasta sustancias altamente polimerizadas que incluyen proporciones variables de ácidos fenólicos, fenilpropanos, antocianinas y taninos, entre otros. También pueden existir complejos con carbohidratos, proteínas y otros componentes de la planta. La solubilidad de los compuestos fenólicos está determinada por el tipo de solvente

utilizado (polaridad), el grado de polimerización, así como la interacción de los fenoles con otros constituyentes y la formación de complejos insolubles. No existe un procedimiento uniforme y completamente satisfactorio que sea adecuado para la extracción de todos los polifenoles o de un grupo de sustancias polifenólicas específica a partir de plantas.

Por lo tanto, los extractos fenólicos obtenidos a partir de plantas son siempre una mezcla de diferentes tipos de fenoles que son solubles en el sistema de solvente utilizado. En relación con el rendimiento de la extracción, además de depender del tipo de solvente utilizado, la polaridad y el pH, también depende del tiempo de extracción y de la temperatura, así como de la composición química y las características físicas de la muestra. Para las mismas condiciones de tiempo y temperatura, la naturaleza del solvente y la composición química de la muestra son los factores más importantes.

La cuantificación de fenoles totales de los extractos acuosos de chaya maya, se realizó con dos métodos: Azul de Prussian (AP) donde se representa el contenido de fenoles totales en mG de AG/ g de chaya maya. Se utilizaron extractos al 5 % de hojas obtenidas de tres diferentes arbustos. Se observan diferencias entre los tres diferentes extractos, para las hojas del arbusto 2 se tienen un contenido de fenoles totales de 32.5 mg deAG/g de chaya maya, para el arbusto 3 de 20.2 ppm y para el uno 18.2. Los resultados obtenidos nos muestran que las hojas del arbusto 2 deben ser las que muestren mejores propiedades reductoras.

Síntesis de nanopáticas

Síntesis en ausencia de sistemas emulsionados

Como un estudio preliminar para probar la capacidad del CME en la reducción de Au^{3+} se llevó a cabo la síntesis directa de AuNPs con el CME sin involucrar los sistemas de microemulsión y nano-emulsión. Para estas reacciones, se utilizaron dos extractos distintos, preparados a partir de las hojas de Chaya Maya de dos distintos arbustos. Para ambos casos se utilizó un extracto al 5 %. Se obtuvieron soluciones color naranja claro. Aproximadamente a la hora de poner en contacto el extracto con el precursor, se podía observar claramente como el color se hacía más intenso en cada una de ellas. En el tiempo que se dejaron no se observó precipitación de AuNPs, sin embargo, el cambio de color nos daba indicios de que el Au^{3+} se estaba reduciendo a Au^0 .

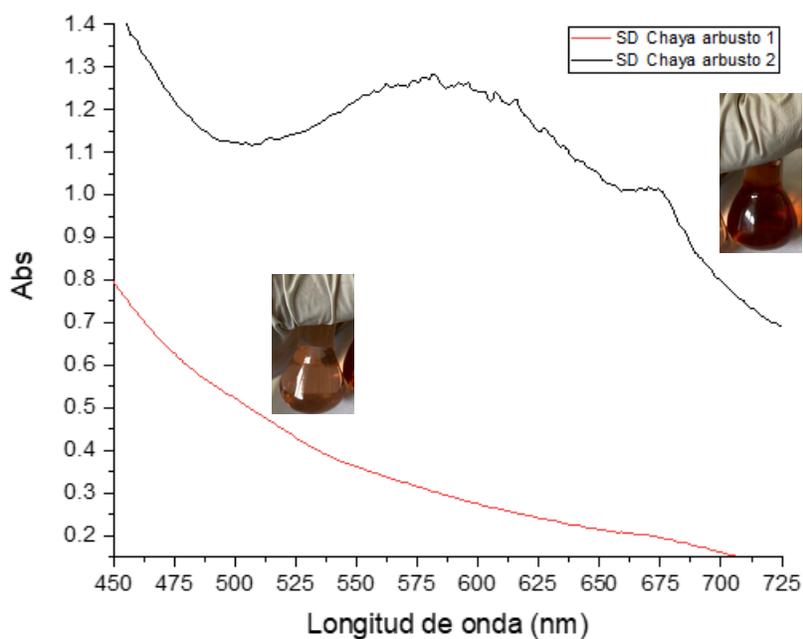


Figura 4. Espectros de las Síntesis directas utilizando dos extractos distintos.

Como podemos observar en los espectros de la Figura 4, el obtenido a partir del extracto de las hojas del arbusto 1 no presenta los picos característicos de las AuNPs, mientras que el de la síntesis directa con el extracto de las hojas de Chaya del arbusto 2 presenta dos picos en (582 y 675) nm. Lo anterior puede deberse a que el contenido de polifenoles en el extracto hecho con las hojas del arbusto 2 es mayor al del arbusto 1, por lo que en la reacción directa se alcanzan a formar una mayor cantidad de AuNPs en este. La cantidad de nanopartículas sintetizadas esta limitada por la concentración del extracto, pero más específicamente por la cantidad de polifenoles presentes en el mismo. De acuerdo al color y a la longitud donde se encuentra el plasmón de resonancia, las nanopartículas obtenidas son esféricas.

Síntesis utilizando sistemas emulsionados

Se probaron una serie de composiciones para la obtención de AuNPs en los sistemas de microemulsiones y nano-emulsiones. Un cambio en la coloración indicó el inicio de la reacción. Se siguió la línea de dilución 70/30, variando el contenido de fase acuosa (20, 40 y 60 %). Bajo estas condiciones, se obtuvieron diferentes coloraciones que iban desde el naranja claro (20%), hasta rosado y melón para 40% y 60% respectivamente. Aproximadamente a las 2 horas de preparar cada solución, se podía observar claramente como el color se hacía más intenso en cada una de ellas. Después de 24 h, se observó en el fondo del vial un precipitado color naranja-rojo, siendo mayor la cantidad conforme aumentaba el porcentaje de fase acuosa, lo cual nos indicaba la formación de nanopartículas de oro, estas se separaron mediante centrifugado y se lavaron con EtOH y acetona y se resuspendieron en 3 mL de agua para caracterizarlas mediante Uv-Vis y DLS.

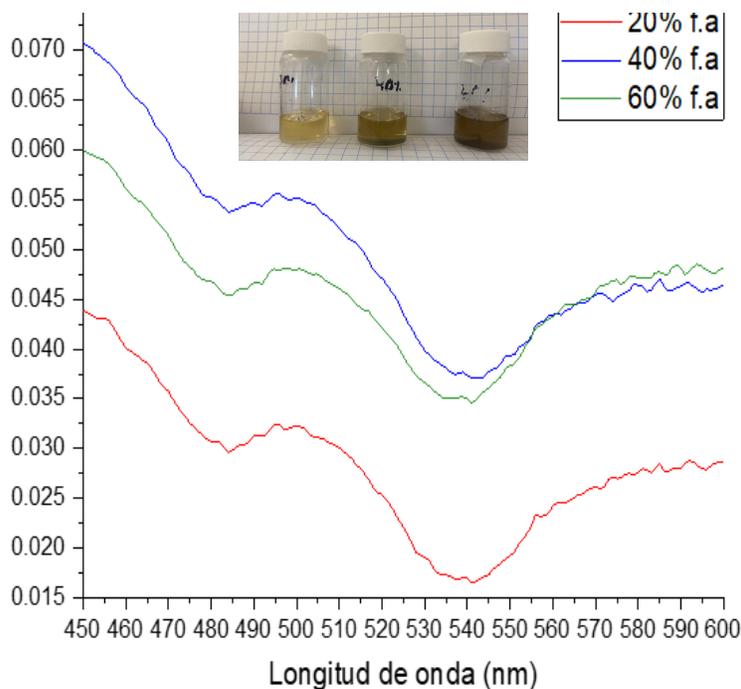


Figura 5. Espectros de las AuNPs obtenidas a distintos porcentajes de fase acuosa.

Como podemos observar en el espectro de la Figura 5, las longitudes de onda a las que absorben las AuNPs formadas son muy parecidas entre sí, independientemente del porcentaje de fase acuosa, presentando un pico máximo entre (409-411) nm y otro a (494-497) nm, el ancho de banda y las longitudes de onda donde se observa, son indicadores de nanopartículas con tamaños pequeños (< 25 nanómetros), donde el ancho de banda tiene una relación inversa con el tamaño de nanopartícula, el incremento en la coloración puede ser atribuido a una mayor cantidad de fase acuosa en

el sistema emulsionado y por consiguiente una mayor cantidad de np's sintetizadas. Los R_H obtenido para estas ttrs muestras se encuentran entre 209 nm y 330 nm. Se obtuvo un tamaño hidrodinámico de las nanopartículas menor en el caso de un porcentaje de 20% de fase acuosa, mientras que el tamaño máximo (415 nm) se obtuvo con un porcentaje de 40% y al 60% se observó una disminución en el tamaño de estas. Los resultados obtenidos sugieren que la cantidad de fase acuosa tiene un efecto en el tamaño hidrodinámico de las nanopartículas de oro. El aumento en el tamaño de las AuNPs a un 40% de fase acuosa podría deberse a una combinación de una relación reactante-reductor óptima, mayor concentración de iones de oro y estabilidad mejorada de las nano-emulsiones, que favorecieron el crecimiento controlado de las AuNPs. Por otro lado, la disminución en el tamaño de las AuNPs a un 60% de fase acuosa podría ser atribuible a cambios en la cinética de reacción y otras condiciones de síntesis que influyeron en la formación y crecimiento de las nanopartículas de oro.

Nanoemulsiones siguiendo la línea de dilución 70:30 utilizando 60% de fase acuosa y 150 ppm de estándar de Au^{3+} , efecto del aumento de temperatura a 45°C y 55°C.

Se estudió la influencia del incremento de temperatura sobre la síntesis de AuNPs. Se probaron 2 diferentes temperaturas 45 y 55 °C. Los sistemas emulsionados, en un principio todos tenían una coloración naranja. Posteriormente, se dejaron en baño maría y a los 20 minutos, se podía observar como el color anaranjado se hacía más intenso en cada uno de los sistemas. Pasado un día a la temperatura estudiada se observaba en el fondo del vial un precipitado color naranja-rojizo, siendo mayor la cantidad conforme aumentaba la temperatura del sistema. Las nanopartículas se separaron mediante centrifugado y se lavaron con EtOH y acetona y se re-suspendieron en 3 mL de agua para caracterizarlas mediante Uv-Vis y DLS. Aunque el aumento de temperatura parecía catalizar de buena manera la reducción del Au^{3+} para formar nanopartículas, se obtuvieron poca cantidad de estas.

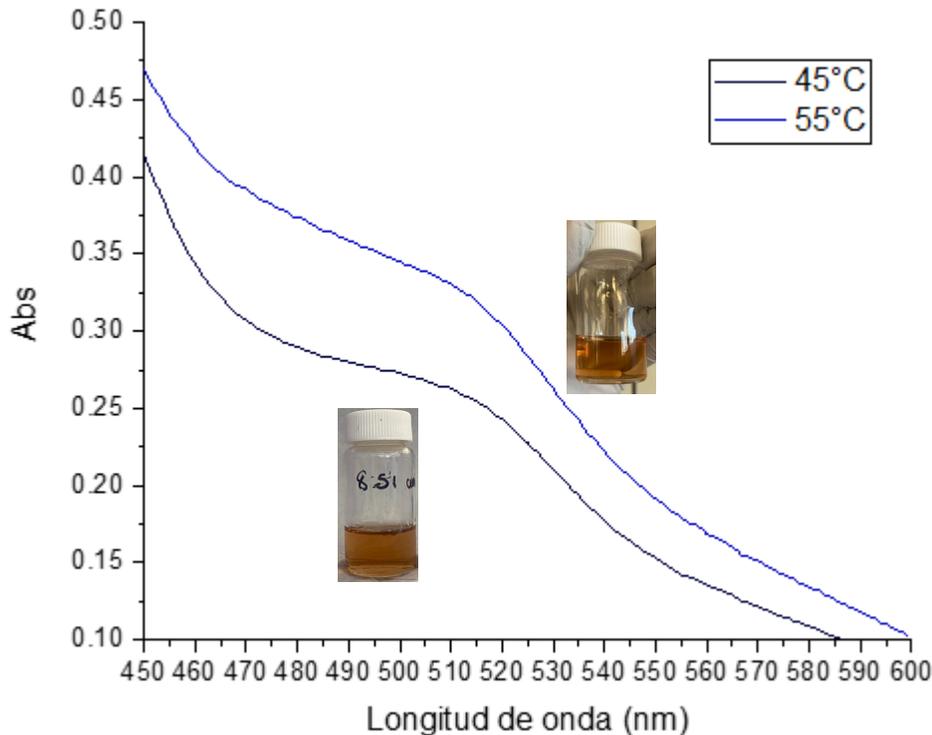


Figura 6. Espectros de las AuNPs obtenidas a distintas temperaturas.

En la figura 6, podemos observar que los espectros obtenidos de las nanopartículas sintetizadas con el mismo sistema variando la temperatura, las longitudes de onda a las que absorben las AuNPs formadas son muy parecidas entre sí, pero presentando mayor cantidad de absorción a 55 °C, presentando picos máximos entre (509-514) nm.

Cinéticas de emulsiones línea de dilución 70:30 y 60 % de fase acuosa y 250 ppm de estándar de Au^{3+} con pH=1.5.

Se continúa trabajando los sistemas con la misma composición para ver la influencia del tiempo sobre la síntesis. Se hicieron 5 muestras, las cuales se fueron deteniendo en diferente tiempo: muestra 1, se separaron las nanopartículas cuando la muestra cumplió un día de reacción (C1), la muestra 2, se separó a los 4 días de reacción (C2), C3 a los cinco días, C4 a los seis días y C5 a los siete días. Las nanoemulsiones presentaban en un principio una coloración amarillo paja, la cual con el paso de los días se fue haciendo más intensa hasta llegar a un color amarillo-verdoso. En cada una de las muestras se observaba en el fondo del vial un precipitado color azul oscuro-negro, siendo mayor la cantidad conforme se incrementa el tiempo. Las nanopartículas obtenidas se separaron mediante centrifugado y lavaron con EtOH y acetona y se re-suspendieron en 3 mL de agua para caracterizarlas mediante Uv-Vis y DLS (tamaño y potencial Z). Las que mejor se re-suspendieron fueron las de la C4 y C5 ya que se observaba una mejor coloración azul en el tubo y no se observan impurezas como en las otras. En las Figuras 67 y 8 se muestran los espectros obtenidos para cada una de estas muestras.

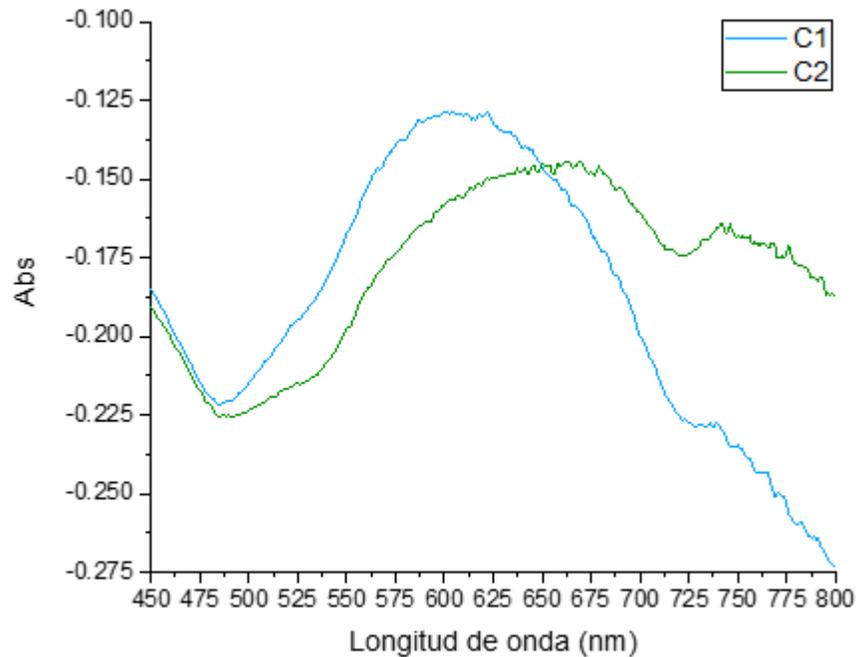


Figura 7. Espectros de las AuNPs obtenidas de las muestras C1 y C2.

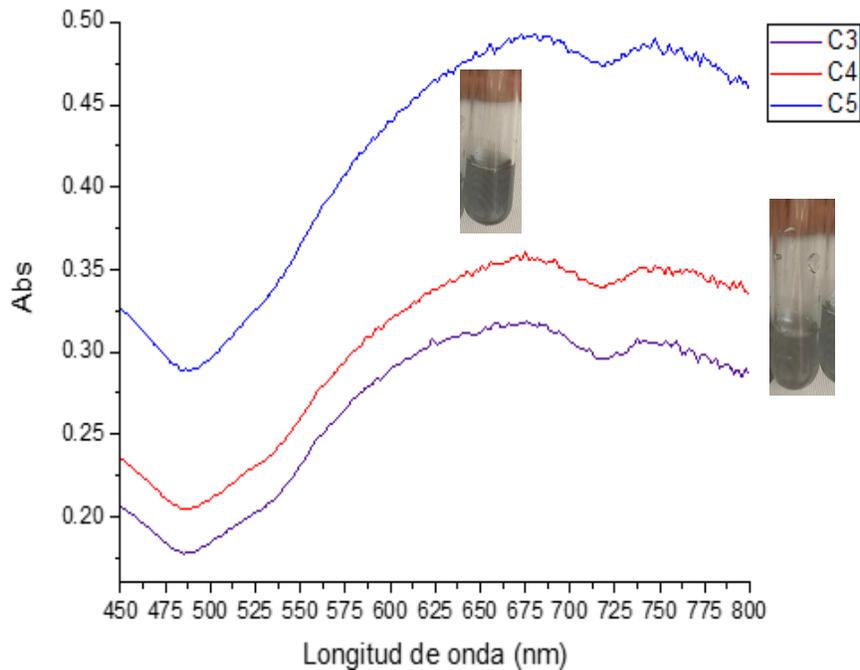


Figura 8. Espectros de las AuNPs de la C3, C4 y C5.

Como podemos observar en la Figura 7 y 8, el plasmón es diferente entre las NP's separadas después de un día de reacción y el resto de las muestras. Para las muestras separadas a partir del cuarto día se observa que el plasmón se desplaza hacia longitudes mayores y se hace más ancha. Las nanopartículas resuspendidas muestran una coloración azul. Cuando estas nanopartículas se caracterizan mediante DLS, se observa que al transcurrir un día se tienen tamaños muy grandes de radios hidrodinámicos (1000 nm), dichos tamaños van disminuyendo hasta llegar a 200 nm de radio hidrodinámico al día 6.

En las primeras dos muestras de la cinética se observa un tamaño de radio hidrodinámico mayor al de las demás, el cual en la tercera muestra disminuye drásticamente. Dicha disminución en el tamaño se sigue observando hasta la muestra 4 cuyo tiempo de reacción es de 6 días y en la muestra 5 esta tendencia cambia y se observa un aumento en el tamaño.

La disminución en el tamaño de las nanopartículas de oro conforme pasan los días de reacción puede atribuirse a una combinación de factores como la cinética de reducción, el agotamiento de reactivos y un ajuste de condiciones entre los reactivos y la velocidad de reacción para un tamaño deseado de las partículas. Sin embargo, el aumento en el tamaño observado en el último día de reacción puede ser indicativo de fenómenos de agregación o coalescencia de las partículas.

Utilizando como agente reductor y los sistemas emulsionados, se pueden obtener nanopartículas de oro, de diferentes tamaños y que de acuerdo al plasmón de resonancia observado y la coloración de las soluciones

de las mismas, se puede inferir que estamos teniendo diferentes formas. En la tabla 1 se muestra un resumen de las diferentes composiciones estudiadas y la coloración observada de las soluciones de nanopartículas obtenidas.

Tabla 3. Resumen de las diferentes nanopartículas de Au obtenidas, así como la composición del sistema de reacción..

Nanoemulsión	Característica	100%	Estándar de Au ³⁺		Extracto de Chaya Maya		s-cs	a-o	T	AuNp's
			ppm	pH	%	pH				
10/70/20	Cambios en la fase acuosa	1.5 g	250	-	4%	-	50:50	30:70	25°C	Rojas, poca cantidad
10/50/40										
10/30/60										
10/30/60	Síntesis directa	3.0 g	250	-				25°C	Rojas, poca cantidad	
10/30/60										
10/30/60	Cambios de temperatura	1.5 g	150	-				45°C	Rojas, poca cantidad	
10/30/60								55°C		
10/30/60	Cinéticas	3.0 g	250	1.5				25°C	Azules, bastante cantidad	
10/30/60										
10/30/60										
10/30/60										
10/30/60										

Comportamiento físico empleando extracto de Malva al 2%

Al seguir las líneas de dilución de la Figura 3, se determina la zona multifásica, tomando como punto delimitante el porcentaje de fase acuosa adicionado en el que la emulsión inicia a mostrar turbidez. El aspecto turbio va desde una ligera opacidad hasta una apariencia lechosa conforme se añade más extracto, a excepción de las relaciones 10/90 y 20/80 que se mantienen monofásicas en equilibrio cuando se añade el 100% de fase acuosa. En ciertos puntos se logran ver destellos azulados o coloridos al analizar las emulsiones con polarizadores cruzados, lo que indica la presencia de cristales líquidos (**Figura 11**). A partir de la zona multifásica delimitada, se analizan 12 puntos cercanos para analizarlos mediante la metodología de pesado directo; el punto 40/40/20 muestra una composición lechosa cuando está congelado, pero translúcida al aclimatarse, lo que indica que dicho punto se encuentra en la zona de nano-emulsión.

Otros puntos dentro de esta zona son los puntos 25/35/40 y 20/50/30 que parecen tener una apariencia parcialmente gelatinosa al descongelarse y previamente en el proceso de centrifugación se obtienen precipitados pequeños. El punto 30/40/30 tomó una apariencia lechosa desde el proceso de mezclado hasta su descongelación por lo que es un punto de la zona multifásica. Los puntos restantes se mantuvieron transparentes y fluidos, por lo que entraron en la zona de microemulsión (**Figura 10**). Para delimitar las zonas de micro y nano-emulsión se debe hacer un barrido completo con la metodología de pesado directo.

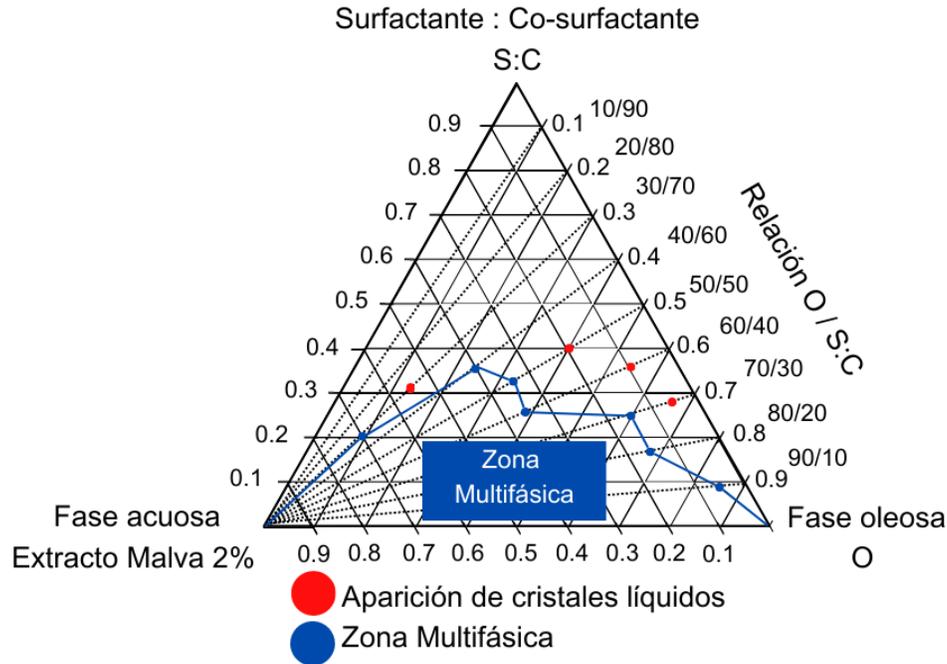


Figura 11. Diagrama ternario de fases: muestra la zona multifásica delimitada con el método de titulación empleando extracto de Malva al 2%. Se señala con puntos rojos los porcentajes añadidos de extracto de Malva al 2% en los que se observaron cristales líquidos (usando polarizadores cruzados).

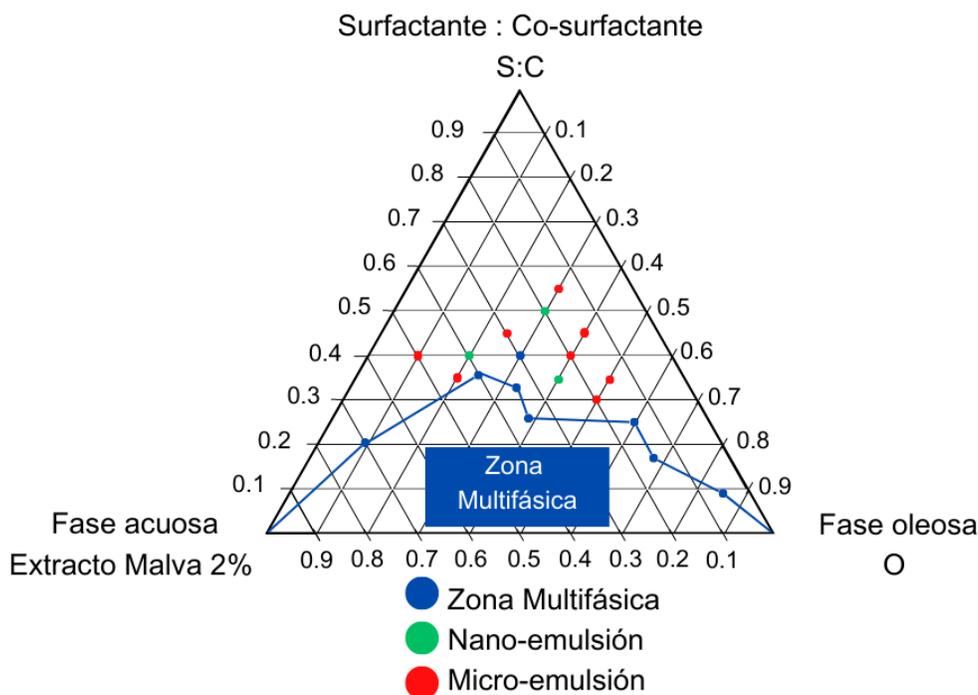


Figura 12. Diagrama ternario de fases: muestra la zona multifásica delimitada con el método de titulación empleando extracto de Malva al 2%. Y señala los puntos cercanos analizados con el método de peso directo, los puntos verdes tienen una composición de nano-emulsión y los puntos rojos corresponden a una micro-emulsión.

Conclusión.

El extracto de hojas de la planta Chaya maya presenta altas propiedades reductoras y antioxidantes ya que se observa que reduce los iones de Au^{3+} a Au^0 . Sin embargo se determinó que el uso de las hojas frescas tiene una variación de resultados bastante significativa dependiendo del lugar de colecta, clima, tipo de siembra, tamaño de hoja y tipo de planta lo que nos llevó a diferentes tipos de colores del extracto de Chaya maya, por lo que nos impide controlar de manera efectiva los resultados esperados ya que se está trabajando con algo natural.

Se obtuvo que la composición de los sistemas influye en el tamaño y la dispersidad de tamaños de las nanopartículas formadas, teniendo que la cantidad de fase acuosa limita la producción de AuNPs y nanopartículas de menor tamaño cuando se tiene mayor cantidad de surfactante en el sistema.

El extracto de malva puede ser una buena alternativa como reductor de iones metálicos, y podría ser utilizada con los sistemas emulsionados, pues se forman micro y nano emulsiones de acuerdo al diagrama de fases generado.

Bibliografía/Referencias.

[1] Saleh, T. A. (2020). "Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities". Environ. Technol. Innov., vol. 20, p. 101067.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2352186420313675>

[2] Mateo, D; Morales, P; Ávalos, A; Haza, A. (2013). "Nanopartículas de oro: aplicaciones y citotoxicidad in vitro". Scielo. Acta toxicológica argentina.

http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-37432013000200005

[3] X. Y. Liu, J. Q. Wang, C. R. Ashby, L. Zeng, Y. F. Fan, and Z. S. Chen, "Gold nanoparticles: synthesis, physiochemical properties and therapeutic applications in cancer," *Drug Discovery Today*. Elsevier Ltd, 2021, doi: 10.1016/j.drudis.2021.01.030.

[4] Chávez Sandoval, B. E; Flores Mendoza, N; Chávez Recio, A; Balderas López, J. A; García Franco, F. (2021). "Biosíntesis de nanopartículas de oro (AuNPs) y los agentes reductores implicados en el proceso". Scielo. Nanociencias y nanotecnología.

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-56912021000200303

[5] Guerrero Dimas, L. A; Castañeda Facio, A. O; Sáenz Galindo, A. (2022). "Nanopartículas metálicas, síntesis y aplicaciones". CienciAcieta. Universidad Autónoma de Coahuila.

<http://www.cienciacieta.uadec.mx/articulos/CC71/nanoparticulasmetalicas.pdf>

[6] Us Medina, U; Millán Linares, M. C; Arana Argaes, V. E; Segura Campos, M. R. (2020). "Actividad antioxidante y antiinflamatoria in vitro de extractos de chaya (*Cnidioscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst)". Scielo. Nutrición Hospitalaria.

https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112020000100008

[7] Mousavi, S.M; Hashemi, S.A; Behbudi, G; Mazraedoost, S; Omidifar, N; Gholami, A; Chiang, W. H; Babapoor, A; Pynadathu Rumjit, N. (2021). "A Review on Health Benefits of *Malva sylvestris* L. Nutritional Compounds for Metabolites, Antioxidants, and Anti-Inflammatory, Anticancer, and Antimicrobial Applications". *Evid Based Complement Alternat Med*. 2021 Aug 14;2021:5548404. doi: 10.1155/2021/5548404. PMID: 34434245; PMCID: PMC8382527.

[8] Martínez Martínez, C. (2016). "Desarrollo de Micro y Nanoemulsiones de Liberación Sostenida". Facultad de Farmacia Complutense.

<http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/CARLOS%20MARTINEZ%20MARTINEZ.pdf>

[9] M. Sánchez-Domínguez and G. Rodríguez-Abreu, *Nanocolloids: A Meeting Point for Scientists and Technologists*, 1st ed. Cambridge: Elsevier, 2016.

[10] Gaytan, R. P. C. (2022). "Síntesis y caracterización de nanopartículas de oro utilizando micro y nano-emulsiones: un enfoque sustentable". Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas.