



# Universidad Tecnológica de la Mixteca

## **Síntesis verde de nanopartículas de hierro empleando extractos fenólicos obtenidos a partir de hojas de agave y vinazas**

**Tesis para obtener el título de  
INGENIERA EN FÍSICA APLICADA**

**Presenta:** Iris Esmeralda Molina Victoria

**Director de tesis:** Dr. Vania Shuhua Robles González

H. CD. DE HUAJUAPAN DE LEÓN, OAXACA; NOVIEMBRE DE 2025



A Dios, por ser luz, guía y fuerza en cada paso de este camino.

A mis padres, por su amor inquebrantable y su fe absoluta en mí. Este logro es tan suyo como mío.

A mis hermanos, lo más puro y hermoso de mi vida. Son la dicha más sincera de mi existencia.

En memoria de mi tío Valentín, cuya ausencia duele tanto como su recuerdo ilumina. Gracias por tu amor, tu orgullo y tu ternura.



# Agradecimientos

A Dios, por la fortaleza, la serenidad y la luz que me guiaron a lo largo de este camino.

A mis padres, por su amor inagotable y por enseñarme, con su ejemplo, a avanzar con firmeza, humildad y esperanza. Gracias por sostenerme en cada etapa y por celebrar conmigo cada logro.

A mis hermanos, mi mayor alegría y mi impulso más sincero. No existe nada que no haría por ustedes. Gracias por ser un apoyo y amor invaluable en mi vida.

A mis tíos Francisca y Modesto, quienes me ofrecieron un lugar y un cariño que siempre guardaré en el corazón. Gracias por tratarme como a una hija más y por hacer más livianos aquellos años de formación. Y a mis primos Ángel, Zintli y Yazid, que crecieron conmigo como hermanos, quienes ocupan un lugar muy especial en mi vida.

A Ulises, por ser mi pilar, mi compañía y mi refugio. Gracias por tu paciencia, tu amor y tu fe inquebrantable en mí. Te admiro profundamente. A mis perrhijos, Romina y Cooper, por ser luz en mis días más oscuros y por recordarme, con su amor sencillo, que siempre vale la pena seguir adelante.

A mi mejor amigo, Augusto Pimentel (Pipe), quien llegó a mi vida como un rayo de sol. Gracias por tu lealtad, tu alegría y por acompañarme con una sinceridad que siempre atesoraré.

A mis amigos de la licenciatura, con quienes formé una red de apoyo sincera y entrañable. Aunque la vida nos haya llevado por caminos distintos, guardo un cariño profundo por Meritzel, Gerardo y Canseco. Y a quienes aún permanecen a mi lado —Israel, Rubí y Rafael— gracias por su ánimo, su presencia y su compañía en mis momentos más difíciles, los valoro muchísimo.

A mis profesores, el Dr. Maxvell y el Dr. Salomón, por su guía, su confianza y por el ejemplo humano y académico que representan para mí.

A mi director de tesis, el Dr. Vania, por su paciencia y orientación durante este proceso; y a mis sinodales, la Dra. María de Jesús y la Dra. Jessica, por su invaluable apoyo.

Finalmente, agradezco a todas las personas que, de una u otra forma, creyeron en mí. Cada gesto, cada palabra y cada abrazo hicieron posible la culminación de este sueño.



# ÍNDICE GENERAL

1.	Introducción.....	17
1.1	Planteamiento del problema .....	19
1.2	Justificación .....	20
1.3	Hipótesis.....	21
1.4	Objetivo.....	21
1.4.1	Objetivos Específicos .....	21
1.5	Metas .....	22
2.	Marco Teórico .....	23
2.1	Nanopartícula .....	23
2.2	Propiedades Magnéticas .....	25
2.3	Síntesis de Nanopartículas .....	27
2.4	Síntesis Verde .....	30
2.5	Agentes reductores orgánicos empleados en la síntesis verde de nanopartículas de hierro .....	33
2.5.1	Plantas.....	34
2.5.2	Microorganismos .....	37
2.5.3	Algas.....	38
2.5.4	Hongos .....	38
2.5.5	Agave .....	39
2.5.5.1	<i>Agave angustifolia</i> Haw .....	39
2.5.5.2	<i>Agave tequilana</i> Weber .....	40
2.6	Vinazas .....	41
2.7	Fenoles Totales .....	43
2.8	Capacidad de Reducción Férrica del Plasma .....	46
2.9	Técnicas de caracterización .....	48
2.9.1	Microscopía Electrónica de Barrido. ....	48
2.9.2	Difracción de Rayos X .....	50

3.	Metodología .....	55
3.1	Material biológico .....	57
3.1.1	Hidrólisis térmica de las hojas de agave .....	57
3.1.2	Obtención de los jugos de las hojas hidrolizadas.....	58
3.2	Tratamiento para vinazas mezcaleras.....	58
3.3	Extracción líquido-líquido para la obtención de extractos fenólicos a partir de los jugos de las hojas hidrolizadas y vinazas mezcaleras.....	59
3.4	Síntesis de nanopartículas de hierro .....	59
3.5	Determinación de fenoles totales expresados como equivalentes de ácido gálico (GAE).....	60
3.5.1	Preparación de disoluciones patrón de Ácido Gálico .....	60
3.6	Ensayo de la Capacidad de Reducción Férrica del Plasma .....	62
3.6.1	Preparación de los reactivos .....	62
3.6.2	Preparación de estándar .....	63
3.6.3	Procedimiento para el ensayo.....	64
4.	Análisis y discusión de resultados .....	67
4.1	Determinación de Fenoles Totales expresados en Ácido gálico .....	68
4.1.1	Análisis de Varianza (ANOVA) entre variedades de agave .....	70
4.1.2	Pruebas de Tukey entre variedades de agave y las vinazas mezcaleras.....	72
4.1.3	Discusión de los resultados obtenidos del contenido de Fenoles Totales expresados en Ácido gálico .....	76
4.2	Ensayo de la Capacidad de Reducción Férrica del plasma .....	80
4.2.1	Análisis de Duncan entre variedades de agave y las vinazas mezcaleras.....	82
4.2.2	Discusión de los resultados obtenidos del Ensayo de la Capacidad de Reducción Férrica del plasma.....	86
4.3	Microscopía Electrónica de Barrido.....	89
4.3.1	<i>Agave tequilana</i> Weber .....	89

4.3.2	<i>Agave angustifolia</i> Haw .....	95
4.3.3	Vinazas mezcaleras.....	101
4.3.4	Discusión de los resultados obtenidos de la Microscopía Electrónica de Barrido .....	107
4.4	Difracción de Rayos X .....	109
5.	Conclusiones.....	117
5.1	Trabajos Futuros.....	119
6.	Anexos .....	121
	Bibliografía .....	125



# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 . Nano-escala [17].	23
Figura 2. Óxidos de Hierro más comunes (Fuente: elaboración propia).	26
Figura 3. Métodos y enfoques para la síntesis (Modificado de [26]).	29
Figura 4. Síntesis verde de nanopartículas (Modificado de [26]).	32
Figura 5. Esquema general de la biorreducción mediada por extractos de plantas. (Modificado de [37]).	34
Figura 6. <i>Agave angustifolia</i> Haw [53].	40
Figura 7. <i>Agave tequilana</i> Weber [55].	40
Figura 8. Ácido Gálico [68].	45
Figura 9. Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) [75].	50
Figura 10. Interacción entre los rayos X y la estructura cristalina de un material [Fuente propia].	51
Figura 11. Geometría entre dos planos para el ángulo $\theta$ [Fuente propia].	52
Figura 12. Mecanismo para la difracción de rayos X [77].	52
Figura 13. Diagrama general de trabajo.	56
Figura 14. Tamaño promedio de la hoja de agave utilizada para el estudio.	57
Figura 15. Hoja de agave utilizada para el ensayo.	58
Figura 16. Curva estándar de la tabla 5.	69
Figura 17. Microscopía de <i>Agave tequilana</i> Weber sin calcinar, toma a: a) 5 $\mu\text{m}$ , b) 2 $\mu\text{m}$ y c) 1 $\mu\text{m}$ .	90
Figura 18. Microscopía de <i>Agave tequilana</i> Weber sin calcinar, toma a 1 $\mu\text{m}$ con mediciones aproximadas.	90
Figura 19. Microscopía de <i>Agave tequilana</i> Weber calcinadas, toma a: a) 5 $\mu\text{m}$ , b) 2 $\mu\text{m}$ y c) 1 $\mu\text{m}$ .	92
Figura 20. Microscopía de <i>Agave tequilana</i> Weber calcinadas toma a 1 $\mu\text{m}$ con mediciones aproximadas.	93
Figura 21. Microscopía de <i>Agave angustifolia</i> Haw sin calcinar toma a: a) 5 $\mu\text{m}$ , b) 2 $\mu\text{m}$ y c) 1 $\mu\text{m}$ .	95
Figura 22. Microscopía de <i>Agave angustifolia</i> Haw sin calcinar toma a 1 $\mu\text{m}$ con mediciones aproximadas.	96
Figura 23. Microscopía de <i>Agave angustifolia</i> Haw calcinadas toma a: a) 5 $\mu\text{m}$ , b) 2 $\mu\text{m}$ y c) 1 $\mu\text{m}$ .	98

Figura 24. Microscopía de <i>Agave angustifolia</i> Haw calcinadas toma a 1µm con mediciones aproximadas. ....	99
Figura 25. Espectro EDS de la muestra de nanopartículas de <i>Agave angustifolia</i> Haw calcinadas. ....	100
Figura 26. Microscopía de vinazas mezcaleras sin calcinar toma a: a) 5µm, b) 2µm y c) 1µm. ....	102
Figura 27. Espectro EDS de la muestra de nanopartículas de vinazas mezcaleras sin calcinar. ....	103
Figura 28. Microscopía de vinazas mezcaleras calcinadas toma a: a) 5µm, b) 2µm y c) 1µm. ....	104
Figura 29. Microscopía de vinazas mezcaleras calcinadas toma a 1µm con mediciones aproximadas. ....	105
Figura 30. Espectro EDS de la muestra de nanopartículas de vinazas mezcaleras calcinadas. ....	106
Figura 32. Difractograma de Rayos X para el <i>Agave angustifolia</i> Haw sin calcinar. ....	111
Figura 33. Difractograma de Rayos X para el <i>Agave angustifolia</i> Haw calcinadas. ....	111

# ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Extracto de hojas o plantas y precursores utilizados para la síntesis de Nanopartículas [39].	34
Tabla 2. Extractos de agaves y precursores utilizados para la síntesis de Nanopartículas [Elaboración propia].	41
Tabla 3. Características fisicoquímicas de las vinazas de origen mezcalero (VM) [3].	42
Tabla 4. Concentraciones para curva estándar.	61
Tabla 5. Rendimientos correspondientes a las 3 matrices empleadas.	67
Tabla 6. Resultados de la curva estándar.	68
Tabla 7. Resultados obtenidos de los fenoles totales de las diferentes muestras.	70
Tabla 8. Resultados de ANOVA entre variedad de agaves.	71
Tabla 9. Resultados de ANOVA entre variedad de agaves y vinazas mezcaleras.	73
Tabla 10. Datos para prueba Tukey.	74
Tabla 11. Resultados de la prueba de Tukey entre las muestras.	75
Tabla 12. Resultados de fenoles totales.	78
Tabla 13. ANOVA de los resultados obtenidos para los fenoles totales expresados como EAG.	78
Tabla 14. Valores de FRAP (absorbancia a 593 nm).	81
Tabla 15. Datos y resultados de la ANOVA para los valores de FRAP.	82
Tabla 16. Datos de la media para prueba de Duncan.	83
Tabla 17. Resultados de la prueba de Duncan.	85
Tabla 18. Recopilación de valores de FRAP para algunas especies plantas.	87
Tabla 19. Porcentajes atómicos relativos de carbono, oxígeno, hierro y cloro mediante EDS para el <i>Agave tequilana</i> Weber sin calcinar.	91
Tabla 20. Porcentajes atómicos relativos de filtrado de oxígeno y hierro mediante EDS para el <i>Agave tequilana</i> Weber sin calcinar.	91
Tabla 21. Porcentajes atómicos relativos de carbono, oxígeno, hierro y cloro mediante EDS para el <i>Agave tequilana</i> Weber calcinado.	93
Tabla 22. Porcentajes atómicos relativos de oxígeno y hierro mediante EDS para el <i>Agave tequilana</i> Weber calcinado.	94
Tabla 23. Porcentajes atómicos relativos de carbono, oxígeno, hierro y cloro mediante EDS del <i>Agave angustifolia</i> Haw sin calcinar.	96

Tabla 24. Porcentajes atómicos relativos de filtrado de oxígeno y hierro mediante EDS del <i>Agave angustifolia</i> Haw sin calcinar. ....	97
Tabla 25. Porcentajes atómicos relativos de oxígeno y hierro mediante EDS del <i>Agave angustifolia</i> Haw calcinados. ....	100
Tabla 26. Porcentajes atómicos relativos de filtrado de oxígeno y hierro mediante EDS de vinazas mezcaleras sin calcinar. ....	103
Tabla 27. Porcentajes atómicos relativos de oxígeno y hierro mediante EDS de las vinazas mezcaleras calcinada. ....	106
Tabla 28. Características de las nanopartículas de hierro observadas por SEM.	109
Tabla 29. Tabla de pesos de nanopartículas de las tres matrices tras la síntesis. ....	121
Tabla 30. Tabla de pesos de muestras para el <i>Agave tequilana</i> Weber. ....	121
Tabla 31. Tabla de pesos de muestras para el <i>Agave angustifolia</i> Haw. ....	121
Tabla 32. Tabla de pesos de muestras para las vinazas mezcaleras. ....	122
Tabla 33. Muestras y absorbancias para el <i>Agave tequilana</i> Weber. ....	122
Tabla 34. Muestras y absorbancias para el <i>Agave angustifolia</i> Haw. ....	123
Tabla 35. Muestras y absorbancias para las vinazas mezcaleras. ....	123

## RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo llevar a cabo la síntesis nanopartículas de hierro mediante un proceso verde, utilizando extractos fenólicos obtenidos de hojas de *Agave tequilana* Weber, *Agave angustifolia* Haw y vinazas mezcaleras como agentes reductores y estabilizadores. Esta estrategia permitió aprovechar residuos agroindustriales de la producción de mezcal y tequila para generar materiales nanométricos bajo un enfoque sustentable, evitando el uso de reactivos químicos tóxicos.

Como parte de la caracterización de los extractos, se cuantificaron en primera instancia los fenoles totales, expresados como equivalentes de ácido gálico. Posteriormente se determinó su capacidad antioxidante mediante el método Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP, por sus siglas en inglés). Una vez sintetizadas las nanopartículas, se caracterizaron mediante técnicas como Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), Espectroscopía de Dispersión de Energía (EDS) y Difracción de Rayos X (DRX). Asimismo, se realizaron análisis estadísticos mediante ANOVA, complementados con pruebas de comparación múltiple (Tukey y Duncan), con el propósito de evaluar el efecto del tipo de extracto y del tratamiento térmico sobre las propiedades de las muestras.

Los resultados confirmaron la formación de nanopartículas de hierro en las tres matrices evaluadas, tanto en su forma sin calcinar como tras el tratamiento térmico. Las micrografías SEM mostraron partículas con morfología esférica o cuasiesférica, con tamaños en el rango nanométrico (30–200 nm) y una clara tendencia a la aglomeración, particularmente en las muestras sin tratamiento térmico. El análisis por DRX evidenció fases cristalinas correspondientes a óxidos de hierro, principalmente magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), y en menor medida hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ). A través de la ecuación de Scherrer, se estimó un tamaño de cristalita aproximado de 32 nm.

En comparación con las tres matrices utilizadas en este trabajo, las muestras derivadas de *Agave angustifolia* Haw presentaron un mayor rendimiento en la obtención de material sólido, así como una mejor definición morfológica y estructural, lo cual se correlaciona con su mayor capacidad antioxidante obtenida en el ensayo FRAP. Sin embargo, todas las matrices analizadas demostraron ser aptas para la síntesis de nanopartículas de hierro mediante este enfoque verde, lo cual habla del potencial de estas fuentes en la obtención de materiales funcionales con posibles aplicaciones entre los que destacan los ámbitos ambiental, tecnológico y biomédico.



## 1. INTRODUCCIÓN

La síntesis verde de nanopartículas (NP) ha cobrado gran interés en los últimos años como una alternativa sustentable frente a los métodos químicos y físicos convencionales, que suelen utilizar solventes y surfactantes nocivos para el ambiente [1]. Este tipo de síntesis se basa principalmente en el uso de extractos biológicos ricos en compuestos bioactivos (ácidos fenólicos, azúcares, flavonoides, etc), junto con un precursor. Los extractos son capaces de actuar como agentes reductores y estabilizantes durante la formación de nanopartículas metálicas (oro, plata, hierro y óxidos metálicos), evitando así el empleo de reactivos tóxicos ([1], [2]). En particular, la síntesis de nanopartículas de hierro mediante rutas verdes resulta relevante debido a sus aplicaciones potenciales en:

- Catálisis
- Biomedicina: en donde se pueden emplear como recubrimiento antimicrobiano para implantes, administración dirigida de fármacos, tratamientos de cáncer como la hipertermia, bioimagen, etc.
- Remediación ambiental: como la adsorción.
- Electrónica

En este contexto, los residuos de la industria del mezcal y el tequila en México representan una fuente atractiva de biomasa para la síntesis verde, ya que sus residuos sólidos y líquidos entre los que destacan las hojas del agave y vinazas contienen compuestos fenólicos y otros metabolitos de interés. Las hojas de agave poseen flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, ligninas y azúcares, mientras que las vinazas se caracterizan por una alta concentración de ácidos fenólicos y fructosa, la cual es considerada una azúcar reductora [3]. Estos compuestos son

responsables de la capacidad reductora y estabilizadora que favorece la obtención de nanopartículas. Así, lejos de ser un desecho, los subproductos del agave pueden valorarse como insumos útiles para la nanobiotecnología.

El crecimiento del sector de la industria del mezcal y el tequila en el país ha dejado una serie de problemáticas ambientales, debido a la generación de dichos residuos. Las vinazas, de naturaleza ácida y con un alto contenido de materia orgánica, siendo muy agresivas, tóxicas y recalcitrantes para el medio ambiente ( [3], [4]). El bagazo, por su parte, contiene cantidades importantes de lignina, que, debido a sus características químicas, lo hacen un compuesto difícil de biodegradar [5]. Si este residuo es desechado en suelos puede provocar condiciones anaerobias [6] y debido a su alto contenido de minerales y fenoles, puede provocar disminución en la fertilidad en tierras de cultivo [7]. Se estima que la producción anual de bagazo de agave, derivada principalmente de la fabricación de tequila, alcanza aproximadamente 360 mil toneladas [8], mientras que, por cada litro de etanol producido se estima que se generan entre 8 y 15 litros de vinaza [9], las cuales continúan siendo vertidas sin tratamiento adecuado en muchos casos.

Datos recientes reflejan la magnitud de este problema, tan solo en el 2024, la producción de mezcal alcanzó más de 11.3 millones de litros, lo cual implica alrededor de 90.4 millones de litros de vinaza generados, según el Consejo Regulador del Mezcal [10]. Asimismo, la elaboración de un litro de mezcal con *Agave angustifolia* Haw produce entre 7.4 y 8.2 kg de bagazo, según reporta Flores-Ríos, lo que genera alrededor de 741 mil toneladas de residuo [11]. En el caso del tequila, se procesaron cerca de 800 mil toneladas de *Agave tequilana* Weber en 2024, generando aproximadamente 480 mil toneladas de pencas como residuo (fuente propia con datos del COMERCAM y el Consejo Regulador del Tequila).

Por lo anterior el objetivo primordial de este trabajo es realizar la síntesis verde de nanopartículas de hierro utilizando extractos fenólicos obtenidos de las vinazas procedentes de la producción de mezcal, y de las hojas del *Agave angustifolia* Haw y *Agave tequilana* Weber, seguido por un análisis detallado de sus propiedades y características. De esta manera, se busca producir nanopartículas mediante un

método sustentable, al mismo tiempo que se aprovechan los residuos agroindustriales del agave como fuentes renovables de compuestos bioactivos.

## 1.1 Planteamiento del problema

La síntesis de nanopartículas (NPs) metálicas común o tradicionalmente se abordan mediante métodos efectivos que, aunque efectivas, presentan limitaciones importantes: requieren altas temperaturas, consumo energético elevado y el uso de agentes reductores o estabilizantes tóxicos que representan riesgos ambientales y económicos [1]. En este contexto, la síntesis verde de NPs metálicas surge como una alternativa sustentable al emplear compuestos bioactivos presentes en extractos vegetales capaces de reducir y estabilizar nanopartículas metálicas de manera eficiente y por supuesto, menos contaminante [2].

Particularmente, las nanopartículas de hierro (NPs-Fe) han despertado gran interés por sus aplicaciones en diversas áreas como remediación o contribución al medio ambiente, catálisis, biomedicina, electrónica, entre otras. Sin embargo, la obtención de estas nanopartículas mediante rutas verdes es un campo escasa exploración y que aún necesita fortalecimiento, donde la elección de la fuente biológica es determinante para la eficiencia del proceso y las propiedades finales del material.

En la agroindustria del mezcal y del tequila, la producción creciente ha traído consigo un aumento considerable en la generación de residuos líquidos y sólidos. Las vinazas, producidas en volúmenes de entre 8 y 15 litros por cada litro de destilado [3], y las pencas o bagazo de agave, que representan entre el 45% y 50% del peso de la planta [12], constituyen los principales subproductos de este proceso.

Debido a su naturaleza ácida, alto contenido de materia orgánica y compuestos fenólicos, las vinazas son altamente contaminantes cuando se vierten sin tratamiento, afectando la calidad de suelos y cuerpos de agua. Por su parte, el bagazo presenta un alto contenido de lignina y otros compuestos que dificultan su

biodegradación, provocando problemas ambientales cuando se acumula en grandes volúmenes.

Si bien se han explorado usos alternativos para estos residuos, como la producción de biocombustibles o biopolímeros ([13], [14]), su aprovechamiento sigue siendo limitado y no existe un uso extendido que permita una valorización integral. Una alternativa poco explorada es su empleo como fuente de compuestos bioactivos (ácidos fenólicos, flavonoides, taninos) capaces de actuar como agentes reductores y estabilizadores en procesos de síntesis verde de NPs.

La escasa investigación en esta línea y el potencial de los residuos de agave para obtener materiales de alto valor agregado evidencian la necesidad de desarrollar procesos sustentables que permitan aprovechar sus compuestos bioactivos en la síntesis de nanopartículas de hierro, contribuyendo a la par a reducir su impacto ambiental y fomentar su valorización.

## 1.2 Justificación

La síntesis de nanopartículas de hierro mediante rutas verdes representa una alternativa con gran potencial frente a los métodos químicos y físicos tradicionales, al reducir costos, riesgos ambientales y requerimientos energéticos [15]. Este enfoque no solo ofrece una vía más sostenible, sino que también se alinea con los principios de la economía circular al aprovechar biomasa vegetal como agente reductor y estabilizador.

En particular, las hojas de *Agave angustifolia* Haw, *Agave tequilana* Weber y las vinazas derivadas de la producción de mezcal constituyen una fuente renovable de compuestos fenólicos y otros metabolitos bioactivos capaces de actuar en la síntesis de nanopartículas. Su aprovechamiento permitiría transformar residuos agroindustriales en materiales de alto valor agregado, al tiempo que se contribuye a mitigar el impacto ambiental asociado a su tratamiento inadecuado a la hora de ser desechados.

Avanzar en el desarrollo de procesos de síntesis verde con un enfoque principalmente en las nanopartículas de hierro con aplicaciones potenciales, será lo primordial para este presente trabajo. De modo que también los residuos generados por la industria mezcalera y tequilera en México tengan un valor. De esta forma, la investigación contribuye tanto a la innovación científica en el campo de la nanotecnología sostenible como a la búsqueda de soluciones ambientalmente responsables en el sector agroindustrial.

### 1.3 Hipótesis

Los ácidos fenólicos presentes en los jugos de las hojas de agave hidrolizadas y vinazas de origen mezcalero actuarán como agentes reductores en la síntesis de nanopartículas de hierro, empleando  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  como agente precursor.

### 1.4 Objetivo

Realizar la síntesis verde de nanopartículas de hierro a partir de extractos fenólicos obtenidos de vinazas y hojas de agave.

#### 1.4.1 Objetivos Específicos

- Realizar la caracterización fisicoquímica de las vinazas.
- Realizar la caracterización fisicoquímica de los jugos hidrolizados de las hojas de agave.
- Llevar a cabo la síntesis verde de nanopartículas de hierro a partir de extractos fenólicos de las vinazas.

- Llevar a cabo la síntesis verde de nanopartículas de hierro a partir de jugos hidrolizados de las hojas de agave.
- Realizar la caracterización de las nanopartículas de hierro obtenidas.

## 1.5 Metas

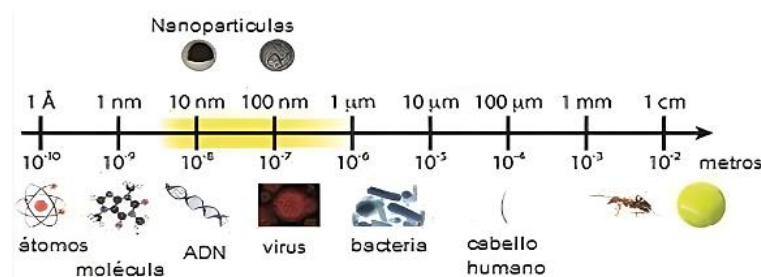
- Meta 1. Obtención de la composición fisicoquímica de las vinazas mezcaleras.
- Meta 2. Obtención de la composición fisicoquímica del jugo hidrolizado de las hojas de agave.
- Meta 3. Obtención de nanopartículas de hierro a partir de los extractos fenólicos de las vinazas mezcaleras.
- Meta 4. Obtención de las nanopartículas de hierro a partir de los extractos fenólicos de las hojas de agave.
- Meta 5. Obtención de la caracterización de las nanopartículas de hierro obtenidas.

# Capítulo 2

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Nanopartícula

Dado que el estudio se centra en la síntesis de nanopartículas, es pertinente comenzar por establecer una definición clara del término nanopartícula (NP). Esta entidad, como su denominación indica, constituye una partícula de naturaleza microscópica, caracterizada por dimensiones que se sitúan en el intervalo de 1 a 100 nanómetros (nm). Esta escala dimensional resalta la notable pequeñez de las nanopartículas, cuyo tamaño es varios órdenes de magnitud menor al de partículas visibles a simple vista, como granos de arena ( $\approx 100\text{--}2000\ \mu\text{m}$ ) o cristales de sal ( $\approx 100\text{--}500\ \mu\text{m}$ ) [16]. La representación visual de esta escala nanométrica se presenta en la figura 1, otorgando una percepción gráfica precisa del espectro de tamaños que abarcan estas partículas.



**Figura 1 . Nano-escala [17].**

El estudio de estas partículas resulta de gran interés debido a que sus características únicas pueden aprovecharse en diversas aplicaciones científicas e industriales. Su relevancia radica en que, al poseer dimensiones nanométricas, exhiben propiedades físicas y químicas diferentes a las de su material en bulto, es

decir, al tener tan poco espacio para la interacción electrones-electrones y entre iones-electrones, los niveles energéticos en donde estos puedan encontrarse se verán modificados, por ello, surgen efectos distintos debido al confinamiento espacial, tales como variaciones en las propiedades ópticas (cambios en la absorción y emisión de luz), aumento de la reactividad química por la mayor proporción de átomos superficiales, modificaciones en las propiedades electrónicas y, en algunos casos, alteraciones en el comportamiento magnético [18]. Con lo anterior, estas partículas abren posibilidades en campos como la catálisis, la electrónica, la medicina y el almacenamiento de energía. Sin embargo, las propiedades también serán distintas de acuerdo con el material del que estén constituidas.

Se pueden clasificar de acuerdo con el material que las componen y se dividen en cuatro grandes grupos [19]:

- **Base de carbono:** presentan varias morfologías, ya sea en forma esférica o elipsoidal, comúnmente denominadas fullerenos, así como en estructuras cilíndricas, conocidas como nanotubos. Estas partículas poseen una amplia variedad de aplicaciones, por ejemplo, en el desarrollo de recubrimientos y películas mejoradas, creación de materiales más livianos y robustos, así como la electrónica.
- **Base de metales:** este grupo está compuesto por tres tipos; quantum dots, nanopartículas de oro y plata y óxidos metálicos. Los quantum dots son una especie de cristales o partículas semiconductoras que se usan por sus propiedades ópticas. Estas emiten distinto color según su tamaño.
- **Dendrimeros:** son un tipo especial de polímero, específicamente polímeros altamente ramificados con una estructura tridimensional organizada en forma de árbol, que parte de un núcleo central y se extiende en capas sucesivas de unidades repetitivas. Debido a su tamaño en la escala nanométrica (aproximadamente entre 1 y 15 nanómetros), se consideran nanopartículas de tipo polimérico. Cada rama de su estructura puede diseñarse para cumplir una función específica, lo que permite adaptar sus propiedades a distintas

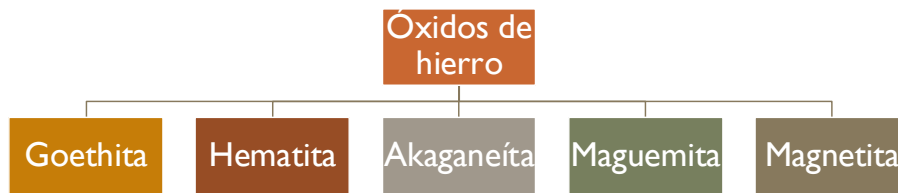
aplicaciones. Además, gracias a que su arquitectura tridimensional presenta cavidades internas capaces de alojar otras moléculas, resultan especialmente útiles en áreas como la administración de fármacos y la liberación controlada de compuestos.

- **Composites:** son estructuras resultantes de la combinación de nanopartículas entre sí, ya sea con otras de distinta composición o con materiales de mayor tamaño. Las nanopartículas, como la arcilla a nanoescala, están siendo incorporadas en una variedad de productos, que van desde componentes automotrices hasta materiales de embalaje, con el fin de potenciar sus propiedades mecánicas, térmicas y de protección, entre otras varias.

## 2.2 Propiedades Magnéticas

El magnetismo es un fenómeno que se manifiesta en los materiales como una fuerza atractiva o repulsiva [20]. Las propiedades magnéticas de un material son el resultado de la interacción de su estructura atómica con el campo magnético [20]. Actualmente, el magnetismo se aplica en una amplia variedad de áreas, desde almacenamiento de información y dispositivos electrónicos hasta biomedicina y tecnologías de energía, lo que evidencia un crecimiento continuo en su investigación y desarrollo, lo que permiten que sea uno de los pilares más importantes de la ciencia y la tecnología modernas [20].

Este trabajo se enfoca en los materiales a base de hierro como los óxidos de este elemento. Existen 16 tipos, algunos de los más comunes junto con sus respectivas coloraciones son los que se muestran en la Figura 2.



**Figura 2.** Óxidos de Hierro más comunes (Fuente: elaboración propia).

A continuación, se enlistan las propiedades magnéticas más importantes de cada uno de estos ([21], [22]).

- *Goethita* ( $\alpha - FeOOH$ ), es la más común de los oxihidóxidos férricos. Es un mineral abundante en la naturaleza y de importancia en los procesos industriales. Su estructura cristalina se organiza en paquetes cúbicos cerrados y hexagonales de oxígeno, característica de un polimorfo. Desde el punto de vista magnético, puede presentar comportamientos antiferromagnéticos o paramagnéticos, mientras que, desde el punto de vista eléctrico, se comporta como un aislante.
- *Akaganeíta* ( $\beta - FeOOH$ ), hallado en distintas minas en la Tierra y en rocas traídas de la luna durante el proyecto Apolo. Tiene muy poca estabilidad, de manera que es bastante difícil encontrarla en la naturaleza. Su estructura es tetragonal. Probablemente isomorfa. Su carácter magnético es anti ferromagnético, paramagnético y desde el punto de vista eléctrico, se comporta como un aislante.
- *Hematita* ( $\alpha - Fe_2O_3$ ), su estructura es oxígenos en configuración hexagonal compacta u octagonal, también conocido como un óxido romboedral. La hematita pura y bien cristalizada presenta un comportamiento magnético complejo, pudiendo ser paramagnética, antiferromagnética o débilmente ferromagnética. Desde el punto de vista eléctrico, se comporta como un aislante.

- *Maghemita* ( $\gamma - Fe_2O_3$ ) , esta es inestable a altas temperaturas, convirtiéndose en hematita. En maghemitas sintéticas, de pobre cristalización, esta transformación puede darse a temperaturas por debajo de los 720 K [21]. Su estructura puede ser tanto cúbica o tetragonal, también conocido como un óxido no estequiométrico. Poco abundante en la naturaleza, se puede obtener por oxidación de la magnetita o por deshidratación de la lepidocrocita. Su comportamiento magnético es ferrimagnético, mientras que su comportamiento eléctrico puede variar entre semiconductor y aislante, esto debido a varios factores como la temperatura, la presencia de defectos o impurezas en la estructura cristalina, la fase del material o el incluso el tamaño de las partículas.
- *Magnetita* ( $Fe_3O_4$ ), pertenece al grupo espinel, el cual, es una estructura ampliamente adoptada por los óxidos. Su celda unidad presenta un arreglo compacto cerrado de 32 átomos de oxígeno y un sistema cristalino cúbico. Desde el punto de vista magnético el material se comporta como ferrimagnético y, por otro lado, eléctricamente actúa como un semiconductor.

## 2.3 Síntesis de Nanopartículas

La síntesis y caracterización de nanopartículas constituye una importante área de investigación en la actualidad, para lo cual se han investigado y desarrollado diversos métodos que simulan las condiciones ambientales, logrando sintetizar en los laboratorios nanopartículas de acuerdo con las necesidades y a la aplicación que se dará a la misma. La eficiencia de estos métodos se refleja en la pureza y la cristalinidad de las nanopartículas, parámetros que se evalúan mediante técnicas de caracterización como Difracción de Rayos X (XRD, por sus siglas en inglés) para determinar la estructura cristalina, Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, por sus siglas en inglés) y Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) para analizar la morfología y el tamaño de partícula, Espectroscopía de Absorción Atómica (AAS, por sus siglas en inglés) para cuantificar el contenido

elemental, así como la determinación de la porosidad y otras propiedades físicas relevantes.

Al hablar de métodos de síntesis se refiere al conjunto de operaciones y procedimientos detallados en un protocolo que se deben llevar a cabo en el laboratorio para obtener nanopartículas de elevada cristalinidad y pureza, los cuales han sido redactados y elaborados con base en la experiencia y resultados obtenidos de diferentes trabajos de investigación [23].

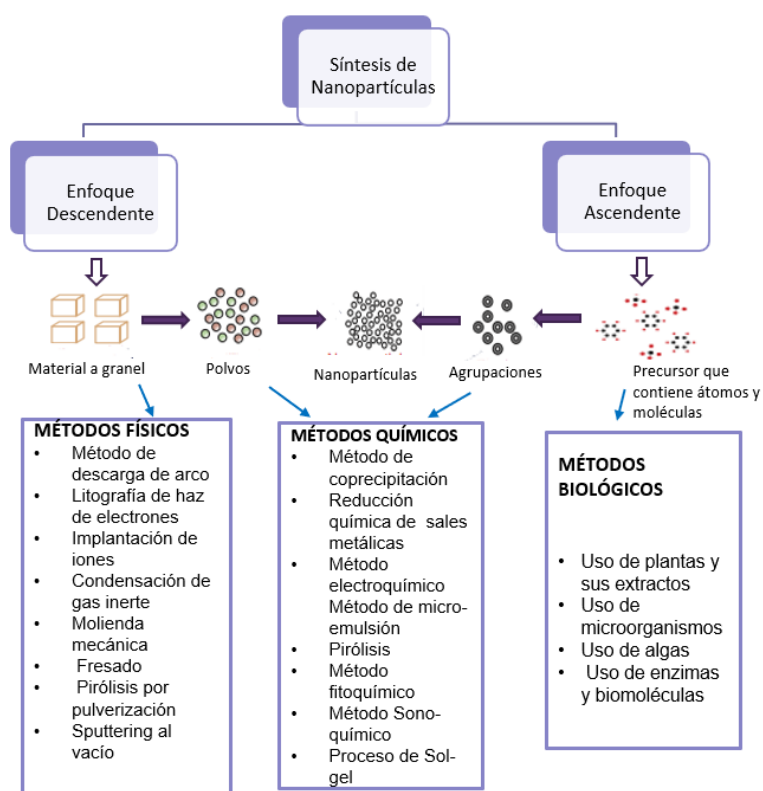
El desarrollo en el método de síntesis de nanopartículas ha llevado a una mejor caracterización de esta y su consiguiente aplicación. Los métodos de síntesis de NP pueden clasificarse en tres ramas principales: Métodos físicos, químicos y biológicos. Sin embargo, hay diversas ventajas y desventajas que se asocian con cada tipo de métodos de síntesis [24] .

Los materiales de tamaño nanométrico se sintetizan de múltiples maneras, pero en general existen dos enfoques para su creación: arriba hacia abajo o descendente (Top-Down) y abajo hacia arriba o ascendente (Bottom-up).

En el enfoque Top-Down se emplean principalmente métodos físicos, partiendo de un material a granel de dimensiones mucho mayores que las de una nanopartícula para reducirlo hasta obtener polvos finos. Este proceso puede realizarse mediante molienda u otras técnicas mecánicas, seguido de una etapa de estabilización para alcanzar el tamaño nanométrico deseado, lo cual puede resultar desafiante debido a la dificultad de lograr dimensiones tan reducidas de manera controlada. Algunas de estas técnicas son: el método por descarga de arco, litografía por haz de electrones, pirolisis por pulverización, entre otras. Además, este enfoque puede complementarse con ciertos métodos químicos, como la coprecipitación, la reducción química, la microemulsión o el proceso sol-gel, entre otros. Sin embargo, estos métodos suelen ser costosos, complejos de controlar, generan subproductos nocivos y, en ocasiones, presentan limitaciones para obtener nanopartículas con el tamaño y la estructura deseados [25].

Por otro lado, para el enfoque *Bottom-up* se emplean los métodos químicos y biológicos, en este enfoque a grandes rasgos se comienza con un material de tamaño atómico el cual podría ser un precursor que contiene átomos y moléculas. El precursor junto con un agente reductor y estabilizador generan agrupaciones o clusters, siguiendo una serie de pasos y sometiendo a una variación de parámetros como temperatura y presión para finalmente generarse nanopartículas [26].

En la Figura 3 se muestran los enfoques antes mencionados



**Figura 3.** Métodos y enfoques para la síntesis (Modificado de [26]).

## 2.4 Síntesis Verde

La química verde nació en la Environmental Protection Agency (EPA) de Estados Unidos de América en los inicios de los 1990 como un enfoque y una herramienta conceptual para la protección del medio ambiente ante la contaminación originada por la industria química, y fue expresada de manera sucinta y atractiva por medio de los 12 principios de Paul Anastas y John Warner [27]. Desde sus inicios resultaba evidente que esta vía no podría ser verdaderamente eficaz sin la adopción y compromiso de la industria. La experiencia acumulada en América, Europa y Japón demuestra que este mensaje ha logrado persuadir profundamente en la mentalidad del químico industrial, no solo por razones éticas, sino también por consideraciones económicas. En efecto, su aplicación ha conducido a modificaciones en los procesos industriales que, además de ser ambientalmente responsables, resultan económicamente rentables, al reducir de manera significativa los costos asociados a las soluciones químicas e ingenieriles que suelen ser necesarias cuando se generan o manipulan sustancias peligrosas. [28].

Como ya se mencionó en la sección anterior la síntesis de nanopartículas puede realizarse mediante dos enfoques principales [29]: métodos físicos y métodos químicos.

Sin embargo, debido a la necesidad de optimización procesos, reducción costos y hacer mínimo uso de compuestos tóxicos, ha surgido una alternativa sostenible: la síntesis biológica o síntesis verde. Este método emplea sistemas biológicos como levaduras, hongos, bacterias y extractos de plantas para la producción de nanopartículas, reduciendo así el impacto ambiental [30].

Dentro de estas estrategias, el uso de extractos vegetales ha cobrado especial relevancia debido a su fácil obtención del material biológico, seguridad en el manejo y la disponibilidad de una amplia gama de metabolitos con propiedades reductoras y estabilizantes [31]. Estos extractos pueden sustituir agentes reductores tóxicos, como el borohidruro de sodio, y permitir la generación de nanopartículas de óxido

de hierro [32] o, bajo atmósferas inertes, la síntesis de Nano Hierro Zero Valente (nFeZV) [33].

A pesar de la amplia investigación en este campo, el mecanismo exacto de la síntesis verde de nanopartículas aún no está completamente esclarecido. Sin embargo, se han propuesto varios modelos que explican la reducción y estabilización de nanopartículas mediante extractos de plantas:

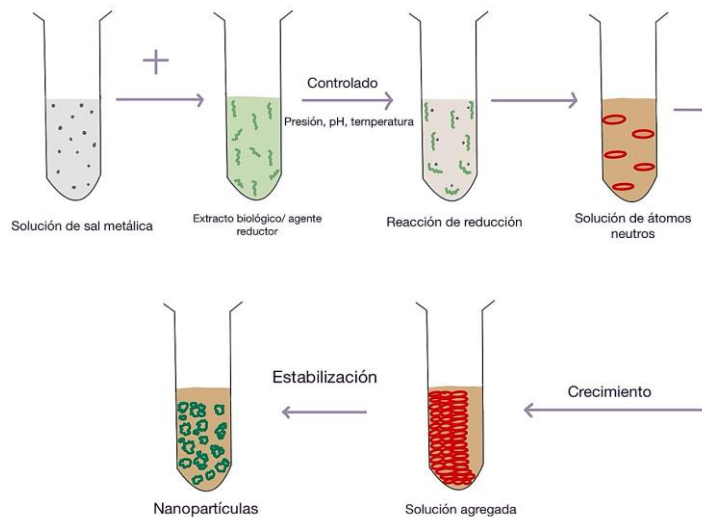
1. **Mecanismo de reacción redox:** Se basa en la capacidad reductora de diversos metabolitos presentes en los extractos vegetales, como proteínas, carbohidratos, ácidos orgánicos, fenoles y otros compuestos bioactivos. Estos componentes no solo reducen los precursores metálicos, sino que también estabilizan las nanopartículas formadas [34].
2. **Influencia de los fitoquímicos:** Los autores Ahmed, Chaudhry y Ikram [35] reportan que el proceso de síntesis depende de fitoquímicos específicos como alcaloides, fenoles, flavonoides, taninos, saponinas, terpenoides y carbohidratos. Estos compuestos pueden actuar de manera independiente o en conjunto para inducir la reducción y estabilización de nanopartículas.
3. **Participación de grupos funcionales:** Algunos autores han identificado grupos funcionales clave en la biosíntesis de nanopartículas, como alcoholes, aldehídos, aminas, carboxilos, cetonas y sulfhidrilos [34].
4. **Mecanismo de ligación y nucleación:** En este modelo, biomoléculas como polifenoles, flavonoides y carotenoides actúan como agentes de ligación, formando complejos con las sales precursoras. Los grupos hidroxilo de estas biomoléculas facilitan la nucleación de nanopartículas, que posteriormente se estabilizan mediante la adsorción de proteínas u otras biomoléculas orgánicas [34].

El proceso específicamente para la síntesis verde de nanopartículas metálicas consta de tres etapas principales [26]:

- Activación: reducción de los iones metálicos y formación de núcleos metálicos.

- Crecimiento: aumento de tamaño y estabilización termodinámica, es decir que el sistema tiende a permanecer en un estado de equilibrio sin resultar afectado por las perturbaciones que este pudiera recibir.
- Terminación: adquisición de la forma final y la estabilidad de estas depende de la forma de las partículas formadas ya que las estructuras más simétricas y uniformes suelen ser más estables que las irregulares.

La Figura 4 muestra el proceso de síntesis verde, que inicia con la etapa de activación, donde la solución de sal metálica (precursor) se mezcla con el agente reductor o extracto biológico. A continuación, en la etapa de crecimiento, las nanopartículas se forman y aumentan progresivamente de tamaño bajo condiciones controladas. Finalmente, el proceso concluye con la etapa de estabilización, en la que las nanopartículas ya generadas alcanzan un estado estructural y químico estable.



**Figura 4.** Síntesis verde de nanopartículas (Modificado de [26]).

Factores como la concentración de polifenoles, el pH, la temperatura, el tiempo de nucleación y la proporción extracto/precursor influyen directamente en el tamaño, forma y estabilidad de las nanopartículas. En medios ácidos, la producción es más lenta y puede generar aglomerados inestables, mientras que,

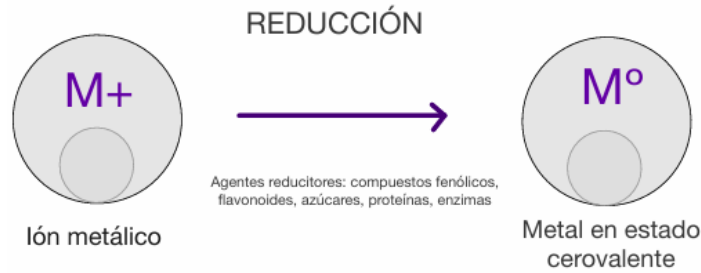
en condiciones alcalinas, la nucleación es rápida y se obtienen partículas más estables [26].

La carga superficial de las nanopartículas es otro aspecto crucial, ya que regula su interacción con el entorno biológico y con otros compuestos bioactivos. Aunque el mecanismo exacto no está completamente aclarado, la evidencia sugiere que la combinación de biomoléculas presentes en el extracto es la responsable de la reducción y encapsulación [26].

## 2.5 Agentes reductores orgánicos empleados en la síntesis verde de nanopartículas de hierro

Un agente reductor es aquel que reduce a un agente oxidante, es decir, traspasa o dona electrones a este último. Existe un método químico conocido como reacción de oxidación-reducción, o también llamado como reacciones redox, esta reacción se considera como reacciones de transferencia de electrones. Asimismo, La mayoría de los elementos metálicos y no metálicos se obtienen de sus minerales por procesos de oxidación o de reducción. En una reacción redox consiste en dos semirreacciones, una semirreacción implica la pérdida de electrones de un compuesto, en este caso el compuesto se oxida, mientras que en la otra semirreacción el compuesto se reduce, es decir gana los electrones, uno actúa como oxidante y el otro como reductor [36].

En la síntesis de nanopartículas, los agentes reductores juegan un papel clave ya que son los responsables de reducir los iones metálicos presentes en la solución precursora a su estado metálico elemental (o a un estado de oxidación más bajo), lo que permite que los átomos metálicos se agreguen y formen el núcleo de la nanopartícula como se muestra en la Figura 5.



**Figura 5.** Esquema general de la biorreducción mediada por extractos de plantas. (Modificado de [37]).

### 2.5.1 Plantas

En la actualidad, muchos investigadores están optando por abandonar los métodos sintéticos tradicionales, debido a sus limitaciones y riesgos ambientales. Las plantas, como agentes reductores, ofrecen una alternativa atractiva, ya que permiten obtener nanopartículas más estables, con menor riesgo de contaminación y con procesos fácilmente escalables. Estas ventajas han impulsado el crecimiento de la síntesis verde, que está adquiriendo una relevancia notable en diversas áreas enfocadas en la sostenibilidad ambiental. En este contexto, se han intensificado las investigaciones orientadas a emplear plantas y sus diferentes partes para la producción de nanopartículas, dada su facilidad de escalado, bajo costo y carácter respetuoso con el medio ambiente [38]. En la Tabla 1, se presentan algunas variedades de plantas que han sido utilizadas para llevar a cabo la síntesis de NPs.

**Tabla 1.** Extracto de hojas o plantas y precursores utilizados para la síntesis de Nanopartículas [39].

Material			
Biológico	Preparación	Observaciones	Referencia
<i>Musa paradisiaca</i>	PC <sup>a</sup> : $AgNO_3$ [C] <sup>b</sup> : 1mM Ext <sup>b</sup> : 20 g de hojas secas se hirvieron en 200 mL de agua destilada durante 30 min. En un matraz de 250 mL se tomaron 50 mL de filtrado y se ajustó el pH con $NaOH$ 1M.	Tamaño: 20-300 nm NP-F <sup>d</sup> : Plata con morfología esférica.	[40]

Material			
Biológico	Preparación	Observaciones	Referencia
	Sínt <sup>e</sup> : El extracto y precursor, se mezclaron y se dejó para bio-reducción en un microondas a una potencia de 600W durante 5 min, con pausa de 40 s. cada min.		
<i>Catharanthus roseus</i>	<p>PC: <math>AgNO_3</math> [C]: 1mM Ext: 10 g de hojas frescas bien lavadas y cortadas finamente se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 300 mL junto con 100 mL de agua bidestilada esterilizada la cual se hirvió durante 5 min.</p> <p>Sínt: El filtrado se trató con una solución acuosa de 1 mM de <math>AgNO_3</math> acuosa en un matraz Erlenmeyer y se incubó a temperatura ambiente.</p>	Tamaño: 35-55 nm NP-F: Plata con morfología esférica.	[41]
<i>Lobelia</i>	<p>PC: <math>Zn(CH_3COO) \cdot 2H_2O</math>; [C]: 0.02M Ext: Se preparó mediante maceración. Las hojas frescas se secaron, se trituraron y se volvieron a secar hasta obtener un polvo fino. Se mezcló 100 g de este polvo con etanol y agua, se agitó varias veces al día durante 2 días y se filtró.</p> <p>Sínt: Se preparó una solución de acetato de zinc y se mezcló con el extracto de hojas en diferentes volúmenes. El pH se ajustó a 12 con <math>NaOH</math>, y la solución se agitó durante 6 horas. Las NnP se recolectaron por centrifugación, se lavaron con agua y etanol, y se secaron a 60°C en un horno al vacío.</p>	Tamaño: 20-65 nm NP-F: presencia de aglomerados de las NP primarias con forma esférica y hexagonal.	[42]
<i>Allium sativum</i>	<p>PC: <math>Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O</math>; [C]: No indica Ext: El extracto se preparó de dos formas: 1) hojas de perejil se hirvieron en agua a reflujo durante 60 min., y 2) bulbos de ajo y cebolla se hirvieron en agua a 75-80°C con agitación magnética a 900 rpm durante 20 min. Ambos extractos se enfriaron, filtraron y se usaron para síntesis de nanopartículas.</p> <p>Sínt: Se calentó 20 mL de extracto vegetal a 60°C con agitación a 400 rpm, se añadieron 2 g de nitrato de</p>	Tamaño: 14-70 nm NP-F: forma casi esférica. También se observó una aglomeración inherente de las NP.	[43]

Material			
Biológico	Preparación	Observaciones	Referencia
	zinc y se agitó durante 20 min. La mezcla se redujo a 95°C durante 12 h, se calcinó a 400°C por 2 h y se molió para obtener polvo fino.		
<i>Coleus amboinicus</i>	<p>PC: <math>H AuCl_4</math> ;  [C]: <math>1 \times 10^{-3}</math> M  Ext: Se hirvieron 20 g de hojas picadas en 100 mL de agua bidestilada durante 3 min. El ext. se filtró y almacenó a 4°C.  Sínt: Se mezclaron 2 mL del extracto con 10 mL de <math>H AuCl_4</math> <math>10^{-3}</math> M, manteniéndose a 30°C en oscuridad. La reducción de iones <math>AuCl_4^-</math> se monitorizó mediante muestreos periódicos.</p>	<p>Tamaño: 4.6-55.1 nm  NP-F: predominantemente con morfologías esféricas, triangulares, triangulares truncados, hexagonales y decaédricas.</p>	[44]
<i>Carica papaya</i>	<p>PC: <math>FeCl_3 \cdot 6H_2O</math> ;  [C]: 0.01M a 0.2M  Ext: Se lavaron y cortaron 20-25 g de hojas frescas de <i>Carica papaya</i>, se hirvieron en 100 mL de agua destilada a 70°C durante 15 min. La solución cambió de incolora a marrón, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró con papel Whatman No. 42 para obtener el extracto acuoso.  Sínt: Se mezclaron diferentes concentraciones de iones metálicos (0,01M a 0,2M) con volúmenes variables (2-10 mL) de extracto de hojas de papaya. El producto se filtró, lavó con etanol y secó a temperatura ambiente.</p>	<p>Tamaño: Un promedio de 33 nm.  NP-F: forma de placa con granos gruesos, mostraban pequeñas partículas de forma esférica uniformemente distribuidas y mostraban nanocapsulas homogéneas.</p>	[45]
<i>Tecoma castanifolia</i>	<p>PC: <math>CuSO_4</math> ;  [C]: <math>1 \times 10^{-3}</math> M  Ext: Las hojas frescas de <i>T. castanifolia</i> se lavaron con agua corriente y bidestilada, se secaron a la sombra durante 7 días y se trituraron hasta obtener un polvo fino. Se mezclaron 5 g de polvo con 50 mL de agua bidestilada, se calentaron a 60°C durante 10 min., se filtraron con papel Whatman n.º 1 y se almacenaron a 4°C para su uso posterior.  Sínt: Se mezclaron 10 mL de extracto acuoso de <i>T. castanifolia</i> con 90 mL de sulfato de cobre (1 mM) y se</p>	<p>Tamaño (nm): 100  NP-F: fitofabricadas son esféricas</p>	[46]

Material			
Biológico	Preparación	Observaciones	Referencia
	incubaron a temperatura ambiente durante 4 días.		
<i>Murraya koenigii</i>	PC: $CuSO_4$ ; [C]: $2 \times 10^{-3}$ M Ext: Se hirvieron 4.0 g de hojas secas y pulverizadas de <i>M. koenigii</i> en 100 mL de agua destilada durante 5 min. El ext. se enfrió a temperatura ambiente, se filtró con papel Whatman No. 1 y se almacenó a 4°C para su uso posterior. Sínt: Se mezclaron 3.0 mL de extracto de hoja de <i>M. koenigii</i> con 7.0 mL de $CuSO_4$ 2 mM y se agitó 24 h a temperatura ambiente. La mezcla se centrifugó (15,000 rpm, 20°C) durante 20 min, se lavó con agua destilada y se secó.	Tamaño: Un promedio de 97 nm.  NP-F: su mayoría de forma cuboide.	[47]

Nota: <sup>a</sup>PC= precursor; <sup>b</sup>[C]: concentración; <sup>c</sup>Ext= Extracto; <sup>d</sup>NP-F= nanopartícula formada; <sup>e</sup>Sínt= síntesis; <sup>f</sup>NP=nanopartícula.

## 2.5.2 Microorganismos

En el caso de este agente reductor, se ha demostrado que su mecanismo de defensa desempeña un papel clave en la síntesis de NP. La resistencia de las células bacterianas frente a los iones metálicos reactivos presentes en el entorno es la principal responsable del proceso [38]. Para estas células, las altas concentraciones de iones resultan tóxicas y pueden provocar su muerte; por ello, para sobrevivir, su maquinaria celular transforma dichos iones reactivos en átomos metálicos estables, los cuales, al agruparse, originan nanopartículas metálicas como parte de su estrategia defensiva. Esta capacidad de las bacterias se aprovecha en la biosíntesis de nanopartículas. Los microorganismos pueden desarrollarse en diversos rangos de condiciones ambientales [32]; sin embargo, este proceso presenta limitaciones, ya que la interacción prolongada entre las nanopartículas metálicas formadas y los organismos puede provocar daños estructurales graves, e incluso la destrucción celular [26].

### 2.5.3 Algas

El entorno marino, que cubre cerca del 70 % de la superficie terrestre y permanece en gran parte inexplorado, alberga una gran diversidad biológica. Entre sus recursos, varias plantas marinas, especialmente las algas, actúan como “biofábricas” naturales capaces de producir nanopartículas con propiedades antimicrobianas. Las algas se clasifican en microalgas (como el fitoplancton) y macroalgas o algas marinas (por ejemplo, el kelp gigante), y según su pigmentación, en algas pardas, verdes y rojas. Estas contienen compuestos bioactivos como carbohidratos, carotenoides, polisacáridos, proteínas, vitaminas y metabolitos secundarios, muchos con propiedades medicinales, antiinflamatorias y anticancerígenas. Además, algunas algas pueden acumular metales pesados y producir metabolitos con propiedades contra el ensuciamiento biológico, es decir, la capacidad de evitar que organismos como bacterias, algas o moluscos se adhieran a superficies sumergidas como barcos. Estudios recientes han demostrado que extractos de algas pueden reducir iones metálicos en soluciones acuosas, facilitando la biosíntesis de nanopartículas [48]. Los extractos de algas consisten en carbohidratos, proteínas, minerales, aceite, grasas, ácidos grasos junto con los compuestos bioactivos como antioxidantes (polifenoles, tocoferoles) y pigmentos como los carotenoides [49]. No todas las nanopartículas producidas por algas o plantas marinas serán útiles o eficientes. Se selecciona un subconjunto que cumpla con criterios específicos de funcionalidad, estabilidad o rendimiento [38].

### 2.5.4 Hongos

La síntesis de nanopartículas mediante hongos es uno de los medios más populares para producir nanopartículas debido a la facilidad de manipulación de la biomasa, a su asequibilidad económica y a que son eficientes

secretoras de enzimas extracelulares, lo que conduce a la producción de enzimas a gran escala. Sin embargo, puede llevar a una mayor contaminación, ya que puede crear una manipulación genética de los organismos [49]. Se continúa investigando para superar las limitaciones. Además, el ritmo de síntesis es lento para manejar toda la biomasa producida por el crecimiento de estos hongos [38].

## 2.5.5 Agave

El particular interés se enfocará hacia una planta y su subproducto como agente reductor: El Agave. Es el nombre de un género de plantas monocotiledóneas, que comprende unas 210 especies, pertenecientes al orden Aspargales y familia Agavaceas [50]. Esta familia es nativa del continente americano, se encuentra distribuida principalmente en los ambientes áridos y semiáridos. El mayor número de especies del género son originarias de nuestro país, de un total de 131 especies de agaves, 120 (91.6%) son de distribución nacional [51]. Se dará mayor enfoque en dos tipos:

### 2.5.5.1 *Agave angustifolia* Haw

*Agave angustifolia* debe su nombre a la palabra en latín: “Angusti” que quiere decir estrecho y se debe a que sus hojas son largas y estrechas, como se observa en la Figura 6. El nombre fue dado por el botánico inglés Adrián Hardy Haworth. Algunos de los nombres comunes que recibe a lo largo de México son: *Maguey Espadín*, *Maguey de Mezcal*, *Maguey Mezcalero*, *Maguey San Martinero*, *Maguey de Espadilla*, *Dob-Yee*. Es el Agave del cual se han registrado más nombres comunes y esto se debe a su amplia distribución en territorio mexicano. Se cultiva principalmente en el estado de Oaxaca. En las plantaciones cubren gran parte de los distritos de Yautepec, Tlacolula, Miahuatlán, Ejutla, Matatlán y Ocotlán [52].



**Figura 6.** *Agave angustifolia* Haw [53].

### 2.5.5.2 *Agave tequilana* Weber

El Agave azul (*Agave tequilana* Weber variedad azul) se utiliza en México principalmente en la producción del tequila como se observa en la Figura 7. Se cultiva en la región conocida como Denominación de Origen del Tequila (DOT), que comprende a los estados de Jalisco, Michoacán, Tamaulipas, Nayarit y Guanajuato [54].



**Figura 7.** *Agave tequilana* Weber [55].

Los agaves se han utilizado desde hace mucho tiempo como plantas medicinales y en la elaboración de artesanías. Actualmente, su principal uso es en la producción de bebidas alcohólicas destiladas como el tequila, sotol, mezcal y bacanora [56].

Debido a que los subproductos agroindustriales representan una fuente potencial y económica para la obtención de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante y antimicrobiana, es necesario aprovecharlos con este fin, a través de la obtención de extractos que pueden ser aplicados en la industria. Como se ha demostrado, los subproductos obtenidos a partir de agave también pueden ser una fuente rica de estos compuestos y tener una aplicación en la industria [57].

Se han reportado algunas síntesis de nanopartículas en esta planta, aunque utilizando un precursor diferente al que se empleará en este estudio. Por ello, en la Tabla 2 se detallan algunas características de estas partículas.

**Tabla 2.** Extractos de agaves y precursores utilizados para la síntesis de Nanopartículas [Elaboración propia].

<b>Material Biológico</b>	<b>Tamaño de partícula (nm)</b>	<b>Precursor usado</b>	<b>Método de Síntesis</b>	<b>Ref.</b>
Agave <i>veracruzana</i>	3.5	Nitrato de plata	Biosíntesis	[58]
Agave <i>americana</i>	2.4-73.2	Nitrato de plata	Síntesis Verde	[59]
Agave inulin	1-10	Nitrato de plata	Biosíntesis	[60]
Agave <i>potatorum</i>	14-22	Ácido cloroáurico	Biosíntesis	[61]
Agave <i>tequilana</i> Weber var. azul	10-100	Nitrato de plata y Acetato de plata	Biosíntesis	[62]

## 2.6 Vinazas

Existe un número importante de pequeñas y medianas industrias que producen etanol a partir de la fermentación de distintas materias primas (caña, uva, agave). Dichas industrias producen cantidades considerables de líquidos residuales, o también denominados vinazas [63]. Estas vinazas dependen directamente de la materia prima empleada y el tipo de fermentación utilizado. Son residuos altamente contaminantes, contiene altas cantidades de materia orgánica como fenoles,

polifenoles, melanoidinas, gliceroles; así como materia inorgánica como sulfatos y fosfatos. Se caracterizan por un pH ácido y un alto contenido de materia orgánica, medido como Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) o Demanda Química de Oxígeno (DQO), parámetros que miden la contaminación en el agua. Las vinazas presentan turbidez y color intenso, causados por sólidos suspendidos y melanoidinas, lo que puede limitar la penetración de luz y afectar los procesos fotosintéticos, impactando negativamente la vida acuática. Estas propiedades hacen que las vinazas tengan un impacto ambiental significativo si se vierten directamente en cuerpos de agua o suelos, lo que subraya la necesidad de su tratamiento previo. Suelen ser descargadas a temperaturas entre 50-80°C, además son tóxicas para muchos microorganismos, característica que las convierte en residuos recalcitrantes a los tratamientos biológicos [3].

En la tabla 3 Se muestran las principales características fisicoquímicas de las vinazas de origen mezcalero.

**Tabla 3.** Características fisicoquímicas de las vinazas de origen mezcalero (VM) [3].

<b>Características</b>	<b>Intervalo</b>
pH	3.6-3.8
DQO (mgO <sub>2</sub> /L)	52,230-122,860
DBO <sub>5</sub> (mgO <sub>2</sub> /L)	22,000- 33,600
Color <sub>475nm</sub> (abs)	4.6-10.6
<b>Fenoles (mg Ac. gálico/L)</b>	<b>542-578</b>
<b>Fructosa (mg/L)</b>	<b>14-50</b>
Sólidos totales (mg/L)	26,830 – 94,713
Compuestos fenólicos (mg Ac. gálico/L)	450-469
Sulfatos (mg/L)	308-947
Fosfatos (mg/L)	290-1705

En diversos países se han implementado regulaciones más estrictas para controlar el vertido de vinazas debido a su alto impacto ambiental. Un caso destacado es India, donde se adoptó un modelo de vertido cero, con tratamiento, reutilización y reciclaje de efluentes dentro de las plantas [3].

En México no existe aún una norma federal específica para las vinazas de mezcal o tequila, aunque se aplican los límites de la NOM-001-ECOL-1997 [3]. En Jalisco, se desarrolla una Norma Ambiental Estatal que regulará su transporte, tratamiento y disposición, con énfasis en su aplicación controlada en suelos para prevenir la contaminación de recursos hídricos [64]. Si las vinazas contienen sustancias peligrosas o están contaminadas con ellas, se deben seguir regulaciones de residuos peligrosos, como la NOM-133-SEMARNAT-2015 para Bifenilos Policlorados.

Actualmente, se realizan estudios en campos de agave para evaluar el efecto de diferentes dosis de vinazas tequileras sobre el suelo, las plantas y las comunidades microbianas, con el fin de establecer dosis máximas seguras y promover prácticas agrícolas sostenibles [65].

En cuanto a su tratamiento, se investigan y aplican métodos biológicos por su eficacia y bajo costo, usando combinaciones de sistemas anaerobios, anóxicos y aerobios para remover materia orgánica, nitrógeno y fósforo, reduciendo así el riesgo de contaminación. Estos estudios también buscan comprender cómo las vinazas afectan procesos como la eutrofización, la reducción de oxígeno en cuerpos de agua y la alteración de ecosistemas acuáticos.

Estudios recientes han demostrado que los compuestos polifenólicos que se encuentran en las plantas presentan buenas propiedades antioxidantes y capacidad reductora [66] por lo que han sido ampliamente empleados en la síntesis verde de diferentes tipos de nano partículas [67].

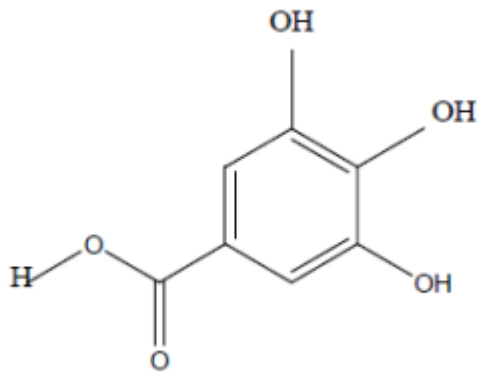
## 2.7 Fenoles Totales

Un antioxidante es una sustancia, que retrasa, previene o anula significativamente la oxidación de otra sustancia por la acción de los radicales libres, aunque se

presente en bajas concentraciones [68]. Debido a que neutralizan los radicales libres, los antioxidantes evitan el deterioro de otras sustancias indispensables para el correcto funcionamiento bioquímico del organismo [68]. Este concepto refleja un mayor entendimiento de cómo los antioxidantes funcionan dentro del cuerpo (in vivo). Ahora se reconoce su papel crucial en la protección contra el daño oxidativo, que está relacionado con diversas enfermedades y el envejecimiento. Dentro de estas sustancias antioxidantes tenemos a los compuestos fenólicos [68].

Los fenoles, compuestos por anillos aromáticos y grupos hidroxilos, se encuentran ampliamente en plantas y desempeñan funciones vitales, incluyendo protección contra patógenos y estrés ambiental [68]. Además de sus propiedades antioxidantes, los fenoles contribuyen al color de las plantas y tienen múltiples beneficios para la salud, siendo utilizados en la industria alimentaria y farmacéutica por sus efectos antidiabéticos, anticancerígenos, antiinflamatorios, entre otros [68].

La determinación de fenoles como equivalentes de ácido gálico (Figura 8) es un método analítico utilizado para cuantificar el contenido total de fenoles en muestras, basándose en la reacción de estos con el reactivo de Folin-Ciocalteu, que produce un complejo coloreado medido espectrofotométricamente a 765 nm [68]. Este método permite una evaluación consistente y comparativa del contenido fenólico en diferentes muestras, siendo crucial para aprovechar sus beneficios en diversas aplicaciones industriales.



**Figura 8. Ácido Gálico [68].**

En cuanto al contexto del control ambiental, la determinación de fenoles totales desempeña un papel fundamental por varias razones clave:

1. **Indicador de Contaminación:** Los fenoles son compuestos químicos que pueden estar presentes en aguas residuales industriales como resultado de procesos de manufactura, especialmente en sectores como la producción de papel, petroquímica y farmacéutica. Su presencia en el agua puede indicar la contaminación por actividades industriales.
2. **Impacto en Ecosistemas Acuáticos:** Los fenoles pueden ser tóxicos para los organismos acuáticos incluso en concentraciones relativamente bajas. Su liberación al medio ambiente puede tener efectos adversos significativos en la biodiversidad acuática y en la calidad del agua, afectando a peces, crustáceos, y organismos microbianos esenciales para los ecosistemas acuáticos.
3. **Normativas y Límites Regulatorios:** En muchos países, existen regulaciones estrictas sobre los niveles máximos permitidos de fenoles en aguas residuales antes de su descarga al medio ambiente. La determinación precisa de fenoles totales es necesaria para garantizar el cumplimiento de estas normativas y para monitorear continuamente el impacto ambiental de las actividades industriales [69].

4. **Metodologías Analíticas Avanzadas:** La química analítica ha desarrollado métodos sensibles y específicos para la detección y cuantificación de fenoles en muestras ambientales. Estos métodos incluyen técnicas como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la espectroscopía UV-visible y métodos colorimétricos, que permiten detectar incluso concentraciones muy bajas de estos compuestos en matrices complejas como el agua [69].
5. **Gestión y Prevención:** La monitorización regular de fenoles totales en aguas residuales industriales no solo ayuda a cumplir con las normativas ambientales, sino que también es fundamental para la gestión efectiva de riesgos. Entre las medidas preventivas que se pueden implementar para reducir la contaminación en origen se incluyen: el tratamiento previo de efluentes antes de su descarga, la sustitución de reactivos o procesos químicos por alternativas menos contaminantes, la optimización de procesos para reducir la generación de residuos, y la capacitación del personal en buenas prácticas ambientales. Estas acciones contribuyen a disminuir la carga de fenoles y otros compuestos tóxicos, protegiendo tanto al medio ambiente como a la salud pública. [69].

## 2.8 Capacidad de Reducción Férrica del Plasma

La Capacidad de Reducción Férrica del Plasma (FRAP, por sus siglas en inglés) es un método sencillo y automatizado que permite evaluar el poder antioxidante, midiendo específicamente la capacidad de reducción férrica del plasma. La reducción de iones férricos  $Fe^{3+}$  a ferrosos  $Fe^{2+}$  a pH bajo provoca la formación de un complejo ferroso-tripiridiltriazina que tiene asociado un cambio de color azul intenso [70].

Además, resulta ser sencillo de realizar, a un bajo costo, altamente reproducible y con muy buenos resultados. A continuación, se describe el funcionamiento del ensayo FRAP a través de cuatro puntos clave.

### 1. Principio del ensayo FRAP:

- En el ensayo FRAP, se utiliza un oxidante clave, que es una sal férrica ( $Fe^{3+}$ ) en solución acuosa.
- Los antioxidantes presentes en la muestra actúan como donadores de electrones (reductores). Estos antioxidantes tienen un potencial redox menor que el de la reacción del  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  bajo las condiciones del experimento [71]. Esto significa que los antioxidantes pueden donar electrones al  $Fe^{3+}$ , reduciéndolo a  $Fe^{2+}$ .

### 2. Reacción química:

- En la mezcla de reacción, el  $Fe^{3+}$  está en forma de una solución férrica de tripiridiltriazina ( $Fe^{3+}$  TPTZ), y se encuentra en gran exceso.
- La capacidad de la muestra para reducir  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  depende de la cantidad de antioxidantes presentes, lo que se denomina la capacidad total de donación de electrones.

### 3. Cambio de color y medición:

- La solución inicial de  $Fe^{3+}$  es de color amarillo pálido. Cuando los antioxidantes reducen  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$ , la solución cambia a un color azul intenso [71].
- Este cambio de color se mide por un aumento en la absorbancia a una longitud de onda específica, 593 nm [71]. Cuanto mayor sea la absorbancia, mayor es la capacidad antioxidante de la muestra.

### 4. Condiciones controladas:

- Las condiciones del experimento, como la temperatura, el pH, y los volúmenes de reactivos y muestras, están estrictamente controladas.
- La actividad antioxidante total de la muestra se determina comparando el cambio de absorbancia de la muestra con el cambio de absorbancia de una concentración conocida de  $Fe^{2+}$  bajo las mismas condiciones experimentales [71].

En resumen, el ensayo FRAP mide cuán eficazmente una muestra puede reducir  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$ , lo cual es un indicador de su capacidad antioxidante total. Este cambio se detecta y cuantifica mediante el cambio de color en la solución.

## 2.9 Técnicas de caracterización

Una vez obtenidas las nanopartículas de hierro, se realizaron caracterizaciones con el objetivo de evaluar sus propiedades físicas y estructurales, incluyendo tamaño, morfología, tipo de estructura cristalina, grado de cristalinidad, características superficiales y grado de dispersión, empleando para ello las técnicas que se describen a continuación.

### 2.9.1 Microscopía Electrónica de Barrido

Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, por sus siglas en inglés), se utilizan electrones en lugar de luz para formar una imagen. Para lograrlo, el cañón electrónico es el primer componente de la columna del microscopio y es el que produce el haz de electrones. Consta de un filamento emisor de electrones que son luego acelerados por un ánodo polarizado para generar interacción con la muestra de interés [72]. Este por una serie de lentes electrónicas es focalizado sobre la muestra analizada. Los detectores registran las señales originadas por la interacción entre el haz de electrones y la muestra, que son procesadas y visualizadas en el sistema final de observación (monitor o pantalla de computadora) [72].

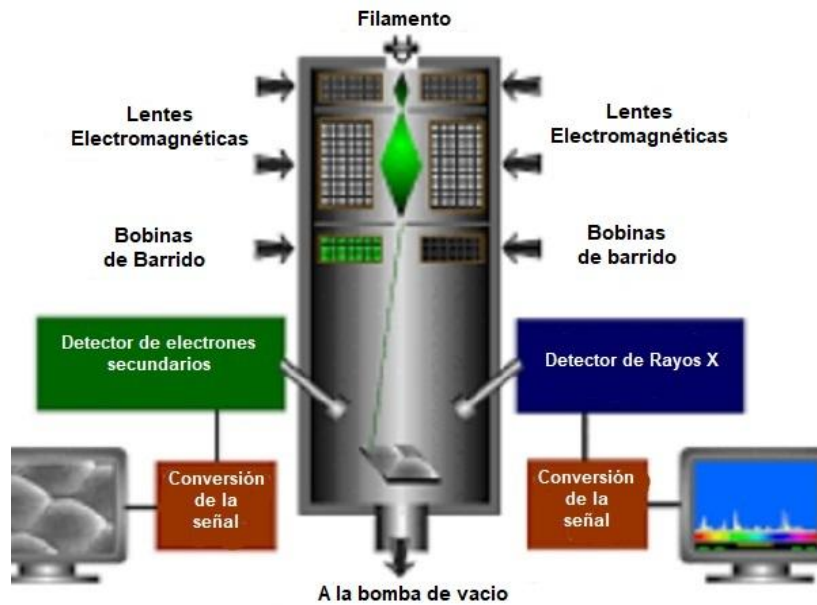
Un sistema de bobinas desvía este haz de tal manera que una zona de la superficie de la muestra es continuamente explorada (scanning) y las señales resultantes son registradas por los detectores [72]. En la parte final de la columna del microscopio es donde está situada la cámara de vacío en donde se deposita la muestra y están situados los diversos detectores.

En función de los detectores utilizados, el microscopio electrónico de barrido (SEM) capta y visualiza tres tipos principales de señales, cada una asociada

a efectos físicos específicos que proporcionan información distinta de la muestra:

- **Electrones secundarios:** se producen cuando un electrón del haz pasa muy cerca del núcleo de un átomo de la muestra, proporcionando la suficiente energía a uno o varios de los electrones interiores para “saltar” fuera de la muestra [73]. Los electrones serán de muy baja energía por lo que son los que se encuentran cerca de la superficie y precisamente esto hace que nos brinde información topográfica de la muestra.
- **Electrones retro dispersados:** se producen cuando un electrón del haz choca frontalmente con el núcleo de un átomo de la muestra, siendo repelido en sentido contrario fuera de ella. Pero dada la fuerte dependencia de la emisión de electrones retrodifundidos con el número atómico  $Z$ , este modo de visualización permite detectar variaciones de la composición en distintos puntos de la muestra analizada. Zonas de mayor número atómico son más eficientes en la emisión de electrones retrodifundidos y aparecen por lo tanto más brillantes en la imagen [72]. Por esta razón se utilizan para obtener un mapa con información sobre la composición superficial de la muestra [73].
- **Rayo X característico:** permiten la identificación cualitativa de los elementos químicos presentes en la superficie de la muestra, ya que cada elemento emite radiación X con energías específicas cuando sus electrones internos son excitados por el haz de electrones. El detector EDS registra el espectro de energías y, al comparar la posición de los picos con valores conocidos, se determina la presencia de cada elemento. Además, mediante la intensidad relativa de dichos picos, es posible obtener un análisis semicuantitativo de la composición química detectada [74].

En la Figura 9 se observan componentes de la columna del microscopio electrónico de barrido.

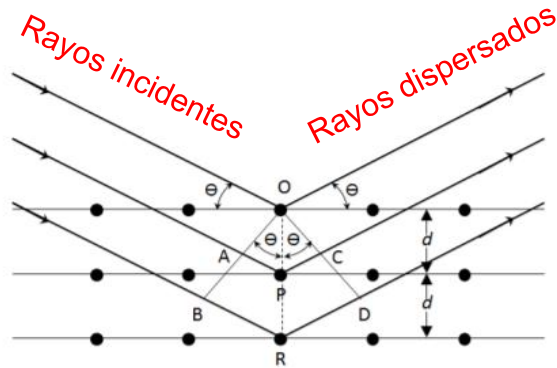


**Figura 9.** Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) [75].

## 2.9.2 Difracción de Rayos X

La Difracción de rayos X está basada en las interferencias ópticas que se producen cuando una radiación monocromática atraviesa una rendija de espesor comparable a la longitud de onda de la radiación. Los rayos X tienen longitudes de onda de Angstroms, del mismo orden que las distancias interatómicas de los componentes de las redes cristalinas [76]. La interacción entre los rayos X y los átomos de la materia que atraviesa dan lugar a una dispersión [76]. Al producirse la dispersión tienen lugar interferencias (tanto constructivas como destructivas) entre los rayos dispersados, ya que las distancias entre los centros de dispersión son del mismo orden de magnitud que la longitud de onda de la radiación ( $\lambda$ ). El resultado es la difracción, que da lugar a un patrón de intensidades que puede interpretarse según la ubicación de los átomos en el cristal, por medio de la ley de Bragg. La Figura

10 muestra la interacción de estos rayos y auxilia para la descripción del fenómeno.

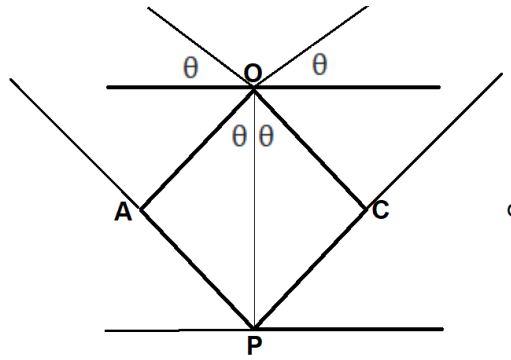


**Figura 10.** Interacción entre los rayos X y la estructura cristalina de un material [Fuente propia].

Para que haya interferencia constructiva o las ondas estén en fase, los rayos incidentes forman un ángulo con el plano cristalino de modo que también debe ser el mismo para los rayos dispersados es decir  $\theta$ . Ahora para que esto suceda se debe de cumplir la ley de Bragg la cual nos dice que para que haya una interferencia constructiva la sumatoria de la diferencia del recorrido óptico de ambas ondas tiene que ser un número múltiplo de la longitud de onda incidente en este caso la longitud de los Rayos X, entonces

$$n\lambda = AP + PC \quad \dots (1)$$

Ahora definimos a  $d$  como la distancia entre los planos. Por simetría podemos observar que  $\theta$  también se encuentra en los triángulos de OAP y OPC como se muestra en la Figura 11.



**Figura 11.** Geometría entre dos planos para el ángulo  $\theta$  [Fuente propia].

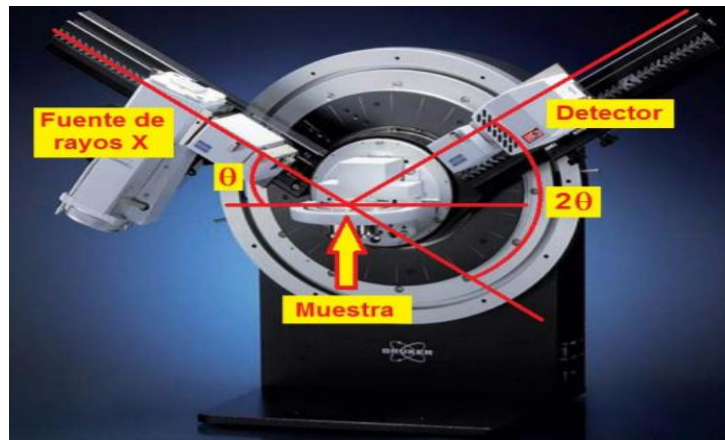
por lo que la ecuación 1 se desglosa en

$$n\lambda = d\sin\theta + d\sin\theta \quad \dots (2)$$

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad \dots (3)$$

Dando así origen a la Ley de Bragg, en donde  $n$  es un número entero que representa el orden de la difracción.

Para tener un panorama de cómo se lleva a cabo esta técnica la Figura 12 nos brinda los componentes de ésta



**Figura 12.** Mecanismo para la difracción de rayos X [77].

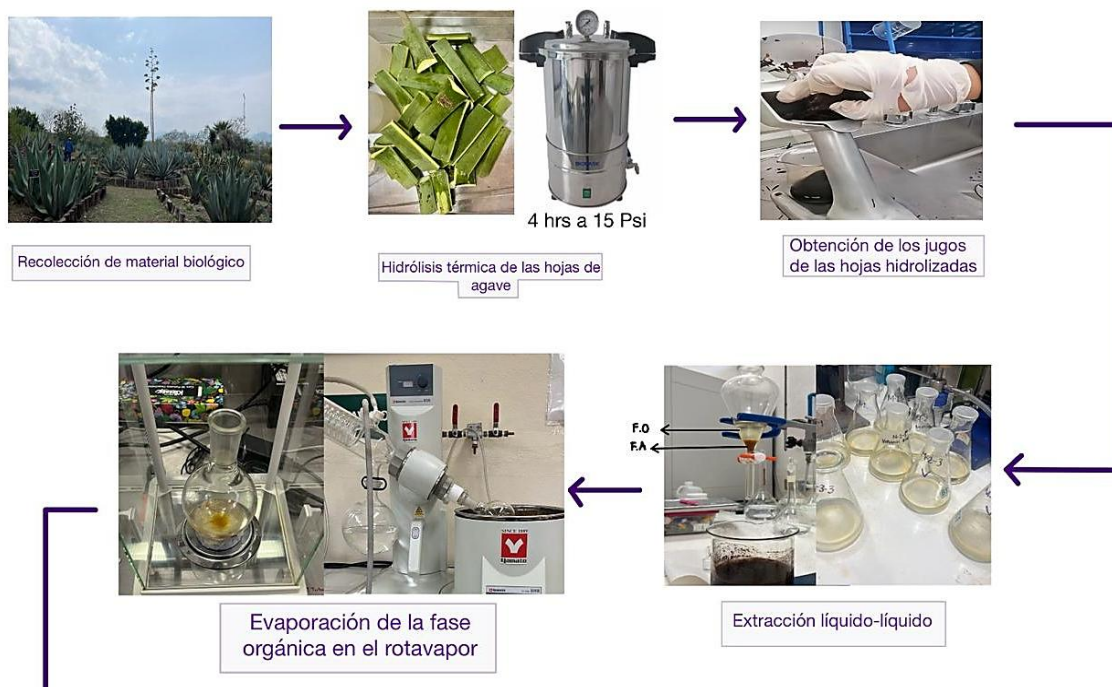
Con esta técnica es posible determinar el grado de cristalinidad de las nanopartículas, es decir, cuán ordenada está la disposición de los átomos en su estructura interna. Además, permite identificar y cuantificar las diferentes formas cristalinas presentes, conocidas como polimorfos, lo que resulta crucial porque la estructura cristalina influye directamente en las propiedades físicas, químicas y mecánicas de las nanopartículas, como su reactividad, estabilidad, magnetismo, conductividad y capacidad catalítica. De esta manera, la técnica no solo confirma la presencia de nanopartículas, sino que también proporciona información detallada sobre su calidad estructural y potencial funcional.



# Capítulo 3

## 3. METODOLOGÍA

A continuación, se presenta un esquema que resume de manera clara y ordenada la metodología empleada para la síntesis de nanopartículas. Este diagrama permite visualizar cada una de las etapas desarrolladas en el proceso, desde la preparación de los extractos hasta la obtención del material final, facilitando la comprensión del procedimiento seguido en este trabajo.



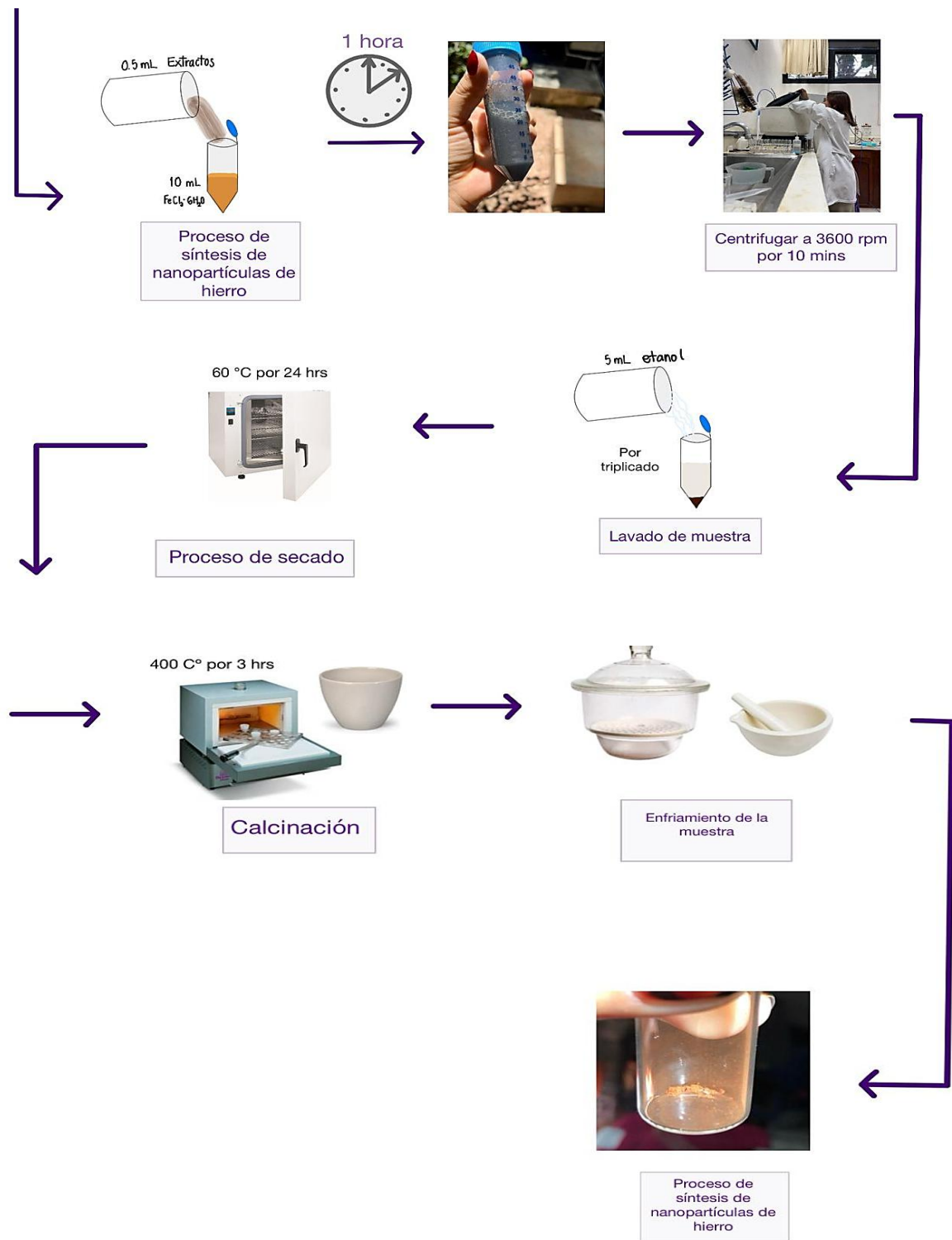


Figura 13. Diagrama general de trabajo.

### 3.1 Material biológico

Las hojas de *Agave angustifolia* Haw (AAH) y *Agave tequilana* Weber (ATW), se colectaron dentro de las instalaciones de la Universidad Tecnológica de la Mixteca. Se colectó un total de tres kilogramos de hojas por cada agave por lo que se decidió separar en tres muestras respectivamente para su posterior análisis. La edad estimada del (ATW) fue entre 13-15 años. Mientras que el (AAH) fue de 5 años.

#### 3.1.1 Hidrólisis térmica de las hojas de agave

Se cortaron aproximadamente 35 cm de las hojas de los agaves AAH y ATW a partir del tallo, dado que en esa sección se concentra una mayor cantidad de masa, lo que favorece la obtención de jugo. Posteriormente, se retiraron las espinas laterales y la cutícula, y las hojas se seccionaron en fragmentos de aproximadamente 10 cm de longitud, tamaño acorde a la capacidad de la prensa mecánica utilizada para la extracción, cuyo diseño presenta un receptáculo limitado que solo permite el procesamiento eficiente de piezas de dichas dimensiones. Se realizaron 3 paquetes envueltos en papel aluminio de 1 Kg cada uno, los cuales fueron sometidos a hidrólisis térmica en autoclave a 15 Psi (libra por pulgada cuadrada) durante 4 horas. En la Figura 14 y la Figura 15 se muestran los tamaños promedio de las hojas utilizadas para su estudio.



**Figura 14.** Tamaño promedio de la hoja de agave utilizada para el estudio.



**Figura 15.** Hoja de agave utilizada para el ensayo.

### 3.1.2 Obtención de los jugos de las hojas hidrolizadas

Los fragmentos de las hojas de agave AAH y ATW previamente hidrolizados contenidas en cada uno de los paquetes, se colocaron en una prensa manual convencional para la extracción del jugo. Obteniéndose de cada paquete un frasco con aproximadamente 1 L de jugo por cada Kg de hoja de agave hidrolizada, con un resultado final de tres frascos de un litro de jugo por cada agave. Los jugos se dejaron sedimentar durante 24 horas y posteriormente se sometieron a centrifugación a 3600 rpm durante 5 minutos, tiempo mínimo necesario para la remoción adecuada de sólidos. Finalmente, los jugos obtenidos se almacenaron a 15 °C para preservar sus propiedades y evitar su deterioro hasta el momento de su uso.

## 3.2 Tratamiento para vinazas mezcaleras

Las vinazas mezcaleras se obtuvieron de un palenque artesanal de la comunidad de Miahuatlán de Porfirio Diaz, las cuales se sometieron a un proceso de centrifugación a 3600 rpm durante 5 minutos, tiempo mínimo necesario para la

remoción de sólidos, posteriormente se almacenaron a 15 °C para preservar sus propiedades y evitar su deterioro hasta el momento de su uso.

### 3.3 Extracción líquido-líquido para la obtención de extractos fenólicos a partir de los jugos de las hojas hidrolizadas y vinazas mezcaleras

De cada uno de los frascos conteniendo un litro de jugo hidrolizado se tomaron 20 mL los cuales se vertieron en un embudo de separación de 200 mL y se le adicionaron 20 mL de acetato de etilo y se agitaron vigorosamente durante 2 min. Posteriormente se dejaron reposar hasta la separación de la fase orgánica (parte superior) de la fase acuosa (parte inferior). Se desechó la fase acuosa y la fase orgánica se depositó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se le adicionó sulfato de sodio anhidro marca J.T. Baker para eliminar residuos de agua. El procedimiento antes descrito se realizó por triplicado. La elección de triplicados se realizó con la finalidad de garantizar la reproducibilidad y precisión de los ensayos, evitando las limitaciones que presentan análisis con un número menor de repeticiones.

Para eliminar el acetato de etilo y obtener el extracto fenólico, la fase orgánica se depositó en un matraz bola de 250 mL y se llevó al rotavapor con una velocidad de 50 rpm y templando el agua a una temperatura de 40 °C. El tiempo aproximado para la extracción de una muestra es de aproximadamente 20 min.

Para la obtención de los extractos fenólicos a partir de las vinazas mezcaleras se siguió con el procedimiento antes mencionado.

### 3.4 Síntesis de nanopartículas de hierro

Las NPs-Fe se preparan empleando una solución de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.1 M como precursor y extractos fenólicos obtenidos de los Jugos hidrolizados de agave (JHA) y VM como agentes reductores en una relación 2:1 (extracto:precursor). Así mismo

los extractos se ajustaron a  $10,000 \frac{\mu\text{g EAG}}{\text{mL}}$ , con la finalidad de estandarizar la concentración del agente reductor.

A un volumen de 1 mL de solución precursora 0.1 M de cloruro férrico se le añade un volumen de 2 mL de los extractos fenólicos de JHHA ó VM. La solución se mezcla a temperatura ambiente, durante una hora a 200 rpm utilizando una agitadora orbital marca Kia. A continuación, la solución se centrifuga a 3600 rpm durante 10 minutos, la pastilla obtenida se suspende en 5 mL de etanol y se centrifuga en las mismas condiciones. El proceso se repite tres veces para eliminar las impurezas. La pastilla fue colocada en una estufa de secado a 60 °C durante 24 horas para eliminar la humedad residual. Posteriormente, el polvo de nanopartículas secadas fue sometido a un proceso de calcinación en una mufla a 400 °C durante 3 horas. Finalmente, las NPs fueron recolectadas y pesaron en un vial para su posterior caracterización. Las muestras obtenidas de las síntesis se guardaron a temperatura ambiente durante un periodo de un mes hasta su análisis por técnicas de caracterización física.

### 3.5 Determinación de fenoles totales expresados como equivalentes de ácido gálico (GAE)

Para esta determinación, se sigue la metodología propuesta en [78].

#### 3.5.1 Preparación de disoluciones patrón de Ácido Gálico

Para la preparación de la solución patrón de ácido gálico, se inició con la preparación de una solución stock de  $1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$ . Para ello, se pesaron 0.001 g de ácido gálico, los cuales se transfirieron a un matraz aforado de 10 mL y se completó el volumen con agua Mili-Q. Posteriormente, se preparó una solución de metanol-agua ( $\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$ ) en una proporción de 60% metanol y 40% agua. Utilizando la solución patrón y la solución de metanol-agua, se realizaron mediciones a distintas concentraciones en el espectrofotómetro

para registrar las absorbancias correspondientes como se muestra en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Concentraciones para curva estándar.

Numero de ensayo	Concentración de Muestra (Solución patrón de ácido gálico, $1000 \frac{\mu g}{mL}$ ) $\mu L$ .	Metanol-Agua $\mu L$
1	100	900
2	200	800
3	300	700
4	500	500
5	700	300
6	900	100

Nota: La suma de las dos soluciones nos da como resultado 1 mL para poder analizar.

### 3.5.2 Preparación del extracto de las vinazas mezcaleras y del jugo de las hojas hidrolizadas de los agaves

En tubos de ensayo marca Hach de 10 mL se adicionaron 50  $\mu L$  de muestra (o estándar), 3 mL de agua desionizada y 250  $\mu L$  de reactivo de Folin-Ciocalteu 1 M. Las muestras se dejaron reposar por 5 minutos a temperatura ambiente y se agitaron por 15 segundos. Pasado el tiempo, se adicionaron 750  $\mu L$  de carbonato de sodio ( $Na_2CO_3$ ) al 20%, se homogeneizaron y se dejaron reposar por 40 minutos. Las muestras se leyeron a una absorbancia de 765 nm en un espectrofotómetro marca Hach modelo DR5000. El blanco se preparó mediante la sustitución de la muestra por metanol-agua. Los resultados fueron expresados como equivalentes de ácido gálico/L. El experimento se llevó a cabo por triplicado.

## 3.6 Ensayo de la Capacidad de Reducción Férrica del Plasma

La metodología utilizada en este estudio se basa en el enfoque presentado en el artículo [71].

### 3.6.1 Preparación de los reactivos

Es importante mencionar que, para la preparación de los reactivos, se debe utilizar agua del más alto grado de pureza que se tenga (por ejemplo, agua Mili-Q). A continuación, se enlistan los reactivos, así como la cantidad que se utilizó.

- *Acetato Buffer*,  $300 \frac{mmol}{L}$ , pH 3.6: 3.1 g de sodio es disuelto en ~800 mL de agua Mili-Q; se adicionaron 16 mL de ácido acético glacial y se midió el pH, ajustándolo en caso necesario a pH 3.6 con ácido acético glacial o hidróxido sódico 1 M. El volumen final se ajustó a 1 litro con agua Mili-Q. El *buffer* se almacenó a temperatura ambiente y pudo utilizarse hasta 1 mes después de su preparación. Es de suma importancia que el reactivo permaneciera claro e incoloro ya que este aspecto indica que no ha sido contaminado.
- Solución TPTZ,  $10 \frac{mmol}{L}$  in  $40 \frac{mmol}{L}$  de HCl: 156 mg 2,4,6 tripyridyl-S-triazine (TPTZ) se disolvió en 50 mL de ácido clorhídrico (HCl)  $40 \frac{mmol}{L}$ . El reactivo se conservó a 4 °C y pudo utilizarse hasta 2 semanas después de su preparación. Este reactivo de igual manera debió permanecer claro e incoloro.
- Cloruro Férrico,  $20 \frac{mmol}{L}$ : Se disolvieron 270 mg de cloruro férrico en 50 mL de agua. El reactivo se almacenó a 4 °C en una botella de plástico y pudo utilizarse hasta 2 semanas después de su preparación, siempre que no se observaran precipitados ni un oscurecimiento evidente (del color amarillo

anaranjado pálido inicial). Se debió utilizar un nuevo recipiente para almacenar cada lote nuevo de reactivo.

- Reactivo de Capacidad de Reducción Férrica del Plasma (FRAP, por sus siglas en inglés) de trabajo: según fue necesario y justo antes de su uso, mezclaron 10 mL de tampón acetato con 1 mL de solución de TPTZ y 1 mL de solución de cloruro férrico (ampliando las porciones si se requería un volumen mayor) y se utilizó en un plazo máximo de 3 horas. El reactivo FRAP de trabajo presentaba un color amarillo anaranjado pálido. Se desechó el reactivo si se observaba un color azul evidente, ya que esto indicaba contaminación de los reactivos o del equipo con iones  $Fe^{2+}$ .

### 3.6.2 Preparación de estándar

Se recomienda usar un estándar de  $Fe^{2+}$  ( $1000 \frac{\mu mol}{L}$ ) para la preparación, aunque se pueden emplear diferentes tipos y concentraciones de estándares. Se sugiere sulfato ferroso como sal, debido a su buen funcionamiento según la literatura consultada [ [70], [71]]. Para la preparación:

1. Se disolvieron 27.8 mg de sulfato ferroso heptahidratado en ~80 mL de agua.
2. Se transfirieron a un matraz volumétrico de 100 mL y se aforó con agua hasta 100 mL.
3. El estándar fue almacenado a 4 °C, siendo útil al menos 2 semanas.

El estándar se puede diluir en agua para obtener calibradores en un rango (por ejemplo, 100, 250, 500, 750 y  $1000 \frac{\mu mol}{L}$ ), aunque un solo calibrador es suficiente, ya que la reacción es lineal entre 2 y  $2500 \frac{\mu mol}{L}$ . No se deben preparar estándares mayores a  $1500 \frac{\mu mol}{L}$  debido a límites de solubilidad.

Si se esperan valores muy altos (como en tés o alimentos vegetales), se puede:

- Pre-diluir la muestra en agua pura.

- Usar otro material como ácido ascórbico para estándares de mayor valor FRAP.
- Reducir el volumen de muestra empleada; por ejemplo, si inicialmente se utilizaron 200  $\mu\text{L}$ , este puede disminuirse a 100  $\mu\text{L}$  o ajustarse según los requerimientos del análisis.

### 3.6.3 Procedimiento para el ensayo

- Se prepararon los reactivos, estándares, muestras de control de calidad (QC, por sus siglas en inglés) y el reactivo FRAP de trabajo como se describe anteriormente; 50 mL de reactivo FRAP de trabajo son suficientes para un lote que incluya un blanco de reactivo, un estándar (realizado por duplicado), dos muestras de QC y 10 muestras de prueba.
- El reactivo FRAP de trabajo se calentó a 37 °C (el autor recomienda de 10 a 15 minutos para 50 mL de reactivo ya que es el intervalo de tiempo mínimo para llegar a la temperatura requerida).
- Se etiquetaron un conjunto de tubos de ensayo de la marca Hach limpios y secos (uno para el blanco de reactivo, dos para el estándar, uno para cada muestra de control y para cada muestra de prueba), con un máximo recomendado de 15 tubos en total.
- Se añadió 1.0 mL de agua altamente purificada, es decir, agua Mili-Q, a cada tubo.
- Se colocaron los tubos de ensayo en un recipiente adaptado, para posteriormente sumergirlos en un baño de agua a 37 °C durante 5 minutos.
- Se añadieron 100  $\mu\text{L}$  del estándar, control o muestra de prueba a cada tubo; se añadieron 100  $\mu\text{L}$  de agua al tubo del blanco de reactivo; se mezcló cada tubo con un vórtex durante ~3 segundos.
- Inmediatamente se procedió a pipetear 3.0 mL del reactivo FRAP de trabajo precalentado en el tubo del blanco de reactivo; se mezcló ~5 segundos con el vórtex y se devolvió el tubo al baño de agua.

- Nuevamente se procedió a pipetear 3.0 mL del reactivo FRAP de trabajo precalentado en el primero de los tubos duplicados del estándar o muestra; se mezcló ~5 segundos con el vórtex, se devolvió inmediatamente el tubo al baño de agua y se comenzó a cronometrar.
- Igualmente, se pipeteó 3.0 mL del reactivo FRAP de trabajo precalentado en los demás tubos de ensayo a intervalos cronometrados (por ejemplo, cada 15 segundos); se mezcló ~5 segundos con un vórtex y se colocó cada tubo de nuevo en el baño de agua antes de proceder con el siguiente tubo. No fue necesario tapar ni sellar los tubos.
- A los 4 minutos con 45 segundos en el cronómetro, se transfirió el contenido del tubo del blanco de reactivo a la celda de cuarzo para mayor precisión y se utilizó para calibrar el espectrofotómetro, configurando el selector de longitud de onda en 593 nm (o lo más cercano posible a 593 nm según lo permita el equipo). Recalcando que el uso de un filtro de 590 o 600 nm en un colorímetro da resultados aceptables.
- Exactamente a los 5 minutos en el cronómetro, se transfirió rápidamente el contenido del primer tubo del estándar a la misma celda de cuarzo o a una celda ópticamente equivalente y se procedió a leer la absorbancia en unos pocos segundos.
- A medida que se alcanzaron los 5 minutos de tiempo de reacción en cada uno de los otros tubos, rápidamente se transfirió su contenido a una celda y se leyó la absorbancia de cada uno.



## 4. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este apartado Se presentan los resultados correspondientes a la síntesis y caracterización de nanopartículas de hierro, obtenidas a partir de extractos fenólicos de hojas de agave y vinazas. Cada técnica de caracterización empleada permitió evaluar diferentes propiedades químicas, estructurales y morfológicas del material sintetizado. Se dividen los resultados obtenidos en el siguiente orden: Determinación de Fenoles Totales expresados en Ácido Gálico, Ensayo de la Capacidad de Reducción Férrica del Plasma, Microscopía Electrónica de Barrido y por último Difracción de Rayos X.

Se determinó el rendimiento en masa de la síntesis de nanopartículas, con base en los datos recopilados a lo largo del trabajo en la Tabla 30, Tabla 31 y Tabla 32 (Anexos), donde se exponen los pesos en g de los extractos de cada matriz. Teniendo estos datos y el peso del polvo de nanopartículas tras la síntesis (Tabla 29, Anexos), se presentan en la siguiente tabla los rendimientos correspondientes.

**Tabla 5.** Rendimientos correspondientes a las 3 matrices empleadas.

Muestra	Rendimiento (kg NPs-Fe/ Tonelada)
<i>Agave tequilana</i> Weber	1.67
<i>Agave angustifolia</i> Haw	2.85
Vinazas mezcaleras	2.67

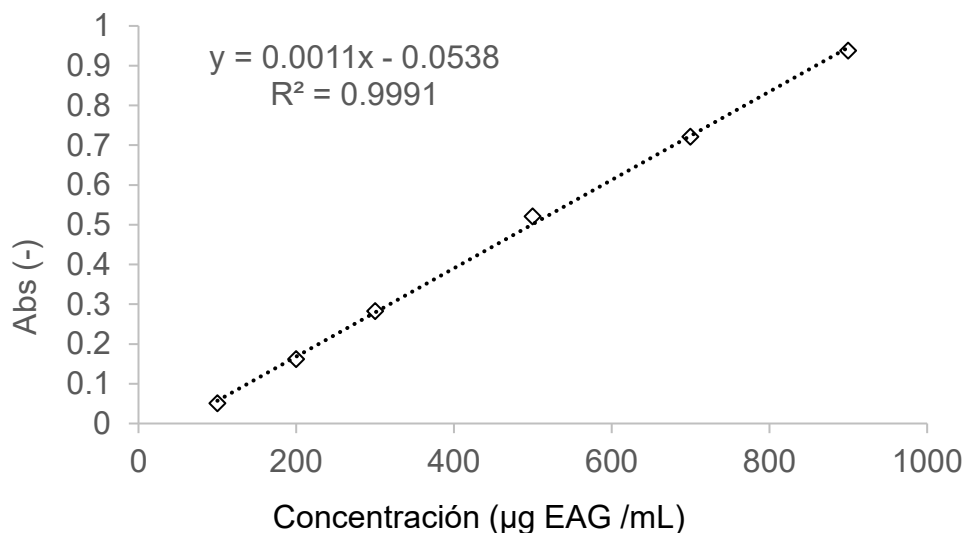
#### 4.1 Determinación de Fenoles Totales expresados en Ácido gálico

Los extractos fenólicos fueron analizados para determinar su contenido total de fenoles, expresado como equivalentes de ácido gálico (GAE, por sus siglas en inglés). Como primer paso, se elaboró la curva de calibración o mejor conocida como curva estándar utilizando ácido gálico. A continuación, se presentan los resultados obtenidos.

**Tabla 6.** Resultados de la curva estándar.

Concentración de Estándar ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbancia	Promedio	Desviación estándar ( $\sigma$ )
100	0.050 0.052	0.051	$\pm 0.0014$
200	0.160 0.163	0.162	$\pm 0.0021$
300	0.284 0.282	0.283	$\pm 0.0014$
500	0.519 0.522	0.521	$\pm 0.0021$
700	0.723 0.719	0.721	$\pm 0.0028$
900	0.936 0.940	0.938	$\pm 0.0028$

Con base en los promedios obtenidos en la Tabla 7 se graficó una recta utilizando el método de mínimos cuadrados. A continuación, se presenta la gráfica, así como la ecuación de la recta.



**Figura 16.** Curva estándar de la tabla 5.

La ecuación de la recta obtenida con los estándares de ácido gálico es calculada por el método de mínimos cuadrados, obteniéndose:

$$y = 0.0011x - 0.0538 \quad \dots (4)$$

Donde:

y= valor de la absorbancia (Abs)

x= concentración de fenoles totales expresados como  $\frac{\mu\text{g EAG}}{\text{mL}}$

Para poder determinar a concentración de fenoles totales presentes en las muestras de los extractos de ATH, AAH Y VM, se despejó a  $x$ , con lo que resulta:

$$\left[ \frac{\mu\text{g EAG}}{\text{mL}} \right] = \frac{\text{Abs} + 0.0538}{0.0011} \quad \dots (5)$$

Con base en los resultados obtenidos y presentados en la Tabla 33, Tabla 34 y Tabla 35 (Anexos), se determinaron los contenidos de fenoles totales, expresados como gramos equivalentes de ácido gálico, para las muestras de *Agave tequilana* Weber, *Agave angustifolia* Haw y vinazas mezcateras.

**Tabla 7.** Resultados obtenidos de los fenoles totales de las diferentes muestras.

<b>Muestra</b>	<b>Concentración (gEAG/mL)</b>	<b>Desviación estándar (<math>\sigma</math>)</b>
<i>Agave tequilana</i> Weber	0.009345	$\pm 0.0610$
<i>Agave angustifolia</i> Haw	0.009339	$\pm 0.0156$
Vinazas mezcaleras	0.009567	$\pm 0.0119$

En todos los casos, la desviación estándar calculada fue menor al 6.5%, lo que indica una buena repetibilidad entre las réplicas. Esta baja variabilidad respalda la confiabilidad de los datos obtenidos, lo que evidencia la precisión del método utilizado para la cuantificación de fenoles totales.

#### 4.1.1 Análisis de Varianza (ANOVA) entre variedades de agave

Con el objetivo de evaluar si existen diferencias significativas en el contenido de fenoles totales entre las dos variedades de agave analizadas (*Agave tequilana* Weber y *Agave angustifolia* Haw), se llevó a cabo un análisis de varianza de un solo factor (ANOVA). Este procedimiento estadístico compara las medias obtenidas para cada variedad, analizando la variabilidad entre grupos en relación con la variabilidad interna de cada grupo.

Una vez obteniendo a F como,

$$F = \frac{MSB}{MSW} \quad \dots (6)$$

Donde:

- MSB= media cuadrática de la variabilidad entre grupos:  $6.735 \times 10^{-11}$

- MSW= media cuadrática de la variabilidad dentro de los grupos:  $1.2956 \times 10^{-7}$

Sustituyendo los valores antes mencionados en la ecuación (6), resulta:

$$F = \frac{6.735 \times 10^{-11}}{1.2956 \times 10^{-7}} = 0.00052 \quad \dots (7)$$

El ANOVA se realizó conforme a lo señalado en la ecuación (6) y en la Tabla 8 se presentan los resultados.

**Tabla 8.** Resultados de ANOVA entre variedad de agaves.

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (df)	Media cuadrática (MS)	Estadístico F
Entre grupos (SSB)	$6.735 \times 10^{-11}$	2-1=1	$6.735 \times 10^{-11}$	0.00052
Dentro de grupos (SSW)	$5.1825 \times 10^{-7}$	6-2=4	$1.2956 \times 10^{-7}$	
Total (SST)	$5.2568 \times 10^{-7}$	6-1=5	$1.05136 \times 10^{-7}$	

**Nota:** SSB: variabilidad entre grupos; SSW: variabilidad dentro de los grupos; SST: variabilidad total respecto a la media global.

Un parámetro importante para poder hacer el análisis correcto de la ANOVA es el valor p el cual nos indica si hay evidencia estadística suficiente para rechazar las distintas hipótesis las cuales son:

- Hipótesis nula ( $H_0$ ): Las medias de todos los grupos son iguales
- Hipótesis alternativa ( $H_1$ ): Al menos una media es diferente.

Al calcular el valor p con la ayuda de Excel de Microsoft, con

- $\alpha = 0.05$
- $gdl_1 = \text{número de grupos} - 1 = 2 - 1 = 1$

- $gdl_2 = \text{número total de observaciones} - \text{número de grupos} = 6 - 2 = 4$

se realiza un análisis de varianza de una vía para comparar los contenidos de fenoles totales entre *Agave tequilana* Weber y *Agave angustifolia* Haw.

El valor del estadístico F fue 0.00052 con un valor p de 0.98 y que existen dos interpretaciones para este valor donde:

- Si  $p < 0.05$ : existe diferencia significativa  $\rightarrow$  los grupos son diferentes.
- Si  $p \geq 0.05$ : no existe diferencia significativa  $\rightarrow$  los grupos no son diferentes.

Por lo tanto, se concluye que, no existen diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre las medias de ambas muestras bajo las condiciones experimentales empleadas, ambas variedades de agave presentan contenidos similares de fenoles totales.

#### 4.1.2 Pruebas de Tukey entre variedades de agave y las vinazas mezcaleras

Para este análisis el objetivo es determinar si existe una diferencia significativa en el contenido de fenoles totales entre las dos variedades de agave estudiadas (*Agave tequilana* Weber y *Agave angustifolia* Haw) y las vinazas mezcaleras, se realizó un análisis de varianza de un factor (ANOVA) para posteriormente hacer un análisis de Tukey. La prueba de Tukey HSD permite hacer comparaciones controlando el error, así se tiene una visión completa sin caer en conclusiones erróneas como podría pasar con Duncan en este caso. Se opta por realizar este análisis dado que los resultados no presentan diferencia significativa en primera instancia, es por esta razón que se realiza el análisis estadístico ANOVA como método de comprobación. Una vez obteniendo a F a partir de la ecuación (6),

$$F = \frac{5.6991 \times 10^{-8}}{2.409 \times 10^{-7}} = 0.2364 \quad \dots (8)$$

A continuación, se presenta la tabla de resultados del ANOVA.

**Tabla 9.** Resultados de ANOVA entre variedad de agaves y vinazas mezcaleras.

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (df)	Media cuadrática (MS)	Estadístico F
Entre grupos (SSB)	$1.13982 \times 10^{-7}$	3-1=2	$5.6991 \times 10^{-8}$	0.2364
Dentro de grupos (SSW)	$1.4459 \times 10^{-6}$	9-3=6	$2.40989 \times 10^{-7}$	
Total (SST)	$1.559882 \times 10^{-6}$	6	$2.599 \times 10^{-7}$	

**Nota:** SSB: variabilidad entre grupos; SSW: variabilidad dentro de los grupos; SST: variabilidad total respecto a la media global.

Como en el análisis anterior de la ANOVA, un parámetro importante para poder hacer el análisis correcto de la ANOVA es el valor p el cual nos indica si hay evidencia estadística suficiente para rechazar las distintas hipótesis las cuales son:

- Hipótesis nula ( $H_0$ ): Las medias de todos los grupos son iguales
- Hipótesis alternativa ( $H_1$ ): Al menos una media es diferente.

Al calcular el valor p con la ayuda de Excel de Microsoft, con

- $\alpha = 0.05$
- $gdl_1 = \text{número de grupos} - 1 = 3 - 1 = 2$
- $gdl_2 = \text{número total de observaciones} - \text{número de grupos} = 9 - 3 = 6$

se realizó un análisis de varianza de una vía para comparar los contenidos de fenoles totales entre *Agave tequilana* Weber, *Agave angustifolia* Haw y vinazas mezcaleras dando como resultado  $p = 0.795$ , tomemos en cuenta que existen dos interpretaciones para este valor donde:

- Si  $p < 0.05$ : existe diferencia significativa  $\rightarrow$  los grupos son diferentes.
- Si  $p \geq 0.05$ : no existe diferencia significativa  $\rightarrow$  los grupos no son diferentes.

Dada la hipótesis antes planteada y comparando los resultados del análisis estadístico se concluye que el valor  $p = 0.795$ , es mucho mayor que  $0.05$  ( $p > 0.05$ ). Esto indica que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de fenoles en los tres grupos (Agave tequilana Weber, Agave angustifolia Haw y vinazas mezcaleras).

Para la prueba de Tukey se utilizan algunos de los resultados previamente obtenidos en el análisis de ANOVA, tales como los siguientes.

**Tabla 10.** Datos para prueba Tukey

Grupos	Media
<i>Agave tequilana</i> Weber	0.009345
<i>Agave angustifolia</i> Haw	0.009338
Vinazas mezcaleras	0.009568

Los datos adicionales requeridos para llevar a cabo la prueba de Tukey son los siguientes:

- Número de grupos:  $k=3$
- Tamaño por grupo:  $n=3$
- MSW (de la tabla de compilación del análisis de la ANOVA) =  $2.40989 \times 10^{-7}$
- Nivel de significancia para la tabla estadística de Tukey:  $\alpha=0.05$
- De la tabla estadística de Tukey  $q_{(0.05,3,6)} \approx 4.339$
- Grados de libertad del error:  $gdl_{error} = \text{número total de observaciones} - \text{número de grupos} = 9 - 3 = 6$ .

Una vez recopilados los datos necesarios, se procede a hacer la prueba de Tukey comenzando por calcular el HSD (por sus siglas en inglés Honestly Significant Difference) mediante la ecuación:

$$HSD = (q) \left( \sqrt{\frac{MSW}{n}} \right) \quad \dots (9)$$

Donde:

- q: valor crítico de la distribución de Tukey
- MSW: cuadrado medio dentro del grupo (error) del ANOVA
- n: número de observaciones por grupo

A partir de la ecuación (9), se calcula HSD como:

$$HSD = (4.339) \left( \sqrt{\frac{2.40989 \times 10^{-7}}{3}} \right) = 1.229 \times 10^{-3} \quad \dots (10)$$

Para que exista una diferencia significativa entre dos grupos, la diferencia absoluta entre sus medias debe ser mayor que el valor HSD. Es decir, si se cumple que:

$$|media\ del\ grupo\ 1 - media\ del\ grupo\ 2| > HSD$$

entonces se considera que hay una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos. Con base en esto a continuación se presenta en la Tabla 11 una compilación de los resultados de la prueba Tukey.

**Tabla 11.** Resultados de la prueba de Tukey entre las muestras.

Comparación	Diferencia Absoluta	¿Mayor que HSD (0.0123)?		Conclusión
ATW vs AAH	0.009345 – 0.009338 = 0.000007	No		No significativa
ATW vs VM	0.009568 – 0.009345 = 0.000223	No		No significativa
AAH vs VM	0.009568 – 0.009338 = 0.000230	No		No significativa

En conclusión, a pesar de que hay pequeñas diferencias entre los promedios de fenoles en los extractos de *Agave tequilana* Weber, *Agave angustifolia* Weber y vinazas mezcaleras, estas no son estadísticamente significativas al nivel de confianza del 95% según la prueba de Tukey.

El análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey no mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) entre los contenidos de fenoles totales de las hojas de *Agave tequilana* Weber, *Agave angustifolia* Haw y las vinazas mezcaleras. Dado que los compuestos fenólicos son los principales responsables de la capacidad reductora en la síntesis verde de nanopartículas metálicas, la similitud en su concentración sugiere que las tres fuentes presentan un potencial reductor comparable. Esto respalda su viabilidad como agentes reductores en la síntesis verde de nanopartículas de hierro, en concordancia con el objetivo general del presente estudio.

#### 4.1.3 Discusión de los resultados obtenidos del contenido de Fenoles Totales expresados en Ácido gálico

Para entrar en contexto con el contenido de fenoles totales de las muestras de *Agave tequilana* Weber, *Agave angustifolia* Haw y vinazas mezcaleras, es útil compararlos con valores reportados en la literatura para extractos similares.

##### **Hojas de *Agave angustifolia* Haw:**

Un estudio evaluó extractos metanólicos de hojas de *A. angustifolia* obtenidos mediante sonicación y el método Soxhlet. Los resultados indicaron que el método de extracción no afectó significativamente la concentración de compuestos bioactivos, incluyendo fenoles totales. Aunque el estudio no especifica los valores exactos de fenoles totales, indica que las hojas de *A. angustifolia* son una fuente potencial de estos compuestos lo que sugiere su potencial como materia prima para síntesis de nanopartículas y otras aplicaciones bioactivas [79]. En este contexto, el

presente trabajo contribuye a sentar las bases para la cuantificación de fenoles totales expresados como equivalentes de ácido gálico, proporcionando un punto de referencia para estudios futuros sobre el contenido de compuestos fenólicos en *Agave angustifolia* Haw.

### **Vinazas mezcaleras:**

Las vinazas son subproductos líquidos generados durante la producción de mezcal, caracterizadas por una alta carga orgánica y contenido de compuestos fenólicos. Un estudio reportó que las vinazas de sotol presentaron valores de fenoles totales de  $701.67 \pm 7.64$  mg/L y  $903.33 \pm 15.27$  mg/L en dos muestras analizadas. Estos valores son considerablemente más altos que los reportados en tequila y mezcal, que varían desde 0.001 mg/L hasta 1.64 mg/L, según diferentes estudios [80]. Esto sugiere que, aunque las vinazas presentan alta variabilidad, pueden ser una fuente considerable de fenoles, lo que justifica su análisis en el presente estudio.

### **Hojas de *Agave tequilana* Weber:**

Aunque no se encontraron datos específicos sobre el contenido de fenoles totales en las hojas de *Agave tequilana* Weber en la fuente consultada, se sabe que las hojas de agave representan aproximadamente el 50% del peso total de la planta y constituyen una fracción importante de los residuos vegetales generados en la producción de mezcal [81]. Esta información resalta la relevancia de analizar el contenido de fenoles totales en estas hojas, ya que podrían ser una fuente significativa de compuestos bioactivos. En este sentido, el presente trabajo aporta datos concretos sobre fenoles totales expresados como equivalentes de ácido gálico, permitiendo comparar los valores obtenidos experimentalmente con la información disponible y estableciendo una referencia para trabajos futuros.

Una vez contextualizada la discusión sobre los resultados obtenidos del contenido de fenoles totales, expresados como equivalentes de ácido gálico (mg EAG/g de muestra seca), se procede al cálculo correspondiente.

Para las variedades de agave y las vinazas mezcaleras, dicho contenido se determinó utilizando la siguiente fórmula:

$$Fenoles\ Totales = \frac{mg\ de\ EAG\ obtenidos}{g\ de\ muestra\ seca} \quad \dots (11)$$

En la siguiente tabla se presentan los resultados.

**Tabla 12.** Resultados de fenoles totales.

<b>Muestra</b>	<b>Muestra seca (g)</b>	<b>Equivalentes de Ácido Gálico (g)</b>	<b>Fenoles Totales (mg EAG/g)</b>
Agave <i>angustifolia</i> Haw	0.3785 ± 0.035	0.009345 g	24.68 ± 0.0014
Agave tequilana Weber	0.4433 ± 0.068	0.009339 g	21.06 ± 0.0021
Vinazas mezcaleras	0.3623 ± 0.016	0.009567 g	26.40 ± 0.0017

Se realizó un análisis de ANOVA sobre los resultados obtenidos para los fenoles totales expresados como EAG, los cuales se presentan en la Tabla 13.

**Tabla 13.** ANOVA de los resultados obtenidos para los fenoles totales expresados como EAG.

<b>Fuente de variación</b>	<b>Suma de cuadrados (SS)</b>	<b>Grados de libertad (df)</b>	<b>Media cuadrática (MS)</b>
Entre grupos (SSB)	3.867x10 <sup>-5</sup>	3-1=2	1.933x10 <sup>-5</sup>

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (df)	Media cuadrática (MS)
Dentro de grupos (SSW)	$5.91 \times 10^{-5}$	9-3=6	$9.85 \times 10^{-6}$
Total (SST)	$9.77 \times 10^{-5}$	6	$1.6295 \times 10^{-5}$

**Nota:** SSB: variabilidad entre grupos; SSW: variabilidad dentro de los grupos; SST: variabilidad total respecto a la media global.

Obteniendo a F a partir de la ecuación (6),

$$F = \frac{3.867 \times 10^{-5}}{5.91 \times 10^{-5}} = 0.6543 \quad \dots (12)$$

Como se menciona previamente respecto al análisis ANOVA, un parámetro clave para realizarlo correctamente es el valor  $p$ , el cual indica si existe evidencia estadística suficiente para rechazar las diferentes hipótesis planteadas, que son:

- Hipótesis nula ( $H_0$ ): Las medias de todos los grupos son iguales
- Hipótesis alternativa ( $H_1$ ): Al menos una media es diferente.

Al calcular el valor  $p$  con la ayuda de Excel de Microsoft, con  $\alpha = 0.05$ ,  $gdl_1 = \text{número de grupos} - 1 = 3 - 1 = 2$  y  $gdl_2 = \text{número total de observaciones} - \text{número de grupos} = 9 - 3 = 6$ , se realizó un análisis de varianza de una vía para comparar los contenidos de fenoles totales entre *Agave tequilana* Weber, *Agave angustifolia* Haw y vinazas mezcaleras dando como resultado  $p = 0.553$ .

Dada la hipótesis antes planteada y comparando los resultados del análisis estadístico se concluye que el valor  $p = 0.553$ , es mucho mayor que 0.05 ( $p > 0.05$ ). Se obtuvieron las siguientes comparaciones de medias:

$$EAG - AAH \cong EAG - ATW \cong EAG - VM$$

Donde el símbolo  $\cong$  indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las muestras entre las concentraciones de fenoles en los tres grupos (*Agave tequilana* Weber, *Agave angustifolia* Haw y vinazas mezcaleras).

En conclusión, las muestras analizadas en este estudio —*Agave tequilana* Weber, *Agave angustifolia* Haw y vinazas mezcaleras— presentaron contenidos de fenoles totales que se alinean con los rangos reportados en la literatura para matrices similares ([67], [68], [69], [82]). Los valores obtenidos fueron: 21.06 mg EAG/g para *A. tequilana* Weber, 24.68 mg EAG/g para *A. angustifolia* Haw y 26.40 mg EAG/g para las vinazas mezcaleras. Estos compuestos fenólicos son ampliamente reconocidos por sus propiedades antioxidantes y su potencial aplicación en industrias como la alimentaria, farmacéutica y cosmética.

Los resultados obtenidos refuerzan la viabilidad del aprovechamiento de residuos agroindustriales como son las hojas de agave y vinazas en la obtención de compuestos bioactivos con alto valor añadido. La presencia consistente de fenoles totales en las tres muestras de interés analizadas sugiere un aprovechamiento de estos materiales y de productos sostenibles que es uno de los objetivos de este proyecto de tesis.

## 4.2 Ensayo de la Capacidad de Reducción Férrica del plasma

El ensayo FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) permitió cuantificar la capacidad antioxidante de las muestras mediante su habilidad para reducir iones férricos ( $\text{Fe}^{3+}$ ) a ferrosos ( $\text{Fe}^{2+}$ ), evaluada espectrofotométricamente a una longitud de onda de 593 nm. Para ello, se utilizó como estándar una solución de sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) a una concentración de 1000  $\mu\text{mol/L}$ , con una absorbancia promedio de 0.591. Los valores obtenidos para las muestras analizadas se visualizan en la Tabla 14:

**Tabla 14.** Valores de FRAP (absorbancia a 593 nm).

Muestra	Réplicas (absorbancia)	Promedio (absorbancia)	Desviación estándar
<i>Agave angustifolia</i> Haw	0.479, 0.472, 0.467	0.4726	±0.00492
<i>Agave tequilana</i> Weber	0.198, 0.201, 0.200	0.19967	±0.00124
Vinazas mezcaleras	0.101, 0.106, 0.105	0.104	±0.00216
Estándar (Fe <sup>2+</sup> )	0.593, 0.589, 0.602	0.594	±0.00543

Mediante la ecuación (13), donde se evalúa una relación proporcional con respecto al estándar, se estimaron los valores como se sigue.

$$FRAP\ muestra = \left( \frac{Abs_{muestra}}{Abs_{estándar}} \right) x (\text{concentración estándar}) \quad \dots (13)$$

Con una concentración del estándar de 1000 Fe(II) µmol/L, se sustituye en la ecuación (13).

$$FRAP\ AAH = \left( \frac{0.4726}{0.594} \right) x \left( 1000 \frac{\text{Fe(II)}\ \mu\text{mol}}{\text{L}} \right) = 795.62\ \mu\text{mol Fe(II)}\ /\text{L}$$

$$FRAP\ ATW = \left( \frac{0.200}{0.594} \right) x \left( 1000 \frac{\text{Fe(II)}\ \mu\text{mol}}{\text{L}} \right) = 336.7\ \mu\text{mol Fe(II)}\ /\text{L}$$

$$FRAP\ VM = \left( \frac{0.104}{0.594} \right) x \left( 1000 \frac{\text{Fe(II)}\ \mu\text{mol}}{\text{L}} \right) = 175.1\ \mu\text{mol Fe(II)}\ /\text{L}$$

## 4.2.1 Análisis de Duncan entre variedades de agave y las vinazas mezcaleras

El primer paso es verificar si existe una diferencia significativa entre los grupos usando ANOVA.

- Hipótesis nula ( $H_0$ ): No hay diferencias significativas entre las medias de los grupos.
- Hipótesis alternativa ( $H_1$ ): Al menos una media de grupo es significativamente diferente.

Obteniendo a F como,

$$F = \frac{MSB}{MSW} = \frac{0.10975}{1.5225 \times 10^{-5}} = 7208.851 \quad \dots (14)$$

A continuación, se presenta la tabla de resultados del ANOVA.

**Tabla 15.** Datos y resultados de la ANOVA para los valores de FRAP.

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (df)	Media cuadrática (MS)	Estadístico F
Entre grupos (SSB)	0.2195	3-1=2	0.10975	7208.851
Dentro de grupos (SSW)	$9.135 \times 10^{-5}$	9-3=6	$1.5225 \times 10^{-5}$	
Total (SST)	0.21959135	6	0.03659	

**Nota:** SSB: variabilidad entre grupos; SSW: variabilidad dentro de los grupos; SST: variabilidad total respecto a la media global.

Al calcular el valor p con la ayuda de Excel de Microsoft, con

- $\alpha = 0.05$
- $gdl_1 = \text{número de grupos} - 1 = 3 - 1 = 2$
- $gdl_2 = \text{número total de observaciones} - \text{número de grupos} = 9 - 3 = 6$

se realizó un análisis de varianza de una vía para comparar los contenidos de FRAP entre *Agave tequilana* Weber, *Agave angustifolia* Haw y vinazas mezcaleras.

El valor del estadístico F fue 7208.851 con un valor p de  $7.19819 \times 10^{-11}$  y dado que:

- Si  $p < 0.05$ : existe diferencia significativa  $\rightarrow$  los grupos son diferentes.
- Si  $p \geq 0.05$ : no existe diferencia significativa  $\rightarrow$  los grupos no son diferentes.

Se concluye que el valor  $p = 7.19819 \times 10^{-11}$ , es mucho menor que 0.05 ( $p < 0.05$ ). Esto indica que si hay diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de fenoles en los tres grupos (*Agave tequilana* Weber, *Agave angustifolia* Haw y vinazas mezcaleras).

Se rechaza la hipótesis nula, lo que justifica aplicar una prueba adicional, como Duncan, para determinar cuáles grupos difieren entre sí.

Como primer paso de esta prueba, se ordenan las medias de mayor a menor.

**Tabla 16.** Datos de la media para prueba de Duncan.

Grupos	Media
<i>Agave angustifolia</i> Haw	0.47267
<i>Agave tequilana</i> Weber	0.19967
Vinazas mezcaleras	0.10400

Una vez recopiladas las medias, como segundo paso se procede al cálculo de MSW, sin embargo, dado que este valor ya fue obtenido previamente en el análisis ANOVA, se utiliza ese mismo resultado para la presente prueba.

$$MSW = 1.5225 \times 10^{-5}$$

El siguiente paso es calcular el error estándar (SE) con la siguiente ecuación.

$$SE = \sqrt{\frac{MSW}{n}} \quad \dots (15)$$

Con n: número de réplicas por grupo.

$$SE = \sqrt{\frac{1.5225 \times 10^{-5}}{3}} = 2.2527 \times 10^{-3} \quad \dots (16)$$

Para obtener el valor q de la tabla estadística de Duncan es necesario recopilar algunos datos como son:

- Comparaciones:

Como existen 3 grupos entonces  $k = 3$

- Grados de libertad del error:

Para los grados de libertad del error se calcula como

$$gdl_{error} = \text{número total de observaciones} - \text{número de grupos} = 9 - 3 \\ = 6$$

- Nivel de significancia:

Para el nivel de significancia se toma a  $\alpha = 0.05$

Una vez recopilada la información y con la ayuda de la tabla estadística de Duncan se tiene que  $q_{(0.05,3,6)} \approx 3.58$ .

Con la  $q$  determinada se procede a calcular el HSD (Honestly significant difference) para la prueba de Duncan como:

$$HSD = q * SE \quad \dots (17)$$

$$HSD = (3.58)(2.2527 \times 10^{-3}) = 8.0646 \times 10^{-3} \quad \dots (18)$$

Finalmente, en la siguiente tabla se concentran los datos antes recopilados para poder hacer un análisis de comparación.

**Tabla 17.** Resultados de la prueba de Duncan.

Comparación	Diferencia Absoluta	¿Mayor que	Conclusión
		HSD (0.00806)?	
AAH vs ATW	$0.47267 - 0.19967 = 0.273$	Si	Si existe diferencia significativa
AAH vs VM	$0.47267 - 0.10400 = 0.368$	Si	Si existe diferencia significativa
ATW vs VM	$0.19967 - 0.10400 = 0.096$	Si	Si existe diferencia significativa

En conclusión, para la prueba de comparaciones múltiples de Duncan aplicada a los resultados del ensayo FRAP se obtuvieron las siguientes comparaciones de medias:

$$FRAP - AAH \neq FRAP - ATW \neq FRAP - VM$$

**S**                      **S**

Donde el símbolo  $\neq$  y la letra **s** negrilla debajo del signo indica que existe diferencia significativa entre todas las muestras evaluadas: *Agave tequilana* Weber, *Agave angustifolia* Haw y vinazas mezcaleras. Específicamente, las tres especies mostraron un comportamiento estadísticamente distinto en cuanto a su capacidad de reducción férrica, lo que indica que no comparten niveles similares de actividad antioxidante, y, por tanto, pertenecen a grupos homogéneos diferentes.

Este resultado es particularmente relevante si se considera que, en el caso del análisis de fenoles totales, no se observaron diferencias significativas entre los mismos grupos. Es decir, aunque la concentración total de compuestos fenólicos (medida en mg EAG/g) no presentó una variación significativa, la capacidad funcional de esos compuestos para actuar como agentes reductores sí varió significativamente entre muestras.

## 4.2.2 Discusión de los resultados obtenidos del Ensayo de la Capacidad de Reducción Férrica del plasma

Los resultados obtenidos en este estudio mediante el ensayo FRAP muestran una capacidad antioxidante considerable en los extractos analizados. Los valores, expresados en  $\mu\text{mol Fe(II) /L}$  de extracto, fueron los siguientes:

- *Agave angustifolia* Haw: 795.62  $\mu\text{mol Fe(II) /L}$
- *Agave tequilana* Weber: 336.7  $\mu\text{mol Fe(II)/L}$
- Vinazas mezcaleras: 175.1  $\mu\text{mol Fe(II)/L}$

Estos resultados se obtuvieron utilizando una mezcla metanol-agua (60:40) como solvente de extracción, lo que favoreció la solubilización de compuestos antioxidantes, especialmente polifenoles y flavonoides [83].

Al comparar estos valores con los reportados en la literatura:

- El estudio de Ahumada-Santos [82] y López-Romero [79] reporta para *Agave angustifolia* Haw una capacidad FRAP de 149  $\mu\text{mol ET /L}$  en base seca. Aunque la unidad de medida difiere, el valor obtenido en este trabajo (795.62  $\mu\text{mol Fe(II) /L}$ ) sugiere una excelente eficiencia del sistema extractivo utilizado, destacando el potencial antioxidante de esta especie incluso en su forma líquida sin concentración.
- En *Agave lechuguilla* Torr., Carmona [84] reportó valores de FRAP entre 0.51 y 1.60 mM Fe(II) /g de biomasa seca, siendo la acetona el solvente más efectivo. Nuevamente, aunque los valores son elevados, la comparación directa debe tomarse con precaución debido a las diferencias en la unidad base.
- Finalmente, al considerar fuentes vegetales ampliamente estudiadas como frutas [85], se destaca que ciertas especies como la cáscara de granada (85930  $\mu\text{mol/L}$ ), la semilla de uva (67050  $\mu\text{mol/L}$ ), la cáscara de espino (43100  $\mu\text{mol/L}$ ), la semilla de longan (29180  $\mu\text{mol/L}$ ) y la semilla de lichi (25810  $\mu\text{mol/L}$ ) presentan una capacidad antioxidante notablemente superior. Sin embargo, debe destacarse que estas muestras fueron procesadas bajo condiciones diferentes, incluyendo homogenización en

agua y análisis sobre base de 100 g de peso húmedo, lo que limita la comparación directa con los extractos metanólicos en volumen.

Además, es importante considerar que en el presente trabajo se utilizaron extractos en su forma más pura, es decir, se realizaron extracciones fenólicas a partir de los jugos hidrolizados de las diferentes muestras AAH, ATW y VM, eliminando así componentes como azúcares, ligninas, taninos, ácidos orgánicos no fenólicos y otros metabolitos presentes en el jugo crudo. Esta purificación implica que, si bien se trabaja con una matriz más específica y concentrada en compuestos fenólicos, la cantidad total de compuestos bioactivos presentes en las muestras es menor, lo cual también impacta en la capacidad antioxidante medida. Por lo tanto, la comparación directa con jugos u otras matrices no purificadas no resulta del todo representativa, ya que contienen mayor variedad de sustancias que pueden contribuir a la actividad antioxidante.

Esto resalta la necesidad de estandarizar las bases de comparación y métodos de extracción al evaluar y contrastar el potencial antioxidante de diversas variedades de biomasa, sin embargo, para fines comparativos se decide aún con esta diferencia, hacer la comparación para poder dimensionar lo que en este trabajo se obtuvo.

A continuación, se presentan la Tabla 18 donde se hace una breve recopilación de algunas especies de plantas.

**Tabla 18.** Recopilación de valores de FRAP para algunas especies plantas.

Muestra	Valor FRAP ( $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{L}$ de extracto)	Base de expresión	Técnica de extracción	Ref.
<i>Agave angustifolia</i> Haw	795.62	Volumen de extracto ( $\mu\text{L}$ )	Metanol:agua (60:40)	Este estudio
<i>Agave tequilana</i> Weber	336.7	Volumen de extracto ( $\mu\text{L}$ )	Metanol:agua (60:40)	Este estudio

<b>Muestra</b>	<b>Valor FRAP (<math>\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{L}</math> de extracto)</b>	<b>Base de expresión</b>	<b>Técnica de extracción</b>	<b>Ref.</b>
Vinazas mezcaleras	175.1	Volumen de extracto ( $\mu\text{L}$ )	Metanol:agua (60:40)	Este estudio
<i>Agave lechuguilla Torr</i>	1600	g biomasa seca	Acetona	[84]
<i>Agave lechuguilla Torr</i>	510	g biomasa seca	Metanol	[84]
<i>Agave lechuguilla Torr</i>	510	g biomasa seca	Etanol	[84]
<i>Agave lechuguilla Torr</i>	460	g biomasa seca	NaOH (sin solvente)	[84]
Cáscara de granada	85930	100 g peso húmedo	Agua destilada (trituration, centrifugado)	[85]
Semilla de uva	67050	100 g peso húmedo	Agua destilada (trituration, centrifugado)	[85]
Cáscara de espino (hawthorn)	43100	100 g peso húmedo	Agua destilada (trituration, centrifugado)	[85]
Semilla de longan	29180	100 g peso húmedo	Agua destilada (trituration, centrifugado)	[85]
Semilla de lichi	25810	100 g peso húmedo	Agua destilada (trituration, centrifugado)	[85]

En conclusión, estos resultados destacan que los extractos de agave evaluados, particularmente *Agave angustifolia Haw*, poseen una capacidad antioxidante

elevada en comparación con otras especies vegetales. La eficiencia del método de extracción empleado a los jugos hidrolizados de los agaves y de las vinazas mezcaleras, junto con la cantidad fitoquímica del agave, lo convierte en una fuente prometedora de compuestos antioxidantes de interés especialmente al considerar su aprovechamiento a partir de residuos o subproductos agroindustriales.

### 4.3 Microscopía Electrónica de Barrido

La caracterización morfológica de las nanopartículas de hierro sintetizadas se llevó a cabo mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), mientras que la composición elemental de las muestras fue analizada mediante Espectroscopía de Dispersión de Energía (EDS). Se analizaron muestras obtenidas a partir de *Agave angustifolia* Haw, *Agave tequilana* Weber y vinazas mezcaleras, tanto en su estado sin calcinar como calcinadas. Las imágenes fueron adquiridas con un microscopio electrónico de barrido VEGA3 TESCAN en las instalaciones del Laboratorio de Posgrado de la Universidad Tecnológica de la Mixteca.

#### 4.3.1 *Agave tequilana* Weber

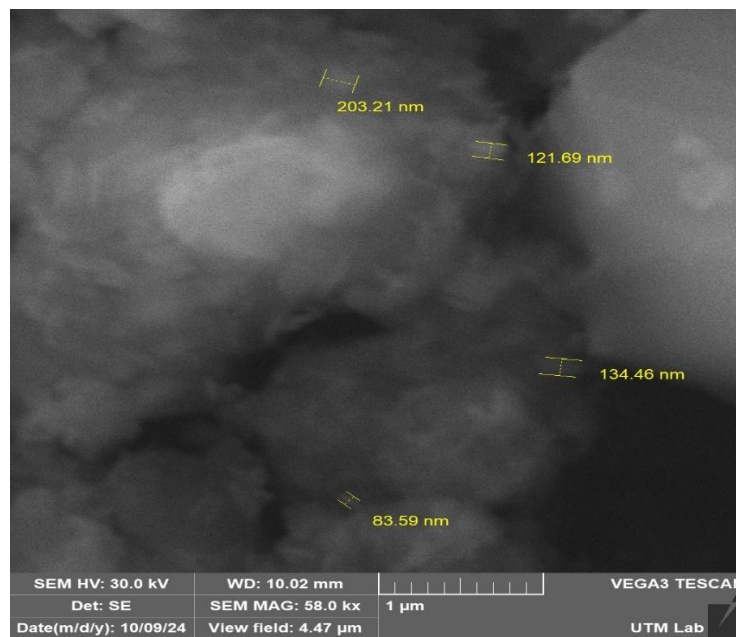
Operado a un voltaje de 30.0 kV y una distancia de trabajo de 10.02 mm. Las magnificaciones empleadas fueron de 10.0 kX, 30.0 kX y 58.0 kX, correspondientes a campos visuales de 26.0  $\mu\text{m}$ , 8.65  $\mu\text{m}$  y 4.47  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

##### ➤ Sin Calcinar

Se presentan las micrografías obtenidas mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) del material sintetizado utilizando jugo hidrolizado de hojas de *Agave tequilana* Weber (JHHA) como agente reductor, antes del proceso de calcinación (Figura 17).



**Figura 17.** Microscopía de *Agave tequilana* Weber sin calcinar, toma a: a) 5 $\mu$ m, b) 2 $\mu$ m y c) 1 $\mu$ m.



**Figura 18.** Microscopía de *Agave tequilana* Weber sin calcinar, toma a 1 $\mu$ m con mediciones aproximadas.

En cuanto al análisis mediante espectroscopía de rayos X por dispersión de energía (EDS, por sus siglas en inglés *Energy Dispersive Spectroscopy*), para una caracterización elemental más precisa, se realizaron dos análisis EDS sobre la muestra sin calcinación; un escaneo de la muestra sin filtrar ningún elemento y un filtrado o limitación a la búsqueda del espectro solo a Fe y O.

La composición química de las nanopartículas obtenidas a partir de la síntesis de *Agave tequilana* Weber (ATW) sin tratamiento térmico (sin calcinar) se presentan en las siguientes tablas.

**Tabla 19.** Porcentajes atómicos relativos de carbono, oxígeno, hierro y cloro mediante EDS para el *Agave tequilana* Weber sin calcinar.

Elemento	Composición (% Atómico)
C	64.27
O	33.72
Fe	1.65
Cl	0.35

**Tabla 20.** Porcentajes atómicos relativos de filtrado de oxígeno y hierro mediante EDS para el *Agave tequilana* Weber sin calcinar.

Elemento	Composición (% Atómico)
O	82.23
Fe	17.70

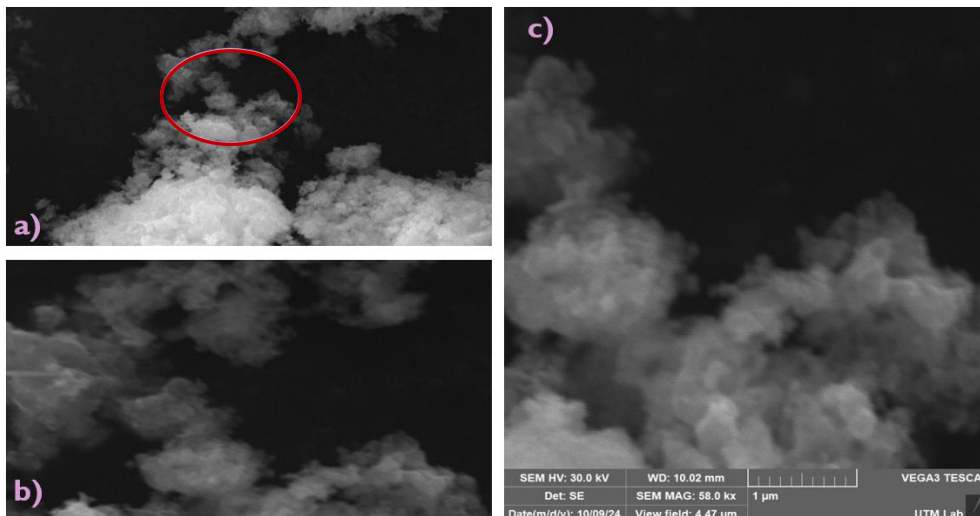
El análisis general mostró una matriz rica en carbono y oxígeno, proveniente principalmente de los compuestos fenólicos y otros metabolitos orgánicos presentes en el jugo hidrolizado de agave ya que la característica principal de estos compuestos es la presencia de un grupo hidroxilo (-OH) unido a un anillo aromático (fenol), mientras que el contenido de hierro fue del 1.65 % atómico lo cual confirma la incorporación exitosa de hierro en la muestra, atribuido a la reacción de reducción

de  $\text{Fe}^{3+}$  (proveniente de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.1 M) por los compuestos del extracto. El cloro detectado es un residuo del precursor férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), probablemente indicando que no toda la sal fue removida completamente durante los procesos de lavado y centrifugado.

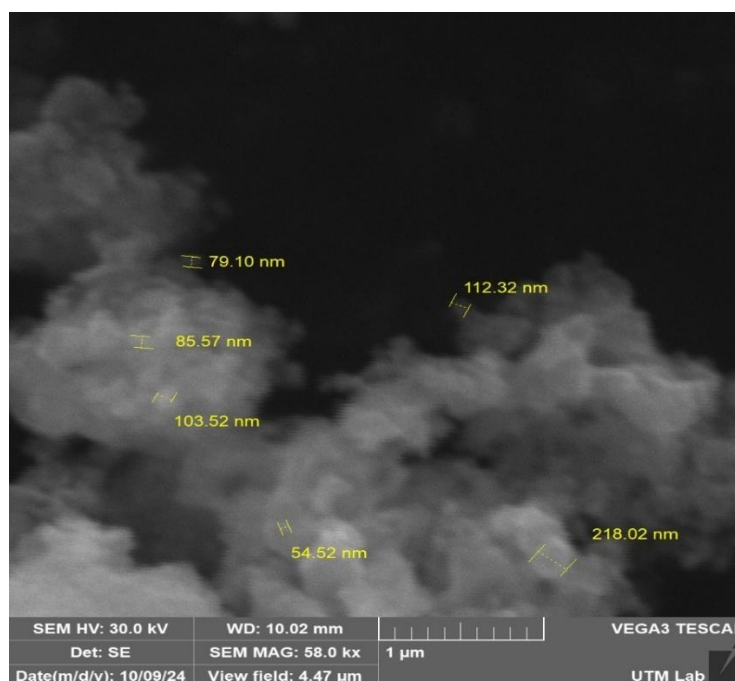
Posteriormente, se realizó un análisis específico sobre las nanopartículas visibles en la imagen MEB, restringiendo la detección a Fe y O, obteniéndose una proporción atómica de 15.23 % de Fe y 84.77 % de O. Estos valores sugieren que las nanopartículas formadas corresponden principalmente a óxidos de hierro, como  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  o  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , esto se puede deber a la naturaleza de la síntesis verde y con la elevada afinidad del hierro por el oxígeno en condiciones ambientales.

### ➤ Calcinados

A continuación, se presentan los resultados del análisis por microscopía electrónica de barrido (SEM) para la muestra de *Agave tequilana* Weber en su forma calcinada. Cabe destacar que previamente se analizó la misma muestra en su estado sin calcinar, por lo que esta sección permite una visualización posterior al tratamiento térmico. A continuación, se presentan las micrografías (Figura 19).



**Figura 19.** Microscopía de *Agave tequilana* Weber calcinadas, toma a: a) 5  $\mu\text{m}$ , b) 2  $\mu\text{m}$  y c) 1  $\mu\text{m}$ .



**Figura 20.** Microscopía de *Agave tequilana* Weber calcinadas toma a 1  $\mu\text{m}$  con mediciones aproximadas.

Para el análisis mediante espectroscopía de rayos X por dispersión de energía (EDS, por sus siglas en inglés *Energy Dispersive Spectroscopy*), para una caracterización elemental más precisa, se realizaron dos análisis EDS sobre la muestra sin calcinación; un escaneo de la muestra sin filtrar ningún elemento y un filtrado o limitación a la búsqueda del espectro solo a Fe y O.

**Tabla 21.** Porcentajes atómicos relativos de carbono, oxígeno, hierro y cloro mediante EDS para el *Agave tequilana* Weber calcinado.

Elemento	Composición (% Atómico)
O	58.40
Fe	20.06
C	11.79
Ca	6.79

Elemento	Composición (% Atómico)
K	0.98
P	0.88
S	0.71
Cl	0.39

**Tabla 22.** Porcentajes atómicos relativos de oxígeno y hierro mediante EDS para el *Agave tequilana* Weber calcinado.

Elemento	Composición (% Atómico)
O	57.95
Fe	42.05

En la muestra calcinada, el análisis EDS general reveló una mayor presencia de hierro (20.06 % atómico) en comparación con la muestra sin calcinación, lo cual indica que el tratamiento térmico favoreció la concentración de especies inorgánicas y la eliminación de compuestos orgánicos volátiles. El oxígeno (58.40 %) siguió siendo el elemento predominante, reflejando la alta afinidad del hierro por este elemento y sugiriendo la formación de óxidos de hierro como  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  o  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . También se identificaron nuevos elementos inorgánicos, como calcio (6.79 %), fósforo (0.88 %), potasio (0.98 %), azufre (0.71 %) y cloro (0.39 %), que no fueron detectados en la muestra sin calcinar. La aparición de estos elementos puede atribuirse a restos minerales presentes naturalmente en el agave o a productos secundarios generados por la descomposición térmica de compuestos orgánicos durante la calcinación [86]. El carbono se redujo significativamente (11.79 %), lo cual es consistente con la degradación de compuestos orgánicos durante el calentamiento.

Al realizar el segundo análisis el cual es el filtrado enfocado únicamente en hierro y oxígeno sobre las nanopartículas observadas en la imagen MEB, se obtuvo una

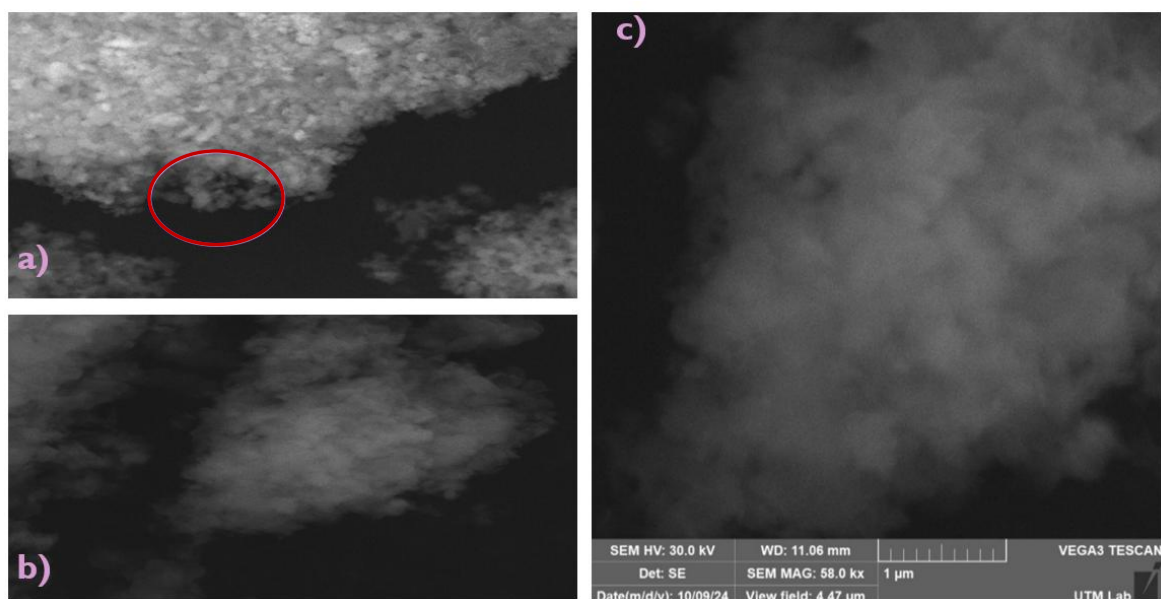
proporción atómica de 57.95 % de O y 42.05 % de Fe. En  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (magnetita), la proporción atómica es 3Fe : 4O, aproximadamente 42.9% Fe y 57.1% O. Comparando con los resultados: Fe: 42.05% y O: 57.95%. Esto refuerza la hipótesis de que el tratamiento térmico favorece la segregación y purificación del material ferroso.

### 4.3.2 *Agave angustifolia* Haw

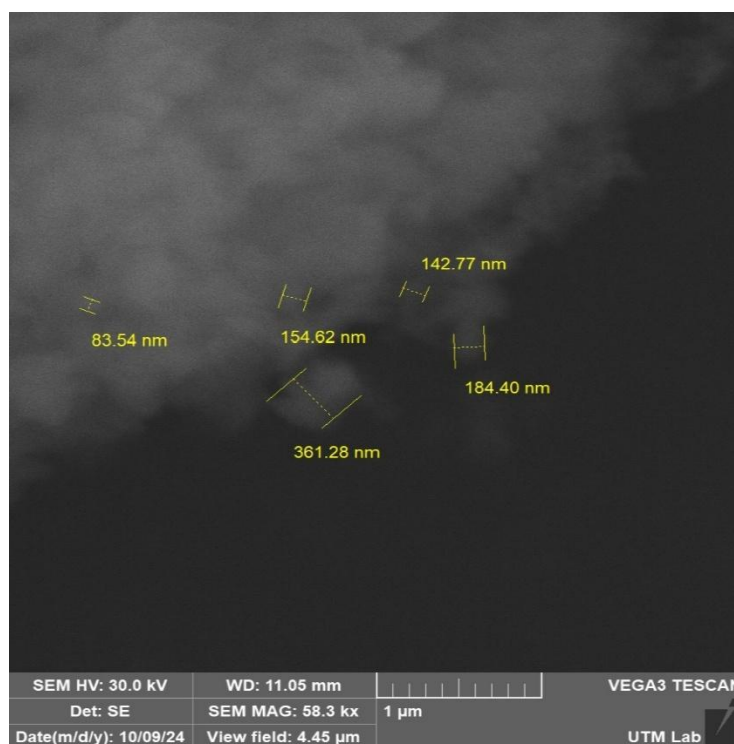
➤ Sin calcinar

Se presentan las micrografías obtenidas mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) del material sintetizado utilizando jugo hidrolizado de hojas de *Agave angustifolia* Haw como agente reductor, antes del proceso de calcinación.

Operado a un voltaje de 30.0 kV y una distancia de trabajo de 9.52 mm y 11.06 mm. Las magnificaciones empleadas fueron de 10.0 kX, 30.0 kX y 58.0 kX, correspondientes a campos visuales de 25.9  $\mu\text{m}$ , 8.65  $\mu\text{m}$  y 4.47  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Figura 21).



**Figura 21.** Microscopía de *Agave angustifolia* Haw sin calcinar toma a: a) 5 $\mu\text{m}$ , b) 2 $\mu\text{m}$  y c) 1 $\mu\text{m}$ .



**Figura 22.** Microscopía de *Agave angustifolia* Haw sin calcinar toma a 1 μm con mediciones aproximadas.

Para obtener una caracterización elemental más precisa mediante espectroscopía de rayos X por dispersión de energía (EDS, por sus siglas en inglés *Energy Dispersive Spectroscopy*), se realizaron dos tipos de análisis sobre la muestra sin calcinar: el primero consistió en un escaneo general sin restricción de elementos, y el segundo en un análisis selectivo enfocado únicamente en los elementos hierro (Fe) y oxígeno (O).

La composición química de las nanopartículas obtenidas a partir de la síntesis de *Agave angustifolia* Haw (AAH) sin tratamiento térmico (sin calcinar) se presentan en las siguientes tablas.

**Tabla 23.** Porcentajes atómicos relativos de carbono, oxígeno, hierro y cloro mediante EDS del *Agave angustifolia* Haw sin calcinar.

Elemento	Composición (% Atómico)
C	64.08
O	33.12
Fe	3.02
Cl	0.79

**Tabla 24.** Porcentajes atómicos relativos de filtrado de oxígeno y hierro mediante EDS del *Agave angustifolia* Haw sin calcinar.

Elemento	Composición (% Atómico)
O	74.13
Fe	25.87

El análisis EDS realizado a las nanopartículas obtenidas a partir del jugo hidrolizado de *Agave angustifolia* Haw mostró una composición elemental en la que predominaron los elementos carbono (C) con 64.08% y oxígeno (O) con 33.12%, seguidos por una pequeña cantidad de hierro (Fe) (3.02%) y cloro (Cl) (0.79%). Esta distribución elemental indica que la matriz de las nanopartículas está compuesta mayoritariamente por compuestos orgánicos, lo cual es consistente con la presencia de metabolitos fenólicos y otros componentes naturales del jugo de agave. Tanto en el EDS del ATW como en el AAH se registra la presencia del cloro, esto probablemente se deba al residuo detectado del precursor férrico.

Tras aplicar un proceso de filtrado para eliminar materia orgánica no asociada directamente a las nanopartículas, los resultados del análisis EDS mostraron una composición de oxígeno del 74.13% y hierro del 25.87%,

La presencia predominante de oxígeno junto con hierro en la muestra filtrada sugiere la formación de óxidos de hierro, como la magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) o hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), compuestos comúnmente obtenidos mediante técnicas de síntesis verde. Estos resultados refuerzan la hipótesis de que los extractos fenólicos del agave permiten la reducción del precursor férrico.

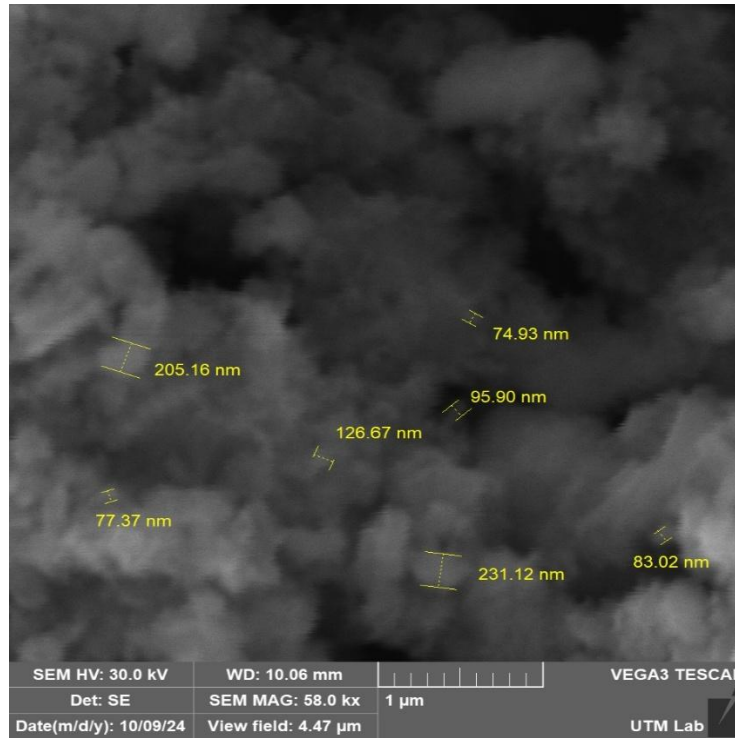
➤ Calcinados

En esta sección se presentan los resultados obtenidos mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) para la muestra de nanopartículas sintetizadas a partir del jugo hidrolizado de *Agave angustifolia* Haw calcinadas. La caracterización fue realizada tanto antes como después de un tratamiento térmico, lo que permite visualizar una comparación entre la morfología superficial de la muestra en su estado original y aquella observada tras la aplicación del tratamiento. Esta comparación resulta relevante para evaluar los efectos del proceso térmico sobre la estructura, agregación y distribución de las nanopartículas.

El equipo fue operado a un voltaje de 30.0 kV y una distancia de trabajo de 10.6 mm. Las magnificaciones empleadas fueron de 10.0 kX, 30.0 kX y 58.0 kX, correspondientes a campos visuales de 26  $\mu\text{m}$ , 8.65  $\mu\text{m}$  y 4.47  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Figura 23).



**Figura 23.** Microscopía de *Agave angustifolia* Haw calcinadas toma a: a) 5 $\mu\text{m}$ , b) 2 $\mu\text{m}$  y c) 1 $\mu\text{m}$ .



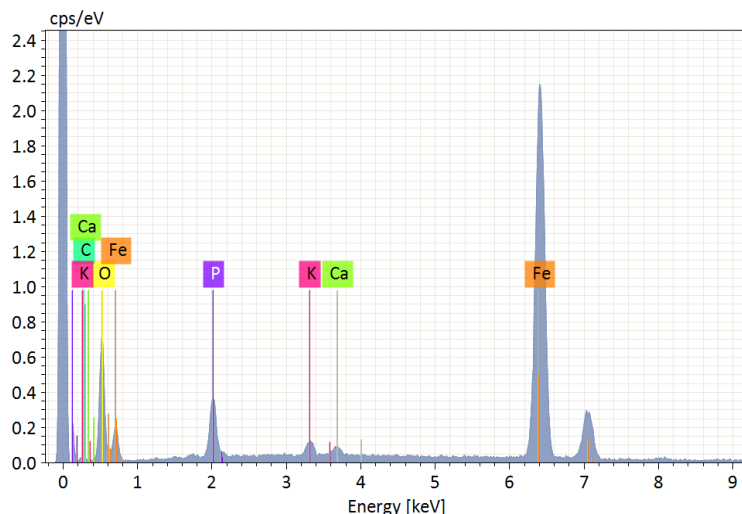
**Figura 24.** Microscopía de *Agave angustifolia* Haw calcinadas toma a 1 μm con mediciones aproximadas.

Se realizaron dos análisis EDS sobre la muestra calcinada para una caracterización más precisa; un escaneo de la muestra sin filtrar ningún elemento y un filtrado o limitación a la búsqueda del espectro solo a Fe y O.

En el análisis EDS de las nanopartículas sintetizadas de *Agave angustifolia* Haw en su forma calcinadas, se detectó la presencia de otros elementos como calcio (Ca), potasio (K), fósforo (P), azufre (S) y cloro (Cl). Sin embargo, estos elementos se encontraron en proporciones muy bajas. Los valores obtenidos fueron similares para la muestra de *Agave tequilana* Weber, en la cual se observaron concentraciones de Ca = 6.79%, K = 0.98%, P = 0.88%, S = 0.71% y Cl = 0.39%.

Durante el análisis SEM-EDS de las muestras, se optó por enfocar el procesamiento y cuantificación de datos únicamente en los elementos oxígeno (O) y hierro (Fe). Esta decisión se sustentó en el objetivo principal del estudio, que consistió en evaluar la posible formación de óxidos de hierro, en particular hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) u otras fases férricas. Con el fin de maximizar la precisión en la determinación de estos compuestos, se implementó un filtrado en el espectro EDS,

minimizando la interferencia de señales correspondientes a elementos ajenos a la hipótesis de investigación. Si bien no se calcularon los porcentajes atómicos del resto de los elementos presentes, su detección cualitativa fue confirmada mediante la identificación de picos característicos en los espectros registrados, los cuales se incluyen de forma gráfica en la Figura 25 como evidencia de su detección.



**Figura 25.** Espectro EDS de la muestra de nanopartículas de *Agave angustifolia* Haw calcinadas.

La composición química del filtrado del EDS de oxígeno y hierro de las nanopartículas obtenidas a partir de la síntesis de *Agave angustifolia* Haw (AAH) con tratamiento térmico (calcinada) se presenta en la siguiente tabla.

**Tabla 25.** Porcentajes atómicos relativos de oxígeno y hierro mediante EDS del *Agave angustifolia* Haw calcinados.

Elemento	Composición (% Atómico)
O	76.15
Fe	23.87

El análisis por espectroscopía de dispersión de energía (EDS) sobre la muestra con tratamiento térmico de nanopartículas sintetizadas a partir del jugo hidrolizado de *Agave angustifolia* Haw reveló una composición atómica relativa de 76.15% de

oxígeno (O) y 23.87% de hierro (Fe). Esta proporción sugiere una presencia de óxidos de hierro, en fases como hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), que presentan una alta relación oxígeno/hierro, característica de materiales oxidados tras un tratamiento térmico.

El predominio del oxígeno es consistente con la oxidación del hierro durante la calcinación, que se ve favorecido por el entorno rico en compuestos orgánicos provenientes del extracto vegetal, los cuales actúan como agentes reductores en etapas iniciales de la síntesis, pero que al ser eliminados térmicamente permiten la estabilización de especies oxidadas. Esta distribución atómica concuerda con la literatura donde se ha reportado que la calcinación facilita la formación de nanopartículas de óxidos metálicos con mayor pureza y cristalinidad.

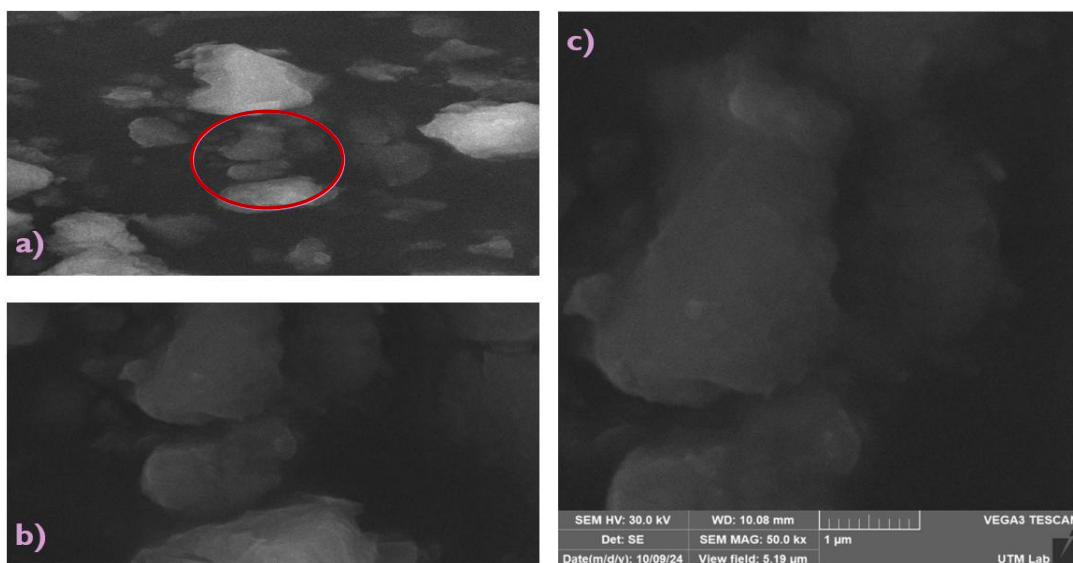
### 4.3.3 Vinazas mezcaleras

En las micrografías obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) para las nanopartículas sintetizadas a partir de vinazas mezcaleras con y sin tratamiento térmico, se utilizaron diferentes escalas para evaluar su morfología: 5  $\mu\text{m}$ , 2  $\mu\text{m}$  y 1  $\mu\text{m}$ . Operado a un voltaje de 30.0 kV y una distancia de trabajo de 10.09 mm y 10.08 mm. Al igual que las demás variantes la síntesis se realizó bajo condiciones controladas, manteniendo los mismos parámetros experimentales

#### ➤ Sin calcinar

Se emplearon magnificaciones de 10.0 kX, 30.0 kX y 58.0 kX, correspondientes a campos visuales de 26.0  $\mu\text{m}$ , 8.65  $\mu\text{m}$  y 5.19  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

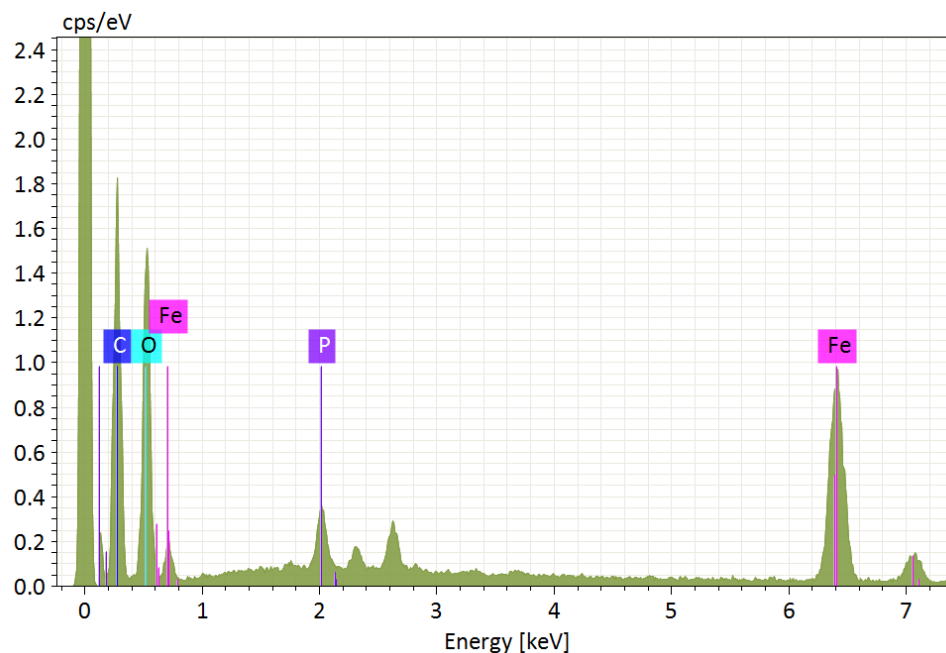
Debido a las limitaciones del equipo utilizado (Vega3 TESCAN), no fue posible observar nanopartículas individuales de forma clara. En su lugar, se identificaron aglomerados de gran tamaño, lo que sugiere una fuerte tendencia a la aglomeración en ausencia de tratamiento térmico la cual favorece la eliminación de residuos orgánicos y la dispersión de las partículas. Esto probablemente se deba a la naturaleza de esta variante. En las siguientes figuras se pueden observar estas micrografías



**Figura 26.** Microscopía de vinazas mezcaleras sin calcinar toma a) 5 $\mu$ m, b) 2 $\mu$ m y c) 1 $\mu$ m.

En el caso de las nanopartículas sintetizadas a partir de vinazas mezcaleras, tanto en estado sin calcinar como calcinado, el análisis EDS se centró exclusivamente en los elementos oxígeno (O) y hierro (Fe), sin reportar los porcentajes atómicos del resto de los elementos detectados. Esta decisión metodológica se fundamentó en el objetivo central del estudio, que fue determinar la posible formación de óxidos de hierro principalmente hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) u otros compuestos férricos, por lo que se priorizó la obtención de datos con mayor resolución y precisión para estos elementos específicos. Para optimizar la calidad de la información obtenida, se aplicó un filtrado en el espectro EDS, lo que permitió reducir el ruido asociado a elementos no relevantes para la hipótesis de investigación y facilitar la interpretación cuantitativa focalizada en las fases minerales de interés.

Sin embargo, a pesar de no contar con los valores porcentuales de otros elementos, los espectros EDS registrados permiten confirmar su presencia cualitativa. Para el caso de las nanopartículas sin calcinar, se identificó la señal correspondiente al fósforo (P) y al carbono (C). La Figura 27 presenta los espectros EDS respectivos como evidencia de la presencia de estos elementos adicionales.



**Figura 27.** Espectro EDS de la muestra de nanopartículas de vinazas mezcaleras sin calcinar.

**Tabla 26.** Porcentajes atómicos relativos de filtrado de oxígeno y hierro mediante EDS de vinazas mezcaleras sin calcinar.

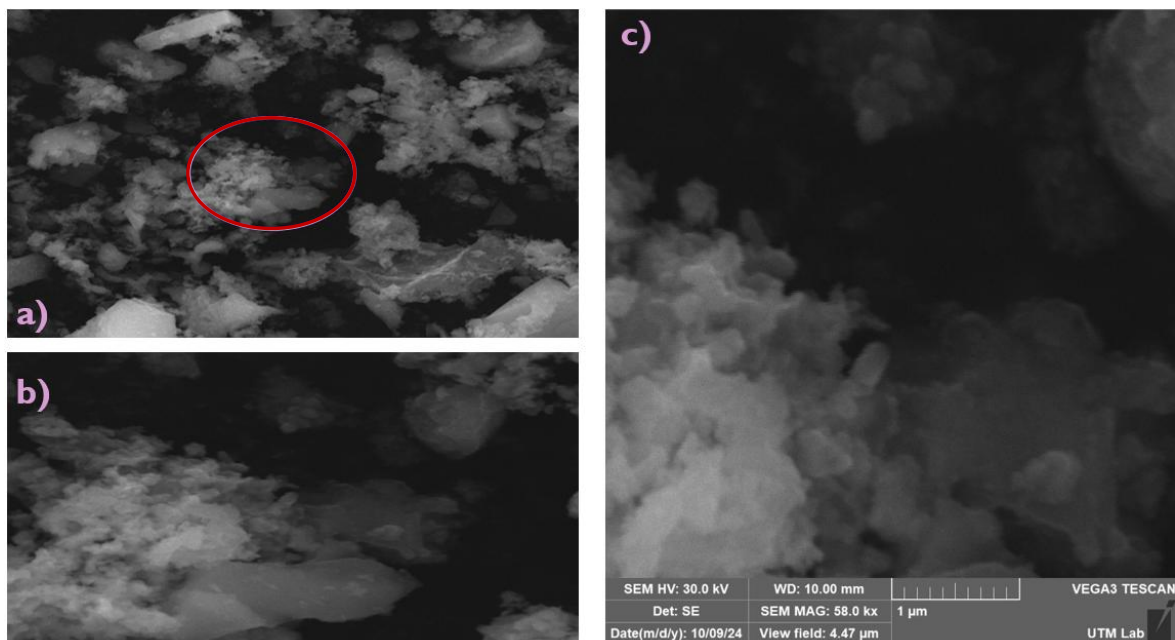
Elemento	Composición (% Atómico)
O	84.59
Fe	15.41

En el análisis EDS filtrado de las nanopartículas obtenidas a partir de vinazas mezcaleras sin calcinación, se obtuvieron porcentajes atómicos de 84.59% de oxígeno (O) y 15.41% de hierro (Fe). El alto contenido de oxígeno puede explicarse porque la muestra no fue sometida a un tratamiento térmico, por lo que aún conserva una gran cantidad de compuestos orgánicos provenientes de las vinazas, como ácidos fenólicos, azúcares y otros metabolitos que contienen oxígeno en su estructura. Estos compuestos rodean o se mezclan con las nanopartículas de hierro, lo cual también puede dificultar su identificación clara y lo que se sugiere que sea

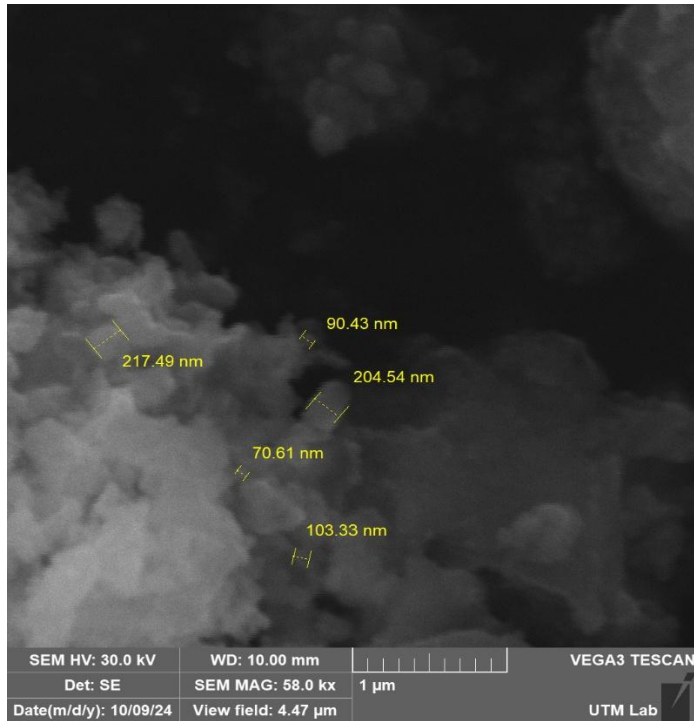
probablemente esa sea la razón de los aglomerados tan grandes que se presentan. Aunque el contenido de hierro es menor en comparación con el oxígeno, su presencia confirma que sí se formaron nanopartículas con este elemento, posiblemente en un estado no tan puro de óxidos de hierro.

➤ Calcinadas

Se emplearon magnificaciones de 10.0 kX, 30.0 kX y 58.0 kX, correspondientes a campos visuales de 26.0  $\mu\text{m}$ , 8.65  $\mu\text{m}$  y 5.19  $\mu\text{m}$ , respectivamente. En la Figura 28, se presentan las micrografías correspondientes a esta sección.

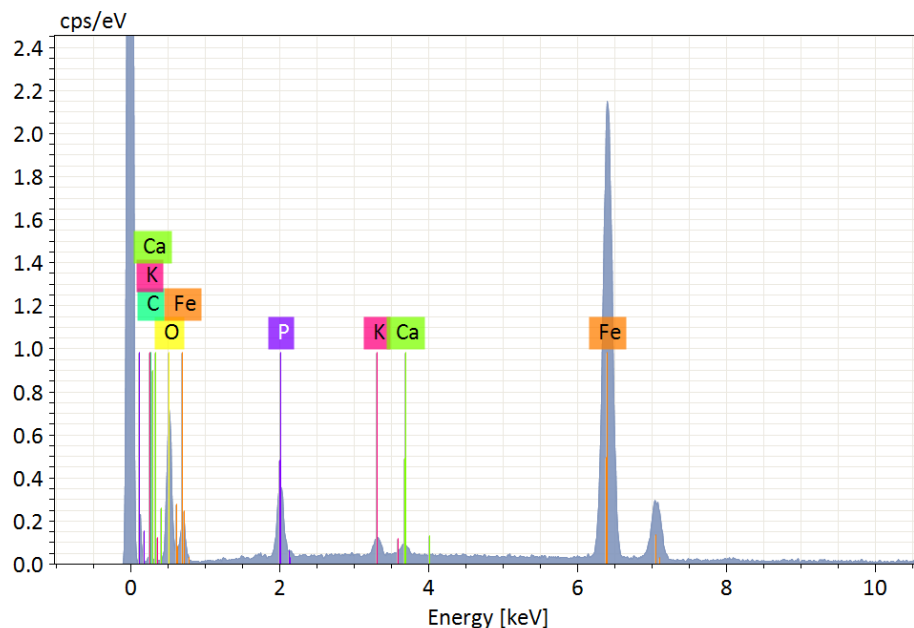


**Figura 28.** Microscopía de vinazas mezcaleras calcinadas toma a: a) 5 $\mu\text{m}$ , b) 2 $\mu\text{m}$  y c) 1 $\mu\text{m}$ .



**Figura 29.** Microscopía de vinazas mezcaleras calcinadas toma a 1μm con mediciones aproximadas.

Finalmente, para este EDS, en las muestras calcinadas se observaron picos atribuibles a calcio (Ca), potasio (K), fósforo (P) y carbono (C), además del oxígeno y hierro. La Figura 27 presenta los espectros EDS respectivos como evidencia de la presencia de estos elementos adicionales.



**Figura 30.** Espectro EDS de la muestra de nanopartículas de vinazas mezcaleras calcinadas.

La composición química del filtrado del EDS de oxígeno y hierro de las nanopartículas obtenidas a partir de la síntesis de vinazas mezcaleras (VM) con tratamiento térmico (calcinada) se presenta en la siguiente tabla.

**Tabla 27.** Porcentajes atómicos relativos de oxígeno y hierro mediante EDS de las vinazas mezcaleras calcinada.

Elemento	Composición (% Atómico)
O	59.33
Fe	40.67

En el análisis EDS filtrado de las nanopartículas obtenidas a partir de vinazas mezcaleras calcinadas, se identificaron porcentajes atómicos de 59.33% de oxígeno (O) y 40.67% de hierro (Fe). Estos resultados son consistentes con la posible

formación de óxidos de hierro, como hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) o magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), los cuales presentan una proporción elevada de oxígeno en su composición. A diferencia de la muestra sin calcinación, el menor contenido de oxígeno aquí sugiere que el tratamiento térmico eliminó buena parte de los compuestos orgánicos presentes inicialmente en las vinazas, permitiendo una mayor concentración relativa de hierro en la muestra. Esta relación más equilibrada entre oxígeno y hierro respalda la hipótesis de que la calcinación favorece la formación y detección de fases oxidadas del hierro.

#### 4.3.4 Discusión de los resultados obtenidos de la Microscopía Electrónica de Barrido

Las micrografías obtenidas por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) revelan una serie de patrones comunes y diferencias significativas entre las distintas fuentes de extracto utilizadas para la síntesis de nanopartículas de hierro, así como entre las condiciones de tratamiento (con y sin calcinación). En la mayoría de los casos, se observó la formación de estructuras nanométricas con morfología predominantemente esférica o cuasiesférica, aunque en algunas muestras se evidenciaron partículas de contornos ligeramente irregulares, con tendencia a formar agregados compactos debido a interacciones superficiales, fenómeno común en nanopartículas metálicas obtenidas por síntesis verde. En ciertas micrografías, la calcinación generó superficies más definidas y partículas con menor heterogeneidad morfológica, mientras que en las muestras sin calcinación se observaron estructuras más amorfas y con mayor rugosidad superficial. Estos son rasgos típicos en nanopartículas metálicas sintetizadas por métodos verdes según los reportes de otros autores.

Las muestras sin calcinación muestran una mayor presencia de materia orgánica residual, lo cual se manifiesta en imágenes con bordes difusos y formación de cúmulos menos definidos, particularmente en el caso de las vinazas. Las aglomeraciones observadas pueden atribuirse a la ausencia de tratamiento térmico,

que limita la cristalinidad del material. Aun así, tanto *Agave tequilana* Weber como *Agave angustifolia* Haw permitieron identificar partículas individuales en el rango de 83 a 203 nm, evidenciando nucleación exitosa aún sin calcinación.

Por otro lado, las muestras calcinadas presentan una morfología más definida, con partículas más compactas, superficies más densas y, en algunos casos, estructuras elongadas como en las vinazas, posiblemente debidas a reorganización térmica. La calcinación también favoreció la sinterización, contribuyendo a la estabilidad estructural y a una mejor dispersión electrónica, facilitando así la identificación de nanopartículas. En todos los casos sometidos a calcinación, el tamaño individual de las partículas se mantuvo dentro del rango reportado para nanopartículas metálicas obtenidas por métodos verdes (aproximadamente entre 54 y 218 nm), lo que indica que el tratamiento térmico contribuyó a controlar el crecimiento cristalino y conservar dimensiones nanométricas. Sin embargo, se observó una tendencia a la aglomeración, atribuible a fuerzas de atracción superficial y no necesariamente a una inestabilidad estructural, fenómeno comúnmente descrito en nanopartículas metálicas sintetizadas mediante rutas biológicas. De acuerdo con un artículo publicado por Bora, Debajeet, Braun, Artur, Erat, Selma, et. al. [87], se encontró que temperaturas más altas en el tratamiento térmico transforman fases mixtas de óxidos de hierro (como maghemita y hematita) hacia una única fase más estable. Además, las nanopartículas se vuelven más grandes y con formas definidas a medida que aumenta la temperatura.

En conjunto, las micrografías SEM indican que la síntesis verde empleada permitió la formación de nanopartículas en todos los casos evaluados, observándose variaciones en la forma, tamaño y grado de aglomeración según el tipo de extracto utilizado y la aplicación o no de un tratamiento térmico. La calcinación mostró un efecto notable en las características morfológicas observadas, aunque sin poderse confirmar de manera concluyente mejoras específicas en dispersión o visibilidad debido a la naturaleza cualitativa del análisis. En la siguiente tabla se presenta un resumen comparativo de las observaciones realizadas.

**Tabla 28.** Características de las nanopartículas de hierro observadas por SEM.

Muestra	Tratamiento	Morfología	Tendencia a aglomeración	Rango de tamaño estimado (nm)
<i>Agave tequilana</i> Weber	Sin calcinar	Semiesférica, cúmulos agregados, superficies difusas.	Alta	83.59 – 203.1
<i>Agave tequilana</i> Weber	Calcinados	Esférica/cuasi esférica, bordes definidos, cúmulos compactos	Media-Alta	54.52 – 218.02
<i>Agave angustifolia</i> Haw	Sin calcinar	Esférica/cuasi esférica, cúmulos irregulares, zonas oscuras	Alta	83.53-361.28
<i>Agave angustifolia</i> Haw	Calcinados	Esférica/semiesférica, superficies rugosas, cúmulos densos	Media	83.02-231.12
Vinazas mezcaleras	Sin calcinar	Irregular, amorfa, sin partículas definidas visibles	Muy alta	No identificable
Vinazas mezcaleras	Calcinados	Partículas densas, compactas, presencia de elongaciones tipo nanotubo	Alta	90.3 – 217.9

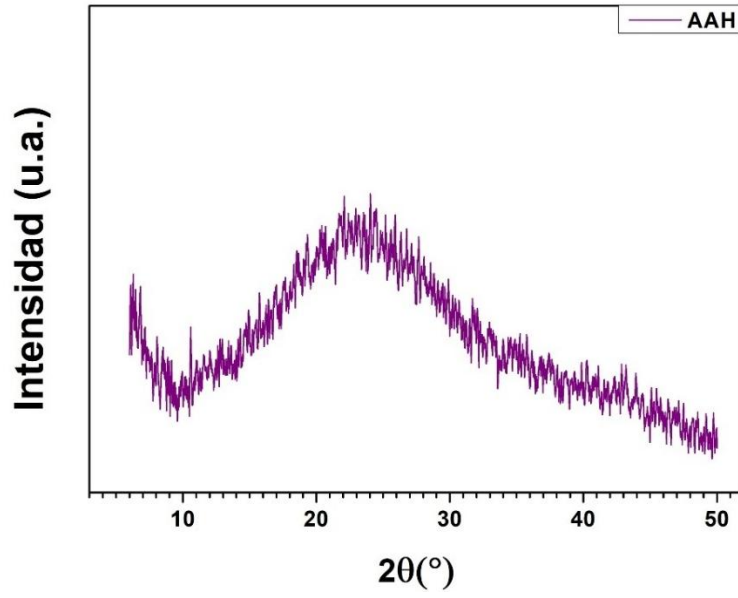
#### 4.4 Difracción de Rayos X

Aunque el planteamiento inicial de esta investigación proponía el uso de extractos fenólicos como agente reductor en la síntesis de nanopartículas de hierro, la realidad experimental mostró ciertas limitaciones importantes. En particular, tras el secado de los productos obtenidos con extractos fenólicos, se obtuvo una cantidad de sólido insuficiente para realizar el análisis estructural por difracción de rayos X (DRX). Esta limitación puede atribuirse a la baja concentración efectiva de compuestos reductores en los extractos, así como a su menor capacidad de interacción con el precursor férrico, especialmente bajo las condiciones específicas empleadas durante la síntesis.

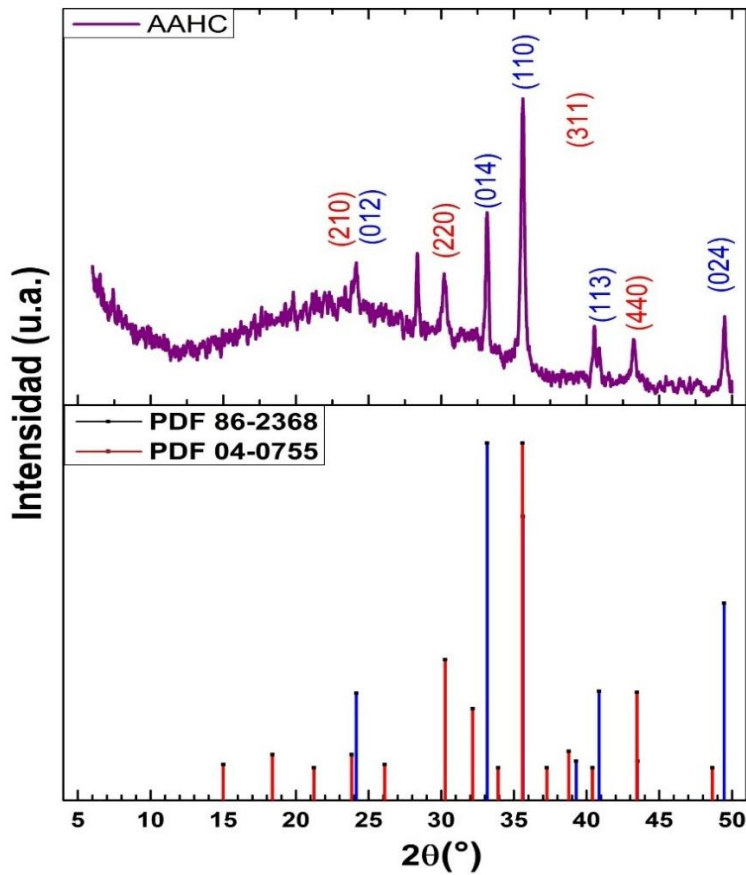
En cambio, el uso de jugos hidrolizados de hojas de Agave permitió obtener cantidades adecuadas de material sólido, suficientes para la caracterización por DRX. Esto puede explicarse por la composición más compleja y rica en metabolitos orgánicos de los jugos, que no solo contienen ácidos fenólicos, sino también azúcares reductores, flavonoides y otros compuestos con funciones reductoras y estabilizadoras [88]. De hecho, aunque los análisis de fenoles totales no mostraron diferencias significativas entre las muestras, los resultados obtenidos en el ensayo de capacidad antioxidante (FRAP) sí revelaron diferencias sustanciales, particularmente en el caso del *Agave angustifolia* Haw.

Dicha muestra presentó un mayor poder reductor según el análisis FRAP, lo cual es coherente con su mejor rendimiento en la síntesis de nanopartículas y con la obtención de un volumen de producto sólido apto para el análisis por DRX. Este comportamiento sugiere que, además de la cantidad de compuestos reductores, la naturaleza química y posibles diferencias en su composición podrían influir en la eficiencia del proceso de síntesis verde. Si bien la caracterización específica de estos compuestos no fue objeto del presente estudio, la relación observada entre el poder reductor y el rendimiento obtenido respalda la elección de los jugos de *Agave angustifolia* Haw como material para el análisis, tanto por su viabilidad experimental como por su coherencia con los objetivos de la investigación.

En la Figura 31 y Figura 32, se muestran los difractogramas correspondientes al *Agave angustifolia* Haw sin calcinar y calcinadas respectivamente.



**Figura 31.** Difractograma de Rayos X para el *Agave angustifolia* Haw sin calcinar.



**Figura 32.** Difractograma de Rayos X para el *Agave angustifolia* Haw calcinadas.

El patrón de difracción de rayos X correspondiente a la muestra sintetizada sin tratamiento térmico muestra una señal con picos de baja intensidad y mal definidos, y difuso. Esta forma de difractograma es característica de materiales amorfos o con bajo grado de cristalinidad, en los cuales no hay un orden periódico claro en la estructura atómica.

La ausencia de picos bien definidos en esta muestra indica que las nanopartículas formadas no desarrollaron una fase cristalina reconocible, o que la misma está oculta por la presencia de residuos orgánicos provenientes del jugo de agave, los cuales generan una matriz amorfa. Este comportamiento es consistente con los resultados observados en SEM y EDS, donde se evidenció una alta proporción de oxígeno y materia orgánica, así como una pobre definición morfológica de las partículas. Las cuales tendieron también a formar aglomeraciones.

Por tanto, se concluye que la muestra sin calcinación presenta un estado estructural mayormente amorfo, y que el hecho de tener que calcinarlas es necesario y fundamental para inducir la formación de fases cristalinas estables.

Por otro lado, en contraste, la muestra calcinada muestra un patrón de difracción compuesto por picos bien definidos e intensos, lo cual es indicativo de una estructura cristalina consolidada. El procesamiento y análisis de los difractogramas, a partir de datos obtenidos con radiación Cu-K $\alpha$  de longitud de onda 1.541874 Å, estándar en análisis estructural de compuestos metálicos y óxidos. Se identificaron reflexiones en posiciones angulares ( $2\theta$ ) correspondientes a los planos:

- (210), (012), (220), (014), (110), (113), (440), (024).

Estas señales coinciden con la tarjeta cristalográfica PDF 86-2368, correspondiente a la magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), un óxido de hierro con estructura cúbica tipo espinela, comúnmente formado en condiciones moderadamente reductoras y térmicamente activadas. La magnetita es una fase estable y magnética, y su formación confirma que el jugo de agave hidrolizado contiene compuestos con capacidad suficiente

para reducir sales férricas, especialmente cuando se complementa con un tratamiento térmico.

Cabe señalar que algunos picos también presentan coincidencias parciales con la tarjeta PDF 04-0755, correspondiente a la hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), la cual posee una estructura romboédrica. La posibilidad de coexistencia de ambas fases no puede descartarse completamente, ya que depende de diversos factores como el pH, la temperatura y el contenido de oxígeno durante la calcinación según reportes de otros autores. En algunos casos, diferencias sutiles en las posiciones  $2\theta$  o en la intensidad relativa de los picos pueden deberse también al tamaño reducido de partícula, probablemente imperfecciones en la red cristalina.

En el patrón de difracción de rayos X se observó un pico adicional en  $2\theta \approx 28^\circ$ , el cual no corresponde a las fases principales identificadas (magnetita y hematita). El análisis EDS reveló la presencia de elementos como Ca, K y C, que no forman parte de la red cristalina de los óxidos de hierro, pero que son típicos de residuos biogénicos provenientes del material vegetal. Este hecho sugiere que el pico puede atribuirse a fases secundarias carbonatadas, tales como  $\text{CaCO}_3$  o  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , formadas por interacción de los componentes minerales de la hoja de agave durante la síntesis o el tratamiento térmico. Resultados similares han sido reportados en materiales derivados de biomasa, donde picos en la región de  $27\text{--}30^\circ 2\theta$  se asocian a carbonatos de calcio o sílice amorfa residual [89].

Adicionalmente, teniendo estos picos definidos para esta variante, se procede a calcular el tamaño de partícula mediante la fórmula de Scherrer la cual se presenta a continuación.

$$D = \frac{K * \lambda}{(\beta * \cos(\theta))} \quad \dots (19)$$

Donde:

- D: es el tamaño promedio del cristalito (generalmente en nanómetros o Årmstrongs).
- K: es el factor de forma de Scherrer, que depende de la forma del cristalito y puede variar entre 0.62 y 2.08, pero generalmente se considera 0.9.
- $\lambda$ : es la longitud de onda de los rayos X utilizados en la difracción= 1.5406 Å (Cu K $\alpha$ ).
- $\beta$ : es el ancho completo a la mitad del máximo (FWHM) del pico de difracción, corregido por ensanchamiento instrumental (generalmente en radianes).
- $\theta$ : es el ángulo de Bragg del pico de difracción.

Una vez definida esta ecuación se sustituyen los valores de las variables, sin embargo, para poder obtener a  $\beta$  que es la anchura a media altura o FWHM (por sus siglas en inglés Full Width at Half Maximum) fue necesario obtenerla directamente en el software OriginPro usando la función *Peak Analyzer*.

Se tomó en cuenta el pico más alto que corresponde al pico (110), el cual se sitúa aproximadamente a 35.64 en el eje  $2\theta$ . Así entonces:

$$2\theta = 35.64^\circ$$

$$\theta = \frac{35.64^\circ}{2} = 17.82^\circ = 0.31101767 \text{ rad}$$

Y,

$$\beta = 0.2565^\circ$$

$$\beta = (0.2565^\circ) \left( \frac{\pi}{180} \right) = 0.004476 \text{ rad}$$

Sustituyendo en la ecuación (4), resulta.

$$D = \frac{(0.9) * (1.5406 \text{ \AA})}{((0.004476 \text{ rad}) * \cos (0.31101 \text{ rad}))} \quad \dots (20)$$

$$D = 32.3645 \text{ nm}$$

El tamaño de partícula cristalina fue estimado mediante la ecuación de Scherrer, utilizando el pico más intenso del difractograma (ubicado en  $2\theta = 35.64^\circ$ ). Si bien este valor representa únicamente una dirección cristalográfica, proporciona una aproximación razonable del orden de magnitud del tamaño de cristalita, el cual se encuentra en el rango nanométrico. Dado que los demás picos presentaron menor intensidad o solapamiento, no se utilizó un promedio del resto de los picos, por lo que el valor reportado debe considerarse como estimativo pero dada la Microscopía electrónica de barrido coincide estar cerca dentro del rango. Los resultados demostraron la viabilidad de la metodología de síntesis de NP-Fe, por lo que en trabajos futuros se propone la evaluación de estudios de estabilidad, la posible presencia de contaminantes o fases secundarias en las NP-Fe formadas, aspectos que ayudarían a consolidar la propuesta realizada.



# Capítulo 5

## 5. CONCLUSIONES

En la presente investigación se reporta por primera vez la síntesis verde de nanopartículas de hierro empleando extractos fenólicos y jugos hidrolizados obtenidos a partir de hojas de *Agave tequilana* Weber, *Agave angustifolia* Haw y vinazas mezcaleras, con tamaños de partículas en orden aproximado de 83, 32 y 89 nm respectivamente.

El estudio integró técnicas fisicoquímicas (FRAP, cuantificación de fenoles totales), estructurales (DRX, SEM-EDS) y análisis estadístico (ANOVA) para evaluar la eficiencia del proceso y caracterizar las nanopartículas en términos de composición elemental, morfología observada y rendimiento de síntesis.

En primera instancia, los análisis de fenoles totales expresados como EAG, permitieron cuantificar la concentración de compuestos fenólicos en los diferentes extractos, los cuales actúan como agentes reductores clave en la formación de nanopartículas metálicas.

Al aplicar la prueba de Tukey a los valores de fenoles totales expresados como EAG con un nivel de significancia de 0.05 y 6 grados de libertad, no se observó diferencia significativa entre las muestras.

Al aplicar la prueba de Duncan a los resultados obtenidos de FRAP con un nivel de significancia de 0.05 y 6 grados de libertad para los resultados obtenidos de FRAP, se observó que existe diferencia significativa entre las muestras. El extracto de *Agave angustifolia* Haw, presentó la mayor capacidad reductora ( $796 \frac{\mu\text{mol Fe}^{2+}}{\text{L}}$ ).

Este resultado sugiere que aun cuando no existe diferencia significativa en el análisis de fenoles totales expresados como EAG, la naturaleza y estructura química

de los compuestos presentes en las diferentes muestras si influyen directamente en la capacidad reductora del precursor férrico.

La caracterización morfológica mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) confirmó la formación de estructuras con morfología esférica o cuasi esférica, con tamaños por debajo de los 100 nm, en las muestras obtenidas a partir de los extractos de agave, tanto sin calcinar como calcinadas.

El tratamiento térmico tuvo un efecto positivo sobre la definición y compactación de las partículas, reduciendo la presencia de residuos orgánicos y promoviendo la formación de cúmulos más densos y homogéneos. A diferencia de las muestras derivadas de vinazas mezcaleras sin calcinación, las cuales mostraron morfologías amorfas y poco definidas, lo que evidencia la necesidad de calcinación para lograr la formación de las nanopartículas.

El análisis de Difracción de Rayos X (DRX) de la matriz AAH, mostró un patrón amorfo en las muestras sin tratamiento térmico, mientras que en las muestras calcinadas se identificaron picos correspondientes a estructuras cristalinas bien definidas, principalmente de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), con posible coexistencia parcial de hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ). La presencia de estos óxidos confirma la transformación efectiva del precursor férrico y la funcionalidad de los compuestos orgánicos presentes en los extractos como agentes reductores y estabilizantes.

Así mismo, complementariamente, se aplicaron análisis estadísticos mediante ANOVA de una vía y pruebas de comparación múltiple (Tukey y Duncan) para determinar la existencia de diferencias significativas entre tratamientos. Estos análisis permitieron validar cuantitativamente la influencia del tipo de extracto y del tratamiento térmico en las propiedades fisicoquímicas y estructurales del material. En particular, las diferencias encontradas en la capacidad antioxidante (FRAP), el contenido de hierro y el comportamiento estructural fueron estadísticamente significativas, lo que respalda la conclusión de que *Agave angustifolia* Haw es la fuente vegetal más efectiva y reproducible bajo las condiciones de esta síntesis.

El tamaño de partícula estimado mediante la ecuación de Scherrer, a partir del pico más intenso del difractograma, indicó valores en el rango de 30 a 35 nm, confirmando que el material sintetizado se encuentra dentro de la escala nanométrica.

Los rendimientos de NP-Fe ( $\gamma_{\text{NP-Fe}}$ ) obtenidos fueron de 2.9, 2.7, y 1.7  $\frac{\text{Kg NP-Fe}}{\text{TON agave}}$  que correspondieron al *Agave Angustifolia* Haw, vinazas mezcaleras y *Agave tequilana* Weber respectivamente.

En conjunto, los resultados reafirman que la síntesis verde, basada en principios de sostenibilidad y bajo impacto ambiental, fue la prioridad en este estudio. Este enfoque se fortaleció al emplear residuos agroindustriales del agave, específicamente vinazas y hojas, como fuente renovable de compuestos reductores y estabilizantes. De este modo, el proceso no solo promueve una producción limpia de nanopartículas metálicas, sino que también valoriza subproductos de la industria mezcalera, ofreciendo una alternativa de alto valor agregado con potencial para el desarrollo de aplicaciones tecnológicas sostenibles.

## 5.1 Trabajos Futuros

Se sugiere realizar estudios empleando los jugos hidrolizados de agave con la finalidad de aprovechar los componentes bioactivos que favorecen la reducción y estabilización de las nanopartículas, así como el incremento del rendimiento global.

Realizar los análisis de tamaño de partícula mediante técnicas de caracterización física como espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (Fourier Transform Infrared spectroscopy, por sus siglas en inglés FT-IR) y Microscopía Electrónica de Transmisión (Transmission Electron Microscopy, por sus siglas en inglés TEM).

Realizar estudios de aplicación de las NP-Fe sintetizadas en áreas como remediación ambiental (tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados

o compuestos orgánicos persistentes), catalizadores para procesos químicos verdes o efectos de acción antimicrobiana.

Evaluar la estabilidad estructural de las nanopartículas durante periodos prolongados.

Implementar análisis de contaminantes o fases no deseadas post-síntesis mediante técnicas de caracterización como FT-IR.

Profundizar en el estudio de la variabilidad natural de los extractos y jugos, considerando factores como edad y estado fisiológico del agave.

Desarrollar estrategias de optimización del proceso que permitan su escalamiento industrial, incluyendo estudios de costo-beneficio y minimización de consumo energético.

6. ANEXOS

**Tabla 29.** Tabla de pesos de nanopartículas de las tres matrices tras la síntesis.

Muestra	Peso (g)
<i>Agave angustifolia</i> Haw	0.00290 ± 0.00011
<i>Agave tequilana</i> Weber	0.00166 ± 0.00094
Vinazas mezcaleras	0.00266 ± 0.00005

**Tabla 30.** Tabla de pesos de muestras para el *Agave tequilana* Weber.

Muestra	Peso del matraz (g)	Peso de matraz + muestra (g)	Peso muestra (g)
Muestra 1	105.8547	106.0744	0.2197
Muestra 2	114.2034	114.4583	0.2544
Muestra 3	101.3985	101.6732	0.2747

**Tabla 31.** Tabla de pesos de muestras para el *Agave angustifolia* Haw.

Muestra	Peso del matraz (g)	Peso de matraz + muestra (g)	Peso muestra (g)
Muestra 1	105.8527	106.3567	0.504
Muestra 2	114.2039	114.7022	0.4983
Muestra 3	101.3985	101.8817	0.4832

**Tabla 32.** Tabla de pesos de muestras para las vinazas mezcaleras.

<b>Muestra</b>	<b>Peso del matraz (g)</b>	<b>Peso de matraz + muestra (g)</b>	<b>Peso muestra (g)</b>
Muestra 1	105.8527	106.2050	0.3523
Muestra 2	114.2039	114.5580	0.3541
Muestra 3	101.3985	101.7789	0.3804

**Tabla 33.** Muestras y absorbancias para el Agave *tequilana* Weber.

<b>Muestra</b>	<b>Abs(-)</b>	<b>µg/mL</b>	<b>Promedio de µg/mL por muestra</b>	<b>Desviación estándar (σ)</b>	<b>Promedio µg Equivalentes de Ácido Gálico</b>
1	0.291	359.6	366.9	8.9	9122.5
	0.313	376.6			
	0.3	363.6			
2	0.32	383.6	387.6	4	9690
	0.324	387.6			
	0.328	391.6			
3	0.299	362.6	368.9	5.5	9222.5
	0.308	371.6			
	0.309	372.6			

**Nota:** La dilución para esta muestra es de 1:25, razón por la cual el promedio de los µg equivalentes de Ácido Gálico se multiplica por 25.

**Tabla 34.** Muestras y absorbancias para el *Agave angustifolia* Haw.

Muestra	Abs(-)	µg/mL	Promedio de µg/mL	Desviación estándar ( $\sigma$ )	Promedio µg Equivalentes de Ácido Gálico
1	0.162	196.18	196.2	1.44	9810
	0.160	194.36			
	0.163	197.09			
2	0.149	184.36	182.5	1.82	9125
	0.147	182.54			
	0.145	180.72			
3	0.147	182.54	181.6	1.42	9080
	0.146	181.63			
	0.144	179.81			

**Nota:** La dilución para esta muestra es de 1:50, razón por la cual el promedio se multiplica por 50.

**Tabla 35.** Muestras y absorbancias para las vinazas mezcaleras.

Muestra	Abs(-)	µg/mL	Promedio µg/mL	Desviación estándar ( $\sigma$ )	Promedio µg Equivalentes de Ácido Gálico
1	0.174	207.1	207.1	0.95	10355
	0.176	208.1			
	0.173	206.2			
2	0.146	181.6	183.5	1.48	9175
	0.148	183.5			
	0.149	184.4			
3	0.149	184.4	183.5	1.14	9175
	0.149	184.4			
	0.147	182.5			

**Nota:** La dilución para esta muestra es de 1:50, razón por la cual el promedio se multiplica por 50



## BIBLIOGRAFÍA

- [1] A. Boroumand Moghaddam, F. Namvar, M. Moniri, P. Md Tahir, S. Azizi y R. Mohamad, «Nanoparticles Biosynthesized by Fungi and Yeast: A Review of Their Preparation, Properties, and Medical Applications,» de *Molecules*, vol. 20(9), Basel, Switzerland, 2015, pp. 16540-16565.
- [2] M. Khatami, S. Pourseyedi, M. Khatami, H. Hamidi, M. Zaeifi y L. Soltani, «Synthesis of silver nanoparticles using seed exudates of *Sinapis arvensis* as novel bioresource, and evaluation of their antifungal activity,» de *Bioresources and Bioprocessing*, vol. 2(1), 2015, pp. 1-7.
- [3] V. S. Robles-González, J. Galíndez-Mayer, N. Rinderknecht-Seijas y H. M. Poggi-Varaldo, «Treatment of mezcal vinasses: A review,» *Journal of biotechnology*, vol. 157, n° 4, pp. 524-546, 2012.
- [4] O. Carvajal-Zarrabal, C. Nolasco-Hipólito, D. M. Barradas-Dermitz, P. M. Hayward-Jones, M. G. Aguilar-Uscanga y K. Bujang, «Treatment of vinasse from tequila production using polyglutamic acid,» *Journal of Environmental Management*, vol. 95, pp. S66-S70, 2012.
- [5] M. Sharari, A. Jahan Latibari, A. Guillet, M. Aurousseau, B. Mouhamadou, Rafeiee, Gh, A. Mirshokraei y D. Parsapaghoh, «Application of the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* in biotreatment of bagasse effluent,» *Biodegradation*, vol. 22, pp. 421-430, 2011.
- [6] P. Singh nee' Nigam, N. Gupta y A. Anthwal, «Pre-treatment of agro-industrial residues,» *Biotechnology for agro-industrial residues utilisation: utilisation of agro-residues*, pp. 13-33, 2009.
- [7] M. J. Diaz, E. Madejon, F. Lopez, R. Lopez y F. Cabrera, «Optimization of the rate vinasse/grape marc for co-composting process,» *Process Biochemistry*, vol. 37, n° 10, pp. 1143-1150, 2002.
- [8] E. Sierra, J. Alcaraz, Á. Valdivia, A. Rosas, M. Hernández, E. Vivald y A. Martínez, «Ciencia UNAM. Bagazo de agave: de desecho agroindustrial a materia prima en las biorrefinerías,» Facultad de Química/Instituto de Biotecnología, 28 abril 2021. [En línea]. Available: <https://ciencia.unam.mx/leer/1112/bagazo-de-agave-de>

desecho-agroindustrial-a-materia-prima-en-las-biorrefinerias-. [Último acceso: 27 febrero 2025].

- [9] R. G. M. Salazar, *Efecto de la aplicación de vinazas tequileras sobre los procesos de nitrificación, desnitrificación y emisiones de gases con efecto invernadero en suelos agrícolas*, Guadalajara, Jalisco, 2015.
- [10] C. M. R. d. I. C. d. Mezcal, «Informe Estadístico 2025,» Oaxaca, 2025.
- [11] P. A. Flores-Ríos, R. Celerino y E. Castañeda-Hidalgo, «Generación y caracterización básica de bagazo de la agroindustria del mezcal en Oaxaca,» *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, vol. 11(6), pp. 1437-1445, 2020.
- [12] J. L. Montañez, J. C. Victoria, R. Flores y M. A. Vivar, «Fermentación de los fructanos del Agave tequilana Weber Azul por *Zymomonas mobilis* y *Saccharomyces cerevisiae* en la producción de bioetanol,» *Información tecnológica*, vol. 22, nº 6, pp. 3-14, 2011.
- [13] A. Estrada-Maya y B. Weber, «Biogás y bioetanol a partir de bagazo de agave sometido a explosión de vapor e hidrólisis enzimática,» *Ingeniería, investigación y tecnología*, vol. 23, nº 2, pp. 1405-7743, 2022.
- [14] L. Caspeta, M. A. Caro-Bermúdez, T. Ponce-Noyola y A. Martínez, «Enzymatic hydrolysis at high-solids loadings for the conversion of agave bagasse to fuel ethanol,» *Applied Energy*, vol. 113, pp. 277-286, 2014.
- [15] B. Ahmmad, K. Leonard, M. S. Islam, J. Kurawaki, M. Muruganandham, T. Ohkubo y Y. Kuroda, «Green synthesis of mesoporous hematite ( $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanoparticles and their photocatalytic activity,» *Advanced Powder Technology*, vol. 24, nº 1, pp. 160-167, 2013.
- [16] Biología Molecular, Biotecnología, Laboratorio by Solmeclas Lab, «Nanopartículas. Propiedades y aplicaciones en medicina y cosmética,» 26 Julio 2021. [En línea]. Available: <https://solmeclas.com/nanoparticulas-medicina-cosmetica/#:~:text=Las%20nanopart%C3%ADculas%20>. [Último acceso: 17 03 2022].
- [17] R. Pabbati, V. Kondakindi y S. Firdoz, «Applications of Nanomaterials in Biomedical Engineering [Imagen: Nanoescale,]» 23 03 2021. [En línea].

Available: <https://diarium.usal.es/jvegasm/files/2021/07/nanoscale.jpg>. [Último acceso: 25 08 22].

- [18] D. M. López, «Nanomateriales: nuevas propiedades a menores dimensiones,» *Revista Ciencia*, pp. 23-29, marzo 2003.
- [19] M. Gómez-Garzon, «Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde,» *Revista Repertorio de Medicina y Cirugía*, vol. 27(2), pp. 75-80, 2018.
- [20] R. C. O'Handley, *Modern Magnetic Materials Principles and Applications*, Massachusetts: Jhon Wiley & Sons Inc., 1999.
- [21] M. L. Cerón Loayza, *Estudio mineralógico de suelos agrícolas por espectroscopía Mossbauer (Tesis de Licenciatura)*, Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2001.
- [22] J. G. Castaño y C. Arroyave, «La funcionalidad de los óxidos de hierro,» *Revista de metalurgia*, vol. 34, nº 3, pp. 274-280, 1998.
- [23] J. M. Borja y B. S. R. Oviedo, «Nanomateriales: método de síntesis,» *Polo del Conocimiento*, vol. 5, nº 8, pp. 426-445, Agosto 2020.
- [24] S. Ramanathan, «Potentials in synthesizing nanostructured silver particles,» *Microsystem Technologies*, vol. 23, pp. 4345-4357, 2017.
- [25] S. Mohan Bhagyaraj, N. Kalarikkal, S. Thomas y O. Oluwafemi, «Quantum-Dot-Filled Epoxy Nanocomposites With Enhanced Thermal, Mechanical, and Optical Properties,» *Characterization of Nanomaterials*, pp. 237-267, 2018.
- [26] C. P. Devatha y . A. K. Thalla, «Green synthesis of nanomaterials,» de *Synthesis of inorganic nanomaterials*, Elsevier, 2018, pp. 164-184.
- [27] P. T. Anastas y J. C. Warner, «Green chemistry: Theory and practice,» de *Principles of Green Chemistry*, vol. 29, New York, New York: Oxford University Press, 1998, p. 30.
- [28] R. Mestres, «Educación química,» de *Química Sostenible: Naturaleza, fines y ámbito*, vol. 24, 2013, pp. 103-112.

- [29] R. Zanella, «Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño,» *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, vol. 5, nº 1, pp. 69-81, 2012.
- [30] J. P. Salinas Estevané y E. M. Sánchez Cervantes, «La química verde en la síntesis de nanoestructuras,» *Ingenierías*, vol. 15, nº 54, pp. 7-16, 2012.
- [31] R. Kalaiarasi, N. Jayallakshmi y P. Venkatachalam, «Phytosynthesis of nanoparticles and its applications,» 2010.
- [32] H. Genuino, N. Mazrui, S. Seraji, Z. Luo y G. Hoag, «Green Synthesis of Iron Nanomaterials for Oxidative Catalysis of Organic Environmental Pollutants,» *New and Future Developments in Catalysis: Catalysis for Remediation and Environmental Concerns*, pp. 41-61, 2013.
- [33] F. Mehdi, R. Kourosh, Z. Ahmad, A. Hossein, N. Fakhraddin y K. Rasoul, «A novel green synthesis of zero valent iron nanoparticles (NZVI) using three plant extracts and their efficient application for removal of Cr(VI) from aqueous solutions,» *Advanced Powder Technology*, vol. 28, pp. 122-130, 2017.
- [34] K. Mauleón Tolentino, *Síntesis de nanopartículas de óxido de zinc a partir de extractos de Stevia rebaudiana y Moringa oleífera. (Tesis Maestría)*, San Juan Bautista Tuxtepec: Universidad del Papaloapan, 2019.
- [35] S. Ahmed, S. A. Chaudhry y S. Ikram, «A review on biogenic synthesis of ZnO nanoparticles using plant extracts and microbes: a prospect towards green chemistry,» *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 166, pp. 272-284, 2017.
- [36] C. Raymond, *Química General*, Mcgraw-hill, 1998.
- [37] Á. B. Sifontes, «Biosíntesis de nanomateriales: hacia el avance de la nanotecnología verde,» *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, vol. 7, nº 13, pp. 56-68, 2014.
- [38] S. Bhagyaraj, O. Oluwafemi, N. Kalarikkal y S. Thomas, *Applications of Nanomaterials: Advances and Key Technologies (Micro and Nano Technologies)*, Sawston, UK: Woodhead Publishing, 2018.

- [39] C. P. Devatha y A. K. Thalla, «Green Synthesis of Nanomaterials,» *Synthesis of Inorganic Nanomaterials*, pp. 169-184, 2018.
- [40] S. U. H. Khan, S. M. Khan, A. Mariam, A. Majeed, J. Mohammad y R. Kumar, «Green synthesis of colloidal silver using banana (*Musa balbisiana*) leaf extract,» *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 8, nº 1, pp. 622-625, 2019.
- [41] S. Ponarulselvam, C. Panneerselvam, K. Murugan, N. Aarthi, K. Kalimuthu y S. Thangamani, «Synthesis of silver nanoparticles using leaves of *Catharanthus roseus* Linn. G. Don and their antiplasmodial activities,» *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, vol. 2, nº 7, pp. 574-580, 2012.
- [42] B. Banumathi, . B. Malaikozhundan y B. Vaseeharan, «Invitro acaricidal activity of ethnoveterinary plants and green synthesis of zinc oxide nanoparticles against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*,» *Veterinary Parasitology*, vol. 216, pp. 93-100, 2016.
- [43] M. Stan, A. Popa, D. Toloman, A. Dehelean, I. Lung y G. Katona, «Enhanced photocatalytic degradation properties of zinc oxide nanoparticles synthesized by using plant extracts,» *Materials Science in Semiconductor Processing*, vol. 39, pp. 23-29, 2015.
- [44] K. B. Narayanan y N. Sakthivel, «Phytosynthesis of gold nanoparticles using leaf extract of *Coleus amboinicus* Lour,» *Materials Characterization*, vol. 61, nº 11, pp. 1232-1238, 2010.
- [45] N. Latha y M. Gowri, «Biosynthesis and characterisation of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles using *Caricaya papaya* leaves extract,» *Int J Sci Res*, vol. 3, nº 11, pp. 1551-1556, 2014.
- [46] G. Sharmila, M. Thirumarimurugan y V. M. Sivakumar, «Optical, catalytic and antibacterial properties of phytofabricated CuO nanoparticles using *Tecoma castanifolia* leaf extract,» *Optik*, vol. 127, nº 19, pp. 7822-7828, 2016.
- [47] S. Mohanraj, K. Anbalagan, P. Rajaguru y V. Pugalenti, «Effects of phytogetic copper nanoparticles on fermentative hydrogen production by *Enterobacter cloacae* and *Clostridium acetobutylicum*,» *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 41, nº 25, pp. 10639-10645, 2016.

- [48] D. Fawcett, J. Verduin, M. Shah, S. Sharma y E. Poinern, «A Review of Current Research into the Biogenic Synthesis of Metal and Metal Oxide Nanoparticles via Marine Algae and Seagrasses,» *Journal of Nanoscience*, vol. 2017, pp. 1-15, 2017.
- [49] K. N. Thakkar, S. S. Mhatre y R. Y. Parikh, «Biological synthesis of metallic nanoparticles,» *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, vol. 6, pp. 257-262, 2010.
- [50] J. G. Treviño Rodríguez, «deChile,» enero 1998. [En línea]. Available: <https://etimologias.dechile.net/?Agave>. [Último acceso: 17 marzo 2023].
- [51] J. H. Rojas Elizalde, *Identificación y Evaluación de las propiedades Antioxidantes y Antimicrobianas de los compuestos extraídos de seis morfotipos de Agave durangensis. (Tesis de Maestría)*, Ciudad de México: Instituto Politécnico Nacional, 2017.
- [52] L. Nogales, «Agave angustifolia, el de las hojas estrechas,» 10 junio 2020. [En línea]. Available: <https://mezecologia.mx/agave-angustifolia/>. [Último acceso: 26 08 2022].
- [53] L. Nogales, «Agave angustifolia, el de las hojas estrechas [Imagen: Agave angustifolia. Foto: Santiago Barreido],» 10 junio 2020. [En línea]. Available: <https://mezecologia.mx/wp-content/uploads/2016/03/Espadi%CC%81n.png>.
- [54] Equipo editorial INTAGRI, «El cultivo del Agave azul (Agave tequilana Weber var. Azul),» 2019. [En línea]. Available: <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/el-cultivo-de-agave-azul-en-mexico>. [Último acceso: 26 agosto 2022].
- [55] Universidad Nacional Autónoma de México, «El Agave tequilana Weber no sería de Jalisco, ni el Espadín de Oaxaca. [Imagen: Agave tequilana Weber],» 28 marzo 2020. [En línea]. Available: <https://i0.wp.com/verdebandera.mx/wp-content/uploads/2020/03/2711.jpg?fit=1600%2C960&ssl=1>. [Último acceso: 28 agosto 2022].
- [56] M. L. Gutiérrez-Coronado, E. Acedo-Félix y A. I. Valenzuela-Quintanar, «Industria del bacanora y su proceso de elaboración bacanora industry and its process of production,» *CYTA-Journal of Food*, vol. 5, nº 5, pp. 394-404, 2007.

- [57] G. López Polloreña, *Capacidad Antioxidante y Antimicrobiana de extractos de hojas de Agave angustifolia Haw y su efecto sobre la calidad de hamburguesas de res. [Tesis de Maestría]*, Hermosillo: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., 2012.
- [58] S. Y. Martínez Martínez, . A. M. Arzate Fernández, M. G. González Pedroza, H. García-Núñez y E. De la Cruz Torres, «Actividad antibacteriana de nanopartículas de plata biosintetizadas a partir de extractos de tres especies de Agave para inhibir Bacillus licheniformis,» *Polibotánica*, nº 58, pp. 149-157, 2024.
- [59] J. A. Peña Pecho y D. E. Quispe Cutipa, *Tratamiento de aguas grises domésticas mediante nanopartículas de plata sintetizadas con el Agave americana L. Comas. [Tesis de licenciatura]*, Lima: FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA, 2022.
- [60] M. T. Sánchez-Vieyra, M. Ojeda-Martínez, E. Ocegüera-Contreras, S. Y. Rodríguez-Preciado, M. Díaz-Zaragoza, . B. E. Martínez-Zérega, J. L. González-Solís y D. O. Osegüera-Galindo, «Eco-friendly high-rate formation of silver nanoparticles in agave inulin and its bactericidal effect against,» *Materials Science-Poland*, vol. 41, nº 3, pp. 62-73, 2023.
- [61] F. B. Moreno-Luna, A. Tovar-Corona, J. L. Herrera-Perez, J. Santoyo-Salazar, E. Rubio-Rosas y O. Vázquez-Cuchillo, «Quick synthesis of gold nanoparticles at low temperature, by using Agave potatorum extracts,» *Materials Letters*, vol. 235, pp. 254-257, 2019.
- [62] E. J. López-Naranjo, I. P. Hernández-Rosales , A. Y. Bueno-Durán, M. L. Martínez-Aguilar, L. J. González-Ortiz, A. A. Pérez-Fonseca, J. R. Robledo-Ortiz, M. J. Sánchez-Peña y A. Manzano-Ramírez, «Biosynthesis of silver nanopaticles using a natural extract obtained from a agroindustrial residue of the tequila industry,» *Materials Letters*, vol. 213, pp. 278-281, 2018.
- [63] C. F. Villalobos, *Disminución de la materia orgánica biodegradable presente en vinazas mezcaleras mediante digestión. (Tesis de licenciatura)*, Huajuapán de León: Universidad Tecnológica de la Mixteca, 2009.
- [64] M. Verduzco-Garibay, «Biotecnología. El desafío que representan las vinazas tequileras en la agricultura,» *TecScience*, 31 enero 2025. [En línea]. Available:

<https://tecscience.tec.mx/es/divulgacion-ciencia/vinazas-tequileras/>. [Último acceso: 2025 agosto 11].

- [65] CONADESUCA, «Vinazas: Alternativas de uso,» septiembre 2016. [En línea]. Available: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/171932/Nota\\_Informativa\\_Septiembre\\_Vinazas.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/171932/Nota_Informativa_Septiembre_Vinazas.pdf). [Último acceso: 2025 agosto 11].
- [66] C. Rice-Evans, N. Miller y G. Paganga, «Antioxidant properties of phenolic compounds,» *Elsevier*, vol. 2, n° 4, pp. 152-159, 1997.
- [67] M. Martínez-Cabanas, , M. López-García, J. L. Barriada, R. Herrero y M. E. S. de Vicente, «Green synthesis of iron oxide nanoparticles. Development of magnetic hybrid materials for efficient As (V) removal,» *Elsevier*, vol. 301, pp. 83-91, 2016.
- [68] R. Abarca-Vargas y V. L. Petricevich, «Importancia biológica de los compuestos fenólicos,» *Inventio*, vol. 14, n° 34, pp. 33-38, 2021.
- [69] Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales, «NMX-AA-050-SCFI-2001: Análisis de agua. Medición de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Método de la prueba,» SEMARNAT, 2001. [En línea]. Available: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166783/NMX-AA-050-SCFI-2001.pdf>.
- [70] I. F. Benzie y J. J. Strain, «The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay,» *Analytical biochemistry*, vol. 239, n° 1, pp. 70-76, 1996.
- [71] I. F. Benzie y M. Devaki, «The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: concepts, procedures, limitations and applications,» *Measurement of antioxidant activity & capacity: Recent trends and applications*, pp. 77-106, 2018.
- [72] M. Ipohorski y P. B. Bozzano, «Microscopía electrónica de barrido en la caracterización de materiales,» *Ciencia e investigación*, vol. 63, n° 3, pp. 43-53, 2013.

- [73] Universidad de Málaga, «Microscopía Electrónica de Barrido,» Servicios Centrales de Apoyo a la Investigación, [En línea]. Available: <https://www.scai.uma.es/areas/micr/sem/sem.html>. [Último acceso: 11 febrero 2023].
- [74] L. N. d. I. d. N. y. Nanotecnología, «Microscopios Electrónicos de Barridos,» Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, 2017. [En línea]. Available: [https://linan.ipicyt.edu.mx/Microscopio\\_de\\_Barrido.html#:~:text=Espectrometr%C3%ADa%20de%20energ%C3%ADa%20dispersiva%20de,de%20la%20composici%C3%B3n%20qu%C3%ADmica%20detectada..](https://linan.ipicyt.edu.mx/Microscopio_de_Barrido.html#:~:text=Espectrometr%C3%ADa%20de%20energ%C3%ADa%20dispersiva%20de,de%20la%20composici%C3%B3n%20qu%C3%ADmica%20detectada..) [Último acceso: 11 mayo 2022].
- [75] P. Reyna, «Conoce el Microscopio Electrónico de Barrido y porque es el favorito de los investigadores. [Imagen: Microscopio Electrónico de Barrido],» 03 diciembre 202. [En línea]. Available: <https://materialesdelaboratoriohoy.us/wp-content/uploads/2020/11/Conoce-El-Microscopio-Electr%C3%B3nico-De-Barrido-Y-Por-Qu%C3%A9-Es-el-Favorito-De-Los-Investigadores-2.jpg>. [Último acceso: 9 noviembre 2022].
- [76] Universidad de Alicante, «Servicios Técnicos de Investigación,» Universidad de Alicante, 20 julio 2022. [En línea]. Available: <https://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-rayos-x/difraccion-de-rayos-x.html>. [Último acceso: 11 febrero 2022].
- [77] Laboratorio de investigaciones de nanociencias y nanotecnología, *Manual de Operación del difractor de rayos X D8 ADVANCE, BRUKER AXS [Imagen: Difracción de rayos X]*, San Luis Potosí: Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica División de Materiales Avanzados, 2021.
- [78] J. Box, «Investigation of the Folin-Ciocalteu phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters,» *Water research*, vol. 17, nº 5, pp. 511-525, 1983.
- [79] J. C. López-Romero, J. F. Ayala-Zavala, G. A. González-Aguilar, E. A. Peña-Ramos y H. González-Ríos, «Biological activities of Agave by-products and their

- possible applications in food and pharmaceuticals,» *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 98, n° 7, pp. 2461-2474, 2018.
- [80] A. E. A. Ruelas, . P. A. Calleros Domínguez, L. A. Díaz Ordaz, . J. Á. Ruíz Prieto, A. Parra Carrillo y A. M. Salas Bailón, «Propiedades fisicoquímicas, contenido de fenoles y melanoidinas en una vinaza de sotol de nombre de dios, Durango, México,» *South Florida Journal of Development*, vol. 4, n° 3, pp. 1417-1432, 2023.
- [81] M. Bermúdez-Bazán, M. Estarrón-Espinosa, G. A. Castillo-Herrera, A. Escobedo-Reyes, J. E. Urias-Silvas, E. Lugo-Cervantes y A. Gschaedler-Mathis, «Agave angustifolia Haw. Leaves as a Potential Source of Bioactive Compounds: Extraction Optimization and Extract Characterization,» *Molecules*, vol. 29, n° 5, 2024.
- [82] Y. P. Ahumada-Santos, J. Montes-Avila, M. de Jesús Uribe-Beltrán, S. P. Díaz-Camacho, G. López-Angulo, R. Vega-Aviña, J. Á. López-Valenzuela, J. B. Heredia y F. Delgado-Vargas, «Chemical characterization, antioxidant and antibacterial activities of six Agave species from Sinaloa, Mexico,» *Industrial crops and products*, vol. 49, pp. 143-149, 2013.
- [83] D. S. Oufnac, Z. Xu, T. Sun, C. Sabliov, W. Prinyawiwatkul y S. J. Godber, «Extraction of antioxidants from wheat bran using conventional solvent and microwave-assisted methods,» *Cereal Chemistry*, vol. 84, n° 2, pp. 125-129, 2007.
- [84] J. E. Carmona, T. K. Morales-Martínez, S. I. Mussatto, D. Castillo-Quiroz y L. J. Ríos-González, «Propiedades químicas, estructurales y funcionales de la lechuguilla (Agave lechuguilla Torr.),» *Revista mexicana de ciencias forestales*, vol. 8, n° 42, pp. 100-122, 2017.
- [85] C. Guo, J. Yang, J. Wei, Y. Li, J. Xu y Y. Jiang, «Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay,» *Nutrition research*, vol. 23, n° 12, pp. 1719-1726, 2003.
- [86] I. A. Hernández, F. Acevedo y A. Gálvez, «Qué nos aportan los agaves,» 25 mayo 2021. [En línea]. Available: [https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/que-nos-aportan/N\\_agaves](https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/que-nos-aportan/N_agaves). [Último acceso: 01 mayo 2025].

- [87] D. K. Bora, A. Braun, S. Erat, O. Safonova, T. Graule y E. C. Constable, «Evolution of structural properties of iron oxide nano particles during temperature treatment from 250 °C–900 °C: X-ray diffraction and Fe K-shell pre-edge X-ray absorption study,» *Elsevier BV*, vol. 12, n° 3, p. 817–825, 2012.
- [88] . M. B. Justo, L. G. Oropeza, R. S. Hernández y L. P. Negrete, «Azúcares en agaves (*Agave tequilana* Weber) cultivados en el estado de Guanajuato,» *Acta universitaria*, vol. 11, n° 1, pp. 33-38, 2001.
- [89] E. Papadopoulou, D. Moutousidis, C. Achelonoudis, S. Tsompanidis, C. Kyriakou-Tziamtzi, K. Chrissafis y D. N. Bikiaris, «Particleboards with Various Biomass Residues,» *Materials*, vol. 18, n° 11, p. 2632, 2025.
- [90] S. Saval, «Aprovechamiento de residuos agroindustriales: pasado, presente, futuro,» de *BioTecnología*, vol. 16, 2, Ed., 2012, pp. 14-46.
- [91] K. M. Gregorio-Jaúregui, J. E. Riviera-Salinas, H. Saaede-Caballero, R. López-Campos, J. L. Martínez-Hernández y A. Iliina, «Las nanopartículas magnéticas y sus multiples aplicaciones,» Saltillo, Universidad Autónoma de Coahuila, 2012, pp. 397-411.
- [92] L. Chávez Guerrero, «Uso de bagazo de la industria mezcalera como materia prima para generar energía,» *Ingenierías*, vol. 13, n° 47, pp. 8-16, 2010.
- [93] A. K. Shukla y S. Iravani, «Metallic nanoparticles: green synthesis and spectroscopic characterization,» *Environmental Chemistry Letters*, vol. 15, pp. 223-231, 2017.
- [94] A. Santos-Espinoza, F. Gutiérrez-Miceli, V. Ruíz-Valdiviezo y J. Montes-Molina, «El papel de los compuestos polifenólicos en la síntesis verde de nanopartículas metálicas,» *BioTecnología*, vol. 24, n° 2, pp. 46-57, 2020.
- [95] C. R. d. Tequila, «Continuará el trabajo coordinado para fortalecer a la agroindustria tequilera,» TEOREMA, 21 enero 2025. [En línea]. Available: <https://www.crt.org.mx/2025/03/05/continuará-el-trabajo-coordinado-para-fortalecer-a-la-agroindustria-tequilera/>. [Último acceso: 15 mayo 2025].