

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA

ESCUELA DE POSGRADO

**UNIDAD DE POSGRADO FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y
FORMALES**



**DISEÑO Y MODELAMIENTO MATEMÁTICO PARA LA SÍNTESIS
VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA – NpsAg A PARTIR DE
LA *Lepechinia meyenii*, APLICANDO LA METODOLOGÍA
SUPERFICIE RESPUESTA**

**Tesis presentada por el bachiller:
LUIS ALBERTO LAIME OVIEDO.**

**Para optar el grado académico de Maestro en
Ciencias: Gerencia en Seguridad, Calidad de
Laboratorios Analíticos y Acreditación.**

**Asesora: Dra. Corina Avelina Vera
Gonzáles.**

AREQUIPA – PERÚ

2022

*Esta tesis fue financiada por el CONCYTEC - FONDECYT, en el marco de la convocatoria:
Proyecto Investigación Básica 2019 – 01 [N° de Contrato 441-2019].*

DEDICATORIA

En memoria de mi querido padre, “Juan Laime Villegas”, quien siempre confió en mi capacidad académica y supo valorar mi esfuerzo; a mi madre Beatriz Oviedo Ch., por su apoyo incondicional, a mis hermanos, a quienes quiero y estimo mucho, y a todos mis amigos que siempre supieron darme aliento y motivación para continuar con mi formación académica y profesional.

AGRADECIMIENTOS

A Dios nuestro señor, que siempre guía y cuida nuestro sendero.

*A mi asesora la **Dra. Corina A. Vera Gonzales**, por su aporte tan valioso en nanotecnología y la oportunidad que me ofreció para desarrollar este trabajo de tesis en maestría, y también por formar parte de su equipo de investigación en LAPCINANO.*

Al Mg. Carlos Alberto Arenas Chávez, por su orientación y la revisión en la parte experimental de este trabajo de investigación y por compartir sus valiosos conocimientos.

*A CONCYTEC, por el convenio: N° 441-2019-FONDECYT, y por la subvención otorgada para la ejecución experimental de este proyecto de investigación Básica y Aplicada denominado: “Síntesis Verde de Nanopartículas de Plata Biogénicas, mediada por el extracto y fracción flavonoide de la planta medicinal peruana *Lepechinia meyenii* (Salvia) para potenciar su actividad antibacteriana y anticancerígena: Optimización del proceso de síntesis aplicando la Metodología Superficie Respuesta (MSR)”.*

Y también agradezco a la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa – UNSA, por la formación académica que me brindo, en todo este tiempo.

RESUMEN

Para el presente trabajo se propuso optimizar la biosíntesis de nanopartículas de plata NPsAg por Síntesis Verde, y obtener un modelo matemático cuadrático válido, que nos represente los datos experimentales obtenidos, usando la Metodología Superficie de Respuesta – MSR. La biosíntesis de NPsAg, fue realizada usando la Fracción Flavonoide (FF), obtenida a partir de la planta medicinal peruana *Lepechinia meyenii* – “Salvia”.

Para la obtención de las condiciones optimizadas de la biosíntesis de NPsAg, se tuvo como objetivo principal diseñar un modelo estadístico polinómico, aplicando la MSR. Por consiguiente, en la etapa I “Screening”, se empleó el Diseño Placket y Burman (P&B); para discriminar las variables no significativas y obtener un modelo estadístico multifactorial de 1er orden; en la etapa II “Escalamiento” se localizó la región óptima del proceso con el modelo lineal obtenido, y en la etapa III “Optimización Final”, se efectuó el análisis de máximos y mínimos, determinándose la curvatura del proceso, mediante un modelo estadístico de 2do orden. Las variables independientes evaluadas fueron: la velocidad de agitación (RPM), el pH, el tiempo (min), la temperatura (°C) y el volumen de FF (µL). La variable respuesta se determinó por la máxima absorbancia del barrido espectral a 411 nm, característico por la Resonancia del Plasmón de Superficie – RPS de las NPsAg. Asimismo, estas fueron caracterizados con las técnicas: Espectroscopía UV Visible (UV-VIS), Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR), Dynamic Light Scattering (DLS) y Microscopia de Barrido Electrónico (SEM).

Finalmente, la caracterización y el estudio de optimización por la MSR, determinaron que las condiciones optimizadas fueron para un pH de 9.45, Temperatura de 49.8 °C, volumen de FF de 152.6 µL y un tiempo de reacción de 213.2 min. Concluyéndose que las NPsAg biosintetizadas son de tamaño efectivo, obteniéndose un diámetro promedio de 43.71 nm, así también el proceso de biosíntesis resultó ecoeficiente, por la reducción de los iones de plata de (Ag⁺) a NPsAg (Ag⁰), gracias al efecto reductor de la Fracción Flavonoide (FF) de la especie vegetal de *Lepechinia meyenii*.

Palabras Clave: *Lepechinia meyenii*, Condiciones Óptimas, Nanopartículas de Plata - NPsAg, Metodología Superficie Respuesta - MSR, Diseño Compuesto Central – DCC

ABSTRACT

For the present work, the biosynthesis of silver **NPsAg** nanoparticles will be perfected by Green Synthesis, and a valid quadratic mathematical model will be obtained, which represents the experimental data obtained, using the Response Surface Methodology - **MSR**. The biosynthesis of NPsAg was carried out using the Flavonoid Fraction (FF), obtained from the Peruvian medicinal plant *Lepechinia meyenii* – “Salvia”.

To obtain the optimized conditions for the biosynthesis of NPsAg, the main objective was to design a statistical polynomial model, applying the MSR. Therefore, in stage I "**Screening**", the Placket and Burman Design (**P&B**) was used; to discriminate non-significant variables and obtain a 1st order multifactorial statistical model; in stage II "**Scaling**" the optimal region of the process was located with the linear model obtained, and in stage III "**Final Optimization**", the analysis of maximums and minimums was carried out, determining the curvature of the process, through a statistical model of 2nd order. The independent variables evaluated were: depression rate (RPM), pH, time (min), temperature (°C) and FF volume (μL). The variable response will be reduced by the maximum absorbance of the spectral scan at 411 nm, characteristic of the Surface Plasmon Resonance – SPR of AgNPs. Likewise, these were characterized with the following techniques: UV Visible Spectroscopy (UV-VIS), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Dynamic Light Scattering (DLS) and Scanning Electron Microscopy (SEM).

Finally, the characterization and optimization study by MSR determined that the optimized conditions were for a pH of 9.45, a temperature of 49.8 °C, a volume of FF of 152.6 μL and a reaction time of 213.2 min. Concluding that the biosynthesized AgNPs are of effective size, obtaining an average diameter of 68 nm, the biosynthesis process was also eco-efficient, due to the formation of silver ions from (Ag⁺) to AgNPs (Ag⁰), thanks to the reducing effect of the Flavonoid Fraction (FF) of the plant species of *Lepechinia meyenii*.

Keywords: *Lepechinia meyenii*, Optimal Conditions, Silver Nanoparticles - AgNPs, Response Surface Methodology - RSM, Central Composite Design - CCD.

INDICE GENERAL

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	III
ABSTRACT.....	IV
INDICE DE TABLAS	X
INDICE DE FIGURAS.....	XII
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
GENERALIDADES DEL PROYECTO	3
1.1. Planteamiento del Problema	¡Error! Marcador no definido.
1.2. Justificación	¡Error! Marcador no definido.
1.3. Objetivos del Proyecto de Investigación.....	¡Error! Marcador no definido.
1.3.1. Objetivo Principal	¡Error! Marcador no definido.
1.3.2. Objetivos Especificos	¡Error! Marcador no definido.
1.4. Hipótesis	¡Error! Marcador no definido.
1.5. Tipo de Investigación.....	¡Error! Marcador no definido.
1.6. Ámbito de Estudio	¡Error! Marcador no definido.
1.7. Area de Trabajo.....	¡Error! Marcador no definido.
CAPÍTULO II.....	6
MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Nanopartículas Metálicas.....	6
2.2. Biosíntesis de Nanopartículas de Plata (AgNPs).....	7
2.3. Espectrofotometria UV – Visible (UV – VIS).....	9
2.3.1. Ley de Lambert-Beer	10
2.3.2. Resonancia del Plasmón Superficial (RPS)	11
2.4. Espectrofotometria Infrarroja con Transformada de Fourier – FT-IR.....	14
2.4.1. Reflectancia Total Atenuada (ATR)	14
2.5. Dispersión de Luz Dinamica – DLS	15
2.5.1. Fórmula de Cálculo del Tamaño de Partículas - DLS	17
2.6. Microscopía de Barrido Electrónico FEM-SEM	17
2.7. Metodología de Superficie Respuesta (Msr).....	18

2.7.1. Etapas de la MSR.....	18
2.7.2. Modelos Estadísticos de Primer y Segundo Orden.....	18
2.7.3. Diseño Factorial Plackett & Burman (PB).....	19
2.7.3.1. Procedimiento para la construcción de los diseños Plackett-Burman	19
2.7.4. Diseño Compuesto Central (DCC)	21
CAPÍTULO III.....	24
METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	24
3.1. Equipos, Materiales Y Reactivos	24
3.1.1. Equipos Instrumentales.....	24
3.1.2. Materiales de Laboratorio	25
3.1.3. Reactivos e Insumos	25
3.2. Biosíntesis de las Nanopartículas de Plata.....	26
3.3. Caracterización de las AgNPs Biosintetizadas	27
3.3.1. Espectrofotometría UV-Visible	27
3.3.2. Espectrofotometría FT-IR.....	28
3.3.3. Dinamic Ligth Scatering (DLS).....	29
3.3.4. Microscopía Electrónica de Barrido SEM-FEM.....	29
3.4. Optimización Mediante La Metodología Superficie Respuesta (MSR)	29
3.4.1. Screening	31
3.4.2. Escalamiento.....	31
3.4.3. Optimización Final	32
CAPÍTULO IV.....	34
RESULTADOS EXPERIMENTALES	34
4.1. Biosíntesis de Nanopartículas de Plata (AgNPs).....	34
4.2. Espectrofotometría UV-Visible (UV -VIS).....	35
4.2.1. Resultados Experimentales UV – VIS para los Ensayos Preliminares.....	35
4.2.2. Resultados Experimentales UV-VIS para el diseño Plackett Y Burman (P&B)	41
4.2.3. Resultados Experimentales UV-VIS para Diseño Compuesto Central – DCC	42
4.3. Espectrofotometría FT-IR.....	43
4.4. Dynamic Ligth Scatering – DLS.....	45
4.5. Microscopía de Barrido Electrónico FE-SEM.....	47
4.5.1. Análisis Morfológico	47
4.5.2. Análisis Composicional	47

4.6. Optimización Del Proceso De Biosíntesis Usando La MSR	49
4.6.1. Etapa I: Screening - Análisis de Regresión Lineal Multiple	49
4.6.1.1. Identificación de las Variables del Proceso de Biosíntesis de AgNPs	49
4.6.1.2. Planificación y Diseño Experimental DOE – DFF P&B	49
4.6.1.3. Análisis de Significancia de las Variables Independientes	52
A. Cálculo de Efectos de las Variables.....	52
4.6.1.4. Análisis de Varianza y Evaluación de Sig. de las Variables Independientes.	54
A. Cálculo de la Suma de Cuadrados de los Efectos (SCE).....	54
B. Cálculo de la Media de la Suma de Cuadrados (MSC _{EFFECTOS}).....	55
C. Cálculo de la Suma de Cuadrados del Error (SC _E).....	56
D. Cálculo de la Media de la Suma de Cuadrados del Error (MSC _E)	56
E. Análisis de Significancia de las Variables Mediante el Test De Fisher “F”.....	57
4.6.1.5. Representación del Modelo Estadístico Multifactorial de Primer Orden.....	59
4.6.1.6. Análisis de Residuales y Validación de Modelo Estadístico Lineal Múlt 59	59
4.6.1.7. Representación Gráfica del Modelo Estadístico Lineal Multiple	62
4.6.2. Etapa II: Escalamiento – Búsqueda I.....	75
4.6.2.1. Recorrido Experimental	75
A. Cálculo del Centro del Diseño (ZJO)	75
B. Cálculo del Radio del Diseño (ΔZ_j)	76
C. Cálculo de la Dirección de Ascenso a la Región Óptima. ($bj\Delta Z_j$).....	76
D. Cálculo del Paso Ascendente (ϵk)	77
4.6.2.2. Planificación Experimental	78
4.6.3. Etapa III: Optimización Final	80
4.6.3.1. Consideraciones Experimentales del Diseño e Identificación de las Var	80
4.6.3.2. Diseño Compuesto Central – DCC	81
4.6.3.3. Análisis de Varianza y Evaluación de los Efectos Significativos de Vari	89
A. Cálculo de Significancia de los coeficientes del Modelo	89
B. Cálculo de la Suma de Cuadrados del Error (S _{error})	89
C. Cálculo de los Grados de Libertad.....	89
D. Cálculo de la Media de la Suma de Cuadrados del Error (M _{error})	90
E. Cálculo de Desviación Standard (Se)	90
F. Elementos de la Diagonal de la Matriz Correlación (C _j).....	90
G. Test de Significancia T – Student	91
4.6.3.4. Estimación de Modelo Matemático Multifactorial de Segundo Orden.....	93
4.6.3.5. Análisis de Residuales y Ajuste del Modelo Cuadrático	93

A.	Cálculo de la Suma de Cuadrados de Residuales (SS_{residual})	93
B.	Cálculo de la Media de Cuadrados del Residual (SM_{residual})	93
C.	Cálculo de la Suma de Cuadrados del Error Experimental (SS_{error})	94
D.	Cálculo de la Suma de Cuadrados de la Falta de Ajuste ($SS_{\text{f.A.}}$)	94
E.	Cálculo de la Media de Cuadrados de la Falta de Ajuste ($SS_{\text{f.A.}}$).....	94
F.	Test de Significancia F - Fisher	94
4.6.3.6.	Representación Gráfica del Modelo Cuadrático	97
A.	Efecto del pH (X_2) y Temperatura °C (X_3).....	98
B.	Efecto de la Temperatura (X_3) y el Volumen de F. Flavonoide (X_4)	102
C.	Efecto de la Temperatura (X_3) y el Tiempo de Reacción (X_5)	107
D.	Efecto del Volumen de FF (X_4) y el Tiempo de Síntesis (X_5).....	112
4.6.3.7.	Decodificación de los Parámetros del Modelo Matemático.....	122
A.	Modelo Estadístico Codificado:.....	122
B.	Modelo Estadístico Decodificado:.....	123
4.6.3.8.	Análisis de Máximos, Mínimos y Condiciones Óptimas.....	125
A.	Criterio de la Determinante de la Matriz Hessiana	125
4.6.3.9.	Condiciones Óptimas	128
A.	Maximizando con el Criterio de las Derivadas Parciales	128
B.	Minimizando con el Criterio de la Segunda Derivada.....	129
4.6.3.10.	Solución Óptima.....	130
CAPÍTULO V		131
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS		131
5.1.	Biosíntesis de las AgNPs con la F. Flavonoide	131
5.2.	Caracterización de las AgNPs Biosíntetizadas	133
5.2.1.	Análisis de Espectroscopia UV-Visible (UV-VIS)	133
5.2.2.	Análisis de Espectroscopía Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)	133
5.2.2.1.	Región 3600 a 3000 cm^{-1}	134
5.2.2.2.	Región 3100 a 2300 cm^{-1}	134
5.2.2.3.	Región 2300 a 1200 cm^{-1}	135
5.2.2.4.	Región 1200 a 500 cm^{-1}	136
5.3.	Optimización aplicando Diseño Experimental y la MSR	136
5.3.1.	Análisis de Regresión Lineal Multifactorial del Diseño Factorial P&B	136
5.3.1.1.	Análisis de Varianza (ANOVA) y Evaluación de Significancia.....	136
5.3.1.2.	Análisis de Residuales y Validación del Modelo Lineal.....	137

5.3.2. Analisis de Regresión Cuadrática Multiple para el DCC	138
5.3.2.1. Análisis de Varianza (ANOVA) y Significancia de los Parámetros	138
5.3.2.2. Análisis de Residuales y Validación del Modelo No Lineal	139
5.4. Condiciones de Máximos y Mínimos y Solución Óptima	140
CONCLUSIONES.....	141
REFERENCIAS	143
ANEXO I.....	151
ANEXO II	160

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Regiones del Espectro UV – VISIBLE.....	9
Tabla 2. Puntos Axiales del DCC	23
Tabla 3. Identificación de las Variables del Proceso de Biosíntesis de NPsAg.	31
Tabla 4. Codificación de las Variables Identificadas del Proceso de Biosíntesis de NPsAg ..	49
Tabla 5. Indicadores de Nivel, Diseño y Planificación Experimental Predeterminado P&B ..	51
Tabla 6. Cálculo de efectos de las variables.	52
Tabla 7. Diseño Factorial Fraccionado P&B y Efecto de Variables.....	53
Tabla 8. Cálculo de Suma de Cuadrados para los Efectos.....	55
Tabla 9. Cálculo de la Media de la Suma de Cuadrados de los Efectos	55
Tabla 10. Cálculo de la Suma de Cuadrados del Error	56
Tabla 11. Cálculo del Estadístico Fisher F_0	57
Tabla 12. Análisis de Varianza y Significancia de las Variables Independientes del	58
Tabla 13 Análisis de Residuales y Validación del Modelo Estadístico Lineal Multifactorial	60
Tabla 14. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta Estimada del Modelo	63
Tabla 15. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta Estimada del Modelo	66
Tabla 16. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico	69
Tabla 17. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico	72
Tabla 18. Cálculo del Radio y Centro del Diseño y Pasos ascendentes.	78
Tabla 19. Método Pendiente Ascendente - Recorridos Experimentales.....	79
Tabla 20. Variables de Efectos Significativos para el DCC.	81
Tabla 21. Matriz del Diseño Compuesto Central – DCC a escala codificada y escala natu ...	82
Tabla 22. Matriz del diseño compuesto central – DCC clasificados por puntos factoriales. ..	83
Tabla 23. Test T-Student para el análisis de significancia de los coeficientes del modelo.	91
Tabla 24. Análisis de varianza y significancia de las variables independientes del proceso...	92
Tabla 25. Análisis de residuales y validación del modelo estadístico cuadrático multifact ..	95
Tabla 26. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta Estimada del Modelo	99
Tabla 27. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico	104
Tabla 28. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico	109
Tabla 29. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico ...	113
Tabla 30. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico	116
Tabla 31. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico	119
Tabla 32. Variables significativas del modelo con centro (Z_0) y radio del diseño(ΔZ_j).....	122
Tabla 33. Criterio de Máximos y Mínimos.....	127

Tabla 34. Criterio de Modelo de Curvatura 127

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Región UV – VIS del Espectro Electromagnético	11
Figura 2. Efecto de la Resonancia Plasmónica de Superficie de una NP metálica	12
Figura 3. Suspensión Coloidal de AgNPs de diversos tamaños	13
Figura 4. Haz IR pasando a través del cristal ATR reflejándose en la interfaz	15
Figura 5. Principio Funcional del DLS	16
Figura 6. Representación y construcción de los DCC	22
Figura 7. Calibración del Multiparámetro	27
Figura 8. Etapas del Proceso de Optimización Aplicando la MSR	33
Figura 9. Biosíntesis de NPsAg con fracción flavonoide de <i>L.meyenii</i>	34
Figura 10. Experimento 1_Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con FF de <i>L.meyeni</i> ..	35
Figura 11. Experimento 2_Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con FF de <i>L.meyeni</i> .	36
Figura 12. Experimento 3_Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con FF de <i>L.meyeni</i> ..	37
Figura 13. Experimento 4_Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con FF de <i>L.meyeni</i> ..	38
Figura 14. Experimento 5_Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con FF de <i>L.meyeni</i> ..	39
Figura 15. Experimento 6_Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con FF de <i>L.meyeni</i> ..	39
Figura 16. Experimento 7_Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con FF de <i>L.meyeni</i> ..	40
Figura 17. Experimento 8_Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con FF de <i>L.meyeni</i> ..	40
Figura 18. Barrido Espectral UV-VIS de Máxima Absorbancia para la Biosíntesis de	41
Figura 19. Muestras analizadas por espectrofotometría UV – VIS para P&B	41
Figura 20. Coloración de las Muestras analizadas por UV – VIS	42
Figura 21. Barrido Espectral UV – VIS de Máxima Absorbancia para la Biosíntesis de .	42
Figura 22. Espectro Infrarrojo para la FF y las NPs Ag con FF de la Especie Vegetal de.....	44
Figura 23. Diámetro Hidrodinámico de NPsAg usando la FF de la Especie Vegetal	45
Figura 24. Diámetro Hidrodinámico de NPsAg Usando la FF de la Especie Vegetal.	46
Figura 25. Muestra de AgNPs Filtrada por 0.22 μm para DLS	46
Figura 26. Micrografía del coloide de AgNPs con tamaños menores a 60 nm	47
Figura 27. Zona de Análisis para la identificación por EDS	48
Figura 28. Análisis de cuantificación por EDS.....	48
Figura 29. Ajuste de los Datos Experimentales y Estimados de Absorbancias (411nm)	61
Figura 30. Análisis de Residuales y Error Experimental del Ajuste de Datos de Absorb	61
Figura 31. Ajuste y Correlación de Datos para el Modelo Lineal Múltiple para la Biosín	62
Figura 32. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis	64
Figura 33. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Bios	64

Figura 34. Superficie de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de ...	65
Figura 35. Malla de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPs ..	65
Figura 36. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de ...	67
Figura 37. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Bios ...	67
Figura 38. Superficie de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de ...	68
Figura 39. Malla de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPs ..	68
Figura 40. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de ..	70
Figura 41. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Bios ...	70
Figura 42. Superficie de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de ...	71
Figura 43. Malla de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPs ..	71
Figura 44. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de ...	73
Figura 45. Malla de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPs ..	73
Figura 46. Superficie de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de ...	74
Figura 47. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Bios ...	74
Figura 48. Ajuste de los Datos Experimentales y Estimados, para el Modelo Cuadrático.....	96
Figura 49. Análisis de Residuales y Error Experimental para el Modelo Cuadrático Mult. ...	96
Figura 50. Bondad de Ajuste de Datos para el Modelo Cuadrático Multifactorial de la Bio ..	97
Figura 51. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la	100
Figura 52. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial.....	100
Figura 53. Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la	101
Figura 54. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial	101
Figura 55. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la.....	105
Figura 56. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial.....	105
Figura 57. Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la	106
Figura 58. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial	106
Figura 59. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la.....	110
Figura 60. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial.....	110
Figura 61. Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la	111
Figura 62. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial	111
Figura 63. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la.....	114
Figura 64. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial.....	114
Figura 65. Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la	115
Figura 66. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial	115
Figura 67. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la.....	117
Figura 68. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial.....	117

Figura 69. Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la	118
Figura 70. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial	118
Figura 71. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la.....	120
Figura 72. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial.....	120
Figura 73. Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la	121
Figura 74. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial	121

INTRODUCCIÓN

Debido a que los extractos vegetales contienen fitoquímicos tales como terpenoides, flavonoides, taninos, derivados de fenol, enzimas de plantas, proteínas y azúcares reductores; estos fitoquímicos actúan en la reducción de los iones metálicos provenientes de las sales precursoras, así también actúan como agentes de protección requerido para la síntesis y estabilización de las nanopartículas NPs (Upadhyay et al, 2018).

La utilización de las plantas, no sólo influye en la morfología y la estabilidad de las nanopartículas, sino también mejora sus propiedades biológicas; por lo que, producir nanopartículas, por métodos de síntesis verde usando extractos preparados a partir de plantas, ha ganado considerable importancia en las aplicaciones biomédicas. También estudios recientes demuestran que las nanopartículas, principalmente la NPsAg, son ampliamente utilizados como agentes antimicrobianos, antioxidantes y demás otras aplicaciones como en la industria alimentaria (Guntur et al, 2018).

Las plantas son una fuente económica y no tóxica para la biosíntesis de NPsAg y tienen el potencial para el escalamiento en la producción de nanopartículas con diferentes características morfológicas y de tamaño. Por consiguiente, se han desarrollado métodos por química verde para la biosíntesis de NPsAg, usando el extracto acuoso de diversas especies vegetales, estas nanopartículas sintetizadas con agentes reductores biológicos se han logrado obtener con un tamaño promedio muy considerable, por ejemplo algunos trabajos han reportado tamaños promedio satisfactorios como $19,65 \pm 13,49$ (nm), con formas esféricas definidas, evaluándose como estas biomoléculas pueden tener un papel importante en la formación y estabilización de NPsAg. El ensayo de barrido de radicales para el extracto y las NPsAg sintetizadas, mostró buenos resultados en comparación con otros agentes reductores como el butilhidroxitolueno BHT o el borohidruro de sodio NaBH_4 como un reductor químico (Kashkouli et al, 2018).

La optimización es uno de los pasos críticos en el desarrollo de un protocolo de síntesis, la evaluación en la interacción de los parámetros de reacción que influyen en la biosíntesis de NPsAg y su optimización son necesarias para la eficiente reducción del ion metálico como plata (Ag^+) a nanopartículas de plata (Ag^0), usando diferentes biorreductores. Los reportes de optimización son más comunes para los métodos de síntesis físicos y químicos de

nanopartículas; sin embargo, existe poca información respecto a la optimización del proceso por métodos de síntesis verde para NPsAg, haciendo uso de principios activos o metabolitos secundarios de plantas. Los efectos combinados de todos los factores que influyen en un proceso pueden ser explicados con la metodología superficie respuesta (MSR). Asimismo, la herramienta de optimización MSR se utiliza para predecir los niveles óptimos de cada parámetro y sus valores de respuesta correspondientes; además, la metodología superficie respuesta (MSR), utiliza un diseño experimental denominado CCD (Diseño compuesto central) para obtener una ecuación polinómica representativa de los datos experimentales y describir el comportamiento de los parámetros aplicando un análisis de varianza para la adecuación del modelo (Saha et al, 2016).

En esta tesis se plantea optimizar los parámetros de biosíntesis de NPsAg, utilizando la MRS y el DCC, para obtener un modelo matemático de 2do orden que sea representativo de los datos experimentales en la síntesis de NPsAg, usando la Fracción Flavonoide (FF), obtenida a partir de la planta medicinal peruana *Lepechinia meyenii* – “Salvia”. Además, el modelo permitirá obtener resultados predictivos, respecto de las regiones óptimas localizadas por la MSR, mediante el análisis de varianza (ANOVA), el análisis de residuales, la validación del modelo y los gráficos de superficie de respuesta 3D.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES DEL PROYECTO

GENERALIDADES DEL PROYECTO

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen pocos trabajos y estudios de investigación desarrollados para la optimización de las condiciones máximas y mínimas en la biosíntesis de NPsAg; esto con respecto a la evaluación de los efectos significativos en los factores independientes de mayor influencia hacia la variable respuesta, tales como: velocidad de agitación (RPM), potencial de hidrógeno (pH), temperatura de síntesis (°C), volumen de FF (μL) y tiempo de reacción (min). Asimismo, sabiendo que la significancia de estas variables se implica directamente en la efectividad de la biosíntesis, resulta necesario encontrar el grado de correlatividad de las variables en función de su factor de respuesta experimental o “Criterio de Optimización”. Por consiguiente, la búsqueda y localización de la solución óptima requiere aplicar una herramienta metodológica eficaz para validar los resultados experimentales mediante un modelo matemático que sea representativo de dichos datos, esta metodología aplicada es denominada como Metodología Superficie de Respuesta (MSR), que usa distintas herramientas matemáticas y estadísticas para representar gráfica y numéricamente los datos estimados y predictivos.

1.2. JUSTIFICACIÓN

Un método de síntesis verde de NPsAg, está representado por ser un método eco - amigable, no tóxico, económico, eficiente y reproducible; por lo tanto, los motivos que nos llevan a estudiar el efecto de las distintas variables identificadas sobre la variable de respuesta, se centran en conocer principalmente cuál es el efecto significativo de los agentes biorreductores (flavonoides) en la formación de NPsAg, que fueron obtenidas a partir del extracto total de la planta medicinal peruana *Lepechinia meyenii*. Por lo tanto, resulta muy importante determinar los parámetros de control para identificar la influencia significativa de las variables, en relación a su efecto estadístico de tipo lineal, cuadrática o interactivo, que es representado mediante una ecuación polinómica (no lineal) para un proceso multifactorial. De esta forma pretendemos representar el efecto de las variables significativas sobre el criterio de optimización (variable respuesta), así como generar un modelo matemático que represente

satisfactoriamente los resultados experimentales para predecir la solución óptima del proceso.

1.3. OBJETIVOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

1.3.1. OBJETIVO PRINCIPAL

Obtener un diseño y modelo matemático representativo para el proceso de biosíntesis de NPsAg, mediada por agentes biorreductores de la planta medicinal peruana *Lepechinia Meyenii* (Salvia), aplicando la Metodología Superficie Respuesta (MSR).

1.3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Sintetizar Nanopartículas de plata, evaluando el efecto significativo de las variables: pH, volumen de FF, velocidad de agitación, tiempo de reacción y temperatura de síntesis, aplicando un diseño experimental.
2. Caracterizar las nanopartículas de plata (NPsAg) obtenidas por síntesis verde, mediante técnicas instrumentales como: Espectrofotometría UV-VIS, Espectrofotometría FT-IR, Dynamic Light Scattering DLS y Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).
3. Evaluar los parámetros estadísticos del proceso, aplicando la Metodología Superficie Respuesta (MSR), para la determinación del efecto significativo de las variables de síntesis.
4. Diseñar una ecuación matemática estimada de segundo orden, que represente adecuadamente los datos experimentales de la síntesis verde de NPsAg, para un proceso multifactorial.

1.4. HIPÓTESIS.

Se logrará diseñar un modelo matemático representativo de los datos experimentales del proceso de síntesis verde de nanopartículas de plata, utilizando la metodología superficie respuesta como estrategia de análisis de los resultados.

1.5. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Investigación experimental y aplicada.

1.6. ÁMBITO DE ESTUDIO (Según OCDE)

- ✓ Área de conocimiento: Ingeniería y Tecnología
- ✓ Sub – Área: Nano - Tecnología
- ✓ Disciplina: Nano – materiales.

1.7. ÁREA DE TRABAJO

El trabajo se ha desarrollado en el Laboratorio de Preparación, Caracterización e Identificación de Nanomateriales – LAPCINANO, del departamento de Química, laboratorio 304, de la Facultad de Ciencias Naturales y Formales – FCNF – Universidad Nacional de San Agustín - UNSA.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Las nanopartículas metálicas son agregados aislados de átomos de metales rodeados de una cápsula protectora o estabilizadora que evita su aglomeración, presentan un tamaño entre 1 y 100 nm. De acuerdo a la disminución del tamaño, el radio entre el área de superficie y el volumen se incrementa en forma muy importante, lo que lleva a modificaciones significativas en sus propiedades ópticas, electrónicas, catalíticas, magnéticas, etc, que difieren significativamente de aquellas presentes a mayor escala (Cardoso, 2016). Asimismo, dichas propiedades están fuertemente relacionadas con el tamaño, forma, composición, cristalinidad y estructura de las nanopartículas (Panigrahi et al, 2006).

Las nanopartículas de plata proporcionan una alta energía superficial, lo que promueve la reactividad superficial (p.ej., adsorción, catálisis). Una propiedad única de las nanopartículas de plata incluye su utilización en fluorescencia y resonancia de plasmones superficiales.(SPR). Este fenómeno SPR se origina a partir de las oscilaciones coherentes de los electrones ligados a la superficie, que son inducidos por la excitación de ondas electromagnéticas (Pandey et al, 2012; Chang et al, 2012). La mejora de la SPR de las AgNPs, se puede utilizar para mejorar la intensidad o la sensibilidad de la señal en muchas aplicaciones de espectroscopia, como la espectroscopia de fluorescencia (Khatua et al, 2014), y la espectroscopia Raman mejorada en superficie (SERS) (Jiang et al, 2018).

Durante las últimas décadas, ha habido un mayor énfasis en la síntesis de nanopartículas metálicas y puntos cuánticos (Singh Mehata et al, 2010), debido a sus propiedades ópticas y eléctricas únicas. La resonancia de plasmones superficiales (SPR) que exhiben las nanopartículas metálicas, es una de sus características más importantes y las hace únicas con estas propiedades ópticas. Las nanopartículas metálicas demostraron ser muy eficientes y útiles en el campo de la electrónica, la fotónica y la medicina (lu & Lieber, 2007; Shen et al, 2000; Cohen-Karni et al, 2012). Las propiedades de las nanopartículas metálicas varían según su tamaño, forma y morfología (Khlebtsov et al, 2005).

2.2. BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AgNPs)

Los productos químicos utilizados para la síntesis y estabilización de AgNP son tóxicos, costosos y a menudo, generan subproductos no ecológicos. Recientemente, los métodos biológicos proporcionan una mejor plataforma como alternativa para la síntesis de AgNPs (Khan & Javed, 2021). El enfoque de síntesis verde es el que tiene más ventajas sobre el método químico y físico, ya que es rentable, ecológico y fácil de ampliar para la síntesis a gran escala sin aplicar energía, alta presión, temperatura y productos químicos tóxicos (Mohanta et al, 2017). Hoy en día, existe un interés creciente por utilizar rutas de síntesis económicas, respetuosas con el medio ambiente y ecológicas que utilicen productos químicos no tóxicos en el protocolo de síntesis de AgNP. La síntesis verde es una alternativa de síntesis para AgNP, utilizando varios microorganismos, plantas y algas; es un método natural, biocompatible y ambientalmente seguro. El uso de materiales vegetales puede ser más beneficioso para la síntesis de AgNPs que los métodos bacterianos y químicos debido a que no hay amenaza de contaminación bacteriana y química peligrosa, y a una menor utilización de energía con mayores implicaciones y facilidad (Masum et al, 2019).

Las biomoléculas como flavonoides, cetonas, aldehídos, taninos, ácidos carboxílicos, fenólicos y la proteína de los extractos vegetales son responsables de la producción de AgNPs al reducir $\text{Ag}(+1)$ a $\text{Ag}(0)$ (Vanlalveni et al, 2021). Las AgNPs biosintetizadas exhiben diferentes tamaños, formas y morfología. Todas estas propiedades están fuertemente influenciadas bajo diferentes condiciones experimentales como la temperatura, el pH, la cinética de interacción entre las sales metálicas, los agentes reductores, la naturaleza y la adsorción de los agentes de protección. Las propiedades de AgNPs dependen de su tamaño, forma y morfología (Khan & Javed, 2021) (Jainista & Mehata, 2017). Como resultado, diseñar un proceso que controle el tamaño, la forma, la estabilidad y las propiedades fisicoquímicas es actualmente la parte más importante de una investigación en la síntesis de nanopartículas (Shah et al, 2015). La síntesis de nanopartículas de plata utilizando fitoquímicos vegetales implica tres pasos. En primer lugar, los átomos de Ag se forman por oxidación de Ag^{+1} por agentes reductores (extracto vegetal), los átomos de Ag se nuclean para formar AgNPs. En segundo lugar, las AgNPs crecen hasta hacerse más grandes junto con la reducción superficial de cualquier ion Ag^{+} , eso da como resultado la formación de átomos de Ag. En tercer lugar, se produce la estabilización electrostática para controlar el tamaño de las AgNPs. Ocurre por la adsorción de un exceso de iones de agentes reductores cargados

negativamente en la superficie de las AgNPs formadas (Masum et al, 2019).

A lo largo de los años, se utilizaron diferentes tipos de extractos de plantas como agentes reductores para la biosíntesis de nanopartículas de plata. Uno de los primeros trabajos de biosíntesis mediada por plantas de AgNP fue realizado por Shankar et al (2008) con extracto de hoja de geranio (*Pelargonium graveolens*) como agente reductor. Informaron un tiempo de formación corto de NPs con respecto a trabajos de investigación anteriores. Ankamwar et al., informó sobre la rápida reducción y la formación estable de AgNPs mediante el uso de extractos de fruta de amla (*Emblica officinalis*). En otro estudio de investigación desarrollado por Chandran et al (2008), usaron el extracto de la planta de aloe vera y fue utilizado como biorreductor para sintetizar AgNPs en presencia de amoníaco. Afirmaron la razón probable de la forma esférica de las AgNP sintetizadas.

El extracto de callos de papaya (*Carica papaya*) fue utilizado por Mude et al (2009) para sintetizar AgNPs, demostraron la rápida síntesis de AgNPs en el rango de 60 a 80 nm. Por otro lado, Renuka et al (2020), informó un efecto antimicrobiano significativo en su trabajo de investigación. En este estudio, el extracto metanólico de la fruta *Phyllanthus emblica* se ha utilizado para la investigación de la biosíntesis de AgNPs en lugar de los extractos acuosos ampliamente utilizados.

Aunque el mecanismo exacto de biosíntesis de nanopartículas por varios extractos de plantas es ambiguo; se ha propuesto que las biomoléculas en extractos de plantas como proteínas, fenol y flavonoides juegan un papel importante en la reducción de iones metálicos y en la protección de las nanopartículas biosintetizadas (Pirtarighat et al, 2018). De acuerdo con los estudios previos, el mecanismo de biorreducción se puede dividir en tres pasos principales: (1) reducción y nucleación de iones de plata, (2) paso de crecimiento y agregación, y (3) protección y estabilización en el paso terminal. El papel crucial siempre lo juegan los fitoquímicos de la planta, es decir, los metabolitos secundarios como: azúcares, polifenoles, proteínas, ácidos fenólicos, cetonas, terpenoides, amidas, etc. Además, en la mayoría de los casos, un agente reductor del extracto de la planta juega un papel como agente protector y estabilizador (Salayová et al, 2021).

2.3. ESPECTROFOTOMETRIA UV – VISIBLE (UV – VIS)

La región UV se define como el rango de longitudes de onda de 195 a 400 nm es una región de energía muy alta, por lo que es muy importante para la determinación cualitativa y cuantitativa de compuestos orgánicos. En la región VIS apreciamos el color visible de una solución y que corresponde a las longitudes de onda de luz (λ) que transmite, no que absorbe. El color que absorbe es el complementario del color que transmite (Skoog & Holler, 1998), (Ver tabla 1).

La espectroscopia UV-VIS utiliza la radiación del espectro electromagnético, cuya longitud de onda está comprendida entre los 200 y los 800 nm (energía comprendida entre las 286 y 36 Kcal mol⁻¹), y su efecto sobre la materia es producir transiciones electrónicas entre los orbitales atómicos y/o moleculares de la sustancia (McMurry, 2008). En consecuencia, la espectroscopía describe la interacción entre la radiación (principalmente la electromagnética) y la materia. Toda radiación electromagnética viene caracterizada por una longitud de onda (λ), una frecuencia (ν) o una energía (E); la relación existente entre ellas está dada por la ecuación de Planck (Castro de Esparza et al, 2009).

Tabla 1. Regiones del Espectro UV – VISIBLE

Rango de Longitudes de Onda (λ) (nm)	Color Absorbido	Color Transmitido (Observado)
100 - 190	Ultravioleta del vacío	Ninguno
190 – 380	Ultravioleta cercano	Ninguno
380 – 435	Violeta	Amarillo - Verde
435 - 480	Azul	Amarillo
480 - 500	Verde - Azul	Naranja - Rojo
500 - 560	Verde	Púrpura
560 - 580	Amarillo - Verde	Violeta
580 - 595	Amarillo	Azul
595 – 650	Naranja	Verde - Azul
650 - 780	Rojo	Azul - Verde

Fuente: (Skoog et al, 1998).

La transmitancia (T) de una sustancia en solución es la relación entre la cantidad de luz

transmitida que llega al detector una vez que ha atravesado la muestra, I_t y la cantidad de luz que incidió sobre ella, I_0 y se representa normalmente en tanto por ciento:

$$\% T = \frac{I_t}{I_0} \times 100 \quad (2.1)$$

La absorbancia (A) es un concepto más relacionado con la muestra puesto que nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma, y se define como el logaritmo de $1/T$, en consecuencia:

$$A = \log \frac{1}{T} = -\log T = -\log \frac{I_t}{I_0} \quad (2.2)$$

Cuando la intensidad incidente y transmitida son iguales ($I_0 = I_t$), la transmitancia es del 100 % e indica que la muestra no absorbe a una determinada longitud de onda, y entonces A vale $\log 1 = 0$.

2.3.1. LEY DE LAMBERT-BEER

Esta ley expresa la relación entre una disolución que contiene una especie absorbente y un haz de radiación monocromática de una determinada longitud de onda:

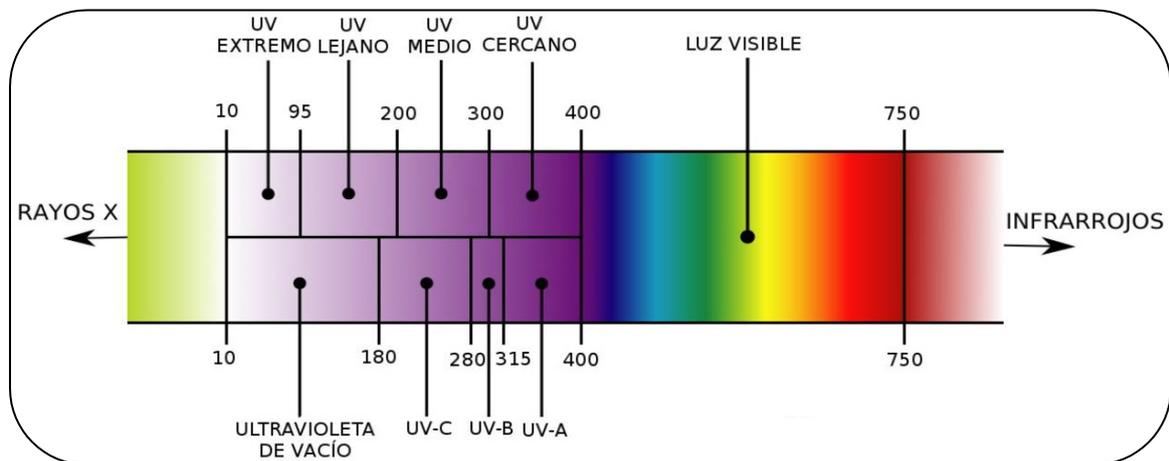
$$A = -\log \frac{I_t}{I_0} = \epsilon bc \quad (2.3)$$

La ley de Lambert – Beer es fundamental en análisis cuantitativo al relacionar la absorbancia con la concentración. La constante recibe el nombre de absorptividad molar (ϵ), cuando la concentración (c), se expresa en moles/litro y el camino óptico, (b), en centímetros. La absorptividad es una propiedad característica de la sustancia absorbente y depende de la longitud de onda. Por ello, para aplicar esta ley debe seleccionarse una determinada longitud de onda, y para este propósito se utiliza el espectro de absorción, que indica la variación de la absorbancia con la longitud de onda (Hernandez & Gonzáles, 2002).

La espectroscopía UV-VIS es una espectroscopia de emisión de fotones, la cual utiliza radiación electromagnética (luz) de las regiones visible, ultravioleta cercana (UV) e infrarroja cercana (NIR) del espectro electromagnético (es decir una longitud de onda entre 380nm y

780nm). La radiación absorbida desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas. La espectroscopia UV-Vis es una técnica importante para identificar cualitativamente la formación de AgNPs, mediante el seguimiento de las propiedades ópticas y la estructura electrónica de las nanopartículas sintetizadas. La nube de electrones de una nanopartícula (NP) puede oscilar en la superficie de la NP, que absorbe ondas electromagnéticas a una frecuencia particular. Este fenómeno se denomina resonancia de plasmón de superficie (RPS) y se registra como longitudes de onda electromagnéticas mediante espectrofotometría UV-VIS. Según, Mat Yusuf et al (2020) la formación de AgNPs se controla midiendo la reducción de iones de plata con un espectrofotómetro UV-VIS. La absorbancia de la muestra se mide entre 300 y 650 nm después de la síntesis (reducción de la plata).

Figura 1. Región UV – VIS del Espectro Electromagnético

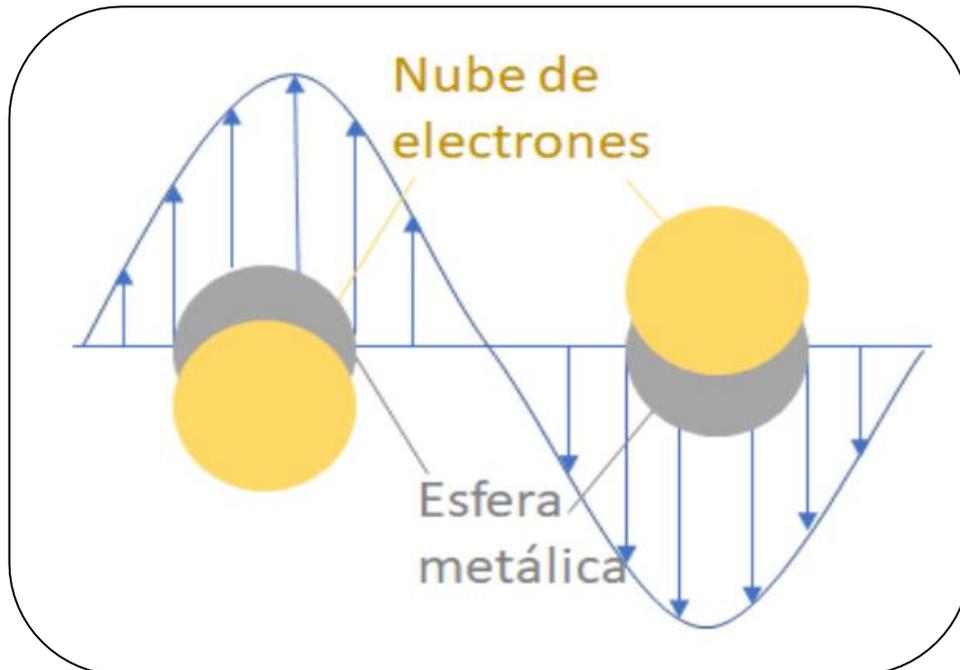


2.3.2. RESONANCIA DEL PLASMÓN SUPERFICIAL (SPR)

La excitación de los plasmones superficiales de nanoestructuras metálicas mediante luz es conocida como resonancia de plasmones superficiales (RPS). La presencia de electrones libres en la banda de conducción de la superficie de las nanopartículas metálicas que reciben un haz de luz incidente, induce una excitación colectiva de estos electrones libres, como consecuencia de la fuerte interacción con la luz incidente; se produce una oscilación coherente deslocalizada de los electrones confinados en la superficie de las nanopartículas metálicas, en la interfaz metal-dieléctrico o metal-semiconductor; la excitación electromagnética se llama polaritón del plasmón de superficie; el polaritón es una casi-partícula híbrida resultante del fuerte acoplamiento entre la luz y los electrones libres en la superficie de una nanopartícula. Para

determinadas frecuencias de la energía incidente, se produce un acoplamiento entre las frecuencias de la onda incidente y de la oscilación del polaritón; a este fenómeno se le denomina resonancia del plasmón de superficie (RPS) y tiene la capacidad de absorber determinadas frecuencias de la luz incidente y de transmitir las frecuencias no absorbidas que se asocian a un determinado color (Cornejo, 2015).

Figura 2. Efecto de la Resonancia Plamónica de Superficie de una NP metálica



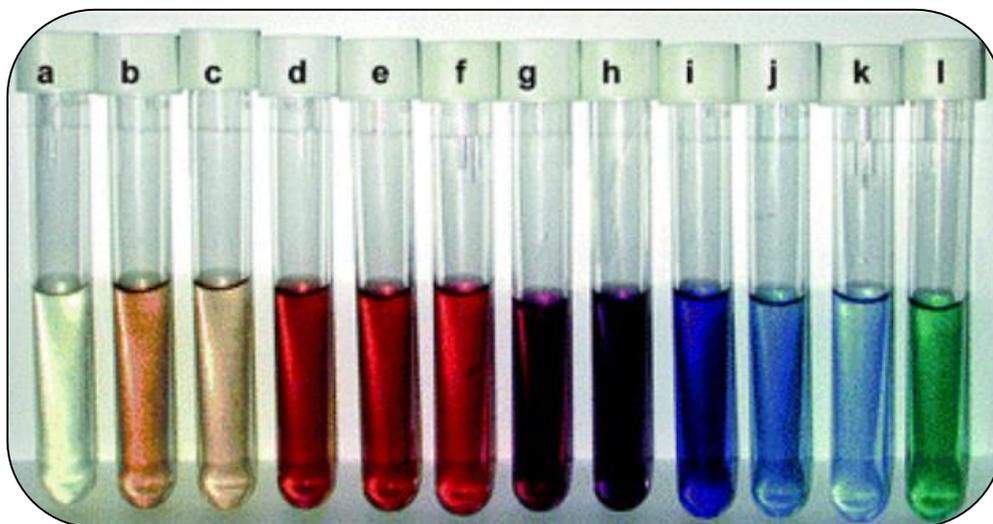
En las nanopartículas de metales nobles como el oro y la plata, la resonancia es máxima y su frecuencia se produce en el campo visible del espectro electromagnético. Esta resonancia se origina cuando el tamaño de las nano partículas es mucho menor que la longitud de onda de la radiación incidente, $d \ll \lambda$. En estas circunstancias se producen excitaciones dipolares fuertes de los electrones libres en la superficie de la partícula; con la resonancia del plasmón se produce un fuerte acoplamiento de los electrones libres con el haz de luz incidente como consecuencia de los fotones absorbidos. La frecuencia de resonancia y la anchura de banda de absorción del plasmón, dependen del tamaño y de la forma de las nano partículas (Cornejo, 2015).

Asimismo, Guajardo-Pacheco et al (2010) y Klar et al (1998) realizaron un importante análisis sobre la resonancia de plasmón superficial en nanopartículas de cobre, donde resaltan que las propiedades ópticas de nanopartículas metálicas dependen fuertemente de la forma y

tamaño de la partícula y que son el resultado de cambios en el plasmón de resonancia en la superficie. Así también, en otro estudio realizado por Mock et al (2003), afirman que solo los metales con electrones libres tales como Au, Ag, Cu, y metales alcalinos tienen plasmón en el espectro visible, los cuales causan tales colores intensos. Por consiguiente, la longitud de onda (λ) de oscilación depende de varios factores, incluyendo el tamaño de partícula, forma y la naturaleza del medio en que se encuentren (Mulvaney et al, 1997).

La resonancia del plasmón de la superficie (RPS) depende también fuertemente de otros factores como: de la concentración de las nano partículas, de su distribución espacial y de las propiedades de la matriz que rodea las nanopartículas metálicas. Las nanopartículas de plata presentan un rápido y fuerte espectro de absorción en las proximidades de longitudes de onda entre 300 y 400 nm. El valor máximo de la longitud de onda de transmisión se puede variar dentro de un amplio rango de valores $\lambda = 393$ nm – 738 nm, variando el color de la suspensión coloidal entre un amarillo claro y un color verde respectivamente. Los colores absorbidos son mayoritariamente el azul y el rojo respectivamente (Cornejo, 2015).

Figura 3. Suspensión Coloidal de AgNPs de Diversos Tamaños



2.4. ESPECTROFOTOMETRIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER – FT-IR

La luz infrarroja (IR), o más precisamente la radiación infrarroja, es una radiación electromagnética con longitudes de onda más largas que las de la luz visible. Por lo tanto, es invisible para el ojo humano, pero puede ser percibido en forma de radiación térmica (más de la mitad de la energía irradiada por el sol llega a la tierra en forma de radiación infrarroja). La espectroscopía infrarroja (IR) se basa en el hecho de que la mayoría de las moléculas absorben la luz en la región infrarroja del espectro electromagnético, convirtiéndola en vibración molecular. Esta absorción es característica de la naturaleza de los enlaces químicos presentes en una muestra. Con un espectrómetro, esta absorción se mide como una función de longitud de onda (λ) como números de onda (cm^{-1}), típicamente de 4000 - 600 cm^{-1} . El resultado es un espectro IR que sirve como una característica "huella digital molecular" que se puede utilizar para identificar muestras orgánicas e inorgánicas.

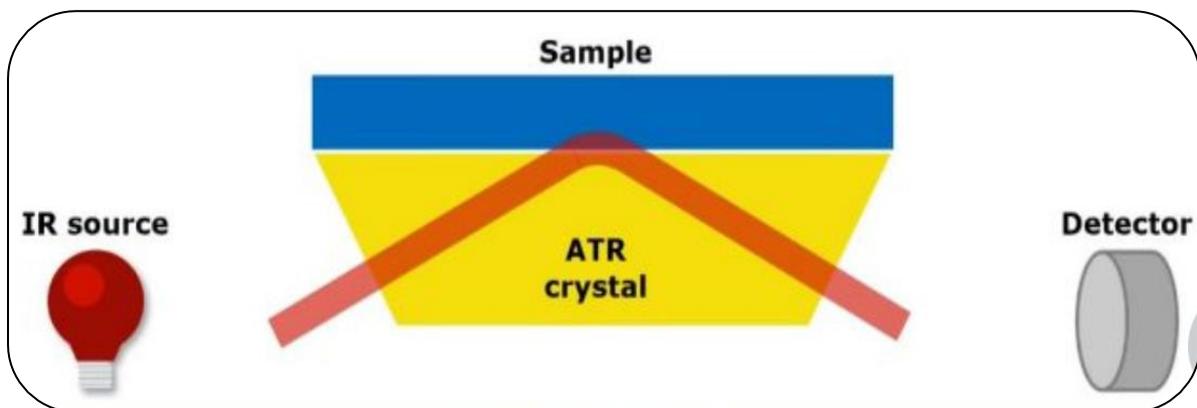
El FT-IR, recoge los datos espectrales de todas las longitudes de onda en una pasada. Aquí, una fuente continua genera luz IR en una amplia gama de longitudes de onda infrarrojas, éstas pasan a través de un interferómetro y luego se dirigen a la muestra. A diferencia de las mediciones dispersas, primero obtenemos un interferograma, que necesita ser convertido en un espectro IR. Este interferograma (una señal bruta), representa la intensidad de la luz no en función de la longitud de onda (λ), sino como una función de la posición de un espejo móvil dentro del interferómetro. Como resultado, la señal primero debe ser transformada por Fourier (FT) para producir la representación IR más familiar de intensidad en función del número de onda (cm^{-1}), de ahí el nombre FT-IR. La adquisición de espectros FT-IR no sólo es mucho más rápida que la de los instrumentos dispersivos convencionales. Además, estos espectros muestran una relación señal-ruido significativamente mejor y dado que la escala de longitud de onda (λ) está calibrada con un láser muy preciso, tienen una precisión de longitud de onda mucho mayor (Bruker, 2022).

2.4.1. REFLECTANCIA TOTAL ATENUADA (ATR)

Como dice el título, ATR significa reflexión total atenuada y se ha convertido en la técnica estándar para la medición de espectros FT-IR. La luz infrarroja pasa a través de un cristal de un determinado material (Diamante, ZnSe o Germanio) e interactúa con la muestra,

que se presiona sobre el cristal. Teniéndose en cuenta que el buen contacto entre la muestra y el cristal es muy importante de esta forma se obtiene un espectro que muestra todas las características específicas de la sustancia, si bien la relación de intensidad de las bandas de absorción observadas podría diferir de un espectro de transmisión tradicional debido a los efectos físicos. Pero esto no significa que los espectros ATR sean más difíciles de interpretar, al contrario. Los espectros ATR y de transmisión se pueden convertir fácilmente entre sí. Esto es especialmente útil si se desea comparar los datos ATR adquiridos recientemente con los espectros más antiguos contenidos en una biblioteca de referencias espectrales (Bruker, 2022).

Figura 4. Haz IR Pasando a través del Cristal ATR Reflejándose en la Interfaz entre el Cristal y la Muestra.



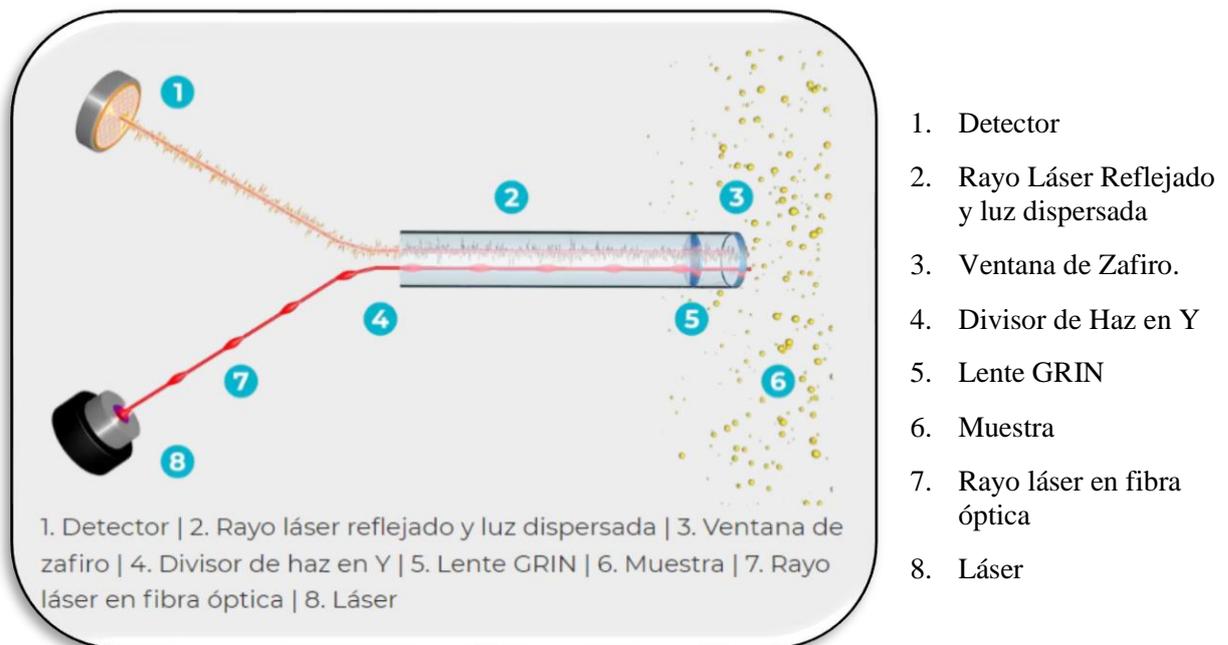
2.5. DISPERSIÓN DE LUZ DINAMICA – DLS

La dispersión dinámica de la luz (DLS) es una técnica de medición establecida y precisa para caracterizar el tamaño de las partículas en suspensiones y emulsiones. Se basa en el movimiento browniano de las partículas: esto establece que las partículas más pequeñas se mueven más rápido, mientras que las más grandes se mueven más lentamente en un líquido. La luz dispersada por las partículas contiene información sobre la velocidad de difusión y, por tanto, sobre la distribución de tamaños. La dispersión de luz dinámica permite el análisis de partículas en un rango de tamaño de 0,3 nm a 10000 nm. Si bien la difracción láser (LD) a menudo alcanza sus límites para partículas de menos de 100 nm debido a la señal débil y la baja variación angular en la señal de dispersión, aquí es donde radica la fuerza de la dispersión dinámica de la luz.

Es una técnica adecuada para el análisis y caracterización de nanopartículas. Otras ventajas incluyen mediciones de muestras altamente concentradas y altamente diluidas, y la capacidad de determinar el Potencial Zeta, el peso molecular y la concentración, que está

integrado en muchos analizadores. Es una técnica no destructiva, la cual permite determinar el radio hidrodinámico. La DLS es un método que depende de la interacción de la luz con las partículas, analiza la intensidad de luz dispersa en función del tiempo, para determinar el tamaño hidrodinámico de las partículas. Este método puede utilizarse para la medición de distribuciones estrechas de tamaño de partícula, especialmente en el rango de 2-500 nm. El radio hidrodinámico es afectado por los iones presentes en el medio y las modificaciones superficiales, ya que esto varía la velocidad de difusión de las partículas dispersas (MICROTRAC, 2022). El tamaño obtenido de DLS es generalmente más grande que TEM, que puede ser debido a la influencia del movimiento browniano (Sanchez Moreno, 2017).

Figura 5. Principio Funcional del DLS



La dispersión de luz dinámica (DLS), a la que a veces se hace referencia como dispersión de luz cuasi elástica (QELS), es una técnica no invasiva y bien establecida para medir el tamaño y la distribución de tamaño de moléculas y partículas, típicamente en la región submicrométrica, y con la tecnología más reciente, inferiores a 1 nm. Las aplicaciones típicas de la dispersión de luz dinámica son la caracterización de partículas, emulsiones o moléculas que se han dispersado o disuelto en un líquido. El movimiento Browniano de las partículas o moléculas en suspensión hace que la luz láser se disperse en diferentes intensidades. Del análisis de estas fluctuaciones de intensidad se obtiene la velocidad del movimiento browniano y por lo tanto el tamaño de partícula utilizando la relación de Stokes-Einstein (Malvern, 2022).

2.5.1. FÓRMULA DE CÁLCULO DEL TAMAÑO DE PARTÍCULAS - DLS

Los coeficientes de difusión “D” de las partículas son inversamente proporcionales al tamaño (d_p , diámetro hidrodinámico) de las partículas según la relación de Stokes-Einstein.

$$D = \frac{kT}{3\pi\eta d_p} \quad (2.4)$$

Donde:

k = constante de Boltzmann,

T = temperatura,

η = viscosidad.

Para determinar con precisión el tamaño de las partículas, se debe conocer el valor exacto del parámetro T (temperatura) y η (viscosidad) del líquido.

La técnica de dispersión de luz dinámica (DLS) mide el movimiento ópticamente al registrar la señal de luz dispersa en un ángulo fijo. Las partículas se iluminan con una fuente de luz coherente monocromática (láser) y se registra la luz dispersada por las partículas.

2.6. MICROSCOPIA DE BARRIDO ELECTRÓNICO FEM-SEM

Las técnicas de microscopía electrónica se basan en la información contenida en los electrones, estas atraviesan y pueden ser detectadas por microscopía de transmisión electrónica, TEM; o rebotan, siendo detectados por microscopía electrónica de barrido, SEM sobre la superficie de un material al hacer incidir un haz electrónico coherente y a gran velocidad. Es importante destacar que su gran profundidad de campo la convierte en una técnica especialmente adecuada para la observación de muestras con una topografía de superficie bastante variada (Parres García & P.G, 2005). El microscopio electrónico de barrido puede estar equipado con diversos detectores (lámina 2 B y C), entre los que se pueden mencionar: un detector de electrones secundarios para obtener imágenes de alta resolución (SEI), un detector de electrones retrodispersados que permite la obtención de imágenes de composición y topografía de la superficie (BEI) y un detector de energía dispersiva (EDS) que permite detectar los rayos X generados por la muestra y realizar análisis de distribución de elementos en superficie (Ubero Pascal, 2009).

2.7. METODOLOGÍA DE SUPERFICIE RESPUESTA (MSR)

La MSR es la estrategia experimental y de análisis que permite resolver el problema de encontrar las condiciones de operación óptimas de un proceso, es decir, aquellas que dan por resultado “valores óptimos” de una o varias características de calidad del producto. La MSR implica tres aspectos: diseño, modelo y técnica de optimización. El diseño y el modelo se piensan al mismo tiempo y dependen del tipo de comportamiento que se espera en la respuesta. De manera específica el modelo puede ser de primer o segundo orden (plano o con curvatura); por ello, el tipo de diseño utilizado y el método de optimización se clasifican, según sea el caso como de primer o de segundo orden. (Gutiérrez Pulido & De la Vara Salazar, 2008).

2.7.1. ETAPAS DE LA MSR

De acuerdo con Gutiérrez & De la Vara (2008), hacen una descripción breve de cada una de etapas: 1. Cribado. La optimización de un proceso se inicia con esta etapa cuando tiene muchos factores (más de 6 u 8) que influyen en la variable de interés. 2. Búsqueda I o de primer orden. Esta etapa se aplica cuando se tienen pocos factores ($k \leq 5$), y se sabe que éstos influyen en la variable de respuesta. En esta etapa se corre un diseño de primer orden que permita caracterizar en forma preliminar el tipo de superficie de respuesta y detectar la presencia de curvatura. Por lo general se utiliza un diseño factorial completo o fraccionado con repeticiones al centro. 3. Búsqueda II o de segundo orden. En el momento en que se detecta la presencia de curvatura, o bien, que la superficie es más complicada que un hiperplano, se corre o se completa un diseño de segundo orden para caracterizar mejor la superficie y modelar la curvatura. Con el modelo ajustado se determinan las condiciones óptimas de operación del proceso (pág. 389).

2.7.2. MODELOS ESTADÍSTICOS DE PRIMER Y SEGUNDO ORDEN

Por lo tanto, el primer paso de la MSR es encontrar una aproximación adecuada para la verdadera relación entre “Y” y las variables independientes. Seguidamente lo usual es utilizar un polinomio de grado bajo en alguna región de las variables independientes. Si la respuesta puede modelarse con una función lineal de las variables independientes, entonces la

función de aproximación es el modelo de primer grado.

$$\hat{Y} = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k + Z_r \quad (2.5)$$

Si existe curvatura en el sistema, entonces debe emplearse un polinomio de grado superior, tal como el modelo de segundo grado.

$$Y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_{uX_j} + \sum_{u,j=1}^k \beta_{uj} X_u X_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} X_j^2 + \dots + Z_r \quad u \neq j \quad (2.6)$$

2.7.3. DISEÑO FACTORIAL PLACKETT & BURMAN (PB)

Esta fue la estrategia de diseño propuesta por (Plackett & Burman, 1946) para resolver la limitación de los diseños fraccionados. Los diseños *Plackett-Burman* son más flexibles (Shmidt & Launsby, 2000). El número de corridas que se pueden manejar por las tablas de diseño de *Plackett-Burman* es un múltiplo de 4 (ejemplo, n = 4, 8, 12, 16, 20). Cuando se usan todas las k columnas de estos diseños, se pueden hacer análisis para k factores con (k+1) corridas, precisamente lo requerido para un diseño eficiente (óptimo en cuanto al uso de recursos). Los diseños de *Plackett-Burman* están disponibles para acomodar desde 7 a 99 factores (7, 11, ... 99), con intervalo de 4 factores entre diseños. No existe el diseño óptimo para 91 factores (los investigadores no encontraron un patrón apropiado). Todos estos diseños están disponibles en la literatura estadística de diseño experimental (Plackett & Burman, 1946). Los diseños *Plackett-Burman* demuestra la gran ventaja, respecto a los diseños fraccionados saturados.

2.7.3.1. PROCEDIMIENTO PARA LA CONSTRUCCIÓN DE LOS DISEÑOS PLACKETT-BURMAN

Para la construcción de las matrices, *Plackett* y *Burman* idearon un método sistemático aplicable a cualquiera de los números de corridas posibles (múltiplos de 4), partiendo de un vector generador único para cada número de corridas (Shmidt & Launsby, 2000). Por ejemplo, el vector generador para el diseño PB consta de 7 valores (+ + + - + - -), por convención, para resaltar que se trata de niveles, sólo se ponen los signos (+) y (-). Con este vector, la construcción de la tabla empieza con los primeros (n - 1) renglones. A continuación, se explica paso a paso el procedimiento:

En la posición de la columna A se copia al vector generador:

Corrida	A	B	C	D	E	F	G
1	+1						
2	+1						
3	+1						
4	-1						
5	+1						
6	-1						
7	-1						
8							

La columna del factor B se construye haciendo un “corrimento circular” del vector de la columna A. Para ello, se desplaza hacia abajo una posición a los valores del vector A, y tome el último valor del vector A, para ponerlo en la primera posición del vector B:

Corrida	A	B	C	D	E	F	G
1	+1	-1					
2	+1	+1					
3	+1	+1					
4	-1	+1					
5	+1	-1					
6	-1	+1					
7	-1	-1					
8							

Continúe de la misma forma hasta completar las 7 columnas:

Corrida	A	B	C	D	E	F	G
1	+1	-1	-1	+1	-1	+1	+1
2	+1	+1	-1	-1	+1	-1	+1
3	+1	+1	+1	-1	-1	+1	-1
4	-1	+1	+1	+1	-1	-1	+1
5	+1	-1	+1	+1	+1	-1	-1
6	-1	+1	-1	+1	+1	+1	-1
7	-1	-1	+1	-1	+1	+1	+1
8							

Finalmente llene con (-1) al último renglón:

Corrida	A	B	C	D	E	F	G
1	+1	-1	-1	+1	-1	+1	+1
2	+1	+1	-1	-1	+1	-1	+1
3	+1	+1	+1	-1	-1	+1	-1
4	-1	+1	+1	+1	-1	-1	+1
5	+1	-1	+1	+1	+1	-1	-1
6	-1	+1	-1	+1	+1	+1	-1
7	-1	-1	+1	-1	+1	+1	+1
8	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1

Según dijimos, Plackett y Burman prepararon las tablas de diseño con un número de corridas múltiplos de 4, a partir de $n = 8$ corridas hasta $n = 100$, exceptuando $n = 92$. (Plackett & Burman, 1946). A continuación, mostramos los vectores generadores para los primeros 5 diseños:

$n = 8 (+ + + - + - -)$

$n = 12 (+ + - + + - - - + -)$

$n = 16 (+ + + + - + - + + - - + - - -)$

$n = 20 (+ + - - + + + + - + - + - - - - + + -)$

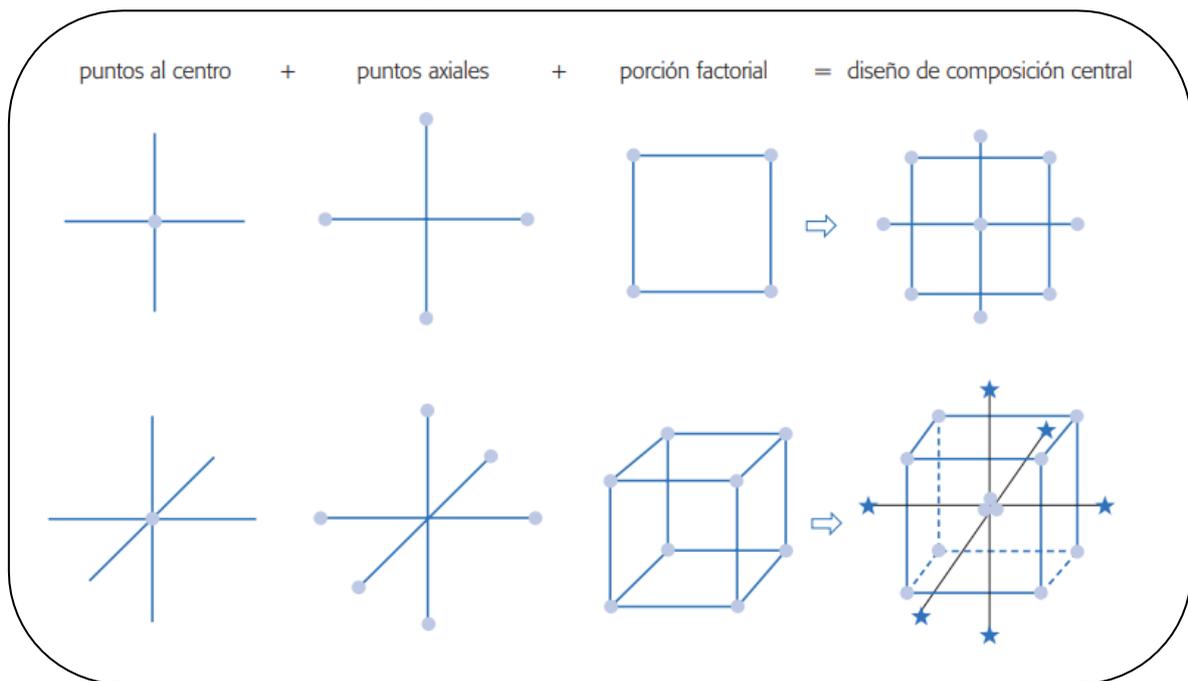
$n = 24 (+ + + + + - + - + + - - + + - - + - + - - - -)$

2.7.4. DISEÑO COMPUESTO CENTRAL (DCC)

El diseño de composición central (DCC) es el más utilizado en la etapa de búsqueda de segundo orden debido a su gran flexibilidad: se puede construir a partir de un diseño factorial completo $2k$ o fraccionado $2k - p$ agregando puntos sobre los ejes y al centro, además de otras propiedades deseables. Este diseño se compone de tres tipos de puntos:

1. Una réplica de un diseño factorial en dos niveles, completo o fraccionado. A esta parte del DCC se le llama porción factorial.
2. n_0 de puntos o repeticiones al centro del diseño, con $n_0 \geq 1$
3. Dos puntos sobre cada eje a una distancia a del origen. Estos puntos se llaman porción axial. La manera en que se ensamblan y el DCC resultante se muestran en figura 12.17, para los casos de dos y tres factores.

Figura 6. Representación y construcción de los DCC



Con k factores el número total de corridas experimentales es $N = 2k + 2k + n_0$. El número de corridas al centro y la distancia de los puntos axiales (α) deben escogerse de manera adecuada, dependiendo de las propiedades que se quieren en el DCC. Si se quiere que el diseño sea rotatable se toma α igual a:

$$\alpha = (F)^{1/4} \quad (2.7)$$

Donde: F es el número de puntos en la parte factorial. Si se desea que el DCC sea ortogonal se toma α igual a:

$$\alpha = \left(\frac{(F \times N)^{1/2} - F}{2} \right)^{1/2} \quad (2.8)$$

Donde: N es el total de corridas experimentales. Si se desea que el DCC sea ortogonal y rotatable, se deben cumplir las relaciones,

$$\alpha = (F)^{1/4} \quad \text{y} \quad n_0 \approx 4\sqrt{F} + 4 - F \quad (2.9)$$

Las repeticiones al centro también se pueden escoger de manera que el diseño sea rotatable y de precisión uniforme. Un diseño es de precisión uniforme si $\text{var} [Y^{\wedge}(x)]$ en el centro

del diseño (radio $r = 0$), es igual a la varianza en la esfera de radio $r = 1$. Esta propiedad proporciona aproximadamente un valor constante de la var $[Y^{\wedge}(x)]$ dentro de la esfera unitaria (de radio uno). La elección para rotabilidad y precisión uniforme, o cercanamente uniforme es:

$$\alpha = (F)^{1/4} \quad \text{y} \quad n_0 \approx \lambda_4(\sqrt{F} + 2) - F - 2k \quad (2.10)$$

donde el valor de la constante λ_4 dado el número de factores k , se obtiene de la siguiente tabla:

Tabla 2. Puntos Axiales del DCC

1	2	3	4	5	6	7	8
λ	0.7844	0.8385	0.8704	0.8918	0.9070	0.9184	0.9274

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

3.1.1. EQUIPOS INSTRUMENTALES

- a) Espectrofotómetro UV-Visible; Modelo: Evolution 220, Marca: THERMO SCIENTIFIC, Procedencia: Estados Unidos. Las características técnicas se especifican en el Anexo II.
- b) Espectrofotómetro FT-IR con Reflectancia Atenuada ATR; Modelo: NICOLET iS50 Analytical, Marca: THERMO SCIENTIFIC, Procedencia: Estados Unidos. Las características técnicas se especifican en el Anexo II.
- c) Dynamic Light Scattering DLS; Modelo: ZETASIZER NANO – ZS, Marca: MALVERN, Procedencia: United Kingdom. Las características técnicas se especifican en el Anexo II.
- d) Balanza Analítica Digital; Modelo: ML204-T, Marca: METTLER TOLEDO, Procedencia: Suiza. Las características técnicas se especifican en el Anexo II.
- e) Multiparámetro de PH/ISE, RDO/DO, Conductividad; Modelo: Versa STAR PRO “Orion”, Marca: THERMO SCIENTIFIC, Procedencia: EE.UU. Las características técnicas se especifican en el Anexo II.
- f) Agitador Magnético con Sensor de Temperatura; Modelo: SuperNuova+, Marca: THERMO SCIENTIFIC, Procedencia: EE.UU. Las características técnicas se especifican en el Anexo II.
- g) Vortex; Marca THERMO SCIENTIFIC, Modelo
- h) Campana Extractora para Gases; Marca KOSSODO, y modelo: Frontier DUO.
- i) Equipo de Ultrasonido; Marca: BRANSON, Modelo 5800, Procedencia:
- j) Microcentrífuga; Marca: THERMO SCIENTIFIC, Modelo Medifuge Centrifuge, Procedencia EE.UU.
- k) Purificador de Agua Ultrapura (D.O); Marca THERMO SCIENTIFIC, Modelo: Smart2Pure, Procedencia EE.UU.

3.1.2. MATERIALES DE LABORATORIO

- ✓ Cubetas de Cuarzo, marca Thermo Scientific, de 1 cm de ancho de paso
- ✓ Cubetas de Vidrio, marca Thermo Scientific de 1 cm de ancho de paso
- ✓ Cubetas de Plástico.
- ✓ Accesorio ATR - Diamante
- ✓ Micropipetas de: 0.5 – 10 μ L, 20 – 200 μ L, y de 100 - 1000 μ L, Marca: Discovery Confort
- ✓ Tips para micropipetas (Puntas) de 10, 100, 1000 μ L
- ✓ Matraces de aforo 50, 100, 250 mL
- ✓ Vasos de Precipitado de 50, 100, 250 mL marca: PIREX
- ✓ Papel filtro de paso lento (WATMAN)
- ✓ Embudos de vidrio de 100 mm
- ✓ Baguetas de vidrio
- ✓ Microfiltros para jeringa de 0,22 μ m de poro para HPLC
- ✓ Magnetos de Agitación; marca Thermo Scientific, tamaño 1,5 cm de largo.
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Probetas 10, 50 y 100 mL
- ✓ Termómetro digital
- ✓ Frascos color ámbar
- ✓ Tubos Eppendorf de 1,5 mL
- ✓ Tubos Falcón de 15 mL
- ✓ Jeringas de 10 ml
- ✓ Tuberculina de 1 mL
- ✓ Micropipetas Pasteur
- ✓ Tubos de Ensayo; marca PIREX de 10, 15 ml con tapa.
- ✓ Papel Kimtech
- ✓ Guantes de Nitrilo

3.1.3. REACTIVOS E INSUMOS

- ✓ Sal de Nitrato de Plata (AgNO_3); marca MERCK.
- ✓ Agua Destilada
- ✓ Agua Ultrapura (D.O)

- ✓ Ácido Nítrico cc.
- ✓ Ácido Sulfúrico cc.
- ✓ Alcohol Etílico Absoluto; CH₃CH₂OH, PM: 46.07, Marca BAKER ACS, para uso de laboratorio, investigación o manufactura.
- ✓ Hidróxido de Sodio (NaOH).
- ✓ Alcohol Isopropílico: Marca BAKER ACS, para uso de laboratorio, investigación o manufactura.

3.2. BIOSÍNTESIS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Para los ensayos experimentales, se utilizó el método de síntesis verde, tomando la sal precursora de AgNO₃ de la marca MERCK, esta se disolvió y se preparó para obtener una solución de 1 mM, seguidamente se forra el frasco con papel aluminio para evitar su degradación y es almacenada en un lugar fresco y seco en oscuridad total. Luego, a 20 mL de este precursor se le añadieron distintos volúmenes (µL) de Fracción Flavonoide (F.F), determinadas para cada ensayo experimental (dicha FF, ha sido obtenida a partir del extracto total de *Lepechinia meyenii*, por cromatografía en columna). Seguidamente, se alcaliniza con algunas gotas de NaOH al 0.1 N, el pH se determinó con un multiparámetro calibrado, de la marca Thermo Scientific, modelo ORION Versa Star PRO. Las condiciones de síntesis fueron desarrolladas según la matriz del diseño experimental propuesto por la MSR (ver tabla 1), también se usó un agitador magnético de la marca Thermo Scientific; asimismo cada una de las pruebas experimentales fueron controladas por el sensor térmico del mismo equipo. Cada uno de los ensayos han sido desarrollados, usando un matraz de vidrio de 50 ml de capacidad con sus magnetos respectivos para la agitación de la solución. Por otro lado, todos los ensayos experimentales se desarrollaron dentro de una Campana Extractora de Gases, de la marca KOSSODO, y modelo Frontier DUO; con el fin de absorber todos los gases generados por las reacciones de síntesis.

Figura 7. Calibración del Multiparámetro



3.3. CARACTERIZACIÓN DE LAS AgNPs BIOSINTETIZADAS

3.3.1. ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE

En espectroscopia UV-VIS, una especie química (en general una molécula, aunque puede tratarse de una especie monoatómica, un ion o un complejo) absorbe radiación UV-Vis, y la energía adquirida por el sistema causa la transición de un electrón de un estado basal o fundamental (EF) a uno excitado (EE). La energía de la transición está relacionada con la longitud de onda de la radiación por medio de la ecuación de Planck (Castro de Esparza et al, 2009). Además, el perfil de los barridos espectrales representa cómo interactúa la sustancia a la radiación electromagnética de las longitudes de onda evaluadas, siendo propio para cada sustancia. Una zona de pico de absorbancia en el barrido espectral representa un rango de radiaciones de determinadas longitudes de onda que la sustancia absorbe, mientras que un valle representa un rango de radiaciones de longitudes de onda para las cuales hay nula absorción.

En tanto, las nanopartículas de plata NPsAg biosintetizadas fueron leídas y monitoreadas por un espectrofotómetro UV-VIS (marca Thermo Scientific y modelo Evolution 220). Cada ensayo ha sido definido según el Diseño Experimental empleado en cada etapa de la MSR, por lo tanto, las lecturas por UV-VIS se realizaron teniendo un plan experimental predeterminado según el DOE y la MSR; seguidamente, se hizo un barrido espectral entre los 350 nm – 650 nm de longitud de onda para la determinación del pico espectral representado típicamente por la Resonancia del Pasmón de Superficie (RPS), característico de las nanopartículas metálicas (AgNPs). Las lecturas espectrofotométricas se realizaron, utilizando una cubeta de cuarzo con un ancho de paso de 1 cm de longitud. Por otro lado, para la determinación de Absorbancia para los datos experimentales, se fijaron en el espectrofotómetro UV-VIS a 411 nm de longitud de onda; además cada muestra experimental fue diluida 1:1 con solución Hidroalcohólico al 80%, por cada la lectura respectiva, realizada por el equipo.

3.3.2. ESPECTROFOTOMETRÍA FT-IR

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es otra de las técnicas que fue usado en este trabajo de investigación, esta técnica nos brinda información muy precisa de los tipos de ligación de las moléculas orgánicas, la determinación se realizó utilizando el equipo espectrofotométrico FT-IR de la marca Thermo Scientific, modelo Nicole iS50 Analytical). Para la lectura, las muestras se colocaron en el lente ATR (Lente de Reflectancia Atenuada) de diamante, habiendo tomado previamente un fondo espectral (Back Ground) y haciendo un barrido entre los 4000 cm^{-1} y 400 cm^{-1} de número de onda, en modo transmitancia (la toma de datos de FTIR fue realizada en la región de infrarrojo medio: radiación en el rango de frecuencias de $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ ó de longitudes de onda (λ) entre $2.5 - 25\ \mu\text{m}$. Los picos y bandas espectrales obtenidos son referidos a la huella dactilar de sustancias y los grupos funcionales de las muestras. El procedimiento de lectura se realizó, tomando una alícuota de las distintas, tales son: a) las nanopartículas de plata biosintetizadas NPsAg, b) el extracto total obtenido por Ultrasonido y c) la fracción flavonoide obtenido por Cromatografía en Columna; asimismo, se tomó micropipeta de $10\ \mu\text{L}$ y se añadió un volumen mínimo, para colocarlas sobre el lente de Diamante “ATR”, previamente este accesorio se limpió con paños Kimtech y alcohol isopropílico para evitar la contaminación cruzada entre muestras. El lente ATR fue reconocido por el equipo mediante software OMNIC Spectra, luego se obtuvieron los distintos espectros infrarrojos de las muestras analizadas previamente con sus espectros de Back Ground

correspondiente.

Las primeras medidas realizadas fueron de la Fracción Flavonoide (FF), luego se analizaron las NPsAg con FF. Para verificar las biomoléculas cubiertas con AgNPs, se realizó este análisis por FTIR para confirmar los grupos funcionales (que son responsables de los agentes de reducción, estabilización y protección) se compararon el espectro FTIR de la fracción flavonoide FF de la *Lepechinia meyenii*, con las AgNPs obtenidas a partir de esta FF, determinándose los picos espectrales característicos de cada muestra.

3.3.3. DINAMIC LIGHT SCATERING (DLS)

Los tamaños hidrodinámicos de las nanopartículas, fueron determinadas utilizando un DLS de la marca: Malvern y modelo: Zetasizer Nano ZS. Las muestras fueron previamente filtradas utilizando una jeringa de 10 mL y un filtro de 0.22 μm de abertura, además fueron diluidas en la siguiente proporción: 1:2 (con solución hidroalcohólica al 80 %). Para el análisis respectivo se midió 1.5 ml de muestra diluida, la cual fue colocada en una cubeta de plástico, considerándose el volumen mínimo recomendado para el procedimiento y los parámetros de lectura requeridos por el software del equipo, siendo los siguientes: a) el medio dispersante, b) el índice de refracción - IR y c) viscosidad dinámica - Cp.

3.4. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO SEM-FEM

La muestra es enviada al Laboratorio de Microscopia Electrónica -Centro para el Desarrollo de Materiales Avanzados y Nanotecnología de la Universidad Nacional de Ingeniería UNI. La muestra enviada es una coloide conteniendo nano partículas de Plata, para un correcto análisis ha sido necesario, preparar la muestra sobre un sustrato de soporte para microscopia electrónica. El proceso de secado requiere un tratamiento de unas 48 horas en un cámara con humedad relativa de HR 30%, y temperatura ambiente de 25°C. Para asegurar que las partículas no se encuentren conglomeradas o en estado de agregación estructural a nivel de enlaces, se ha realizado un tratamiento con ultrasonido, por 30 min.

3.5. OPTIMIZACIÓN MEDIANTE LA METODOLOGÍA SUPERFICIE RESPUESTA (MSR)

Los diseños experimentales han sido determinados para cada una de las etapas de la metodología aplicada MSR; según, el número de variables, los parámetros establecidos y las

restricciones del proceso experimental. En la primera etapa (screening) se hizo uso de un Diseño Factorial Fraccionado Plackett-Burman (P&B), para la determinación de la significancia y discriminación de las variables de un proceso Multifactorial, obteniéndose un modelo estadístico de 1er Orden. La detección de los parámetros de proceso se hizo utilizando el diseño P&B; este diseño es un método eficaz que se utiliza para seleccionar los factores significativos de una gran cantidad de factores que afectan el proceso (Zhou et al, 2011). Se usó la siguiente ecuación polinomial de primer orden (ecuación 3.1) para realizar el modelado matemático.

$$\hat{Y} = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k + Z_r \quad (3.1)$$

Donde: Y : denota la respuesta pronosticada (Absorbancia),
 β_0 : denota la intersección del modelo,
 β_i : denota el coeficiente lineal
 X_i : denota el nivel de cada variable independiente.

En la segunda etapa (escalamiento), se empleó un método matemático iterativo denominado método de Pendiente Ascendente, para la localización de la región óptima del proceso. Y por último en la tercera etapa (Optimización), se empleó el Diseño Compuesto Central DCC para la determinación de la solución óptima maximizada, mediante un modelo estadístico de segundo orden obtenido mediante el ajuste de los datos experimentales, a partir de las lecturas de Absorbancia a 411 nm por Espectrofotometría UV-VIS.

Se utilizó la Metodología de superficie de respuesta (MSR) para analizar los datos experimentales haciendo uso la hoja de cálculo Excel 2016. De acuerdo con el trabajo realizado por Hebeish et al (2011), el experimento se planteó utilizando un diseño compuesto central (cuatro niveles) y modelos cuadráticos. Para este trabajo se realizaron un total de treinta y dos (32) ejecuciones en orden aleatorio, según el DCC, incluidos los puntos factoriales, los puntos axiales y los puntos centrales 16, 10 y 6, respectivamente (Ver tabla 22). Las variables totalmente independientes evaluadas, fueron: velocidad de agitación (RPM) (X1), pH de síntesis (X2), temperatura (°C) (X3), volumen de Fracción Flavonoide (μ L) (X4) y tiempo de síntesis (min) (X5); para la variable de respuesta se determinó la absorbancia (411 nm), como se puede apreciar en la tabla 3. Todos los niveles codificados y no codificados se presentan en la Tabla 21.

3.5.1. SCREENING

Como afirma Gutiérrez & De la Vara (2008), la optimización de un proceso se inicia con esta etapa cuando tiene muchos factores que influyen en la variable de interés. Por lo tanto, en esta etapa los diseños de 1er orden son los más recomendados, por lo que, el diseño factorial, es el más utilizado, especialmente los diseños factoriales 2K, factorial fraccionado y ampliamente usado el diseño P&B.

A continuación, se presenta la tabla 3. Identificación de variables del proceso de biosíntesis de NPsAg, donde se enumeran las variables independientes a evaluarse y la variable respuesta que se determinará según el diseño factorial P&B.

Tabla 3. Identificación de las Variables del Proceso de Biosíntesis de NPsAg.

IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES DEL PROCESO			
CATEGORÍA	NOMBRE	SÍMBOLOS	CATEGORIA
VARIABLE RESPUESTA	1. Absorbancia (411nm)	Y1	F.O
VARIABLES INDEPENDIENTES	Variables Controlables		
	1. Velocidad de Agitación (RPM)	X1	Variable
	2. Potencial de Hidrógeno pH	X2	Variable
	3. Temperatura de síntesis (°C)	X3	Variable
	4. Volumen de FF (µL)	X4	Variable
	5. Tiempo de reacción (min)	X5	Variable

Fuente: Elaboración Propia.

3.5.2. ESCALAMIENTO

Según Gutierrez & De la Vara (2008), la técnica de optimización de escalamiento se aplica cuando, de acuerdo con la valoración inicial, se cree que este lejos de la condición óptima, por lo que será necesario explorar una región de experimentación inicial y a partir de esta determinar una dirección en la cual experimentar fuera de la región inicial.

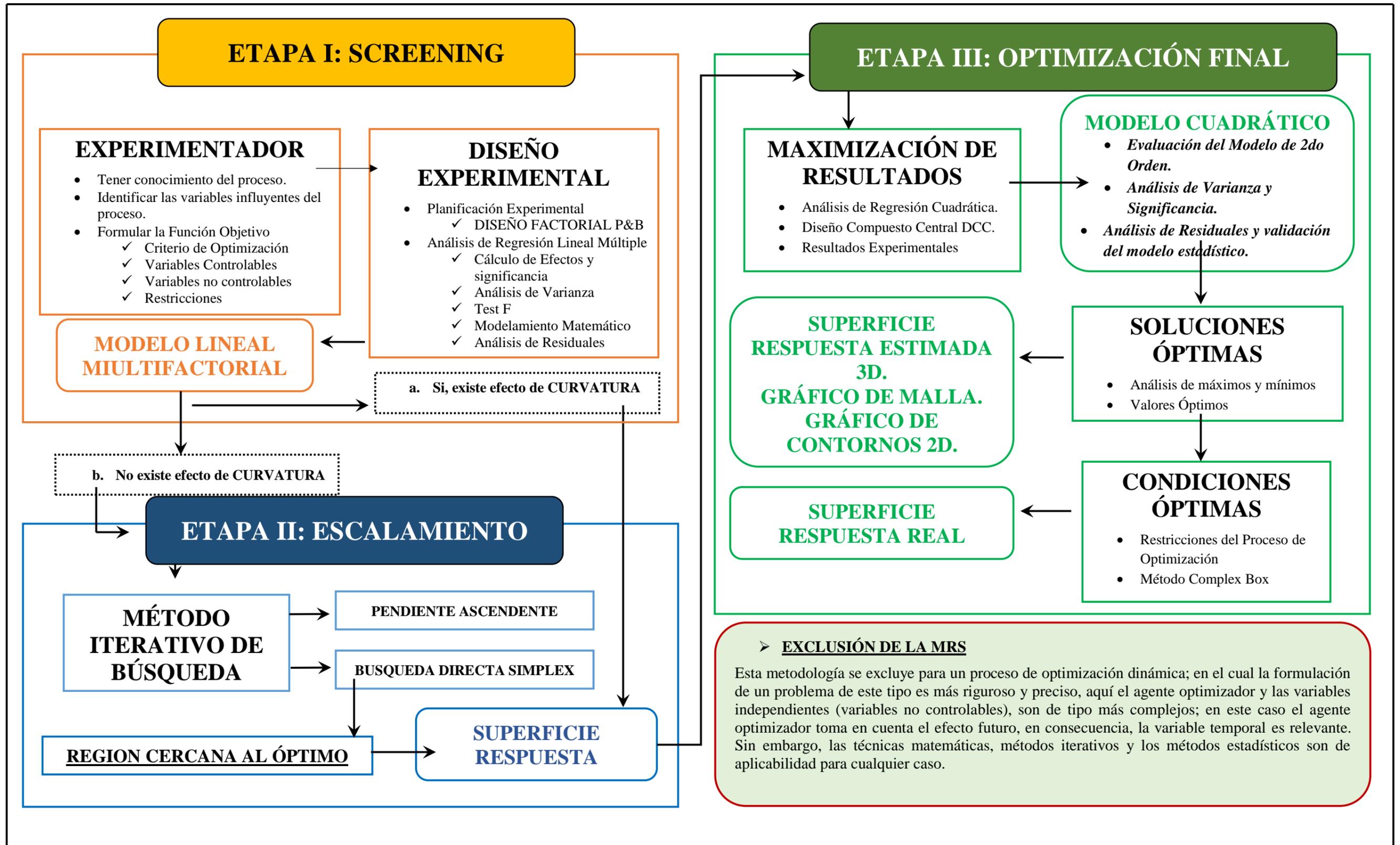
Por otro lado, la técnica de optimización por escalamiento, permite ubicar la región óptima con mayor efecto de curvatura (efectos no lineales), que el diseño P&B es incapaz de detectar en el centro del diseño. Siendo así, los pasos ascendentes se dan a lo largo de la dirección más empinada de las variables, tomando como punto de partida el centro del diseño.

3.5.3. OPTIMIZACIÓN FINAL

Los efectos no lineales de las variables significativas: X1, X2, X3, X4 y X5, del proceso de biosíntesis de NPsAg, fueron evaluadas por un Diseño Compuesto Central – DCC, siendo este un diseño experimental apropiado para $k < 5$, (donde, k es el número de variables a evaluarse). Asimismo, el número de experimentos o ensayos experimentales predeterminados por la matriz DCC estuvo determinado por $N = 2K + 2K + n$, para $k \leq 5$, donde N es el número de ensayos experimentales; siendo así la matriz de diseño consistió en: 16 puntos factoriales, 10 puntos compuestos y 6 puntos centrales, según la tabla 22. Por consiguiente, para ubicarnos en la región experimental que encierra el óptimo se emplearon las dos primeras etapas de la MSR. En esta región los efectos de segundo orden son mayores en valor absoluto que los efectos de primer orden. Esto nos indica que esta región, puede describirse apropiadamente por modelos de segundo orden, según el siguiente modelo cuadrático, descrito por la ecuación 3.2.

$$Y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_{uxj} + \sum_{u,j=1}^k \beta_{uj} X_u X_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} X_j^2 + \dots + Z_r \quad u \neq j \quad (3.2)$$

Figura 8. Etapas del Proceso de Optimización Aplicando la MSR



Fuente: Elaboración Propia.

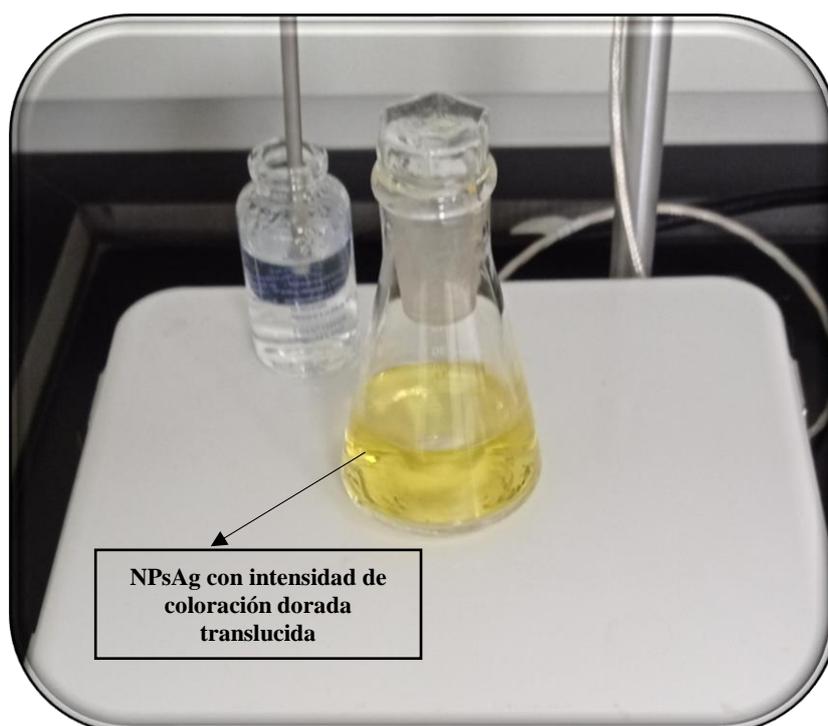
CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AgNPs)

Mat Yusuf et al (2020) nos dice que los diferentes parámetros que afectan la síntesis de AgNPs son el extracto y concentración de AgNO_3 , el tiempo y la temperatura. Por lo tanto, para este estudio de investigación, la biosíntesis de AgNPs se desarrolló evaluando el efecto y la significancia de las variables identificadas en el proceso, tales son: a) la velocidad de agitación (RPM), b) el pH de síntesis, c) la temperatura ($^{\circ}\text{C}$), d) el tiempo de síntesis (min) y el volumen de FF (μL); estos según el ensayo experimental establecido por la DOE (diseño experimental), y de acuerdo con los parámetros y niveles (+1) y (-1) evaluados para cada una de las variables independientes, como se muestra en la tabla 4. “Codificación de las variables identificadas en el proceso de biosíntesis de NPsAg”. Los resultados de máxima Absorbancia (411nm), están en función de sus variables significativas y la efectividad del proceso de biosíntesis. La absorbancia (411nm), se determinó mediante un barrido espectral, por espectrofotometría UV-VIS, de acuerdo a la metodología experimental descrito en el capítulo anterior.

Figura 9. Biosíntesis de NPsAg con fracción flavonoide de *L.meyenii*

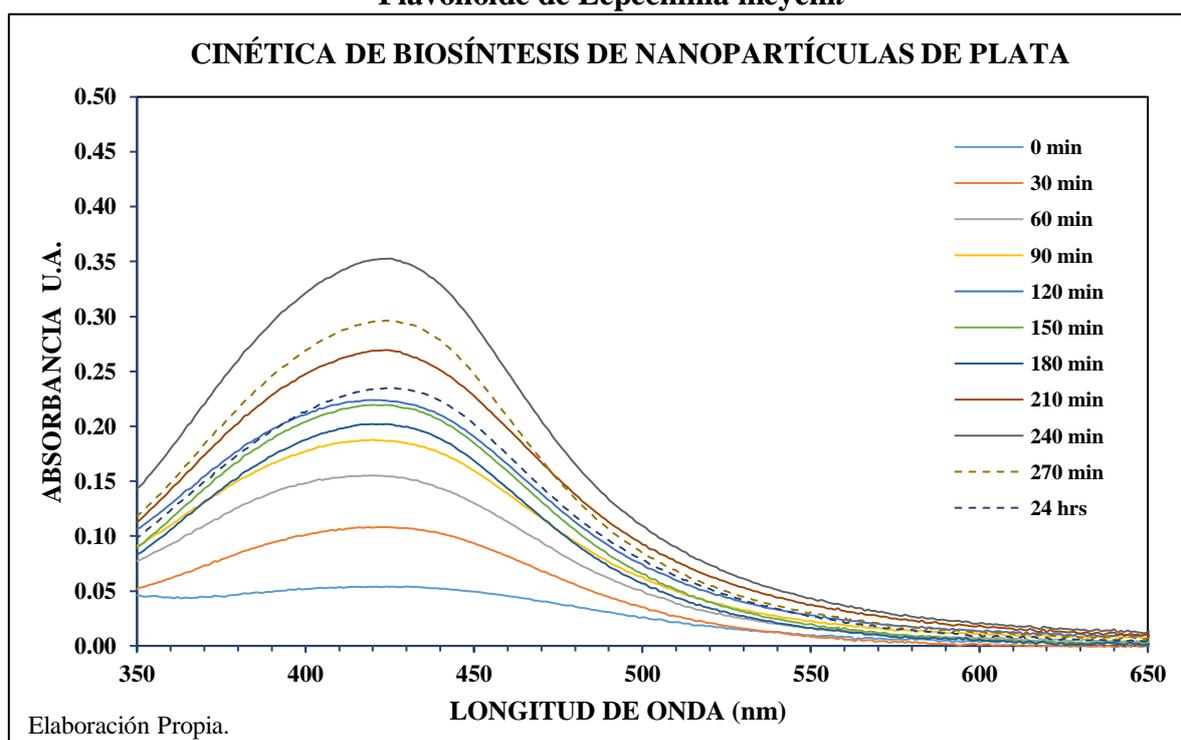


4.2. ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE (UV -VIS)

4.2.1. RESULTADOS EXPERIMENTALES UV – VIS DE LOS ENSAYOS PRELIMINARES

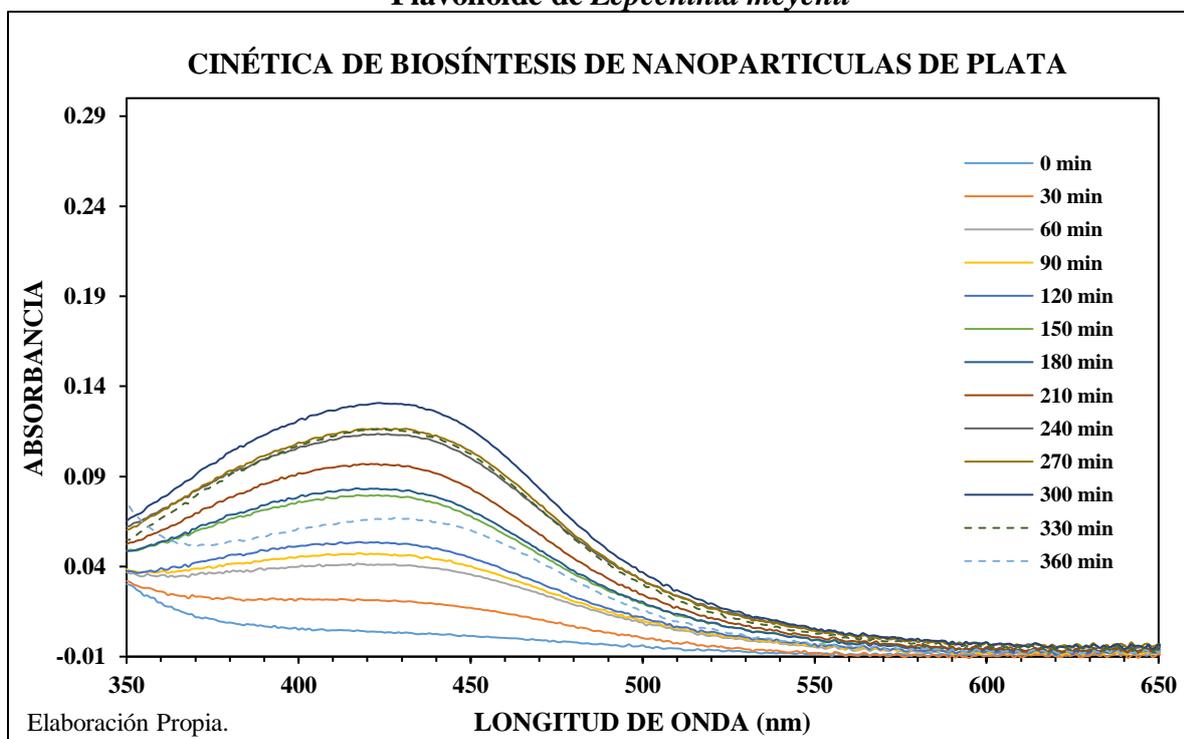
Las figuras mostradas a continuación, corresponden a la cinética de formación de NPsAg biosintetizadas con la FF de *Lepechinia meyenii*, estas se establecieron como ensayos preliminares para la ejecución de la MSR, lográndose definir los rangos de control de las variables para la definición de los diseños factoriales que se emplearan en cada etapa de la MSR. En la figura 10, se observan los espectros de absorción UV-VIS, para de formación de las nanopartículas de plata NPs Ag, biosintetizadas a partir de la Fracción Flavonoide (FF) de *Lepechinia meyenii*. Los espectros de absorción se obtuvieron mediante un barrido espectral desde los 350 a 650 nm de longitud de onda, que correspondientes a la formación de las NPs. Se aprecian varios picos de absorción máxima entre los 410 a 420 nm, que corresponden a la RPS de las NPs. También se pudo notar un incremento en la absorbancia con respecto al tiempo de síntesis, alcanzando un máximo a los 270 min, con una absorbancia máxima de 0.35 aproximadamente. La presencia de este pico demuestra la formación de NPs y que están en relación directa con el tiempo de reacción (min), la temperatura (°C), el pH, la agitación (RPM) y el volumen de FF (μL) utilizado.

Figura 10. Experimento 1_ Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con Fracción Flavonoide de *Lepechinia meyenii*



En la figura 11, también se observan los espectros de absorción UV-VIS, para de formación NPs Ag, biosintetizadas a partir de la FF de *Lepechinia meyeri*. Los espectros también se obtuvieron mediante un barrido espectral desde los 350 a 650 nm, que corresponden a la formación de las NPsAg biosintetizadas establecido por el diseño experimental y la MRS. Se aprecian varios picos de absorción máxima entre los 410 a 440 nm (con un ligero desplazamiento del espectro de absorción hacia la derecha), que corresponden a la RPS de las NPsAg. El incremento de absorbancia máxima, respecto al tiempo de determino a los 300 min, con absorbancia de 0.13 aprox. También se observa que la curva espectral tiene un mayor ancho espectral en el eje x respecto de la λ (nm), esto es así, tanto para las figuras 10 y 11; por lo que, la síntesis podría estar afectando en el tamaño y la forma de las nanopartículas.

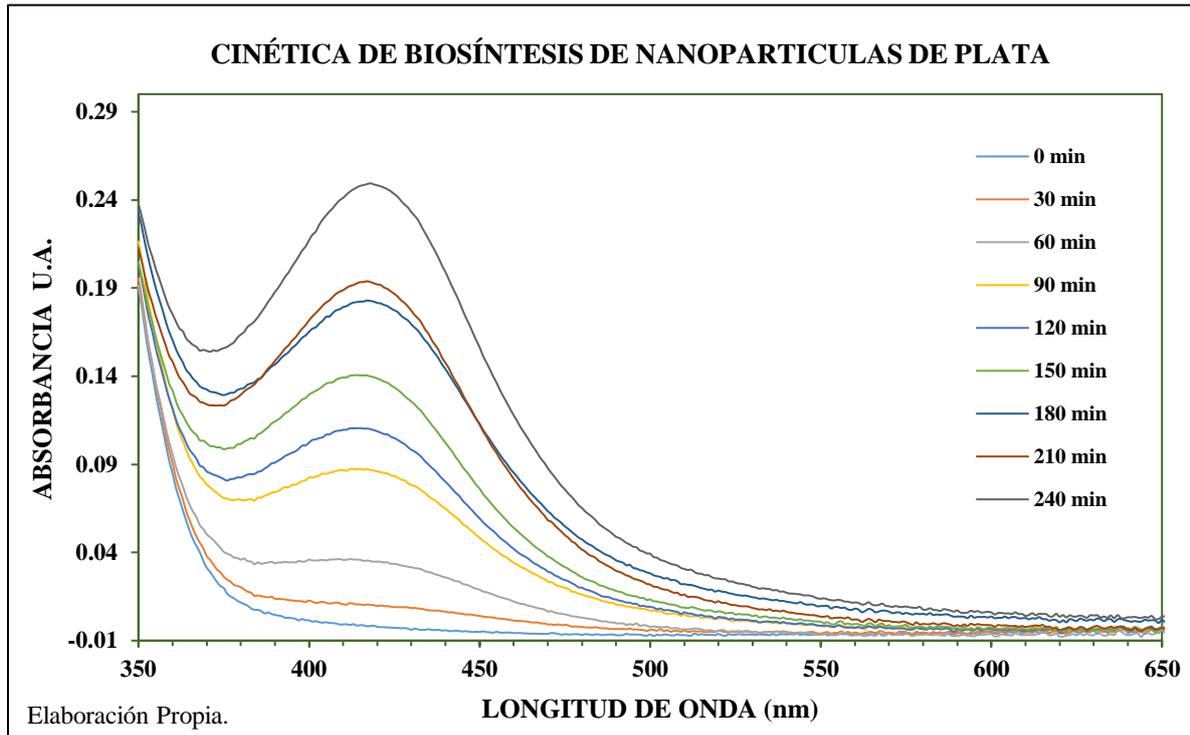
Figura 11. Experimento 2_ Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con Fracción Flavonoide de *Lepechinia meyeri*



Para la figura 12, observamos los espectros de absorción UV-VIS, para la cinética de formación de las NPs Ag, que fueron biosintetizadas a partir de la FF de *Lepechinia meyeri*. Los espectros de absorción también se obtuvieron mediante un barrido espectral desde los 350 a 650 nm de longitud de onda, correspondientes a la formación de las NPsAg biosintetizadas. Se aprecian varios picos de absorción máxima entre los 410 a 430 nm, según el incremento del tiempo, estos picos espectrales corresponden RPS de las NPsAg. También se observa que la curva esta normalmente distribuida en el rango espectral de longitudes de onda (nm). Respecto

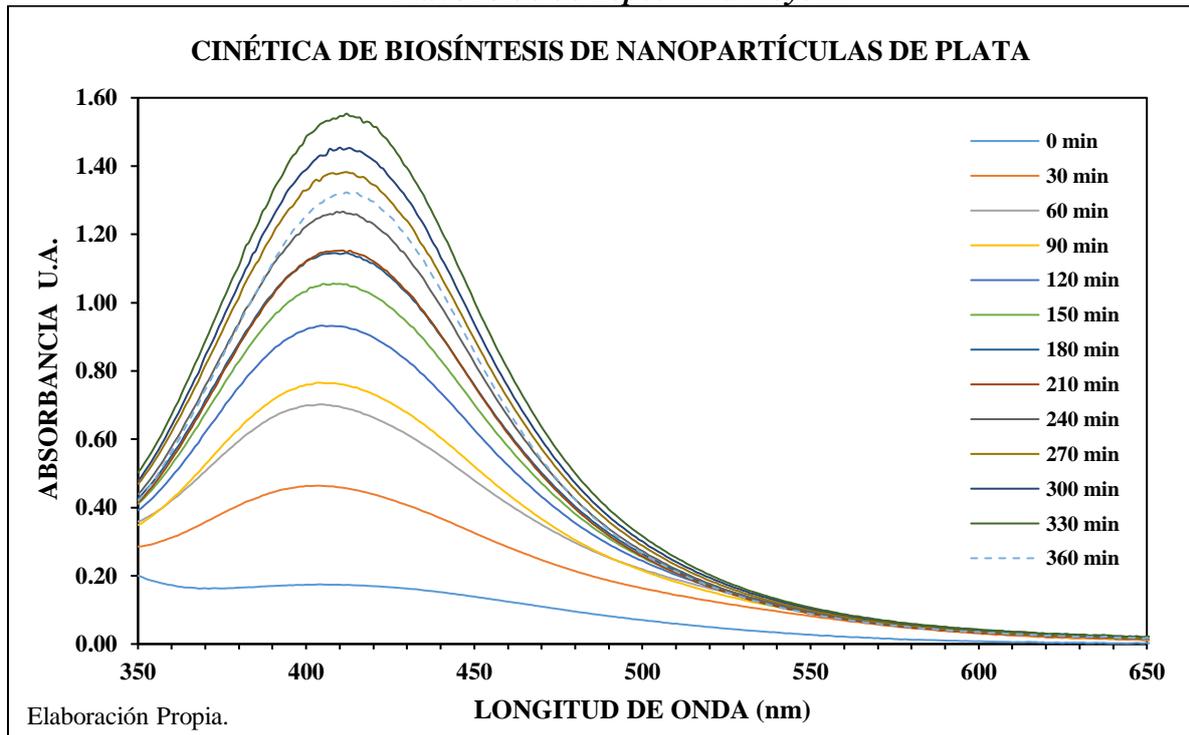
al tiempo de síntesis, la absorbancia alcanzó un pico espectral máximo a los 270 min, con una absorbancia de 0.25 aproximadamente. La presencia de este pico demuestra la formación de nanopartículas de plata y estando en relación directa con las variables significativas del proceso.

Figura 12. Experimento 3_ Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con Fracción Flavonoide de *Lepechinia meyenii*



En la figura 13, observamos los espectros de absorción UV-VIS, para la cinética de formación de NPsAg. Dadas las características, los espectros de absorción se obtuvieron mediante un barrido espectral desde los 350 hasta los 650 nm de longitud de onda (λ), que correspondientes a la formación de las NPsAg. Se aprecian varios picos de absorción máxima entre los 400 a 420 nm aproximadamente, También se observa que la curva esta normalmente distribuida a lo largo del rango espectral. Respecto al tiempo de síntesis, la absorbancia tiene un pico máximo a los 330 min, con una absorbancia de 1.60 aproximadamente, además se puede apreciar el descenso de absorbancia a mayores tiempos de síntesis; por lo que posiblemente mayores rangos de tiempo, estarían afectando la estabilidad de la AgNPs. La RPS de la curva espectral, demuestra la formación de NPsAg, estando en relación directa con el tiempo de reacción, la temperatura, el pH, la agitación y el volumen de FF utilizado.

Figura 13. Experimento 4_ Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con Fracción Flavonoide de *Lepechinia meyenii*



A continuación, se describe la figura 14, donde se observan los barridos espectrales UV-VIS, entre los 350 a 650 nm de longitud de onda, correspondientes a la formación de las AgNPs. No se logran apreciar picos de absorción máxima en todo el rango espectral. Respecto al tiempo de síntesis, la absorbancia tiene un pico máximo a los 300 min, con una absorbancia de 0.07 aprox. (muy por debajo del promedio de absorción máxima de los experimentos anteriores), también se aprecia un ruido bien notorio en la gráfica espectral. Del mismo modo, en las figuras 15,16 y 17, se pueden apreciar los espectros de absorción UV-VIS, estos espectros de absorción también se obtuvieron mediante un barrido espectral desde los 350 a 650 nm de longitud de onda respectivamente, y son correspondientes a la formación de las NPsAg. Se aprecian los distintos picos de absorción máxima entre los 410 a 430 nm, para cada intervalo de tiempo según la cinética de biosíntesis. También se observa que las curvas están normalmente distribuidas en el rango espectral de longitud de onda (λ). Respecto al tiempo de síntesis, las absorbancias máximas para cada prueba experimental de cinética de biosíntesis han alcanzado un pico máximo de absorbancia a los: 300, 270 y 270 min respectivamente, y con una absorbancia máxima de: 0.38, 1.00 y 0.14 aproximadamente. La presencia de estos picos espectrales demuestra la formación de NPs, estando en relación directa con las variables significativas del proceso.

Figura 14. Experimento 5_ Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con Fracción Flavonoide de *Lepechinia meyenii*

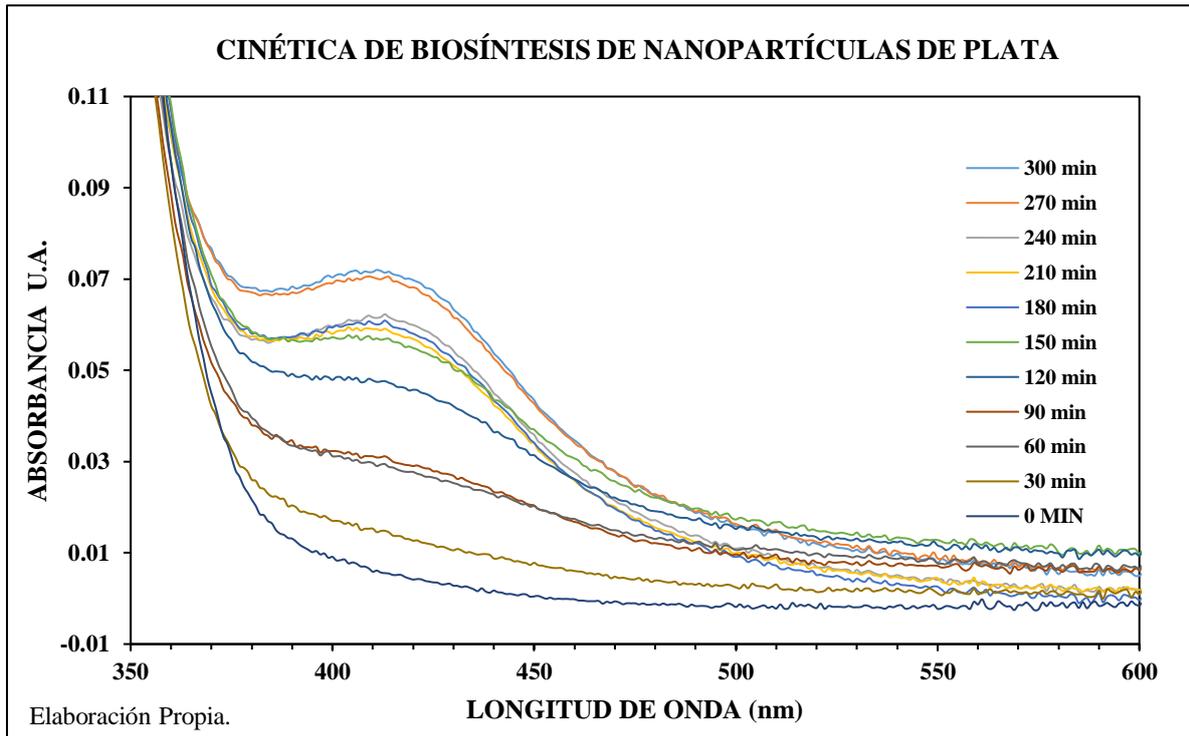


Figura 15. Experimento 6_ Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con Fracción Flavonoide de *Lepechinia meyenii*

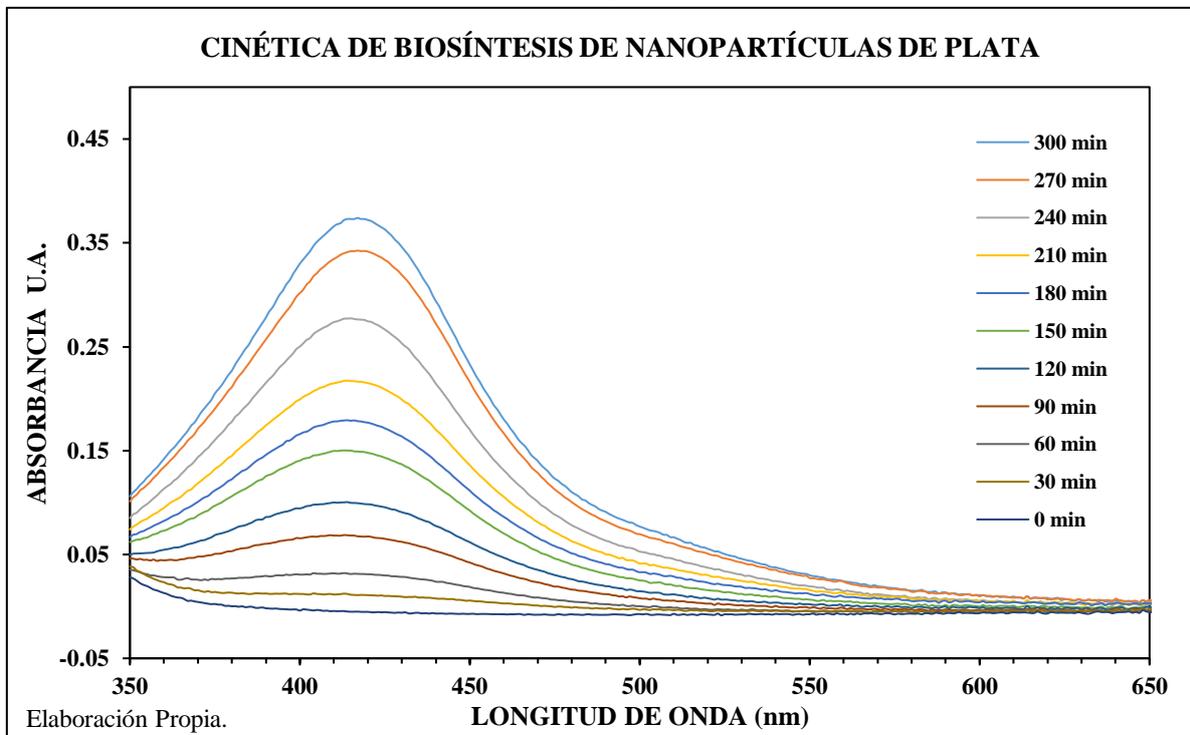


Figura 16. Experimento 7_ Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con Fracción Flavonoide de *Lepechinia meyenii*

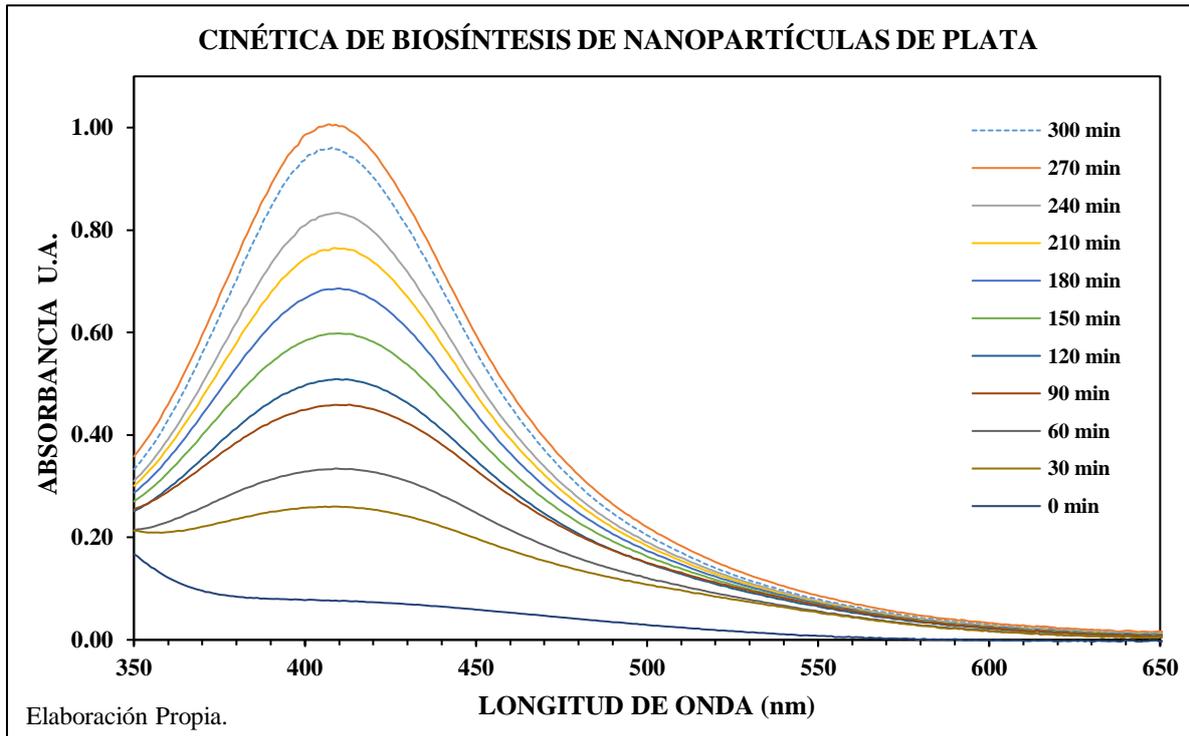
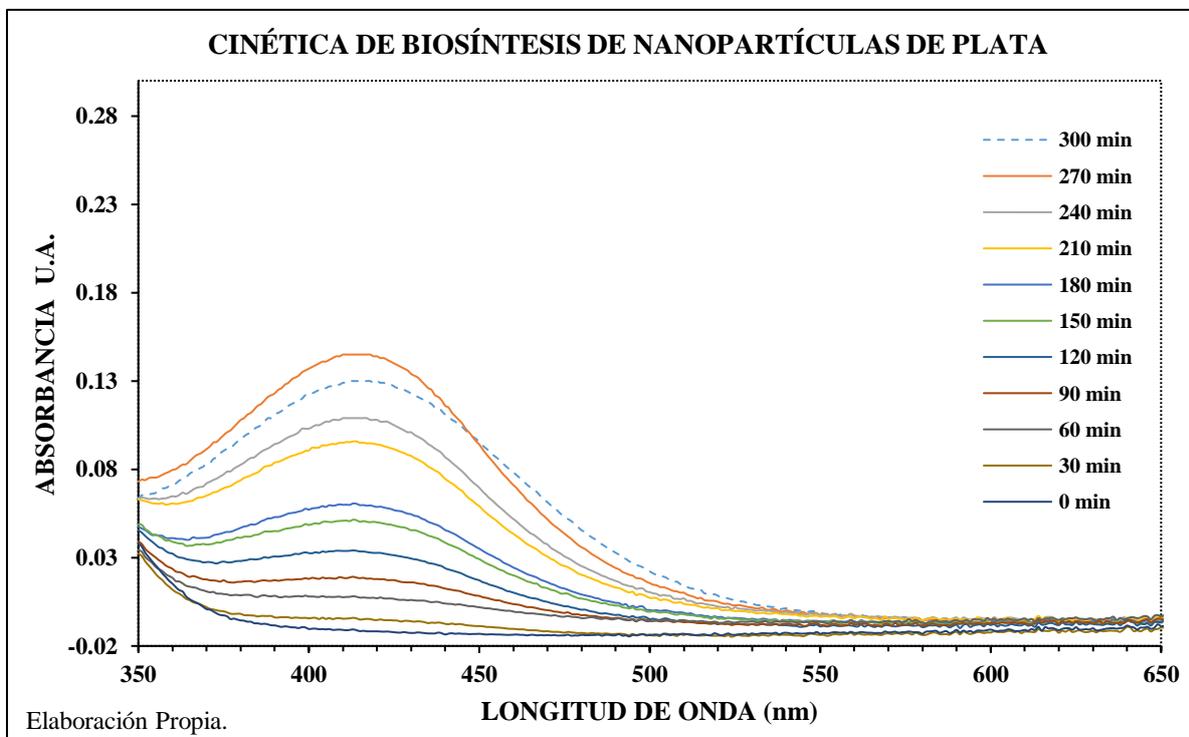


Figura 17. Experimento 8_ Barrido Espectral por UV-VIS de NPs Ag con Fracción Flavonoide de *Lepechinia meyenii*



4.2.2. RESULTADOS EXPERIMENTALES UV-VIS PARA EL DISEÑO PLACKET Y BURMAN (P&B)

Figura 18. Barrido espectral UV-VIS de máxima absorbancia para la biosíntesis de NPsAg, aplicando el Diseño Experimental P&B.

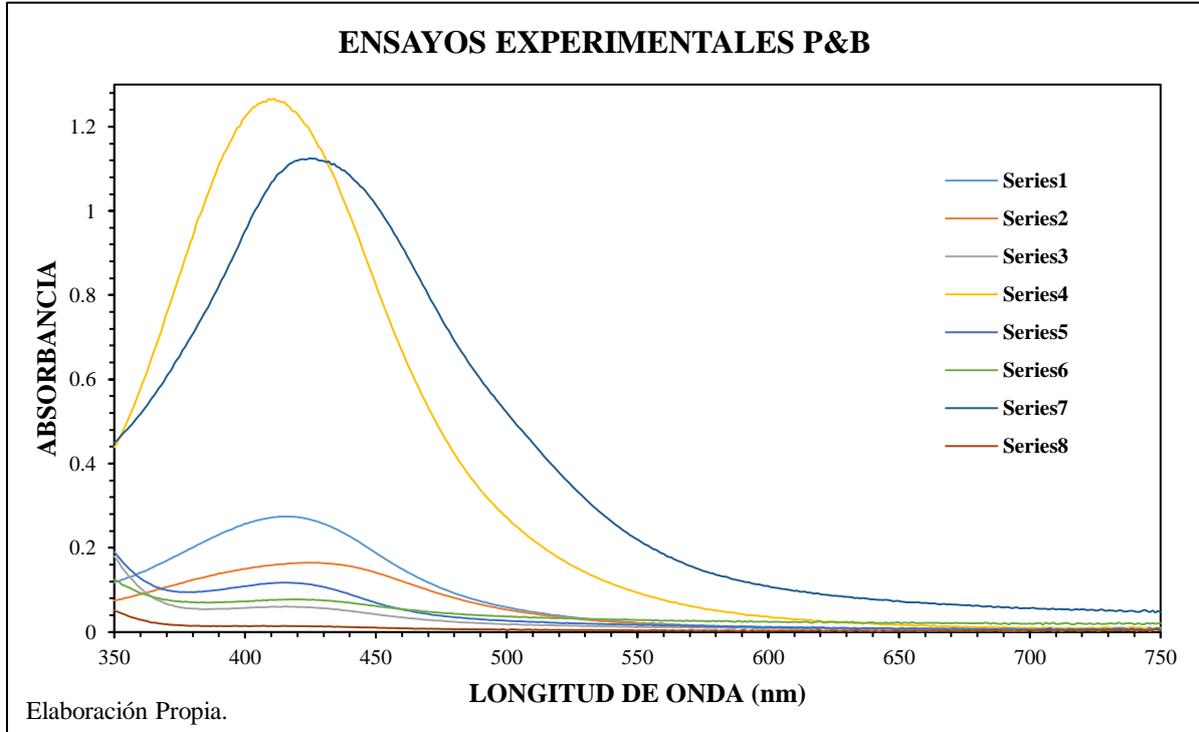


Figura 19. Muestras analizadas por espectrofotometría UV – VIS para P&B

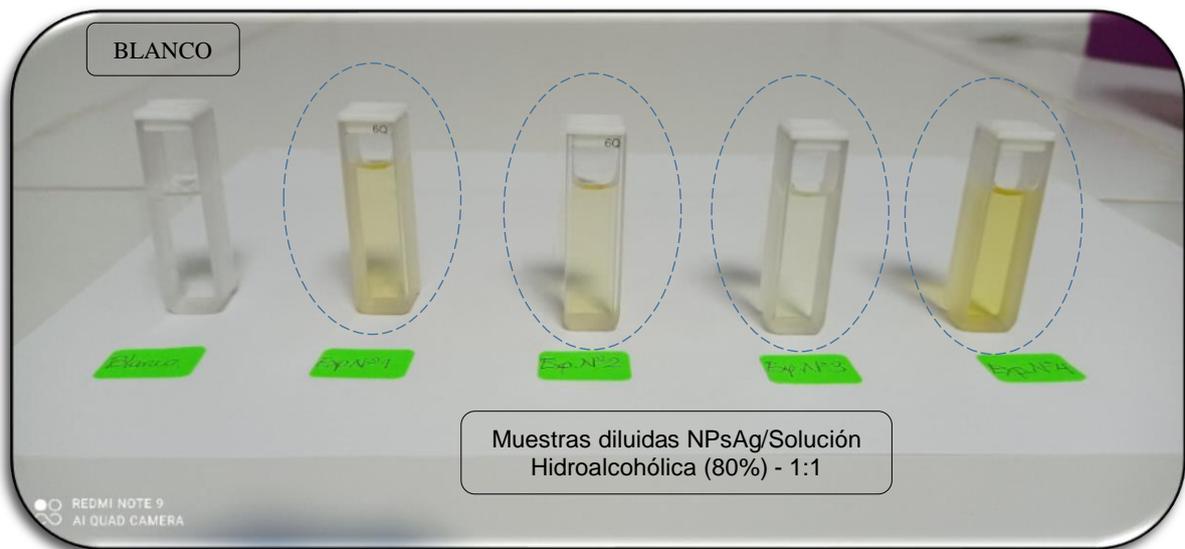
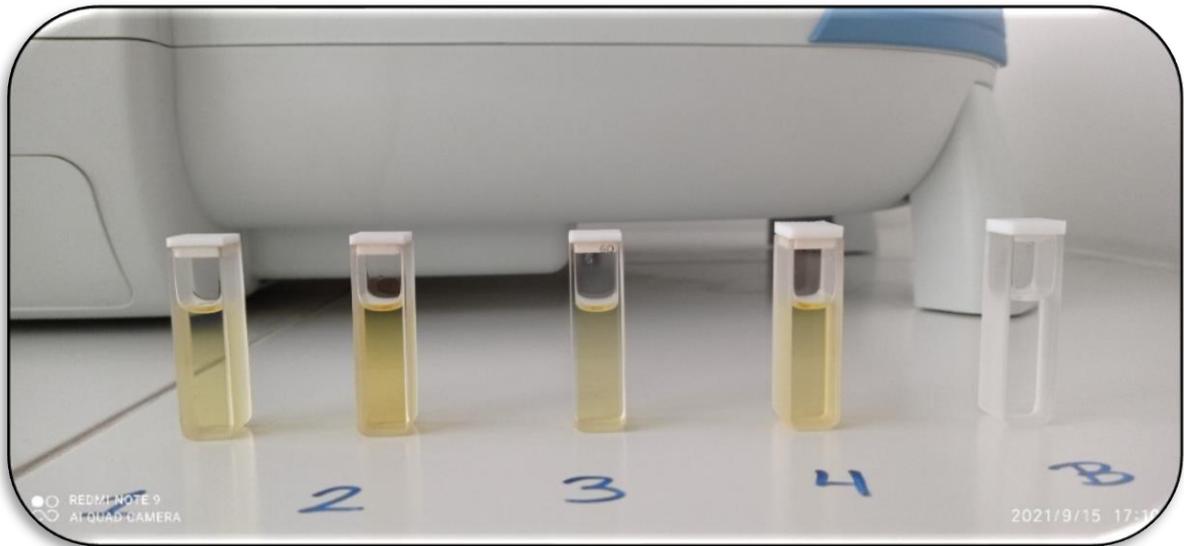
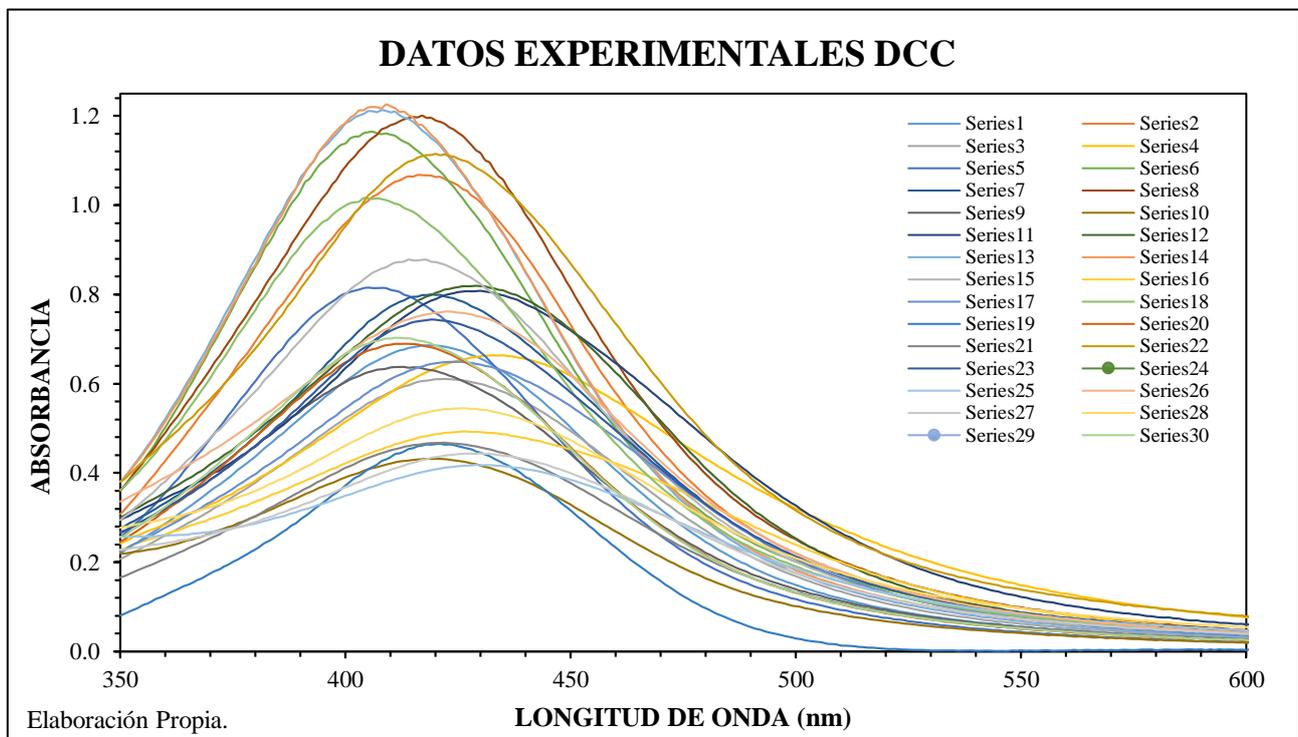


Figura 20. Coloración de las Muestras analizadas por UV – VIS



4.2.3. RESULTADOS EXPERIMENTALES UV-VIS PARA DISEÑO COMPUESTO CENTRAL – DCC

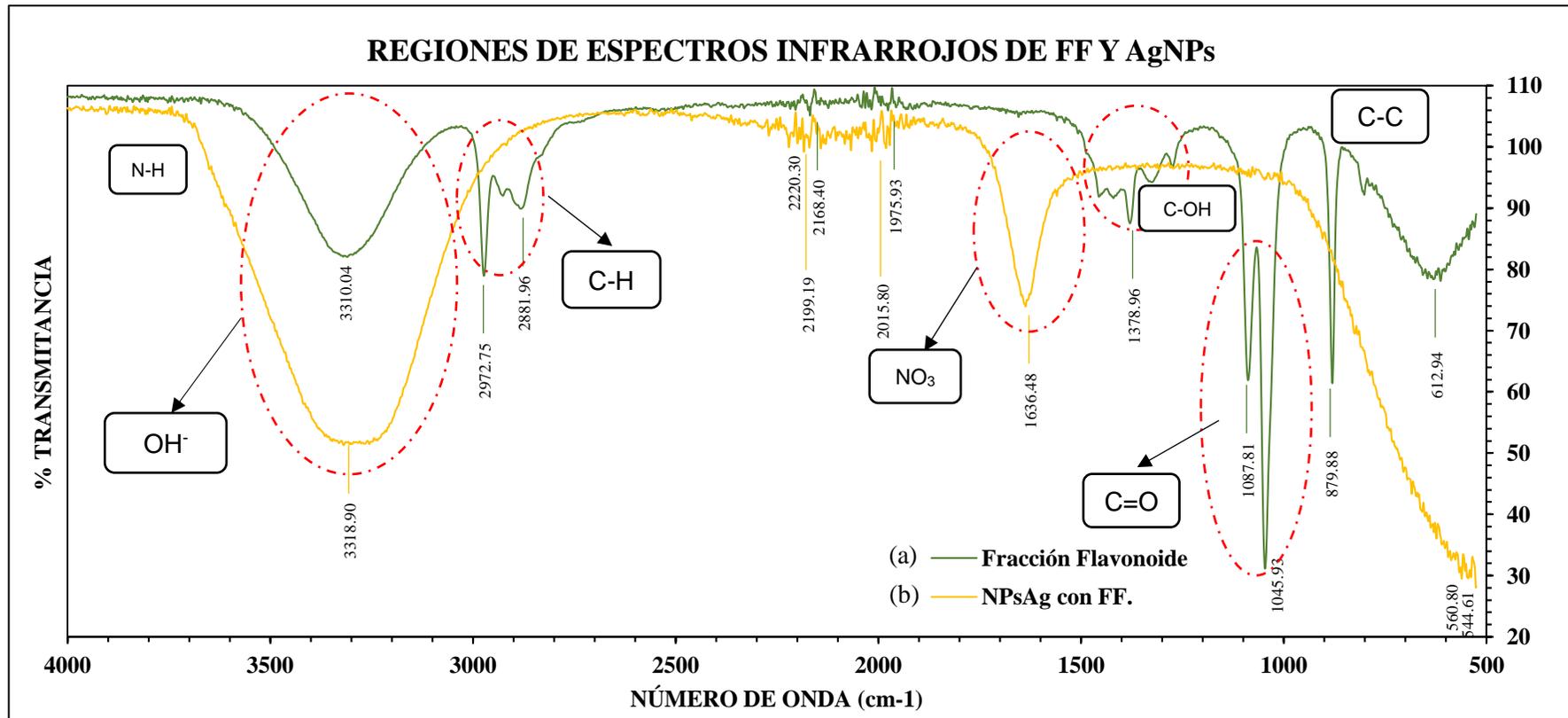
Figura 21. Barrido Espectral UV – VIS de Máxima Absorbancia para la Biosíntesis de NPsAg, aplicando el DCC.



4.3. ESPECTROFOTOMETRÍA FT-IR

Los espectros de absorción FT-IR de AgNPs obtenidas por síntesis verde se estudiaron en el rango de 400 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} como se presenta en la figura 22. Según el análisis cualitativo, podemos identificar una banda ancha alrededor de 3000 cm^{-1} y 3400 cm^{-1} , tanto para los espectros IR (a) y (b), que se deben a la vibración por estiramiento N–H del grupo NH_2 y el grupo O–H de la superposición de vibración de estiramiento atribuida al agua y los compuestos fenólicos presentes. De acuerdo con el trabajo realizado por Escobar Falconi (2015), también se identifica una banda poca intensa alrededor de los 1378.96 cm^{-1} , pertenecientes a las oscilaciones del grupo C–OH. Del espectro (a), correspondiente a la muestra de FF, se observan dos picos definidos en esta región a: 1045.93 cm^{-1} y 1087.81 cm^{-1} , en comparación con el FTIR del espectro (b) de las AgNPs que muestran notorias reducciones o ausencias de estos picos en esta región. Notoriamente se observa en el espectro (b) un pico emergido definido, alrededor de los 1636.48 cm^{-1} debido a la presencia de NO_3 correspondiente a la sal precursora.

Figura 22. Espectro Infrarrojo para la FF y las NPs Ag con FF de la especie vegetal de *Lepechinia meyenii*.



Elaboración Propia.

Notas:

Muestra (a): Fracción Flavonoide (FF) de la especie vegetal de *Lepechinia Meyenii*.

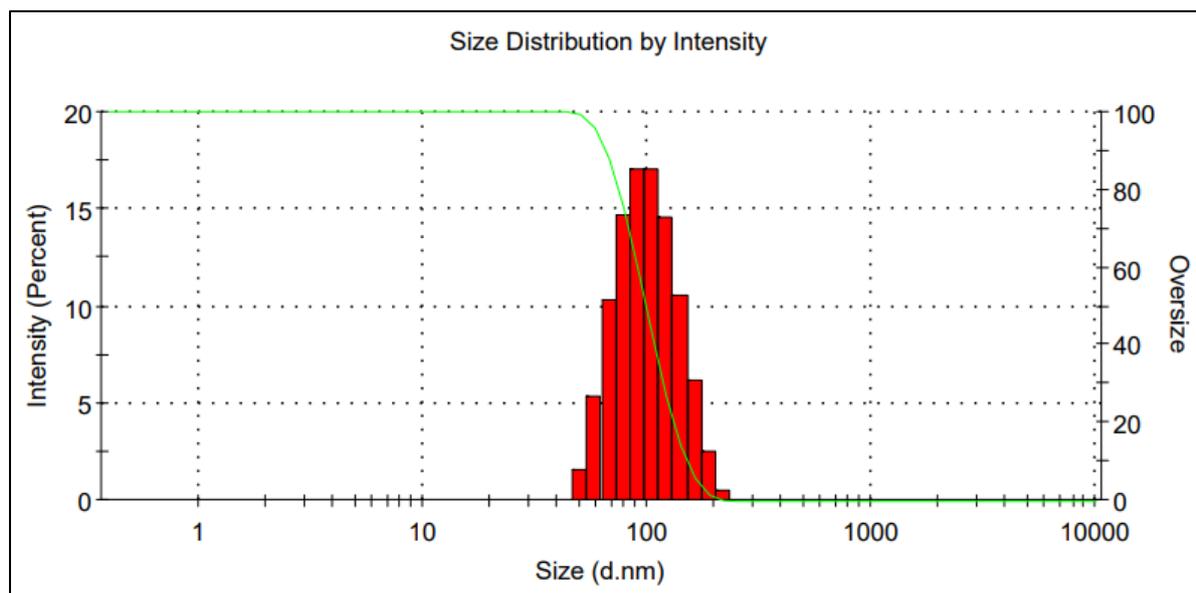
Muestra (b): Nanopartículas de plata con FF.

500 – 4000 cm⁻¹: Región del Infrarrojo Medio.

4.4. DYNAMIC LIGHT SCATERING – DLS

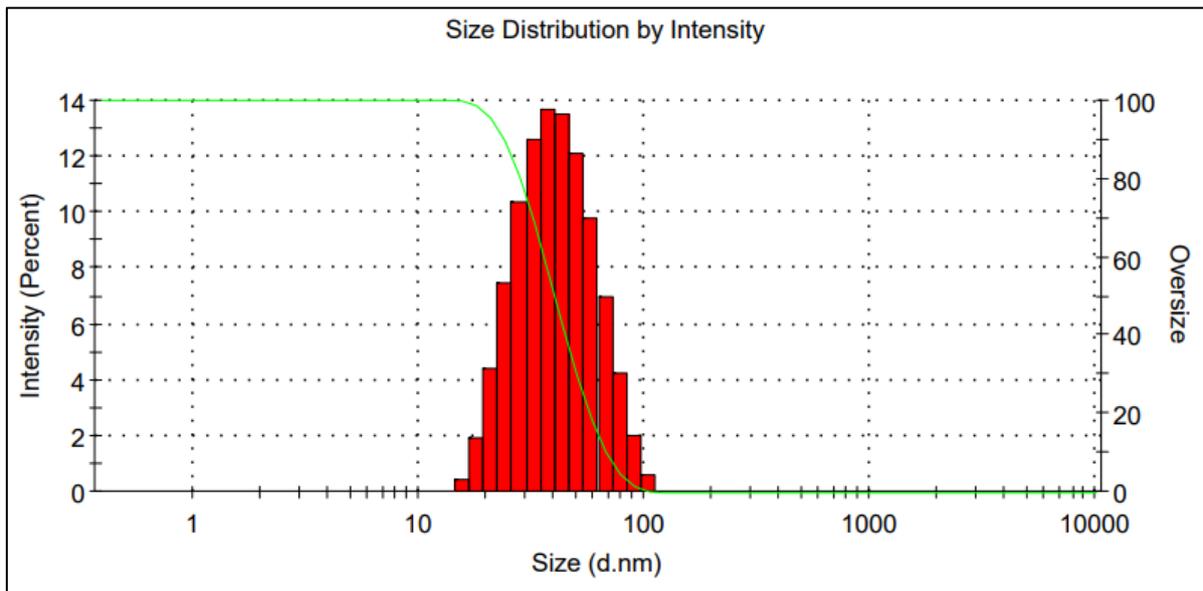
En la figura 23, se presentan los resultados del análisis del tamaño de las AgNPs en suspensión, mediante el análisis por espectrofotometría con el equipo de Dispersión de Luz Dinámica (DLS) de marca: Malvern, modelo: Zetasizer Nano ZS. Se muestra la distribución de tamaño de las nanopartículas de plata biosintetizadas con la Fracción Flavonoide (FF), obtenido por Cromatografía en Columna, a partir del extracto hidroalcohólico al 20% de *Lepechinia meyenii*. En esta figura, se muestra la distribución de tamaño de las NPsAg biosintetizadas, en donde se observa el de % intensidad, con un tamaño de diámetro promedio de 104.4 ± 32.66 nm, este valor cuantitativo representa el mayor porcentaje de tamaño hidrodinámico para la biosíntesis de NPsAg, con un volumen de síntesis de 100 μ l de la Fracción Flavonoide FF. Asimismo, la muestra analizada fue previamente filtrada con un filtro de jeringa desechable de 0.22 μ m de tamaño de poro. En la figura 24, se muestran la distribución de tamaño por DLS de la síntesis de AgNPs con los parámetros de síntesis optimizados aplicando la MRS, partiendo de la fracción flavonoide (FF) del extracto hidroalcohólico al 20 % de *Lepechinia meyenii*. En esta figura se observa un histograma con un % de intensidad máximo (100 %), para una distribución de tamaño con diámetro hidrodinámico promedio de 43.71 ± 17.37 nm.

Figura 23. Diámetro Hidrodinámico De NPsAg usando la Fracción Flavonoide De La Especie Vegetal *Lepechinia Meyenii*.



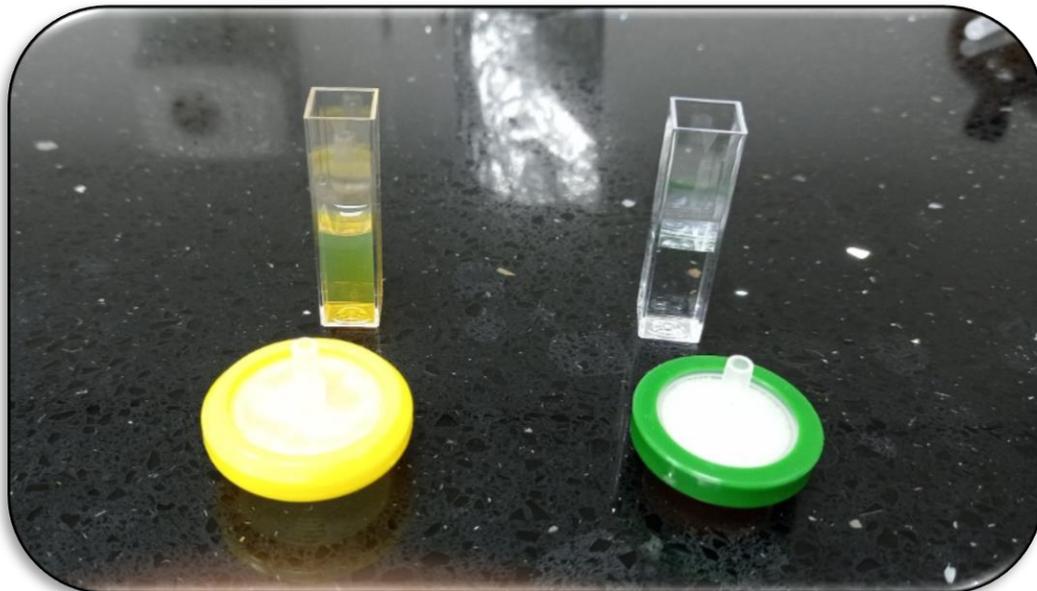
Fuente: Resultados de DLS – LAPCINANO_UNSA

Figura 24. Diámetro Hidrodinámico De NPsAg usando La Fracción Flavonoide De La Especie Vegetal *Lepechinia Meyenii*, en condiciones optimizadas.



Fuente: Resultados de DLS – LAPCINANO_UNSA

Figura 25. Muestra de AgNPs Filtrada por 0.22 μm para DLS

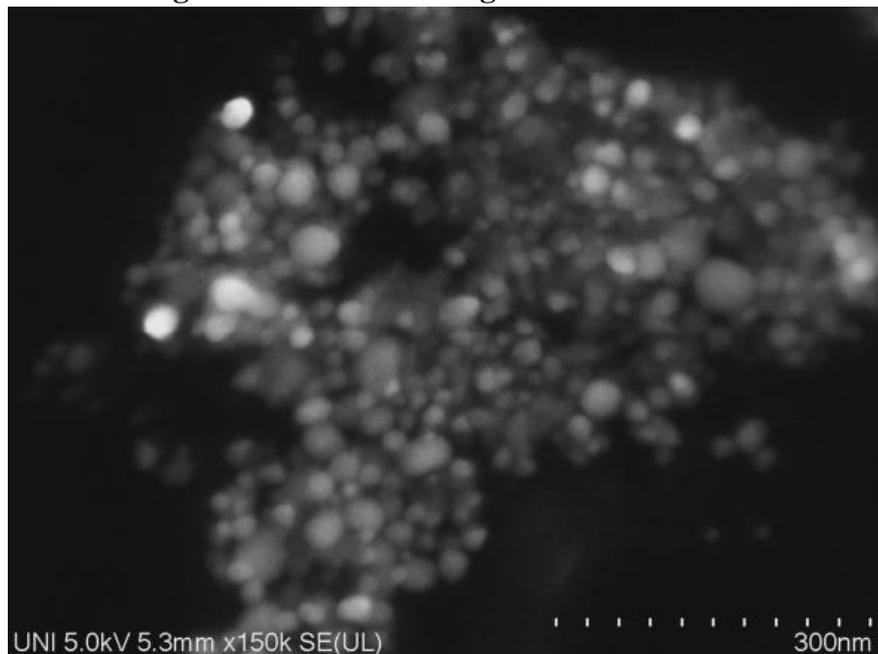


4.5. MICROSCOPIA DE BARRIDO ELECTRÓNICO FE-SEM

4.5.1. ANÁLISIS MORFOLÓGICO

Las micrografías adjuntas (Figura 26), presenta la morfología de las nanopartículas, a través de vistas desde las cuales se pueden observar y medir que estas se encuentran en su mayoría por debajo de los 60 nm, los que se observa de las diversas capturas, luego de las cuales se procederá a seleccionar alguna zona específica para realizar el estudio con mayor detalle. (ver informe de resultados). A pesar del tratamiento con ultrasonido, las partículas se observan conglomeradas, que a experiencia de los analistas se debería a la carga superficial electrostática de las nanopartículas, pues no se observa una unión estructural entre las partículas, que muestran bordes definidos.

Figura 26. Micrografía del coloide de AgNPs con tamaños menores a 60 nm



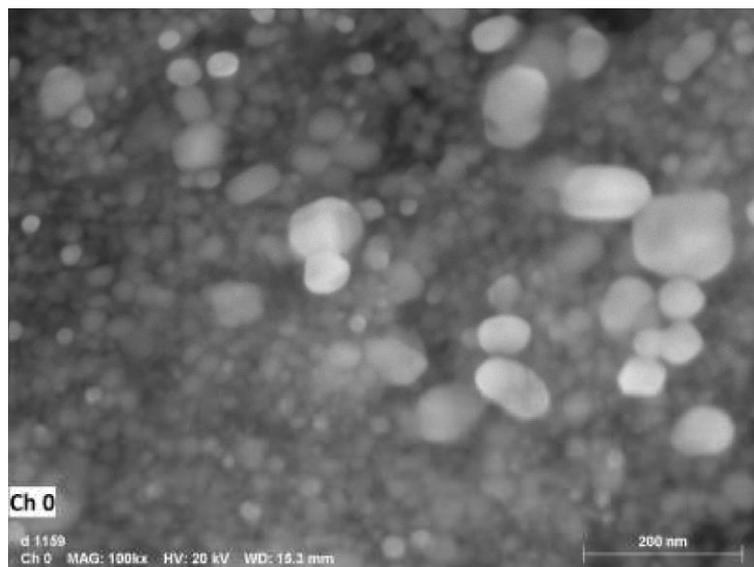
Fuente: Resultados de SEM_ Laboratorio de Microscopia Electrónica_UNI.

4.5.2. ANÁLISIS COMPOSICIONAL

Se procede entonces a realizar el análisis por sonda EDS (Figura 27), para identificar los elementos presentes en la muestra. Desde el punto de vista composicional, el análisis EDS, revela una presencia importante de Ag, lo que corrobora que son nano partículas de Plata y de acuerdo a las mediciones realizadas, una presencia atómica de Ag del $52.91 \pm 1.82 \%$ y del $39.18 \pm 1.06 \%$. Se observa la presencia de Sodio, Silicio, Aluminio, pero sus niveles de

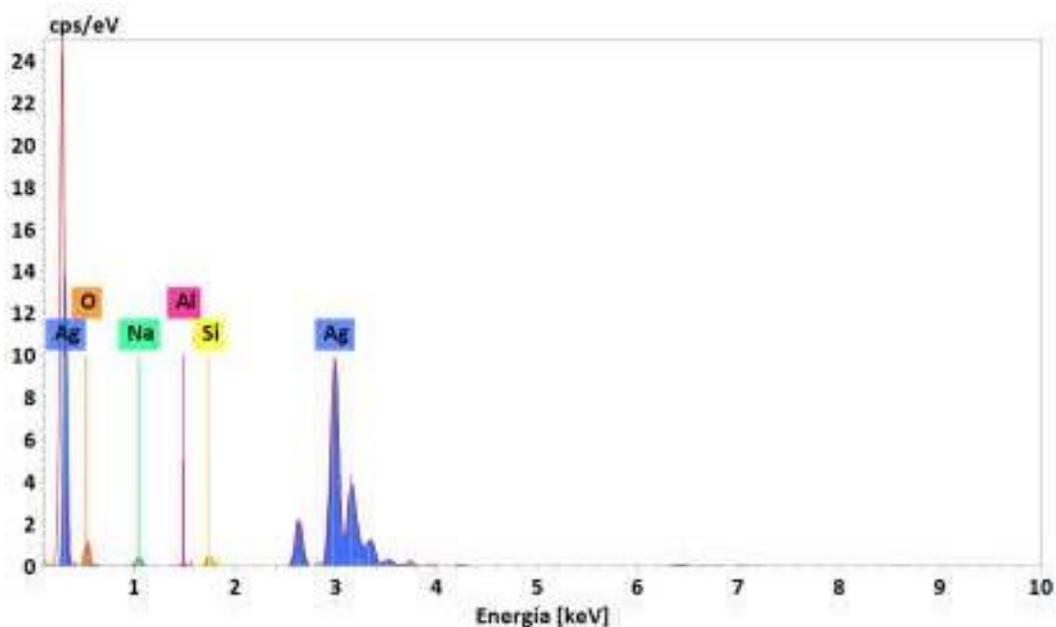
concentración son muy bajos, por lo que deben ser desechos de los insumos químicos utilizados en el proceso de obtención de las nanopartículas y el Oxígeno presente, potencialmente debido a procesos de oxidación de las nanopartículas. A continuación, en la Figura 27, se muestra la zona de análisis para la medición y el cuadro de cuantificación de los elementos presentes. (Ver informe de resultados) y la Figura 28 se presenta el análisis de cuantificación por EDS.

Figura 27. Zona de Análisis para la identificación por EDS



Fuente: Resultados de SEM_ Laboratorio de Microscopia Electrónica_UNI.

Figura 28. Análisis de cuantificación por EDS



Fuente: Resultados de SEM_ Laboratorio de Microscopia Electrónica_UNI.

4.6. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE BIOSÍNTESIS USANDO LA MSR

4.6.1. ETAPA I: SCREENING - ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL MULTIPLE

4.6.1.1. IDENTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES DEL PROCESO DE BIOSÍNTESIS DE NPsAg

En la tabla 4, se resume el número total de variables, identificados para el proceso de biosíntesis de NPs Ag, con Fracción Flavonoide (NPAg-FF); a partir del Extracto Hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* al 20% - EH. Asimismo, el número de variables identificadas para el proceso fueron un total de 5 variables; es decir K (número de factores) es igual a 5. Asimismo, en la tabla 4 se denotan las variables independientes con su denominación y unidades físicas respectivas; también se presentan los niveles tanto superior, inferior y central, para cada una de las variables en la escala codificada, determinada con +1, para el nivel superior y -1 para el nivel inferior. También, se categoriza a la variable dependiente como la respuesta de proceso o también llamada “Función Objetivo”. La variable dependiente (respuestas del proceso de biosíntesis) se definió por la absorbancia para un punto fijo de longitud de onda (λ) en nm para un barrido espectral obtenido por espectrofotómetro UV-VIS; siendo así, la absorbancia máxima del espectro se definió para una longitud de onda fija de 411 nm, como se explica en el siguiente cuadro.

Tabla 4. Codificación de las Variables Identificadas del Proceso de Biosíntesis de NPsAg

DENOMINACIÓN DE LOS FACTORES			NIVELES		
N°	VARIABLES INDEPENDIENTES	UNIDADES	-1	0	+1
1	X1: Velocidad de Agitación	RPM	300	600	900
2	X2: Potencial de Hidrógeno	pH	8	9	10
3	X3: Tiempo de Síntesis	min	240	285	330
4	X4: Temperatura de Síntesis	°C	45	50	55
5	X5: Volumen de la FF	uL	50	125	200
	VARIABLE DEPENDIENTE	UNIDAD	RESTRICCIÓN		
1	Y1: Absorbancia Max. (411 nm)	u.a	Absorbancia (411 nm)		

Elaboración Propia.

4.6.1.2. PLANIFICACIÓN Y DISEÑO EXPERIMENTAL DOE – DFF P&B

En la tabla 5, se presenta el “Diseño Factorial Fraccionado P&B”, representada por la matriz 8X8 de elementos codificados. La matriz del diseño experimental se presenta a escala codificada; donde se observan el número total de ensayos (N), las variables independientes

identificadas (X_i), las variables ficticias (F_i); las cuales están predeterminadas para establecer la ortogonalidad del diseño, y además se presenta la variable dependiente (Y), como la respuesta del diseño experimental, o también denominada “Función Objetivo”, que fueron tomadas por cada ensayo experimental. La variable dependiente (respuestas del diseño), están determinados con valores adimensionales – que representan las lecturas de Absorbancia a 411 nm, mediante el Espectrofotómetro UV-VIS de la marca Thermo Scientific, modelo Evolution 220 del Laboratorio de Preparación, Caracterización e Identificación de Nanomateriales – LAPCINANO de la UNSA. Asimismo, en la tabla 7, se presentan los resultados de absorbancia obtenidos de acuerdo al orden de ensayos estadísticos experimentales. En la parte inferior del cuadro también se muestran: **a)** la sumatoria de la matriz X_j por cada columna, que van estableciendo el principio de ortogonalidad del diseño y **b)** los efectos calculados para cada variable independiente para la determinación de la significancia de las variables en el proceso.

DISEÑO EXPERIMENTAL FACTORIAL FRACCIONADO PLACKETT & BURMAN P&B

Tabla 5. Indicadores de Nivel, Diseño y Planificación Experimental - Predeterminado P&B

N°	ESCALA NATURAL							ESCALA CODIFICADA								RESPUESTA
	Z1	Z2	Z3	F1	Z4	Z5	F2	X0	X1	X2	X3	F1	X4	X5	F2	Y (ABS 411nm)
1	35	35	50	-	50	0.6	-	+1	+1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	0.272530
2	35	30	60	-	50	0.4	-	+1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	+1	0.170696
3	30	35	60	-	40	0.4	-	+1	+1	-1	+1	-1	-1	+1	+1	0.060341
4	35	35	60	-	40	0.4	-	+1	-1	+1	-1	-1	+1	+1	+1	1.253220
5	35	35	50	-	40	0.6	-	+1	+1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	0.117440
6	35	30	50	-	50	0.4	-	+1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	0.076249
7	30	30	50	-	40	0.6	-	+1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	-1	1.070000
8	30	30	60	-	50	0.6	-	+1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0.013538
SUMA	-	-	-	-	-	-	-	+8	0	0	0	0	0	0	0	

Elaboración Propia.

Notas:

Xi: Denotación de las variables independientes del proceso a escala codificada.

Zi: Denotación de las variables independientes del proceso a escala natural.

Fi: Denotación de las variables ficticias del diseño experimental P&B.

Y: Variables respuesta o criterio de optimización (Resonancia del Plasmón de Superficie - RPS de las Nanopartículas de Plata Ag), mediante Absorbancia a 411nm.

+1: Nivel alto del diseño experimental a escala codificada.

-1: Nivel bajo del diseño experimental a escala codificada.

4.6.1.3. ANÁLISIS DE SIGNIFICANCIA DE LAS VARIABLES INDEPENDIENTES

En los diseños *Plackett y Burman* (P&B) al igual que en los diseños factoriales 2K, los fraccionados, etc; el cálculo de los efectos, suma de efectos y la media de la suma de efectos, definidos por las ecuaciones 4.1, 4.2, y 4.3.

A. Cálculo de efectos de las variables

El cálculo de los efectos para las variables independientes de nuestro proceso de biosíntesis de AgNPs, se ha determinado, para conocer a nivel cuantitativo, cuanto afectan estadísticamente las variables del proceso en los resultados experimentales. Estos valores se definen como la diferencia entre los valores medios de las respuestas, cuando en los tratamientos respectivos la variable se encuentra en su nivel inferior (-1) y su nivel superior (+1). El significado físico del cálculo de los efectos, es para ver como varía la respuesta al cambiar un factor (variable independiente) de su nivel inferior al superior. La ecuación para el cálculo de los efectos, está representada matricialmente es la siguiente fórmula:

$$E_x = \frac{2([X]^T[Y])}{Nr} \quad (4.1)$$

Dónde: X : Matriz de variables independientes.

N : Número de pruebas experimentales.

r : Numero de grados de libertad por cada factor.

Aplicando la ecuación, realizamos los cálculos correspondientes para: $N = 8$; y $r = 1$, en la siguiente tabla 6.

Tabla 6. Cálculo de efectos de las variables.

VARIABLE	$([X]^T[Y])$	$2([X]^T[Y])$	N. R	E_x
X_0	2.906365	5.81273	8	0.726591
X_1	-1.705551	-3.411102	8	-0.426388
X_2	2.405327	4.810654	8	0.601332
F_1	0.037777	0.075554	8	0.009444
X_3	-0.092893	-0.185786	8	-0.023223
X_4	0.298415	0.59683	8	0.074604
X_5	1.875637	3.751274	8	0.468909
F_2	-0.020651	-0.041302	8	-0.005163

Elaboración Propia.

**DISEÑO EXPERIMENTAL FACTORIAL FRACCIONADO PLACKETT & BURMAN P&B
ANÁLISIS DE REGRESION LINEAL MÚLTIPLE**

Tabla 7. Diseño Factorial Fraccionado P&B y Efecto de Variables.

ENSAYO	VARIABLES INDEPENDIENTES CODIFICADAS (Xi)								
Nº	X0	X1	X2	F1	X3	X4	X5	F2	Y
1	1	1	1	1	-1	1	-1	-1	0.272530
2	1	1	1	-1	1	-1	-1	1	0.170696
3	1	1	-1	1	-1	-1	1	1	0.060341
4	1	-1	1	-1	-1	1	1	1	1.253220
5	1	1	-1	-1	1	1	1	-1	0.117440
6	1	-1	-1	1	1	1	-1	1	0.076249
7	1	-1	1	1	1	-1	1	-1	1.070000
8	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0.013538
SUMA	8	0	0	0	0	0	0	0	
EFFECTOS	0.726591	-0.42638	0.601332	0.009444	-0.023223	0.074604	0.468909	-0.005163	

Elaboración Propia.

4.6.1.4. ANÁLISIS DE VARIANZA Y EVALUACIÓN DE SIGNIFICANCIA DE LAS VARIABLES INDEPENDIENTES

En la tabla 12, se evalúan la significancia de cada una de las variables independientes (X_i) para el proceso de Biosíntesis de Nanopartículas de plata NPAg. Se efectúan los cálculos para la determinación de los efectos de cada variable; también, se establecen los grados de libertad, el cálculo de la Suma de Cuadrados (SS) y la Media de la Suma de Cuadrados (MS). Seguidamente se desarrolla un Test de Fisher con el estadístico F(tablas), al 95% de nivel de significancia, además de 1 y 2 grados de libertad, determinados por las variables y error del diseño respectivamente. La evaluación de significancia para las variables del proceso de biosíntesis de nanopartículas de plata con Fracción Flavonoide NPAg – FF, a partir del Extracto Hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* al 20% - EH, se determina mediante el estadístico de Fisher; donde las variables resultan siendo significativas para $F^o > F(\text{tablas})$. Por lo tanto en la tabla 12, se han desarrollado los cálculos respectivos para el análisis de varianza y la significancia de las variables; en consecuencia la evaluación del Test de Fisher con el estadístico respectivo, ha determinado que del total de factores evaluados (5 variables) del proceso de biosíntesis de AgNPs, se encontró que las 5 variables iniciales resultaron tener una alta significancia para el proceso de biosíntesis; siendo estas variables con mayor efecto significativo para el diseño experimental DOE aplicado: a) X1: velocidad de agitación, b) X2: pH de síntesis; c) X4: Temperatura de síntesis y d) X5: volumen de Fracción Flavonoide.

En esta sección trataremos de aplicar de manera sintética los conceptos para el análisis de los datos y el cálculo respectivo de nuestro diseño experimental.

A. Cálculo de la Suma de Cuadrados de los Efectos (SCE)

El cálculo de la SCE_x es dependiente del tipo de diseño experimental aplicado, en nuestro caso viene definido matricialmente por la siguiente ecuación presentada.

$$SCE_{xij} = \frac{([X]^T[Y])^2}{Nr} \quad (4.2)$$

Dónde: $[X]^T[Y]$: Producto de la matriz transpuesta de variables independientes, por la matriz de resultados.

N : Número de pruebas experimentales.

r : Grados de libertad por cada factor.

Seguidamente desarrollaremos los cálculos estadísticos para la SCE, de los efectos para

cada variable independiente del proceso de biosíntesis de NPsAg, para $N = 8$ y $r = 1$. A continuación, los resultados de este cálculo estadístico se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 8. Cálculo de Suma de Cuadrados para los Efectos

VARIABLE	$([X]^T[Y])$	$([X]^T[Y])^2$	N. R	SCE_{XIJ}
X ₀	2.906365	8.446957	8	1.055869
X ₁	-1.705551	2.908904	8	0.363613
X ₂	2.405327	5.785598	8	0.723200
F ₁	0.037777	0.001427	8	0.000178
X ₃	-0.092893	0.008629	8	0.001079
X ₄	0.298415	0.089051	8	0.011131
X ₅	1.875637	3.518014	8	0.439752
F ₂	-0.020651	0.000426	8	0.000053

Elaboración Propia.

B. Cálculo de la Media de la Suma de Cuadrados (MSC efectos)

Para el cálculo de la media de cuadrados, se tienen en cuenta dos términos que se tienen que asumir por cada efecto como nos indica la ecuación 4.3.

$$MSC_{EFECTOS} = \frac{SCE_{Xij}}{r} \quad (4.3)$$

Dónde: SCE_{Xij} : Suma de cuadrados de los efectos.

r : Grados de libertad por cada efecto.

El cálculo de este término, es indispensable para el análisis de varianza del proceso estadístico. Para el cálculo de los MSC se toma en cuenta el efecto y el grado de libertad para cada factor o variable independiente, como se muestra en la siguiente tabla 9:

Tabla 9. Cálculo de la Media de la Suma de Cuadrados de los Efectos

VARIABLE	SCE_{XIJ}	R	MSCE
X ₀	1.055869	-	1.055869
X ₁	0.363613	1	0.363613
X ₂	0.723200	1	0.723200
F ₁	0.000178	1	0.000178
X ₃	0.001079	1	0.001079
X ₄	0.011131	1	0.011131
X ₅	0.439752	1	0.439752
F ₂	0.000053	1	0.000053

Elaboración Propia.

C. Cálculo de la Suma de Cuadrados del Error (SCe)

Para la estimación de la suma de cuadrados del error del sistema se emplean las variables ficticias (Fi), añadidas en el diseño P&B. Para ello, se hace una estimación de los efectos, los cuales según teoría deben ser nulos, de no ser así, es de suponer que su valor se debe puramente al error experimental. La suma de cuadrados del error está dada por la siguiente ecuación:

$$SCe = \sum (E_f)^2 \quad (4.4)$$

Dónde: E_f : Efecto de variables ficticias.

A continuación, en la tabla 10, se presenta el cálculo para la suma de cuadrados del error (SCe), el error del diseño esta atribuido al efecto de las variables ficticias:

Tabla 10. Cálculo de la Suma de Cuadrados del Error

VAR. FICTICIAS	E_f	$(E_f)^2$
F ₁	0.009444	0.00008919
F ₂	-0.005163	0.00002657
SCE		0.00011585

Elaboración Propia.

El valor de la SCe, según el cálculo desarrollado en la tabla 10., es igual a 0.00011585, siendo un valor de error muy despreciable. Por lo tanto, el efecto de las variables ficticias (F), resulta no significativo, para el análisis de varianza de los datos experimentales del diseño factorial P&B.

D. Cálculo de la Media de la Suma de Cuadrados del Error (MSCe)

El cálculo de la media de cuadrados del error se efectúa dividiendo SCe entre el # de variables ficticias del diseño factorial P&B, definida por la siguiente ecuación:

$$MSCe = \frac{SCE}{nf} \quad (4.5)$$

Donde: nf : Número de variables ficticias del diseño P&B.

A continuación, efectuamos el cálculo de la relación de estos dos valores:

$$MSCe = \frac{0.00011585}{2} = 0.000057925$$

E. Análisis de Significancia de las variables mediante el test de Fisher “F”

Estadísticamente la significancia de las variables se determina, mediante el *Teorema de Cochran*, para la cual, podemos resumirlo con la siguiente expresión estadística:

$$F_o = \frac{SCE_{Xij}/f_1}{SCe/f_2} = \frac{MSCE_{EFECTOS}}{MSCe_{ERROR}} \quad (4.6)$$

Dónde: MSCE: Media de la suma de cuadrados de los efectos

MSCe: Media de la suma de cuadrados del error

f_1 : Grados de libertad de efectos, generalmente igual a 1.

f_2 : Grados de libertad de la suma de cuadrados del error.

La ecuación 4.6, está definida por el desarrollo de los siguientes cálculos en que se detallan en la tabla 11:

Tabla 11. Cálculo del Estadístico Fisher F_o

VARIABLES	SCM _{EFECTOS}	SCM _{ERROR}	F_o
X ₀	1.055869	0.00005792	18229.7825
X ₁	0.363613	0.00005792	6277.374714
X ₂	0.723200	0.00005792	12485.249735
X ₃	0.000178	0.00005792	3.079732
F ₁	0.001079	0.00005792	18.621346
X ₄	0.011131	0.00005792	192.172526
X ₅	0.439752	0.00005792	7591.832272
F ₂	0.000053	0.00005792	0.920268

Elaboración Propia.

Ahora, el efecto de una variable significativa, se determina si cumple la siguiente relación, según el estadístico Fisher. Ver anexo de tablas estadísticas F.

$$F_o \geq F_{\alpha, f_1, f_2} \quad (4.7)$$

Donde: F_{α, f_1, f_2} : F de tablas según la distribución Fisher.

α : nivel de confiabilidad o significancia.

Por lo tanto, para el análisis de varianza, se han asumidos los siguientes valores para el análisis de significancia, según el test de F, que se detallan a continuación en la tabla 12.

ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE

Tabla 12. Análisis de Varianza y Significancia de las Variables Independientes del Proceso de Biosíntesis de NPsAg

VARIABLE	PRODUCTO DE MATRICES	EFFECTOS	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA DE CUADRADOS	TEST FISHER (SIGNIFICANCIA 95%, P = 0.05)		
	$[X]^T[Y]$	E	SC	G.L	MSC	F _o	F _{TABLAS} (0.05; 1; 2)	EVALUACIÓN
X0	2.906365	0.726591	1.055869	-	-	-	18.51	-
X1	-1.705551	-0.426388	0.363613	1	0.363613	6277.374714		SIGNIFICATIVO
X2	2.405327	0.601332	0.723200	1	0.723200	12485.249735		SIGNIFICATIVO
F1	0.037777	0.009444	0.000178	1	0.000178	3.079732		NO SIGNIFICATIVO
X3	-0.092893	-0.023223	0.001079	1	0.001079	18.621346		SIGNIFICATIVO
X4	0.298415	0.074604	0.011131	1	0.011131	192.172526		SIGNIFICATIVO
X5	1.875637	0.468909	0.439752	1	0.439752	7591.832272		SIGNIFICATIVO
F2	-0.020651	-0.005163	0.000053	1	0.000053	0.920268		NO SIGNIFICATIVO
ERROR	-	-	0.000115849	2	0.000058	1		
TOTAL	-	-	-	9	-	-		

Elaboración Propia.

4.6.1.5. REPRESENTACIÓN DEL MODELO ESTADÍSTICO MULTIFACTORIAL DE PRIMER ORDEN

Mediante resoluciones matriciales y haciendo uso del método de Gauus Jordan, se pueden desarrollar diversos sistemas matriciales, para el cálculo de los coeficientes del modelo estadístico lineal multifactorial, respecto a las variables significativos del proceso de biosíntesis de NPsAg. De esta forma resolviendo los sistemas matriciales obtenidos, es posible calcular los valores de respuesta estimados (Y), del cual se puede obtener y diseñar a partir de estos valores. De este modo, el modelo estadístico lineal múltiple, está representado a continuación con los valores codificados por la siguiente ecuación 4.8.

$$Y = 0.3792 - 0.2240 X_1 + 0.3124 X_2 + 0.0506 X_4 + 0.2460 X_5 + e \quad (4.8)$$

4.6.1.6. ANÁLISIS DE RESIDUALES Y VALIDACIÓN DE MODELO ESTADÍSTICO LINEAL MÚLTIPLE

Mediante el análisis de residuales para los valores de respuesta experimentales y los valores estimados del modelo estadístico, es posible evaluar la validez del modelo lineal multifactorial propuesto mediante la ecuación 4.8. Por lo tanto, mediante el análisis de residuales y el test de Fisher, para una significancia de 0.05 y para 1 y 2 grados de libertad, se obtuvo un estadístico de F según tablas igual a 19.53, siendo este valor mayor al Fo calculado igual a 1, por lo tanto, el modelo estadístico de primer orden se ajusta adecuadamente a los datos experimentales. Siendo así, el modelo estadístico representado por la ecuación 4.8 resulta ser válido.

A continuación, la tabla 13 resume los valores obtenidos para la determinación de la validez del modelo lineal multifactorial, que fue obtenido mediante el análisis de significancia del diseño experimental P&B.

ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE

Tabla 13 Análisis de Residuales y Validación del Modelo Estadístico Lineal Multifactorial del Proceso de Biosíntesis de NPsAg

N°	MATRIZ [X _i] DE EFECTOS SIGNIFICATIVOS						MATRIZ [B _j] DE COEFICIENTES	ESTIMADO	EXPERIMENTAL	RESIDUAL		TEST FISHER (SIG. 95%)		
								MATRIZ [X] [*] [B _j]	ABS (411 nm)					
	X ₀	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	B _j	Y	Y ₁	Y - Y ₁	(Y - Y ₁) ²	F ₀	F _{TABLAS}	EVALUACIÓN
1	1	1	1	-1	1	-1	0.363296	0.265227	0.272530	-0.007304	0.000053	1.00	19.53	“EL MODELO ESTADÍSTICO DE 1ER ORDEN ES VÁLIDO”
2	1	1	1	1	-1	-1	-0.213194	0.167400	0.160096	0.007304	0.000053			
3	1	1	-1	-1	-1	1	0.300666	0.058200	0.060341	-0.002141	0.000005			
4	1	-1	1	-1	1	1	-0.011612	1.160524	1.153220	0.007303	0.000053			
5	1	1	-1	1	1	1	0.037302	0.109581	0.107440	0.002141	0.000005			
6	1	-1	-1	1	1	-1	0.234455	0.067059	0.069200	-0.002141	0.000005			
7	1	-1	1	1	-1	1	-	1.062697	1.070000	-0.007304	0.000053			
8	1	-1	-1	-1	-1	-1	-	0.015678	0.013538	0.002141	0.000005			
MODELO ESTADÍSTICO LINEAL MULTIPLE	Y = 0.3633 - 0.2132 X₁ + 0.3007 X₂ - 0.0116 X₃ + 0.0373 X₄ + 0.2345 X₅ + e									SCR *	0.000232	—		
										MSCR **	0.000058	—		

Elaboración Propia.

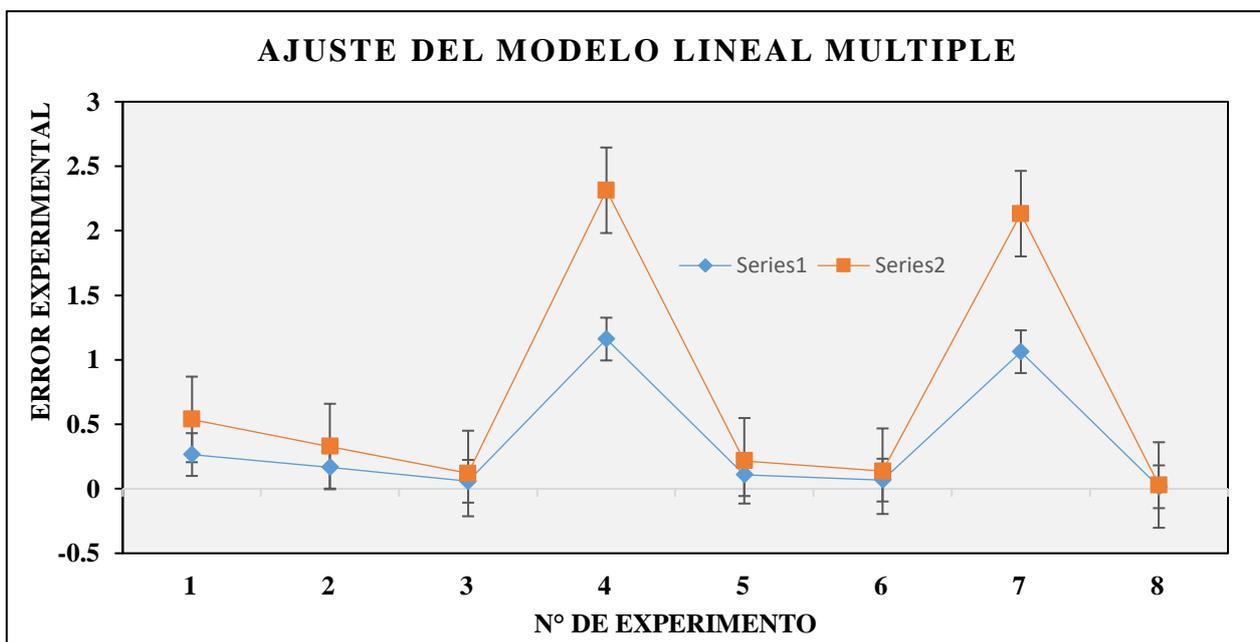
* Suma de Cuadrados de Residuales.

* Suma de Cuadrados de Residuales. ** Media de Cuadrados de Residuales.

** Media de Cuadrados de Residuales.

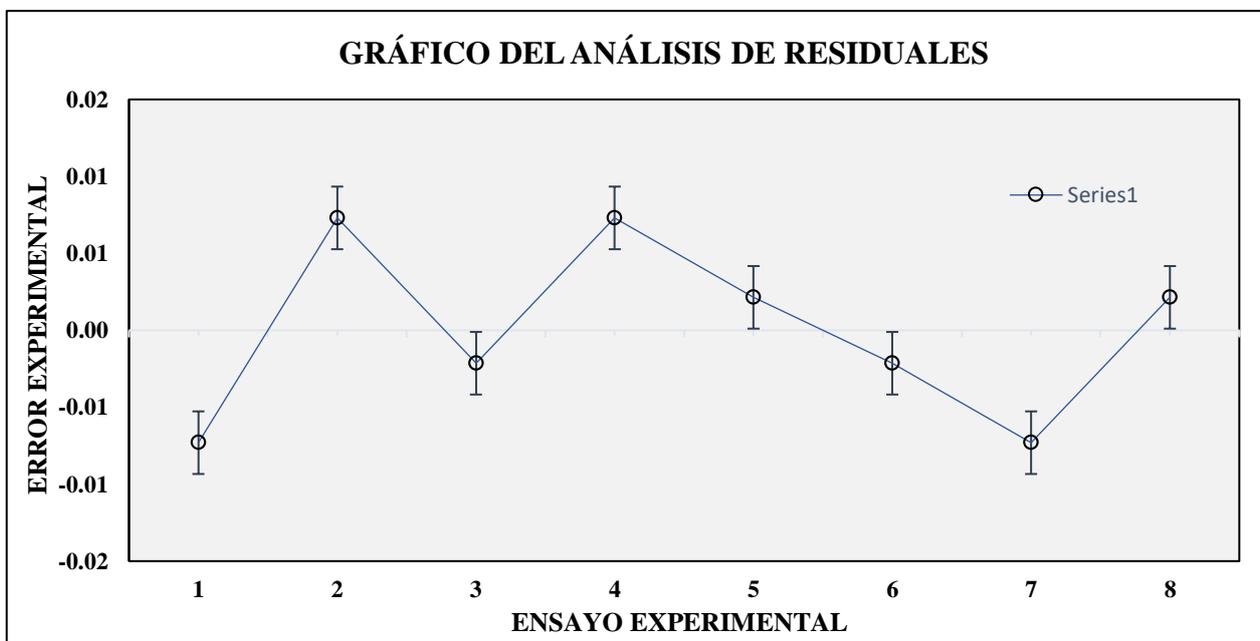
Suma de Cuadrados de Residuales.

Figura 29. Ajuste de los Datos Experimentales y Estimados de Absorbancias (411nm), para la Biosíntesis de NPsAg usando La Fracción Flavonoide de La Especie Vegetal *Lepechinia Meyenii*.



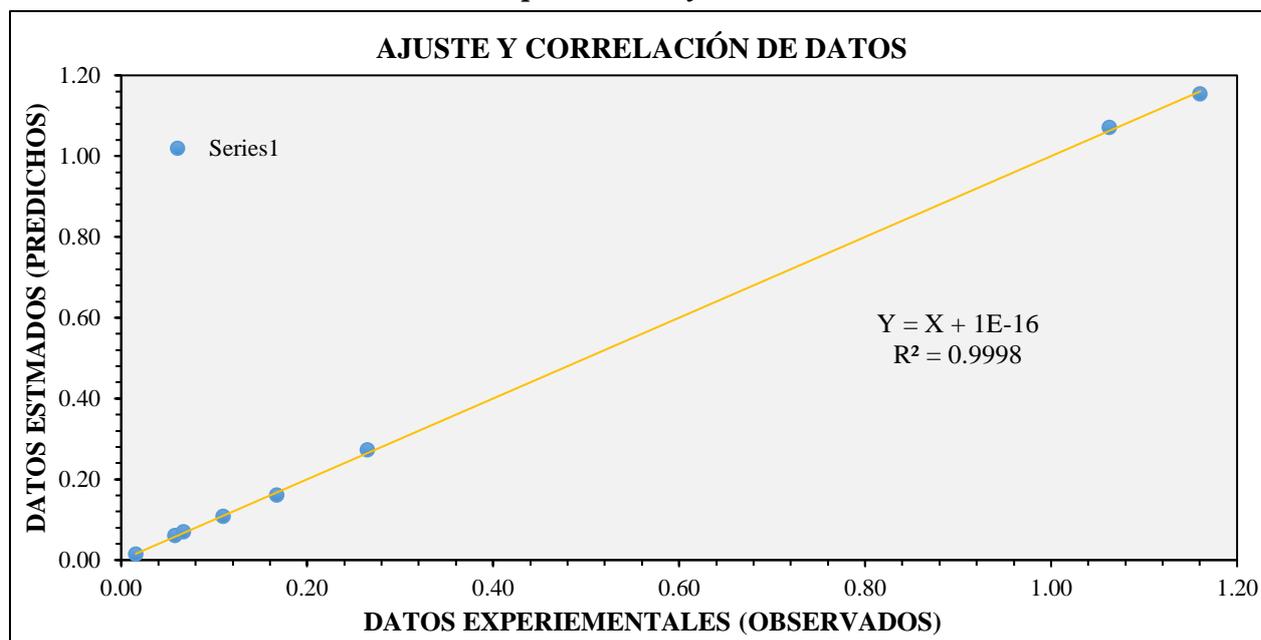
Elaboración Propia.

Figura 30. Análisis de Residuales y Error Experimental del Ajuste de Datos de Absorbancias (411nm), para la Biosíntesis de NPsAg usando La Fracción Flavonoide de La Especie Vegetal *Lepechinia Meyenii*



Elaboración Propia.

Figura 31. Ajuste y Correlación de Datos para el Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg usando La Fracción Flavonoide de La Especie Vegetal *Lepechinia Meyenii*



Elaboración Propia.

4.6.1.7. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL MODELO ESTADÍSTICO LINEAL MÚLTIPLE

En las figuras 32,33,34 y 35, se muestran los gráficos de superficie, denominados también mallas de superficie y son generados por la ecuación 5.8. (ecuación matemática multifactorial de 1er orden, obtenida mediante la primera etapa de la MSR - Screening). Estos puntos, son valores estimados generados por la ecuación 5.8, para modelar el hiperplano de superficie de respuesta con los valores codificados (-1, 0, +1) del diseño experimental PB. Asimismo, los valores generados en la malla o matriz de puntos (tabla 14) están en función de dos variables significativas evaluadas por el diseño experimental, los niveles tanto máximos (+1) y mínimo (-1) de cada variable, son sus valores codificados, a partir del cual se genera un valor de respuesta, que se pueden apreciar en la malla o matriz de puntos, para generar el hiperplano de superficie de respuesta del modelo matemático obtenido.

Las figuras 32 y 33, nos muestran la superficie de respuesta 3D del modelo lineal, para el efecto de la velocidad de agitación y el pH en la Absorbancia a 411 nm. de la biosíntesis de Nanopartículas de Plata con Fracción Flavonoide (NPAg – FF), a partir del Extracto Hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* al 20% - EH.

DISEÑO FACTORIAL FRACCIONADO PLACKETT Y BURMAN – P&B

Tabla 14. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta Estimada del Modelo de 1er Orden, para Escala Codificada

		X ₂ : pH de Síntesis																				
		-1.00	-0.90	-0.80	-0.70	-0.60	-0.50	-0.40	-0.30	-0.20	-0.10	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
X ₁ : Velocidad de Agitación (RPM)	-1.00	0.28	0.31	0.34	0.37	0.40	0.43	0.46	0.49	0.52	0.55	0.58	0.61	0.64	0.67	0.70	0.73	0.79	0.82	0.85	0.88	
	-0.90	0.25	0.28	0.31	0.34	0.37	0.40	0.43	0.46	0.50	0.53	0.56	0.59	0.62	0.65	0.68	0.71	0.74	0.77	0.80	0.83	0.86
	-0.80	0.23	0.26	0.29	0.32	0.35	0.38	0.41	0.44	0.47	0.50	0.53	0.56	0.59	0.62	0.65	0.68	0.71	0.74	0.77	0.80	0.83
	-0.70	0.21	0.24	0.27	0.30	0.33	0.36	0.39	0.42	0.45	0.48	0.51	0.54	0.57	0.60	0.63	0.66	0.69	0.72	0.75	0.78	0.81
	-0.60	0.19	0.22	0.25	0.28	0.31	0.34	0.37	0.40	0.43	0.46	0.49	0.52	0.55	0.58	0.61	0.64	0.67	0.70	0.73	0.76	0.79
	-0.50	0.17	0.20	0.23	0.26	0.29	0.32	0.35	0.38	0.41	0.44	0.47	0.50	0.53	0.56	0.59	0.62	0.65	0.68	0.71	0.74	0.77
	-0.40	0.15	0.18	0.21	0.24	0.27	0.30	0.33	0.36	0.39	0.42	0.45	0.48	0.51	0.54	0.57	0.60	0.63	0.66	0.69	0.72	0.75
	-0.30	0.13	0.16	0.19	0.22	0.25	0.28	0.31	0.34	0.37	0.40	0.43	0.46	0.49	0.52	0.55	0.58	0.61	0.64	0.67	0.70	0.73
	-0.20	0.11	0.14	0.17	0.20	0.23	0.26	0.29	0.32	0.35	0.38	0.41	0.44	0.47	0.50	0.53	0.56	0.59	0.62	0.65	0.68	0.71
	-0.10	0.08	0.11	0.14	0.17	0.20	0.23	0.26	0.29	0.32	0.35	0.38	0.41	0.44	0.47	0.50	0.53	0.57	0.60	0.63	0.66	0.69
	0.00	0.06	0.09	0.12	0.15	0.18	0.21	0.24	0.27	0.30	0.33	0.36	0.39	0.42	0.45	0.48	0.51	0.54	0.57	0.60	0.63	0.66
	0.10	0.04	0.07	0.10	0.13	0.16	0.19	0.22	0.25	0.28	0.31	0.34	0.37	0.40	0.43	0.46	0.49	0.52	0.55	0.58	0.61	0.64
	0.20	0.02	0.05	0.08	0.11	0.14	0.17	0.20	0.23	0.26	0.29	0.32	0.35	0.38	0.41	0.44	0.47	0.50	0.53	0.56	0.59	0.62
	0.30	0.00	0.03	0.06	0.09	0.12	0.15	0.18	0.21	0.24	0.27	0.30	0.33	0.36	0.39	0.42	0.45	0.48	0.51	0.54	0.57	0.60
	0.40	-0.02	0.01	0.04	0.07	0.10	0.13	0.16	0.19	0.22	0.25	0.28	0.31	0.34	0.37	0.40	0.43	0.46	0.49	0.52	0.55	0.58
	0.50	-0.04	-0.01	0.02	0.05	0.08	0.11	0.14	0.17	0.20	0.23	0.26	0.29	0.32	0.35	0.38	0.41	0.44	0.47	0.50	0.53	0.56
	0.60	-0.07	-0.04	-0.01	0.02	0.05	0.09	0.12	0.15	0.18	0.21	0.24	0.27	0.30	0.33	0.36	0.39	0.42	0.45	0.48	0.51	0.54
	0.70	-0.09	-0.06	-0.03	0.00	0.03	0.06	0.09	0.12	0.15	0.18	0.21	0.24	0.27	0.30	0.33	0.36	0.39	0.42	0.45	0.48	0.51
	0.80	-0.11	-0.08	-0.05	-0.02	0.01	0.04	0.07	0.10	0.13	0.16	0.19	0.22	0.25	0.28	0.31	0.34	0.37	0.40	0.43	0.46	0.49
	0.90	-0.13	-0.10	-0.07	-0.04	-0.01	0.02	0.05	0.08	0.11	0.14	0.17	0.20	0.23	0.26	0.29	0.32	0.35	0.38	0.41	0.44	0.47
1.00	-0.15	-0.12	-0.09	-0.06	-0.03	0.00	0.03	0.06	0.09	0.12	0.15	0.18	0.21	0.24	0.27	0.30	0.33	0.36	0.39	0.42	0.45	

Elaboración Propia.

Datos generados por Microsoft Excel

Notas:

Los valores generados en cada punto están referidos al modelo estadístico lineal codificado, representativo de los datos experimentales; para las variables significativas X₁ y X₂.

*: Rango de las variables codificadas; siendo límite Superior (+1), límite inferior (-1), para los ejes primarios del diagrama con intervalos de 0.1

Figura 32. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*.

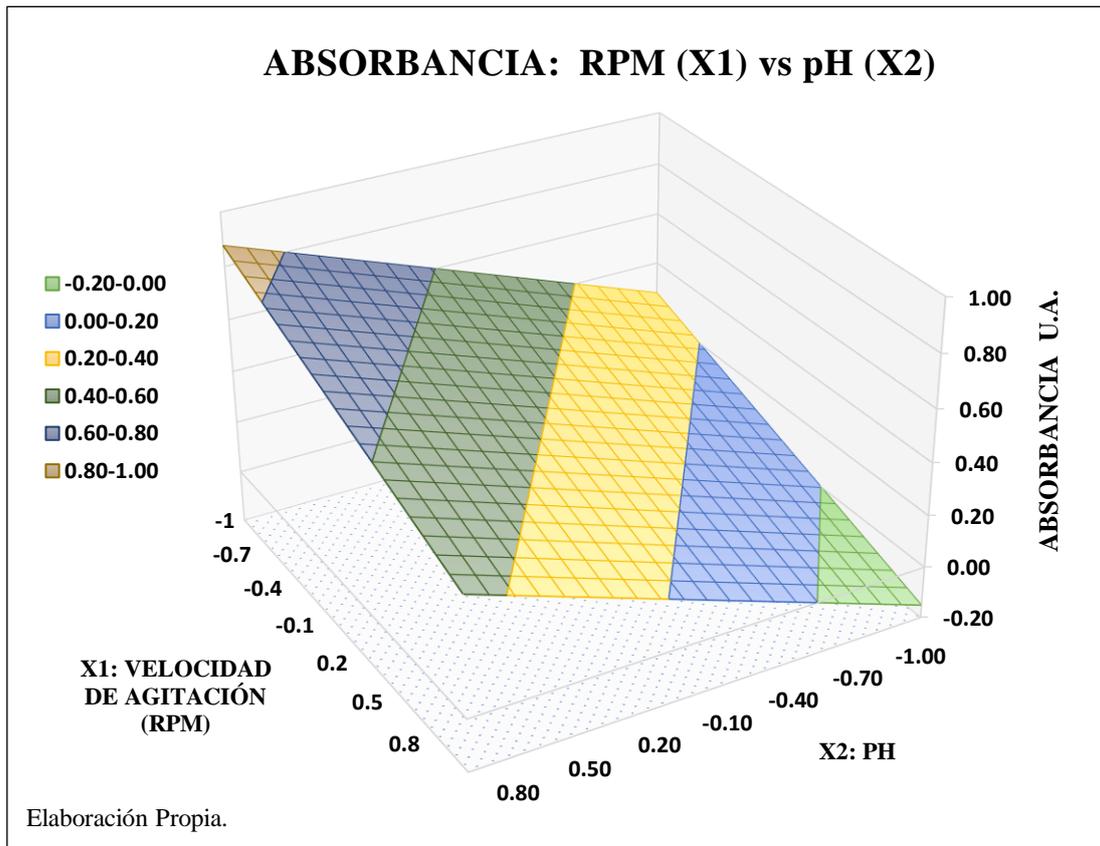


Figura 33. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

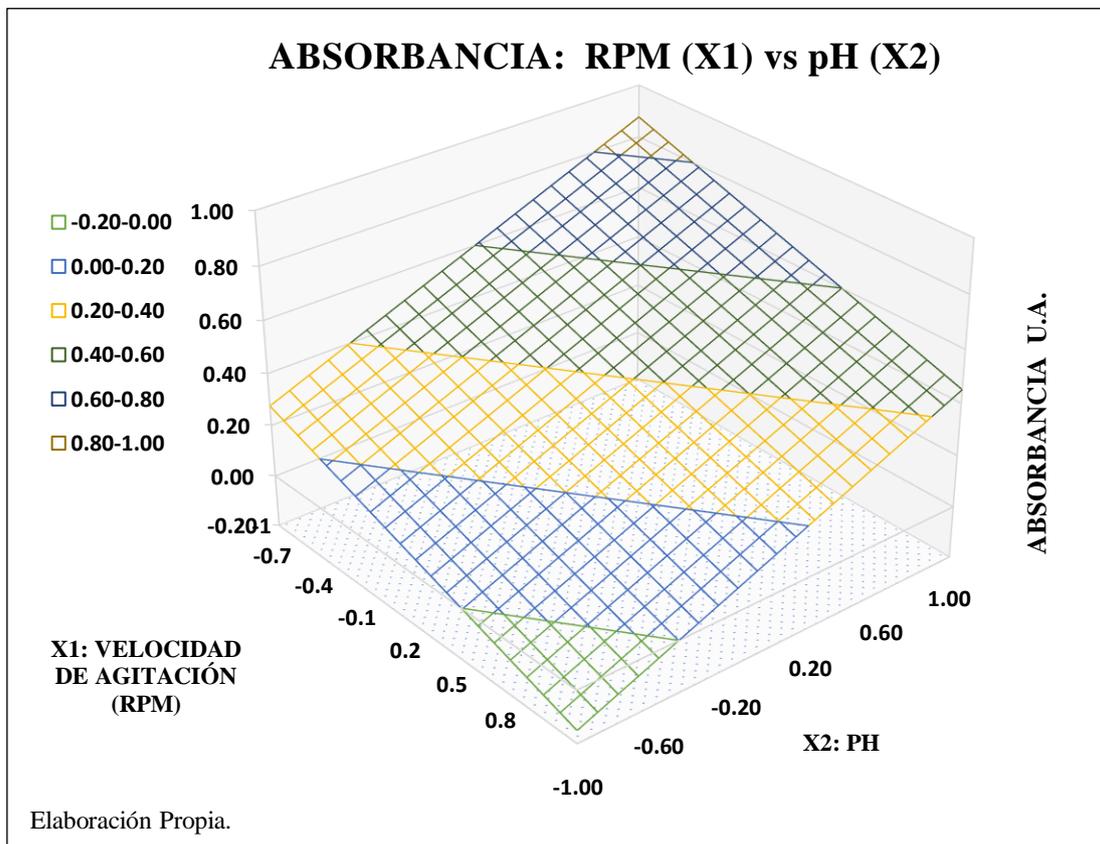


Figura 34. Superficie de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

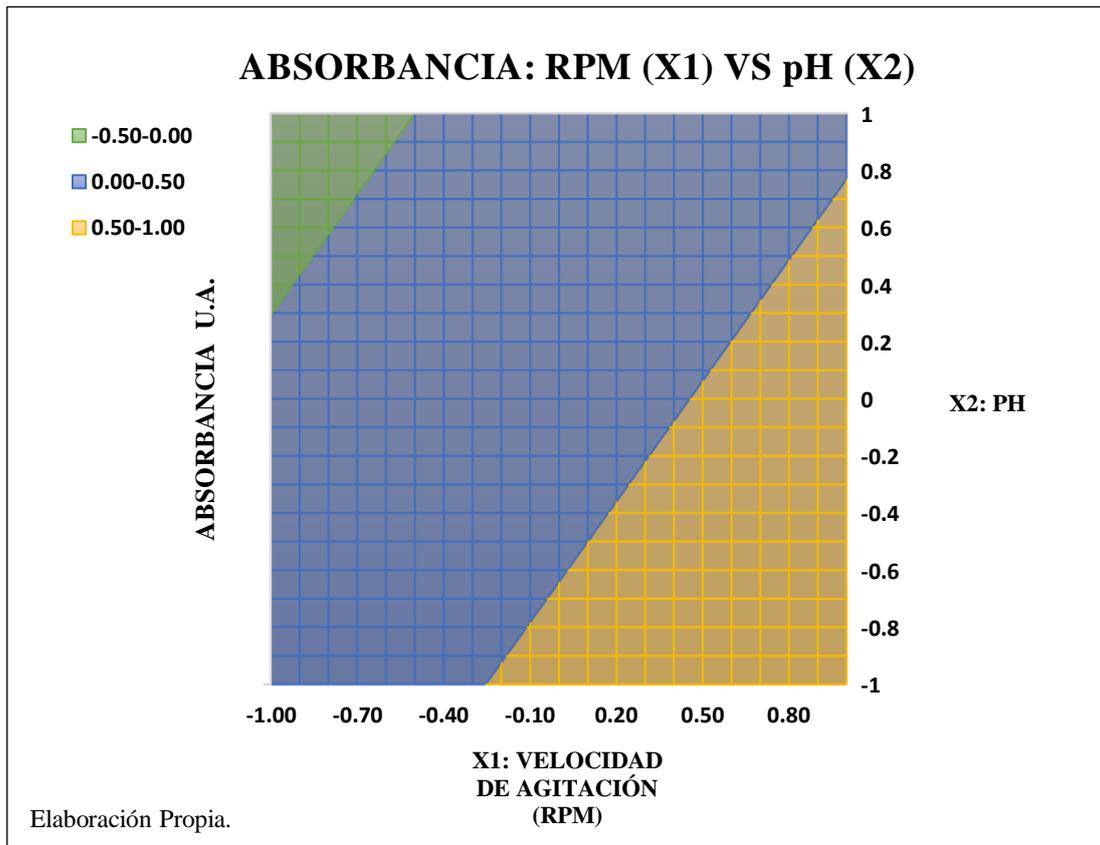
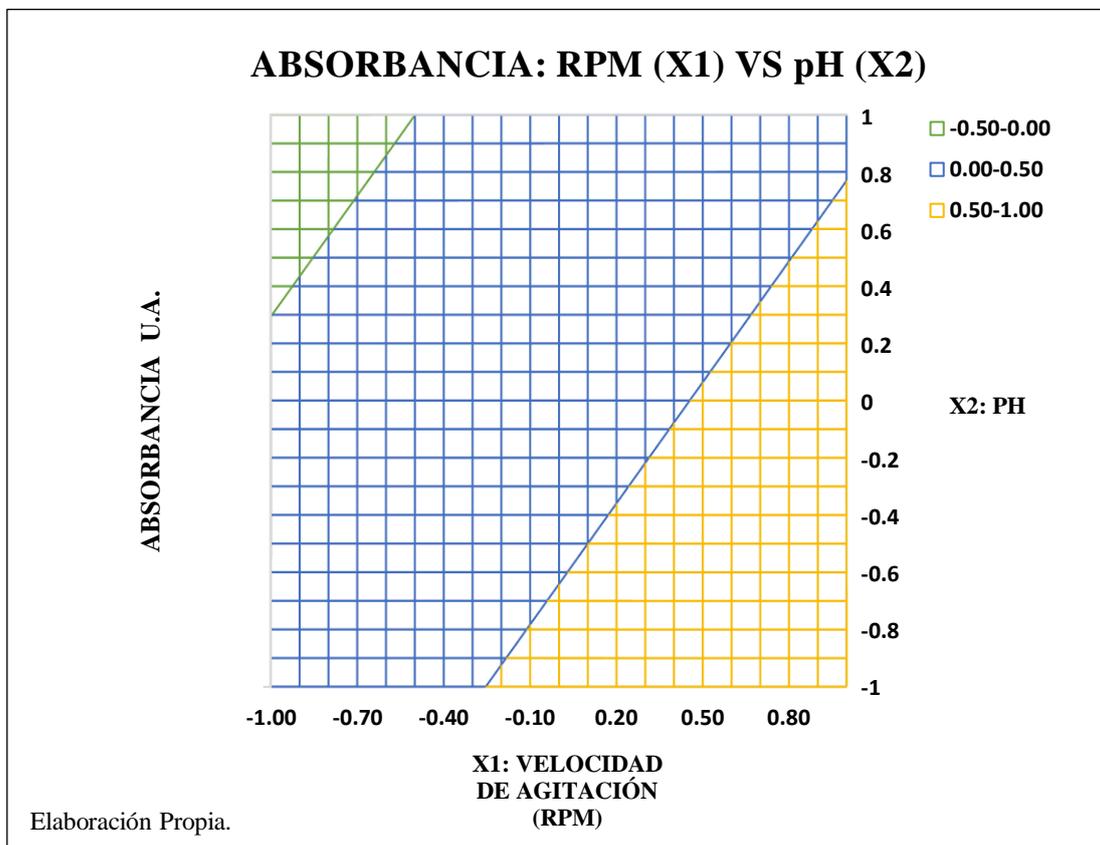


Figura 35. Malla de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*



DISEÑO FACTORIAL FRACCIONADO PLACKETT Y BURMAN – P&B

Tabla 15. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta Estimada del Modelo de 1er Orden, para Escala Codificada

	X ₄ : Temperatura de Síntesis (°C)																				
	-1.00	-0.90	-0.80	-0.70	-0.60	-0.50	-0.40	-0.30	-0.20	-0.10	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
-1.00	0.54	0.54	0.55	0.55	0.55	0.56	0.56	0.57	0.57	0.57	0.58	0.58	0.58	0.59	0.59	0.60	0.60	0.60	0.61	0.61	0.61
-0.90	0.52	0.52	0.53	0.53	0.53	0.54	0.54	0.54	0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.57	0.57	0.57	0.58	0.58	0.59	0.59	0.59
-0.80	0.50	0.50	0.50	0.51	0.51	0.52	0.52	0.52	0.53	0.53	0.53	0.54	0.54	0.55	0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.57	0.57
-0.70	0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.50	0.50	0.51	0.51	0.51	0.52	0.52	0.52	0.53	0.53	0.53	0.54	0.54	0.55	0.55
-0.60	0.45	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.50	0.50	0.51	0.51	0.51	0.52	0.52	0.52	0.53
-0.50	0.43	0.44	0.44	0.44	0.45	0.45	0.45	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.50	0.50	0.50	0.51
-0.40	0.41	0.42	0.42	0.42	0.43	0.43	0.43	0.44	0.44	0.44	0.45	0.45	0.46	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.48	0.48	0.49
-0.30	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	0.41	0.41	0.42	0.42	0.42	0.43	0.43	0.43	0.44	0.44	0.45	0.45	0.45	0.46	0.46	0.46
-0.20	0.37	0.37	0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	0.39	0.40	0.40	0.41	0.41	0.41	0.42	0.42	0.42	0.43	0.43	0.44	0.44	0.44
-0.10	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	0.41	0.41	0.41	0.42	0.42
0.00	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.34	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.39	0.39	0.39	0.40	0.40
0.10	0.30	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.37	0.37	0.38	0.38
0.20	0.28	0.29	0.29	0.29	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33	0.34	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.36
0.30	0.26	0.27	0.27	0.27	0.28	0.28	0.28	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.34
0.40	0.24	0.24	0.25	0.25	0.26	0.26	0.26	0.27	0.27	0.27	0.28	0.28	0.29	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.32
0.50	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	0.26	0.27	0.27	0.28	0.28	0.28	0.29	0.29	0.29
0.60	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.22	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	0.27	0.27	0.27
0.70	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25
0.80	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.22	0.22	0.22	0.23	0.23
0.90	0.13	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.20	0.21
1.00	0.11	0.12	0.12	0.12	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.19

Elaboración Propia.

Notas:

Los valores generados en cada punto están referidos al modelo estadístico lineal codificado, representativo de los datos experimentales; para las variables significativas X₁ y X₄.

*: Rango de las variables codificadas; siendo límite Superior (+1), límite inferior (-1), para los ejes primarios del diagrama con intervalos de 0.1

Figura 36. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

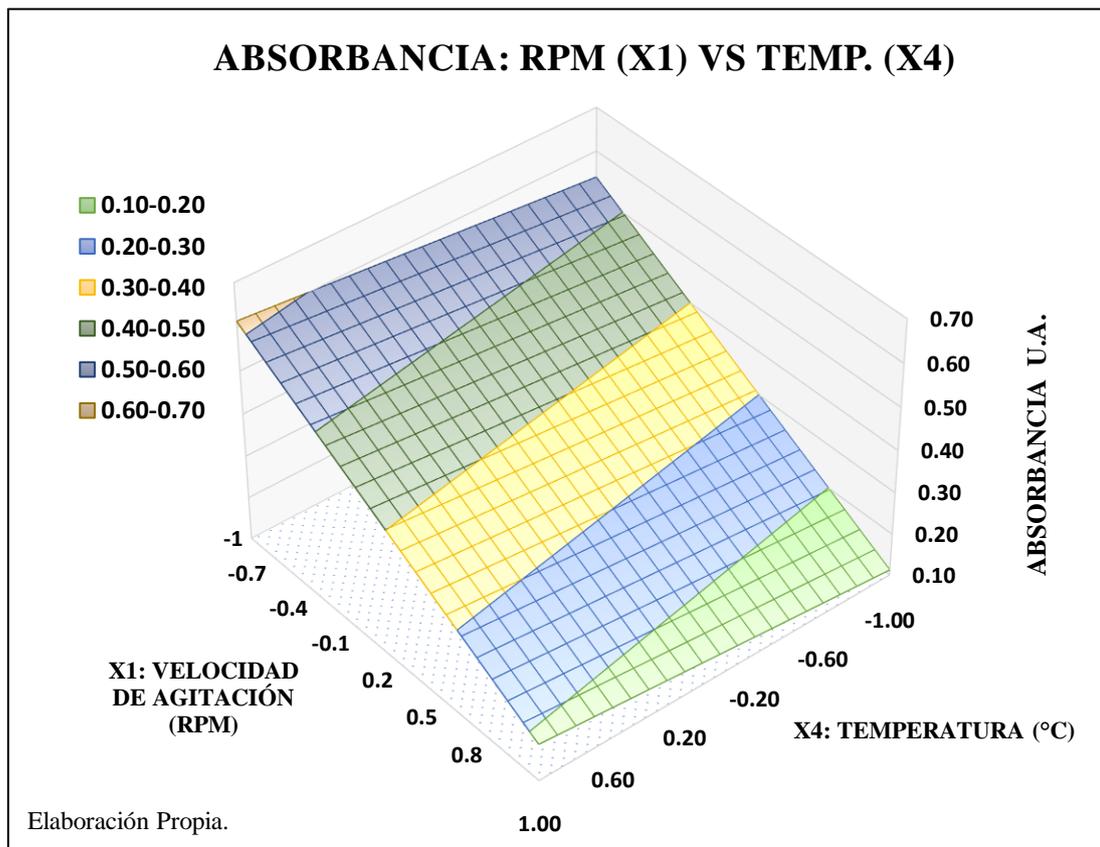


Figura 37. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

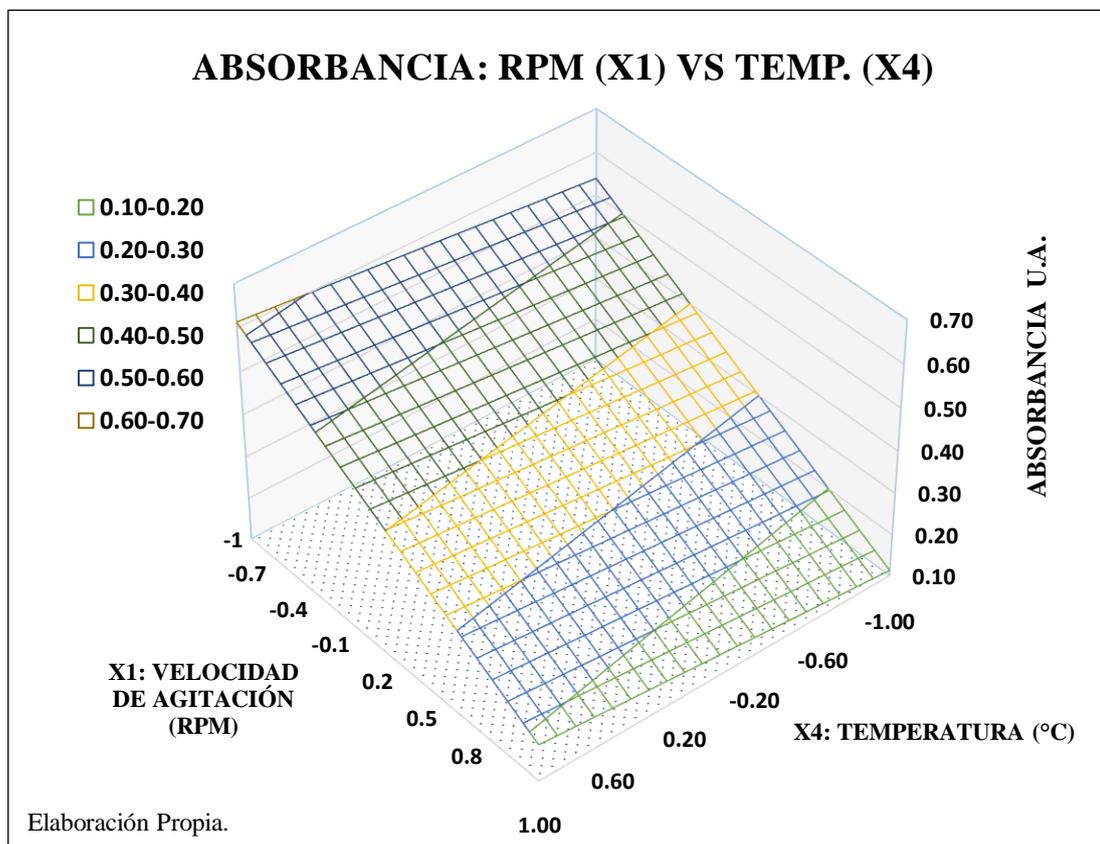


Figura 38. Superficie de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

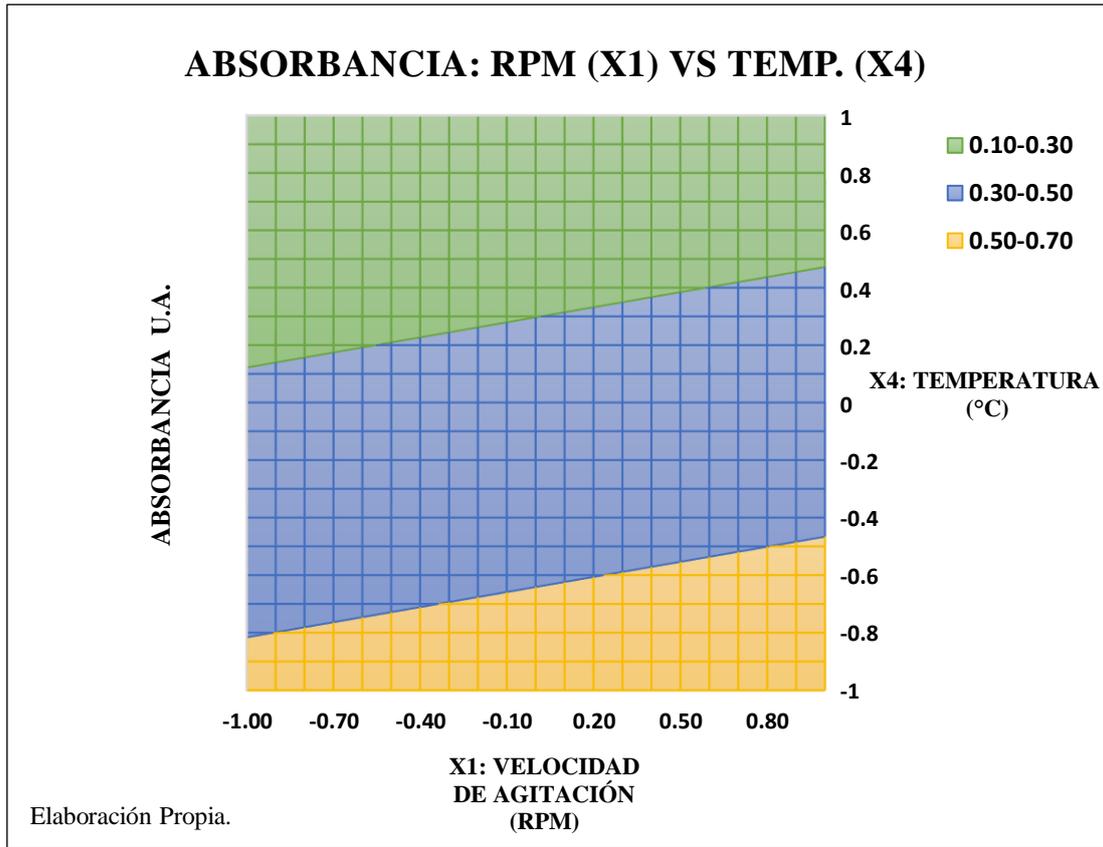
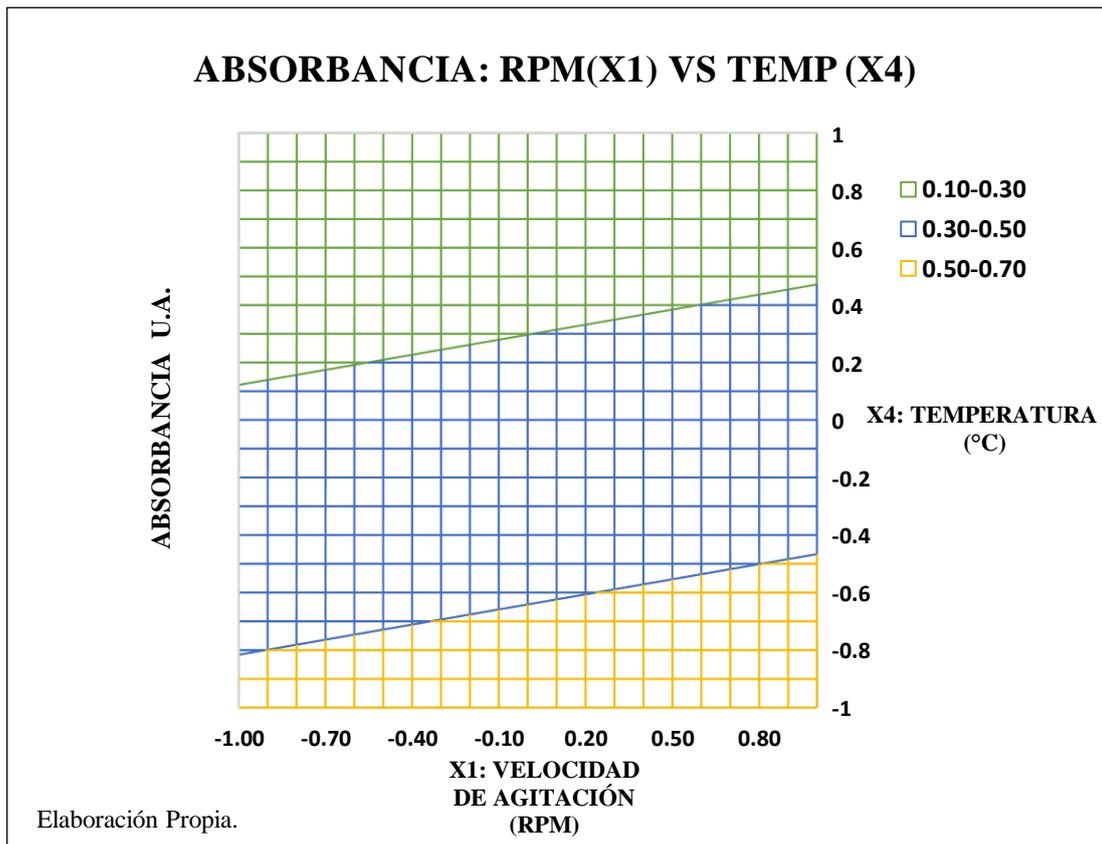


Figura 39. Malla de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*



DISEÑO FACTORIAL FRACCIONADO PLACKETT Y BURMAN - P&B

Tabla 16. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico Estimado de 1er Orden, para Escala Codificada.

	X ₅ : Fracción Flavonoide (uL)																					
	-1.00	-0.90	-0.80	-0.70	-0.60	-0.50	-0.40	-0.30	-0.20	-0.10	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00	
X ₁ : Velocidad de Agitación (RPM)	-1.00	0.34	0.37	0.39	0.41	0.44	0.46	0.48	0.51	0.53	0.55	0.58	0.60	0.62	0.65	0.67	0.69	0.72	0.74	0.76	0.79	0.81
	-0.90	0.32	0.34	0.37	0.39	0.41	0.44	0.46	0.48	0.51	0.53	0.56	0.58	0.60	0.63	0.65	0.67	0.70	0.72	0.74	0.77	0.79
	-0.80	0.30	0.32	0.35	0.37	0.39	0.42	0.44	0.46	0.49	0.51	0.53	0.56	0.58	0.60	0.63	0.65	0.67	0.70	0.72	0.74	0.77
	-0.70	0.28	0.30	0.32	0.35	0.37	0.40	0.42	0.44	0.47	0.49	0.51	0.54	0.56	0.58	0.61	0.63	0.65	0.68	0.70	0.72	0.75
	-0.60	0.26	0.28	0.30	0.33	0.35	0.37	0.40	0.42	0.44	0.47	0.49	0.51	0.54	0.56	0.58	0.61	0.63	0.66	0.68	0.70	0.73
	-0.50	0.24	0.26	0.28	0.31	0.33	0.35	0.38	0.40	0.42	0.45	0.47	0.49	0.52	0.54	0.56	0.59	0.61	0.63	0.66	0.68	0.70
	-0.40	0.21	0.24	0.26	0.28	0.31	0.33	0.35	0.38	0.40	0.43	0.45	0.47	0.50	0.52	0.54	0.57	0.59	0.61	0.64	0.66	0.68
	-0.30	0.19	0.22	0.24	0.26	0.29	0.31	0.33	0.36	0.38	0.40	0.43	0.45	0.47	0.50	0.52	0.54	0.57	0.59	0.61	0.64	0.66
	-0.20	0.17	0.19	0.22	0.24	0.27	0.29	0.31	0.34	0.36	0.38	0.41	0.43	0.45	0.48	0.50	0.52	0.55	0.57	0.59	0.62	0.64
	-0.10	0.15	0.17	0.20	0.22	0.24	0.27	0.29	0.31	0.34	0.36	0.38	0.41	0.43	0.45	0.48	0.50	0.53	0.55	0.57	0.60	0.62
	0.00	0.13	0.15	0.18	0.20	0.22	0.25	0.27	0.29	0.32	0.34	0.36	0.39	0.41	0.43	0.46	0.48	0.50	0.53	0.55	0.57	0.60
	0.10	0.11	0.13	0.15	0.18	0.20	0.22	0.25	0.27	0.30	0.32	0.34	0.37	0.39	0.41	0.44	0.46	0.48	0.51	0.53	0.55	0.58
	0.20	0.09	0.11	0.13	0.16	0.18	0.20	0.23	0.25	0.27	0.30	0.32	0.34	0.37	0.39	0.41	0.44	0.46	0.48	0.51	0.53	0.56
	0.30	0.06	0.09	0.11	0.14	0.16	0.18	0.21	0.23	0.25	0.28	0.30	0.32	0.35	0.37	0.39	0.42	0.44	0.46	0.49	0.51	0.53
	0.40	0.04	0.07	0.09	0.11	0.14	0.16	0.18	0.21	0.23	0.25	0.28	0.30	0.32	0.35	0.37	0.40	0.42	0.44	0.47	0.49	0.51
	0.50	0.02	0.05	0.07	0.09	0.12	0.14	0.16	0.19	0.21	0.23	0.26	0.28	0.30	0.33	0.35	0.37	0.40	0.42	0.44	0.47	0.49
	0.60	0.00	0.02	0.05	0.07	0.09	0.12	0.14	0.17	0.19	0.21	0.24	0.26	0.28	0.31	0.33	0.35	0.38	0.40	0.42	0.45	0.47
	0.70	-0.02	0.00	0.03	0.05	0.07	0.10	0.12	0.14	0.17	0.19	0.21	0.24	0.26	0.28	0.31	0.33	0.35	0.38	0.40	0.43	0.45
	0.80	-0.04	-0.02	0.01	0.03	0.05	0.08	0.10	0.12	0.15	0.17	0.19	0.22	0.24	0.26	0.29	0.31	0.33	0.36	0.38	0.40	0.43
	0.90	-0.06	-0.04	-0.02	0.01	0.03	0.05	0.08	0.10	0.12	0.15	0.17	0.19	0.22	0.24	0.27	0.29	0.31	0.34	0.36	0.38	0.41
	1.00	-0.08	-0.06	-0.04	-0.01	0.01	0.03	0.06	0.08	0.10	0.13	0.15	0.17	0.20	0.22	0.24	0.27	0.29	0.31	0.34	0.36	0.38

Elaboración Propia.

Notas:

Los valores generados en cada punto están referidos al modelo estadístico lineal codificado, representativo de los datos experimentales; para las variables significativas X₁ y X₅.

*: Rango de las variables codificadas; siendo límite Superior (+1), límite inferior (-1), para los ejes primarios del diagrama con intervalos de 0.1.

Figura 40. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

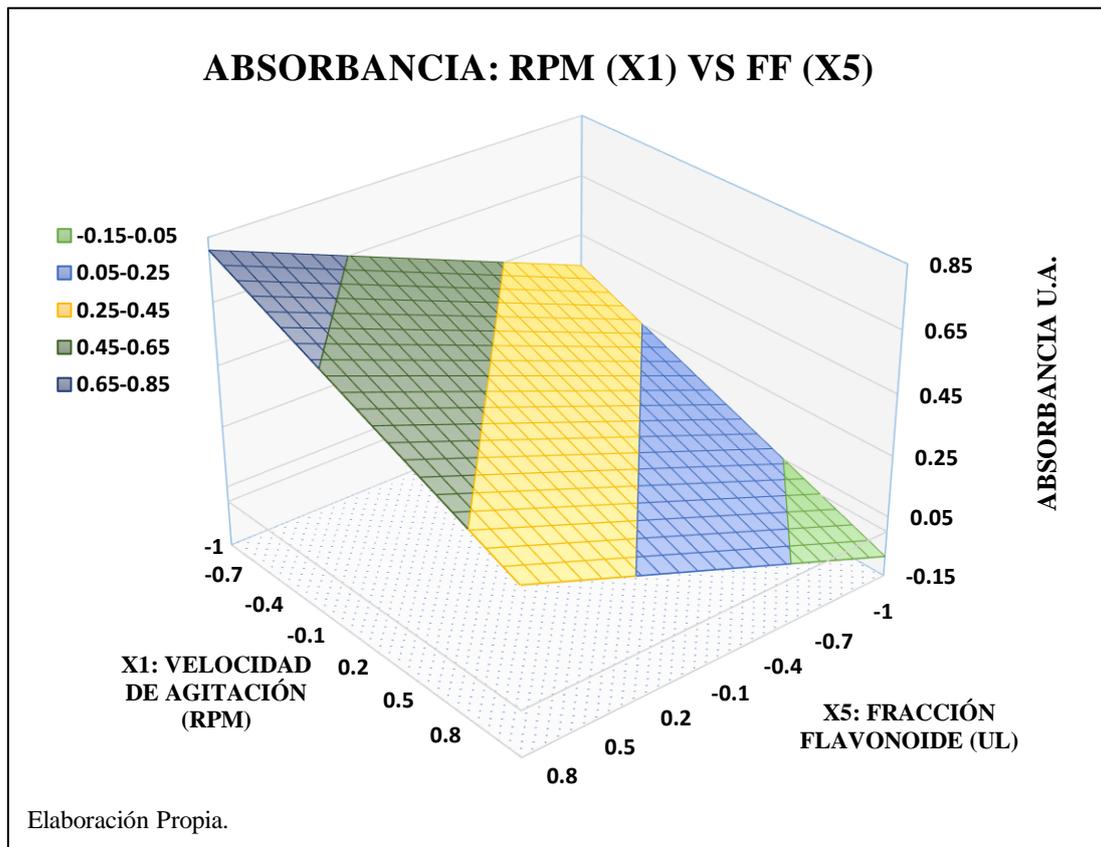


Figura 41. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

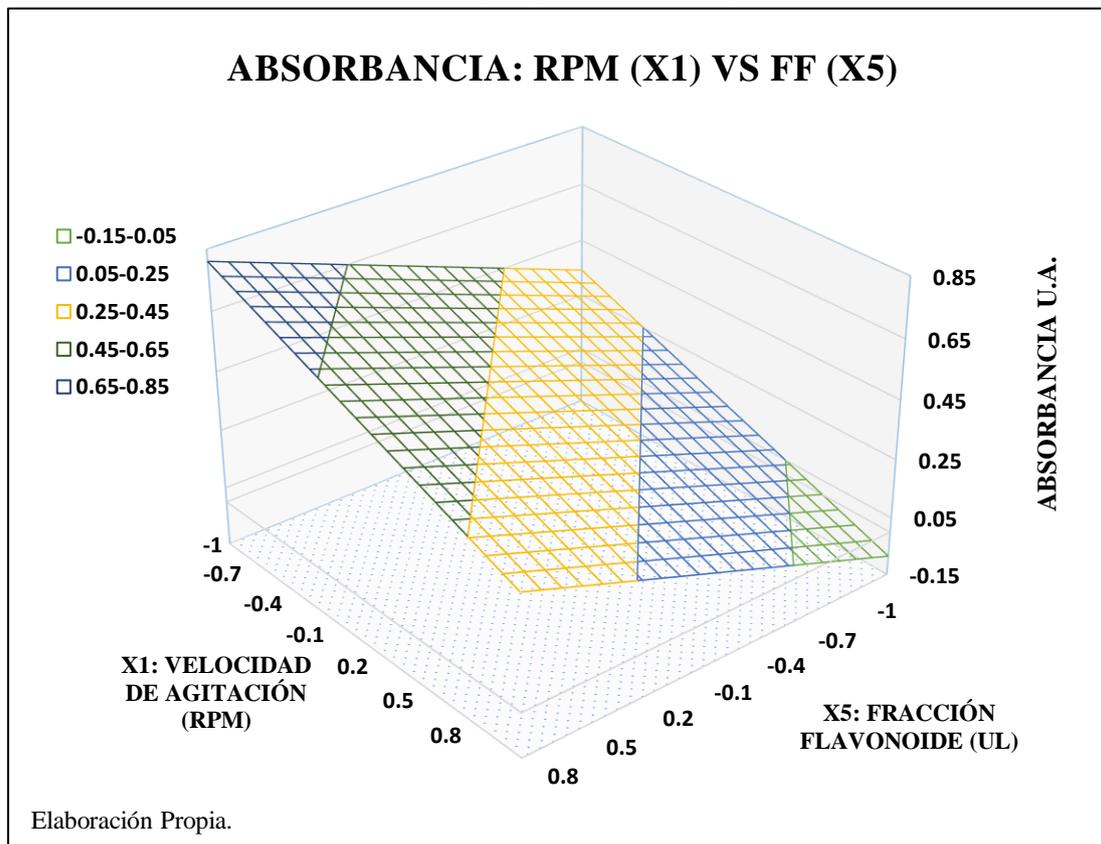


Figura 42. Superficie de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

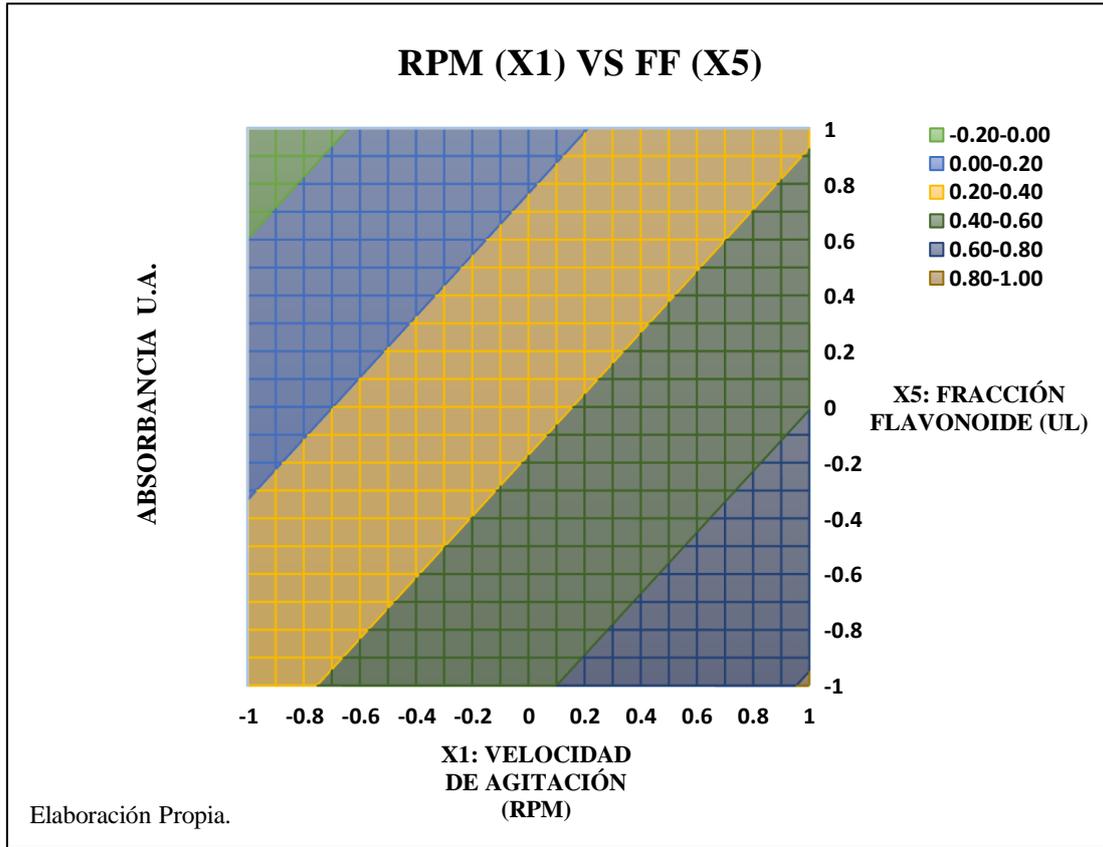
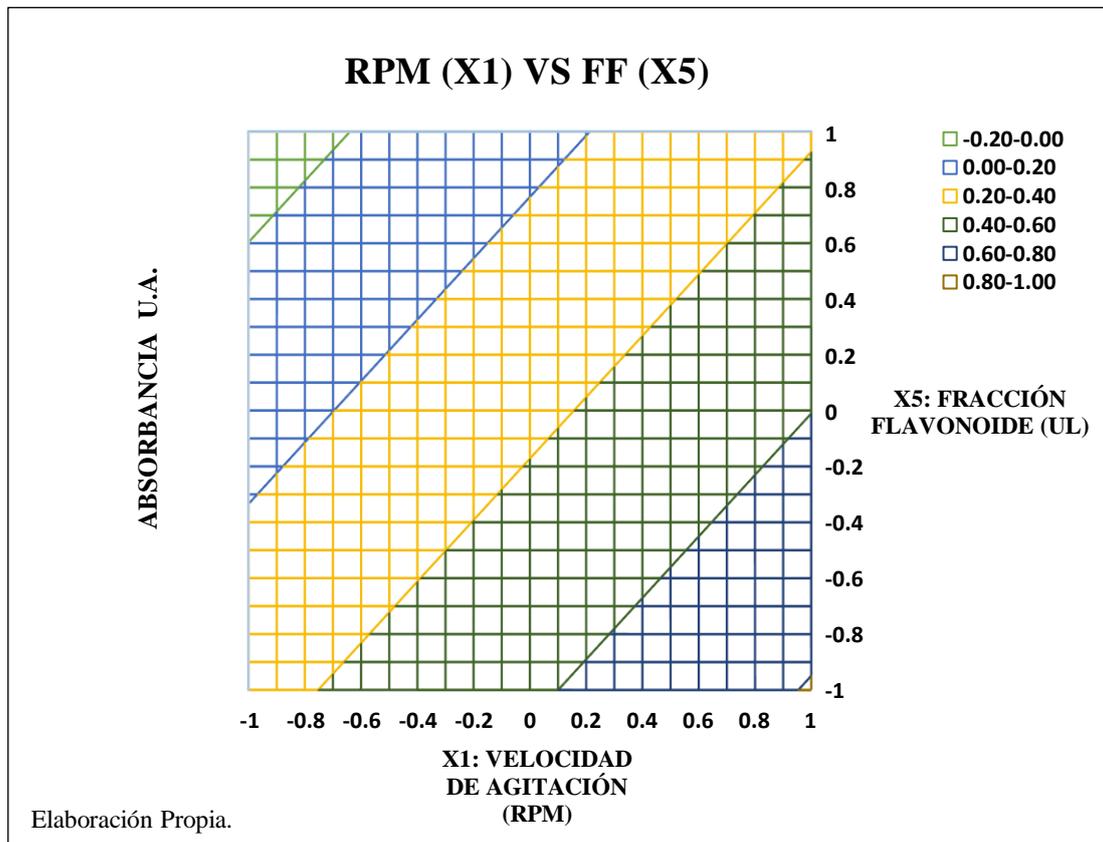


Figura 43. Malla de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*



DISEÑO FACTORIAL FRACCIONADO PLACKETT Y BURMAN – P&B

Tabla 17. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico Estimado de 1er Orden, para Escala Codificada

		X ₅ : Fracción Flavonoide (uL)																				
		-1.00	-0.90	-0.80	-0.70	-0.60	-0.50	-0.40	-0.30	-0.20	-0.10	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
X ₂ : pH de Síntesis	-1.00	-0.17	-0.15	-0.12	-0.10	-0.08	-0.05	-0.03	-0.01	0.02	0.04	0.06	0.09	0.11	0.13	0.16	0.18	0.20	0.23	0.25	0.27	0.30
	-0.90	-0.14	-0.12	-0.09	-0.07	-0.05	-0.02	0.00	0.02	0.05	0.07	0.09	0.12	0.14	0.16	0.19	0.21	0.23	0.26	0.28	0.30	0.33
	-0.80	-0.11	-0.09	-0.06	-0.04	-0.02	0.01	0.03	0.05	0.08	0.10	0.12	0.15	0.17	0.19	0.22	0.24	0.26	0.29	0.31	0.33	0.36
	-0.70	-0.08	-0.06	-0.03	-0.01	0.01	0.04	0.06	0.08	0.11	0.13	0.15	0.18	0.20	0.22	0.25	0.27	0.29	0.32	0.34	0.36	0.39
	-0.60	-0.05	-0.03	0.00	0.02	0.04	0.07	0.09	0.11	0.14	0.16	0.18	0.21	0.23	0.25	0.28	0.30	0.32	0.35	0.37	0.39	0.42
	-0.50	-0.02	0.00	0.03	0.05	0.07	0.10	0.12	0.14	0.17	0.19	0.21	0.24	0.26	0.28	0.31	0.33	0.35	0.38	0.40	0.42	0.45
	-0.40	0.01	0.03	0.06	0.08	0.10	0.13	0.15	0.17	0.20	0.22	0.24	0.27	0.29	0.31	0.34	0.36	0.38	0.41	0.43	0.45	0.48
	-0.30	0.04	0.06	0.09	0.11	0.13	0.16	0.18	0.20	0.23	0.25	0.27	0.30	0.32	0.34	0.37	0.39	0.41	0.44	0.46	0.48	0.51
	-0.20	0.07	0.09	0.12	0.14	0.16	0.19	0.21	0.23	0.26	0.28	0.30	0.33	0.35	0.37	0.40	0.42	0.44	0.47	0.49	0.51	0.54
	-0.10	0.10	0.12	0.15	0.17	0.19	0.22	0.24	0.26	0.29	0.31	0.33	0.36	0.38	0.40	0.43	0.45	0.47	0.50	0.52	0.54	0.57
	0.00	0.13	0.15	0.18	0.20	0.22	0.25	0.27	0.29	0.32	0.34	0.36	0.39	0.41	0.43	0.46	0.48	0.50	0.53	0.55	0.57	0.60
	0.10	0.16	0.18	0.21	0.23	0.25	0.28	0.30	0.32	0.35	0.37	0.39	0.42	0.44	0.46	0.49	0.51	0.53	0.56	0.58	0.60	0.63
	0.20	0.19	0.21	0.24	0.26	0.28	0.31	0.33	0.35	0.38	0.40	0.42	0.45	0.47	0.49	0.52	0.54	0.56	0.59	0.61	0.63	0.66
	0.30	0.22	0.24	0.27	0.29	0.31	0.34	0.36	0.38	0.41	0.43	0.45	0.48	0.50	0.52	0.55	0.57	0.59	0.62	0.64	0.66	0.69
	0.40	0.25	0.27	0.30	0.32	0.34	0.37	0.39	0.41	0.44	0.46	0.48	0.51	0.53	0.55	0.58	0.60	0.62	0.65	0.67	0.69	0.72
	0.50	0.28	0.30	0.33	0.35	0.37	0.40	0.42	0.44	0.47	0.49	0.51	0.54	0.56	0.58	0.61	0.63	0.65	0.68	0.70	0.72	0.75
	0.60	0.31	0.33	0.36	0.38	0.40	0.43	0.45	0.47	0.50	0.52	0.54	0.57	0.59	0.61	0.64	0.66	0.68	0.71	0.73	0.75	0.78
0.70	0.34	0.36	0.39	0.41	0.43	0.46	0.48	0.50	0.53	0.55	0.57	0.60	0.62	0.64	0.67	0.69	0.71	0.74	0.76	0.78	0.81	
0.80	0.37	0.39	0.42	0.44	0.46	0.49	0.51	0.53	0.56	0.58	0.60	0.63	0.65	0.67	0.70	0.72	0.74	0.77	0.79	0.81	0.84	
0.90	0.40	0.42	0.45	0.47	0.49	0.52	0.54	0.56	0.59	0.61	0.63	0.66	0.68	0.70	0.73	0.75	0.77	0.80	0.82	0.84	0.87	
1.00	0.43	0.45	0.48	0.50	0.52	0.55	0.57	0.59	0.62	0.64	0.66	0.69	0.71	0.73	0.76	0.78	0.80	0.83	0.85	0.87	0.90	

Elaboración Propia.

Los valores generados en cada punto están referidos al modelo estadístico lineal codificado, representativo de los datos experimentales; para las variables significativas X₂ y X₅.

*: Rango de las variables codificadas; siendo límite Superior (+1), límite inferior (-1), para los ejes primarios del diagrama con intervalos de 0.1.

Figura 44. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

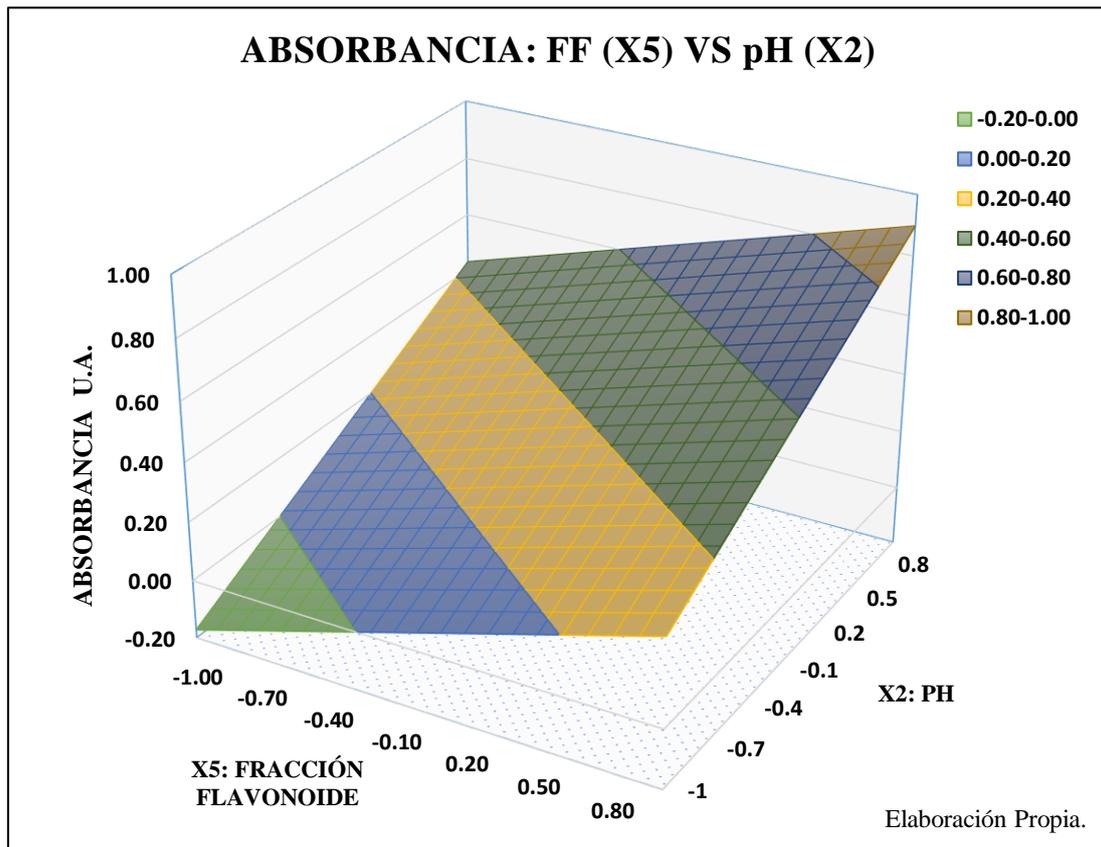


Figura 45. Malla de Respuesta 3D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

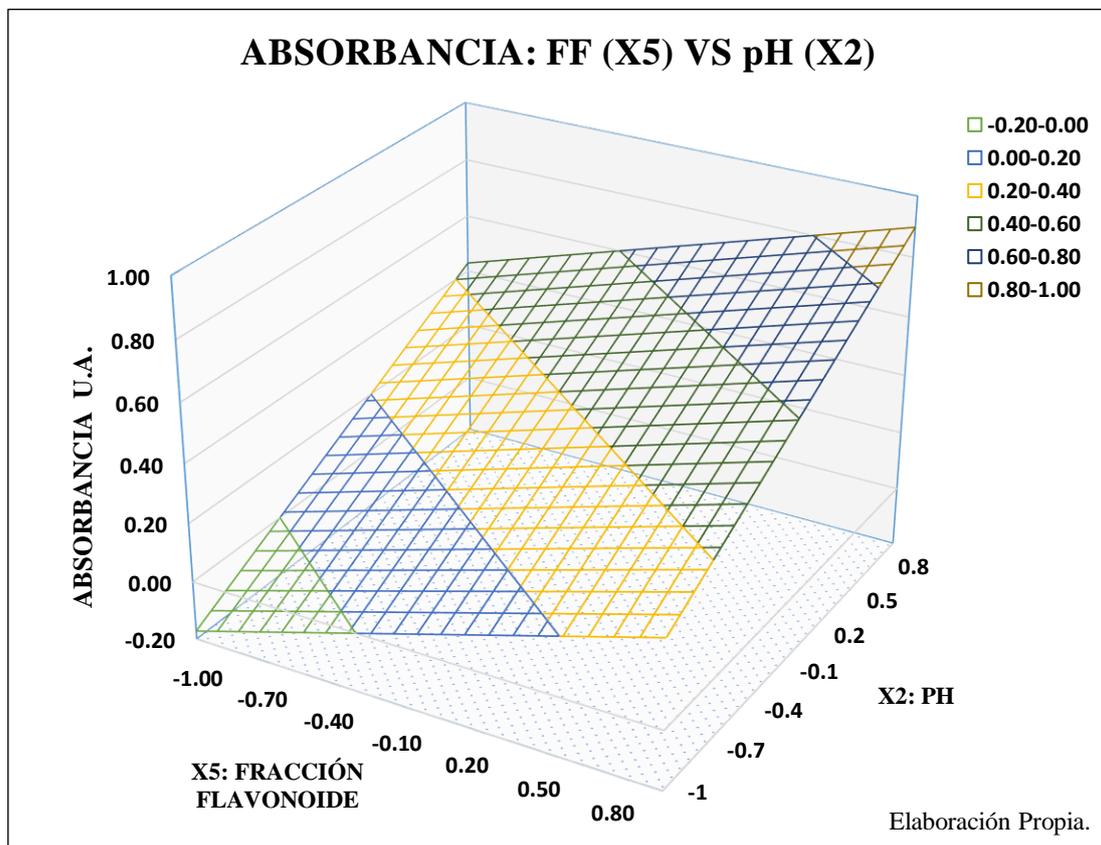


Figura 46. Superficie de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

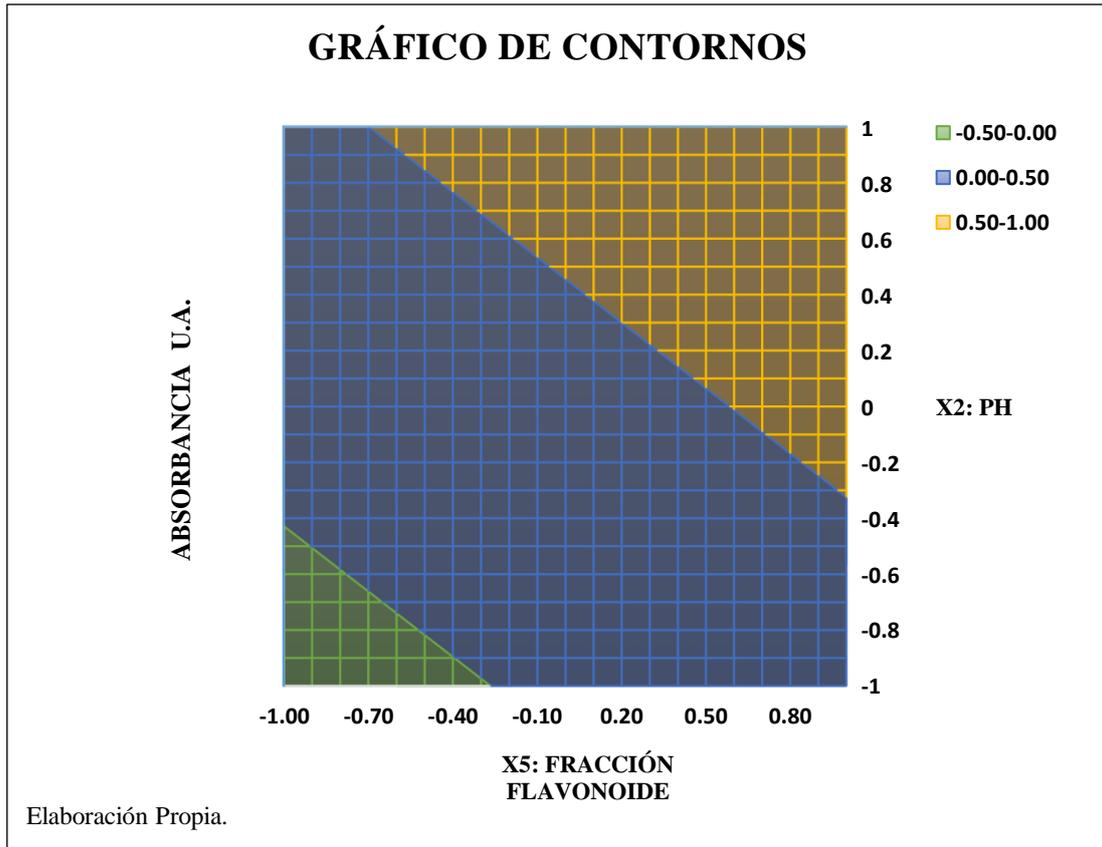
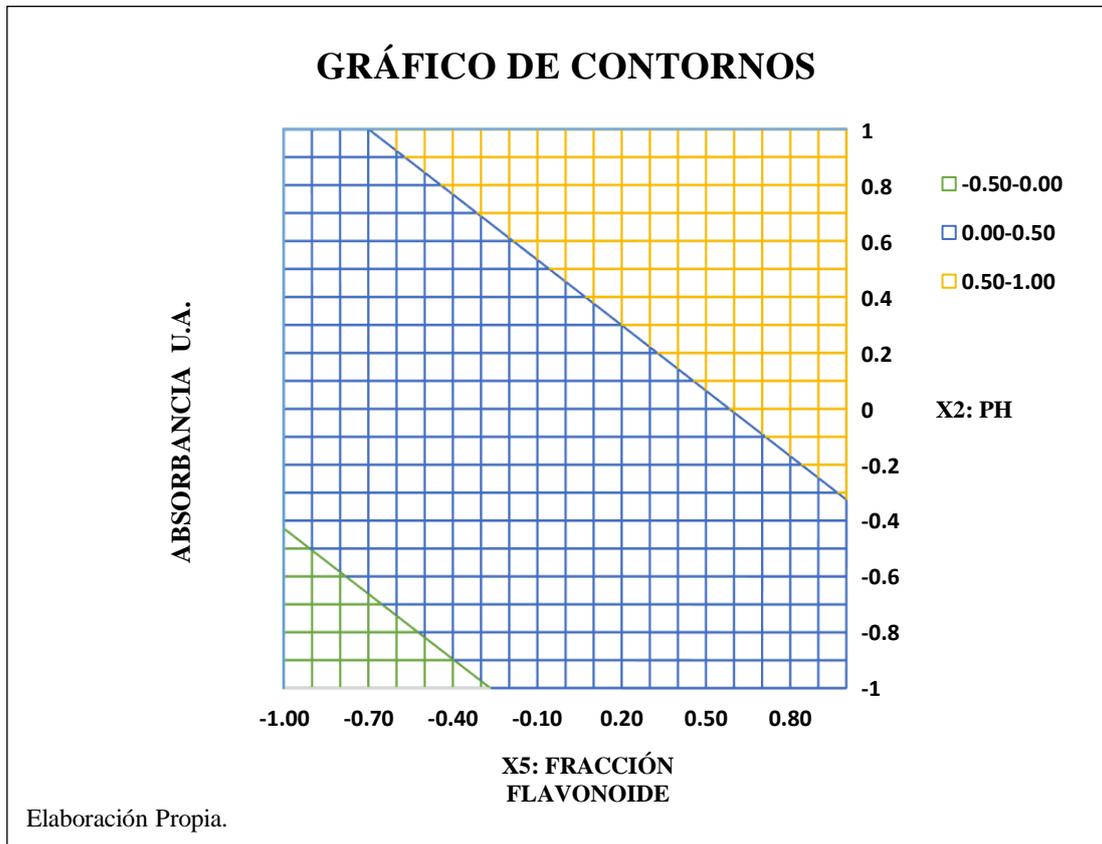


Figura 47. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Lineal Múltiple para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*



4.6.2. ETAPA II: ESCALAMIENTO – BUSQUEDA I

En la primera etapa del proceso de optimización (Screening - MSR), las variables independientes que resultaron significativas según el análisis de varianza (ANOVA), fueron: a) velocidad de agitación (RPM), b) pH de síntesis, c) tiempo de síntesis (min), d) temperatura de síntesis (°C) y e) volumen de la FF (μL); del total de cinco (5) variables iniciales, las 5 resultaron de efecto significativo para el proceso de investigación en estudio. Por lo tanto, en esta etapa la técnica de optimización por escalamiento es necesario emplearlo, para identificar y localizar la dirección de ascenso en la que se encuentra la región óptima.

También, de la etapa I anterior (Screening), se tuvo evidencia que la región óptima se encuentra lejos de los experimentos iniciales; por lo tanto, es necesario iniciar esta segunda etapa de optimización (escalamiento), aplicando el método de pendientes ascendentes y poder determinar a cuantos pasos ascendentes de la región evaluada inicial (etapa I Screening), se encuentra la región óptima; es decir, la MSR en esta segunda etapa, nos ayudará a identificar la dirección que nos llevará hacia la región óptima del proceso de biosíntesis de AgNPs.

4.6.2.1. RECORRIDO EXPERIMENTAL

Esta etapa de la metodología superficie de respuesta MSR, corresponde a la aplicación del método denominado “Pendiente Ascendente”, el cual es un método de gradiente de optimización. En esta etapa se determina la dirección de ascenso más empinada hacia la región óptima (Ayala Mina & Pardo Mercado, 1995). En la tabla 18, se muestran los cálculos respectivos para determinar los recorridos experimentales y los parámetros decodificados del modelo lineal obtenido en la etapa I (Screening). Asimismo, esta tabla nos muestra los recorridos experimentales del proceso mediante el método de pendiente ascendente para ubicar la región óptima del proceso. Los cálculos efectuados para el Centro y Radio del diseño, de acuerdo con la tabla 4.6, se presentan a continuación:

A. Cálculo del Centro del Diseño (Z_j^0)

$$Z_j^0 = \frac{Z^{MAX} + Z^{MIN}}{2} \quad (4.9)$$

Donde: Z^{MAX} = Nivel Superior.
 Z^{MIN} = Nivel Inferior.

$$Z_1^o = \frac{900 + 300}{2} = 600$$

$$Z_2^o = \frac{10 + 8}{2} = 9$$

$$Z_3^o = \frac{330 + 240}{2} = 285$$

$$Z_4^o = \frac{55 + 45}{2} = 50$$

$$Z_4^o = \frac{200 + 50}{2} = 125$$

B. Cálculo del Radio del Diseño (ΔZ_j)

$$\Delta Z_j = \frac{Z^{MAX} - Z^{MIN}}{2} \quad (4.10)$$

$$Z_1^o = \frac{900 - 300}{2} = 300$$

$$Z_2^o = \frac{10 - 8}{2} = 1$$

$$Z_3^o = \frac{330 - 240}{2} = 45$$

$$Z_4^o = \frac{55 - 45}{2} = 5$$

$$Z_4^o = \frac{200 - 50}{2} = 75$$

C. Cálculo de la Dirección de Ascenso a la Región Óptima. ($b_j \Delta Z_j$)

$$A = b_j \Delta Z_j \quad (4.11)$$

$$b_1 \Delta Z_1 = (-0.2132) * (300) = -63.96$$

$$b_2 \Delta Z_2 = (0.3007) * (1) = 0.3007$$

$$b_3 \Delta Z_3 = (-0.0116) * (45) = -0.522$$

$$b_4 \Delta Z_4 = (0.0373) * (5) = 0.1865$$

$$b_5 \Delta Z_5 = (0.2345) * (75) = 17.5875$$

D. Cálculo del paso ascendente (ϵ_k)

$$\frac{\Delta \epsilon_1}{b_1 \Delta Z_1} = \frac{\Delta \epsilon_2}{b_2 \Delta Z_2} = \dots \dots \dots = \frac{\Delta \epsilon_k}{b_k \Delta Z_k} \quad (4.12)$$

Para Z2 (Potencial de Hidrogeno pH): *Valor Fijado* $\Delta \epsilon_2 = 0.5$

Para Z1 (Velocidad de Agitación - RPM):

$$\frac{\Delta \epsilon_1}{b_1 \Delta Z_1} = \frac{\Delta \epsilon_2}{b_2 \Delta Z_2}$$

$$\frac{\Delta \epsilon_1}{-63.96} = \frac{0.5}{0.3007}$$

$$\Delta \epsilon_1 = -106.352$$

Para Z3 (Tiempo de Síntesis – min)

$$\frac{\Delta \epsilon_3}{b_3 \Delta Z_3} = \frac{\Delta \epsilon_2}{b_2 \Delta Z_2}$$

$$\frac{\Delta \epsilon_3}{-0.522} = \frac{0.5}{0.3007}$$

$$\Delta \epsilon_3 = -0.8679$$

Para Z4 (Temperatura de Síntesis – °C)

$$\frac{\Delta \epsilon_4}{b_4 \Delta Z_4} = \frac{\Delta \epsilon_2}{b_2 \Delta Z_2}$$

$$\frac{\Delta \epsilon_4}{0.1865} = \frac{0.5}{0.3007}$$

$$\Delta \epsilon_4 = 0.3101$$

Para Z5 (Volumen de FF – μ L)

$$\frac{\Delta \epsilon_5}{b_5 \Delta Z_5} = \frac{\Delta \epsilon_2}{b_2 \Delta Z_2}$$

$$\frac{\Delta \epsilon_5}{17.5875} = \frac{0.5}{0.3007}$$

$$\Delta \epsilon_5 = 29.2443$$

Tabla 18. Cálculo del Radio y Centro del Diseño y Pasos ascendentes.

N°	DESCRIPCIÓN	VARIABLES SIGNIFICATIVAS					
		Z0 (-)	Z1 (RPM)	Z2 (pH)	Z3 (min)	Z4 (°C)	Z5 (µL)
1	NIVEL INFERIOR (-1)		300	8	240	45	50
2	NIVEL SUPERIOR (+1)		900	10	330	55	200
3	CENTRO DEL DISEÑO (Z°)		600	9	285	50	125
4	RADIO DEL DISEÑO (ΔZ)		300	1	45	5	75
5	PARAMETROS CODIFICADOS. (b _j)	0.3633	-0.2132	0.3007	-0.0116	0.0373	0.2345
6	b _j *ΔZ		-63.96	0.3007	-0.522	0.1865	17.5875
7	ΔE		-106.352	0.500	-0.868	0.310	29.244
8	ΔE (REDONDEADO)		-106	0.5	-0.9	0.3	29
9	RELACIÓN (€)		2	9	6.33	10	1.67
10	PARAMETROS DECODIFICADOS. (b _j)	-2.6070	-0.0007	0.3007	-0.0003	0.0075	0.0031

Elaboración Propia.

4.6.2.2. PLANIFICACIÓN EXPERIMENTAL

En la tabla 19, se presentan los ensayos experimentales con sus variables decodificadas o naturales de las 5 variables que resultaron significativas de la I etapa del proceso de biosíntesis de NPsAg. A continuación, en esta tabla 19, se presentan 10 ensayos experimentales con sus pasos ascendentes correspondientes según los cálculos establecidos anteriormente (ver tabla 18). Los valores estimados en la tabla 19, calculados por el modelo estadístico lineal multifactorial del diseño P&B (ecuación 4.8), estima valores de absorbancia para cada ensayo experimental, siendo 0.3633 el valor de absorbancia para el primer ensayo experimental y 2.9887 para el último ensayo estimado.

Por otra parte, se puede observar que entre los ensayos N° 2 y N° 3 se encuentra el máximo valor de absorbancia, calculado teóricamente por el modelo predicho (Ecuación 4,8). De acuerdo con los resultados experimentales de la etapa I screening y el diseño experimental P&B, se observó que las máximas absorbancias a 441nm de longitud de onda, fueron obtenidos, cercanos al punto central del diseño. Por lo tanto, los resultados de escalamiento indican que existe un fuerte “efecto de curvatura” en el punto central del diseño, que el diseño P&B, no pudo detectar. De acuerdo con la tabla 19 “Método pendiente Ascendente – Recorridos experimentales”, se observa que los ensayos 2 y 3, presentan absorbancias máximas entre 0.6 y 1 aproximadamente, por lo que, el efecto de curvatura para la máxima absorbancia de la biosíntesis efectiva de NPsAg con FF de *Lepechinia meyenii*, se encuentra

en esta región de los puntos experimentales.

Esta segunda etapa de la MSR, requiere de nuevas pruebas experimentales para hallar la dirección hacia la región óptima; por lo tanto, se planificaron las pruebas experimentales de acuerdo a los pasos ascendentes calculados por la ecuación 4.12, para cada prueba experimental. La etapa de escalamiento se refiere netamente al ascenso o descenso de los valores desde el centro del diseño hacia su valor superior o inferior, dependiendo del paso ascendente o descendente a realizarse hacia la región óptima. Los ensayos se desarrollaron para la búsqueda de valores respuesta máximos representados por la variable dependiente “Y” (Absorbancia 411 nm), estos ensayos presentan un incremento para cada prueba experimental, de este modo nos acercamos a la región de valores óptimos del proceso en estudio. De acuerdo con los resultados experimentales de la tabla 19, nos indica que la región óptima se dirige y se encuentran a 2 pasos ascendentes del centro del diseño; por lo que, las pruebas experimentales de esta región contienen los valores de respuesta máximos (Absorbancia 411nm). Por lo tanto, es necesario realizar una evaluación más precisa en esta región experimental que encierra el óptimo, lo que nos indica que esta región se puede describir apropiadamente por modelos matemáticos de segundo orden, en el que los efectos de segundo orden son mayores en valor absoluto.

A continuación, la tabla 19, desarrolla la planificación experimental de esta parte del estudio, partiendo del centro del diseño.

Tabla 19. Método Pendiente Ascendente - Recorridos Experimentales

N°	VARIABLES NATURALES (Z _j)					RESPUESTAS
	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Y - Estimado
1	600	9	285	50	125	0.3633
2	494	9.5	284.1	50.3	154	0.6832
3	387	10.0	283.2	50.6	183	1.0031
4	281	10.5	282.3	50.9	213	1.3230
5	175	11.0	281.4	51.2	242	1.6430
6	68	11.5	280.5	51.6	271	1.9629
7	-38	12.0	279.6	51.9	300	2.2828
8	0	12.5	278.7	52.2	330	2.5000
9	0	13.0	277.8	52.5	359	2.7444
10	0	13.5	276.9	52.8	388	2.9887

Elaboración Propia.

4.6.3. ETAPA III: OPTIMIZACIÓN FINAL

Esta última etapa del proceso se realizó mediante un análisis de regresión cuadrática, donde se establece el estudio de diversas variables para evaluar el efecto de “curvatura del modelo” en una región paramétrica de los datos experimentales. Este análisis consiste en la aplicación de diversos métodos matemáticos y estadísticos, que nos ayudarán a resolver modelos matemáticos de segundo orden, donde los efectos de estos son mayores en valor absoluto que los efectos de primer orden.

De acuerdo con nuestro estudio de investigación, en el que las 5 variables iniciales del proceso de biosíntesis de AgNPs a partir de la *Lepechinia meyenii* resultaron significativas en la primera etapa de la MSR, para la etapa de escalamiento se pudo detectar el efecto de curvatura cercano al centro del diseño de estas variables estudiadas. Por lo tanto, en esta última etapa de la MSR (optimización final), se evaluará el efecto de curvatura detectado en la etapa II (escalamiento), mediante un análisis de regresión cuadrática a través del “Diseño Compuesto Central” (DCC). El proceso estudiado, ha demandado realizar esta tercera etapa de la MSR, las condiciones del proceso evaluado y el interés por conocer a más detalle la región óptima; conllevan a realizar una evaluación y un análisis más exhaustivo de esta región estimada por la MSR. Para esto, es necesario emplear un diseño experimental más elaborado y apropiado, en cuanto a significancia y ajuste de errores; por lo que, se tiene que hacer uso del diseño experimental denominado: diseño compuesto central (DCC), para el estudio de las cinco (5) variables significativas resultantes de las etapas anteriores por la MSR.

4.6.3.1. CONSIDERACIONES EXPERIMENTALES DEL DISEÑO E IDENTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES

En esta etapa III de “Optimización Final”, vamos a describir la región experimental donde se ubican las condiciones óptimas usando un diseño compuesto central (DCC), considerando las 5 variables que resultaron con mayores efectos significativos en las etapas anteriores, estas se describen a continuación en la siguiente tabla 20. También se establecen los nuevos valores cuantitativos de las variables, representadas por sus valores codificados, de acuerdo con su nivel máximo (+1) o mínimo (-1). En la tabla 20, se describen las variables que resultaron con efectos significativos en las etapas previas de la MSR, además se muestran los nuevos parámetros a escala codificada (niveles +1 y -1) y a escala natural.

En esta etapa hemos desarrollado una evaluación de las variables, estableciendo nuevos parámetros en los niveles superior (+1) e inferior (-1) para ubicar de manera efectiva la región óptima de nuestro proceso experimental. A continuación, en la tabla 20, establecemos los nuevos parámetros de nuestras variables significativas, para el desarrollo del análisis de regresión cuadrática para el diseño DCC.

Tabla 20. Variables de Efectos Significativos para el DCC.

DENOMINACIÓN DE LOS FACTORES			NIVELES				
Nº	VARIABLES INDEPENDIENTES	UNIDADES	-1	0	+1	Z ⁰	ΔZ _j
1	X ₁ : Velocidad de Agitación	RPM	400	500	600	500	100
2	X ₂ : Potencial de Hidrógeno	pH	9	9.5	10	9.5	0.5
3	X ₃ : Temperatura de Síntesis	°C	48	49.5	51	49.5	1.5
4	X ₄ : Volumen de FF	μL	120	150	180	150	30
5	X ₅ : Tiempo de Síntesis	min	180	210	240	210	30
	VARIABLE DEPENDIENTE	UNIDAD	RESTRICCIÓN				
1	Y ₁ : Absorbancia Max. (411nm)	u.a	Absorbancia (411 nm)				

Elaboración Propia.

4.6.3.2. DISEÑO COMPUESTO CENTRAL – DCC

El DCC, no es otra cosa que un diseño factorial 2K para menores de 5 variables ($k < 5$), además de los puntos adicionales o llamados puntos estrella a una distancia $\pm \alpha$ del punto central del diseño, también se consideran los puntos replicados en el centro del diseño, para hallar la varianza del error experimental y el número de observaciones o pruebas experimentales que realizara el DCC, dado por la siguiente relación $N = 2K + 2K + n^\circ$, para $K < 5$. (Ayala & Pardo, 1995). En la tabla 21, se muestra la matriz del diseño (DCC) a escala codificada, para 5 variables significativas resultantes de las etapas previas, además se identifica el tipo de ensayo experimental, según el DCC. También nos presenta los valores de respuesta (Y), para cada ensayo experimental, siendo estos los valores adimensionales de Absorbancia a 411nm registrados por el espectrofotómetro UV-VIS.

METODOLOGÍA DE SUPERFICIE RESPUESTA (MSR): DISEÑO COMPUESTO CENTRA - DCC
ANÁLISIS DE REGRESION CUADRÁTICO MULTIFACTORIAL

Tabla 21. Matriz del Diseño Compuesto Central – DCC a escala codificada y escala natural de las variables significativas.

N°	ESCALA CODIFICADA						ESCALA NATURAL					Y
	X0	X1	X2	X3	X4	X5	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	EXPERIMENTAL
1	1	-1	-1	-1	-1	1	400	9	48	120	240	0.6712
2	1	1	-1	-1	-1	-1	600	9	48	120	180	0.9337
3	1	-1	1	-1	-1	-1	400	10	48	120	180	0.4539
4	1	1	1	-1	-1	1	600	10	48	120	240	0.6804
5	1	-1	-1	1	-1	-1	400	9	51	120	180	0.5862
6	1	1	-1	1	-1	1	600	9	51	120	240	0.7172
7	1	-1	1	1	-1	1	400	10	51	120	240	0.8970
8	1	1	1	1	-1	-1	600	10	51	120	180	1.1555
9	1	-1	-1	-1	1	-1	400	9	48	180	180	0.7781
10	1	1	-1	-1	1	1	600	9	48	180	240	1.3031
11	1	-1	1	-1	1	1	400	10	48	180	240	0.7088
12	1	1	1	-1	1	-1	600	10	48	180	180	0.4239
13	1	-1	0	1	1	1	400	9	51	180	240	0.7352
14	1	1	0	1	1	-1	600	9	51	180	180	0.7539
15	1	-1	0	1	1	-1	400	10	51	180	180	1.2076
16	1	1	1	1	1	1	600	10	51	180	240	1.2196
17	1	-2	0	0	0	0	300	9.5	49.5	150	210	0.9128
18	1	2	0	0	0	0	700	9.5	49.5	150	210	0.4646
19	1	0	-2	0	0	0	500	8.5	49.5	150	210	0.6144
20	1	0	2	0	0	0	500	10.5	49.5	150	210	0.9658
21	1	0	0	-2	0	0	500	9.5	46.5	150	210	0.9899
22	1	0	0	2	0	0	500	9.5	52.5	150	210	0.9711
23	1	0	0	0	-2	0	500	9.5	49.5	90	210	0.4530
24	1	0	0	0	2	0	500	9.5	49.5	210	210	1.0889
25	1	0	0	0	0	-2	500	9.5	49.5	150	150	0.7233
26	1	0	0	0	0	2	500	9.5	49.5	150	270	0.8898
27	1	0	0	0	0	0	500	9.5	49.5	150	210	0.2657
28	1	0	0	0	0	0	500	9.5	49.5	150	210	0.7514
29	1	0	0	0	0	0	500	9.5	49.5	150	210	0.4033
30	1	0	0	0	0	0	500	9.5	49.5	150	210	0.5228
31	1	0	0	0	0	0	500	9.5	49.5	150	210	0.6797
32	1	0	0	0	0	0	500	9.5	49.5	150	210	0.7235

Elaboración Propia.

Tabla 22. Matriz del diseño compuesto central – DCC clasificados por puntos factoriales para las 5 variables significativas.

N°		VARIABLES INDEPENDIENTE CODIFICADAS (Xj)					VARIABLE DEPENDIENTE
		X1	X2	X3	X4	X5	Y
PUNTOS FACTORIALES	1	-1	-1	-1	-1	1	0.6712
	2	1	-1	-1	-1	-1	0.9337
	3	-1	1	-1	-1	-1	0.4539
	4	1	1	-1	-1	1	0.6804
	5	-1	-1	1	-1	-1	0.5862
	6	1	-1	1	-1	1	0.7172
	7	-1	1	1	-1	1	0.8970
	8	1	1	1	-1	-1	1.1555
	9	-1	-1	-1	1	-1	0.7781
	10	1	-1	-1	1	1	1.3031
	11	-1	1	-1	1	1	0.7088
	12	1	1	-1	1	-1	0.4239
	13	-1	-1	1	1	1	0.7352
	14	1	-1	1	1	-1	0.7539
	15	-1	1	1	1	-1	1.2076
	16	1	1	1	1	1	1.2196
PUNTOS COMPUESTOS	17	-2	0	0	0	0	0.9128
	18	2	0	0	0	0	0.4646
	19	0	-2	0	0	0	0.6144
	20	0	2	0	0	0	0.9658
	21	0	0	-2	0	0	0.9899
	22	0	0	2	0	0	0.9711
	23	0	0	0	-2	0	0.4530
	24	0	0	0	2	0	1.0889
	25	0	0	0	0	-2	0.7233
	26	0	0	0	0	2	0.8898
PUNTOS CENTRALES	27	0	0	0	0	0	0.2657
	28	0	0	0	0	0	0.7514
	29	0	0	0	0	0	0.4033
	30	0	0	0	0	0	0.5228
	31	0	0	0	0	0	0.6797
	32	0	0	0	0	0	0.7235

Elaboración Propia.

El diseño experimental empleado (DCC), es un diseño que tiene tres niveles para cada variable, por lo tanto, se pueden estimar modelos matemáticos de segundo orden, según la serie de Taylor, mediante la siguiente ecuación:

$$Y = b_0 + \sum_{j=1}^k b_j X_j + \sum_{u,j=1}^k b_{uj} X_u X_j + \sum_{j=1}^k b_{jj} X_j^2 \quad (4.13)$$

Ahora bien, estos coeficientes del modelo matemático, serán estimados en su forma matricial para el sistema de ecuaciones generados por el DCC. El método matricial es el más recomendable para el desarrollo de la búsqueda de los coeficientes de la ecuación anterior; esto desde el punto de vista en la facilidad de los cálculos, se pueden programar las resoluciones en hojas de cálculo como: EXCEL, MINITAB o programas específicas de resolución matemática y estadística para optimización de procesos, software de programación como MATLAB, SIMULINK y RStudio. A continuación, mostramos la resolución de la ecuación matemática (modelo matemático de segundo orden) mediante programación en hoja de cálculo, y el cual está definido por la siguiente formula matricial:

$$B = (X^T X)^{-1}XY \quad (4.14)$$

Donde:

X: Matriz de Diseño.

X^T : Transpuesta de la Matriz de Diseño.

Y: Datos observados (respuestas).

$(X^T X)^{-1}$: Matriz inversa del producto de matrices.

B: Coeficientes del modelo

RESOLUCIÓN MATRICIAL DEL MODELO MULTIFACTORIAL CUADRÁTICO

La Matriz de Diseño X y el vector Y están definidos como:

Matriz: [X]

X0	X1	X2	X3	X4	X5	U1	U2	U3	U4	U5	X1*X2	X1*X3	X1*X4	X1*X5	X2*X3	X2*X4	X2*X5	X3*X4	X3*X5	X4*X5
1	-1	-1	-1	-1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1
1	1	-1	-1	-1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1
1	-1	1	-1	-1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	1	1
1	1	1	-1	-1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1
1	-1	-1	1	-1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1
1	1	-1	1	-1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1
1	-1	1	1	-1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1
1	1	1	1	-1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1
1	-1	-1	-1	1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	1	-1
1	1	-1	-1	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1
1	-1	1	-1	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	1
1	1	1	-1	1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1
1	-1	-1	1	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1
1	1	-1	1	1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1
1	-1	1	1	1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1	-1
1	1	1	1	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	-2	0	0	0	0	3.25	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	2	0	0	0	0	3.25	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	-2	0	0	0	-0.75	3.25	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	2	0	0	0	-0.75	3.25	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	-2	0	0	-0.75	-0.75	3.25	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	2	0	0	-0.75	-0.75	3.25	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	-2	0	-0.75	-0.75	-0.75	3.25	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	2	0	-0.75	-0.75	-0.75	3.25	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	-2	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	3.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	2	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	3.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Elaboración Propia.

La Inversa de la matriz $(X^T X)^{-1}$, denominada también matriz de correlación es la siguiente matriz resultante:

Matriz: $([X^T][X])^{-1}$

0.0313	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0.0417	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0.0417	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0.0417	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0.0417	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0.0417	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0.0341	0.0028	0.0028	0.0028	0.0028	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0.0028	0.0341	0.0028	0.0028	0.0028	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0.0028	0.0028	0.0341	0.0028	0.0028	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0.0028	0.0028	0.0028	0.0341	0.0028	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0.0028	0.0028	0.0028	0.0028	0.0341	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0625	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0625	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0625	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0625	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0625	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0625	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0625	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0625	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0625	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0625

Elaboración Propia.

El producto de la matriz transpuesta $[X^T]$ y el vector $[Y]$ es el siguiente vector:

Producto de Matrices: $[X]^T[Y]$

24.6866
0.2529
0.9709
1.2815
2.3069
0.9727
0.2199
1.0312
2.5544
0.8779
1.1628
-0.7251
-0.3089
-0.6077
0.6669
3.1063
-0.2889
-0.1099
0.0857
-0.9081
0.9667

El producto de las matrices: $([X^T][X])^{-1}$ por $([X]^T[Y])$ es el siguiente vector resultante:

Vector $[B_j] =$

0.7715	X0
0.0105	X1
0.0405	X2
0.0534	X3
0.0961	X4
0.0405	X5
0.0235	U1
0.0488	U2
0.0964	U3
0.0440	U4
0.0529	U5
-0.0453	X1*X2
-0.0193	X1*X3
-0.0380	X1*X4
0.0417	X1*X5
0.1941	X2*X3
-0.0181	X2*X4
-0.0069	X2*X5
0.0054	X3*X4
-0.0568	X3*X5
0.0604	X4*X5

4.6.3.3. ANÁLISIS DE VARIANZA Y EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS SIGNIFICATIVOS DE VARIABLES

A. Cálculo de Significancia de los Coeficientes del Modelo

Los coeficientes del modelo matemático son evaluados para su significancia, mediante el estadístico T- Student, que está determinado por la siguiente relación.

$$t_j = \frac{b_j}{Sb_j} \quad (4.15)$$

La varianza asociada a cada coeficiente está determinada por:

$$Sb_j^2 = C_{jj}Se^2 \quad (4.16)$$

Donde: Sb_j : Desviación Standard asociado a los coeficientes.

C_{jj} : Elementos de la diagonal de la Matriz de Correlación $([X]^T [X])$

S_e : Desviación Standard del error experimental, se estima de acuerdo a:

B. Cálculo del Suma de Cuadrados del Error (SS_{ERROR})

$$SS_{ERROR} = \sum_{i=1}^{N^{\circ}} (Y_i^o - \bar{Y}^o)^2 \quad (4.17)$$

Donde: Y_i^o : Puntos centrales del diseño.

\bar{Y}^o : Promedio de los puntos centrales del diseño.

$$\bar{Y}^o = \frac{\sum_{i=1}^{N^{\circ}} Y_i^o}{N^{\circ}} \quad (4.18)$$

$$\bar{Y}^o = (0.3070 + 0.7514 + 0.4033 + 0.5228 + 0.6797 + 0.7235)/6 = 0.5646$$

$$SS_E = (0.3070 - 0.5646)^2 + (0.7514 - 0.5646)^2 + (0.4033 - 0.5646)^2 + (0.5228 - 0.5646)^2 + (0.6797 - 0.5646)^2 + (0.7235 - 0.5646)^2$$

$$SS_E = 0.1675$$

C. Cálculo de los Grados de Libertad

$$f_2 = \text{Puntos Centrales} - 1 \quad (4.19)$$

$$f_2 = 6 - 1 = 5$$

D. Cálculo de la Media de la Suma de Cuadrados del Error (MS_{ERROR})

$$MS_{ERROR} = \frac{SS_e}{f_2} \quad (4.20)$$

$$MS_{ERROR} = \frac{0.1675}{5} = 0.03350$$

E. Cálculo de Desviación Standard (Se)

$$Se = \sqrt{MS_{ERROR}} \quad (4.21)$$

$$Se = \sqrt{0.03350} = 0.18303$$

F. Elementos de la Diagonal de la Matriz Correlación (CJ)

0.0313
0.0417
0.0417
0.0417
0.0417
0.0417
0.0341
0.0341
0.0341
0.0341
0.0341
0.0625
0.0625
0.0625
0.0625
0.0625
0.0625
0.0625
0.0625
0.0625
0.0625

G. Test de Significancia T – Student

Tabla 23. Test T-Student para el análisis de significancia de los coeficientes del modelo estadístico.

	SE	$C_j^{1/2}$	SB_j	B_j	T_j	SIGNIFICANCIA
X0	0.18303	0.17692	0.03238	0.7715	23.8254703	SIGNIFICATIVO
X1	0.18303	0.20421	0.03738	0.0105	0.28093056	NO SIGNIFICATIVO
X2	0.18303	0.20421	0.03738	0.0405	1.08358932	SIGNIFICATIVO
X3	0.18303	0.20421	0.03738	0.0534	1.42873259	SIGNIFICATIVO
X4	0.18303	0.20421	0.03738	0.0961	2.57118355	SIGNIFICATIVO
X5	0.18303	0.20421	0.03738	0.0405	1.08358932	NO SIGNIFICATIVO
U1	0.18303	0.18466	0.03380	0.0235	0.69529386	NO SIGNIFICATIVO
U2	0.18303	0.18466	0.03380	0.0488	1.44384427	SIGNIFICATIVO
U3	0.18303	0.18466	0.03380	0.0964	2.85218417	SIGNIFICATIVO
U4	0.18303	0.18466	0.03380	0.0440	1.3018268	SIGNIFICATIVO
U5	0.18303	0.18466	0.03380	0.0529	1.56515086	SIGNIFICATIVO
X1*X2	0.18303	0.25000	0.04576	-0.0453	-0.99000164	NO SIGNIFICATIVO
X1*X3	0.18303	0.25000	0.04576	-0.0193	-0.42178878	NO SIGNIFICATIVO
X1*X4	0.18303	0.25000	0.04576	-0.0380	-0.83046495	NO SIGNIFICATIVO
X1*X5	0.18303	0.25000	0.04576	0.0417	0.91132601	NO SIGNIFICATIVO
X2*X3	0.18303	0.25000	0.04576	0.1941	4.24192755	SIGNIFICATIVO
X2*X4	0.18303	0.25000	0.04576	-0.0181	-0.39556357	NO SIGNIFICATIVO
X2*X5	0.18303	0.25000	0.04576	-0.0069	-0.15079495	NO SIGNIFICATIVO
X3*X4	0.18303	0.25000	0.04576	0.0054	0.11801344	NO SIGNIFICATIVO
X3*X5	0.18303	0.25000	0.04576	-0.0568	-1.24132656	SIGNIFICATIVO
X4*X5	0.18303	0.25000	0.04576	0.0604	1.32000219	SIGNIFICATIVO

Elaboración Propia.

TEST T; tabla para significancia de coeficientes

Calculo $t(0.85; 5) = 1.156$

Tabla 24. Análisis de Varianza y Significancia de las Variables Independientes del Proceso de Biosíntesis de AgNPs mediante el Diseño Compuesto Central – DCC

Nº	VARIABLES LINEALES (X _j)						VARIABLES CUADRATICAS (X _j ²)					VARIABLES INTERRACTIVAS										VARIABLE RESPUESTA
	X ₀	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	U ₁	U ₂	U ₃	U ₄	U ₅	X ₁ *X ₂	X ₁ *X ₃	X ₁ *X ₄	X ₁ *X ₅	X ₂ *X ₃	X ₂ *X ₄	X ₂ *X ₅	X ₃ *X ₄	X ₃ *X ₅	X ₄ *X ₅	Y
1	1	-1	-1	-1	-1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	0.6712
2	1	1	-1	-1	-1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	0.9337
3	1	-1	1	-1	-1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	1	1	0.4539
4	1	1	1	-1	-1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	0.6804
5	1	-1	-1	1	-1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	0.5862
6	1	1	-1	1	-1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	0.7172
7	1	-1	1	1	-1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	0.897
8	1	1	1	1	-1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1.1555
9	1	-1	-1	-1	1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	1	-1	0.7781
10	1	1	-1	-1	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1.3031
11	1	-1	1	-1	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	0.7088
12	1	1	1	-1	1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	0.4239
13	1	-1	-1	1	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	0.7352
14	1	1	-1	1	1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	0.7539
15	1	-1	1	1	1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1	-1	1.2076
16	1	1	1	1	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.2196
17	1	-2	0	0	0	0	3.25	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.9128
18	1	2	0	0	0	0	3.25	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.4646
19	1	0	-2	0	0	0	-0.75	3.25	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.6144
20	1	0	2	0	0	0	-0.75	3.25	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.9658
21	1	0	0	-2	0	0	-0.75	-0.75	3.25	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.9899
22	1	0	0	2	0	0	-0.75	-0.75	3.25	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.9711
23	1	0	0	0	-2	0	-0.75	-0.75	-0.75	3.25	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.453
24	1	0	0	0	2	0	-0.75	-0.75	-0.75	3.25	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0889
25	1	0	0	0	0	-2	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	3.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.7233
26	1	0	0	0	0	2	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	3.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.8898
27	1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3857
28	1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.7514
29	1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.4033
30	1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5228
31	1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.6797
32	1	0	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.7235
Σ X	32	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24.6453
Σ X ²	32	24.00	24.00	24.00	24.00	24.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00	21.07
Σ X*Y	24.686	0.2529	0.9709	1.2815	2.3069	0.9727	0.2199	1.0312	2.5544	0.8779	1.1628	-0.7251	-0.3089	-0.6077	0.6669	3.1063	-0.2889	-0.1099	0.0857	-0.9081	0.9667	-
SE	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	0.1626	-
√C _j	0.1769	0.2042	0.2042	0.2042	0.2042	0.2042	0.1847	0.1847	0.1847	0.1847	0.1847	0.2500	0.2500	0.2500	0.2500	0.2500	0.2500	0.2500	0.2500	0.2500	0.2500	-
SB _j	0.0288	0.0332	0.0332	0.0332	0.0332	0.0332	0.0300	0.0300	0.0300	0.0300	0.0300	0.0406	0.0406	0.0406	0.0406	0.0406	0.0406	0.0406	0.0406	0.0406	0.0406	-
B _j	0.7739	0.0105	0.0405	0.0534	0.0961	0.0405	0.0235	0.0488	0.0964	0.0440	0.0529	-0.0453	-0.0193	-0.0380	0.0417	0.1941	-0.0181	-0.0069	0.0054	-0.0568	0.0604	-
T	26.909	0.3174	1.2186	1.6085	2.8955	1.2209	0.7829	1.6257	3.2114	1.4658	1.7623	-1.1151	-0.4751	-0.9346	1.0256	4.7772	-0.4443	-0.1690	0.1318	-1.3966	1.4867	-
SIGNIF.	SI	NO	SI	SI	SI	SI	NO	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	SI	SI	-

Elaboración Propia.

4.6.3.4. ESTIMACIÓN DE MODELO MATEMÁTICO MULTIFACTORIAL DE SEGUNDO ORDEN

La Ecuación Cuadrática Codificada resultantes para las variables significativas es la siguiente, que a continuación se presenta:

$$Y = 0.7739 + 0.0405X_2 + 0.0534X_3 + 0.0961X_4 + 0.0405X_5 + 0.0488X_2^2 + 0.0964X_3^2 + 0.0440X_4^2 + 0.05290X_5^2 + 0.1941X_2X_3 - 0.0568X_3X_5 + 0.0604X_4X_5 + e \quad (4.22)$$

4.6.3.5. ANÁLISIS DE RESIDUALES Y AJUSTE DEL MODELO CUADRÁTICO

A. Cálculo de la Suma de Cuadrados de Residuales (SSRESIDUAL)

$$SS_R = \sum_{i=1}^N (Y_i - \hat{Y})^2 \quad (4.23)$$

$$\begin{aligned} SS_R = & (0.0908)^2 + (-0.01320)^2 + (-0.0405)^2 + (-0.2258)^2 + (0.0476)^2 \\ & + (-0.1232)^2 + (0.1662)^2 + (-0.0525)^2 + (0.2086)^2 + (-0.1145)^2 \\ & + (0.1724)^2 + (0.2554)^2 + (0.0584)^2 + (-0.1622)^2 + (-0.1467)^2 \\ & + (0.0431)^2 + (-0.3205)^2 + (0.1277)^2 + (0.0922)^2 + (-0.0974)^2 \\ & + (-0.1188)^2 + (0.1136)^2 + (0.1231)^2 + (-0.1283)^2 + (-0.0004)^2 \\ & + (-0.0048)^2 + (0.2066)^2 + (-0.1591)^2 + (0.1890)^2 + (0.0695)^2 \\ & + (-0.0874)^2 + (-0.1312)^2 \end{aligned}$$

$$SS_R = 0.6598$$

B. Cálculo de la Media de Cuadrados Del Residual (SMRESIDUAL)

$$SM_{RESIDUAL} = \frac{SS_R}{f_1} = \frac{SS_R}{N - I} \quad (4.24)$$

Donde: N : Número de experimentos.

I : Coeficientes del modelo cuadrático.

f_1 : grados de libertad.

$$SM_R = \frac{0.6598}{32 - 12}$$

$$SM_R = 0.0330$$

C. Cálculo de la Suma de Cuadrados del Error Experimental (SS_{ERROR})

Los cálculos para el SS_{ERROR} y el SM_{ERROR} , se han desarrollado con la ecuación (4.17), presentada a continuación:

$$SS_{ERROR} = \sum_{i=1}^{N^{\circ}} (Y_i^o - \bar{Y}^o)^2$$

Donde: Y_i^o : Puntos centrales del diseño.

\bar{Y}^o : Promedio de los puntos centrales.

Los valores calculados con la ecuación 4.17, para el cuadrado y la media de errores son:

$$SS_{ERROR} = 0.1321$$

$$SM_{ERROR} = 0.0264$$

D. Cálculo de la Suma De Cuadrados de la Falta de Ajuste ($SS_{F.A.}$)

$$SS_{FA} = SS_R - SS_{ERROR} \quad (4.25)$$

$$SS_{FA} = 0.6598 - 0.1321$$

$$SS_{FA} = 0.5277$$

E. Cálculo de la Media de Cuadrados de la Falta de Ajuste ($SS_{F.A.}$)

$$SM_{FA} = \frac{SS_{FA}}{f_3} = \frac{SS_{FA}}{f_1 - f_2} \quad (4.26)$$

$$SM_{FA} = \frac{0.5277}{20 - 5}$$

$$SM_{FA} = 0.0352$$

F. Test de Significancia F - Fisher

$$F = \frac{SM_{FA}}{SM_{ERROR}} \quad (4.27)$$

$$F = \frac{0.0352}{0.0264}$$

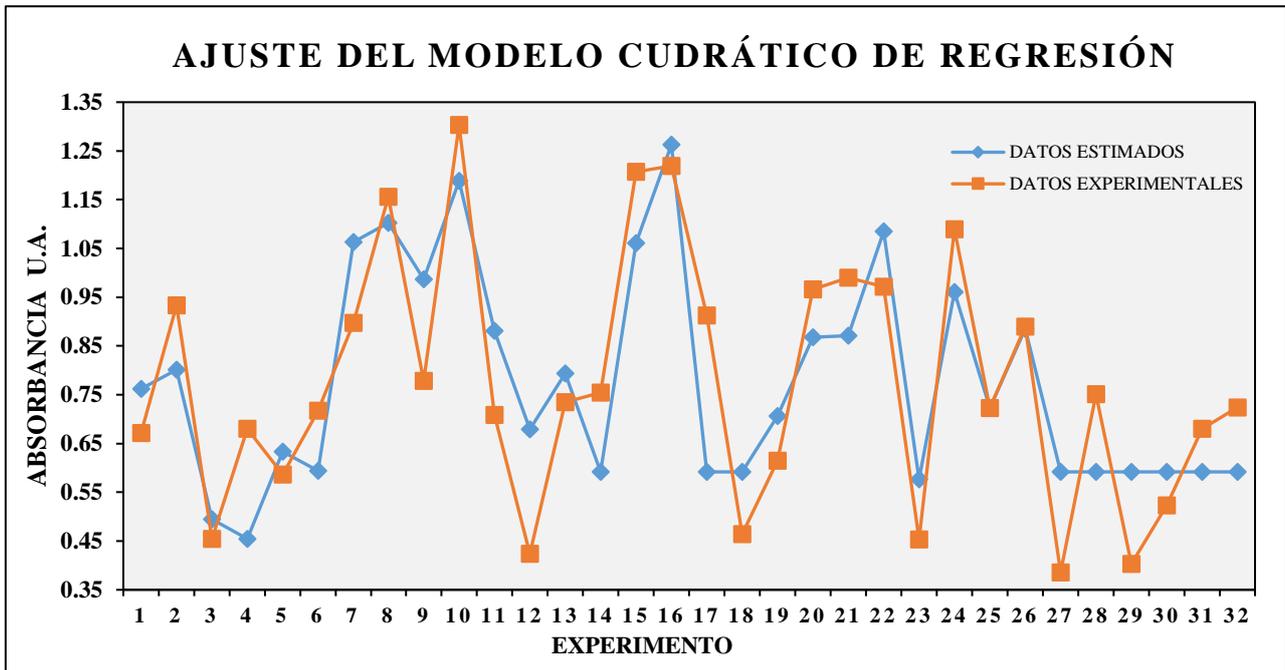
$$F = 1.3313$$

Tabla 25. Análisis de residuales y validación del modelo estadístico cuadrático multifactorial del proceso de biosíntesis de NPsAg

N°	MATRIZ DE DISEÑO COMPUESTO CENTRAL DCC												MATRIZ DE COHEF. B	ANÁLISIS DE RESIDUALES						
	LINEAL					CUADRÁTICO				INTERACTIVOS				VALORES ESTIMAD.	VALORES EXPERIM.	ERROR EXPERIMENTAL		TEST DE FISHER (95%)		
	X ₀	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	U ₂	U ₃	U ₄	U ₅	X ₂ *X ₃	X ₃ *X ₅	X ₄ *X ₅		Y _{EST.}	Y _{EXP.}	Y _{EST.} -Y _{EXP.}	(Y _{EST.} -Y _{EXP.}) ²	F _o	F _(TABLAS)	EVALUACIÓN
1	1	-1	-1	-1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1	-1	0.77392	0.7620	0.6712	0.0908	0.0082	1.3313	4.56	"EL MODELO ESTADÍSTICO DE 2DO ORDEN ES VALIDO"
2	1	-1	-1	-1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1	1	0.04045	0.8017	0.9337	-0.1320	0.0174			
3	1	1	-1	-1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	1	1	0.05340	0.4944	0.4539	0.0405	0.0016			
4	1	1	-1	-1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	1	-1	0.09612	0.4546	0.6804	-0.2258	0.0510			
5	1	-1	1	-1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	-1	1	0.04053	0.6338	0.5862	0.0476	0.0023			
6	1	-1	1	-1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	-1	-1	0.04880	0.5940	0.7172	-0.1232	0.0152			
7	1	1	1	-1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	1	-1	-1	0.09640	1.0632	0.8970	0.1662	0.0276			
8	1	1	1	-1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	1	-1	1	0.04400	1.1030	1.1555	-0.0525	0.0028			
9	1	-1	-1	1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	1	-1	-1	0.05290	0.9867	0.7781	0.2086	0.0435			
10	1	-1	-1	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	1	-1	1	0.19414	1.1886	1.3031	-0.1145	0.0131			
11	1	1	-1	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	-1	1	-0.05676	0.8812	0.7088	0.1724	0.0297			
12	1	1	-1	1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	-1	-1	0.06042	0.6793	0.4239	0.2554	0.0652			
13	1	-1	1	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	1	1		0.7936	0.7352	0.0584	0.0034			
14	1	-1	1	1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	-1	1	-1		0.5917	0.7539	-0.1622	0.0263			
15	1	1	1	1	-1	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1	-1		1.0609	1.2076	-0.1467	0.0215			
16	1	1	1	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1	1		1.2627	1.2196	0.0431	0.0019			
17	1	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0		0.5923	0.9128	-0.3205	0.1027			
18	1	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0		0.5923	0.4646	0.1277	0.0163			
19	1	-2	0	0	0	3.25	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0		0.7066	0.6144	0.0922	0.0085			
20	1	2	0	0	0	3.25	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0		0.8684	0.9658	-0.0974	0.0095			
21	1	0	-2	0	0	-0.75	3.25	-0.75	-0.75	0	0	0		0.8711	0.9899	-0.1188	0.0141			
22	1	0	2	0	0	-0.75	3.25	-0.75	-0.75	0	0	0		1.0847	0.9711	0.1136	0.0129			
23	1	0	0	-2	0	-0.75	-0.75	3.25	-0.75	0	0	0		0.5761	0.4530	0.1231	0.0152			
24	1	0	0	2	0	-0.75	-0.75	3.25	-0.75	0	0	0		0.9606	1.0889	-0.1283	0.0165			
25	1	0	0	0	-2	-0.75	-0.75	-0.75	3.25	0	0	0		0.7229	0.7233	-0.0004	0.0000			
26	1	0	0	0	2	-0.75	-0.75	-0.75	3.25	0	0	0		0.8850	0.8898	-0.0048	0.0000			
27	1	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0		0.5923	0.3857	0.2066	0.0427			
28	1	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0		0.5923	0.7514	-0.1591	0.0253			
29	1	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0		0.5923	0.4033	0.1890	0.0357			
30	1	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0		0.5923	0.5228	0.0695	0.0048			
31	1	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0		0.5923	0.6797	-0.0874	0.0076			
32	1	0	0	0	0	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	0	0	0		0.5923	0.7235	-0.1312	0.0172			
Elaboración Propia.															0.6598	(SS RESIDUAL)				
															0.0330	(MS RESIDUAL)				
															0.1321	(SS ERROR)				
															0.0264	(MS ERROR)				
															0.5277	(SS FALTA DE AJUSTE)				
															0.0352	(MS FALTA DE AJUSTE)				

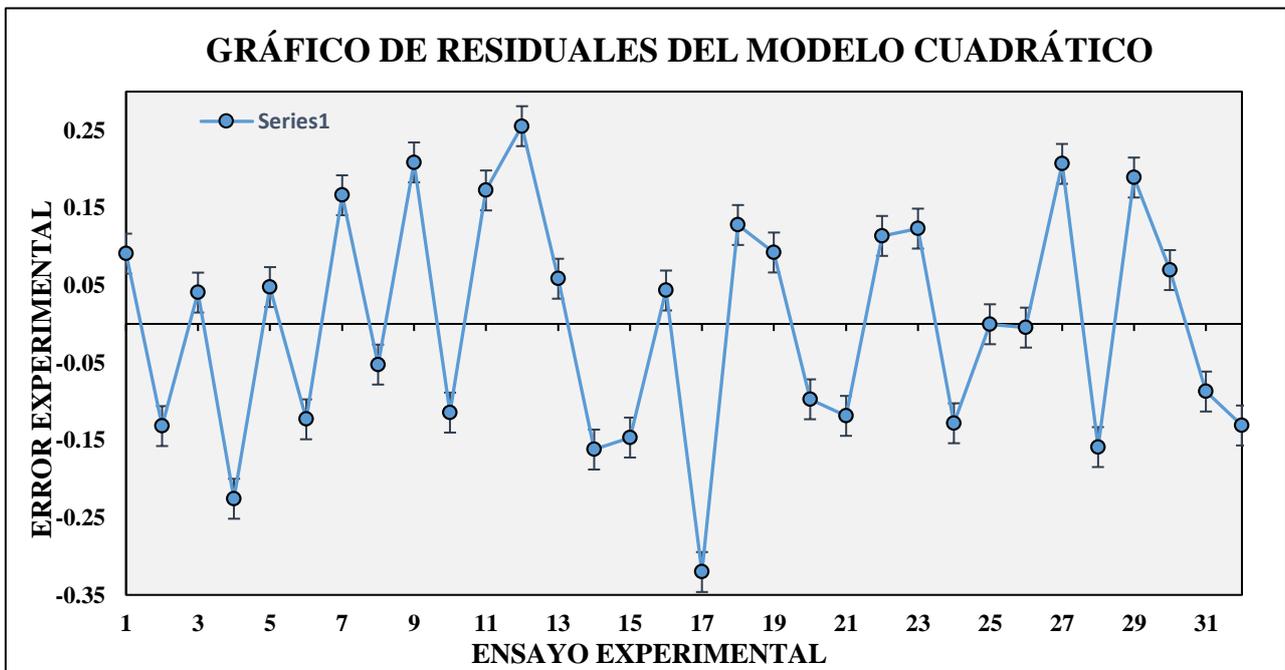
SS_{RESIDUAL}: Suma de Cuadrados de los valores residuales.
MS_{RESIDUAL}: Mediad de la Suma de Cuadrados del Residual.
SS_{ERROR}: Suma de Cuadrados del Error.
MS_{ERROR}: Media de la Suma de Cuadrados del Error.
SS_{F.A.}: Suma de Cuadrados de la Falta de Ajuste.

Figura 48. Ajuste de los Datos Experimentales y Estimados, para el Modelo Cuadrático Multifactorial de la Biosíntesis de NPsAg usando La Fracción Flavonoide de *Lepechinia Meyenii*



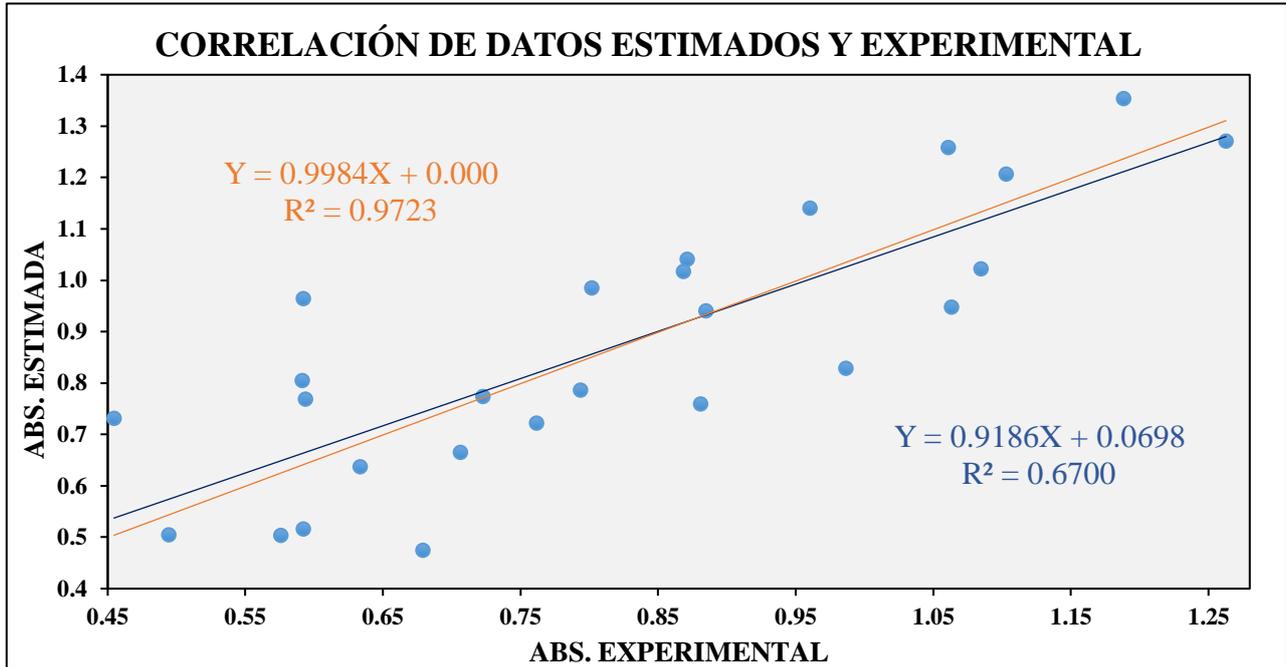
Elaboración Propia.

Figura 49. Análisis de Residuales y Error Experimental para el Modelo Cuadrático Multifactorial de la Biosíntesis de NPsAg usando La Fracción Flavonoide de La Especie Vegetal *Lepechinia Meyenii*.



Elaboración Propia.

Figura 50. Bondad de Ajuste de Datos para el Modelo Cuadrático Multifactorial de la Biosíntesis de NPsAg usando La Fracción Flavonoide de La Especie Vegetal *Lepechinia Meyenii*



Elaboración Propia.

4.6.3.6. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL MODELO CUADRÁTICO

Las tablas 26, 27, 28, 29, 30, 31, que se muestran a continuación son denominados mallas de superficie y han sido generados por la ecuación 4.22. (ecuación matemática multifactorial de 2do orden, obtenida por el DCC de la MSR). Estos puntos generados, son valores estimados por la ecuación 4.22, para diseñar los gráficos de superficie 3D y modelar las curvas de superficie de respuesta con los valores codificados respectivos (-1, 0, +1) del diseño compuesto central (DCC). Asimismo, los valores generados en la malla de puntos están en función de dos variables significativas que han sido evaluados por el diseño experimental. Los niveles tanto máximos (+1) y mínimo (-1) por cada variable, son valores codificados, a partir del cual se genera un valor de respuesta, que se pueden apreciar en la malla de puntos, entonces estos valores son los puntos representativos en el espacio para generar los gráficos de superficie 3D del modelo matemático de 2do orden obtenido.

A. Efecto del pH (X₂) y Temperatura °C (X₃)

Las figuras 51, 52, 53 y 54, son la representación gráfica de superficie 3D y de contornos 2D que indican los efectos combinados del pH (X₂) y la temperatura (X₃), en los valores de respuesta para la Absorbancia (411 nm) de la biosíntesis de AgNPs, mientras que las otras dos variables significativas del modelo cuadrático se fijaron en sus niveles intermedios “cero” (X₄ = 0 y X₅ = 0). En la superficie de respuesta 3D (figura 51), podemos notar claramente una región de condiciones óptimas “Mínimo” (Abs = 0.75 – 0.80), en las que las condiciones y efecto de las variables significativas de las variables X₂ y X₃ son efectivas, para la biosíntesis de AgNPs.

El efecto del pH (X₂) y la temperatura (X₃) sobre la variable de respuesta Y (absorbancia), logro detectar 3 regiones optimas, una de condición mínima y dos extremos de condiciones máximas, de acuerdo al modelo de superficie 3D y los gráficos de contornos respectivos. La primera, está representado por una región mínima comprendida entre los valores de respuesta Y (absorbancia) = 0.75 y 0.8 (en verde) y los extremos de condiciones máximas, están comprendidos entre 0.9 – 1.2 de valores de respuesta Y (en amarillo y azul).

Un incremento del pH entre los valores de: 0 a +1.0 representado a escala codificada, incrementa los valores de respuesta Y, por encima del valor cuantitativo 1 respecto a la absorbancia. Por lo tanto, un aumento en el pH podría aumentar los valores de absorbancia (Y). La absorbancia máxima se observó en el rango de pH de + 0,8 a + 1 (en escala codificada). El pH juega un papel importante en el incremento de absorbancia de las AgNPs, obtenidas por biosíntesis. Sin embargo, se encontró una disminución en la absorbancia cuando hubo un descenso en la temperatura de 0 a -1 en valores codificados. El gráfico de superficie de respuesta (figura 51 y 52) mostró dos regiones de condiciones máximas y una región para las condiciones mínimas del proceso en estudio. También el gráfico de contornos correspondiente (figura 53 y 54), mostró un diseño uniforme alargado en diagonal en todo el plano de superficie 2D y el gráfico de superficie 3D, lo que implica que el efecto de la interacción entre el pH (X₂) y la temperatura (X₃) fue significativa en la variable de respuesta Y (Absorbancia). Por lo tanto, el efecto de curvatura de los gráficos de superficie de respuestas con respecto a la interacción de variables (X₂*X₃) y como variables cuadráticas X² y X³, se pueden apreciar que tiene buen grado de significancia, para la detección de la región optimizada de proceso.

DISEÑO COMPUESTO CENTRAL - DCC

Tabla 26. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta Estimada del Modelo Estadístico de 2do Orden, para Escala Codificada

		X ₂ : pH de Síntesis																				
		*	-1.00	-0.90	-0.80	-0.70	-0.60	-0.50	-0.40	-0.30	-0.20	-0.10	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90
X ₃ : Temperatura de Síntesis (°C)	-1.00	1.02	0.99	0.97	0.95	0.93	0.91	0.89	0.87	0.85	0.83	0.82	0.80	0.79	0.78	0.76	0.75	0.74	0.73	0.73	0.72	0.71
	-0.90	0.99	0.96	0.94	0.92	0.90	0.88	0.87	0.85	0.83	0.82	0.80	0.79	0.78	0.77	0.76	0.75	0.74	0.73	0.73	0.72	0.72
	-0.80	0.96	0.94	0.92	0.90	0.88	0.86	0.85	0.83	0.82	0.80	0.79	0.78	0.77	0.76	0.75	0.75	0.74	0.74	0.73	0.73	0.73
	-0.70	0.93	0.91	0.89	0.87	0.86	0.84	0.83	0.82	0.80	0.79	0.78	0.77	0.77	0.76	0.75	0.75	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74
	-0.60	0.90	0.88	0.87	0.85	0.84	0.83	0.81	0.80	0.79	0.78	0.78	0.77	0.76	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
	-0.50	0.88	0.86	0.85	0.83	0.82	0.81	0.80	0.79	0.78	0.78	0.77	0.77	0.76	0.76	0.76	0.76	0.75	0.76	0.76	0.76	0.76
	-0.40	0.85	0.84	0.83	0.82	0.81	0.80	0.79	0.78	0.78	0.77	0.77	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.77	0.77	0.77
	-0.30	0.83	0.82	0.81	0.80	0.79	0.79	0.78	0.78	0.77	0.77	0.77	0.77	0.76	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.78	0.78	0.79
	-0.20	0.81	0.81	0.80	0.79	0.78	0.78	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.78	0.78	0.79	0.79	0.80	0.81	0.82
	-0.10	0.80	0.79	0.78	0.78	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.78	0.78	0.79	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84
	0.00	0.78	0.78	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.78	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.85	0.86
	0.10	0.77	0.77	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.77	0.77	0.77	0.78	0.79	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.85	0.86	0.87
	0.20	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.85	0.87	0.88	0.90
	0.30	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.85	0.86	0.88	0.89	0.91	0.93	0.95
	0.40	0.74	0.74	0.75	0.75	0.76	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.84	0.85	0.87	0.88	0.90	0.92	0.94	0.96	0.98
	0.50	0.74	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.84	0.85	0.87	0.89	0.91	0.92	0.94	0.97	0.99	1.01
	0.60	0.73	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.79	0.80	0.81	0.83	0.84	0.86	0.87	0.89	0.91	0.93	0.95	0.97	1.00	1.02	1.05
	0.70	0.73	0.74	0.75	0.76	0.77	0.78	0.80	0.81	0.83	0.84	0.86	0.88	0.90	0.92	0.94	0.96	0.98	1.01	1.03	1.06	1.08
	0.80	0.73	0.74	0.75	0.77	0.78	0.79	0.81	0.82	0.84	0.86	0.88	0.90	0.92	0.94	0.96	0.99	1.01	1.04	1.07	1.09	1.12
	0.90	0.73	0.75	0.76	0.77	0.79	0.80	0.82	0.84	0.86	0.88	0.90	0.92	0.95	0.97	0.99	1.02	1.05	1.07	1.10	1.13	1.16
1.00	0.74	0.75	0.77	0.78	0.80	0.82	0.84	0.86	0.88	0.90	0.92	0.95	0.97	1.00	1.03	1.05	1.08	1.11	1.14	1.17	1.21	

Elaboración Propia.

Figura 51. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

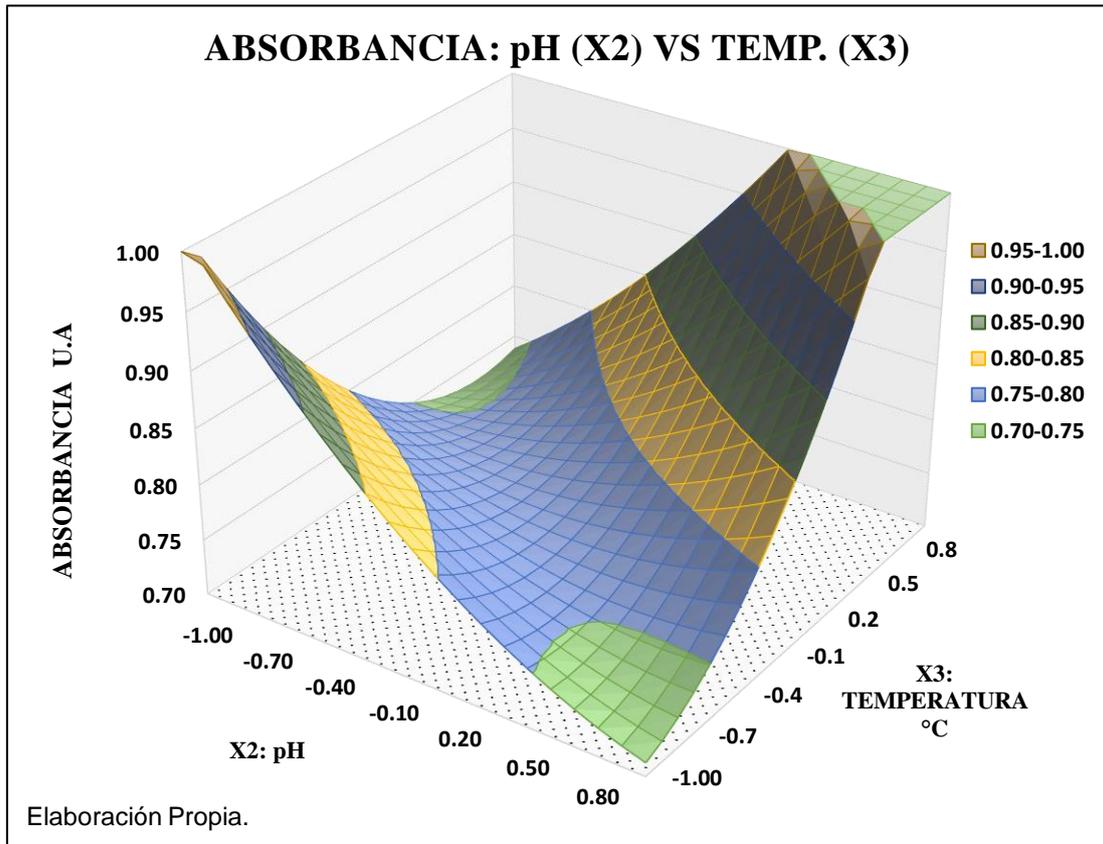


Figura 52. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

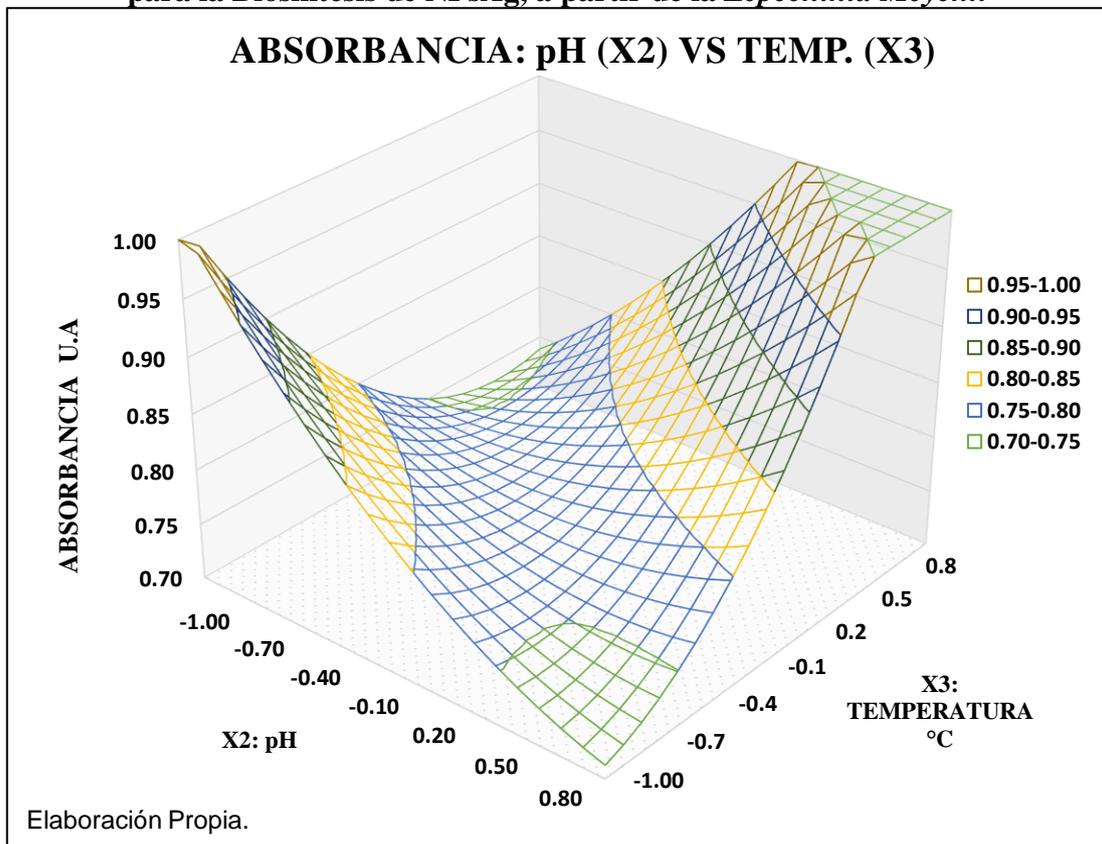


Figura 53. Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

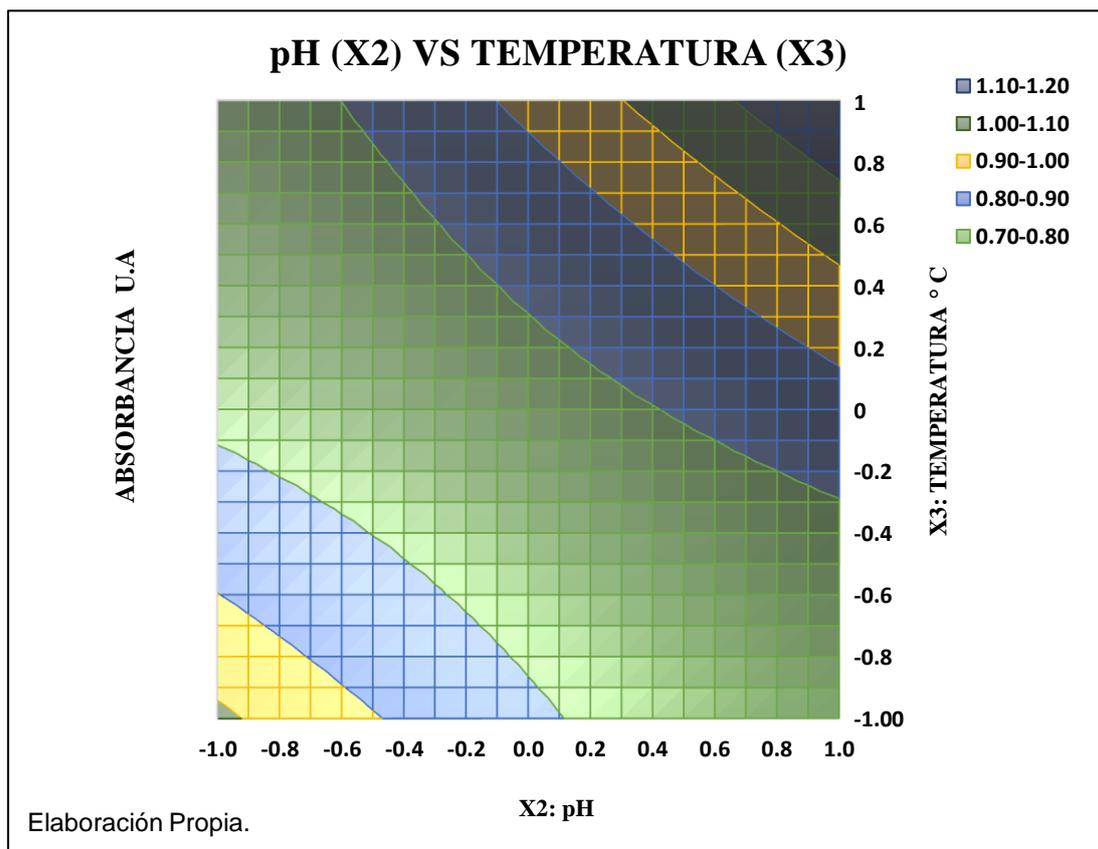
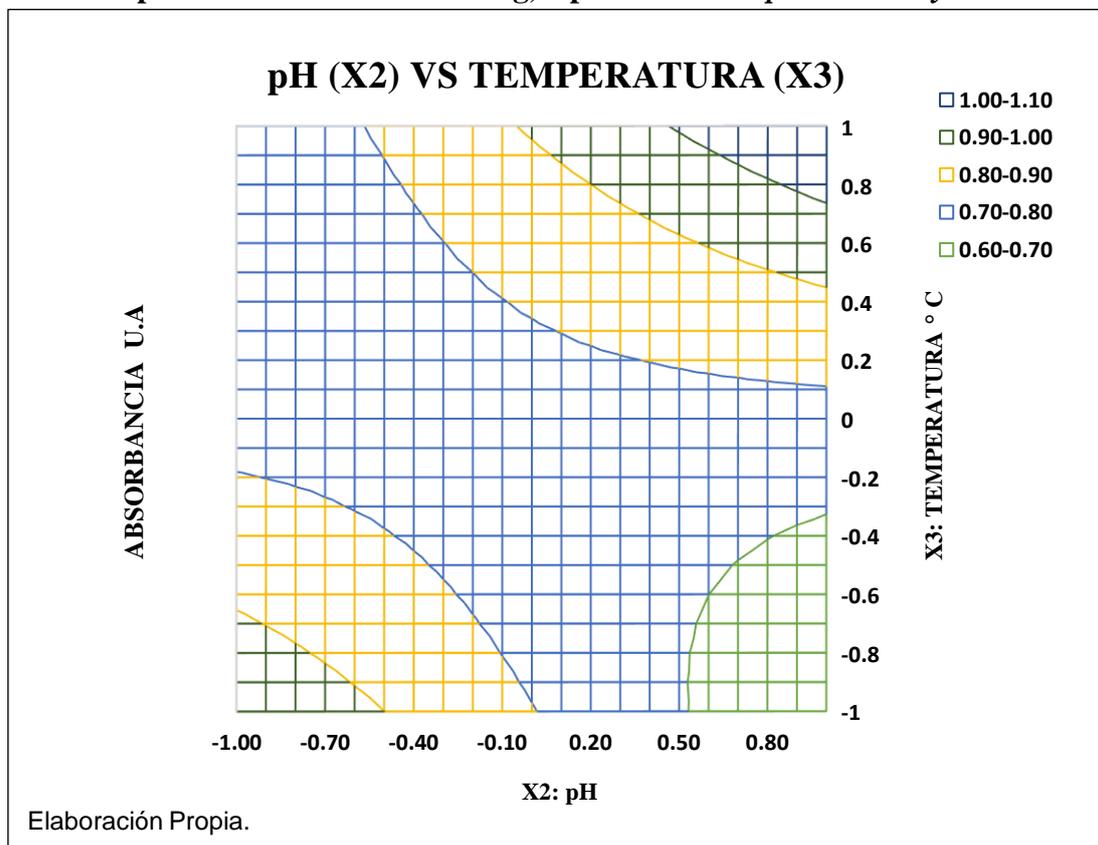


Figura 54. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*



B. Efecto de la Temperatura (X₃) y el Volumen de F. Flavonoide (X₄)

Las figuras 55, 56, 57 y 58, son los gráficos de superficie de respuesta 3D y de contornos 2D respectivamente, que indican los efectos combinados de la temperatura (X₃) y el volumen de FF (X₄), para los valores de Absorbancia a 411 nm de la biosíntesis de AgNPs; en tanto, las otras dos variables significativas del modelo cuadrático (ecuación 4.22), se fijaron en su nivel medio “cero” (X₄ = 0 y X₅ = 0). En la superficie de respuesta 3D (gráfico 4.38 y 4.39), podemos notar claramente la región de condiciones óptimas “Mínimo” (Abs = 0.70 – 0.75) como valores de respuesta Y, en las que las condiciones y efecto de las variables significativas de las variables X₂ y X₃ son efectivas para la biosíntesis de AgNPs, estos están comprendidas entre los valores mínimos para la FF y entre los valores intermedios para la temperatura (en valores codificados del modelo).

El efecto de la temperatura (X₃) y el volumen usado de FF (X₄) sobre la variable de respuesta Y (absorbancia 411nm), se estima gráficamente: una región optima, para las condiciones mínimas del modelo y un extremo de condición maximizada, de acuerdo al modelo de superficie 3D y los gráficos de contornos respectivos. La primera región, está representado por un mínimo comprendida entre los valores de respuesta Y (absorbancia) = 0.7 y 0.75 (en verde) y el extremo optimo (condiciones maximizadas), que está comprendido entre 0.95 – 1.0 de absorbancia Y (en verde). Sin embargo, el modelo ha extrapolado el valor máximo. Como se observa en las figuras 55 y 56, y de acuerdo con la ecuación 4.22, el valor máximo de absorbancia, según el grafico de superficie 3D y los puntos generados en la tabla 27, el valor máximo de absorbancia extrapolado por el modelo es de 1.06, siendo el valor máximo restringido igual a 1, para la absorbancia respectiva.

Para un incremento prolongado de ambos factores, tanto la temperatura (X₃) y el volumen de FF (X₄) entre +0.8 a +1.0 (representado a escala codificada), aumenta los valores de absorbancia por encima de 1, es decir los valores de respuesta para estos incrementos superiores de las variables significativas de la temperatura y el volumen de FF extrapolan el valor máximo del modelo obtenido (ecuación 4.22). Por lo tanto, un aumento de la temperatura y el volumen de la FF, incrementa los valores de absorbancia (Y) por encima del valor de restricción; es decir un aumento prolongado de ambos factores, incrementa de manera directa los valores de absorbancia en la biosíntesis de AgNPs.

La absorbancia máxima se observó por encima del punto central, tanto para la

temperatura como para el volumen usado de FF, estos valores de respuesta fueron comprendidos entre +0.5 y +1 para ambas variables significativas. Según la representación gráfica de superficie respuesta 3D y de contornos 2D, tanto como para la temperatura (X_3) y el volumen de FF (X_4), son variables muy influyentes para el incremento de la absorbancia (condiciones máximas); estos valores de respuesta máximos están relacionados con el tamaño y la formación de las nanopartículas de plata de las AgNPs, obtenidas por la biosíntesis. No obstante, se encontró una disminución en la absorbancia cuando hubo un descenso en la temperatura de 0 a -1 (valores codificados) y una disminución en el uso de volumen de FF desde -0.4 hasta -1 (valores codificados). El gráfico de superficie de respuesta (figura 55 y 56), mostró una región principal de extremo mínimo absoluto (condiciones mínimas) y una región de extremo máximo para nuestro proceso en estudio. Asimismo, el gráfico de contorno representado por las figuras 57 y 58 respectivamente, muestra un diseño uniforme de contornos con curvatura notoria. Por lo tanto, se visualiza claramente un extremo mínimo absoluto (en verde), esto puede significar que estamos muy cercanos a la región óptima o que la superficie de respuesta del proceso tiene esa forma, lo que implica que el efecto de la interacción entre la temperatura (X_3) y el volumen de FF (X_4) es de efecto significativo moderado en la variable de respuesta Y (Absorbancia); por lo tanto, el efecto de curvatura de los gráficos de superficie de respuestas con respecto a la interacción de variables ($X_3 * X_4$) y con respecto a las variables cuadráticas X_3^2 y X_4^2 , se pueden apreciar de un buen grado de significancia y tienen una interacción mutua, para la detección de la región optimizada de proceso.

DISEÑO COMPUESTO CENTRAL - DCC

Tabla 27. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico Estimado de 2do Orden, para Escala Codificada

		X ₃ : Temperatura de Síntesis (°C)																					
		*	-1.00	-0.90	-0.80	-0.70	-0.60	-0.50	-0.40	-0.30	-0.20	-0.10	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
X ₄ : Fracción Flavonoide (uL)	-1.00	0.76	0.75	0.74	0.73	0.72	0.72	0.72	0.71	0.71	0.72	0.72	0.73	0.74	0.75	0.76	0.77	0.79	0.81	0.83	0.85	0.87	
	-0.90	0.77	0.75	0.74	0.73	0.73	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.73	0.74	0.75	0.76	0.77	0.79	0.81	0.83	0.85	0.87	
	-0.80	0.77	0.76	0.74	0.74	0.73	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.73	0.73	0.74	0.75	0.76	0.78	0.79	0.81	0.83	0.85	0.88	
	-0.70	0.77	0.76	0.75	0.74	0.73	0.73	0.72	0.72	0.72	0.72	0.73	0.73	0.74	0.75	0.76	0.78	0.79	0.81	0.83	0.85	0.88	
	-0.60	0.78	0.76	0.75	0.74	0.73	0.73	0.73	0.72	0.73	0.73	0.73	0.74	0.75	0.76	0.77	0.78	0.80	0.82	0.84	0.86	0.88	
	-0.50	0.78	0.77	0.76	0.75	0.74	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.76	0.77	0.79	0.80	0.82	0.84	0.86	0.89	
	-0.40	0.79	0.77	0.76	0.75	0.75	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.81	0.83	0.85	0.87	0.89	
	-0.30	0.79	0.78	0.77	0.76	0.75	0.75	0.74	0.74	0.74	0.74	0.75	0.76	0.76	0.77	0.79	0.80	0.82	0.83	0.85	0.88	0.90	
	-0.20	0.80	0.79	0.78	0.77	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76	0.77	0.78	0.79	0.81	0.82	0.84	0.86	0.88	0.91	
	-0.10	0.81	0.79	0.78	0.77	0.77	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.82	0.83	0.85	0.87	0.89	0.91	
	0.00	0.82	0.80	0.79	0.78	0.78	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.84	0.86	0.88	0.90	0.92	
	0.10	0.83	0.81	0.80	0.79	0.79	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.85	0.87	0.89	0.91	0.93	
	0.20	0.84	0.82	0.81	0.80	0.80	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.85	0.86	0.88	0.90	0.92	0.94	
	0.30	0.85	0.84	0.83	0.82	0.81	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.81	0.81	0.82	0.83	0.84	0.86	0.87	0.89	0.91	0.93	0.96	
	0.40	0.86	0.85	0.84	0.83	0.82	0.82	0.81	0.81	0.81	0.81	0.82	0.82	0.83	0.83	0.84	0.86	0.87	0.89	0.90	0.92	0.95	0.97
	0.50	0.88	0.86	0.85	0.84	0.84	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.84	0.85	0.86	0.87	0.88	0.90	0.92	0.94	0.96	0.98	
	0.60	0.89	0.88	0.87	0.86	0.85	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.85	0.85	0.86	0.87	0.88	0.90	0.91	0.93	0.95	0.97	1.00	
	0.70	0.91	0.89	0.88	0.87	0.87	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.87	0.88	0.89	0.90	0.91	0.93	0.95	0.97	0.99	1.01	
	0.80	0.92	0.91	0.90	0.89	0.88	0.88	0.87	0.87	0.87	0.87	0.88	0.89	0.89	0.90	0.92	0.93	0.95	0.96	0.98	1.01	1.03	
	0.90	0.94	0.93	0.92	0.91	0.90	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.90	0.90	0.91	0.92	0.93	0.95	0.96	0.98	1.00	1.02	1.05	
1.00	0.96	0.94	0.93	0.92	0.92	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.92	0.93	0.94	0.95	0.96	0.98	1.00	1.02	1.04	1.06		

Elaboración Propia.

Figura 55. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

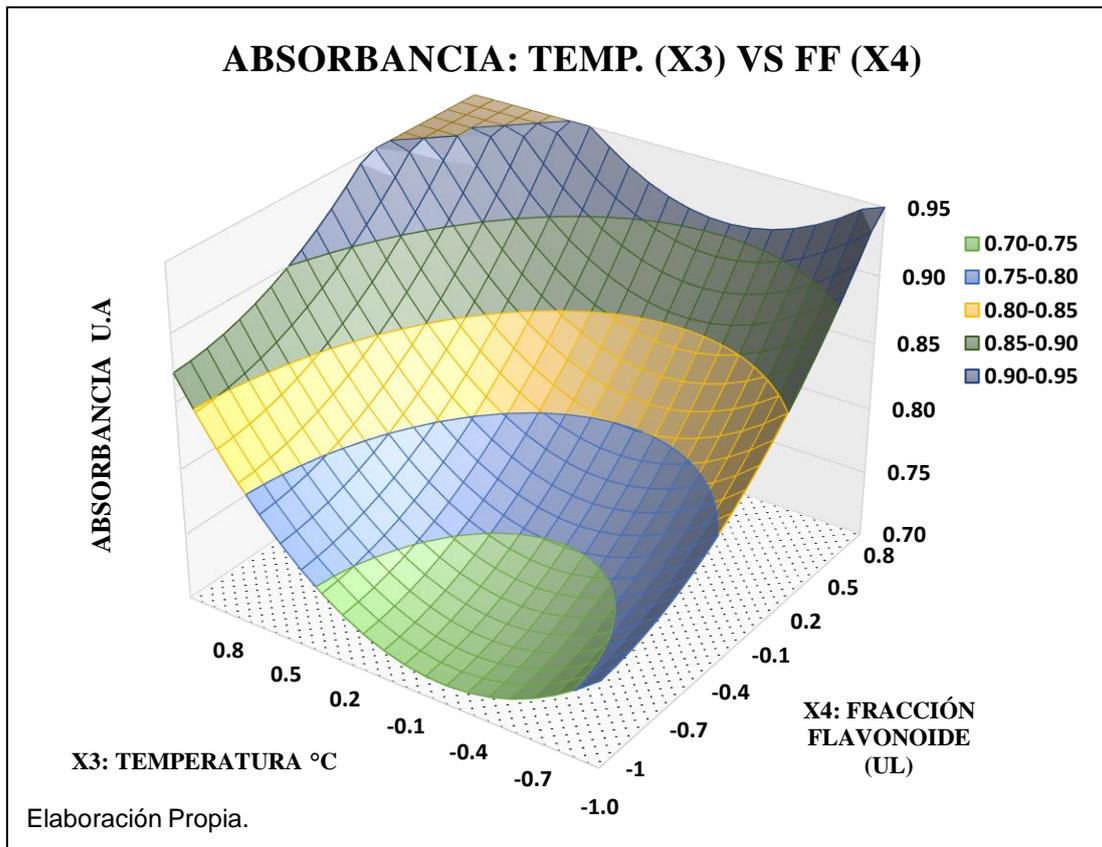


Figura 56. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

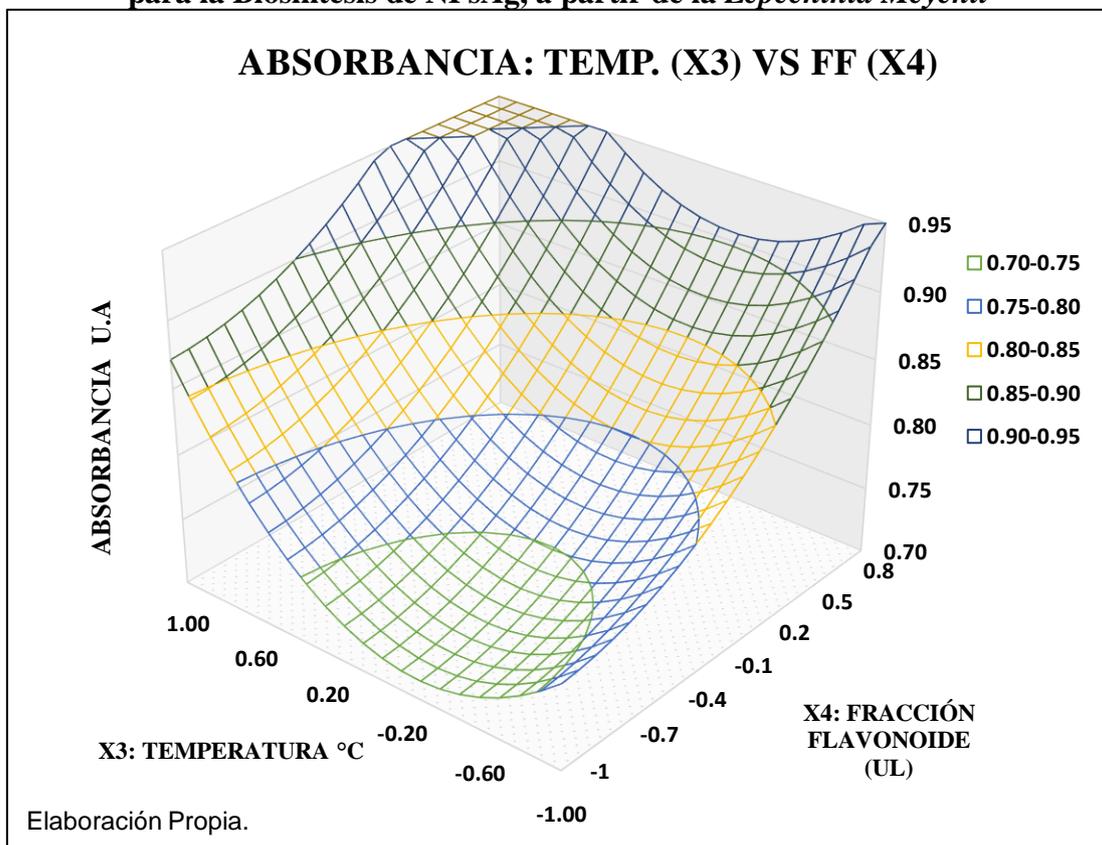


Figura 57. Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

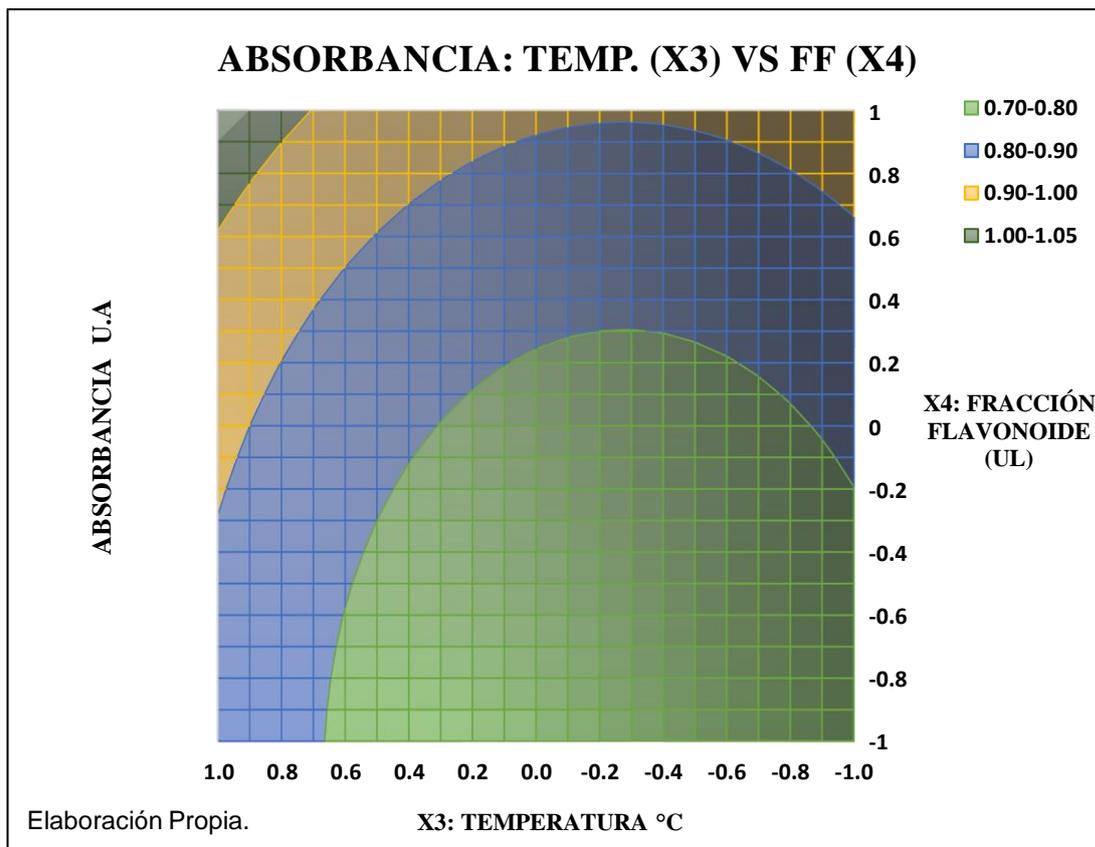
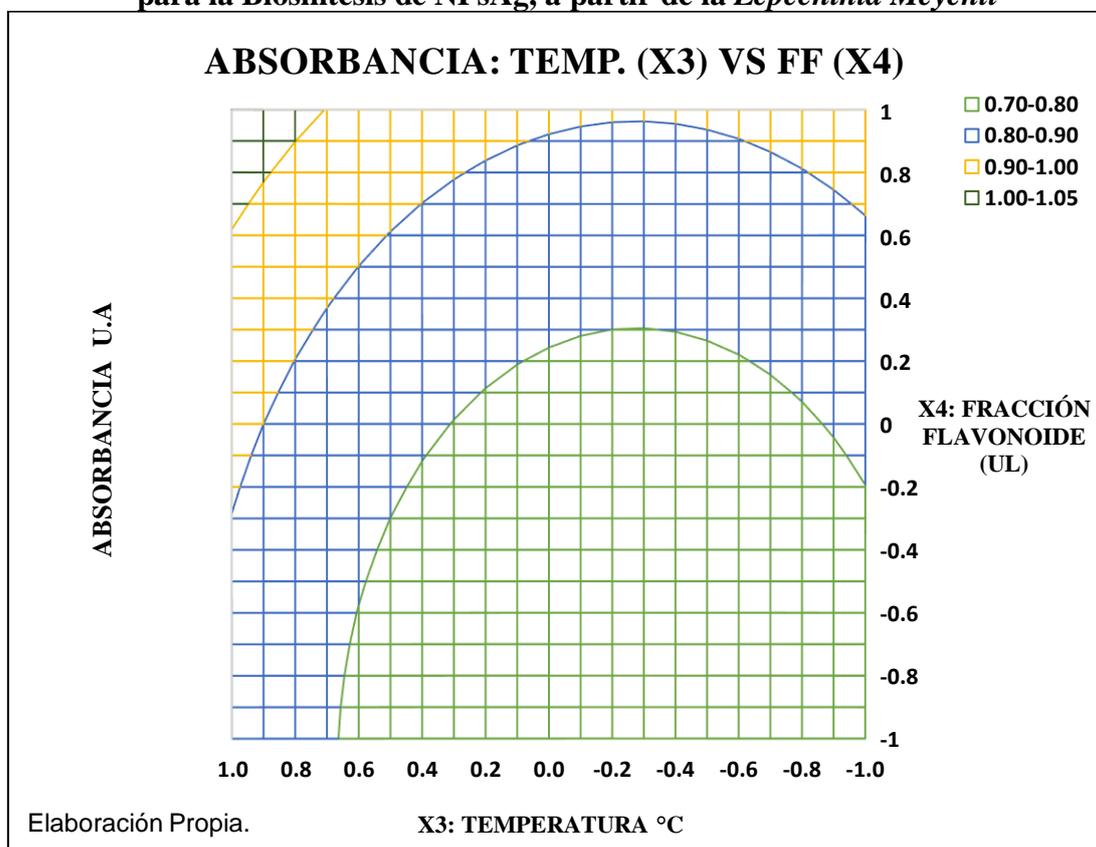


Figura 58. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*



C. Efecto de la Temperatura (X₃) y el Tiempo de Reacción (X₅)

Los gráficos de superficie (figuras 59 y 60) y los gráficos de contornos (figuras 61 y 62) respectivamente, mostraron efectos de interacción de la temperatura de síntesis (X₃) y el tiempo de reacción (X₅), los que se establecieron en sus niveles centrales “0”, respecto de las demás variables significativas. Según el gráfico de superficie de respuesta que se visualizan, el modelo logró detectar un extremo mínimo absoluto, por lo que podemos inferir que el modelo de regresión estimado logró ubicar la región óptima del proceso de biosíntesis de AgNPs, de este modo podemos afirmar que la superficie de respuesta esta ubica en esta región concéntrica (en verde) del gráfico de superficie 3D.

En la superficie de respuesta 3D (figura 59 y 60), podemos notar claramente el extremo mínimo para las condiciones óptimas (extremo mínimo) del proceso de biosíntesis dando valores de respuesta Y (absorbancia) entre 0.75 y 0.80. Las condiciones y efectos de las variables significativas X₃ y X₅ son efectivas para la biosíntesis de AgNPs, por lo que la influencia de estos factores es muy significativa en los valores de respuesta por el modelo estimado. La región de condiciones optimizadas de extremo mínimo (en verde) están comprendidas entre: -0.1 hasta -1 (valores codificados) para el tiempo de reacción (X₅) y de forma similar para la temperatura (X₃), comprendidos entre -0.2 hasta -0.1 (valores codificados del modelo).

El efecto de la temperatura (X₃) y el tiempo de reacción (X₅), es muy significativo sobre la variable de respuesta Y (absorbancia 411 nm). La estimación gráfica de los modelos de superficie 3D, indican que existe un extremo óptimo localizado de condiciones mínimas para el modelo cuadrático, también se puede apreciar un extremo máximo, de acuerdo con el modelo de superficie 3D y los gráficos de contornos respectivos 2D. La primera región, está representado por un mínimo comprendido entre los valores de respuesta (absorbancia) Y = 0.7 y 0.75 (en verde) y el extremo óptimo (condiciones maximizadas), está comprendidos entre 0.95 y 1.0 de absorbancia Y (región localizada en azul). Sin embargo, el modelo ha podido ubicar la región óptima del proceso; por lo que, el valor mínimo de absorbancia es de 0.75, según el grafico de superficie 3D (figura 59 y 60) y los puntos generados en la tabla 28.

Para un incremento de la temperatura (X₃) y el tiempo de reacción (X₅), por encima de +0.8 y por debajo de -0.7 (escala codificada) respectivamente, los valores de respuesta en Y (absorbancia) se incrementan por encima de 0.95 hasta 0.99 según la tabla 28; es decir los

valores de respuesta están en función de las variables interactivas, respecto a los niveles superior e inferior de estas variables significativas: temperatura de síntesis (X3) y tiempo de reacción (X5). La figura 59, muestra un extremo máximo en la gráfica de superficie, representando la absorbancia de respuesta localizada en el extremo máximo de la gráfica de superficie de respuesta en la figura 59.

La absorbancia máxima se observó en valores superiores al punto central para la temperatura (X3), mientras que para el tiempo (X5), se muestran valores inferiores entre -0.8 a -1.0 u.a de absorbancia. Según la representación gráfica de superficie respuesta 3D y de contornos 2D (figuras 59, 60, 61 y 62), tanto la temperatura (X3) y el tiempo (X5), son variables interactivas muy influyentes para el incremento de la absorbancia (condiciones máximas), entonces estos valores de respuesta (Y) máximos están relacionados directamente con el tamaño y la formación de las nanopartículas, según el efecto de RPS de las NPs. Sin embargo, la absorbancia (Y) disminuye cuando la temperatura (X3) y el tiempo (X5), disminuyen en sus valores codificados partiendo de sus valores centrales, de esta forma podemos dirigirnos a la región de valores óptimos (extremo de condiciones mínimas) del gráfico y modelo de superficie. Asimismo, las figuras 61 y 62 (superficie de contornos), muestran un diseño de superficie similar a un domo invertido de región concéntrica y de mayor sensibilidad a la curvatura del modelo; por lo que, podemos visualizar claramente un extremo mínimo absoluto (región en verde). Esto significa que estamos en la región óptima, observándose que la superficie de respuesta presenta una curvatura, lo que implica que el efecto de la interacción entre la temperatura (X3) y el tiempo de reacción (X5) tiene un efecto muy significativo hacia la variable de respuesta Y (Absorbancia 411 nm).

El efecto de curvatura en los gráficos de superficie de respuestas 3D, está relacionada con la interacción de las variables (X3*X5), así como también con las variables cuadráticas X_3^2 y X_5^2 , apreciándose una significancia muy elevada, ejerciendo una mayor eficiencia en la formación y distribución del tamaño de las AgNPs, que fueron detectadas en los puntos localizados de la región optimizada de proceso. Por lo tanto, los valores optimizados de los parámetros se pueden encontrar dentro de estas regiones.

DISEÑO COMPUESTO CENTRAL - DCC

Tabla 28. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico Estimado de 2do Orden, para Escala Codificada.

		X ₃ : Temperatura de Síntesis (°C)																					
		*	-1.00	-0.90	-0.80	-0.70	-0.60	-0.50	-0.40	-0.30	-0.20	-0.10	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
X ₅ : Tiempo de Síntesis (min)	-1.00	0.77	0.77	0.76	0.76	0.75	0.76	0.76	0.76	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.83	0.85	0.87	0.89	0.91	0.94	0.96	0.99
	-0.90	0.77	0.76	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76	0.77	0.78	0.79	0.81	0.82	0.84	0.86	0.88	0.90	0.93	0.95	0.98	
	-0.80	0.77	0.76	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.83	0.85	0.87	0.89	0.92	0.94	0.97	
	-0.70	0.77	0.77	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76	0.77	0.78	0.79	0.81	0.82	0.84	0.86	0.88	0.91	0.93	0.96	
	-0.60	0.78	0.77	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.82	0.84	0.86	0.88	0.90	0.93	0.95	
	-0.50	0.78	0.77	0.76	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.82	0.83	0.85	0.87	0.89	0.92	0.95	
	-0.40	0.79	0.78	0.77	0.76	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.77	0.77	0.79	0.80	0.81	0.83	0.85	0.87	0.89	0.91	0.94	
	-0.30	0.79	0.78	0.77	0.76	0.76	0.76	0.75	0.75	0.76	0.76	0.77	0.77	0.78	0.80	0.81	0.83	0.84	0.86	0.88	0.91	0.93	
	-0.20	0.80	0.79	0.78	0.77	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.77	0.78	0.78	0.80	0.81	0.82	0.84	0.86	0.88	0.90	0.93	
	-0.10	0.81	0.80	0.78	0.78	0.77	0.76	0.76	0.76	0.76	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.84	0.86	0.88	0.90	0.93	
	0.00	0.82	0.80	0.79	0.78	0.78	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.84	0.86	0.88	0.90	0.92	
	0.10	0.83	0.81	0.80	0.79	0.78	0.78	0.77	0.77	0.77	0.77	0.78	0.78	0.79	0.80	0.81	0.83	0.84	0.86	0.88	0.90	0.92	
	0.20	0.84	0.82	0.81	0.80	0.79	0.79	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.86	0.88	0.90	0.92	
	0.30	0.85	0.84	0.82	0.81	0.80	0.80	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.80	0.80	0.81	0.82	0.83	0.85	0.86	0.88	0.90	0.92	
	0.40	0.86	0.85	0.84	0.82	0.81	0.81	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.85	0.87	0.88	0.90	0.93	
	0.50	0.88	0.86	0.85	0.84	0.83	0.82	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.82	0.82	0.83	0.84	0.86	0.87	0.89	0.91	0.93	
	0.60	0.89	0.88	0.86	0.85	0.84	0.83	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.83	0.83	0.84	0.85	0.86	0.88	0.89	0.91	0.93	
	0.70	0.91	0.89	0.88	0.87	0.85	0.85	0.84	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.84	0.85	0.86	0.87	0.88	0.90	0.92	0.94	
	0.80	0.93	0.91	0.90	0.88	0.87	0.86	0.85	0.85	0.84	0.84	0.84	0.84	0.85	0.85	0.86	0.87	0.88	0.89	0.91	0.93	0.94	
	0.90	0.95	0.93	0.91	0.90	0.89	0.88	0.87	0.86	0.86	0.86	0.85	0.85	0.85	0.86	0.86	0.87	0.88	0.89	0.90	0.92	0.93	0.95
1.00	0.97	0.95	0.93	0.92	0.90	0.89	0.88	0.88	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.88	0.88	0.89	0.90	0.91	0.93	0.94	0.96	

Elaboración Propia.

Figura 59. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

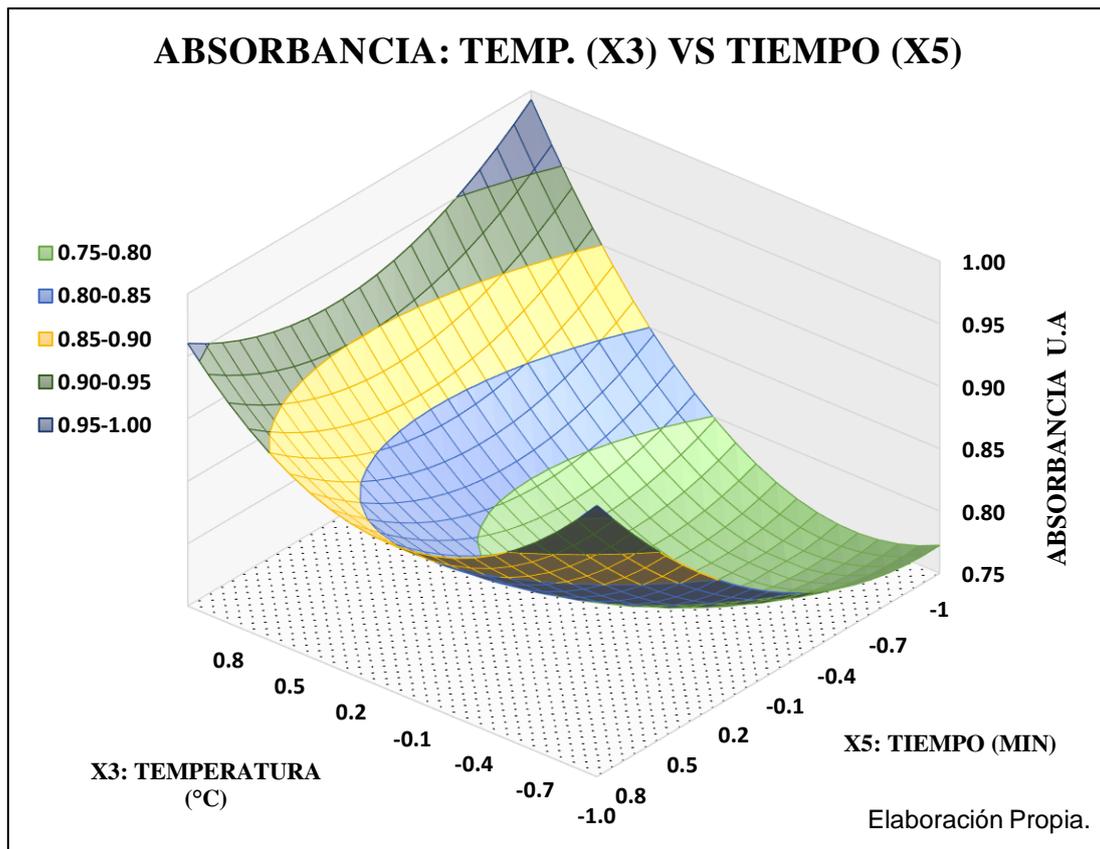


Figura 60. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

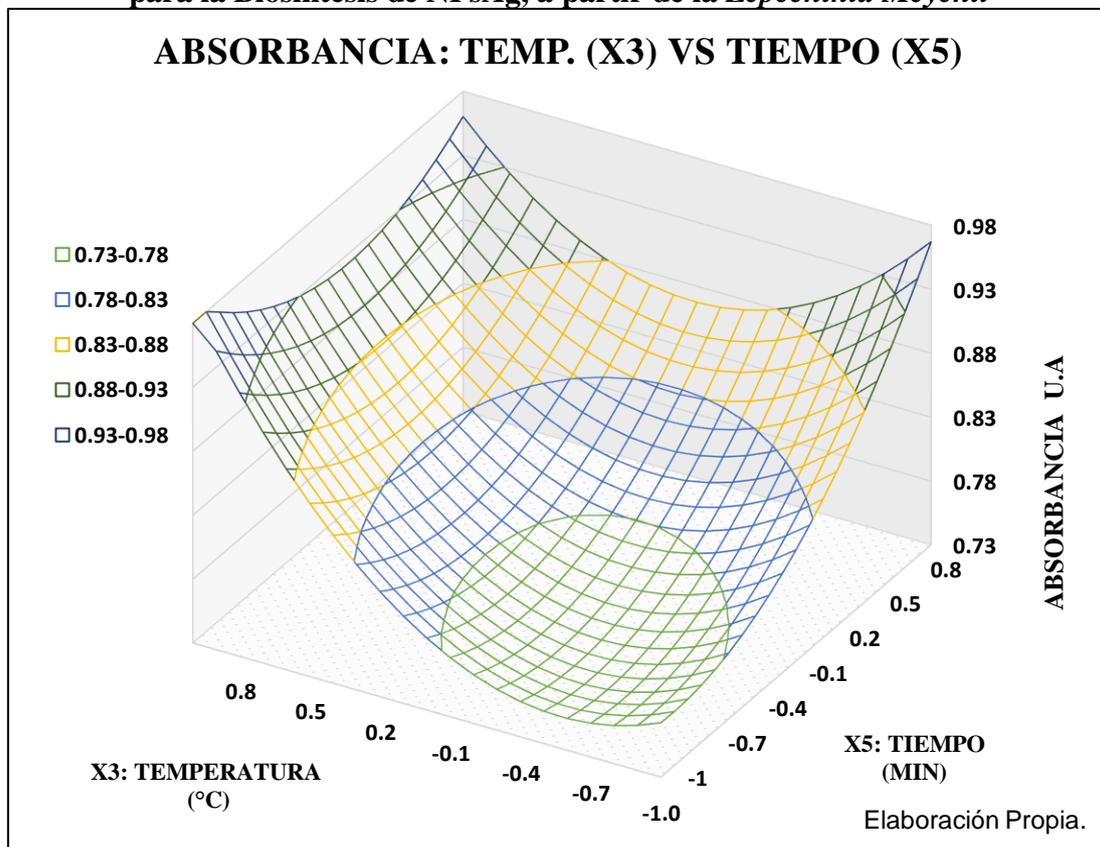


Figura 61. Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

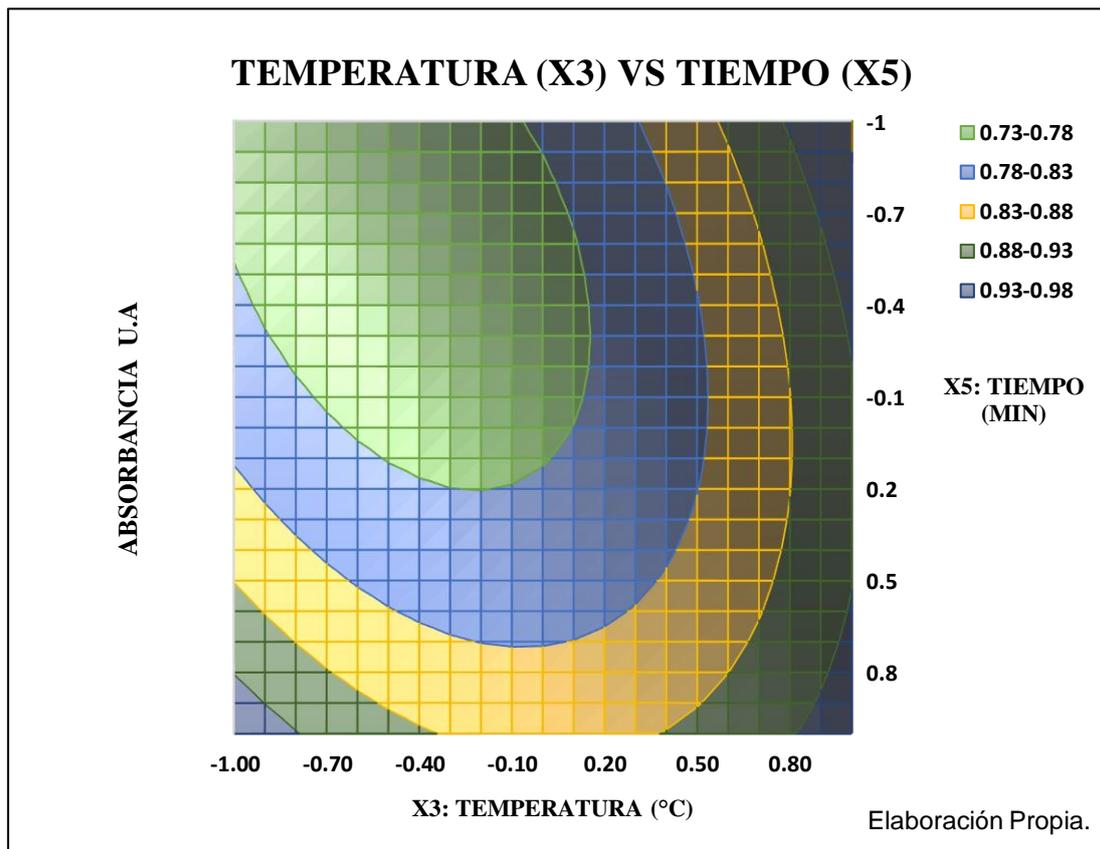
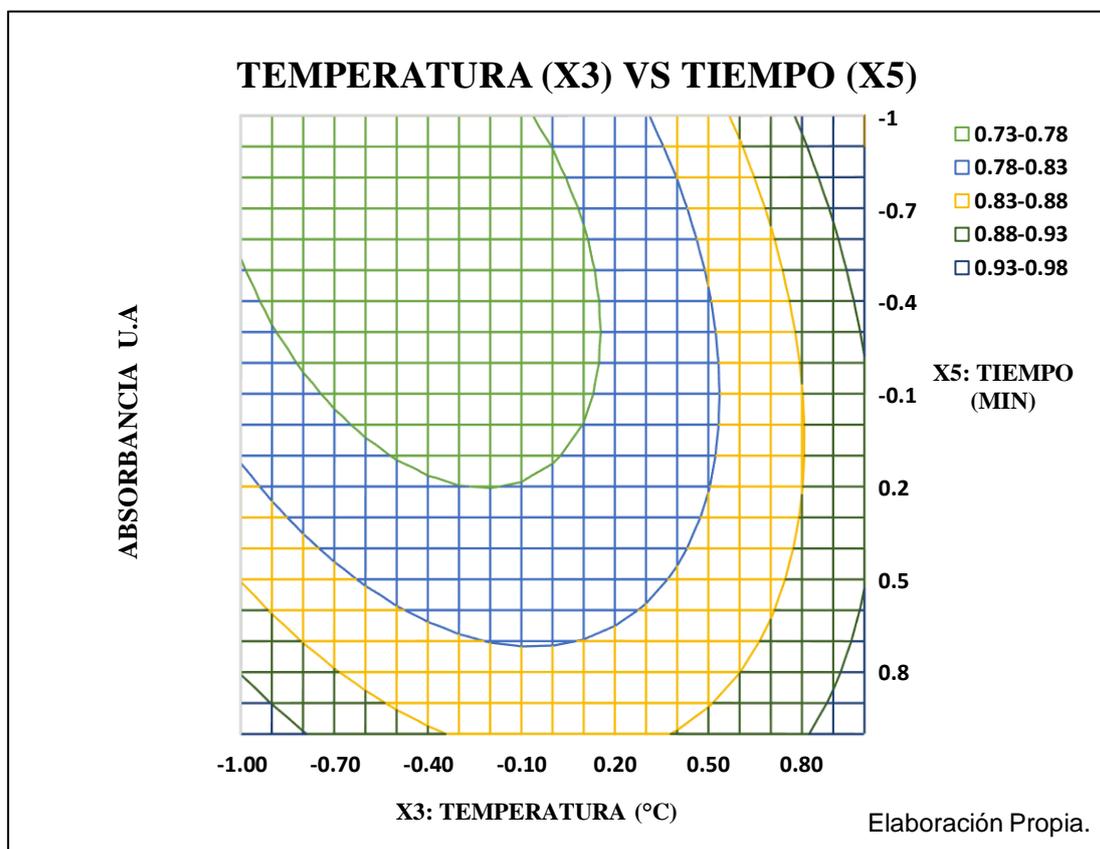


Figura 62. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*



D. Efecto del Volumen de FF (X₄) y el Tiempo de Síntesis (X₅)

Las figuras 63 y 64 y los gráficos de contornos de las figuras 65 y 66 respectivamente, muestran los efectos de interacción del volumen de FF (X₄) y el tiempo de reacción (X₅), las demás variables significativas del modelo se establecieron en sus niveles centrales “0”. Según el gráfico de superficie de respuesta visualizado. El modelo logró detectar un extremo mínimo y un extremo máximo, por lo que se deduce que el este modelo de regresión ha logrado ubicar la región óptima del proceso de biosíntesis de AgNPs, en función del efecto de interacción de ambas variables significativas X₄ y X₅.

DISEÑO COMPUESTO CENTRAL – DCC

Tabla 29. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico Estimado de 2do Orden, para Escala Codificada

		X ₄ : Fracción Flavonoide (uL)																				
		*	-1.00	-0.90	-0.80	-0.70	-0.60	-0.50	-0.40	-0.30	-0.20	-0.10	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90
X ₅ : Tiempo de Síntesis (min)	-1.00	0.79	0.79	0.79	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.79	0.79	0.80	0.80	0.81	0.82	0.82	0.83	0.84	0.85	0.87
	-0.90	0.78	0.78	0.78	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.78	0.78	0.78	0.79	0.80	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.85	0.87
	-0.80	0.77	0.77	0.77	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.77	0.77	0.78	0.78	0.79	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.85	0.87
	-0.70	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.77	0.77	0.78	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.86	0.87
	-0.60	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76	0.77	0.78	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.86	0.87
	-0.50	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.75	0.75	0.76	0.76	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.85	0.86	0.88
	-0.40	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.83	0.84	0.85	0.87	0.88
	-0.30	0.73	0.73	0.73	0.73	0.74	0.74	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.82	0.83	0.84	0.86	0.87	0.89
	-0.20	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.85	0.86	0.88	0.90
	-0.10	0.72	0.72	0.73	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.83	0.84	0.85	0.87	0.89	0.90
	0.00	0.72	0.72	0.73	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.76	0.76	0.77	0.78	0.79	0.81	0.82	0.83	0.85	0.86	0.88	0.90	0.91
	0.10	0.72	0.72	0.72	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.83	0.84	0.86	0.87	0.89	0.91	0.92
	0.20	0.72	0.72	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.76	0.76	0.77	0.78	0.80	0.81	0.82	0.83	0.85	0.86	0.88	0.90	0.92	0.94
	0.30	0.72	0.72	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.82	0.83	0.84	0.86	0.88	0.89	0.91	0.93	0.95
	0.40	0.72	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.84	0.85	0.87	0.89	0.90	0.92	0.94	0.96
	0.50	0.73	0.73	0.73	0.74	0.75	0.76	0.76	0.77	0.78	0.80	0.81	0.82	0.83	0.85	0.86	0.88	0.90	0.92	0.94	0.96	0.98
	0.60	0.73	0.73	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.82	0.83	0.85	0.86	0.88	0.89	0.91	0.93	0.95	0.97	0.99
	0.70	0.73	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.83	0.84	0.86	0.87	0.89	0.91	0.93	0.95	0.97	0.99	1.01
	0.80	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.83	0.84	0.86	0.87	0.89	0.91	0.92	0.94	0.96	0.98	1.01	1.03
	0.90	0.75	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.84	0.85	0.87	0.89	0.90	0.92	0.94	0.96	0.98	1.00	1.02	1.05
1.00	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.84	0.85	0.87	0.88	0.90	0.92	0.94	0.96	0.98	1.00	1.02	1.04	1.07	

Elaboración Propia.

Figura 63. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

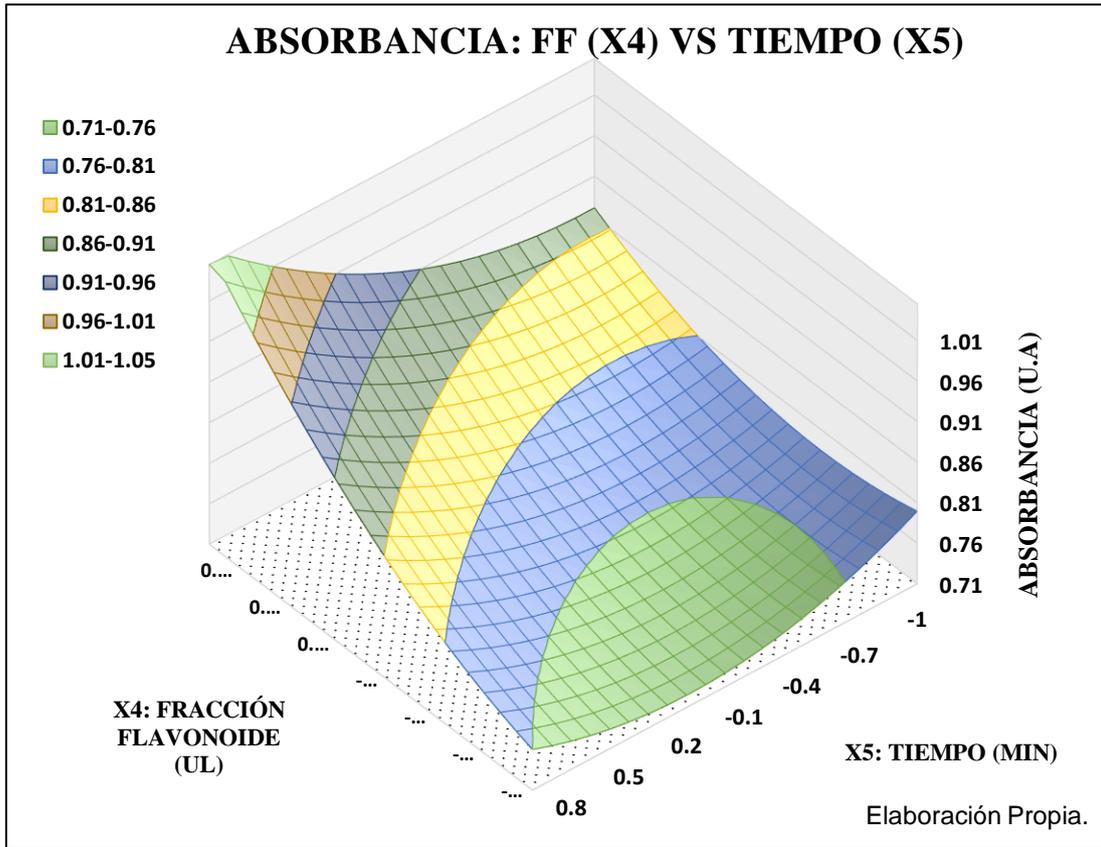


Figura 64. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

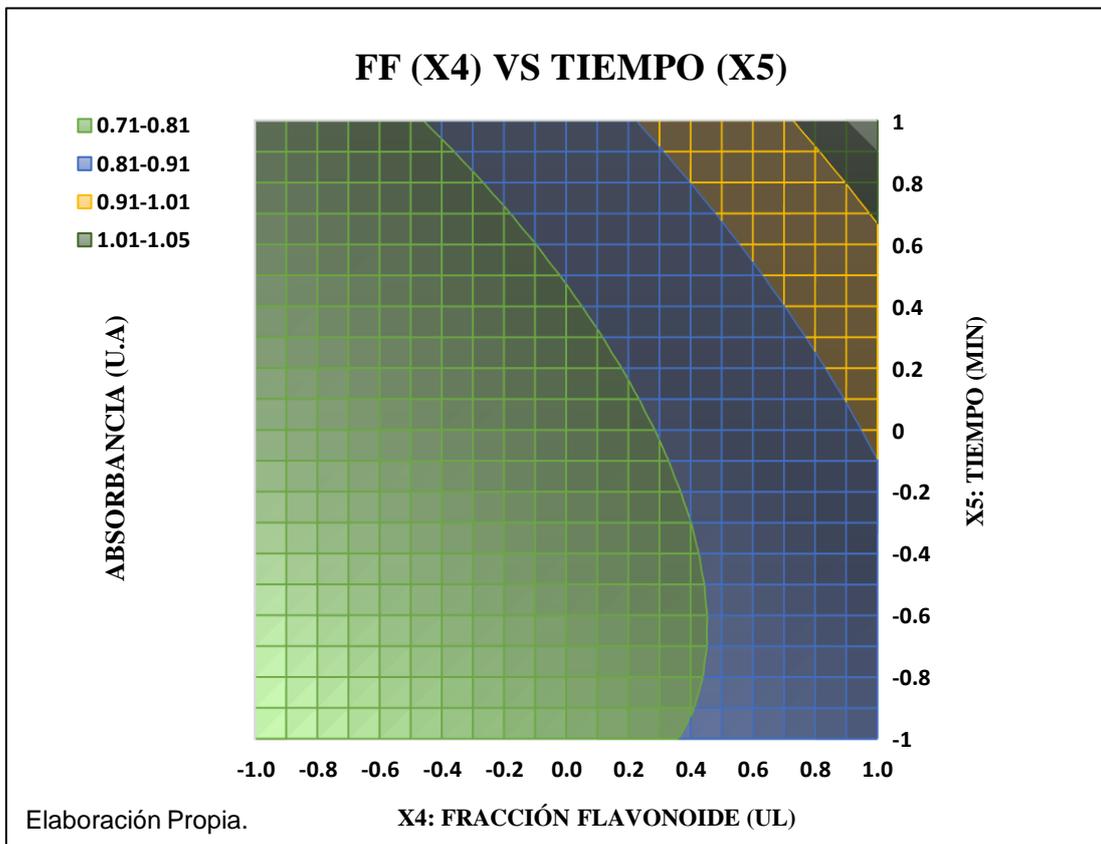


Figura 65. Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

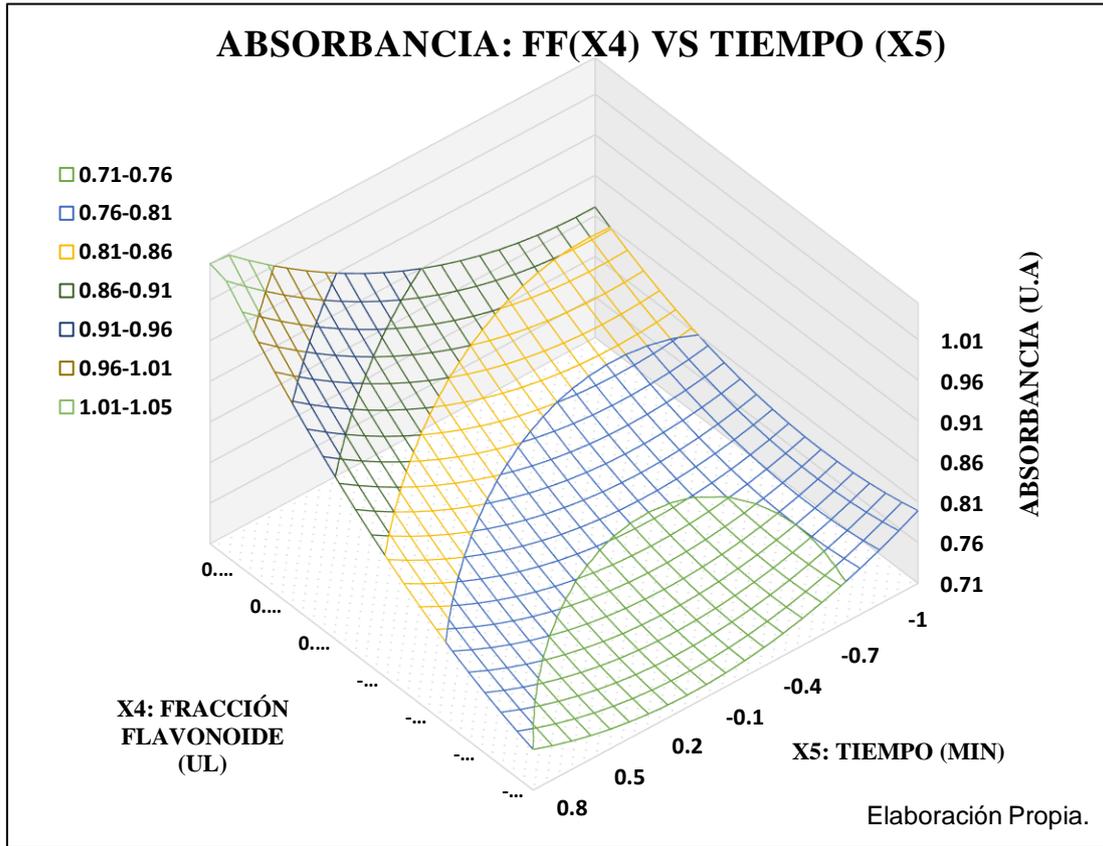
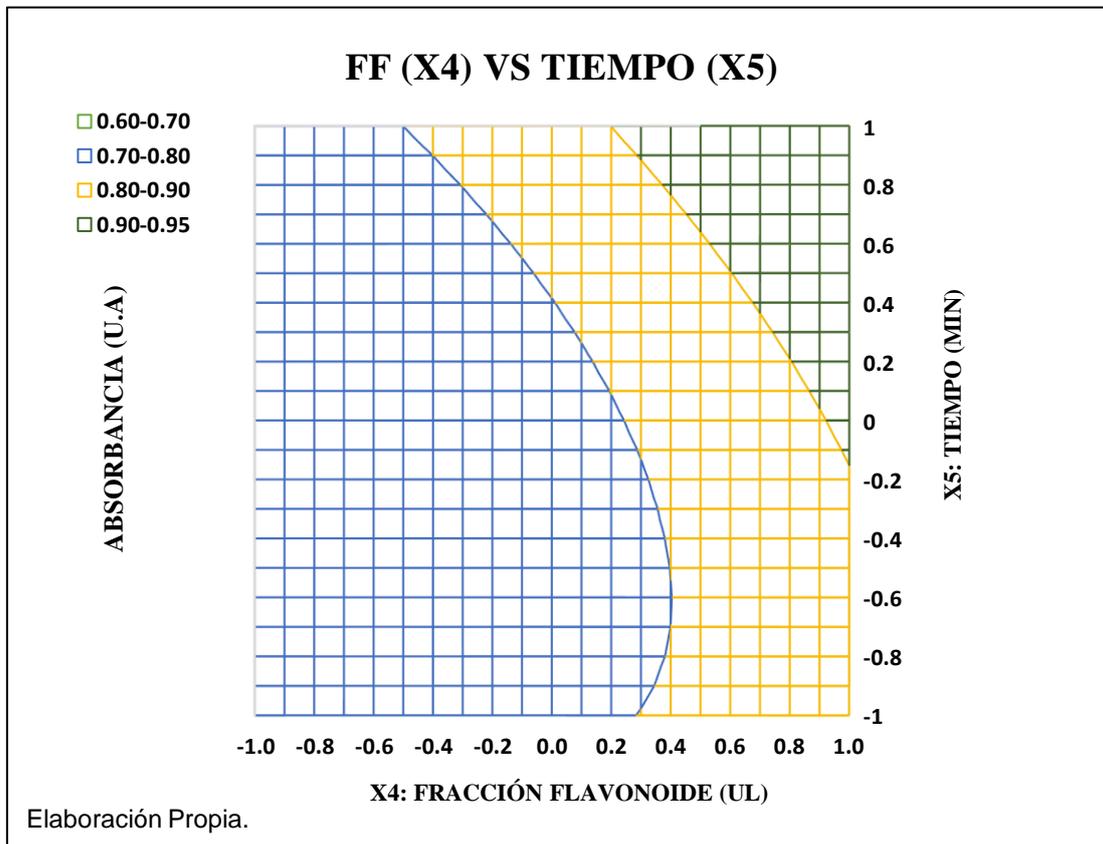


Figura 66. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*



DISEÑO COMPUESTO CENTRAL - DCC

Tabla 30. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico Estimado de 2do Orden, para Escala Codificada

X ₁ : Fracción Flavonoide (μL)	X ₂ : pH																					
	*	-1.00	-0.90	-0.80	-0.70	-0.60	-0.50	-0.40	-0.30	-0.20	-0.10	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
-1.00	0.73	0.72	0.72	0.72	0.72	0.71	0.71	0.71	0.72	0.72	0.72	0.72	0.73	0.73	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.79	0.80	0.81
-0.90	0.73	0.73	0.72	0.72	0.72	0.72	0.71	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.73	0.73	0.74	0.75	0.76	0.76	0.78	0.79	0.80	0.81
-0.80	0.73	0.73	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81
-0.70	0.74	0.73	0.73	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.82
-0.60	0.74	0.74	0.73	0.73	0.73	0.72	0.72	0.72	0.73	0.73	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.76	0.76	0.77	0.78	0.80	0.81	0.82
-0.50	0.75	0.74	0.74	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.83
-0.40	0.75	0.75	0.74	0.74	0.74	0.73	0.73	0.73	0.73	0.74	0.74	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.77	0.78	0.79	0.81	0.82	0.83
-0.30	0.76	0.75	0.75	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.75	0.75	0.75	0.76	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.83	0.84
-0.20	0.76	0.76	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.85
-0.10	0.77	0.77	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.85
0.00	0.78	0.78	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.78	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.85	0.86
0.10	0.79	0.79	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.79	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.85	0.86	0.87
0.20	0.80	0.80	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.80	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.85	0.86	0.87	0.88
0.30	0.82	0.81	0.81	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.81	0.81	0.82	0.82	0.83	0.84	0.85	0.86	0.87	0.88	0.90
0.40	0.83	0.82	0.82	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.82	0.82	0.82	0.83	0.84	0.84	0.85	0.86	0.87	0.88	0.90	0.91
0.50	0.84	0.84	0.83	0.83	0.83	0.82	0.82	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.84	0.84	0.85	0.86	0.87	0.87	0.89	0.90	0.91	0.92
0.60	0.86	0.85	0.85	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.85	0.85	0.86	0.86	0.87	0.88	0.89	0.90	0.91	0.92	0.94
0.70	0.87	0.87	0.86	0.86	0.86	0.85	0.85	0.85	0.86	0.86	0.86	0.86	0.87	0.87	0.88	0.89	0.90	0.90	0.92	0.93	0.94	0.95
0.80	0.89	0.88	0.88	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.88	0.88	0.88	0.89	0.90	0.90	0.91	0.92	0.93	0.94	0.95	0.97
0.90	0.90	0.90	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.90	0.90	0.91	0.91	0.92	0.93	0.94	0.95	0.96	0.97	0.99
1.00	0.92	0.92	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.92	0.92	0.93	0.94	0.95	0.96	0.97	0.98	0.99	1.00

Elaboración Propia.

Figura 67. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

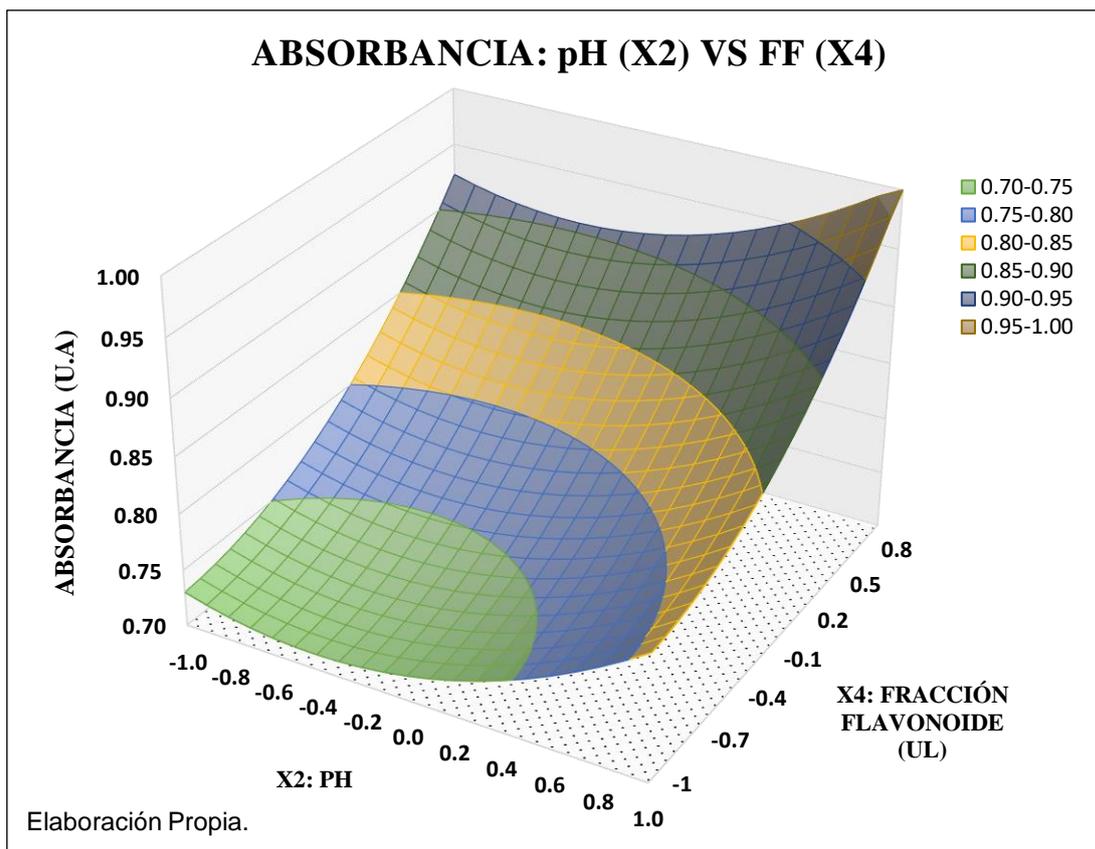


Figura 68. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

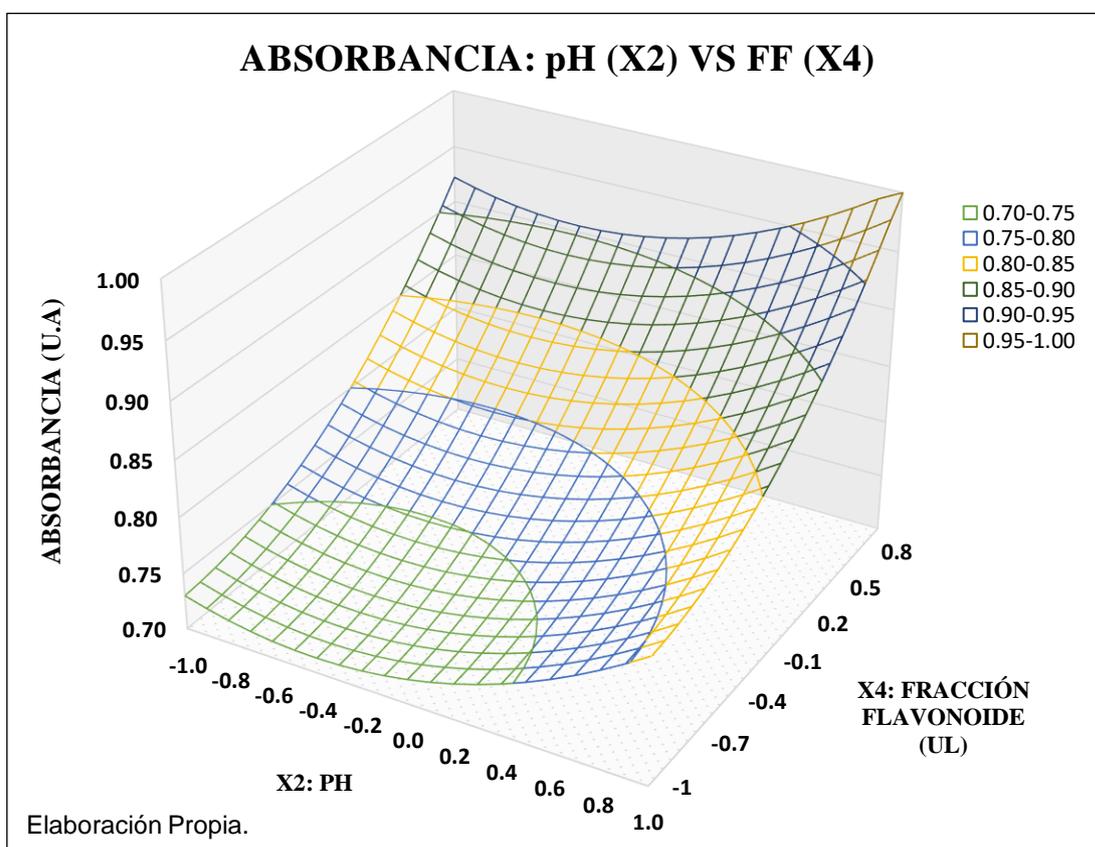


Figura 69. Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

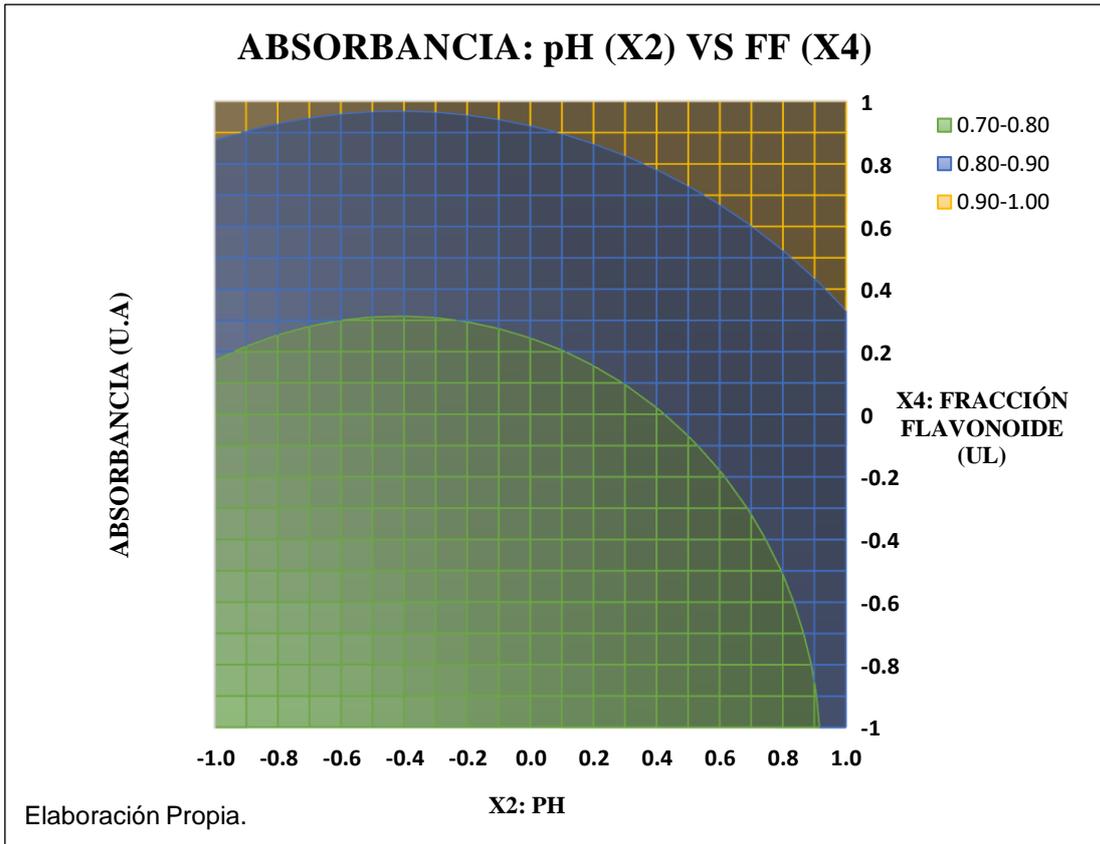
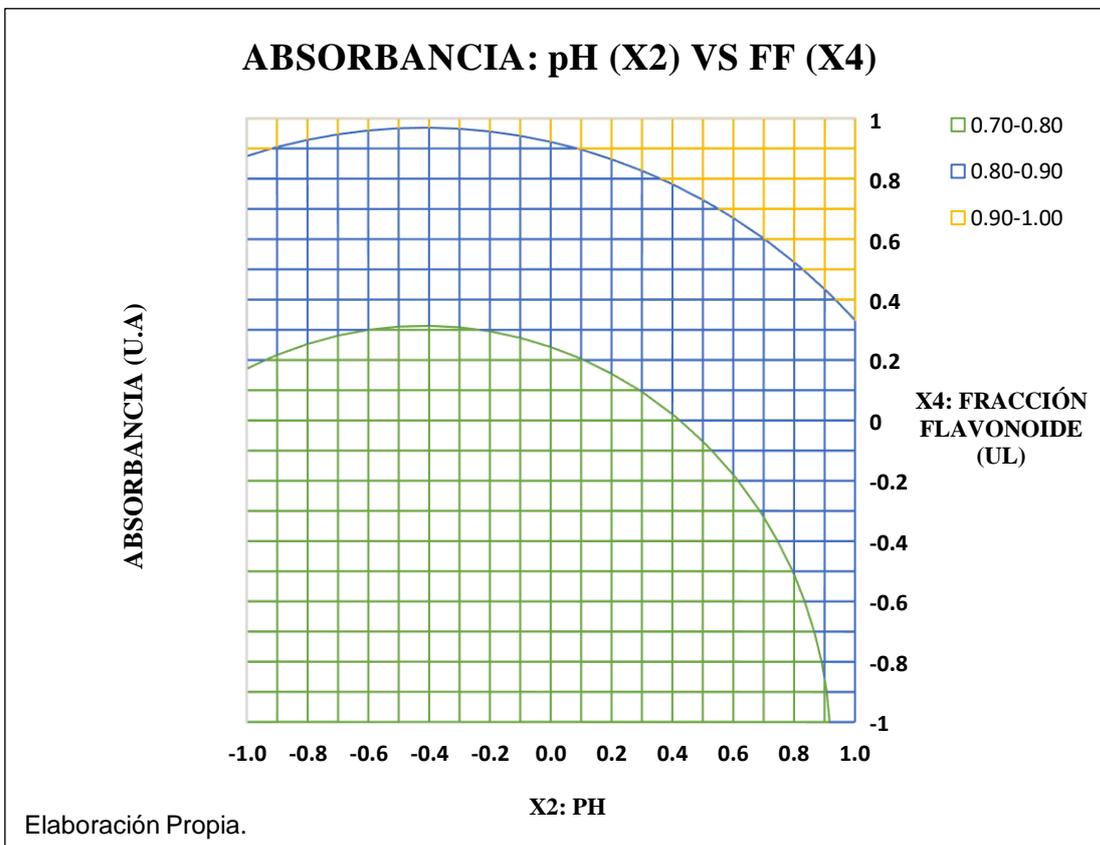


Figura 70. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*



DISEÑO COMPUESTO CENTRAL - DCC

Tabla 31. Puntos Generados por Malla de Superficie Respuesta del Modelo Estadístico Estimado de 2do Orden, para Escala Codificada

		X ₂ : pH de Síntesis																				
		*	-1.00	-0.90	-0.80	-0.70	-0.60	-0.50	-0.40	-0.30	-0.20	-0.10	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90
X ₅ : Tiempo de Síntesis (min)	-1.00	0.69	0.68	0.68	0.68	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.68	0.68	0.69	0.69	0.70	0.70	0.71	0.72	0.73	0.74	0.76	0.77
	-0.90	0.70	0.69	0.69	0.69	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.69	0.69	0.69	0.70	0.71	0.71	0.72	0.73	0.74	0.75	0.77	0.78
	-0.80	0.71	0.70	0.70	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.70	0.70	0.70	0.71	0.72	0.72	0.73	0.74	0.75	0.76	0.78	0.79
	-0.70	0.72	0.71	0.71	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.71	0.71	0.72	0.73	0.73	0.74	0.75	0.76	0.77	0.78	0.80
	-0.60	0.73	0.72	0.72	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.72	0.72	0.73	0.73	0.74	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.81
	-0.50	0.74	0.73	0.73	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.82
	-0.40	0.74	0.74	0.74	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.74	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.83
	-0.30	0.75	0.75	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.75	0.75	0.76	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.84
	-0.20	0.76	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84
	-0.10	0.77	0.77	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.77	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.85
	0.00	0.78	0.78	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.78	0.78	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.85	0.86
	0.10	0.79	0.79	0.78	0.78	0.78	0.78	0.77	0.78	0.78	0.78	0.78	0.79	0.79	0.80	0.81	0.82	0.83	0.84	0.85	0.86	0.87
	0.20	0.80	0.80	0.79	0.79	0.79	0.78	0.78	0.78	0.79	0.79	0.79	0.80	0.80	0.81	0.82	0.83	0.83	0.84	0.86	0.87	0.88
	0.30	0.81	0.81	0.80	0.80	0.80	0.79	0.79	0.79	0.80	0.80	0.80	0.81	0.81	0.82	0.83	0.83	0.84	0.85	0.87	0.88	0.89
	0.40	0.82	0.81	0.81	0.81	0.80	0.80	0.80	0.80	0.81	0.81	0.81	0.82	0.82	0.83	0.84	0.84	0.85	0.86	0.87	0.89	0.90
	0.50	0.83	0.82	0.82	0.82	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.82	0.82	0.83	0.83	0.84	0.84	0.85	0.86	0.87	0.88	0.90	0.91
	0.60	0.84	0.83	0.83	0.83	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.83	0.83	0.83	0.84	0.85	0.85	0.86	0.87	0.88	0.89	0.91	0.92
0.70	0.85	0.84	0.84	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.84	0.84	0.84	0.85	0.86	0.86	0.87	0.88	0.89	0.90	0.92	0.93	
0.80	0.86	0.85	0.85	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.85	0.85	0.85	0.86	0.87	0.87	0.88	0.89	0.90	0.91	0.92	0.94	
0.90	0.87	0.86	0.86	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.86	0.86	0.87	0.87	0.88	0.89	0.90	0.91	0.92	0.93	0.95	
1.00	0.88	0.87	0.87	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.87	0.87	0.88	0.88	0.89	0.90	0.91	0.92	0.93	0.94	0.96	

Elaboración Propia.

Figura 71. Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

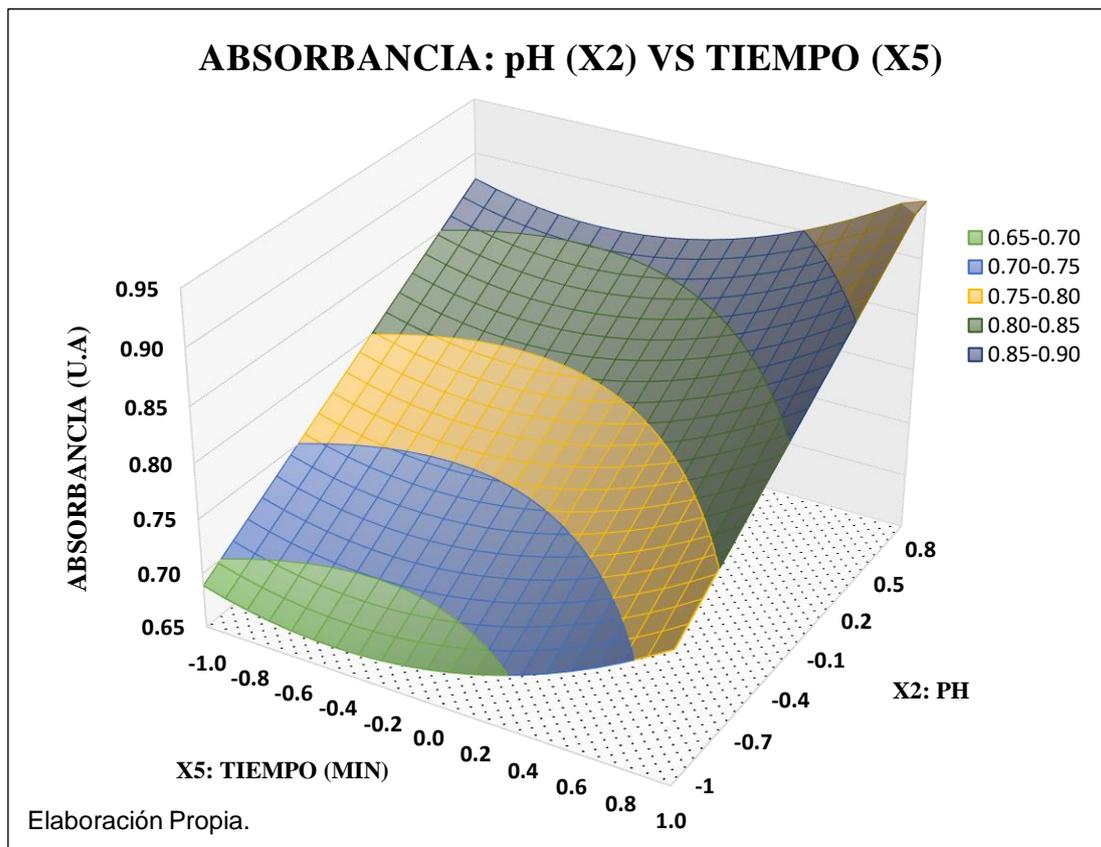


Figura 72. Malla de Superficie de Respuesta 3D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*.

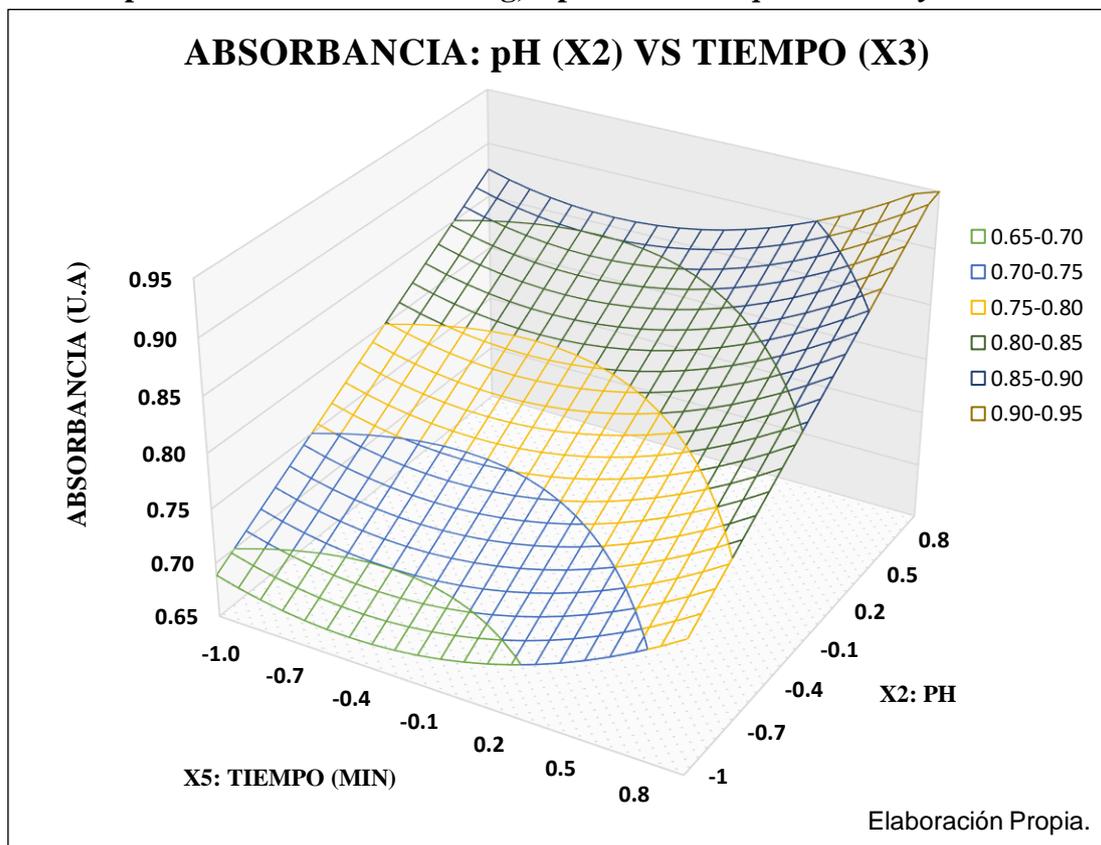


Figura 73. Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*

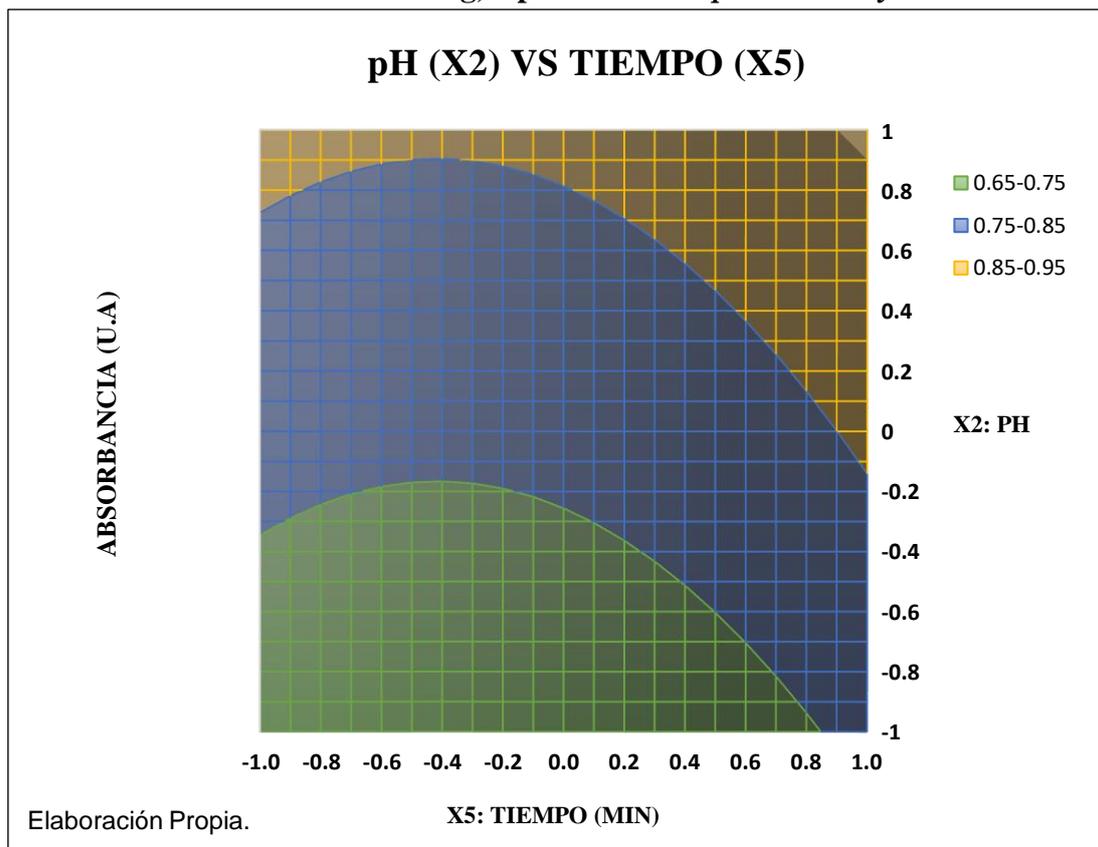
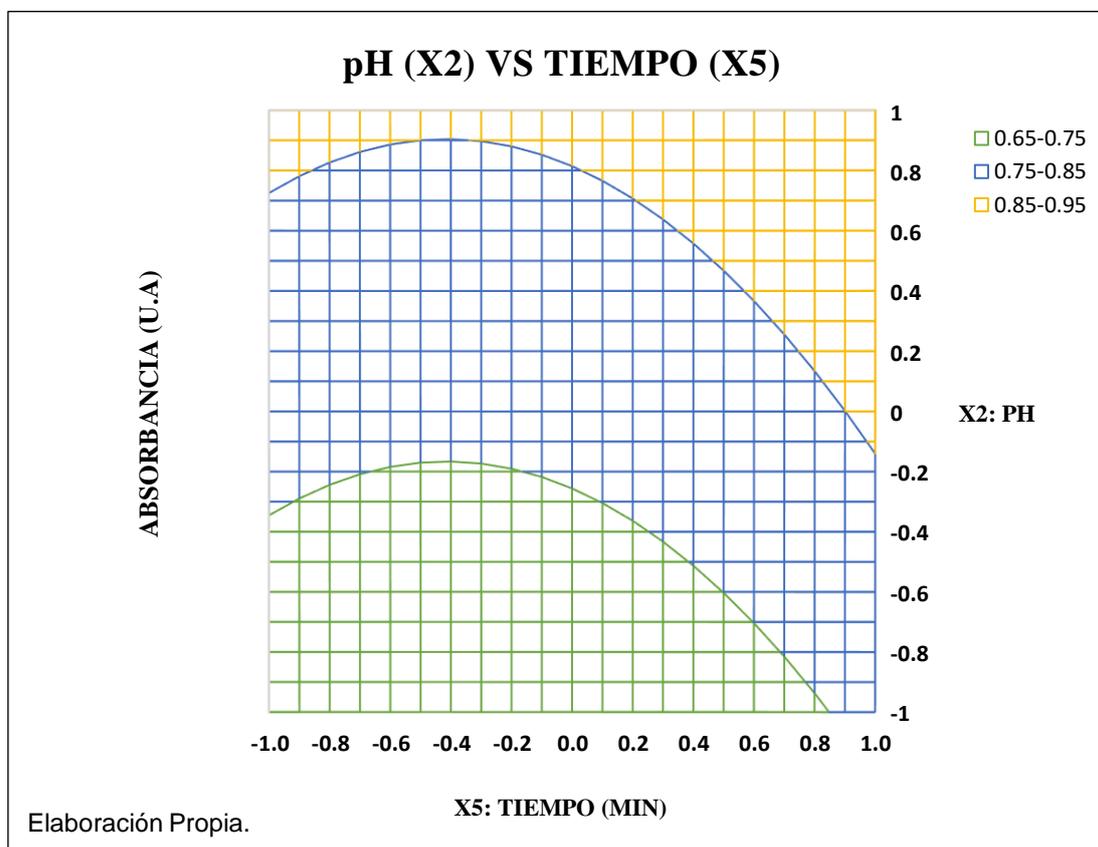


Figura 74. Malla de Superficie de Contornos 2D del Modelo Cuadrático Multifactorial para la Biosíntesis de NPsAg, a partir de la *Lepechinia Meyenii*



4.6.3.7. DECODIFICACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL MODELO MATEMÁTICO

Tabla 32. Variables significativas del modelo con centro (Z^0) y radio del diseño (ΔZ_j)

N°	VARIABLES	NIVELES		Z^0	ΔZ_j	ε
		Z (+)	Z (-)			
A	X2: pH	10	9	9.5	0.5	19
B	X3: Temperatura de Síntesis	51	48	49.5	1.5	33
C	X4: Volumen de FF	180	120	150	30	5
D	X5: Tiempo de Síntesis	240	180	210	30	7

Elaboración Propia.

A. MODELO ESTADÍSTICO CODIFICADO:

$$Y = 0.7739 + 0.0405X_2 + 0.0534X_3 + 0.0961X_4 + 0.0405X_5 + 0.0488X_2^2 + 0.0964X_3^2 + 0.0440X_4^2 + 0.05290X_5^2 + 0.1941X_2X_3 - 0.0568X_3X_5 + 0.0604X_4X_5 + e$$

Para el Término Independiente

$$a_0 = b_0 - \sum_{i=1}^K b_i \varepsilon_i + \sum_{i,u=1}^K b_{iu} \varepsilon_i \varepsilon_u + \sum_{i=1}^K b_{ii} \varepsilon_i^2 \quad (4.28)$$

$$a_0 = 0.7739 - [(0.0405 * 19) + (0.0534 * 33) + (0.0961 * 5) + (0.0405 * 7)] + [(0.0488 * 19^2) + (0.0964 * 33^2) + (0.0440 * 5^2) + (0.0529 * 7^2)] + [(0.1941 * 19 * 33) + ((-0.0568) * 33 * 7) + (0.0604 * 5 * 7)]$$

$$a_0 = 234.4606$$

Para los Términos Lineales

$$a_i Z_i = \frac{b_i}{\Delta Z_i} - 2 \frac{b_{ii}}{\Delta Z_i} \varepsilon_i - \frac{b_{ju}}{\Delta Z_i} \varepsilon_j \varepsilon_u \quad ; \quad j = u = 1 \dots \dots k - 1 \quad (4.29)$$

$$a_2 = \frac{(0.0405)}{0.5} - 2 \frac{(0.0488)}{0.5} * 19 - \frac{0.1941}{0.5} * 33 = -16.4384$$

$$a_3 = \frac{(0.0534)}{1.5} - 2 \frac{(0.0964)}{1.5} * 33 - \frac{0.1941}{1.5} * 19 - \frac{(-0.0568)}{1.5} * 7 = -6.3995$$

$$a_4 = \frac{(0.0961)}{30} - 2 \frac{(0.0440)}{30} * 5 - \frac{0.0604}{30} * 7 = -0.0256$$

$$a_5 = \frac{(0.0405)}{30} - 2 \frac{(0.05290)}{30} * 7 - \frac{(-0.0568)}{30} * 33 - \frac{(0.0604)}{30} * 5 = 0.02908$$

Para los Términos Cuadráticos

$$a_{ii}X_i^2 = \frac{b_{ii}}{\Delta Z_i^2} \quad (4.30)$$

$$a_{22} = \frac{(0.0488)}{0.5^2} = 0.1952$$

$$a_{33} = \frac{(0.0964)}{1.5^2} = 0.04284$$

$$a_{44} = \frac{(0.0440)}{30^2} = 0.0000489$$

$$a_{55} = \frac{(0.05290)}{30^2} = 0.0000588$$

Para los Términos Interactivos

$$a_{ij}Z_iZ_j = \frac{b_{ij}}{\Delta Z_i \Delta Z_j} \quad (4.31)$$

$$a_{23} = \frac{0.1941}{0.5 * 1.5} = 0.2588$$

$$a_{35} = \frac{-0.0568}{1.5 * 30} = -0.00126$$

$$a_{45} = \frac{0.0604}{30 * 30} = 0.0000671$$

B. MODELO ESTADÍSTICO DECODIFICADO:

$$Y = 234.4606 - 16.4384Z_2 - 6.3995Z_3 - 0.0256Z_4 + 0.02908Z_5 + 0.1952Z_2^2 + 0.04284Z_3^2 + 0.0000489Z_4^2 + 0.0000588Z_5^2 + 0.2588Z_2Z_3 - 0.00126Z_3Z_5 + 0.0000671Z_4Z_5 + e \quad (4.32)$$

PRIMER CORTE: Para $X_4 = 0$ y $X_5 = 0$.

$$Y = 0.7739 + 0.0405X_2 + 0.0534X_3 + 0.0488X_2^2 + 0.0964X_3^2 + 0.1941X_2X_3 + e$$

Para el Término Independiente

$$a_0 = b_0 - \sum_{i=1}^K b_i \varepsilon_i + \sum_{i,u=1}^K b_{iu} \varepsilon_i \varepsilon_u + \sum_{i=1}^K b_{ii} \varepsilon_i^2$$

$$a_0 = 0.7739 - [(0.0405 * 19) + (0.0534 * 33)] + [(0.0405 * 19^2) + (0.0964 * 33^2)] + [(0.1941 * 19 * 33)]$$

$$a_0 = 239.543$$

Para los Términos Lineales

$$a_i Z_i = \frac{b_i}{\Delta Z_i} - 2 \frac{b_{ii}}{\Delta Z_i} \varepsilon_i - \frac{b_{ju}}{\Delta Z_i} \varepsilon_j \varepsilon_u \quad j = u = 1 \dots \dots k - 1$$

$$a_2 = \frac{(0.0405)}{0.5} - 2 \frac{(0.0488)}{0.5} * 19 - \frac{0.1941}{0.5} * 33 = -16.4384$$

$$a_3 = \frac{(0.0534)}{1.5} - 2 \frac{(0.0964)}{1.5} * 33 - \frac{0.1941}{1.5} * 19 = -6.6646$$

Para los Términos Cuadráticos

$$a_{ii} X_i^2 = \frac{b_{ii}}{\Delta Z_i^2}$$

$$a_{22} = \frac{(0.0488)}{0.5^2} = 0.1952$$

$$a_{33} = \frac{(0.0964)}{1.5^2} = 0.04284$$

Para el Término Interactivo

$$a_{ij} Z_i Z_j = \frac{b_{ij}}{\Delta Z_i \Delta Z_j}$$

$$a_{32} = \frac{0.1941}{0.5 * 1.5} = 0.2588$$

$$Y = 213.3839 - 4.4464 Z_3 + 0.03782 Z_3^2 + 0.2588 Z_2 Z_3$$

4.6.3.8. ANÁLISIS DE MÁXIMOS, MÍNIMOS Y CONDICIONES ÓPTIMAS

Analizando numéricamente el modelo matemático a escala codificada, sometemos la ecuación matemática a derivación parcial para obtener los valores máximos de la región óptima que en nuestro modelo logro detectar:

Ecuación Cuadrática Estimada a Escala Codificada

$$Y = 0.7739 + 0.01505X_1 + 0.0405X_2 + 0.0534X_3 + 0.0961X_4 + 0.0405X_5 + 0.0235X_1^2 + 0.0488X_2^2 + 0.0964X_3^2 + 0.0440X_4^2 + 0.05290X_5^2 - 0.0453X_1X_2 - 0.0193X_1X_3 - 0.0380X_1X_4 + 0.0417X_1X_5 + 0.1941X_2X_3 - 0.0181X_2X_4 - 0.0069X_2X_5 + 0.0054X_3X_4 - 0.0568X_3X_5 + 0.0604X_4X_5 + e \quad (4.33)$$

A. Criterio de la Determinante de la Matriz Hessiana

En este estudio, resulta necesario hacer uso de métodos de segundo orden por medio de la Matriz Hessiana; esto a razón de la existencia de más de dos variables independientes significativas en el proceso estudiado, por lo que la dificultad de analizar la existencia de un extremo relativo es considerable. A continuación, mostramos el diseño de la forma de Matriz Hessiana:

Calculando la Segunda Derivada:

$$\begin{array}{ll} \frac{\partial^2 y}{\partial X_1^2} = 0.047 & \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_4} = -0.0380 \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_2^2} = 0.0976 & \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_5} = 0.0417 \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_3^2} = 0.1928 & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_3} = 0.1941 \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_4^2} = 0.088 & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_4} = -0.0181 \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_5^2} = 0.1058 & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_5} = -0.0069 \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_2} = -0.0453 & \frac{\partial^2 y}{\partial X_3 \partial X_4} = 0.0054 \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_3} = -0.0193 & \frac{\partial^2 y}{\partial X_3 \partial X_5} = -0.0568 \end{array}$$

$$\frac{\partial^2 y}{\partial X_4 \partial X_5} = 0.0604$$

$$H_{11} = 0.047$$

$$H_{22} = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 y}{\partial X_1^2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_2} \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2^2} \end{bmatrix}$$

$$= \begin{bmatrix} 0.047 & -0.0453 \\ -0.0453 & 0.0976 \end{bmatrix} = a_{11}a_{22} - a_{12}a_{21} = 0.0132 - 0.0032 = 0.00253511$$

$$H_{33} = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 y}{\partial X_1^2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_3} \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2^2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_3} \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_3} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_3} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_3^2} \end{bmatrix}$$

$$= \begin{bmatrix} 0.047 & -0.0453 & -0.0193 \\ -0.0453 & 0.0976 & 0.1941 \\ -0.0193 & 0.1941 & 0.1928 \end{bmatrix} = a_{11} \begin{vmatrix} a_{22} & a_{23} \\ a_{32} & a_{33} \end{vmatrix} - a_{12} \begin{vmatrix} a_{21} & a_{23} \\ a_{31} & a_{33} \end{vmatrix} +$$

$$a_{13} \begin{vmatrix} a_{21} & a_{22} \\ a_{31} & a_{32} \end{vmatrix} = a_{11}(a_{22}a_{33} - a_{23}a_{32}) - a_{12}(a_{21}a_{33} - a_{23}a_{31}) + a_{13}(a_{21}a_{32} - a_{22}a_{31})$$

$$= -0.0009789$$

$$H_{44} = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 y}{\partial X_1^2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_3} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_4} \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2^2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_3} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_4} \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_3} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_3} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_3^2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_3 \partial X_4} \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_4} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_4} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_3 \partial X_4} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_4^2} \end{bmatrix}$$

$$= \begin{bmatrix} 0.047 & -0.0453 & -0.0193 & -0.0380 \\ -0.0453 & 0.0976 & 0.1941 & -0.0181 \\ -0.0193 & 0.1941 & 0.1928 & 0.0054 \\ -0.0380 & -0.0181 & 0.0054 & 0.088 \end{bmatrix} = -0.0000731427$$

$$H_{44} = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 y}{\partial X_1^2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_3} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_4} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_5} \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2^2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_3} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_4} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_5} \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_3} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_3} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_3^2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_3 \partial X_4} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_3 \partial X_5} \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_4} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_4} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_3 \partial X_4} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_4^2} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_4 \partial X_5} \\ \frac{\partial^2 y}{\partial X_1 \partial X_5} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_2 \partial X_5} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_3 \partial X_5} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_4 \partial X_5} & \frac{\partial^2 y}{\partial X_5^2} \end{bmatrix}$$

$$= \begin{bmatrix} 0.047 & -0.0453 & -0.0193 & -0.0380 & 0.0417 \\ -0.0453 & 0.0976 & 0.1941 & -0.0181 & -0.0069 \\ -0.0193 & 0.1941 & 0.1928 & 0.0054 & -0.0568 \\ -0.0380 & -0.0181 & 0.0054 & 0.088 & 0.0604 \\ 0.0417 & -0.0069 & -0.0568 & 0.0604 & 0.1058 \end{bmatrix} = -0.00000372392$$

Tabla 33. Criterio de Máximos y Mínimos

H _{jj}	SIGNOS		
H1X1	-	+	-
H2X2	+	+	-
H3X3	-	+	-
...	.	.	.
HKK	+	+	.
Centro	Máximo	Mínimo	Sin Extremo

Fuente: Ayala Mina & Pardo Mercado.

Considerando los signos de los coeficientes (B_{jj}) del modelo matemático obtenido, realizamos el siguiente análisis:

Tabla 34. Criterio de Modelo de Curvatura

N°	B ₂₂	B ₃₃	B ₄₄	B ₅₅	TIPO EXTREMO	TIPO CURVA
1	-	-	-	-	Máximo	Elipse
2	+	-	+	-	Minimáx.	Silla Montar Arriba
3	-	+	-	+	Minimáx.	Silla Montar Abajo
4	+	+	+	+	Mínimo	Elipse Invertido

4.6.3.9. CONDICIONES ÓPTIMAS

A. Maximizando con el Criterio de las Derivadas Parciales

Hallando las derivadas parciales para cada variable (utilizando el modelo cuadrático a escala codificada)

$$Y = 0.7739 + 0.0405X_2 + 0.0534X_3 + 0.0961X_4 + 0.0405X_5 + 0.0488X_2^2 + 0.0964X_3^2 + 0.0440X_4^2 + 0.05290X_5^2 + 0.1941X_2X_3 - 0.0568X_3X_5 + 0.0604X_4X_5 + e$$

$$\frac{\partial Y}{\partial X_2} = 0.0405 + 0.0976 X_2 + 0.1941 X_3 = 0$$

$$\frac{\partial Y}{\partial X_3} = 0.0534 + 0.1928 X_3 + 0.1941 X_2 - 0.0568 X_5 = 0$$

$$\frac{\partial Y}{\partial X_4} = 0.0961 + 0.088 X_4 + 0.0604 X_5 = 0$$

$$\frac{\partial Y}{\partial X_5} = 0.0405 + 0.1058 X_5 - 0.0568 X_3 + 0.0604 X_4 = 0$$

Resolviendo el sistema de ecuaciones por resolución matricial de *Gauss – Jordan*

Forma Matricial: $[A] [X] = [B]$

0.0976	0.1941	0	0	X2	=	-0.0405
0.1941	0.1928	0	-0.0568	X3		-0.0534
0	0	0.088	0.0604	X4		-0.0961
0	-0.0568	0.0604	0.1058	X5		-0.0405

La Matriz Inversa resultante es $[A]^{-1}$

-6.0064	8.1722	-4.9515	7.2141
8.1722	-4.1093	2.4898	-3.6275
-4.9515	2.4898	17.1766	-8.4693
7.2141	-3.6275	-8.4693	12.3394

El producto de la Matriz Inversa por la Matriz B, es el siguiente vector resultante:

$[A^{-1}] * [B]$

X2 =	-0.7407
X3 =	0.0000
X4 =	2.0441
X5 =	-1.5911

Valores óptimos maximizados a escala codificada: $X_2 = -0.7407$; $X_3 = 0.0000$; $X_4 = 2.0441$; $X_5 = -1.5911$

Decodificando Valores Óptimos Maximizados a Escala Natural con la siguiente ecuación:

$$Z_j = Z_j^o + X_i \Delta Z_j \quad (4.34)$$

Haciendo uso de la ecuación anterior con el centro y radio (Z_j^o) del diseño (ΔZ_j) se obtienen los siguientes valores decodificados:

$$Z_2 = 9.5 + (-0.7407)(0.5) = 9.12965$$

$$Z_3 = 49.5 + (0.0000)(1.5) = 49.500$$

$$Z_4 = 150 + (2.0441)(30) = 211.323$$

$$Z_5 = 210 + (-1.5911)(30) = 162.267$$

B. Minimizando con el Criterio de la Segunda Derivada

$$\frac{\partial Y^2}{\partial X_2} = 0.0976$$

$$\frac{\partial Y^2}{\partial X_3} = 0.1928$$

$$\frac{\partial Y^2}{\partial X_4} = 0.088$$

$$\frac{\partial Y^2}{\partial X_5} = 0.1058$$

Entonces los valores óptimos minimizados a escala codificada son: $X_2 = -0.0976$; $X_3 = 0.1928$; $X_4 = 0.0881$ y $X_5 = 0.1058$.

Finalmente, decodificando los valores mínimos con el centro (Z_j^o) y radio del diseño (ΔZ_j), se obtiene los siguientes valores a escala natural:

$$Z_2 = 9.5 + (0.0976)(0.5) = 9.45$$

$$Z_3 = 49.5 + (0.1928)(1.5) = 49.78$$

$$Z_4 = 150 + (0.088)(30) = 152.64$$

$$Z_5 = 210 + (0.1058)(30) = 213.17$$

4.6.3.10. SOLUCIÓN ÓPTIMA

Se determinaron que las condiciones óptimas del proceso de biosíntesis de AgNPs, para las condiciones mínimas y de productividad efectiva del proceso de biosíntesis son: a) pH de síntesis de 9.45 (Z_2), b) temperatura de síntesis de 49.78 °C (Z_3), c) volumen de fracción flavonoide en 152.64 μ L (Z_4) y d) tiempo de síntesis de 213.17 min (Z_5). Respecto a las condiciones óptimas del proceso de Biosíntesis de Nanopartículas de plata con Fracción Flavonoide NPAg – FF, a partir del Extracto Hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* al 20% - EH, los valores experimentales coincidieron satisfactoriamente con valores predichos.

CAPÍTULO V

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1. BIOSÍNTESIS DE LAS AgNPs CON LA F. FLAVONOIDE

La reducción de los iones de plata Ag^+ presentes en la solución de reacción, ha sido mediada por el efecto reductor del volumen añadido de FF de la *Lepechinia meyenii*, se validó mediante el cambio del color de la reacción a un color amarillo dorado translucido como resultado de la formación de AgNPs. Según Ahmad et al (2003), el espectro UV-VIS obtenido de las AgNPs formadas, reveló un pico de absorbancia máxima de AgNPs entre 410 – 420 nm, debido al efecto de resonancia de plasmón superficial (SPR). En otros trabajos realizados, también se observó un aumento gradual en la densidad del color como indicador del aumento de la tasa de formación de AgNPs en las mezclas de reacción (Mulvaney et al, 1997), (Rajeshkumar, 2016), (Sahayaraj et al, 2020). Por otro lado, Khan et al (2015), afirmaron que la espectroscopia UV-VIS se considera uno de los procedimientos importantes para establecer el desarrollo de nanopartículas metálicas. La absorbancia máxima del pico de distintas AgNPs se registró a 400 nm (Chokshi et al, 2016), 420 nm (Naik et al, 2014), (Rajeshkumar, 2016) y 432 nm (Sahayaraj et al, 2020), presentándose distintos cambios en la banda SPR. De acuerdo con las variables identificadas en la tabla 4, los resultados experimentales de la tabla 5, han sido determinados por la Absorbancia máxima a 411 nm, mediante un barrido experimental por el espectrofotómetro UV -VIS, estos resultados están en función de sus variables significativas y la efectividad del proceso de biosíntesis de AgNPs.

Respecto a las condiciones de reacción para optimizar la biosíntesis de AgNPs, mediada por el efecto reductor de la FF de *Lepechinia meyenii*. Primeramente, se ha estudiado el pH como parámetro de síntesis (X2). El perfil de efectos del pH en el proceso de biosíntesis reveló que los valores de pH entre: 8.5 – 10.5, se encuentra el valor óptimo para la formación de las AgNPs. El aumento o disminución del valor del pH de la reacción afecta drásticamente la velocidad de formación de AgNPs, como se puede observar en la figura 9, donde se aprecia la intensidad de coloración de la solución coloidal (dorado intenso -translucido). Los resultados obtenidos indican la formación nula de AgNPs (SPR) para valores de pH, menores de 8.0 y mayores de 11.0, mientras que la SPR aumenta entre este rango de valores para alcanzar a su pH óptimo. Asimismo, Traiwatcharanon et al (2015) afirmaron que, en condiciones alcalinas,

los iones de hidróxido cargados negativamente (OH^-) mejoran la reducción de (Ag^+) a AgNPs (Ag^0); mientras que, en condiciones ácidas, se da un equilibrio entre la fuerza impulsora de disolución de AgNPs y la fuerza repulsiva para preservar la dispersión de AgNPs.

Por otro lado, para nuestro estudio de investigación el tiempo de reacción (X3), tiene efecto significativo en la biosíntesis de las AgNPs; sin embargo, no hubo una síntesis considerable de AgNPs para los primeros 180 min, esto podemos confirmarlo según los ensayos preliminares realizados, y expuestos en los gráficos de cinética de biosíntesis que se muestran en las figuras 10 al 17, donde se aprecia claramente que el pico de máxima absorbancia para la formación de AgNPs, está por encima de los 180 min para cada ensayo experimental establecido. Posteriormente la tasa de reducción en la formación de AgNPs aumentó considerablemente para varios de los ensayos realizados a partir de los 240 min en adelante por la fuerza de coloración presentada en cada ensayo experimental característico de las NPs, por el efecto de la reducción de los iones de plata a AgNPs (Sahayaraj et al, 2020).

El volumen de FF (X5) usado en la reacción, también se estudió como parámetro de la biosíntesis de AgNPs, siguiendo el procedimiento establecido por la MSR, de acuerdo con la tabla 4. Los efectos de significancia, en relación a los distintos volúmenes de FF (μL), se estudiaron variando estos volúmenes de FF en μL , respecto al volumen de solución de la sal precursora (AgNO_3 : 1mM), manteniéndose constante el volumen de esta solución precursora. El pico de absorción a 411 nm con absorbancia máxima, se registró con los volúmenes de FF entre los 100 – 150 μL , para las mejores condiciones de biosíntesis. Los picos de absorción fueron ligeramente más amplios y se registró una absorbancia más baja para menores volúmenes de FF, es decir por debajo de los 100 μL de volumen. Esto indica una reducción lenta de Ag^+ a Ag^0 , como se muestra en las gráficas (figuras 10 al 17) de absorción de los ensayos experimentales.

También, se analizaron otros parámetros como: la velocidad de agitación (X1) y la temperatura (X4), que se involucran en la síntesis y para el estudio de optimización en relación a los otros parámetros ya analizados. Los espectros de absorción UV-VIS de las AgNPs, fueron obtenidas a partir de la solución acuosa de AgNO_3 con FF y están en relación al efecto de la temperatura (X4); según los datos experimentales presentados. Por lo que, esta variable resulta significativa a temperaturas moderadas, alrededor de los 45°C , según los ensayos que se

muestran principalmente en la figura 12 y 13. Estos datos reportados, están en similitud con los trabajos experimentales realizados por; (Rajeshkumar, 2016; Traiwatcharanon et al, 2015; Chokshi et al, 2016 y Sahayaraj et al, 2020).

5.2. CARACTERIZACIÓN DE LAS AgNPs BIOSÍNTETIZADAS

5.2.1. Análisis de Espectroscopia UV-Visible (UV-VIS)

De acuerdo con el trabajo realizado por Walelign & Legesse (2021), en este estudio de investigación, también se aplicó el seguimiento del proceso de la biorreducción de iones de plata (Ag^+) a AgNPs (Ag^0), mediante espectroscopia UV-VIS. La espectroscopia UV-VIS podría utilizarse para detectar el tamaño y la forma de las NPs en suspensiones acuosas (Walelign & Legesse, 2021). La formación y optimización de AgNPs se controló mediante espectroscopia UV-VIS midiendo la absorbancia en el rango de exploración de 350 a 700 nm. El cambio de coloración indica la formación de AgNPs, confirmándose además la aparición del pico característico de resonancia de plasmón superficial (SPR) entre 400 y 500 nm (Kredy, 2018). Por otro lado, de acuerdo con el estudio desarrollado por Elemike et al, (2017) las AgNPs sintetizadas eran de color dorado claro translucido a marrón oscuro en solución acuosa, debido a la excitación de electrones y cambios en los niveles de energía electrónica, lo que refleja la reducción de Ag^+ en Ag^0 . En nuestro trabajo, la formación de nanopartículas de plata fue confirmada por los picos observados en el rango de 400 a 430 nm (según las figuras 10, 12, 13, 15, 16 y 17 como se puede observar). Los diferentes factores como la velocidad de agitación (X1), el pH (X2), el tiempo (X3), la temperatura (X4) y el volumen de FF de hojas de *Lepechinia meyenii*, afectan la síntesis de AgNPs, en cuanto a la formación y la distribución del tamaño de las nanopartículas.

5.2.2. Análisis de Espectroscopía Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)

Se realizó un estudio FTIR para confirmar los grupos funcionales presentes en las NPs_{Ag} (que son responsables de los agentes de reducción, estabilización y protección de las nanopartículas) y se comparó con el espectro FTIR de la FF de *Lepechinia meyenii*. Los espectros de absorción FT-IR de AgNPs, se estudiaron en el rango medio infrarrojo comprendido entre: 500 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} de número de onda, como se presenta en la figura 22. El análisis de los picos espectrales por FTIR, son analizados por regiones:

5.2.2.1. Región 3600 a 3000 cm^{-1}

La región entre 3600 y 3200 cm^{-1} se atribuye generalmente a los modos vibracionales por estiramiento (stretch) de O-H y N-H (Bellamy, 1975). El hidrógeno ligado a los carboxilos (COOH) llamado también de hidroxilo (O-H), típicamente se encuentra en torno a 3000 cm^{-1} (Bellamy, 1975), (Roeges, 1994), (Lin-Vein et al, 1991), (Nakamoto et al, 1963) y la frecuencia de vibración O-H proveniente de ambas muestras está en torno de 3400 cm^{-1} .

Tanto para las muestra (a) y (b) de la figura 22, (fracción flavonoide FF y AgNPs), podemos identificar una banda ancha alrededor de 3000 cm^{-1} y 3400 cm^{-1} , se debe a la vibración por estiramiento N-H del grupo NH_2 y el grupo OH de la superposición de vibración de estiramiento atribuida al agua y los compuestos fenólicos presentes. Asimismo, en un estudio realizado por Fitch & Dragan (1998), se identificaron picos muy próximos correspondientes al grupo OH en el modo vibracional por estiramiento, con frecuencias de 3028 y 3005 cm^{-1} , correspondientes al hidroxilo y H_2O , en la misma región del espectro se observaron 2 picos más, corridos hacia el rojo, con frecuencia de 3397 cm^{-1} y 3518 cm^{-1} , estos corresponderían a los modos vibracionales NH. en el que determinan que las bandas comprendidas entre 3500 cm^{-1} y 3300 cm^{-1} son asignados a NH.

5.2.2.2. Región 3100 a 2300 cm^{-1}

En esta región de frecuencias están contenidas muchas vibraciones, por lo que en muchos de los casos se presentan sobrepuestas, principalmente abajo de 1800 cm^{-1} . En esta región se presentan con más ocurrencia los llamados desdoblamientos vibracionales o sobretonos. Cuanto más compleja sea la molécula más complicada serán los espectros en el rango de bajas frecuencias (Trujillo Herrera, 2013).

En la figura 22 (a), el pico de 2972.75 cm^{-1} , se les atribuye a los modos de estiramiento C-H, correspondientes con el trabajo de Waleign & Legesse (2021). Más exactamente en el modo antisimétrico CH_2 con 2972.15 cm^{-1} y simétrico CH_2 con 2881.96 cm^{-1} . Para la figura 22 (b), no existe señal de estos picos, por lo que se podría deducir que las nanopartículas de plata se encuentran interaccionando con los distintos grupos funcionales presentes en la FF de la especie vegetal de *Lepechinia meyenii*, correspondientes con el trabajo desarrollado por (Ronquillo et al, 2011).

5.2.2.3. Región 2300 a 1200 cm^{-1}

De acuerdo con Trujillo Herrera (2013), en esta región de frecuencias están contenidas muchas vibraciones, por lo que en muchos de los casos se presentan sobrepuestas, principalmente abajo de 1800 cm^{-1} . En esta región se presentan con más ocurrencia los llamados desdoblamientos vibracionales o sobretonos. Cuanto más compleja sea la molécula más complicada serán los espectros en el rango de bajas frecuencias.

De la figura 22 (a), correspondiente a la Fracción Flavonoide, en esta se observa una banda poca intensa alrededor de los 1378.96 cm^{-1} , que pertenecen a las oscilaciones del grupo C – OH (Escobar Falconi, 2015). Esta banda está relacionada con el trabajo desarrollado por Mat Yusuf et al (2020), donde trabajaron con dos distintos extractos y sus NPs correspondientes, aquí se observaron los picos FTIR a $1408,57 \text{ cm}^{-1}$ y $1410,77 \text{ cm}^{-1}$ para ambos extractos de las plantas estudiadas y también para sus NPsAg sintetizadas respectivamente. Estos picos cambiaron y se desplazaron a $1382,47 \text{ cm}^{-1}$ y $1383,51 \text{ cm}^{-1}$. Según Godipurge et al (2016), esto corresponde a la flexión C-OH (en el plano) de las vibraciones de los ácidos carboxílicos. Por otro lado, un estudio realizado por Walelign & Legesse (2021), también reporta la presencia de un pico intenso alrededor de $1363,23 \text{ cm}^{-1}$, que muestra la vibración de estiramiento NH en el enlace amida.

Observando la figura 22 (b), que corresponden a las AgNPs sintetizados con la fracción flavonoide (FF), se muestra un pico emergido bien definido, alrededor de los 1636.48 cm^{-1} debido a la presencia de NO_3 correspondiente a la sal precursora; por lo que, el caso más notorio es esta región corresponde al par ión Ag^+ y NO_3^- , la cual no aparece en el espectro FTIR de la figura 22 (a) fracción flavonoide - FF (Escobar Falconi, 2015).

Por otro lado, el estudio realizado por Thomas et al (2019), identifica un pico alrededor de 1697 cm^{-1} asociado con el estiramiento del enlace (C=O) de los ácidos carboxílicos (por causa del grupo carbonilo y las amidas). Asimismo, en otro estudio realizado por Walelign & Legesse (2021), también observan el modo de estiramiento del grupo carbonilo (C=O) a $1614,92 \text{ cm}^{-1}$, lo que sugiere la presencia de grupos carboxílicos, aldehídos, ésteres o cetonas que contienen compuestos derivados de flavonoides y taninos. En nuestro caso, de acuerdo con la figura 22 (b) correspondientes a las NPs sintetizadas, no observamos ningún pico emergido en esta región, por lo que podemos deducir que todos estos componentes reductores

tuvieron una participación efectiva en la reducción de la plata para nuestro proceso de síntesis. Por lo tanto, de acuerdo con Ronquillo et al (2011), para estos resultados se puede deducir que las nanopartículas de plata se encuentran interaccionando con los distintos grupos funcionales presentes en el extracto total de la planta *Lepechinia meyenii*.

5.2.2.4. Región 1200 a 500 cm^{-1}

De la figura 22 (a), correspondiente a la muestra de FF, se observan 2 picos definidos en esta región a: 1045.93 cm^{-1} y 1087.81 cm^{-1} ; en comparación con el gráfico FTIR de la figura 22 (b) de las AgNPs, que muestran notorias reducciones o ausencias de sus picos en esta región. Estos espectros también están relacionados con el trabajo desarrollado por Mat Yusuf et al (2020), donde los picos reportados para ambos extractos estudiados están en $1093,41$ y $1043,45 \text{ cm}^{-1}$, las cuales muestran las principales reducciones en los espectros FTIR de AgNPs sintetizadas. Para Mata & Rani (2015) estos picos también indican la presencia de CN de aminas alifáticas. Por lo tanto, para este estudio se puede deducir que el pico identificado en 1045.93 cm^{-1} de la figura 22 (a), podría asignarse a las vibraciones del estiramiento C-N de las aminas alifáticas y de acuerdo con el trabajo realizado por Walelign & Legesse (2021) el pico que se identifica a 1087.81 cm^{-1} podría corresponder al grupo C-O de los esteres alifáticos.

5.3. OPTIMIZACIÓN APLICANDO DISEÑO EXPERIMENTAL Y LA MSR

5.3.1. ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL MULTIFACTORIAL DEL DISEÑO FACTORIAL P&B

5.3.1.1. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) Y EVALUACIÓN DE SIGNIFICANCIA

El diseño Plackett y Burman (P&B), es un diseño de detección efectivo que se utiliza para identificar los factores significativos a partir de una gran cantidad de variables del proceso que influyen en la biosíntesis de AgNPs, (sintetizadas a partir de la FF de *Lepechinia meyenii*). El P&B es un diseño factorial fraccionado de dos niveles y se basa en la ecuación polinomial de primer orden sin ninguna interacción entre los factores independientes (Jabeen et al, 2015; Plackett & Burman, 1946).

Según la tabla 12, se hizo la evaluación de la significancia para cada una de las variables independientes (X_i) del proceso de biosíntesis de AgNPs. En este cuadro se efectúan

los cálculos para la determinación de los efectos de cada variable; también se establecen: los grados de libertad (g.l), se desarrolla el cálculo de la Suma de Cuadrados (SS), la Media de la Suma de Cuadrados (MS) y el cálculo del estadístico F_0 . Asimismo, se desarrolla un Test de Fisher con el estadístico F según tablas, al 95% de nivel de significancia, y con 1 y 2 grados de libertad, que fueron determinados por las variables y error del diseño respectivamente. La evaluación de significancia para las variables del proceso de biosíntesis de AgNPs con Fracción Flavonoide (AgNP – FF), se determina mediante el estadístico de Fisher; donde las variables resultaron siendo significativas para $F_0 > F$ (tablas).

Asimismo, en la tabla 12 se desarrollan los cálculos respectivos para el análisis de varianza y la significancia de las variables; en consecuencia, la evaluación del test de Fisher con el estadístico F respectivo (según tablas), ha determinado que del total de variables de partida (5 variables), se encontró que las 5 variables resultaron de mayor significancia para el proceso de biosíntesis de AgNPs. Según la tabla 12 se determinó que las 5 variables: X1, X2, X3, X4 y X5, tienen efectos de mayor significancia en relación a los efectos de las variables ficticias F1 y F2. Por lo tanto, los efectos de mayor significancia para el diseño experimental P&B resultaron siendo: a) X1: velocidad de agitación (RPM), b) X2: pH de síntesis; X3: tiempo, c) X4: Temperatura de síntesis (°C) y d) X5: Volumen de Fracción Flavonoide (µL).

5.3.1.2. ANALISIS DE RESIDUALES Y VALIDACIÓN DEL MODELO LINEAL

La influencia de los cinco factores importantes se analizó estadísticamente utilizando el diseño factorial P&B. Según la tabla 12, de los cinco factores iniciales para evaluación de las variables, los cinco factores resultaron significativos siendo estos: la velocidad de agitación, pH, temperatura, tiempo y volumen de FF, teniendo además un efecto significativo en la variable de respuesta Y (Absorbancia 411 nm). Los factores se evaluaron mediante el test de Fisher para un $p = 0,05$ (nivele de confianza > 95 %) y con 1 y 2 grados de libertad, determinándose así la significancia de las 5 variables, eligiéndose estas para el siguiente nivel de optimización mediante el DCC y la MSR. Finalmente, se aplicó un análisis de regresión múltiple a los resultados experimentales y se ajustó a una ecuación polinomial de primer orden representada como Y en la ecuación 4.8, que se describe a continuación:

$$Y = 0.3792 - 0.2240 X_1 + 0.3124 X_2 + 0.0506 X_4 + 0.2460 X_5 + e$$

5.3.2. ANÁLISIS DE REGRESIÓN CUADRÁTICA MÚLTIPLE PARA EL DCC

5.3.2.1. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) Y SIGNIFICANCIA DE LOS PARÁMETROS

La optimización de los procesos de biosíntesis se desarrolla mediante el uso de diferentes enfoques estadísticos para identificar y optimizar los parámetros que más afectan el proceso y predecir sus interacciones (Liu et al 2009), (Othman et al 2018) y (Saad et al 2021). Con referencia a nuestros resultados de optimización con el DCC, para la biosíntesis de AgNPs con FF, se evaluaron 5 variables independientes significativas, resultantes de la etapa I y II de la MSR, estas variables fueron: a) velocidad de agitación - RPM (X1), pH de síntesis (X2), temperatura de síntesis - °C (X3), volumen de FF - μL (X4), tiempo de síntesis – min (X5), como se presenta en la tabla 20. Estas variables han sido evaluadas a través del DCC para la determinación de su eficacia en la producción de AgNPs, mediados con el efecto de la FF de *Lepechinia meyenii*. En el DCC, se utilizaron cinco niveles (-2, -1, 0, +1, +2) por cada variable independiente (factor), como se indica en la tabla 21 y 22 de la matriz predeterminada para el DCC. Los resultados obtenidos de los ensayos experimentales de DCC se presentan también en las tablas 24 y 25, tanto para el análisis de residuales y la validación del modelo obtenido, donde se comparan los valores estimados (predichos) y los valores experimentales (observados).

Para tener una interpretación de los resultados obtenidos y sus interrelaciones, se ha empleado un modelo cuadrático (No Lineal), resultado del DCC y el análisis de regresión cuadrática. La ecuación correlacionada, entre la respuesta (biosíntesis de AgNP) y los parámetros CCD (X1, X2, X3, X4, X5), se ha expresado en términos de factores codificados de acuerdo con la ecuación (4.22), obtenida de la siguiente forma:

$$Y = 0.7739 + 0.0405X_2 + 0.0534X_3 + 0.0961X_4 + 0.0405X_5 + 0.0488X_2^2 + 0.0964X_3^2 + 0.0440X_4^2 + 0.05290X_5^2 + 0.1941X_2X_3 - 0.0568X_3X_5 + 0.0604X_4X_5 + e \quad (4.22)$$

Donde: X₂ es el valor de pH, X₃ es la temperatura de síntesis (°C), X₄ es el volumen de FF (μL) y X₅ es el tiempo de reacción (min). El modelo cuadrático obtenido por el análisis de regresión cuadrática multifactorial y el DCC, describe los resultados estimados de absorbancia a (411nm), para la biosíntesis de AgNPs, que están en función de las variables más significativas del proceso. Es decir, el modelo representativo de los datos obtenidos está

caracterizado por las distintas variables que resultaron significativas mediante el “Análisis de Varianza” (ANOVA). Las variables significativas que representan el modelo cuadrático están dadas por los términos lineales, cuadráticos e interactivos, como se pueden observar en la ecuación obtenida por el DCC. Los términos lineales (factores) de mayor significancia en el modelo cuadrático representativo son: el pH (X_2), la temperatura de síntesis (X_3), el volumen de la FF (X_4) y el tiempo de reacción (X_5), de la misma forma los términos cuadráticos que resultaron con mayor significancia fueron: el pH (X_2^2) la temperatura (X_3^2), el volumen de FF (X_4^2) y el tiempo (X_5^2) y finalmente los términos interactivos de mayor significancia fueron: el pH y temperatura ($X_2 * X_3$), la temperatura y el tiempo ($X_3 * X_5$) y la FF con el tiempo ($X_4 * X_5$).

Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) se presentaron en la tabla 24. Estos resultados presentan: la varianza, la desviación estándar y el estadístico T - Student asociados a los coeficientes del modelo y están determinados por las ecuaciones 4.15 y 4.16. El efecto de significancia de los coeficientes del modelo se analiza mediante el test T - Student, para un valor de T con significancia de 0.85 y con 5 grados de libertad, siendo el valor de “T” según las tablas de significancia igual a 1.156, mientras que los valores de t asociado a los coeficientes menores a este estadístico de tablas ($T_j < T$), resultan no significativos. En nuestro modelo de regresión obtenido, la Temperatura (X_3) y el volumen de FF (X_4) son términos de alta significancia para modelo, según los cálculos desarrollados para el análisis de significancia.

5.3.2.2. ANÁLISIS DE RESIDUALES Y VALIDACIÓN DEL MODELO NO LINEAL

Estos resultados indicaron la importancia y la validez del modelo cuadrático representado por la ecuación 4.22, donde su valor estadístico F según tablas es de 4.56, para una probabilidad del 95% con 20 y 5 grados de libertad. El valor F_0 del modelo está calculado mediante la relación entre MS_{F-A} y MS_{ERROR} , representado por la ecuación 4.27, teniendo como resultando un valor calculado de 1.3313 como se aprecia en la tabla 25. Además, el valor de $F_0 > F_{(TABLAS)}$ siendo un valor inferior, por lo que el modelo estadístico de 2do orden obtenido, resulta valido.

Los valores estimados (predichos) de Absorbancia (411nm) se obtuvieron utilizando la ecuación 4.22 y se presentan junto con los valores experimentales (observados) en la tabla 25. Por otro lado, la figura 50 “Correlación y Bondad de Ajuste para el Modelo Cuadrático”, indica

una correlación satisfactoria ($R^2 = 0.6700$) entre los valores de respuesta predichos (estimados) y los valores de respuesta experimentales (observados) para la Absorbancia (411nm). El R^2 es el coeficiente de determinación que se utiliza para medir la bondad de ajuste del modelo (Jabeen H. et al, 2015). El valor de R^2 entre 0.4 a 0.7, indica que el modelo tiene una correlación media y es directa por ser positivo, es decir existe una correlación satisfactoria directa entre los datos experimentales y los datos observados. Por lo tanto, un valor de R^2 (0,6700) tiene una predicción de respuesta satisfactoria, en este caso es la evidencia para un buen ajuste del modelo que muestra una buena correlación entre la respuesta prevista y la observada, en tanto existe una dependencia del modelo con los datos experimentales.

5.4. CONDICIONES DE MÁXIMOS Y MÍNIMOS Y SOLUCIÓN ÓPTIMA

Para el análisis de las condiciones de Máximos y Mínimos, se empleó el criterio de la determinante de la Matriz Hessiana, conjuntamente con el software Minitab 19 y la hoja de cálculo Excel. En tanto, con este análisis se busca una combinación de factores y niveles que optimicen un conjunto de respuestas satisfaciendo las restricciones del diseño. Asimismo, según los gráficos de superficie de respuesta 3D, se determinaron que para las condiciones óptimas del proceso de biosíntesis de AgNPs, existen un extremo mínimo que está representado por la siguiente solución óptima: a) pH de síntesis de 9.45 (Z_2), b) temperatura de síntesis de 49.78 °C (Z_3), c) volumen de fracción flavonoide en 152.64 μ L (Z_4) y d) tiempo de síntesis de 213.17 min (Z_5). Finalmente, se deduce que respecto a las condiciones óptimas del proceso de biosíntesis de nanopartículas de plata con Fracción Flavonoide (NPAg – FF), obtenidas a partir del extracto total de *Lepechinia meyenii* al 20% (EH), los valores experimentales coincidieron satisfactoriamente con valores estimados; por lo tanto, existe una dependencia predictiva del modelo cuadrático multifactorial obtenido para la obtención de datos estimados.

CONCLUSIONES

1. Se logró la síntesis de nanopartículas de plata (NPsAg) en función de las variables de mayor significancia del proceso las cuales fueron: velocidad de agitación (RPM), potencial de hidrogeno (pH), temperatura de síntesis (°C), volumen de fracción flavonoide (μL) y tiempo de reacción (min).
2. La caracterización de las nanopartículas de plata obtenidas por síntesis verde, se realizó mediante técnicas espectrofotométricas y microscópicas. Por espectrofotometría UV – VIS se desarrolló el barrido espectral, confirmando la presencia de NPsAg por el plasmón superficial, con absorbancia máxima entre los 410 – 420 nm. El análisis por espectrofotometría FTIR, demostró el efecto de interacción de los agentes reductores de la fracción flavonoide en la formación de las NPsAg. Los resultados de SEM mostraron NPsAg de forma esférica bien definidas confirmando la efectividad de la biosíntesis en la formación de las nanopartículas de plata. Y mediante la técnica Dinamic Light Scattering (DLS) se encontró que el tamaño hidrodinámico de las NPs fue de 43.71 nm.
3. La metodología de superficie de respuesta (MSR), demostró ser una herramienta útil para desarrollar el modelo de regresión cuadrática de alta correlación y optimizar las variables del proceso. Siendo así, se determinó que las variables de mayor significancia para el proceso de síntesis verde de NPsAg, sintetizadas a partir de la fracción flavonoide de *Lepechinia meyenii* fueron: pH (X2), temperatura de síntesis (X3) (°C), volumen de fracción flavonoide (X4) (μL) y el tiempo de reacción (X5) (min).
4. El modelo de regresión cuadrático resultante, diseñado por la MSR es el siguiente: $Y = 0.7739 + 0.0405X_2 + 0.0534X_3 + 0.0961X_4 + 0.0405X_5 + 0.0488X_2^2 + 0.0964X_3^2 + 0.0440X_4^2 + 0.05290X_5^2 + 0.1941X_2X_3 - 0.0568X_3X_5 + 0.0604X_4X_5 + e$. Este modelo representa el efecto lineal de las variables significativas y el efecto de curvatura, respecto de las variables cuadráticas e interactivas de las variables más significativas del modelo, con un coeficiente de correlatividad ajustado de $R^2 = 0.9723$. Por lo tanto se logró localizar la región óptima, mediante el modelo cuadrático obtenido y el análisis de regresión respectivo. También se pudo estimar las condiciones óptimas (máximas y mínimas) para la variable respuesta (Absorbancia

411nm) en función de las demás variables significativas del proceso. Las condiciones óptimas del modelo, según el análisis de máximos y mínimos y el análisis de regresión cuadrática a escala decodificada son las siguientes: a) pH de síntesis de 9.45 (Z2), b) temperatura de síntesis de 49.78 °C (Z3), c) volumen de fracción flavonoide en 152.64 μ L (Z4) y d) tiempo de síntesis de 213.17 min (Z5). Finalmente, podemos afirmar que los valores experimentales (observados) coincidieron satisfactoriamente con valores estimados (predichos) del modelo de regresión.

REFERENCIAS

- Ahmad, A., Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Khan, M., Kumar, R., & Sastry, M. (2003). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids Surf., B*, 28, 4, 313-318. doi:10.1016/S0927-7765(02)00174-1
- Ajitha, B., Ashok, Y., Reddy, K., Jeon, H., & Ah, C. (Enero de 2018). Synthesis of silver nanoparticles in an eco-friendly way using *phyllanthus amarus* leaf extract: Antimicrobial and catalytic activity. *Adv. Powder Technol.*, 29(1), 86-93. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.apt.2017.10.015>
- Ankamwar, B., Damle, C., Ahmad, A., & Sastry, M. (s.f.). Biosíntesis de Nanopartículas de Oro y Plata Utilizando Extracto de Fruto de *Embllica Officinalis*, su Transferencia de Fase y Transmetalación en una Solución Orgánica. *Revista de Nanociencia y Nanotecnología*, 5(10), 1665-1671. doi:<https://doi.org/10.1166/jnn.2005.184>
- Ayala Mina, J., & Pardo Mercado, R. (1995). *Optimizacion por Diseños Experimentales con aplicaciones en Ingenieria*. (C. N. CONCYTEC, Ed.) Lima, Perú: A & B S.A.
- Bellamy, L. (1975). *The Infra-red Spectra of Complex Molecules* (3rd ed ed.). (W. a. Sons, Ed.) New York.
- Bruker. (2022). *Conceptos Básicos de Espectroscopía: Guía de la Espectroscopía Infrarroja*. Obtenido de © Copyright Bruker 2022: <https://www.bruker.com/es/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-ir-routine-spectrometer/what-is-ft-ir-spectroscopy.html>
- Cardoso, P. (Marzo de 2016). Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud. *Rev. Hosp. Niños (B. Aires)*, 58(260), 19-28. Obtenido de <http://revistapediatria.com.ar/wp-content/uploads/2016/04/260-Nanoparti%CC%81culas-de-plata.pdf>
- Castro de Esparza, M., Litter, M., Wong, M., & Mori, V. (2009). Métodos espectrofotométricos UV - VIS. En CYTED (Ed.), *Metodologías analíticas para la determinación y especificación de As en agua y suelo* (págs. 43 - 45). Argentina.
- Chandran, S., Chaudhary, M., Pasricha, R., Ahmad, A., & Sastry, M. (5 de Setiembre de 2008). Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloevera* plant extract. *Biotechnol. Progr.*, 22(2), 577-583. doi:<https://doi.org/10.1021/bp0501423>
- Chang, W., Willingham, B., Slaughter, L., Dominguez-Medina S., S., Swanglap, P., & Link, S. (18 de Abril de 2012). Radiativ and nonradiative properties of single plasmonic nanoparticles and their Assemblies. *Acc. Chem. Res.*, 11(45), 1936-1945. Obtenido de <https://doi.org/10.1021/ar200337u>
- Chokshi, K., Pancha, I., Ghosh, T., Paliwal, C., Maurya, R., Ghosh, A., & Mishra, S. (2016). Green synthesis, characterization and antioxidant potential of silver nanoparticles biosynthesized from de-oiled biomass of thermotolerant oleaginous microalgae *Acutodesmus dimorphus*. *RSC Adv.*, 6(76), 72269-72274. doi:10.1039/C6RA15322D
- Cohen-Karni, T., Langer, R., & Kohane, D. S. (31 de July de 2012). The Smartest Materials:

- The Future of Nanoelectronics in Medicine. *ACS Nano*, 6(8), 6541–6545.
doi:<https://doi.org/10.1021/nn302915s>
- Cornejo, L. (11 de Agosto de 2015). *Nuevas Tecnologías y Materiales*. Obtenido de <https://nuevatecnologiasymateriales.com/resonancia-del-plasmon-de-la-superficie-rps-propiedades-optoelectronicas/>
- Elemike, E., Onwudiwe, D., Arijeh, O., & Nwankwo, H. (01 de febrero de 2017). Plant-mediated biosynthesis of silver nanoparticles by leaf extracts of *Lasienthra africanum* and a study of the influence of kinetic parameters. *Bull. Mater. Sci.*, 40, 129-137.
doi:<https://doi.org/10.1007/s12034-017-1362-8>
- Escobar Falconi, V. (2015). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por espectroscopía de infrarrojos (FT-IR), UV-VIS, absorción atómica de llama (FAAS) y microscopía de barrido electrónico (SEM)*. Tesis de pregrado., Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Fitch , A., & Dragan, S. (01 de August de 1998). Infrared Spectroscopy Determination of Lead Binding to Ethylenediaminetetraacetic Acid. *J. Chem. Educ.*, 8(1018), 75.
doi:<https://doi.org/10.1021/ed075p1018>
- Godipurge, S., Yallappa , S., Biradar, N., Biradar, J., Dhananjaya, B., Hegde, G., . . . Hegde , G. (2016). A facile and green strategy for the synthesis of Au, Ag and Au–Ag alloy nanoparticles using aerial parts of *R. hypocrateriformis* extract and their biological evaluation. *Enzyme Microb. Technol*, 95, 174–184.
doi:[doi:10.1016/j.enzmictec.2016.08.006](https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2016.08.006)
- Guajardo-Pacheco, M., Morales-Sánchez, J., González-Hernández, J., & Ruiz, F. (19 de March de 2010). Synthesis of copper nanoparticles using soybeans as a chelant agent. *Materials Letters*, 64(12), 1361-1364. doi:<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2010.03.029>
- Guntur, S., Sampath Kumar, N., & Hegde, M. (2 de July de 2018). In Vitro Studies of the Antimicrobial and Free-Radical Scavenging Potentials of Silver Nanoparticles Biosynthesized From the Extract of *Desmostachya bipinnata*.
doi:<https://doi.org/10.1177/1177390118782877>
- Gutierrez Pulido, H., & De la Vara Salazar, R. (2008). *Análisis y Diseño de Experimentos* (Segunda Edición ed.). (d. B. Ricardo A, Ed.) Mexico D.F., Mexico: McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES S.A.
- Hebeish, A., El-Shafei, A., Sharaf, S., & Zaghoul, S. (11 de february de 2011). Novel precursors for green synthesis and application of silver nanoparticles in the realm of cotton finishing. *Carbohydr. Polym.*, 84(1), 605-613.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.032>
- Hernandez , L., & Gonzáles, C. (2002). *Introducción al Análisis Instrumental* (1 ed.). Barcelona: Editorial Ariel S.A.;
- Jabeen, H., Iqbal, S., Anwar, S., & Parales, R. (March de 09 de 2015). Optimization of profenofos degradation by a novel bacterial consortium PBAC using response surface methodology. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 100, 89–97.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.02.022>

Jabeen, H., Iqbal, S., Anwar, S., & Parales, R. (May de 2015). Optimization of profenofos degradation by a novel bacterial consortium PBAC using response surface methodology. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 100, 89-97. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.02.022>

Jainista, S., & Mehata, M. (20 de Noviembre de 2017). Medicinal plant leaf extract and pure flavonoid mediated green synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial property. *Sci. Rep.*, 7(15867), 1-13. Obtenido de <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15724-8>

Jiang, Y., Sun, D., Pu, H., & Wei, Q. (Mayo de 2018). Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS): A novel reliable technique for rapid detection of common harmful chemical residues. *Trends Food Sci. Technol.*, 75, 10-22. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.02.020>

Kashkouli, S., Jamzad, M., & Nouri, A. (2018). Total Phenolic and Flavonoids Contents, Radical Scavenging Activity and Green Synthesis of Silver Nanoparticles by *Laurus nobilis* L. Leaves Aqueous Extract. doi:10.22092/JMPB.2018.116725

Khan, K., & Javed, S. (29 de Abril de 2021). Silver nanoparticles synthesized using leaf extract of *Azadirachta indica* exhibit enhanced antimicrobial efficacy than the chemically synthesized nanoparticles: a comparative study. *Sci. Prog.*, 104, 1-15. Obtenido de <https://doi.org/10.1177/00368504211012159>

Khan, M., Khan, T., Khan, Z., & AL-Thabaiti, S. (2015). Green synthesis of biogenic silver nanomaterials using *Raphanus sativus* extract, effects of stabilizers on the morphology, and their antimicrobial activities. *Bioprocess Biosyst Eng*, 38, 2397-2416. doi:10.1007/s00449-015-1477-5

Khatua, S., Paulo, P., Yuan, H., Gupta, A., Zijlstra, P., & Orrit, M. (31 de Marzo de 2014). Resonant plasmonic enhancement of single-molecule fluorescence by individual gold nanorods. *ACS Nano*, 8, 4440-4449. Obtenido de <https://doi.org/10.1021/nn406434y>

Khlebtsov, N., Trachuk, L., & Mel'nikov, A. (Enero de 2005). The effect of the size, shape, and structure of metal nanoparticles on the dependence of their optical properties on the refractive index of a disperse medium. *Optics and Spectroscopy*, 98, 77-83. doi:<https://doi.org/10.1134/1.1858043>

Klar, T., Perner, M., Grosse, S., von Plessen, G., Spirkl, W., & Feldmann, J. (11 de Mayo de 1998). Surface-Plasmon Resonances in Single Metallic Nanoparticles. *Phys. Rev. Lett*, 80(19), 4249. doi:<https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.80.4249>

Kredy, H. (2018). The effect of pH, Temperature on the green synthesis and biochemical activities of silver nanoparticles from *Lawsonia inermis* extract. *J. Pharmaceut. Sci. Res*, 10, 2022-2026. Obtenido de <https://www.proquest.com/openview/bb67833e395b41fcd1b7acf015f9319b/1?pq-origsite=gscholar&cbl=54977>

Lin-Vein, D., Colthup, N., Fateley, W., & Grasselli, J. (1991). *The Handbook of Infrared and*

Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules. Boston, USA: Academic Press.

Liu, L., Lin, Z., Zheng, T., Lin, L., Zheng, C., Lin, Z., . . . Wang, Z. (2009). Fermentation optimization and characterization of the laccase from *Pleurotus ostreatus* strain 10969. *Enzyme Microb. Technol*, 44(6-7), 426-433. doi:10.1016/j.enzmictec.2009.02.008

Lu, W., & Lieber, C. M. (2007). Nanoelectronics from the bottom up. *Nat Mater*, 11, 841-50. doi:10.1038/nmat2028

Malvern. (2022). © Copyright 2022 - Malvern Panalytical Ltd. Obtenido de <https://www.malvernpanalytical.com/es/products/technology/light-scattering/dynamic-light-scattering>

Masum, M., Siddiq, M., KA, A., Zhang, Y., Abdallah, Y., Ibrahim, E., . . . Li, B. (26 de Abril de 2019). Síntesis biogénica de nanopartículas de plata utilizando extracto de fruta de *Phyllanthus emblica* y su acción inhibidora frente al patógeno *acidovorax oryzae* cepa RS-2 de la bacteria del arroz Brown stripe. *Front. Microbiol.*, 10, 1 - 18. Obtenido de <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00820>

Mat Yusuf, S., Che Mood, C., Hazwani Ahmad, N., Sandai, D., Keong Lee, C., & Lim, V. (22 de July de 2020). Optimization of biogenic synthesis of silver nanoparticles from flavonoid-rich *Clinacanthus nutans* leaf and stem aqueous extracts. *the Royal Society*. doi:<https://doi.org/10.1098/rsos.200065>

Mat Yusuf1, S., Che Mood, C., Hazwani Ahmad, N., Sandai, D., Keong Lee, C., & Lim, V. (22 de July de 2020). Optimization of biogenic synthesis of silver nanoparticles from flavonoid-rich *Clinacanthus nutans* leaf and stem aqueous extracts. *Royal Society of Chemistry*, 15. Obtenido de <https://doi.org/10.1098/rsos.200065>

Mata, R., Reddy Nakkala, J., & Rani Sadras, S. (01 de June de 2015). Catalytic and biological activities of green silver nanoparticles synthesized from *Plumeria alba* (frangipani) flower extract. *Mater. Sci. Eng*, 51, 216–225. doi:<https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.02.053>

McMurry, J. (2008). *Química Orgánica*. DF. México: Cengage Learning Editores.

MICROTRAC. (2022). © 2022 *Microtrac Retsch GmbH*. Obtenido de https://www.microtrac.com/products/particle-size-shape-analysis/dynamic-light-scattering-zeta-potential/?gclid=Cj0KCQjwvLOTBhCJARIsACVldV3SjDIp2X11atDYIgK0h6u7odjkiKCRoW8nauyydoal0jLJ1M1N_SMaAtjYEALw_wcB

Mock, J., Smith, D., & Schultz, S. (14 de March de 2003). Local Refractive Index Dependence of Plasmon Resonance Spectra from Individual Nanoparticles. *Nano Letters*, 3(4), 485-491. doi:10.1021/nl0340475

Mohanta, Y., Panda, S., Bastia, A., & Mohanta, T. (18 de Abril de 2017). Biosynthesis of silver nanoparticles from *protium serratum* and investigation of their potential impacts on food safety and control. *Front. Microbiol*, 8, 1-10. Obtenido de <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00626>

- MS, M., Majumder, M., Mallik, B., & Ohta, N. (30 de August de 2010). External Electric Field Effects on Optical Property and Excitation Dynamics of Capped CdS Quantum Dots Embedded in a Polymer Film. *J. física. química, 114*(37), 15594–15601. doi:<https://doi.org/10.1021/jp104124z>
- Mude, N., Ingle, A., Gade, A., & Rai, M. (Enero de 2009). Synthesis of silver nanoparticles using callus extract of *Carica papaya*—a first report. *J. Plant Biochem. Biotechnol, 18*(1), 83-86. doi:<https://doi.org/10.1007/BF03263300>
- Mulvaney, P., Giersig, M., Ung, T., & Liz-Marzán, L. (1997). Direct observation of chemical reactions in silica-coated gold and silver nanoparticles. *Adv. Mater., 9*(7), 570-575. doi:[10.1002/\(ISSN\)1521-409510.1002/adma.v9:710.1002/adma.19970090712](https://doi.org/10.1002/(ISSN)1521-409510.1002/adma.v9:710.1002/adma.19970090712)
- Naik, B., Gowreeswari, G., Singh, Y., Satyavathi, R., Daravath, S., & Reddy, P. (2014). Bio-synthesis of silver nanoparticles from leaf extract of *Pongamia pinnata* as an effective larvicide on dengue vector *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae). *Adv. Entomol., 2*, 93-101. doi:[10.4236/ae.2014.22016](https://doi.org/10.4236/ae.2014.22016)
- Nakamoto, K., Morimoto, Y., & Martell, A. (1963). *J. Am. Chem. Soc, 85*(309).
- Othman, A., Elsayed, M., Elshafei, A., & Hassan, M. (2018). Application of central composite design as a strategy to maximize the productivity of *Agaricus bisporus* CU13 laccase and its application in dye decolorization. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* doi:[10.1016/j.bcab.2018.02.008](https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.02.008)
- Pandey, S., Goswami, G., & Nanda, K. (31 de Mayo de 2012). Green synthesis of biopolymer–silver nanoparticle nanocomposite: An optical sensor for ammonia detection. *International Journal of Biological Macromolecules, 51*, 583 - 589. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.06.033>
- Panigrahi, S., Praharaj, S., Basu, S., Kumar, S., Jana, S., & Pande, S. (2006). Self-Assembly of Silver Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Optical Properties, and Application in Surface-Enhanced Raman Scattering. *J. Phys. Chem, 110*(27), 13436–13444. doi:[10.1021/jp062119l](https://doi.org/10.1021/jp062119l) 2006
- Parres García, F., & P.G, F. (2005). *Investigación de las variables limitantes en la recuperación de residuos de poliestireno procedentes del sector envase*. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Ingeniería Mecánica y de Materiales, Valencia. Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/1852/tesisUPV2291.pdf?seque>
- Pirtarighat, S., Ghannadnia, M., & Baghshahi, S. (4 de Diciembre de 2018). Green synthesis of silver nanoparticles using the plant extract of *Salvia spinosa* grown in vitro and their antibacterial activity assessment. *Journal of Nanostructure in Chemistry volume, 9*, 1-9. doi:<https://doi.org/10.1007/s40097-018-0291-4>
- Plackett, R., & Burman, J. (1946). *The Design of Optimun Multifactorial* (Vol. 33).
- Rajeshkumar, S. (2016). Green synthesis of different sized antimicrobial silver nanoparticles using different parts of plants – a review. *Int. J. ChemTech Res., 13*.

- Renuka, R., Devi, K., Sivakami, M., Thilagavathi, T., Uthrakumar, R., & Kaviyarasu, K. (24 de Marzo de 2020). Biosynthesis of silver nanoparticles using phyllanthus emblica fruit extract for antimicrobial application. *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, *24*, 101567. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101567>
- Roeges, N. (1994). *A Guide to the Complete Interpretation of Infrared Spectra of Infrared Spectra of Organic Structures*. (W. a. Sons, Ed.) Chichester, England.
- Ronquillo, E., Aguilar, M., Guzman, J., & San Martin, E. (2011). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata empleando extractos de plantas. *XXXII Encuentro Nacional y 1er Congreso Internacional AMIDIQ*.
- Saad, W., Othman, A., Abdel-Fattah, M., & Ahmad, M. (2021). Response surface methodology as an approach for optimization of α -amylase production by the new isolated thermotolerant *Bacillus licheniformis* WF67 strain in submerged fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *32*, 101944. doi:[10.1016/j.bcab.2021.101944](https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101944)
- Saha, N., Trivedi, P., & Gupta, D. (25 de July de 2016). Optimización basada en resonancia de plasmón superficial (SPR) de la biosíntesis de nanopartículas de plata a partir de extracto de rizoma de *Curculigo orchioides* Gaertn. y su potencial antioxidante. *Diario de la ciencia del racimo*, *27*, 1893–1912. doi:<https://doi.org/10.1007/s10876-016-1050-7>
- Sahayaraj, K., Balasubramanyam, G., & Chavali, M. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using dry leaf aqueous extract of *Pongamia glabra* Vent (Fab.), Characterization and phytofungicidal activity. *Environ. Nanotechnol. Monit. Manage.*, *14*, 100349. doi:[10.1016/j.enmm.2020.100349](https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100349)
- Salayová, A., Bedlovicová, Z., Daneu, N., Baláž, M., Bujňáková, Z., Balážová, L., & Tkáčiková, L. (14 de Abril de 2021). Green synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activity using various medicinal plant extracts: morphology and antibacterial efficacy. *Nanomaterials*, *11*(4), 1-20. doi:<https://doi.org/10.3390/nano11041005>
- Sanchez Moreno, M. (2017). *Nanopartículas de Plata: Preparación, caracterización y propiedades con aplicación en inocuidad de los alimentos*. Universidad Nacional de Educación a Distancia (España). Facultad de Ciencias, Departamento de Química Inorgánica y Química Técnica. Universidad Nacional de Educación a Distancia (España). Facultad de Ciencias. Departamento de Química Inorgánica y Química Técnica. Obtenido de <http://e-spacio.uned.es/fez/view/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Msanchez>
- Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Kumar, T. S., & Jai Poinern, G. E. (29 de Octubre de 2015). Green Synthesis of Metallic Nanoparticles via Biological Entities. (M. Elbahri, Ed.) *Manufacturing Processes and Systems*, *8*(11), 7278-7308. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/ma8115377>
- Shankar, S., Ahmad, A., & Sastry, M. (5 de setiembre de 2008). Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. *Biotechnol. Progr.*, *19*(6), 1627-1631. doi:<https://doi.org/10.1021/bp034070w>

- Shen, Y., Friend, C. S., Jiang, Y., Jakubczyk, D., Swiatkiewicz, J., & Prasad, P. N. (15 de July de 2000). Nanophotonics: Interactions, Materials, and Applications. *J. Phys. Chem. B*, *104*(32), 7577–7587. doi:<https://doi.org/10.1021/jp0016131>
- Shmidt, S., & Launsby, R. (2000). *Understanding Industrial Designed Experiments* (4ta ed.). Air Academy Press & Associates.
- Singh Mehata , M. (13 de July de 2015). Enhancement of Charge Transfer and Quenching of Photoluminescence of Capped CdS Quantum Dots. *Scientific Reports*, *5*(12056). doi:<https://doi.org/10.1038/srep12056>
- Singh Mehata , M. (13 de July de 2015). Mehata, M. Enhancement of Charge Transfer and Quenching of Photoluminescence of Capped CdS Quantum Dots. *Scientific Reports*, *5*(12056). doi:<https://doi.org/10.1038/srep12056>
- Singh Mehata, M., Majumder, M., Mallik, B., & Ohta, N. (30 de Agosto de 2010). External Electric Field Effects on Optical Property and Excitation Dynamics of Capped CdS Quantum Dots Embedded in a Polymer Film. *J. Phys. química C*, *5594–15601*. doi:<https://doi.org/10.1021/jp104124z>
- Skoog , D., Leavy , J., & Holler , F. (1998). *Principios del analisis instrumental* (5th edicion ed.). Editorial.
- Thomas, B., Vithiya, B., Prasad, T., Mohamed, S., Maria, C., Kaviyarasu, K., & Maaza, M. (01 de Mayo de 2019). Antioxidant and photocatalytic activity of aqueous leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles using *Passiflora edulis f. flavicarpa*. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, *19*(5), 2640-2648. doi:10.1166/jnn.2019.16025
- Traiwatcharanon, P., Timsorn, K., & Wongchoosuk, C. (2015). Effect of pH on the green synthesis of silver nanoparticles through reduction with *Pistia stratiotes* L. extract. *AMR*, *1131*, 223-226. doi:10.4028/www.scientific.net/AMR.1131.223
- Trujillo Herrera, W. (2013). *Preparación y caracterización de nanopartículas de magnetita funcionalizados con ácido láurico, oleico y etilendiamino tetraacético para aplicaciones biomédicas y remediación ambiental*. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, E. A. P. FÍSICA , Lima. Obtenido de <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/3390>
- Ubero Pascal, N. (2009). Guía Docente: Técnicas de Microscopía Aplicada a las Ciencias Forences. Obtenido de https://www.um.es/innova/OCW/Microscop%C3%ADa-aplicada-a-las-ciencias-forences/microscopia/material_clase/Sesion_Teorico-01.pdf
- Vanlalveni, C., Lallianrawna, S., Biswas, A., Selvaraj, M., Changmai, B., & Rokhum, S. (13 de Enero de 2021). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: a review of recent literature. *RSC Adv.*, *11*, 2804-2837. doi:10.1039/D0RA09941D
- Walelign Wubet, M., & Legesse Terefe , B. (18 de Noviembre de 2021). Green synthesis of silver nanoparticles using *Hagenia abyssinica* (Bruce) J.F. Gmel plant leaf extract and their antibacterial and anti-oxidant activities. *Heliyon*, *7*(11). doi:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08459>

Zhou, J., Yu, X., Ding, C., Wang, Z., Zhou, Q., Pao, H., & Cai, W. (January de 2011). Optimización de la degradación de fenol por *Candida tropicalis* Z-04 utilizando el diseño de Plackett-Burman y la metodología de superficie de respuesta. *J. Medio Ambiente. ciencia*, 23(1), 22–30. doi:[https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(10\)60369-5](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(10)60369-5)

ANEXO I
DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO DE
OPTIMIZACIÓN APLICANDO LA METODOLOGÍA
SUPERFICIE RESPUESTA - MSR

Diagrama 3.2. Flujoograma de la MSR

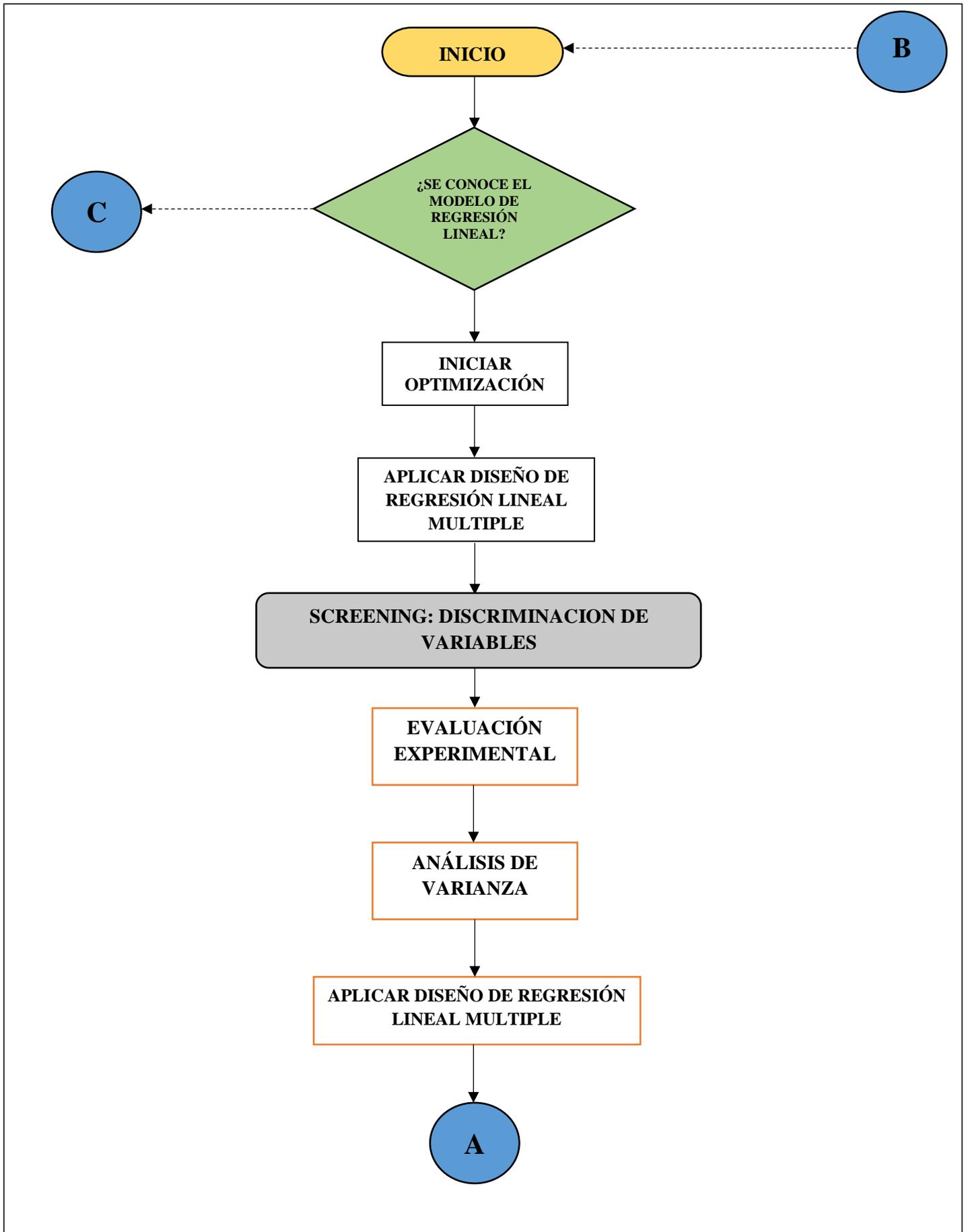
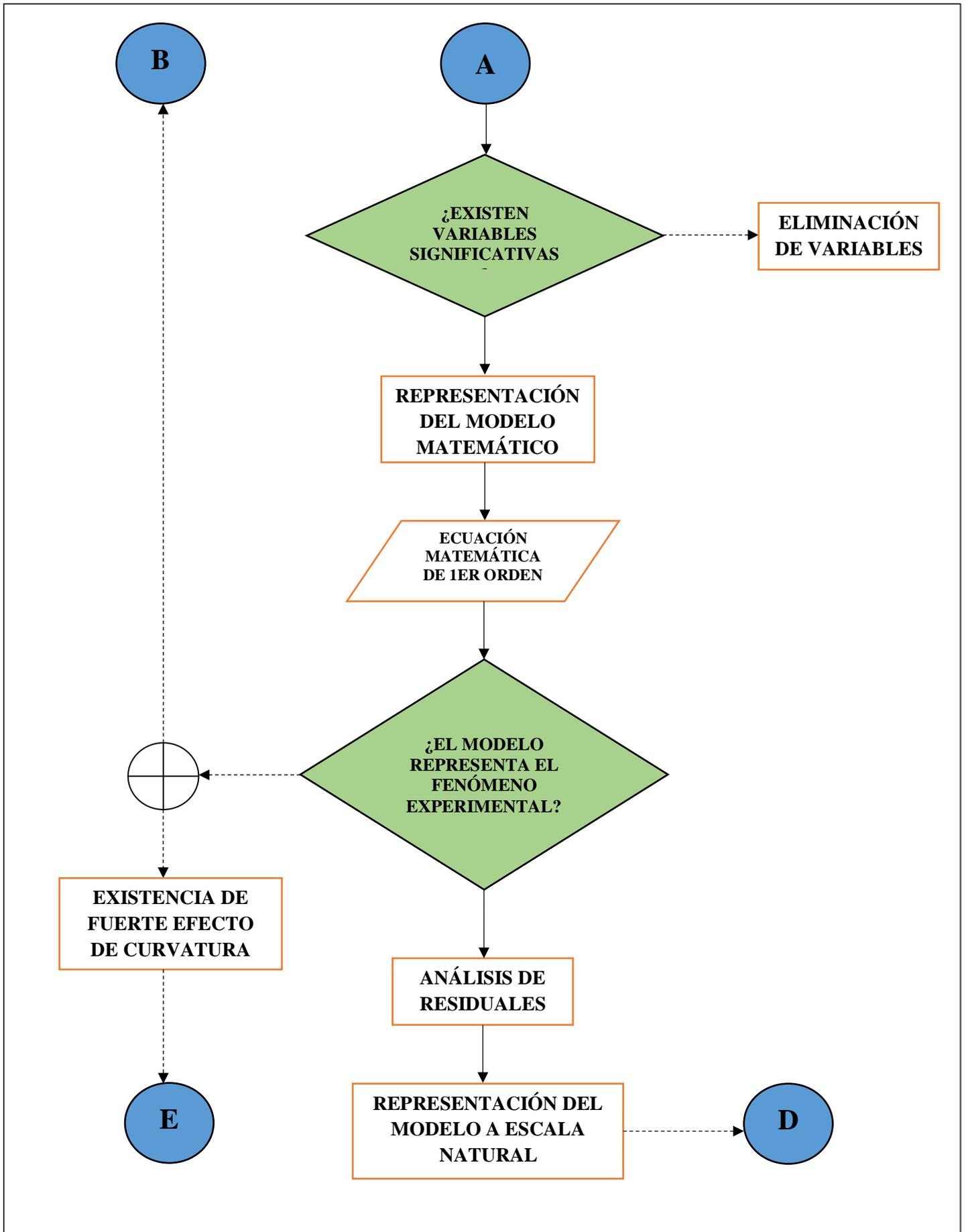
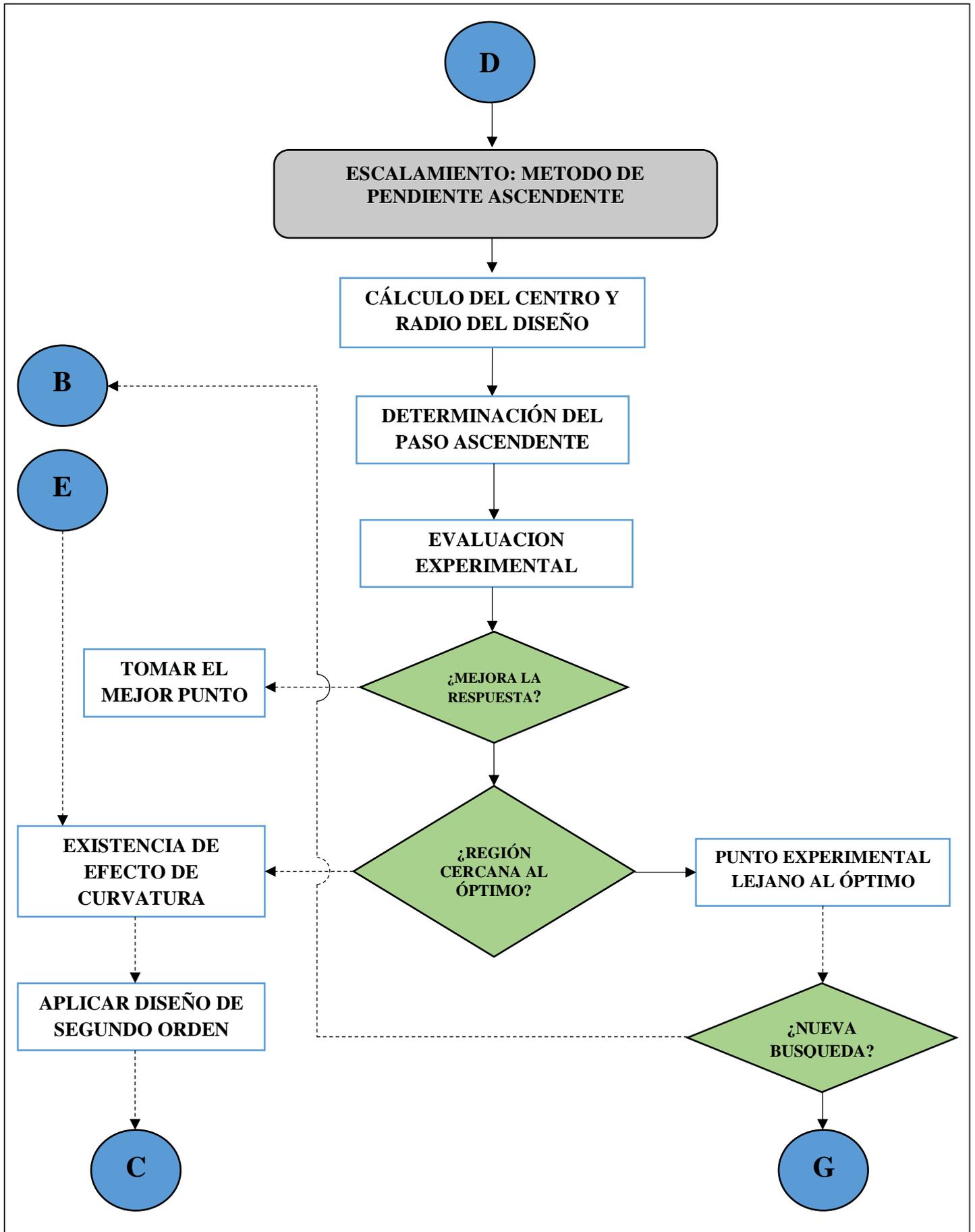


Diagrama 3.3. Flujograma de la MSR. (conti.....1)



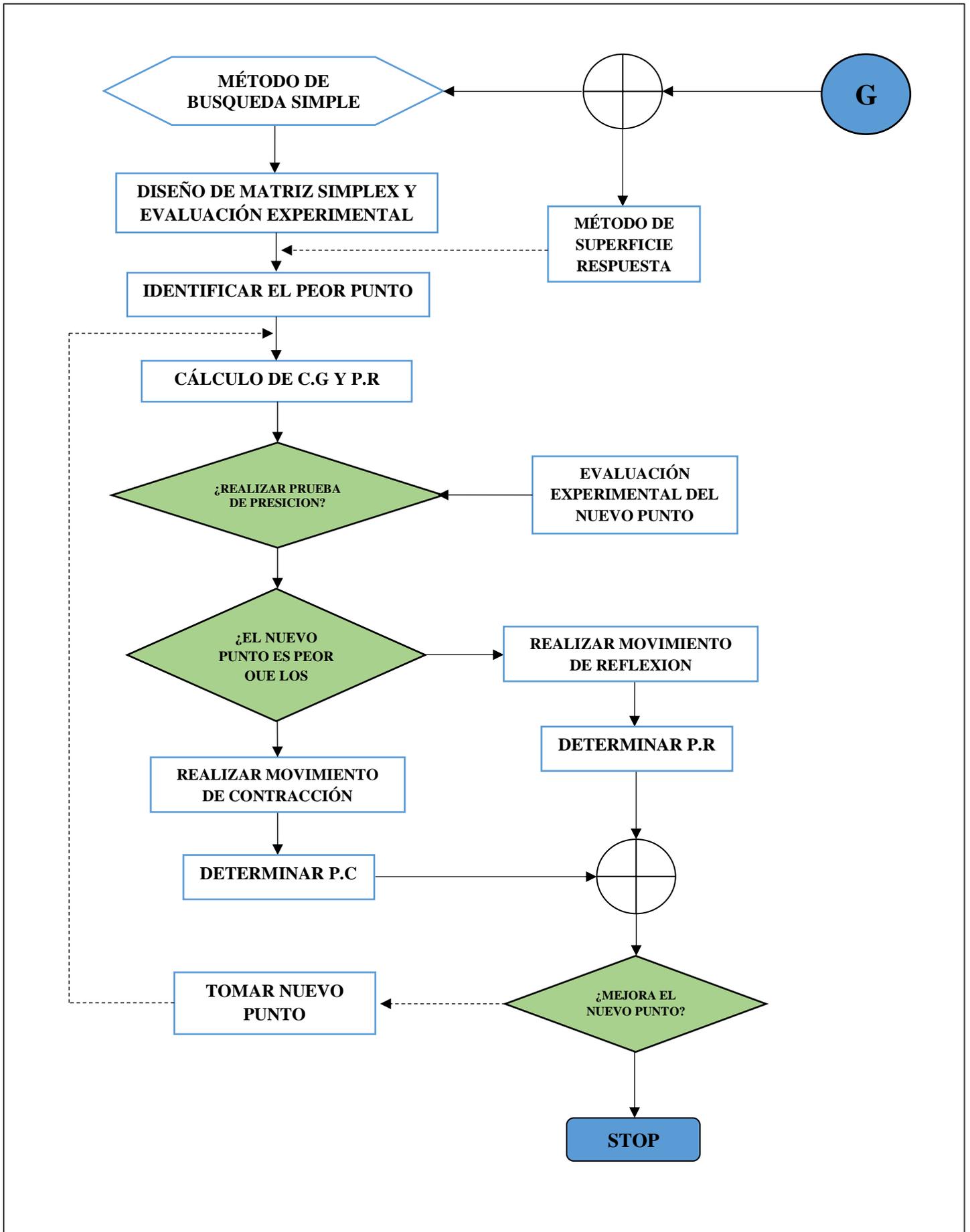
Elaboración Propia.

Diagrama 3.4. Flujoograma de la MSR. (conti.....2)



Elaboración Propia.

Diagrama 3.5. Flujograma de la MSR. (conti.....3)



Elaboración Propia.

Diagrama 3.6. Flujograma de la MSR. (conti.....4)

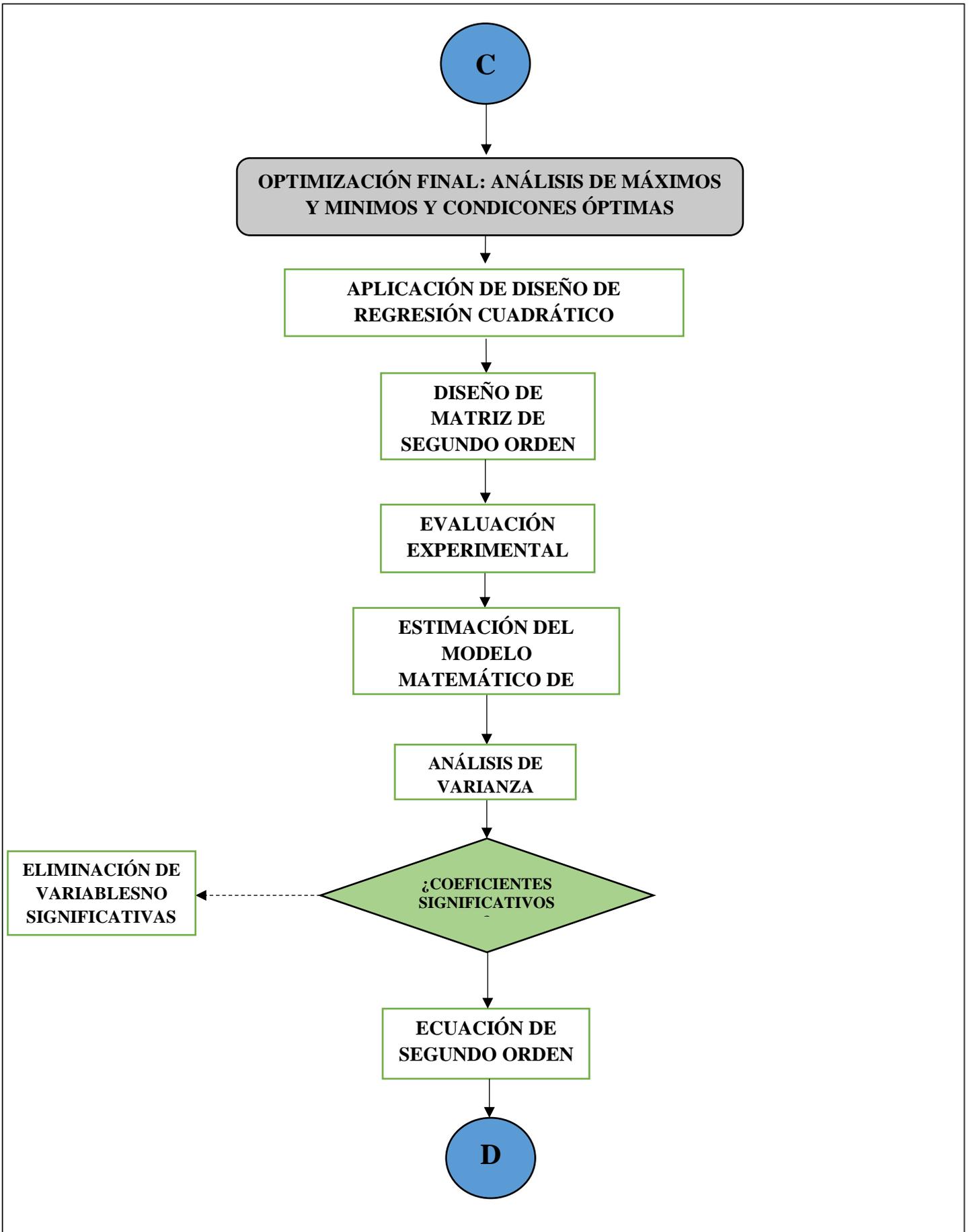


Diagrama 3.7. Flujograma de la MSR. (conti.....5)

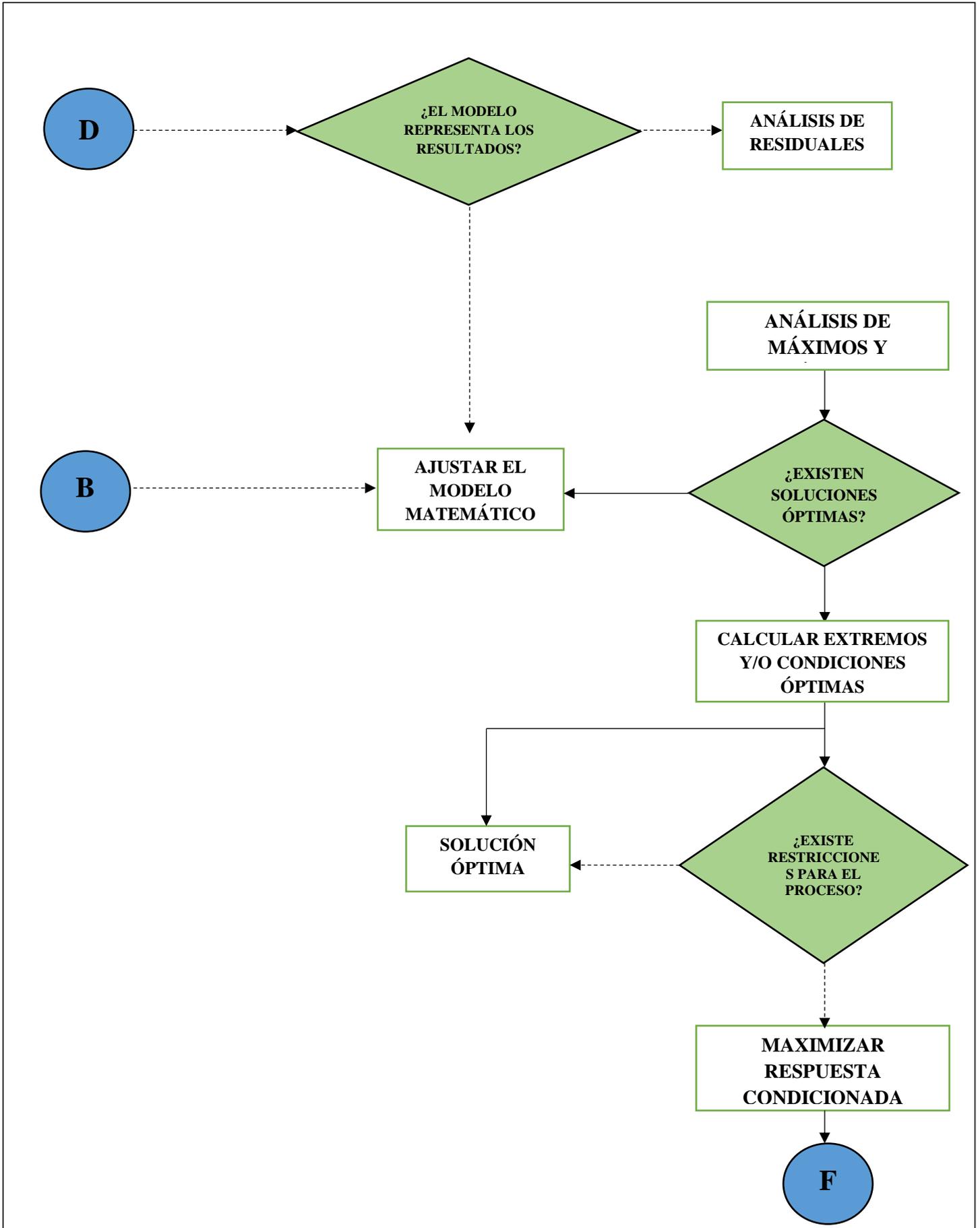
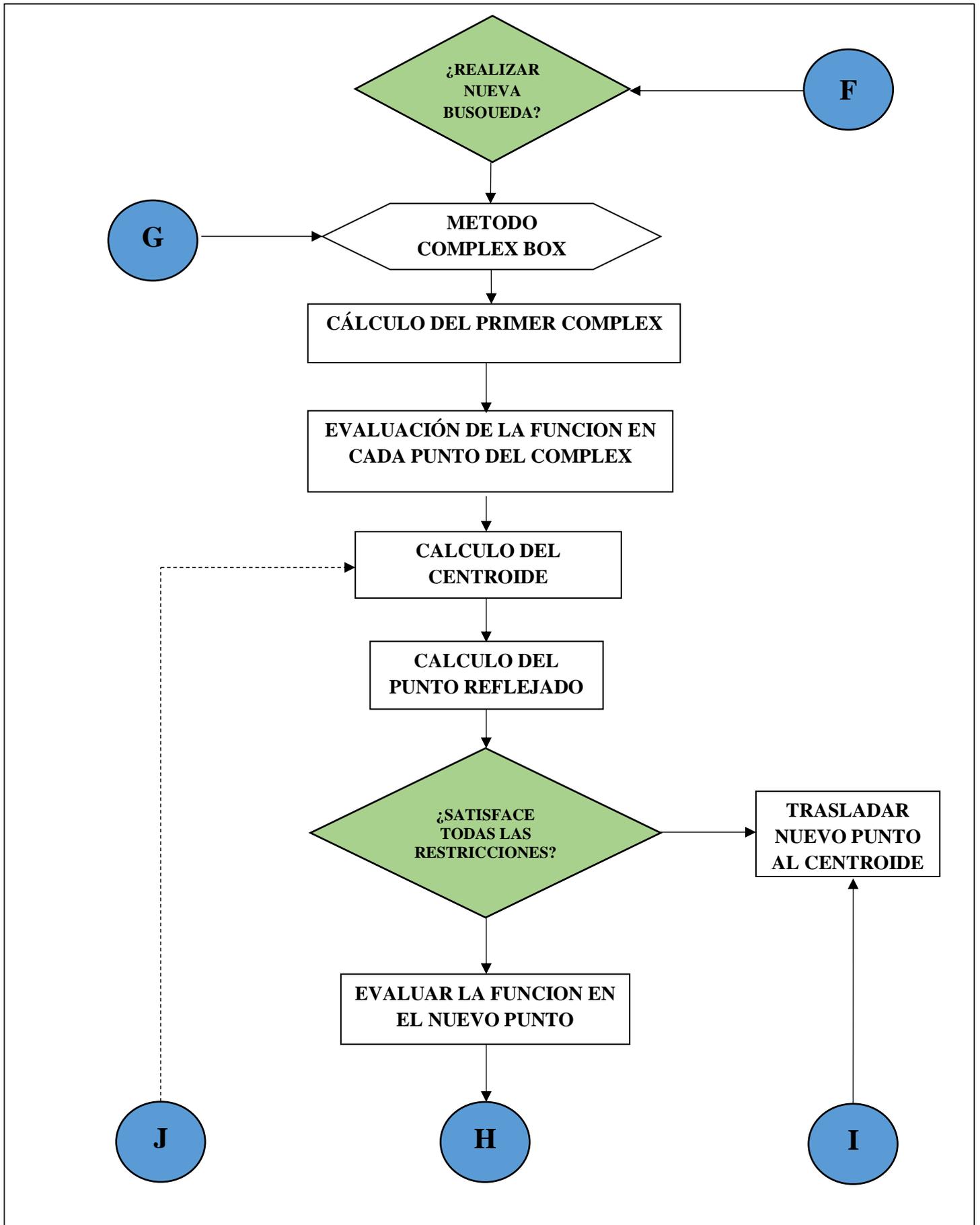


Diagrama 3.8. Flujograma de la MSR. (conti.....6)



ANEXO II
LISTADO DE EQUIPOS DE INSTRUMENTACIÓN
CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL
LABORATORIO DE PREPARACIÓN,
IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE
NANOMATERIALES LAPCINANO - UNSA

EQUIPOS DE INSTRUMENTACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL
LABORATORIO DE PREPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN
DE NANOMATERIALES LAPCINANO - UNSA

**Diagrama 3.10. Descripción y Características Técnicas del
ESPECTROFOTÓMETRO UV-VISIBLE**

EQUIPO: ESPECTROFOTÓMETRO UV-VISIBLE	
DESCRIPCION DEL EQUIPO	<p>Modelo: EVOLUTION 220</p> <p>Marca: THERMO SCIENTIFIC</p> <p>Procedencia: Estados Unidos</p> 
CARACTERISTICAS TÉCNICAS	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PARAMETROS: Fotometría: Rango: > 3.5 A Rango de visualización: - 0,3 a 4,0 A Exactitud - Instrumento: (medido a 440 nm con filtros de densidad neutra trazable a NIST/NPL). 0,5 A: ± 0,004A; 1 A: ± 0,006A y 2A: ± 0,010 A Exactitud – con soluciones selladas (EP/BP/TGA) ± 0.010 A (60mg/L K₂Cr₂O₇ Ruido: (260 nm, 1,0 nm SBW,RMS) 0A: ± 0,00015 A 1A: ± 0,00050 A/2A: ± 0,00080 A Desviación: < 0.0005 A/hora (500 nm, 1.0 nm SBW, 1 hora de calentamiento) Luz parásita: KCl, 198 nm: ≤ 1% T NaI , 220 nm: ≤ 0.05 % T NaNO₂, 340 nm: < 0.05 % T EQUIPO NOMBRE MARCA CARACTERÍSTICAS ✓ PARÁMETROS: software INSIGHT Microsoft Windows XP integrado. ✓ REQUERIMIENTO DE ENERGÍA ✓ GARANTÍA Y SOPORTE TÉCNICO 1 año

Fuente: Laboratorio de Preparación, Caracterización e Identificación de Nanomateriales – LAPCINANO.

ELABORACION PROPIA.

EQUIPOS DE INSTRUMENTACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL
LABORATORIO DE PREPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN
DE NANOMATERIALES LAPCINANO - UNSA

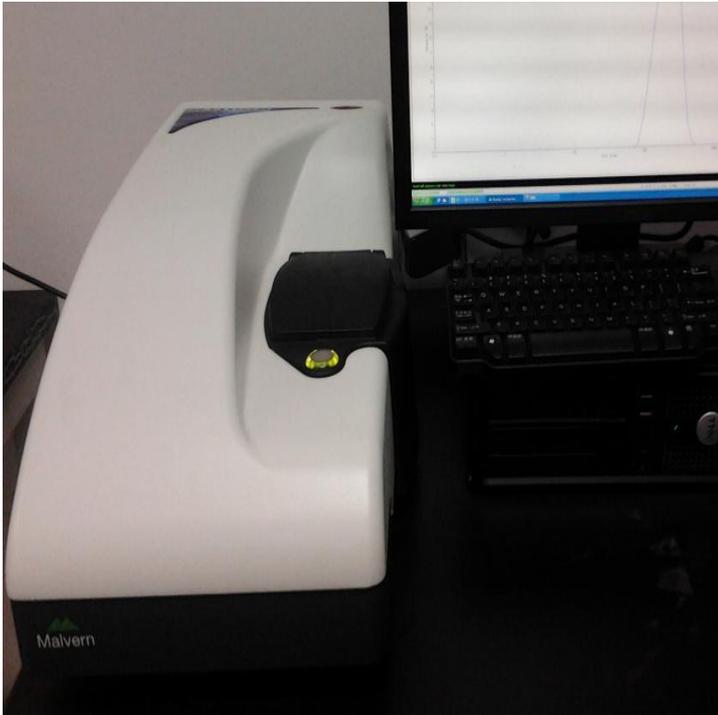
**Diagrama 3.11. Descripción y Características Técnicas del
ESPECTROFOTÓMETRO FT-IR**

TIPO: ESPECTROFOTÓMETRO INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER -FTIR	
<p>DESCRIPCION DEL EQUIPO</p>	<p>Modelo: NICOLET iS50</p> <p>Marca: THERMO SCIENTIFI C</p> <p>Procedencia: a: Estados Unidos</p> 
<p>CARACTERISTICAS TECNICAS</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PARÁMETROS Rango espectral: 7800 a 350 cm⁻¹. Rueda de Atenuación motorizada. Rueda con filtros certificados de poliestireno NIST 1.5 ML y de vidrio Schott NG11 NPL, con certificado traceables Método automatizado ASTM E-1421 para FT-IR, incluyendo reportes para propósitos referenciales Software SPV para espectrofotómetro, accesorios de muestreo, verificación de performance del método y pruebas de adecuación de sistemas Kit de lenguaje español para Nicolet iS50 -Cable de alimentación para 220 V Cartuchos desecantes y sensores Software estándar OMNIC Ver. 9.2 ✓ SOFTWARE: Omnic ✓ ATR: Diamante y Germanio (Ge) ✓ REQUERIMIENTO DE ENERGÍA 220V/60Hz ✓ GARANTÍA Y SOPORTE TÉCNICO Interferómetro y Fuente IR: 5 años Espectrómetro: 12 meses

Fuente: Laboratorio de Preparación, Caracterización e Identificación de Nanomateriales – LAPCINANO.
ELABORACION PROPIA.

EQUIPOS DE INSTRUMENTACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL
LABORATORIO DE PREPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN
DE NANOMATERIALES LAPCINANO - UNSA

Diagrama 3.12. Descripción y Características Técnicas del DYNAMIC LIGHT SCATERING - DLS

EQUIPO: DYNAMIC LIGHT SCATERING - DLS		
DESCRIPCION DEL EQUIPO	Modelo: ZETASIZER NANO - ZSP Marca: MALVERN Procedencia:	
CARACTERISTICAS TECNICAS	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PARÁMETROS Rango espectral: 7800 a 350 cm⁻¹. Rueda de Atenuación motorizada. Rueda con filtros certificados de poliestireno NIST 1.5 ML y de vidrio Schott NG11 NPL, con certificado traceables Método automatizado ASTM E-1421 para FT-IR, incluyendo reportes para propósitos referenciales Software SPV para espectrofotómetro, accesorios de muestreo, verificación de performance del método y pruebas de adecuación de sistemas Kit de lenguaje español para Nicolet IS50 -Cable de alimentación para 220 V Cartuchos desecantes y sensores Software estándar OMNIC Ver. 9.2 ✓ REQUERIMIENTO DE ENERGÍA 220V/60Hz ✓ GARANTÍA Y SOPORTE TÉCNICO Interferómetro y Fuente IR: 5 años Espectrómetro: 12 meses 	

Fuente: Laboratorio de Preparación, Caracterización e Identificación de Nanomateriales – LAPCINANO.
ELABORACION PROPIA.

EQUIPOS DE INSTRUMENTACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL
LABORATORIO DE PREPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN
DE NANOMATERIALES LAPCINANO - UNSA

**Diagrama 3.13. Descripción y Características Técnicas de la BALANZA
ANALÍTICA DIGITAL**

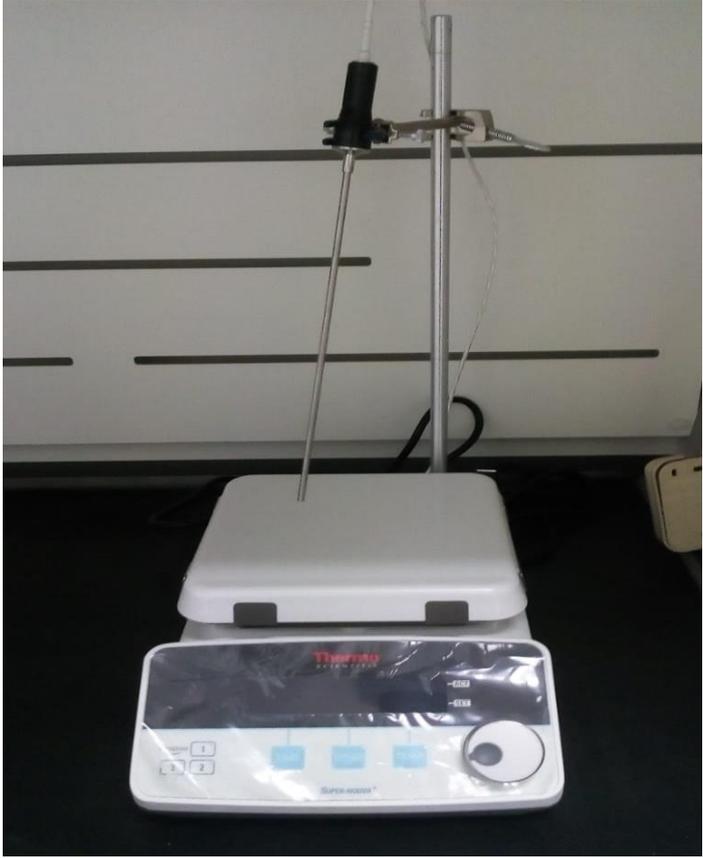
EQUIPO: BALANZA ANALÍTICA DIGITAL		
DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO	<p>Modelo: ML204-T</p> <p>Marca: METTLER TOLEDO</p> <p>Procedencia: Suiza</p>	
CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PARÁMETROS Capacidad 220 g. Legibilidad 0.1 mg. Repetibilidad (con carga nominal) 0.1 mg. Desviación de la linealidad (carga de prueba) 0,2 mg (50 g). Sensibilidad de la deriva térmica (10...30 °C) 2 ppm/°C. ✓ FUENTE DE ALIMENTACIÓN ESTÁNDAR: Funcionamiento con CA: Adaptador de corriente alterna (AC) principal: 100–240 V, ±10 %, 50/60 Hz, 0,3 A Secundario: 12 V CC, 0,84 A (con protección electrónica de sobrecarga) Fuente de alimentación de la balanza: 12 V CC, 0,84 A. Utilícese únicamente con un adaptador de corriente alterna (AC) certificado con salida de tensión extra baja de seguridad (TEBS/SELV). Atención a la polaridad Puede utilizarse a una altura de hasta 2000 m sobre el nivel del mar. Aviso Si la balanza se utiliza a una altura superior a los 2000 m sobre el nivel del mar debe emplearse la fuente de alimentación opcional. ✓ CONDICIONES AMBIENTALES Altura sobre el nivel del mar: En función del adaptador de corriente (2000 - 4000 m) Excepto para China: máx. 2000 m. Intervalo de temperatura ambiente: De –10 °C a 30 °C. Humedad relativa en el aire: Del 10 al 80 % hasta 31 °C, reduciéndose gradualmente hasta el 50 % a 40 °C, sin condensación. Tiempo de calentamiento Tras conectar la balanza a la fuente de 	

	<p>alimentación o activarla en funcionamiento con baterías, un mínimo de 30 minutos para las balanzas con una legibilidad de 1 mg a 5 g. 60 minutos en el caso de las balanzas con una legibilidad de 0,1 mg y mejor.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ MATERIALES Carcasa: Carcasa del componente superior: plástico (ABS), Carcasa del componente inferior: aluminio fundido, lacado. Plato de pesaje: acero inoxidable X2CrNiMo 17-12-2 (1.4404). Elemento de corta-aíres: Con modelos de 0,1 mg: acero inoxidable X2CrNiMo 17-12-2 (1.4404). Corta-aíres: Plástico (ABS), vidrio. Cubierta protectora: Plástico (ABS). Superficie de la pantalla táctil TFT Vidrio. ✓ GARANTÍA Y SOPORTE TÉCNICO: 12 meses
--	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Fuente: Laboratorio de Preparación, Caracterización e Identificación de Nanomateriales – LAPCINANO.
ELABORACION PROPIA.

EQUIPOS DE INSTRUMENTACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL
LABORATORIO DE PREPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN
DE NANOMATERIALES LAPCINANO - UNSA

**Diagrama 3.14. Descripción y Características Técnicas del AGITADOR
MAGNÉTICO**

EQUIPO: AGITADOR MAGNÉTICO		
DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO	<p>Modelo: SuperNuov a+</p> <p>Marca: THERMO SCIENTIFI C</p> <p>Procedencia: EE.UU.</p>	
CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PARÁMETROS Longitud (inglés) 16,2 pulg. Tamaño 10,25 x 10,25 pulgadas. Altura (métrica) 10,2 cm. Temperatura (métrica) Ambiente a 400°C. Altura (inglés) 4 pulg. Frecuencia 50/60Hz. Ancho (métrico) 28,7 cm. Longitud (métrica) 41,1 cm. Ancho (inglés) 11,3 pulg. Peso (inglés) 17.6 lbs. Peso (métrico) 8 kg. Tipo Agitador de placa caliente, Agitador Forma Cuadrado. Rango de agitación 50 a 1500 rpm. Dimensiones 10,25 pulg. x 10,25 pulg. Certificaciones/Cumplimiento Certificado de Análisis (COA), Certificado de Conformidad (COC). Pantalla LED Tamaño de la unidad cada uno. Accesorios: Sonda remota de temperatura PT1000 de acero inoxidable, barra de soporte y kit de sujeción. ✓ FUENTE DE ALIMENTACIÓN ESTÁNDAR. Requisitos eléctricos Voltaje 100/120 V 50/60 Hz. Tipo de enchufe EE. UU. ✓ MATERIALES Material de la placa superior Cerámica. Incluye sonda de temperatura PT100, varilla y abrazaderas. Peso de envío (inglés) 16.5 lbs. Peso de envío (métrico) 7,5 kg. ✓ GARANTÍA Y SOPORTE TÉCNICO: Garantía 3 Años 	

ELABORACION PROPIA.

Fuente: Laboratorio de Preparación, Caracterización e Identificación de Nanomateriales – LAPCINANO.

EQUIPOS DE INSTRUMENTACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL
LABORATORIO DE PREPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN
DE NANOMATERIALES LAPCINANO - UNSA

**Diagrama 3.15. Descripción y Características Técnicas del MEDIDOR
MULTIPARÁMETRO DE MESA pH/ISE/CONDUCTIVIDAD/OXÍGENO
DISUELTO**

EQUIPO: MULTIPARÁMETRO	
DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO	<p>Modelo: Versa STAR PRO “Orion”</p> <p>Marca: THERMO SCIENTIFI C</p> <p>Procedencia: EE.UU.</p>
	
CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PARÁMETROS DEL MODULO DE PH. Rango -2.000 a 20.000. Resolución 0.1, 0.01, 0.001. Exactitud relativa ± 0.002. Puntos de calibración Hasta 6. Edición de calibración: Si. Puntos ISO ajustables: Si. ✓ FUENTE DE ALIMENTACIÓN ESTÁNDAR. Adaptador de CA Universal de 50 a 60 Hz. Adaptador de potencia de 100 a 240 VCA (nº. de N° STARA-PWR ✓ MATERIALES Material de la placa superior Cerámica. Incluye sonda de temperatura PT100, varilla y abrazaderas. Peso de envío (inglés) 16.5 lbs. Peso de envío (métrico) 7,5 kg. ✓ GARANTÍA Y SOPORTE TÉCNICO: Garantía 3 Años

Fuente: Laboratorio de Preparación, Caracterización e Identificación de Nanomateriales – LAPCINANO.
ELABORACION PROPIA.

EQUIPOS DE INSTRUMENTACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL
LABORATORIO DE PREPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN
DE NANOMATERIALES LAPCINANO - UNSA

**Diagrama 3.16. Descripción y Características Técnicas de la CAMPANA
EXTRACTORA DE GASES**

EQUIPO: CAMPANA DE EXTRACCIÓN DE GASES		
DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO	Modelo: Versa FRONTIE R – DUO; EFD – 4B8 Marca: ESCO Ubicación:	
CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PARÁMETROS. Ancho: 1200 mm. Profundidad: 793 mm. Altura: 1500 mm (conexión al ducto). Peso: 157 kg. ✓ CONDICIONES ELÉCTRICAS. Tensión nominal: 220V +/- 10%, monofásico con línea a tierra. Frecuencia 60 Hz. Corriente: 6 A. Tomacorriente: tipo americano con punto a tierra. Potencia: 3 KW. ✓ MATERIALES ADICIONALES: 01 cable power. 04 tomacorrientes instalados. 01 Llave de agua y gas instaladas. 01 copa de drenaje con guarda. Blower con motor de 2 HP. Variador de frecuencia (velocidad) 2HP. Gabinete campana de 4 pies. ✓ GARANTÍA Y SOPORTE TÉCNICO: Garantía 2 Años ✓ CONDICIONES DEL LUGAR DE TRABAJO: Temperatura Ambiente: 18 a 30 °C. Humedad Relativa: 20 – 90 % (no condensado) 	

Fuente: Laboratorio de Preparación, Caracterización e Identificación de Nanomateriales – LAPCINANO.
ELABORACION PROPIA.

EQUIPOS DE INSTRUMENTACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL
LABORATORIO DE PREPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN
DE NANOMATERIALES LAPCINANO - UNSA

**Diagrama 3.17. Descripción y Características Técnicas del BAÑO
ULTRASONIDO - SONICADOR**

EQUIPO: BAÑO ULTRASONIDO - SONICADOR	
DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO	<p>Modelo: CPX5800H -E Marca: BRANSON</p> <p>Potencia:</p> 
CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PARÁMETROS: Ancho: Todos los modelos tienen una frecuencia de 40 kHz. En los modelos CPXH, la precisión de la lectura de temperatura es de $\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 5,4\text{ }^{\circ}\text{F}$). La temperatura de funcionamiento es de $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($41\text{ }^{\circ}\text{F}$ a $104\text{ }^{\circ}\text{F}$). Capacidad de tanque 2-1/2 gal. (9.51 l). Dimensiones L: 15.6, W: 15.8, H: 14.9. Peso: 16 lb (7.3 Kg). Fuerza de Sonicación Máxima: 160. ✓ CONDICIONES ELÉCTRICAS. Modelos disponibles para $120\text{ V} \pm 10\%$, 50/60 Hz y $220\text{ V} \pm 10\%$, operación de 50/60 Hz. Todas las unidades de 120 V tienen aprobación CSA/UL o equivalente y cumplen con las regulaciones de la FCC. Todas las unidades de 220-230 V cumplen con los estándares CE. Todas las unidades tienen una corriente de fuga a tierra inferior a 0,50 ma. ✓ GARANTÍA Y SOPORTE TÉCNICO: Garantía 2 Años ✓ CONDICIONES DEL LUGAR DE TRABAJO: Temperatura Ambiente: 18 a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Humedad Relativa: 20 – 90 % (no condensado)

Fuente: Laboratorio de Preparación, Caracterización e Identificación de Nanomateriales – LAPCINANO.
ELABORACION PROPIA.

EQUIPOS DE INSTRUMENTACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL
LABORATORIO DE PREPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN
DE NANOMATERIALES LAPCINANO - UNSA

**Diagrama 3.18. Descripción y Características Técnicas del AGITADOR
VORTEX - LP**

EQUIPO: AGITADOR VORTEX		
DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO	<p>Modelo: 88880017</p> <p>Marca: Thermo Scientific</p> <p>Capacidad:</p>	
CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PARÁMETROS TÉCNICOS: Movimiento orbital Rango de velocidad (rpm) 0 ~ 3000. Ajuste/visualización de velocidad Analógico. Tipo de control de velocidad Perilla de ajuste. Órbita (mm/pulgadas, diám.) 4 / 0,16. Modo de funcionamiento Táctil, continuo, alto continuo Entrada nominal del motor (w) 12. Potencia nominal del motor (w) 6. Tipo de motor Motor BLDC (corriente continua sin escobillas). Sistema de accionamiento Accionamiento excéntrico y brazo de soporte con movimiento vibratorio. Dimensión exterior sin accesorio (An. x Pr. x Al., mm/pulgadas) 154 x 210 x 83 / 6,1 x 8,3 x 3,3. ✓ CONDICIONES ELÉCTRICAS. DC 24V & 2.5A Adaptador de corriente con voltaje y frecuencia libres (CA 100 ~ 240 V, 50/60 Hz). ✓ MATERIALES ADICIONALES: Cuerpo Polipropileno. Plataforma de caucho Caucho de silicona. Bandeja para tubos y microplacas Polipropileno. Tubo de ensayo con Inserto Retenedor Polietileno. ✓ GARANTÍA Y SOPORTE TÉCNICO: Garantía 2 Años. ✓ CONDICIONES DEL LUGAR DE TRABAJO: Temperatura relativa admisible (°C) +5 ~ 40. máx. carga soportada incluido accesorio (kg/lb) 0,5 / 1,1. Nuevo peso (kg / lbs) 3,1 / 6,8. Humedad relativa admisible (%) 80. 	

Fuente: Laboratorio de Preparación, Caracterización e Identificación de Nanomateriales – LAPCINANO.

EQUIPOS DE INSTRUMENTACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL
LABORATORIO DE PREPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN
DE NANOMATERIALES LAPCINANO - UNSA

**Diagrama 3.19. Descripción y Características Técnicas de la CENTRIFUGA
MEDIFUGE**

EQUIPO: CENTRÍFUGA MEDIFUGE	
DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO	<p>Modelo: 75008800</p> <p>Marca: Thermo Scientific</p> <p>Función:</p>
	
CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PARÁMETROS TÉCNICOS: Disipación de calor 0,123 kWh; 419,7 Btu/h; 442,8 kJ/h. Categoría de sobretensión II. Grado de polución 2. IP 20. Tiempo de marcha 99 min; hold. Revoluciones máximas nmáx. 4 900 r.p.m. Revoluciones mínimas nmín 300 r.p.m. Valor RCF máximo en nmáximo; Configuración en ángulo fijo 3 114 x g. Configuración basculada hacia fuera 3 490 x g. Volumen en el máximo de revoluciones1 < 56 dB (A). Máxima energía cinética 680 J. Dimensiones: Altura (puerta abierta / cerrada) 510 mm / 240 mm, Ancho 325 mm, profundidad 450 mm. Peso2 15,5 kg. Carga máxima permitida 8 x 30 g. Desequilibrio máximo admisible 10 g. Revoluciones máximas nmáx. 4 900 r.p.m. Valor RCF máximo en nmáx Configuración en ángulo fijo 3 114 x g, Configuración basculada hacia fuera 3 490 x g. Número máx. de ciclos 60 000. ✓ RADIO MÁX./MÍN: Configuración en ángulo fijo 116 mm / 37 mm. Configuración basculada hacia fuera 130 mm / 42 mm.

	<ul style="list-style-type: none"> ✓ ÁNGULO DE INCLINACIÓN: Configuración en ángulo fijo 45°. Configuración basculada hacia fuera 12-87°. ✓ TIEMPO DE ACELERACIÓN / FRENADO: Configuración en ángulo fijo 24 s / 37 s. Configuración basculada hacia fuera 24 s / 31 s. ✓ ESTERILIZABLE EN AUTOCLAVE: No ✓ GARANTÍA Y SOPORTE TÉCNICO: Garantía 2 Años ✓ CONDICIONES AMBIENTALES Y DE TRABAJO: Utilización en espacios cubiertos Altitudes de hasta 3 000 m sobre el nivel del mar Máx. humedad relativa del 80 % a 31 °C reducción lineal hasta el 50 % de humedad relativa en 40 °C. Temperatura ambiente admisible en funcionamiento de +2 °C hasta +40 °C. ✓ CONDICIONES ELÉCTRICAS: Tensión de red 220-230 V ±10%. Frecuencia 50 / 60 Hz. Corriente asignada 1,7 A. Consumo de energía 130 W. Fusible del equipo 2 AT. Fusible del edificio 16 AT.
--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Fuente: Laboratorio de Preparación, Caracterización e Identificación de Nanomateriales – LAPCINANO.

ELABORACIÓN PROPIA.

EQUIPOS DE INSTRUMENTACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL
LABORATORIO DE PREPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN
DE NANOMATERIALES LAPCINANO - UNSA

**Diagrama 3.20. Descripción y Características Técnicas del SISTEMA DE
PURIFICACIÓN DE AGUA**

EQUIPO: SISTEMA DE PURIFICACIÓN DE AGUA	
DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO	<p>Modelo: Smart 2 Pure Marca: Thermo Scientific BARNSTEAD</p> <p>encia:</p> 
CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PARÁMETROS TÉCNICOS: Modelo Smart2Pure 3 UV/UF. Presión de funcionamiento 1 a 6 bar. Partículas >0,2 µM/mL <1. Rendimiento del permeado 3 L/hr. a 10°C. Consumo de energía 0,06 Kw. Tasa de flujo de RO 3 L/hr. Ancho (métrico) 305 mm. Altura (métrica) 545 mm. Profundidad (métrica) 400 mm. Peso neto (métrico) 22 kg. Requisitos eléctricos 100/240 V 50/60 Hz. Tensión 100/240 V. Frecuencia 50/60Hz. Tamaño de la unidad cada uno. Conector de agua de alimentación 3/4 pulg. NPT. Supervisión del agua de alimentación No. Grifo de fuente de agua de alimentación. Caudal 0,6 L/min. Resistividad Tipo 1: 18,2 Mohm.cm a 25°C; Tipo 2: 10 a 15 Mohm.cm a 25°C. Monitor TOC con monitoreo de intensidad UV No. Carbono orgánico total 1 a 5 ppb. Tipo Sistema de purificación de agua. Presión del agua de alimentación 1 a 6 bar. ✓ CONDUCTIVIDAD: Tipo 1: 0,055 µS/cm, Tipo 2: 0,067 a 0,1 µS/cm ✓ PARÁMETROS BIOLÓGICOS: Contenido bacteriano <0.01 UFC/ML. Concentración de endotoxina 0,005 UE/mL

	<ul style="list-style-type: none">✓ Producto Agua Tipo Tipo 1 y 2✓ MATERIALES ADICIONALES: Tipo Sistema de purificación de agua: Presión del agua de alimentación 1 a 6 bar. Incluye tanque interno de 6 L con filtro de ventilación cartucho de pretratamiento/OI, cartucho de pulidor ultrapuro. Filtro estéril de 0,2 µm. Regulador de presión. Lámpara UV y filtro UF.✓ GARANTÍA Y SOPORTE TÉCNICO: Garantía 2 Años
--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Fuente: Laboratorio de Preparación, Caracterización e Identificación de Nanomateriales – LAPCINANO.

ELABORACION PROPIA.