



Universidad de San Carlos de Guatemala  
Facultad de Ingeniería  
Escuela de Ingeniería Química

**REMOCIÓN DE Cr(VI) EN SOLUCIÓN ACUOSA UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS DE  
HIERRO CEROVALENTE (nZVI) SINTETIZADAS A PARTIR DEL EXTRACTO DEL  
EPICARPIO DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.)**

**Brian Fernando López Campos**

Asesorado por el Dr. Edward Mario Augusto Guerrero Gutiérrez

Guatemala, agosto de 2022



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**REMOCIÓN DE Cr(VI) EN SOLUCIÓN ACUOSA UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS DE  
HIERRO CEROVALENTE (nZVI) SINTETIZADAS A PARTIR DEL EXTRACTO DEL  
EPICARPIO DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.)**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
POR

**BRIAN FERNANDO LÓPEZ CAMPOS**

ASESORADO POR EL Dr. EDWARD MARIO GUERRERO GUTIÉRREZ

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

**INGENIERO QUÍMICO**

GUATEMALA, AGOSTO DE 2022



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA



**NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA**

DECANA	Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada
VOCAL I	Ing. José Francisco Gómez Rivera
VOCAL II	Ing. Mario Renato Escobedo Martínez
VOCAL III	Ing. José Milton De León Bran
VOCAL IV	Br. Kevin Vladimir Armando Cruz Lorente
VOCAL V	Br. Fernando José Paz González
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

**TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO**

DECANA	Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada
EXAMINADOR	Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez
EXAMINADOR	Inga. Cinthya Patricia Ortiz Quiroa
EXAMINADOR	Dra. Casta Petrona Zeceña Zeceña
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez



## HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

**REMOCIÓN DE Cr (VI) EN SOLUCIÓN ACUOSA UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS DE  
HIERRO CEROVALENTE (nZVI) SINTETIZADAS A PARTIR DEL EXTRACTO DEL  
EPICARPIO DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.)**

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 27 de enero de 2021.



**Brian Fernando López Campos**





**USAC**  
**TRICENTENARIA**  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Guatemala, 11 de marzo de 2022

Ingeniero  
Williams Guillermo Álvarez Mejía  
Director de Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
Presente

Estimado ingeniero Álvarez.

Esperando que tenga éxitos en sus actividades laborales. Por este medio hago de su conocimiento que en mi calidad de asesor del trabajo de graduación del estudiante de Ingeniería Química Brian Fernando López Campos, quien se identifica con CUI 3057 41152 0301 y registro académico 2017 00373, he revisado y aprobado el informe final del trabajo de graduación titulado **“Remoción de Cr(VI) en solución acuosa utilizando nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) sintetizadas a partir del extracto del epicarpio de aguacate (Persea americana Mill.)”**. Por lo que considero que el presente trabajo cumple con los requisitos necesarios para ser presentado ante las autoridades respectivas de la Escuela de Ingeniería Química.

Sin otro en particular y agradeciendo su atención a la presente, me suscribo.

Edward Mario Augusto Guerrero Gutiérrez  
Ingeniero químico  
Colegiado 1440

Ing. Edward Mario Augusto Guerrero Gutiérrez, PhD  
Asesor  
Colegiado No. 1440  
Correo electrónico: edward.guerrero@upr.edu





Guatemala, 28 de abril de 2022.  
Ref. EIQ.TG-IF.010.2022.

Ingeniero  
Williams Guillermo Álvarez Mejía  
DIRECTOR  
Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el registro de evaluación, correlativo **057-2020**, le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

### INFORME FINAL

Solicitado por el estudiante universitario: **Brian Fernando López Campos**.  
Identificado con número de carné: **3057411520301**.  
Identificado con registro académico: **201700373**.  
Previo a optar al título de la carrera: **Ingeniería Química**.  
En la modalidad: **Informe Final, Seminario de Investigación**.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

### REMOCIÓN DE Cr(VI) EN SOLUCIÓN ACUOSA UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS DE HIERRO CEROVALENTE (nZVI) SINTETIZADAS A PARTIR DEL EXTRACTO DEL EPICARPIO DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.)

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por:

**Edward Mario Augusto Guerrero Gutiérrez, profesional de la Ingeniería Química**

Habiendo encontrado el referido trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

  
Marlene Susana Arrechea Alarado  
Ingeniera Química  
Cul. 1.593  
M.Sc. Nanotecnología

Marlene Susana Arrechea Alarado  
profesional de la Ingeniería Química  
COORDINADOR DE TERNA  
Tribunal de Revisión  
Trabajo de Graduación



C.c.: archivo

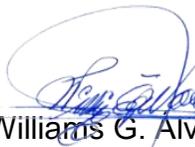




LNG.DIRECTOR.122.EIQ.2022

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor, el visto bueno del Coordinador de Área y aprobación del área de lingüística del trabajo de graduación titulado: **REMOCIÓN DE Cr(VI) EN SOLUCIÓN ACUOSA UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS DE HIERRO CEROVALENTE (nZVI) SINTETIZADAS A PARTIR DEL EXTRACTO DEL EPICARPIO DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.)**, presentado por: **Brian Fernando López Campos**, procedo con el Aval del mismo, ya que cumple con los requisitos normados por la Facultad de Ingeniería.

**“I d y Enseñad a Todos”**

  
Ing. Williams G. Alvarez Mejia M.I.Q., M.U.I.E.  
DIRECTOR  
Escuela de Ingeniería Química

Guatemala, julio de 2022.



LNG.DECANATO.OI.434.2022

La Decana de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **REMOCIÓN DE Cr(VI) EN SOLUCIÓN ACUOSA UTILIZANDO NANOPARTICULAS DE HIERRO CEROVALENTE (nZVI) SINTETIZADAS A PARTIR DEL EXTRACTO DEL EPICARPIO DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.)**, presentado por: **Brian Fernando López Campos**, después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:



Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada

Decana

Guatemala, agosto de 2022

AACE/gaoc



## **ACTO QUE DEDICO A:**

### **Dios**

Por ser la razón de mi existir. Por ser la luz de mi vida y mostrarme su amor a través de las personas que ha puesto en mi camino.

### **Mi familia**

Por brindarme su apoyo incondicional, por enseñarme a luchar e inspirarme a ser una mejor persona cada día.

### **Mis amigos**

Por acompañarme en esta travesía y brindarme su apoyo, confianza y compañía.



## **AGRADECIMIENTOS A:**

- Dios** Por darme la oportunidad de vivir cada día y ser mi fuerza para seguir adelante.
- Mi familia** Por su confianza y apoyo a lo largo de mi trayectoria académica. Por darme la oportunidad de seguir adelante y todas sus enseñanzas.
- Amigos** A todos los que me acompañaron durante mi preparación académica. Gracias especiales a Josué Godoy, Cesia Bravo, Diana Lizama, María Franco, Yasmín Caal, Raúl Ruano, María Tórtola, Pedro Castañeda, Carmen Hernández y Grecia Bautista, por brindarme su apoyo y experiencias compartidas muy maravillosas.
- Mi asesor** Dr. Edward Guerrero, por brindarme todo su apoyo y compartirme su experiencia y conocimientos que permitieron el desarrollo de esta grandiosa investigación.
- Escuela de Ingeniería Química, Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC)** Por brindarme todo su apoyo y conocimientos para mi formación académica. Gracias especiales a mis profesores del Área de Fisicoquímica, colegas auxiliares y director de Escuela por su ayuda durante mi preparación.

**Universidad de Costa Rica (UCR)**

Por darme la oportunidad de compartir una experiencia académica inolvidable y permitirme fortalecer los conocimientos sobre mi carrera.

**Laboratorio Nacional de Nanotecnología, Centro Nacional de Alta Tecnología (LANOTEC/CeNAT)**

Dr. José Roberto Vega, Dr. Sergio Paniagua y colaboradores, por todo su apoyo durante la fase experimental de este trabajo. Agradezco profundamente las enseñanzas y recursos compartidos para esta investigación.

**Centro Nacional de Innovaciones Biotecnológicas, CeNAT**

Lic. Rodrigo Muñoz y Lic. Jorge Araya, por su apoyo con el tratamiento e identificación del extracto de epicarpio de aguacate.

**Secretaría General de Planificación del Gobierno de Guatemala**

Licda. Flor de María Mijangos, Licda. Rosly Bravo y equipo de trabajo, por apoyarme en los trámites del apoyo financiero durante mi carrera.

**Centro de Electroquímica y Energía Química, UCR**

Dr. Jean Sanabria, por su apoyo y tiempo brindado en las caracterizaciones y análisis de voltametría en la Universidad de Costa Rica.

**Unidad de Difracción de Rayos X, UCR**

Lic. Leonardo Quesada Román, por su apoyo con la caracterización XRD de las GAP-nZVI.

**Área de Físicoquímica, Escuela de Química, USAC**

Lic. Christian Farfán y Lic. Manuel Muñoz, por su apoyo y recursos en la última fase de la investigación, en el Laboratorio de Físicoquímica.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES .....	VII
LISTADO DE SÍMBOLOS .....	XIII
GLOSARIO .....	XV
RESUMEN .....	XIX
OBJETIVOS .....	XXIII
HIPÓTESIS .....	XXV
INTRODUCCIÓN .....	XXIX
1. ANTECEDENTES.....	1
1.1. Determinación del problema.....	5
2. MARCO TEÓRICO .....	7
2.1. Nanomateriales.....	7
2.2. Nanopartículas.....	8
2.2.1. Propiedades físicas y químicas de las nanopartículas metálicas .....	9
2.2.2. Estabilización de las nanopartículas metálicas.....	9
2.3. Síntesis de nanopartículas metálicas.....	11
2.3.1. Método de reducción química.....	13
2.3.2. Biosíntesis de nanopartículas metálicas de hierro.....	14
2.4. Aguacate ( <i>Persea americana</i> Mill.) .....	17
2.4.1. Taxonomía del aguacate .....	17
2.4.2. Composición química del aguacate.....	18
2.4.3. Propiedades del epicarpio de aguacate .....	19

2.5.	Metabolitos secundarios .....	20
2.5.1.	Compuestos fenólicos.....	20
2.5.1.1.	Flavonoides.....	21
2.5.1.2.	Ácidos fenólicos.....	22
2.5.1.3.	Taninos .....	22
2.5.1.4.	Estilbenos .....	23
2.5.1.5.	Lignanós .....	23
2.6.	Métodos de extracción de compuestos fenólicos .....	24
2.6.1.	Métodos convencionales de extracción .....	24
2.6.2.	Métodos avanzados de extracción .....	25
2.6.3.	Principios de la extracción asistida por ultrasonido (UAE) .....	27
2.6.3.1.	Mecanismo de extracción.....	28
2.7.	Métodos de análisis de compuestos fenólicos.....	29
2.7.1.	Espectrofotometría UV-Visible.....	30
2.7.2.	Cromatografía .....	30
2.7.3.	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC- MS) .....	32
2.7.4.	Espectrometría infrarroja .....	32
2.7.5.	Voltametría cíclica (CV) .....	33
2.7.6.	Voltametría de onda cuadrada (SWV).....	35
2.8.	Nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) .....	35
2.8.1.	Efecto del pH.....	36
2.8.2.	Características de las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI).....	37
2.9.	Caracterización de nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) .....	38
2.9.1.	Microscopía electrónica .....	38
2.9.2.	Difracción de rayos X.....	38

2.9.3.	Refinamiento de Rietveld.....	40
2.9.4.	Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier .....	40
2.9.5.	Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X.....	40
2.9.6.	Dispersión de luz dinámica.....	41
2.9.7.	Potencial Zeta .....	41
2.9.8.	Microscopía de fuerza atómica (AFM) .....	41
2.10.	Mecanismo para la remoción de contaminantes: <i>Core-Shell</i> .....	42
2.10.1.	Formación de la estructura <i>Core Shell</i> .....	43
2.11.	Cromo hexavalente.....	44
2.11.1.	Mecanismo de remoción de Cr(VI).....	46
2.11.2.	Proceso Electro-Fenton .....	47
2.11.3.	Cinética de la reacción Fenton .....	48
	2.11.3.1. Modelos cinéticos para la reacción Fenton.....	48
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	51
3.1.	Variables .....	51
3.2.	Delimitación del campo de estudio.....	53
3.3.	Recursos humanos disponibles .....	54
3.4.	Recursos materiales disponibles (equipo, cristalería, reactivos).....	54
3.4.1.	Reactivos.....	54
3.4.2.	Equipos de medición.....	55
3.4.3.	Equipo adicional.....	56
3.4.4.	Cristalería y materiales .....	57
3.4.5.	Equipo de protección personal .....	58
3.5.	Técnica cualitativa o cuantitativa.....	58
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información.....	59

3.6.1.	Extracción y caracterización de compuestos fenólicos del epicarpio de aguacate .....	60
3.6.1.1.	Preparación de la muestra .....	60
3.6.1.2.	Obtención de extracto de epicarpio de aguacate por extracción asistida por ultrasonido (UAE).....	60
3.6.1.3.	Determinación de contenido total de fenoles (CTF).....	61
3.6.1.4.	Determinación de flavonoides totales (FT) .....	61
3.6.1.5.	Elucidación de compuestos fenólicos por HPLC-ESI-DAD-MS/MS.....	62
3.6.1.6.	Potencial redox del extracto de epicarpio de aguacate por Voltametría cíclica (CV) y voltametría de onda cuadrada (SWV).....	63
3.6.2.	Síntesis y aplicación de las nanopartículas de hierro cerovalente.....	65
3.6.2.1.	Síntesis de nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) .....	65
3.6.2.2.	Caracterización de las nZVI por AFM .....	65
3.6.2.3.	Caracterización de las nZVI por TEM .....	66
3.6.2.4.	Caracterización de las nZVI por XRD con refinamiento de Rietveld.....	66
3.6.2.5.	Caracterización de las nZVI por FTIR.....	67

3.6.2.6.	Proceso Electro-Fenton para remoción de Cr(VI) utilizando las nZVI.....	67
3.7.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información.....	70
3.8.	Análisis estadístico .....	79
3.8.1.	Análisis de varianza: experimento factorial 3 <sup>2</sup> para el efecto de la concentración inicial de Cr(VI) y pH.....	79
3.8.2.	Ajuste de modelos de regresión múltiple .....	87
3.8.3.	Análisis de correlación del modelo de regresión múltiple .....	88
3.8.4.	Prueba t para la diferencia de medias del contenido de fenoles totales (CTF) y flavonoides totales (FT) entre el APE fresco y el APE purificado.....	90
3.8.5.	Prueba t para la diferencia del porcentaje de remoción de Cr(VI) a 5 min y 25 min.....	91
4.	RESULTADOS.....	93
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	105
5.1.	Contenido de fenoles totales (CFT) y flavonoides totales (FT) del extracto de epicarpio de aguacate .....	105
5.2.	Voltametría cíclica (CV) y voltametría de onda cuadrada (SWV) del extracto de epicarpio de aguacate (APE) .....	106
5.3.	Caracterización de las GAP-nZVI .....	108
5.4.	Proceso Electro-Fenton (EF) utilizando las GAP-nZVI para la remoción de Cr(VI).....	111
5.5.	Estudio cinético de la remoción de Cr(VI).....	117

5.6. Caracterización de las GAP-nZVI después del proceso Electro-Fenton.....	122
CONCLUSIONES.....	125
RECOMENDACIONES.....	129
REFERENCIAS .....	131
APÉNDICES .....	155

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

### FIGURAS

1.	Esquema de funcionalización superficial de nanopartículas metálicas (MNPs), por interacciones electrostáticas repulsivas.....	10
2.	Esquema de los enfoques <i>bottom-up</i> y <i>top-down</i> para la síntesis de nanopartículas metálicas.....	12
3.	Principales métodos de los diferentes enfoques de síntesis de nanopartículas metálicas: <i>bottom-up</i> y <i>top-down</i> .....	13
4.	Esquema de biosíntesis de nanopartículas metálicas: factores que afectan la formación de nanopartículas estables y dispersas.....	16
5.	Partes del fruto de aguacate .....	18
6.	Estructura de algunos compuestos fenólicos: flavonoides.....	23
7.	Mecanismos de extracción por UAE .....	29
8.	Resumen de métodos de análisis de compuestos fenólicos .....	33
9.	Voltamograma cíclico según IUPAC .....	34
10.	Diagrama de Pourbaix del hierro a condiciones estándar.....	36
11.	Esquema del <i>Core-Shell</i> de una nanopartícula nZVI .....	42
12.	Formación de complejo polifenoles-nanopartículas de hierro.....	43
13.	Diagrama de Pourbaix del cromo.....	45
14.	Esquema del mecanismo de remoción de Cr(VI) por las nZVI.....	46
15.	Esquema las etapas de recolección de información .....	59
16.	Diagrama de flujo para la obtención de extracto fenólico .....	64
17.	Diagrama de flujo para el proceso de síntesis de nanopartículas de hierro cerivalente (nZVI) empleando el extracto de epicarpio de aguacate .....	69

18.	Voltamograma a) cíclico, b) de onda cuadrada anódico y c) de onda cuadrada catódico del APE .....	95
19.	Micrografía de las GAP-nZVI, obtenida por TEM a una escala de a) 100 nm, b) 50 nm.....	96
20.	Distribución del tamaño de las GAP-nZVI, obtenida por TEM a una escala de 100 nm.....	97
21.	Micrografía de las GAP-nZVI, obtenida por AFM .....	97
22.	Espectro infrarrojo de las GAP-nZVI, obtenido por FTIR .....	98
23.	Patrón de difracción de rayos X de las GAP-nZVI, obtenido por XRD con refinamiento de Rietveld .....	100
24.	Porcentaje de remoción de Cr(VI) en función de la concentración inicial de Cr(VI) y pH por medio del proceso Electro-Fenton, utilizando las GAP-nZVI .....	101
25.	Concentración de Cr(VI) en función del tiempo, a diferentes concentraciones iniciales, a pH a) 3.0, b) 6.0 y c) 9.0 por medio del proceso Electro-Fenton utilizando las GAP-nZVI .....	102
26.	Comparación de los (1) espectros FTIR y (2) patrones de XRD de las GAP-nZVI antes y después del proceso Electro-Fenton a una concentración inicial de 10 mg/L y pH 3.0 .....	104

## TABLAS

I.	Taxonomía del fruto de aguacate.....	17
II.	Métodos de extracción de compuestos fenólicos.....	27
III.	Variables propuestas de la investigación, en fase de extracción, determinación e identificación de compuestos fenólicos del epicarpio de aguacate ( <i>Persea americana</i> Mill.) .....	51

IV.	Variables propuestas de la investigación, en fase de síntesis y caracterización y aplicación de las nanopartículas de hierro cerovalente.....	52
V.	Contenido total de fenoles (CTF) en el extracto de epicarpio de aguacate, para seis muestras .....	70
VI.	Contenido total de fenoles (CTF) en el extracto de epicarpio de aguacate enriquecido, para cuatro muestras .....	70
VII.	Flavonoides totales (FT) en el extracto de epicarpio de aguacate, para seis muestras .....	71
VIII.	Flavonoides totales (FT) en el extracto de epicarpio de aguacate enriquecido, para cuatro muestras.....	71
IX.	Rendimiento de polifenoles en el extracto de epicarpio de aguacate, después de proceso de liofilización .....	72
X.	Identificación de compuestos fenólicos a partir de cromatograma en HPLC-DAD-ESI-MS/MS .....	72
XI.	Picos de oxidación y reducción del extracto de epicarpio de aguacate, obtenido por voltametría de onda cuadrada (SWV) .....	73
XII.	Tamaño de partícula de las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) por AFM y TEM) .....	73
XIII.	Identificación de grupos funcionales superficiales de las nZVI por espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) .....	74
XIV.	Calibración de concentración de Cr(VI), obtenidos por espectrofotometría UV-Vis .....	74
XV.	Concentración de Cr(VI) final después del proceso Electro-Fenton, utilizando las nZVI ... ..	75
XVI.	Porcentaje de remoción de Cr(VI) final después del proceso Electro-Fenton, utilizando las nZVI .....	75
XVII.	Concentración de Cr(VI) en función del tiempo, a pH 3.0.....	76
XVIII.	Concentración de Cr(VI) en función del tiempo, a pH 6.0.....	76

XIX.	Concentración de Cr(VI) en función del tiempo, a pH 9.0.....	77
XX.	Constante cinética de orden cero para el proceso Electro-Fenton con nZVI, en la remoción de Cr(VI) en solución acuosa.....	77
XXI.	Constante cinética de pseudo primer orden para el proceso Electro-Fenton con nZVI, en la remoción de Cr(VI) en solución acuosa.....	78
XXII.	Constante cinética de pseudo segundo orden para el proceso Electro-Fenton con nZVI, en la remoción de Cr(VI) en solución acuosa.....	78
XXIII.	Codificación de variables naturales .....	80
XXIV.	Diseño factorial $3^2$ desglosado.....	81
XXV.	Resumen de diseño factorial $3^2$ .....	82
XXVI.	Presentación de datos de porcentaje de remoción de Cr(VI) para análisis de varianza, según diseño factorial $3^2$ .....	82
XXVII.	Resumen de las sumas totales para cada tratamiento, a un factor dado, con tamaño de muestra simétrico (3 observaciones) .....	84
XXVIII.	Resumen de cálculo de F de Fisher para análisis de varianza de dos factores, con tres observaciones cada uno .....	86
XXIX.	Resultados del análisis de varianza para el porcentaje de remoción de Cr(VI), utilizando el proceso Electro-Fenton con GAP-nZVI .....	87
XXX.	Análisis de regresión para el modelo de regresión múltiple del porcentaje de remoción de Cr(VI) en función de la concentración inicial de Cr(VI) y pH.. .....	89
XXXI.	Coeficiente de determinación para el modelo de regresión múltiple del porcentaje de remoción de Cr(VI) en función de la concentración inicial de Cr(VI) y pH.. .....	89
XXXII.	Prueba t para la diferencia del CTF y FT entre el extracto fresco y el extracto purificado ... .....	90
XXXIII.	Prueba t para la diferencia del porcentaje de remoción de Cr(VI) después de 5 min y después de 25 min .....	92

XXXIV.	Rendimiento de extracción, contenido total de fenoles (CTF) y flavonoides totales (FT) del extracto de epicarpio de aguacate ( <i>Persea americana</i> Mill.) (APE).....	93
XXXV.	Perfil de compuestos fenólicos presentes en el APE .....	94
XXXVI.	Potencial redox del APE obtenidos por SWV .....	95
XXXVII.	Tamaño promedio de las GAP-nZVI, obtenido por AFM y TEM.....	98
XXXVIII.	Identificación de grupos funcionales superficiales en las GAP-nZVI, obtenido por FTIR ... ..	99
XXXIX.	Parámetros cinéticos para el proceso EF a diferentes concentraciones iniciales de Cr(VI) y pH.....	103



## LISTADO DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
$\theta$	Ángulo de difracción
$R^2$	Coefficiente de determinación
C.V.	Coefficiente de variación
$\beta_i$	Coefficiente o parámetro de regresión
$C_t$	Concentración de Cr(VI) en el tiempo t
$k_i$	Constante cinética de reacción
$CC_i$	Cuadrado medio debido "i"
$\hat{s}$	Desviación estándar de una muestra
$\bar{D}_{ij}$	Diferencia de una media
$(\alpha\beta)_{ij}$	Efecto de la interacción entre los factores estadísticos
$\alpha_i$	Efecto del factor concentración inicial de Cr(VI)
$\beta_j$	Efecto del factor pH
$\varepsilon_{ijk}$	Error aleatorio
$F_i$	Estadístico F de Fisher
$t_i$	Estadístico <i>t-student</i>
$C_0, A, x_1$	Factor concentración inicial de Cr(VI)
$pH, B, x_2$	Factor pH inicial
°	Grados
°C	Grados Celsius
$(a - 1), (b - 1), \dots$	Grados de libertad de una fuente de variación
g	Gramos
$H_1$	Hipótesis alternativa

<b>H<sub>0</sub></b>	Hipótesis nula
<b>h</b>	Hora(s)
<b>kHz</b>	Kilohertz
<b>L</b>	Litros
$\lambda$	Longitud de onda
$\bar{x}$	Media aritmética
$\mu_i$	Media del promedio de un factor
$\mu\text{L}$	Microlitro(s)
<b>mbar</b>	Milibar(es)
<b>min</b>	Minuto(s)
<b>nm</b>	Nanómetros
<b>N</b>	Número de experimentos en diseño factorial
<b>k</b>	Número de factores en diseño factorial
<b>n</b>	Número de niveles en diseño factorial
<b>%R, y</b>	Porcentaje de remoción de Cr(VI)
<b><math>\Delta E</math></b>	Potencial redox del extracto
<b>v/v</b>	Relación volumétrica
<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b><math>SS_i</math></b>	Suma de cuadrados debido a "i"
<b><math>n_i</math></b>	Tamaño de muestra de un factor
<b>t</b>	Tiempo
<b><math>1 - \alpha</math></b>	Valor de confianza
<b><math>\alpha</math></b>	Valor de significancia
<b><math>x_i</math></b>	Valor de unidad experimental u observación
<b><math>p_i</math></b>	Valor p o probabilidad
<b>W</b>	Watts

## GLOSARIO

<b>AFM</b>	Microscopía de Fuerza Atómica.
<b>AOP</b>	Acrónimo de <i>Advanced Oxidation Processes</i> , que significa Procesos de Oxidación Avanzada.
<b>APE</b>	Extracto del epicarpio de aguacate.
<b>Capacidad reductora</b>	Medida electroquímica de un compuesto para reducir un agente oxidante.
<b>Core-Shell</b>	Estructura de núcleo y cubierta, presente en diferentes tipos de nanopartículas.
<b>Cr(VI)</b>	Cromo hexavalente.
<b>Cristalinidad</b>	Característica de un material sólido que indica el grado de ordenamiento o disposición estructural.
<b>CTF</b>	Contenido total de fenoles (o compuestos fenólicos).
<b>CV</b>	Voltametría cíclica.
<b>EAG</b>	Equivalentes de ácido gálico. Medida equivalente de composición de compuestos fenólicos calibrados con respecto a un estándar de ácido gálico.

<b>EF</b>	Proceso Electro-Fenton.
<b>Electroquímica</b>	Rama de la fisicoquímica que estudia la relación entre el potencial eléctrico y las reacciones químicas.
<b>Electro-regeneración</b>	Mecanismo electroquímico reversible y contraproducente a la remoción de una especie metálica.
<b>Epicarpio</b>	Cáscara o piel. Parte exterior del fruto de una especie vegetal.
<b>EQ</b>	Equivalentes de quercetina. Medida equivalente de composición de flavonoides, calibrados con respecto a un estándar de quercetina.
<b>Espectro</b>	Representación gráfica de las señales de una especie química que interacciona con la luz, en cierto rango de longitud de onda.
<b>Extracto vegetal</b>	Sistema líquido multicomponente de naturaleza polar o apolar, obtenido de una especie vegetal.
<b>Fenton</b>	Reacción de oxidación avanzada entre el Fe(II), y peróxido de hidrógeno que produce radicales oxhidrilos ( $\cdot\text{OH}$ ) altamente reactivos.
<b>FT</b>	Flavonoides totales.

<b>FTIR</b>	Espectroscopía/Espectrometría infrarroja con transformada de Fourier.
<b>GAP-nZVI</b>	Nanopartículas de hierro cerovalente sintetizadas a partir del extracto de epicarpio de aguacate.
<b>HPLC-MS</b>	Cromatografía de alta resolución acoplada con espectrometría de masas.
<b>Micrografía</b>	Imagen digital capturada a través de un equipo magnificador a determinado tamaño.
<b>Morfología</b>	Característica o propiedad que indica la forma material o estructura sólida.
<b>Nanopartículas</b>	Partículas con tamaño de entre 1 nm y 100 nm.
<b>Nanotecnología</b>	Campo de investigación que se dedica al estudio y aplicación de sistemas, dispositivos y estructuras que permiten la manipulación de la materia a escala nanométrica.
<b>nZVI</b>	Nanopartículas de hierro cerovalente o nano hierro cerovalente.
<b>Polifenoles</b>	Familia de compuestos orgánicos que contienen diversas unidades de fenol, clasificados como metabolitos secundarios.

<b>Redox</b>	Reacciones químicas que consisten en una transferencia de electrones, divididas en una semireacción de reducción y una de oxidación.
<b>Rietveld</b>	Técnica de refinamiento o ajuste de un patrón de difracción de rayos X empleada en la caracterización de materiales cristalinos.
<b>Síntesis verde</b>	Conjunto de metodologías de síntesis basadas en la reducción del consumo energético, eliminación de residuos tóxicos, y el uso de solventes ecológicos.
<b>SWV</b>	Voltametría de onda cuadrada.
<b>TEM</b>	Microscopía Electrónica de Transmisión.
<b>UAE</b>	Extracción asistida por ultrasonido.
<b>Voltametría</b>	Conjunto de técnicas electroquímicas que permiten el estudio de la corriente como función de un voltaje aplicado.
<b>Voltamograma</b>	Representación gráfica resultante de una técnica voltamétrica, usualmente de la corriente como función del voltaje aplicado.
<b>XRD</b>	Difracción de Rayos X.

## RESUMEN

Esta investigación estudió la síntesis de nanopartículas de hierro cerovalente utilizando el extracto del epicarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.) (GAP-nZVI), y su aplicación en el proceso Electro-Fenton (EF), para la remoción de Cr(VI), en solución acuosa. El extracto de epicarpio de aguacate fue obtenido por Extracción Asistida por Ultrasonido (UAE), a 42 kHz utilizando metanol/agua 80:20 v/v como solvente.

La composición fenólica fue separada e identificada por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC-DAD-ESI-MS). La composición de fenoles totales (CFT), y flavonoides totales (FT), fueron determinados por Espectrofotometría UV-Visible. El potencial de óxido-reducción del extracto fue evaluado por Voltametría Cíclica (CV) y Voltametría de Onda Cuadrada (SWV), a una velocidad de barrido de 100 mV/s.

Las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), fueron sintetizadas por medio de la reducción de una sal de cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), utilizando el extracto fenólico obtenido del epicarpio de aguacate. La morfología, distribución y tamaño de las nanopartículas fueron analizados por Microscopía de Fuerza Atómica (AFM), y Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM). La cristalinidad y la composición superficial de las nanopartículas fue evaluada por Difracción de Rayos X (XRD), con refinamiento de Rietveld.

Los grupos funcionales asociados a la superficie de las nanopartículas fueron identificados por Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR). Las nanopartículas de hierro cerovalente sintetizadas a partir del extracto

del epicarpio de aguacate (GAP-nZVI), fueron empleadas en el proceso EF para remover Cr(VI), contenido en una solución acuosa. El rendimiento de remoción y la cinética de la reacción fueron analizados a diferentes concentraciones iniciales de Cr(VI) (10 mg/L, 30 mg/L y 50 mg/L) y pH (3.0, 6.0 y 9.0), midiendo la concentración final después de cada 5 min. Los cambios en la estructura y superficie de las GAP-nZVI antes y después del proceso EF fueron analizados por FTIR y XRD.

Los resultados de CV y SWV exhibieron dos picos anódicos del APE a 0.13 V y 0.64 V. Las micrografías de AFM y TEM mostraron que las GAP-nZVI poseen una morfología cuasi-esférica con dispersidad regular. Al utilizar estas nanopartículas en el proceso EF se obtuvo un porcentaje de remoción de Cr(VI), > 94 % para todos los tratamientos de concentración inicial de Cr(VI), y pH después de 25 min, y un máximo de remoción de > 99 % a pH 3.0 y 10 mg/L. Los resultados de ANOVA confirmaron que la concentración inicial de Cr(VI), y el pH influyen de forma significativa ( $p < 0.05$ ), sobre el porcentaje de remoción de Cr(VI).

Se determinó que al aumentar la concentración inicial de 10 mg/L a 50 mg/L, el porcentaje de remoción disminuyó 5 % después de 25 min. Finalmente, el estudio cinético confirmó que la reacción del proceso EF es de orden cero y que puede reducirse el tiempo de contacto de 25 min a 5 min al no existir cambios estadísticamente significativos en el porcentaje de remoción de Cr(VI) ( $p < 0.05$ ).

Esta investigación demostró que se pueden sintetizar nanopartículas de hierro cerivalente (nZVI), de 19 nm y morfología cuasi-esférica utilizando el extracto del epicarpio de aguacate. Al emplear las nanopartículas de hierro cerivalente en el proceso EF, se puede reducir el tiempo requerido para remover

> 94 % de Cr(VI), a tan solo 5 min, bajo cualquier concentración inicial y pH trabajados. Finalmente, se determinó una remoción de >90 % a pH de 9.0, al cual los métodos convencionales (como adsorción) obtienen menores porcentajes de remoción de Cr(VI) (<< 80 %).



## OBJETIVOS

### General

Sintetizar y caracterizar nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), producidas a partir de la reducción de una sal de cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), utilizando el extracto obtenido del epicarpio del aguacate (*Persea americana* Mill.), y aplicarlas en el proceso Electro-Fenton para la remoción de Cr(VI), en solución acuosa.

### Específicos

1. Definir por voltametría cíclica y voltametría de onda cuadrada la capacidad reductora del extracto del epicarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.), obtenido por Extracción Asistida por Ultrasonido (UAE) a 25 kHz utilizando metanol/agua 80:20 v/v como solvente.
2. Producir nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), utilizando el extracto de epicarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.), obtenido mediante Extracción Asistida por Ultrasonido (UAE).
3. Analizar el tamaño, morfología, naturaleza cristalina y composición química de las nanopartículas de hierro cerovalente por Microscopía de Fuerza Atómica (AFM), Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM), Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR), y Difracción de Rayos X (XRD).

4. Determinar el porcentaje de remoción de Cr(VI), en solución acuosa y el orden de la reacción del proceso Electro-Fenton utilizando nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), en función de las condiciones de pH de 3.0, 6.0 y 9.0, y concentración inicial de Cr(VI), de 10 mg/L, 30 mg/L y 50 mg/L.
  
5. Comparar los cambios en la estructura y superficie de las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), luego del proceso Electro-Fenton a pH de 3.0 y concentración inicial de 10 mg/L de Cr(VI), por Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR), y Difracción de Rayos X (XRD).

## HIPÓTESIS

### Objetivo 1

**Hipótesis nula (H<sub>0</sub>):** el extracto del epicarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.), obtenido por extracción asistida por ultrasonido (UAE), posee capacidad reductora.

$$\mu_E > 0 V$$

**Hipótesis alternativa (H<sub>1</sub>):** el extracto del epicarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.), obtenido por extracción asistida por ultrasonido (UAE), no posee capacidad reductora.

$$\mu_E \leq 0 V$$

### Objetivo 2

**Hipótesis nula (H<sub>0</sub>):** se pueden sintetizar nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), por medio del extracto de epicarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.), obtenido por extracción asistida por ultrasonido (UAE).

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

**Hipótesis alternativa (H<sub>1</sub>):** no se pueden sintetizar nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), por medio del extracto de epicarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.), obtenido por extracción asistida por ultrasonido (UAE).

$$\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$$

### Objetivo 3

**Hipótesis nula (H<sub>0</sub>):** el tamaño, morfología, naturaleza cristalina y composición química de las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), dependen del extracto de epicarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.).

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

**Hipótesis alternativa (H<sub>1</sub>):** el tamaño, morfología, naturaleza cristalina y composición química de las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), no dependen del extracto de epicarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.).

$$\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$$

### Objetivo 4

**Hipótesis nula (H<sub>0</sub>):** la concentración inicial de Cr(VI), el pH y sus interacciones no influyen significativamente en el porcentaje de remoción de Cr(VI), utilizando nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI).

$$H_{0A}: \alpha_1 = \dots = \alpha_a = 0 \text{ (la concentración inicial de Cr(VI) no influye)}$$

$$H_{0B}: \beta_1 = \dots = \beta_b = 0 \text{ (el pH no influye)}$$

$$H_{0AB}: (\alpha\beta)_{11} = \dots = (\alpha\beta)_{ab} = 0 \text{ (no hay interacción entre factores)}$$

**Hipótesis alternativa (H<sub>1</sub>):** la concentración inicial de Cr(VI), el pH y sus interacciones influyen significativamente en el porcentaje de remoción de Cr(VI), utilizando nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI).

$H_{1A}$ : *algún  $\alpha_i \neq 0$  (la concentración inicial de Cr(VI) influye)*

$H_{1B}$ : *algún  $\beta_i \neq 0$  (el pH influye)*

$H_{1AB}$ : *algún  $(\alpha\beta)_{ij} \neq 0$  (existe alguna interacción)*

#### Objetivo 5

**Hipótesis nula (H<sub>0</sub>):** no existe diferencia significativa en la estructura y composición de las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), luego del proceso Electro-Fenton a pH de 3 y concentración inicial de 10 mg/L de Cr(VI).

$$\mu_{\Delta Intensidad} = 0$$

$$\mu_{\Delta Composición} = 0$$

**Hipótesis alternativa (H<sub>1</sub>):** existe diferencia significativa en la estructura y composición de las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), luego del proceso Electro-Fenton a pH de 3 y concentración inicial de 10 mg/L de Cr(VI).

$$\mu_{\Delta Intensidad} \neq 0$$

$$\mu_{\Delta Composición} \neq 0$$



## INTRODUCCIÓN

La contaminación del agua debido a la presencia de metales pesados como Cr, Ni, As, Cd y Pb ha sido extensamente estudiado debido a su naturaleza peligrosa y no biodegradable (Islam, Ahmed, Raknuzzaman, Habibullah-Al-Mamun, & Kundu, 2017; Poguberović et al., 2016), por lo que su presencia es uno de los riesgos medioambientales más severos para los ecosistemas acuáticos (Islam et al., 2017).

El cromo hexavalente (Cr(VI)), es un metal pesado soluble en agua altamente tóxico (D. A. Khan, Mushtaq, Khan, & Khan, 2013; Saha, Nandi, & Saha, 2011) y su consumo puede involucrar efectos cancerígenos y mutagénicos en los humanos (Chen, Murphy, Sun, & Costa, 2019). La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), ha establecido que el límite máximo de concentración de cromo en agua para consumo humano debe ser 0.10 mg/L, basado en sus efectos dermatológicos (Rahmani, Hossieni, & Poormohammadi, 2015). Se encuentra presente en residuos acuosos de procesos industriales como la producción de pinturas y colorantes (San & Dönmez, 2012), cuero (Barrera-Díaz, Lugo-Lugo, & Bilyeu, 2012), minería (Islam et al., 2017), o acabado de metales (Huaiwei & Xing, 2011).

En la actualidad se han desarrollado diversas tecnologías basadas en métodos físicos o químicos de remoción en solución acuosa (Guo, Li, & Li, 2020; Nahuel Montesinos et al., 2014). Algunas de esas tecnologías consisten en procesos de precipitación química, adsorción, intercambio iónico, electrocoagulación, reducción fotocatalítica y procesos biológicos (Barrera-Díaz et al., 2012; San & Dönmez, 2012); sin embargo, la mayoría de estos procesos

involucran procesos de larga duración, bajas eficiencias de remoción, altos costos de mantenimiento o regeneración (Barrera-Díaz et al., 2012; Fazlzadeh et al., 2017).

Recientemente, han surgido tecnologías más eficientes para la remediación del agua que emplean nanomateriales (Yang, Zhang, & Hu, 2013). Las nanopartículas metálicas han resultado ser muy efectivas en el tratamiento de metales pesados en agua debido a su pequeño tamaño y gran área superficial (Iravani, 2011; Yang et al., 2013). Las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), han sido estudiadas como un material alternativo para la remoción de metales pesados (Yirsaw, Megharaj, Chen, & Naidu, 2016).

Esto se debe a su gran potencial redox (S. Liu, Yu, Wang, Shen, & Cong, 2020) y capacidad quelante contra los contaminantes orgánicos e inorgánicos (Wu et al., 2020). La síntesis de nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), se basa en la reducción de una sal de Fe(II)/Fe(III), por medio de un agente reductor (por ejemplo:  $\text{NaBH}_4$ ,  $\text{N}_2\text{H}_4$ , or  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ), (Pasinszki & Krebsz, 2020; Stefaniuk, Oleszczuk, & Ok, 2016). No obstante, la síntesis convencional involucra el uso de solventes tóxicos o peligrosos (W. Zhang et al., 2017), con lo que se corre el riesgo de generar subproductos volátiles peligrosos para el ambiente (Iravani, 2011).

Es más, la adición agentes protectores o surfactantes es indispensable para evitar la aglomeración de las nanopartículas (S. Liu et al., 2020; Pasinszki & Krebsz, 2020; Yirsaw et al., 2016). La síntesis “verde” ha sido desarrollada como una alternativa que podría sustituir a la síntesis tradicional (Iravani, 2011; Mubayi, Chatterji, Rai, & Watal, 2012). Este método consiste en utilizar extractos de materias biológicas (como plantas, bacterias y hongos) para preparar partículas de nZVI (Iravani, 2011; Wei, Fang, Zheng, & Tsang, 2017).

Los extractos de plantas han sido principalmente utilizados para la preparación de nZVI debido a su alto contenido polifenólico (Iravani, 2011), que se traduce en capacidades reductoras y de estabilización coloidal significativas (Keffous et al., 2016). Se ha reportado la síntesis de nZVI utilizando extractos de hojas de eucalipto (Machado, Pacheco, Nouws, Albergaria, & Delerue-Matos, 2015; Z. Wang, 2013) roble, morera y cereza (Poguberović et al., 2016), cáscara de mango (Desalegn, Megharaj, Chen, & Naidu, 2019), té verde (Zhu, He, & Liu, 2018), así como extractos de *Rosa damascene*, *Thymus vulgaris*, and *Urtica dioica* (Fazlzadeh et al., 2017).

Utilizando estos productos se sintetizaron nanopartículas altamente reactivas (Poguberović et al., 2016), generando residuos biodegradables (Wu et al., 2020). Las nuevas tendencias proponen la valorización de los subproductos de las plantas (como hojas, semillas y cáscaras), para la producción de nanomateriales (Ahmed, Badawy, Ahmed, Kalia, & Abd-Elsalam, 2022; Kamaraj, Kidane, Muluken, & Aravind, 2019; Machado et al., 2015), donde se pueden aprovechar las propiedades de la biomasa no utilizada (Machado, Grosso, Nouws, Albergaria, & Delerue-Matos, 2014; Stefaniuk et al., 2016).

La cáscara (o epicarpio) del aguacate (*Persea americana* Mill.), es un subproducto que contiene una amplia variedad de compuestos fenólicos con potencial reductor (Rosero, Cruz, Osorio, & Hurtado, 2019), el cual podría ser utilizado para la síntesis de nanomateriales (Rajeshkumar & Rinitha, 2018). El extracto fenólico de la semilla de aguacate ha sido utilizado para la síntesis de nanopartículas de cobre y plata (Girón-Vázquez et al., 2019; Rajeshkumar & Rinitha, 2018). Otras investigaciones han obtenido partículas nZVI a partir de los extractos de la hoja de aguacate (Machado et al., 2015). Mientras que el aceite de aguacate ha servido para la síntesis de nanopartículas de oro (Kumar, 2021).

El fruto de aguacate (*Persea americana* Mill.), contiene diferentes compuestos fenólicos (Girón-Vázquez et al., 2019), que pueden ser separados fácilmente por extracción asistida por ultrasonido (UAE) (Zaki, Ismail, Abdelatif, El-Mohsen, & Helmy, 2020). El método consiste en la generación de burbujas que impactan en la vecindad de la matriz vegetal (Vinatoru, Mason, & Calinescu, 2017). La cavitación permite la difusión de los componentes internos a través de la pared celular hacia el solvente (M. K. Khan, Abert-Vian, Fabiano-Tixier, Dangles, & Chemat, 2010; Vinatoru et al., 2017).

Como consecuencia del uso de esta técnica, disminuye el tiempo requerido para la extracción de fenoles y aumenta el rendimiento de extracción con respecto a los métodos convencionales (como destilación), (M. K. Khan et al., 2010; Vinatoru et al., 2017). Los extractos poseen compuestos fenólicos con propiedades reductoras que se pueden determinar por medio de técnicas electroquímicas (Makhotkina & Kilmartin, 2012). La voltametría cíclica permite medir la corriente resultante luego de aplicar un potencial sobre un extracto (Elgrishi et al., 2018; Makhotkina & Kilmartin, 2012).

Al explorar diferentes voltajes se pueden identificar los potenciales redox (Elgrishi et al., 2018; Makhotkina & Kilmartin, 2012), y determinar la capacidad del extracto vegetal para reducir las sales de hierro (Z. Wang, 2013). Con ello se puede determinar si los compuestos fenólicos del extracto vegetal son capaces para reducir sales de hierro (Z. Wang, 2013). Algunos estudios han identificado la capacidad de reductora del extracto acuoso de *Limoniastrum feei* (Keffous et al., 2016), el extracto de hojas de eucalipto (*Eucalyptus tereticornis*) (Z. Wang, 2013) y cáscara de naranja (*Citrus sinensis* L.) (M. K. Khan et al., 2010).

Las partículas verdes de nZVI han sido principalmente utilizadas para la remoción de metales pesados del agua (Nahuel Montesinos et al., 2014;

Poguberović et al., 2016; Tarekegn, Hiruy, & Dekebo, 2021), especialmente Cr(VI) (Fazlzadeh et al., 2017; Makhado, 2018; Zhu et al., 2018); a pesar de ello, las tecnologías recientes prometen mejoras en el rendimiento de remoción y disminución en el tiempo de contacto (Pasinszki & Krebsz, 2020; Yirsaw et al., 2016). Por lo cual se requieren investigar las nuevas metodologías de eliminación de Cr(VI), utilizando partículas verdes de nZVI, tanto para la valorización de la biomasa inutilizada (Machado et al., 2014) como para la evaluación de su posible escalamiento industrial (Stefaniuk et al., 2016; Wu et al., 2020).

La incorporación de hierro en procesos electroquímicos avanzados (AOP) ha crecido en los últimos años (Peng, Leng, & Guo, 2019; Rahmani et al., 2015), debido a que son más eficientes y generan menos residuos que los procesos convencionales de adsorción (Ken & Sinha, 2020; Peng et al., 2019). El proceso Electro-Fenton (EF), es un proceso electroquímico avanzado (AOP), donde el hierro puede actuar como reactivo y catalizador al mismo tiempo (Pasinszki & Krebsz, 2020). El proceso se basa en una reacción entre Fe/Fe(II) y peróxido de hidrógeno, la cual genera radicales de oxhidrilo ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) (Rahmani et al., 2015). Estos radicales presentan un alto poder oxidante, que permite la degradación de compuestos orgánicos y el incremento de la reactividad del hierro (Rahmani et al., 2015; Saif, Tahir, & Chen, 2016).

Aumentar la reactividad de las especies de hierro puede resultar en mejores eficiencias de remoción de metales pesados (Rahmani et al., 2015). El pH de la solución afecta la remoción de metales pesados en solución acuosa (Rahmani et al., 2015), ya que a valores bajos de pH se favorece la formación de iones ferrosos ( $\text{Fe}^{2+}$ ), (Shokri, 2017), los cuales incrementan la reducción de especies oxidadas (Rahmani et al., 2015). El voltaje aplicado está directamente relacionado con la generación de radicales de oxhidrilo en los procesos de oxidación avanzada (Rahmani et al., 2015; Shokri, 2017). Algunos estudios han

investigado el proceso EF utilizando electrodos de hierro (Rahmani et al., 2015; Shokri, 2017), y compósitos nanoestructurados de hierro con celulosa (Kumari & Dutta, 2020; Wu et al., 2020).

Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue obtener el extracto fenólico del epicarpio (o cáscara) del aguacate (*Persea americana* Mill.), utilizando Extracción Asistida por Ultrasonido (UAE), y analizar su poder reductor por medio de Voltametría Cíclica (CV), y Voltametría de Onda Cuadrada (SWV). Adicionalmente, se sintetizaron nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), utilizando el extracto fenólico. Estas nanopartículas fueron empleadas en el proceso Electro-Fenton para evaluar su eficiencia y reactividad en la remoción de Cr(VI) en solución acuosa. Los compuestos fenólicos se caracterizaron utilizando Espectrofotometría UV-Visible y Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplado con Espectrómetro de Masas (HPLC-DAD-ESI-MS).

Las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), fueron sintetizadas aplicando el extracto de epicarpio de aguacate sobre una sal de cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), en una relación volumétrica 3:1. La morfología, tamaño y distribución de las nanopartículas fue evaluada por Microscopía de Fuerza Atómica (AFM), y Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM). La cristalinidad y la composición de las fases presentes en las nanopartículas fueron analizados por Difracción de Rayos X con refinamiento de Rietveld. Los grupos funcionales superficiales se identificaron por medio de Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR). Además, se evaluó el efecto que tienen el pH y la concentración inicial de Cr(VI), sobre el porcentaje de remoción de Cr(VI), y el orden de la reacción.

Para determinar el efecto de la concentración de Cr(VI) (10 mg/L, 30 mg/L y 50 mg/L), y pH (3.0, 6.0 y 9.0), sobre el porcentaje de remoción de Cr(VI), se utilizó un diseño factorial completo que consistió en 2 factores con 3 niveles cada

uno (diseño  $3^2$ ), con 3 repeticiones para cada una de las muestras; siendo en total 27 unidades experimentales. Las hipótesis se evaluaron con un nivel de confianza del 95 %. Las hipótesis nulas fueron rechazadas si el valor de  $p$  asociado al resultado observado fue igual o menor que el nivel de significancia ( $p \leq 0.05$ ). La relevancia y novedad de este proyecto de investigación consistió en aprovechar los compuestos fenólicos contenidos en la cáscara del aguacate para la fabricación de nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), y aplicarlas en el proceso EF para la remoción de Cr(VI).

Otros estudios han sintetizado nanopartículas nZVI utilizando el extracto fenólico de la cáscara del aguacate para la remoción de Cr(VI), (Ahmed et al., 2022); es por ello que, este trabajo es el primero en utilizarlo en el proceso Electro Fenton. Estudios preliminares (Rahmani et al., 2015) han estudiado este proceso utilizando electrodos de hierro en un amplio rango de pH (3-9). Concentraciones de Cr(VI) por encima de los límites aceptables en agua (10-50 mg/L), permitirá aportar al estudio de nZVI en procesos Electro-Fenton en condiciones no convencionales.



## 1. ANTECEDENTES

El cromo hexavalente Cr(VI) es un metal pesado que se encuentra presente en residuos acuosos de diversas industrias siderúrgicas (Yan, Herzing, Kiely, & Zhang, 2010). Su toxicidad es cien veces más que su estado reducido de cromo trivalente Cr(III), (Saha et al., 2011).

Tiene la capacidad de acumularse en el cuerpo humano y provocar serios daños en la salud (Fazlzadeh et al., 2017; Saha et al., 2011). Una prolongada exposición o consumo de este metal puede causar náuseas, diarreas severas o hemorragias (Rahmani et al., 2015). En concentraciones más altas puede ser mutagénico o cancerígeno (Hu et al., 2011).

El Cr(VI) es la forma oxidada del cromo más común en los ecosistemas acuáticos, debido a su alta solubilidad en agua (Poguberović et al., 2016). Al ser un metal difícil de absorber se puede movilizar a través del agua y el suelo (Zhu et al., 2018). Se han empleado diversos métodos físicos y químicos para la remoción del cromo (Guo et al., 2020). Entre estos se encuentran la filtración, precipitación, adsorción, electrodeposición o intercambio iónico (Guo et al., 2020; Hu et al., 2011).

Durante los últimos años se ha estudiado el uso de nanomateriales para el tratamiento de sustancias contaminantes en efluentes acuosos (Agarwal, Gupta, & Agarwal, 2019; Yang et al., 2013). Estos materiales de escala nanométrica presentan propiedades físicas y químicas distintas a los de mayor tamaño (Iravani, 2011). Su elevada área superficial les confiere mayor capacidad para reaccionar e interactuar con otros compuestos (Lu & Astruc, 2020).

Las nanopartículas metálicas son estructuras de un tamaño de entre 1-100 nm (S. Liu et al., 2020). Poseen una alta actividad catalítica, estabilidad térmica y fuerte capacidad para donar electrones (Nasrollahzadeh, Sajjadi, Iravani, & Varma, 2021). Las propiedades porosas y reactivas de su superficie son aprovechadas en procesos de adsorción (S. Liu et al., 2020; Nasrollahzadeh et al., 2021) y óxido-reducción (Rahmani et al., 2015). Con estos resultados se obtienen procesos de remediación mucho más eficientes, estables y de bajo costo (Lu & Astruc, 2020; Nasrollahzadeh et al., 2021).

Las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) han sido utilizadas en procesos de remediación de polutantes orgánicos e inorgánicos en agua (Rahmani et al., 2015; Weng, Jin, Lin, Naidu, & Chen, 2016) y suelos (Pasinszki & Krebsz, 2020). El interés de estas nanopartículas para remover metales pesados se debe a su bajo costo, abundancia y potencial estándar de reducción ( $E^0 = -0.44 V$ ) (S. Liu et al., 2020). Este potencial es menor en comparación con otros metales y compuestos orgánicos, lo que le permite ser una especie altamente reactiva (Yan et al., 2010).

El mecanismo utilizado para sintetizar nanopartículas nZVI sigue un enfoque “*bottom up*” (Machado et al., 2015; Yan et al., 2010). El método tradicional involucra la reducción de Fe(II)/Fe(III) utilizando borohidruro de sodio ( $NaBH_4$ ) (Machado et al., 2015). No obstante, se considera tóxico y peligroso debido a la generación de subproductos volátiles altamente dañinos para el ambiente (Iravani, 2011). El método de síntesis podría resultar inseguro y poco factible si se deseara replicar a nivel industrial (Mubayi et al., 2012; T. Wang, Jin, Chen, Megharaj, & Naidu, 2014).

Recientemente se han desarrollado mejores alternativas a la síntesis convencional, como la síntesis verde (Mubayi et al., 2012) o biosíntesis (Agarwal

et al., 2019; Wei et al., 2017). Consiste en el uso de extractos de plantas (Fazlzadeh et al., 2017), algas (Agarwal et al., 2019), hongos o bacterias (Agarwal et al., 2019; Saif et al., 2016). Estos extractos poseen compuestos fitoquímicos biológicamente activos con alta capacidad reductora (Kozma, Rónavári, Kónya, & Kukovecz, 2016).

En la síntesis de nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), se emplea una variedad de compuestos químicos como fenoles, flavonoides, proteínas o vitaminas (Fazlzadeh et al., 2017; Kozma et al., 2016). Son responsables tanto de la reducción del hierro como de la estabilización y protección de las nanopartículas (Fazlzadeh et al., 2017; Machado et al., 2015). La estabilización coloidal permite inhibir la aglomeración de las nanopartículas en su medio acuoso (Kozma et al., 2016).

Los compuestos fenólicos o polifenoles son los principales agentes reductores y estabilizantes en la síntesis de nanopartículas nZVI (Desalegn et al., 2019). El mecanismo de estabilización ocurre por la formación de complejos entre los grupos carboxilo o hidroxilo de los compuestos reductores y el hierro metálico de las nanopartículas (Z. Wang, 2013). Se ha reportado que la síntesis utilizando extractos de plantas es más estable, fácil y eficiente que la síntesis mediada por microorganismos (Iravani, 2011; Mubayi et al., 2012).

El fruto del aguacate (*Persea americana* Mill.) es un material biológico nativo de Centroamérica (Zaki et al., 2020). Es aprovechado en la industria alimenticia, farmacéutica y cosmética (Hurtado-Fernández, Fernández-Gutiérrez, & Carrasco-Pancorbo, 2018). Consta de tres partes: epicarpio (cáscara), mesocarpio (pulpa) y endocarpio (semilla) (Rosero et al., 2019).

El contenido fenólico se encuentra principalmente en el epicarpio (cáscara) (Rosero et al., 2019). Se han reportado altos rendimientos de extracción de polifenoles de la cáscara de aguacate por ultrasonido (Zaki et al., 2020). Esta técnica de extracción se basa en la cavitación de burbujas en el seno de la pared celular de la matriz vegetal, provocada por la generación de ondas ultrasonido (M. K. Khan et al., 2010).

En los últimos años se han diseñado estrategias para incrementar la eficiencia y velocidad de remoción de Cr(VI) utilizando nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) (Pasinszki & Krebsz, 2020). Entre ellas se encuentra el uso de compósitos (G. Liu et al., 2016; Pasinszki & Krebsz, 2020) o procesos electroquímicos avanzados (Pasinszki & Krebsz, 2020; Rahmani et al., 2015). Los métodos electroquímicos se consideran más eficientes y limpios (Rahmani et al., 2015).

Electro-Fenton es un proceso electroquímico de oxidación avanzada (AOP) basado en la producción de radicales de hidroxilo ( $\text{OH}^\bullet$ ) (Taha & Ibrahim, 2014). En esta reacción las nanopartículas nZVI participan como reductores y como catalizadores (Pasinszki & Krebsz, 2020). La reacción Fenton consiste en el aprovechamiento del poder oxidante del peróxido de hidrógeno por la adición de hierro cerovalente o ferroso ( $\text{Fe}^0/\text{Fe}^{2+}$ ) (Rahmani et al., 2015). Es utilizada para descomponer moléculas orgánicas (Pasinszki & Krebsz, 2020), pero también ha mostrado resultados satisfactorios en la remoción de compuestos inorgánicos como el Cr(VI) (Rahmani et al., 2015).

El objetivo de esta investigación es preparar nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) empleando un extracto del epicarpio de aguacate y utilizarlas en el proceso Electro-Fenton para mejorar la eficiencia de remoción de Cr(VI) en solución acuosa.

## **1.1. Determinación del problema**

La incontrolable descarga de residuos urbanos e industriales sobre las aguas superficiales supone un riesgo desvalorizado. A largo plazo puede conllevar consecuencias negativas para la salud humana (El-sayed, 2020).

La elevada concentración de metales pesados que transportan dichos residuos es uno de los focos de mayor peligrosidad, ya que algunos de estos compuestos pueden bioacumularse en los organismos vivos (El-sayed, 2020; Poguberović et al., 2016). El Cr(VI) tiene un efecto tóxico sobre la salud humana y los ecosistemas acuáticos debido a su fácil movilidad (Saha et al., 2011; Zhu et al., 2018). Puede provocar daños en el sistema respiratorio (D. A. Khan et al., 2013) o gastrointestinal (Rahmani et al., 2015). Industrias siderúrgicas, productoras de cemento o curtidoras de cuero son algunas que contribuyen con la acumulación del Cr(VI) en el ambiente (Saha et al., 2011).

A consecuencia de la enorme brecha educativa y de legislación sobre la calidad del agua en Guatemala, el problema pasa casi desapercibido entre la población. Esto lo convierte en un potencial riesgo medioambiental (Saha et al., 2011).

Según el Acuerdo Gubernativo 236-2006, la concentración máxima permisible para el cromo hexavalente en descargas de aguas residuales sobre cuerpos receptores es de 0.10 mg/L. Aunque, su monitoreo y control se consideran dudosos debido al incumplimiento de este y otros parámetros, evidenciándose en muchos de los cauces del país.

El desarrollo de nuevas tecnologías que permitan la remoción de contaminantes peligrosos en el agua ha crecido en los últimos años (El-sayed,

2020). El estudio de nanomateriales ha permitido su aplicación en procesos de remediación ambiental (El-sayed, 2020; Saif et al., 2016). Las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) han sido los materiales más utilizados debido a sus propiedades adsorbentes y reductoras (El-sayed, 2020). Para obtener estas nanopartículas se puede utilizar una síntesis verde o biosíntesis (Pasinszki & Krebsz, 2020). Con ello se elimina el uso de solventes tóxicos y se aprovecha el material biológico disponible en la naturaleza (Gómez-López et al., 2020).

En los procesos de remediación del agua se pueden emplear procesos electroquímicos avanzados para sustituir las metodologías tradicionales (Rahmani et al., 2015). El proceso Electro-Fenton puede permitir la degradación de una amplia gama de contaminantes difíciles de remover (Shokri, 2017). Utiliza hierro para incrementar el potencial oxidante del peróxido de hidrógeno (Rahmani et al., 2015). Debido a lo mencionado anteriormente, se busca estudiar la aplicación de las nanopartículas de hierro cerovalente en el proceso Electro-Fenton y determinar la eficiencia de remoción de Cr(VI).

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Nanomateriales

Los nanomateriales (NMs) se definen como aquellos materiales nanoestructurados con dimensiones que van desde 1 hasta 100 nm y se presentan en una variedad de formas y composiciones químicas (El-sherbiny & Salih, 2018).

Entre estos se encuentran los nanoadsorbentes, nanometales, nanocatalizadores, y nanofotocatalizadores (Nasrollahzadeh et al., 2021). Actualmente, están ganando importancia debido a su versatilidad en múltiples aplicaciones tecnológicas, a consecuencia de que a este nivel de la estructura los materiales presentan propiedades químicas, físicas y mecánicas totalmente distintas (Saleh, 2020), que mejoran el rendimiento de los procesos en comparación con los materiales de mayor tamaño (El-sherbiny & Salih, 2018; Saleh, 2020).

Dependiendo de los componentes químicos utilizados en la producción de los nanomateriales, pueden clasificarse en nanomateriales:

- Basados en carbono (CNMs)
- Basados en polímeros (PNMs)
- Basados en lípidos

- Basados en metales (MNMs)
- Basados en óxidos metálicos
- Nanomateriales magnéticos

Se pueden clasificar también según la naturaleza química: nanomateriales inorgánicos (como los metálicos) y nanomateriales basados en moléculas orgánicas (como los polímeros orgánicos) (Lu & Astruc, 2020).

## **2.2. Nanopartículas**

Dentro de los diversos campos de estudio de la nanotecnología y la nanociencia, uno de los temas más estudiados en el últimos años son las nanopartículas (Tesh & Scott, 2016). Las nanopartículas (NPs) son estructuras con dimensiones menores a los 100 nm, cuyas propiedades físicas y químicas difieren de sus conglomerados de gran tamaño (El-Sherbiny & Salih, 2018).

Las nanopartículas de mayor interés son nanomateriales basados en metales (MNMs). Estas poseen interesantes propiedades electrónicas que permiten aplicaciones útiles en áreas como la informática, óptica y catálisis (El-sherbiny & Salih, 2018). Las nanopartículas metálicas (NPs), han demostrado cierto potencial para la remediación ambiental, como el tratamiento del agua contaminada (Tesh & Scott, 2016), en donde se consideran una opción muy atractiva para la remoción o conversión de contaminantes tóxicos y peligrosos del agua (Nasrollahzadeh et al., 2021).

Los metales nobles como el oro, plata y platino son algunos tipos de nanopartículas cuyas aplicaciones han sido muy estudiadas en ramas de la

medicina y catálisis debido a sus propiedades antimicrobianas y reactividad (Jamkhande, Ghule, Bamer, & Kalaskar, 2019).

### **2.2.1. Propiedades físicas y químicas de las nanopartículas metálicas**

El tamaño nanométrico de las partículas brinda mejores propiedades físicas y químicas, como el incremento en el área superficial, alta reactividad, alta capacidad reductora y actividad catalítica, con relación a las de gran tamaño (Nasrollahzadeh et al., 2021; Wei et al., 2017). La alta relación área superficial-volumen que presentan define un incremento en la reactividad, ya que se permite un mayor contacto e interacción de las nanopartículas con las sustancias de interés (Nasrollahzadeh et al., 2021).

Las nanopartículas presentan ciertas propiedades específicas de acuerdo al tipo de metal que les permite ser funcionales en áreas del diagnóstico y tratamiento de enfermedades, o la remediación de suelos y agua (Jamkhande et al., 2019).

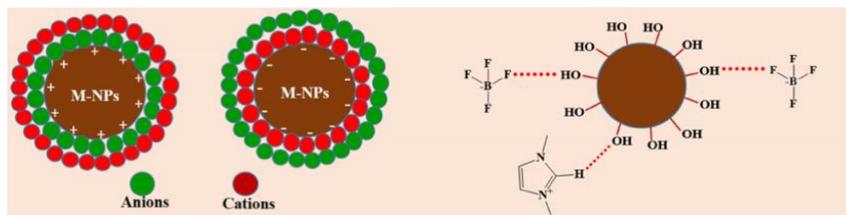
### **2.2.2. Estabilización de las nanopartículas metálicas**

El tamaño y morfología es influenciado por la estabilidad de los conglomerados de sus moléculas y la distribución de estos en su medio acuoso (Verma, Ebenso, & Quraishi, 2019). Las nanopartículas deben estar estabilizadas por un medio protector que genere fuerzas de dispersión hidrofóbica o electrostática (S. Liu et al., 2020). Si no existe ningún tipo de fuerza o interacción entre las nanopartículas metálicas puede ocasionarse su coagulación, donde tienden a acumularse entre sí para formar partículas de mayor tamaño (Ken & Sinha, 2020; X. Wang, Du, & Ma, 2016).

La funcionalización de la superficie de las nanopartículas se puede promover con la adición de algún agente (S. Liu et al., 2020; Verma et al., 2019). La funcionalización superficial se puede llevar a cabo con materiales orgánicos o inorgánicos que pueden dispersar las nanopartículas, por microemulsión con nanoesferas o repulsiones electrostáticas (Verma et al., 2019):

- Materiales orgánicos: se pueden emplear polímeros sintetizados, proteínas, polipéptidos, anticuerpos o ligandos (S. Liu et al., 2020; Saleh, 2020). Promueven la formación de coloides que estabilizan la nanopartícula por interacciones hidrofóbicas debido a los electrones libres que tienden a formar complejos con el metal (S. Liu et al., 2020).
- Materiales inorgánicos: como dióxido de silicio, que es inerte, no tóxico y biocompatible con diferentes grupos funcionales orgánicos, permitiendo su aplicación en catálisis o adsorción (S. Liu et al., 2020; Verma et al., 2019). Se pueden agregar óxidos o sulfuros metálicos, que forman capas protectoras a la nanopartícula, llamadas *Core-Shell* (S. Liu et al., 2020).

Figura 1. **Esquema de funcionalización superficial de nanopartículas metálicas (MNPs), por interacciones electrostáticas repulsivas**



Fuente: Verma, Ebenso, & Quraishi (2019). *Transition metal nanoparticles in ionic liquids: Synthesis and stabilization.*

La aplicación de un estabilizante que contribuya adecuadamente con la dispersión de las nanopartículas es un punto crítico en la formación de un tamaño y forma adecuado (S. Liu et al., 2020; Nasrollahzadeh et al., 2021). En la práctica, los polímeros y macromoléculas tienden a estabilizar mejor la nanopartícula. un mecanismo que puede esperarse cuando se realiza una biosíntesis (Nasrollahzadeh et al., 2021).

En algunas ocasiones puede ocurrir un fenómeno peculiar de estabilización, en el que se forman interacciones electrostáticas entre las moléculas dispersantes, e interacciones hidrofóbicas con las nanopartículas (Ken & Sinha, 2020; Verma et al., 2019). El fenómeno es generado por un efecto estérico, conocido como repulsión estérica-electrostática, similar a lo que sucede con las membranas biológicas (Ken & Sinha, 2020).

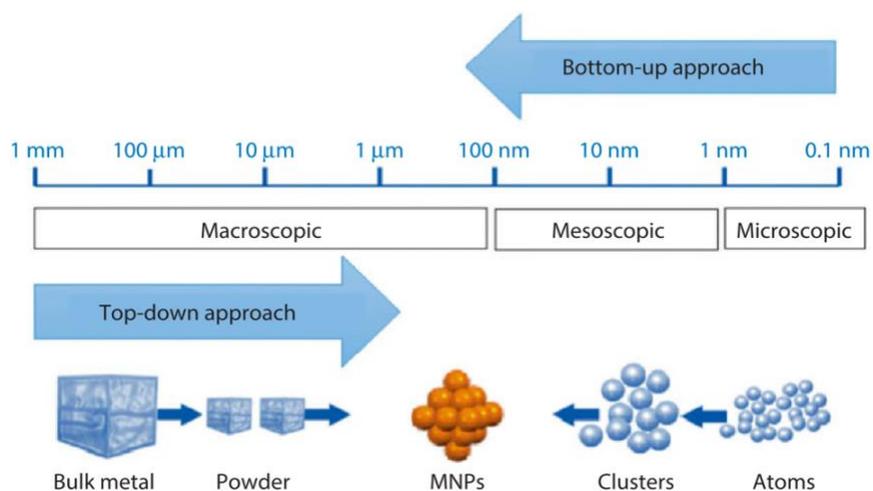
### **2.3. Síntesis de nanopartículas metálicas**

La síntesis de nanopartículas metálicas (MNPs) se puede clasificar en dos enfoques convencionales, que utilizan métodos físicos y químicos:

- Enfoque *Top-Down*: emplea una variedad de técnicas de distribución de metales de mayor volumen, por molienda, fresado o pulverización, para obtener partículas más finas hasta alcanzar el tamaño nanométrico (El-Sherbiny & Salih, 2018; Verma et al., 2019). Su principal desventaja es la posibilidad de obtener estructuras deformes que afectan las propiedades de las nanopartículas (El-sherbiny & Salih, 2018).
- Enfoque *Bottom-Up*: se inicia con una sal del metal precursor disuelta en un solvente adecuado, y por medio de una reacción de reducción química, se cristalizan las nanopartículas metálicas por nucleación (El-Sherbiny &

Salih, 2018; Verma et al., 2019). Se debe controlar el crecimiento de los cristales para obtener el tamaño, forma y estabilidad deseada de la nanopartícula (El-Sherbiny & Salih, 2018; Machado et al., 2015). Su principal desventaja es que algunas técnicas de este enfoque no se pueden replicar a nivel industrial (El-sherbiny & Salih, 2018).

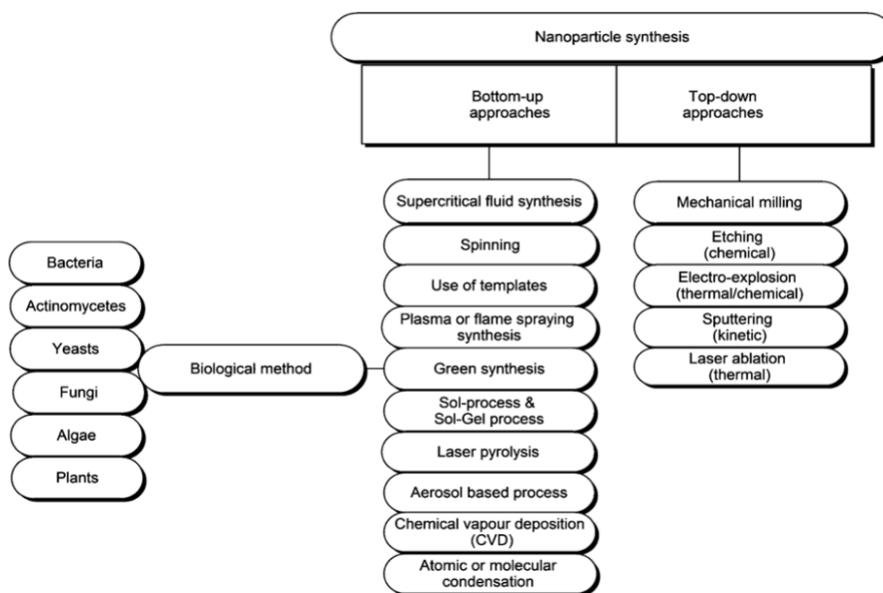
Figura 2. **Esquema de los enfoques *bottom-up* y *top-down* para la síntesis de nanopartículas metálicas**



Fuente: Elsherbiny, & Salih (2011). *Green synthesis of metallic nanoparticles using biopolymers and plant extracts.*

En el enfoque *bottom-up* se escogen los tres reactivos fundamentales: sal del metal precursor, agente reductor y agente protector de la superficie (El-Sherbiny & Salih, 2018; Gómez-López et al., 2020). Estos elementos controlan el potencial redox de la reacción, la morfología y estabilidad superficial en la formación de las nanopartículas, para obtener un crecimiento favorable (El-sherbiny & Salih, 2018).

Figura 3. Principales métodos de los diferentes enfoques de síntesis de nanopartículas metálicas: *bottom-up* y *top-down*



Fuente: Iravani (2011). *Green synthesis of metal nanoparticles using plants*.

### 2.3.1. Método de reducción química

Entre los diversos métodos *bottom-up*, es el más empleado para la síntesis de nanopartículas metálicas (Stefaniuk et al., 2016). Se parte de una sal del metal precursor para las nanopartículas en presencia de un surfactante, y se reduce por medio de diversos agentes reductores (El-sherbiny & Salih, 2018).

El agente reductor más común es el borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ) en solución acuosa (Jamkhande et al., 2019; G. Liu et al., 2016). Las nanopartículas formadas se protegen con citrato trisódico o lauril sulfato de sodio, que permiten una dispersión de los coloides particulados (Jamkhande et al., 2019).

Pero, una de las desventajas de este método son sus altos costos, la toxicidad de los agentes reductores y la generación de impurezas o subproductos volátiles y peligrosos para el ambiente (Jamkhande et al., 2019).

Uno de los métodos más prometedores cuya tendencia ha emergido recientemente en los estudios nanotecnológicos, es el método verde (*green synthesis*, en inglés) o biosíntesis (Girón-Vázquez et al., 2019; Jamkhande et al., 2019). Surgió con el fin de aprovechar la materia biológica para la síntesis de nanopartículas metálicas (Jamkhande et al., 2019).

### **2.3.2. Biosíntesis de nanopartículas metálicas de hierro**

Los métodos biológicos o verdes para sintetizar nanopartículas han ganado terreno como estrategias seguras, poco costosas y con menor generación de residuos tóxicos o peligrosos (Girón-Vázquez et al., 2019).

La biosíntesis o síntesis verde de nanopartículas metálicas son técnicas que involucran la aplicación de material biológico como microorganismos y sus enzimas, o productos metabólicos de plantas (Iravani, 2011; Jamkhande et al., 2019). Estas técnicas no involucran el uso de presiones y temperaturas altas, grandes cantidades de energía o solventes dañinos (Jamkhande et al., 2019).

La presencia de diferentes metabolitos primarios o secundarios en plantas y microorganismos se puede convertir en una fuente muy variada para la producción de nanoestructuras sustentables (Girón-Vázquez et al., 2019). Compuestos como flavonoides, terpenos, vitaminas, ácidos fenólicos, alcaloides o biomoléculas, pueden ser materia prima para llevar a cabo la reducción de las sales metálicas precursoras de las nanopartículas (Girón-Vázquez et al., 2019;

Nasrollahzadeh et al., 2021). Pueden actuar como como agentes estabilizantes de estas, y a su vez, mejorar la reactividad química (Girón-Vázquez et al., 2019).

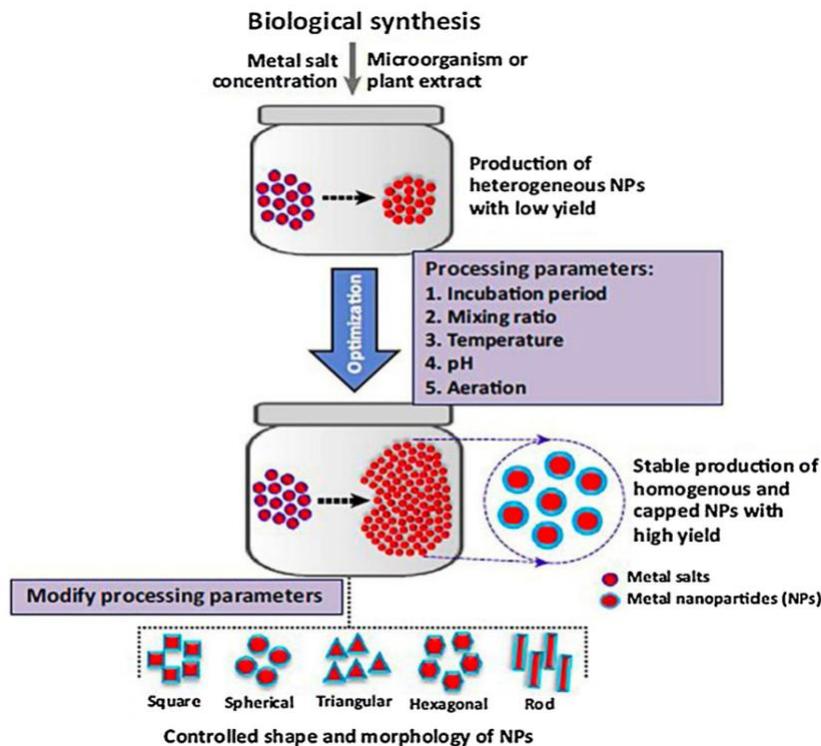
La síntesis de nanopartículas metálicas se puede agrupar en dos categorías principales, como:

- **Bioreducción:** en este método los iones metálicos son reducidos por los agentes con alta capacidad reductora presentes en plantas o microorganismos (Nasrollahzadeh et al., 2021). Se obtienen nanoestructuras relativamente estables e inertes, que pueden ser fácilmente purificadas (Jamkhande et al., 2019).
- **Biosorción:** en este método los cationes metálicos en medio acuoso se fijan a la pared celular de los organismos, en él se promueve la formación de nanopartículas debido a las interacciones peptídicas (Jamkhande et al., 2019).

Para el método de preparación de nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) se pueden emplear soluciones polifenólicas de extractos (Girón-Vázquez et al., 2019; Stefaniuk et al., 2016). El extracto preparado se separa del residuo y se mezcla con la solución de hierro(II), para su reducción a hierro cerovalente (Stefaniuk et al., 2016).

Algunos parámetros que determinan la formación estable de nanopartículas metálicas son el tiempo o período de incubación, el mezclado (para un crecimiento estable de los cristales), temperatura, pH y la aireación (Nasrollahzadeh et al., 2021).

Figura 4. Esquema de biosíntesis de nanopartículas metálicas: factores que afectan la formación de nanopartículas estables y dispersas



Fuente: Nasrollahzadeh, Sajjadi, Iravani, & Varma (2021). *Green-synthesized nanocatalysts and nanomaterials for water treatment: Current challenges and future perspective*.

Diversos estudios han empleado ciertas variedades de plantas, como hojas de eucalipto (T. Wang et al., 2014), roble, mora o cereza (Poguberović et al., 2016). Debido a su alta capacidad antioxidante, sus extractos pueden ser muy útiles para la formación de nanopartículas (Poguberović et al., 2016).

El aguacate (*Persea americana* Mill.) ha mostrado cierto potencial aprovechado para sintetizar nanopartículas (Girón-Vázquez et al., 2019), debido a su alto contenido de compuestos fenólicos antioxidantes (Melgar et al., 2018).

## 2.4. Aguacate (*Persea americana* Mill.)

El aguacate (*Persea americana*) es un árbol que pertenece a la familia de las *Lauraceae*, cuyo fruto posee un alto valor nutricional debido a la riqueza de aceites esenciales, carotenoides y polifenoles (Girón-Vázquez et al., 2019). Es también conocido como pera cocodrilo, fruta mantequilla o palta (Rajeshkumar & Rinitha, 2018). El fruto de aguacate está constituido principalmente por el epicarpio (cáscara), mesocarpio (pulpa) y endocarpio (semilla) (Rosero et al., 2019).

### 2.4.1. Taxonomía del aguacate

En la siguiente tabla se muestra información acerca de su clasificación taxonómica:

Tabla I. Taxonomía del fruto de aguacate

<b>Taxón o subfillo</b>	<b>Nombre</b>
<b>Reino</b>	Plantae
<b>Filo</b>	Tracheophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Laurales Juss.
<b>Familia</b>	Lauraceae Juss.
<b>Género</b>	<i>Persea</i> Mill.
<b>Especie</b>	<i>Persea americana</i> Mill.

Fuente: Hassler (2021). *Persea americana* Mill.

El aguacate es nativo de Centroamérica y México. Su facilidad para cultivarse en diferentes condiciones subtropicales ha permitido su esparcimiento por diferentes partes del mundo (Hurtado-Fernández et al., 2018; Melgar et al., 2018).

Se pueden diferenciar tres razas ecológicas: mexicano, guatemalteco y antillano, y cada uno posee algunas características interesantes. El aguacate guatemalteco es rígido y más pequeño, en comparación con los otros (Hurtado-Fernández et al., 2018; Rosero et al., 2019).

La calidad del fruto siempre es el resultado de complejas actividades metabólicas afectadas por factores ambientales como la temperatura, la disponibilidad de agua, luz y nutrientes (Hurtado-Fernández et al., 2018), lo que permite obtener ciertas variantes fenotípicas de la especie (Hurtado-Fernández et al., 2018; Rosero et al., 2019).

#### 2.4.2. Composición química del aguacate

El aguacate es una matriz muy compleja de compuestos químicos. Es muy apreciado por los ácidos grasos y vitaminas del mesocarpio, razón por la que es procesado industrialmente para obtener productos como aceites (Hurtado-Fernández et al., 2018; Jiménez-Velázquez et al., 2020).

Figura 5. Partes del fruto de aguacate



Fuente: Hurtado-Fernández, Fernández-Gutiérrez, & Carrasco-Pancorbo (2018). *Avocado fruit - persea americana*.

Uno de los principales componentes del aguacate son las grasas (entre las que predominan los ácidos grasos monoinsaturados, como el ácido oleico), y algunos ácidos grasos poliinsaturados y saturados (Hurtado-Fernández et al., 2018; Zaki et al., 2020). El contenido oleaginoso es el responsable del incremento en la rapidez de maduración. Todos estos compuestos se encuentran principalmente en el mesocarpio (Hurtado-Fernández et al., 2018).

Se hallan otros constituyentes como vitaminas E y C, pigmentos (como carotenoides, clorofilas y antocianinas), esteroides, compuestos fenólicos (Zaki et al., 2020) y azúcar-alcoholes de siete carbonos (Hurtado-Fernández et al., 2018).

La riqueza de componentes químicos permite que su consumo esté asociado con ciertos beneficios a la salud humana, como la reducción de los niveles de colesterol, control de la diabetes o prevención de cáncer (Hurtado-Fernández et al., 2018).

### **2.4.3. Propiedades del epicarpio de aguacate**

El epicarpio del aguacate se puede encontrar en diferentes colores, formas, texturas y contenido fitoquímico, dependiendo del genotipo (Hurtado-Fernández et al., 2018; Rosero et al., 2019). Es normalmente de color verde claro u oscuro, con una apariencia rugosa. Constituye el 12-16 % en peso del fruto seco, por debajo de la semilla que representa entre un 16-21 % en peso seco (Rosero et al., 2019). En la mayoría de los procesos industriales del aguacate (y su consumo), la cáscara o epicarpio de aguacate es desechada. Este tipo de desechos contiene sustancias que pueden aprovecharse, como los compuestos fenólicos (Jiménez-Velázquez et al., 2020).

Algunas de sus propiedades más importantes son su alta actividad antioxidante y potencial nutritivo, que son aprovechados para la manufactura de antifúngicos y cosméticos (Jiménez-Velázquez et al., 2020). Su actividad biológica es atribuida a compuestos fitoquímicos como los ácidos polifenólicos y los derivados de flavonoles. Este contenido es mayor en la cáscara y las semillas, ricos en ácidos hidroxibenzoico e hidroxicinámico (Rosero et al., 2019). A partir una recuperación metanólica se han podido extraer del epicarpio un 82 % de fenoles solubles, flavonoides y taninos condensables, con una baja concentración de antocianinas (Jiménez-Velázquez et al., 2020).

## **2.5. Metabolitos secundarios**

Los metabolitos secundarios son sustancias fitoquímicas, productos del metabolismo de las plantas, que no poseen una función directa en los procesos metabólicos fundamentales como la fotosíntesis o la respiración celular (Martín-Gordo, 2018).

Los metabolitos secundarios se clasifican en cuatro grandes grupos: terpenos, compuestos fenólicos, alcaloides y glucósidos. Los compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides son un grupo derivado del fenol (De Araújo, de Paulo Farias, Neri-Numa, & Pastore, 2020; Martín-Gordo, 2018).

### **2.5.1. Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos son sustancias químicas cuya estructura está constituida por un anillo aromático sustituido por uno o más grupos hidroxilo. Se dividen en flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos y lignanos (De Araújo et al., 2020; Xu, Wang, Pu, Tao, & Zhang, 2017).

La biosíntesis de compuestos fenólicos inicia en la ruta del ácido shikímico, mediante el acoplamiento entre el fosfoenolpiruvato y la D-eritrosa-4-fosfato, para producir ácido 3-deoxi-D-arabino-heptusolónico-7-fosfato (DAHP) (Martín-Gordo, 2018).

La abundancia de compuestos fenólicos en plantas ha recibido la atención en el transcurso de los años (Magiera & Zaręba, 2015), debido a sus efectos antioxidantes, antimicrobianos, anticancerígenos, antiinflamatorios y bioactivos en la prevención de enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer (Magiera & Zaręba, 2015; Xu et al., 2017).

#### **2.5.1.1. Flavonoides**

Los flavonoides son moléculas constituidas por 15 átomos de carbono, arreglados en tres anillos aromáticos en forma de heterociclo, compuestos en una secuencia C6-C3-C6 y unidos por un puente de carbono (Xu et al., 2017).

Los diferentes sustituyentes en el anillo puente determinan una gama de compuestos con diferentes propiedades. Entre estos se encuentran seis subgrupos: flavonas, flavonoles, isoflavonas, flavanonoles y antocianinas (Xu et al., 2017).

Están distribuidos principalmente en frutas y vegetales. Se han caracterizado más de 6000 flavonoides y representan la mayor proporción de metabolitos secundarios en la naturaleza (Magiera & Zaręba, 2015).

### **2.5.1.2. Ácidos fenólicos**

Comprenden una serie más compleja de compuestos fenólicos en plantas. Se pueden dividir en dos subgrupos: ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxicinámicos (Rosero et al., 2019; Xu et al., 2017).

Los ácidos hidroxibenzoicos están basados en estructuras de anillo aromático sustituido por un grupo carboxilo en forma C6-C1 (como el ácido gálico o vainílico) (Xu et al., 2017). Los ácidos hidroxicinámicos poseen cadenas de tres carbonos unidos al anillo aromático en forma C6-C3 (como el ácido cumárico o cafeico) (Rosero et al., 2019; Xu et al., 2017). Forman parte de la dieta en el consumo humano y juegan un papel muy importante en la prevención de enfermedades terminales (Aires, 2017; Xu et al., 2017).

### **2.5.1.3. Taninos**

Son compuestos fenólicos de alto peso molecular. Al igual que los ácidos fenólicos, se dividen en dos subgrupos: taninos hidrolizables y taninos condensados (Aires, 2017; Xu et al., 2017).

Los taninos hidrolizables son derivados de ácido gálico, divididos en galotaninos y elagitaninos. Mientras que los taninos condensados son oligómeros o polímeros del monómero flavan-3-ol (Xu et al., 2017). Poseen un alto potencial quelante con iones metálicos, y demuestran cierta capacidad como agentes de precipitación de proteínas y antioxidantes biológicos (De Araújo et al., 2020; Xu et al., 2017).

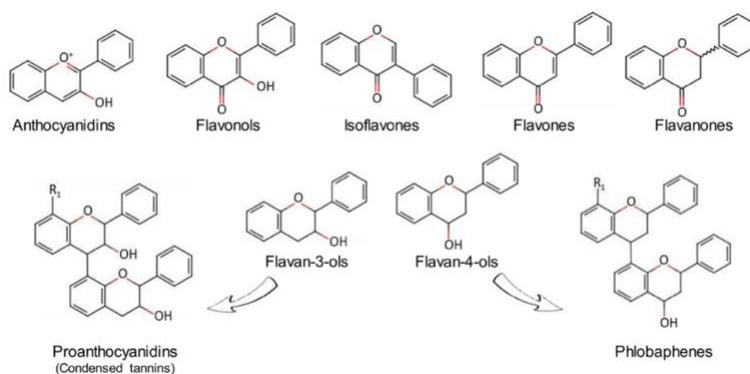
#### 2.5.1.4. Estilbenos

Se encuentran entre la menor proporción de compuestos fenólicos hallados en la naturaleza (Corso, Perreau, Mouille, & Lepiniec, 2020; Kozma et al., 2016). Constan de un núcleo de 1,2-difeniletieno sustituido con algunos hidroxilos. Presentan isomería cis-trans, y se encuentran en diversas especies vegetales como uvas o almendras, entre los que destaca el resveratrol (Xu et al., 2017).

#### 2.5.1.5. Lignan

Estos son compuestos que constan de dos unidades de fenil-propano, en forma de dos anillos fenólicos unidos por cadenas simples, productos de la dimerización oxidativa. Es muy común hallarlos en semillas, granos y cereales (Xu et al., 2017).

Figura 6. Estructura de algunos compuestos fenólicos: flavonoides



Fuente: Corso, Perreau, Moille, & Lepiniec (2020). *Specialized phenolic compounds in seeds: structures, functions, and regulations.*

## **2.6. Métodos de extracción de compuestos fenólicos**

La amplia variedad de compuestos fenólicos hallados en matrices biológicas como frutas, vegetales, algas permite su potencial estudio e interés para ser extraídos y utilizados (Aires, 2017; Iravani, 2011).

Definir un método de extracción puede significar diversos pasos debido a su estructura química. Estos se encuentran libres, polimerizados, acoplados o asociados en mezclas complejas con biomoléculas (Aires, 2017). El primer paso en la identificación y determinación de compuestos fenólicos es la extracción. Se utilizan desde métodos convencionales de extracción sólido-líquido hasta métodos más avanzados que aplican procedimientos verdes (Xu et al., 2017).

### **2.6.1. Métodos convencionales de extracción**

Los métodos clásicos o convencionales de extracción de polifenoles incluyen el uso técnicas como la maceración, percolación o la extracción Soxhlet:

- **Maceración:** el procedimiento consta de la aplicación de un solvente a la muestra de interés, rompiendo las paredes celulares. Pero requiere mucho tiempo y altos volúmenes de solvente (Aires, 2017; Xu et al., 2017).
- **Percolación:** se coloca la muestra en un contenedor cilíndrico cerrado y a través de la aplicación de un solvente, gota a gota, se recolecta el líquido con los componentes extraídos (Aires, 2017).
- **Extracción Soxhlet:** es una técnica en la que se coloca la muestra dentro de una bolsa porosa a través de un reflujo con un solvente a altas temperaturas (Aires, 2017; Xu et al., 2017). Tiene la desventaja de que

ciertos componentes no son termolábiles y pueden destruirse, disminuyendo el rendimiento de la extracción (Aires, 2017).

La elección del solvente es el paso determinante, ya que debe coincidir con la polaridad y miscibilidad de los componentes fitoquímicos con el solvente (Aires, 2017; Xu et al., 2017). Debido a la diversidad de compuestos fenólicos presentes en muestras biológicas, resulta conveniente utilizar mezclas acuosas y orgánicas de solventes para incrementar la eficiencia de extracción (Aires, 2017).

### **2.6.2. Métodos avanzados de extracción**

Entre los métodos avanzados de extracción de compuestos fenólicos más comunes, se encuentran:

- Extracción asistida por ultrasonido (UAE): se basa en sonicación o producción de ondas sonoras que generan burbujas de cavitación en los tejidos de muestras vegetales, permitiendo la extracción de los metabolitos (Xu et al., 2017).
- Extracción asistida por microondas (MAE): se basa en la aplicación de energía térmica transmitida por microondas sobre la matriz vegetal. La energía es absorbida por varios compuestos y las moléculas de agua (Xu et al., 2017; H. F. Zhang, Yang, & Wang, 2011). El incremento de la energía interna provoca una ruptura de la pared celular, lo que facilita la transferencia de los metabolitos secundarios al solvente (H. F. Zhang et al., 2011).

- Extracción con fluidos supercríticos (SFE): se basa en la aplicación de dióxido de carbono a condiciones supercríticas. Extrae a los compuestos no polares compatibles con el dióxido de carbono (Verma et al., 2019; Xu et al., 2017). Es costoso en comparación con otros métodos de extracción, a pesar de consumir menos compuestos tóxicos (Xu et al., 2017).
- Extracción con fluidos presurizados (PFE): también conocido como extracción de solvente acelerado (ASE) (Aires, 2017; Rodríguez-Carpena, Morcuende, Andrade, Kylli, & Estévez, 2011). Se utiliza un solvente a una alta temperatura y presión para mejorar la solubilidad y desorción de moléculas, e incrementar la extracción de polifenoles desde la matriz vegetal (Aires, 2017).
- Extracción asistida por enzimas (EAE): se basa en la aplicación de enzimas sobre la matriz vegetal. Estas provocan lisis de las paredes celulares, lo que facilita la extracción de componentes celulares (Aires, 2017).

En ciertas circunstancias se pueden combinar métodos de extracción para obtener diferentes tipos de polifenoles, debido a las ventajas y desventajas de cada método por separado (Aires, 2017; Xu et al., 2017).

Tabla II. **Métodos de extracción de compuestos fenólicos**

<b>Método de extracción</b>	<b>Aplicación</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<b>SLE (convencional)</b>	De uso general	Es simple, fácil y versátil	Necesita altas cantidades de solventes, baja eficiencia y largos períodos de extracción
<b>UAE</b>	De uso general	Es sencillo, fácil, eficiente, económico y versátil	Su escalamiento a nivel industrial es muy costoso
<b>MAE</b>	Para compuestos fenólicos térmicamente estables	Consumo menor cantidad de solventes y tiempo, y se extraen más antioxidantes	Si no se opera adecuadamente puede ocurrir degradación en el extracto
<b>SFE</b>	Para compuestos fenólicos no polares	Mejora la seguridad y selectividad, y se previenen daños por oxidación	No se extraen compuestos fenólicos polares y requiere altos costos de inversión
<b>PFE</b>	Para compuestos fenólicos térmicamente estables	Requiere bajas cantidades de solvente, y es más rápida	Necesita trabajar a alta temperatura y presión

Fuente: elaboración propia con datos de Xu, Wang, Pu, Tao, & Zhang (2017). *Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials*.

### **2.6.3. Principios de la extracción asistida por ultrasonido (UAE)**

La tecnología de extracción asistida por ultrasonido (UAE) implica la sonicación de una matriz vegetal. Se basa en la generación de ondas sonoras que provocan burbujas de cavitación en la vecindad de las paredes celulares (M. K. Khan et al., 2010; Xu et al., 2017). Cuando la burbuja colapsa en la superficie de la pared celular causa la hinchazón o lisis, lo que permite la difusión de su contenido a través de la pared (M. K. Khan et al., 2010).

El rendimiento de la extracción es afectado por factores como el tiempo de sonicación, la temperatura, la presión, la frecuencia y distribución de las ondas, la potencia de sonicación, el solvente y la muestra (M. K. Khan et al., 2010; Xu et al., 2017). Para la extracción de compuestos fenólicos se debe considerar el burbujeo de un gas inerte a la mezcla, como nitrógeno o argón, para minimizar la oxidación de las especies (Vinatoru et al., 2017). El gas permite reducir la oxidación al disminuir la energía de los impactos por cavitación (Vinatoru et al., 2017).

El metanol es el solvente más adecuado para obtener altos rendimientos de extracción de compuestos fenólicos en diferentes matrices vegetales. (M. K. Khan et al., 2010; Xu et al., 2017).

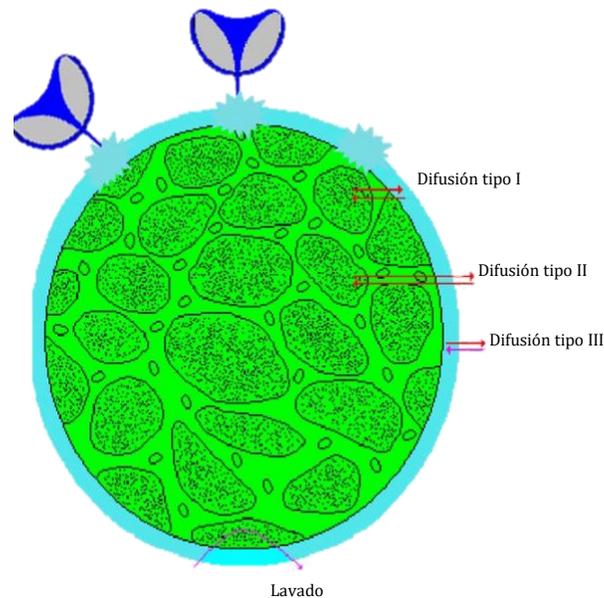
#### **2.6.3.1. Mecanismo de extracción**

La sonicación de extractos permite la generación de burbujas de impacto asimétricas, como pequeños jet-martillo. El proceso puede tomar lugar en cuatro mecanismos de difusión, según la capa que deben atravesar los componentes (Vinatoru et al., 2017).

- La difusión tipo I ocurre entre los componentes internos y la capa límite de solvente que rodea la partícula (Vinatoru et al., 2017).
- La difusión tipo II ocurre por la transferencia directa desde los componentes hasta el solvente (Vinatoru et al., 2017).
- La difusión tipo III ocurre entre la capa límite de solvente que rodea la partícula y el solvente (Vinatoru et al., 2017).

- Puede ocurrir un lavado o enjuague del contenido celular (Vinatoru et al., 2017).

Figura 7. **Mecanismos de extracción por UAE**



Fuente: Vinatoru, Mason, & Calinescu, (2017). *Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials.*

## 2.7. **Métodos de análisis de compuestos fenólicos**

La gran diversidad de métodos existentes, tanto para la cuantificación como para la caracterización estructural, define una amplia capacidad para determinar la presencia de estos compuestos en diversas matrices vegetales (Corso et al., 2020).

### **2.7.1. Espectrofotometría UV-Visible**

Es una técnica relativamente sencilla para determinar y cuantificar una diversidad de metabolitos en plantas, basado en el principio de absorción de luz ultravioleta irradiada a la muestra (Granato, Santos, Maciel, & Nunes, 2016).

El ensayo más conocido es el de Folin-Ciocalteu (FC). Emplea un reactivo de una mezcla de ácido fosfomolibdico y fosfotúngstico para producir iones de molibdato y tungsteno (Granato et al., 2016; Muñoz-Bernal et al., 2017). La reacción se lleva a cabo a condiciones de pH alcalino, con el fin de ionizar el compuesto fenólico a su forma ácida de fenolato. Este último reduce al reactivo de Folin-Ciocalteu a través de una reacción rédox (Granato et al., 2016).

El método determina la cantidad fenólica o el contenido de taninos condensados. Se lleva a cabo a una longitud de onda de 760-765 nm, debido a la formación de un cromóforo azul (Aires, 2017; Muñoz-Bernal et al., 2017). El ensayo tiene la desventaja de que el reactivo utilizado para la detección no es específico solamente para polifenoles, sino que reacciona con otras sustancias como ácido ascórbico, pigmentos, aminas o azúcares reductoras (Aires, 2017).

### **2.7.2. Cromatografía**

El fundamento de estas técnicas se basa en la separación física o química de cada uno de los componentes presentes en una muestra disuelta de polaridad compatible, llamada fase móvil (Magiera & Zaręba, 2015). Al pasar a través de una fase estacionaria sólida, debido a las diferencias en las propiedades de separación de las moléculas presentes, presentarán variabilidad en la elución o retención en una de las dos fases (Aires, 2017; Xu et al., 2017). La cromatografía, en general, para la identificación de compuestos fitoquímicos, se clasifica en:

- Cromatografía de gases (GC): es útil para la identificación y cuantificación de compuestos fenólicos como taninos, flavonoides o antocianinas. Los compuestos se separan según sus diferencias de volatilidad (Aires, 2017).

La columna se encuentra vinculada a un detector de ionización de llama. También se puede acoplar un detector de espectrometría de masas (MS) para mejorar la selectividad y sensibilidad (Aires, 2017; Xu et al., 2017).

- Cromatografía líquida (LC): dentro de estas se encuentra la Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC). Permite separar, caracterizar y cuantificar, con mejor selectividad y eficiencia el contenido total de flavonoles (Aires, 2017; Granato et al., 2016).

Utiliza un solvente presurizado como fase móvil que porta la muestra vegetal. A través de su paso por una columna rellena con material adsorbente permite la separación, basada en las diferencias de retención (Aires, 2017). Cuando se acopla un detector UV se pueden determinar múltiples flavonoides y ácidos fenólicos (X. Zhang, Zhou, Liu, Li, & Whang, 2016). Un detector de espectrometría de masas (MS) permite identificar numerosos polifenoles y provee información estructural acerca de estos. Es uno de los detectores más sensibles (López-Cobo et al., 2016; Xu et al., 2017).

- Cromatografía de capa fina (TLC): utiliza una placa adsorbente dentro de una cámara de una mezcla de solventes. Permite separar los compuestos debido a diferencias de polaridad, según sus distancias recorridas (Xu et al., 2017).

Existen otras técnicas que pueden ser útiles para separar compuestos fenólicos, como la cromatografía de ultra resolución (UPLC), cromatografía en columna de adsorción o cromatografía de intercambio iónico (Aires, 2017; Xu et al., 2017).

### **2.7.3. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-MS)**

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada con un detector de masas (MS) es una técnica muy avanzada con alta sensibilidad y selectividad (Xu et al., 2017). Permite la detección de un amplio rango de compuestos fenólicos en sus diferentes formas isoméricas: glicosilados y libres (Navarro et al., 2019). Puede proveer información estructural acerca de los compuestos presentes en la muestra (Navarro et al., 2019; Xu et al., 2017).

La presencia de polifenoles se puede verificar mediante la absorbancia característica de cada componente, la medición de la masa del ion pseudomolecular  $[M - H]^-$  o mediante información previamente publicada (Rosero et al., 2019).

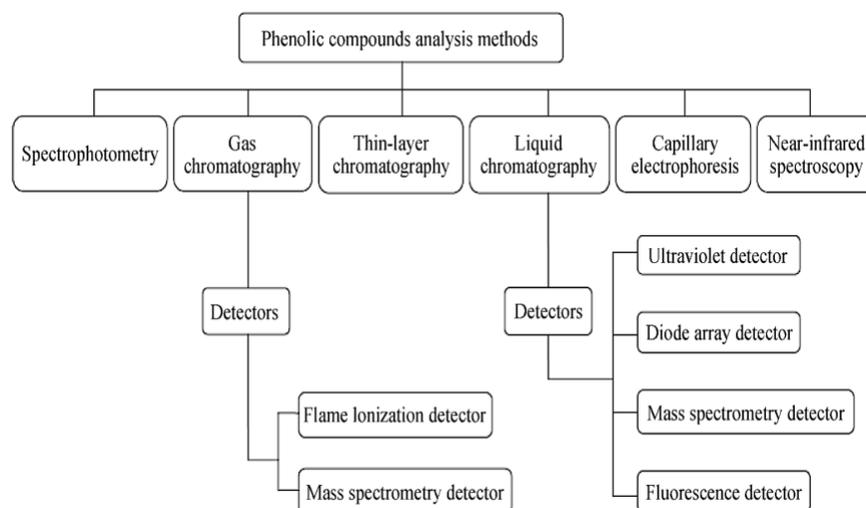
### **2.7.4. Espectrometría infrarroja**

El espectrometría infrarroja (IR) y la espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) son técnicas analíticas utilizadas para caracterizar diferentes compuestos orgánicos presentes en extractos de plantas (Johnson, Mani, Ashwath, & Naiker, 2020; Patle et al., 2020).

Es un ensayo no destructivo que se basa en la detección de diferentes grupos funcionales como alcoholes, ácidos carboxílicos o carbohidratos, dentro de la región infrarroja del espectro electromagnético (4000-400  $\text{cm}^{-1}$ ) (Patle et al.,

2020). Los estiramientos que los grupos O-H y C-H presentan a una frecuencia de 3700-2500  $\text{cm}^{-1}$  que permiten detectar la presencia de fenoles en matrices biológicas. Es muy útil para identificar ácidos fenólicos, flavonoles o flavonas (Patle et al., 2020; Xu et al., 2017).

Figura 8. **Resumen de métodos de análisis de compuestos fenólicos**



Fuente: Xu, Wang, Pu, Tao, & Zhang (2017). *Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials*.

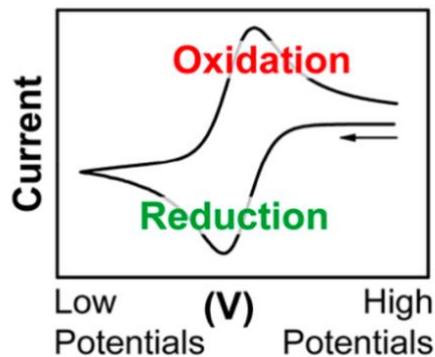
### 2.7.5. Voltametría cíclica (CV)

La voltametría cíclica (*Cyclic Voltammetry*, CV, en inglés) es una técnica electroquímica utilizada para la determinación de los potenciales de reducción y oxidación de ciertas especies moleculares (Elgrishi et al., 2018). Los polifenoles o compuestos fenólicos son compuestos electroactivos. Al aplicar voltametría

cíclica a los extractos fenólicos se pueden trazar los potenciales del sistema de óxido-reducción (Makhotkina & Kilmartin, 2012).

La voltametría cíclica es muy utilizada por su alta sensibilidad, rapidez, simplicidad y versatilidad para los análisis electroquímicos de diversas soluciones químicas (Keffous et al., 2016). Los voltamogramas son los gráficos obtenidos por voltametría cíclica. El eje x representa el potencial aplicado y el eje y la corriente resultante (Elgrishi et al., 2018). En la Figura 9 se muestra la convención de medición recomendada por la IUPAC.

Figura 9. **Voltamograma cíclico según IUPAC**



Fuente: Elgrishi, Rountree, McCarthy, Rountree, Eisenhart, Dempsey (2018). *A practical beginner's guide to cyclic voltammetry*.

El sistema siempre consta de tres electrodos. El electrodo de trabajo es generalmente de carbón vítreo. El electrodo de referencia es de  $\text{Ag}^+/\text{Ag}$  (Elgrishi et al., 2018). Y el electrodo de medición es de carbón (Elgrishi et al., 2018) o platino (Makhotkina & Kilmartin, 2012). Factores como el rango de potencial, el número de ciclos o la velocidad de escaneo son importantes en una medición voltamétrica (Elgrishi et al., 2018).

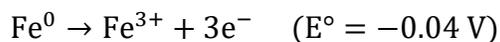
### **2.7.6. Voltametría de onda cuadrada (SWV)**

La voltametría de onda cuadrada (o *Square Wave Voltammetry*, SWV, en inglés), es una técnica electroquímica basada en el escaneo de los picos de oxidación o reducción de las especies electroactivas al suministrar corriente en pulsos negativos y pulsos positivos (Newair, Kilmartin, & Garcia, 2018). Esta técnica también ha sido utilizada para la caracterización de polifenoles y su capacidad antioxidante debido a un menor consumo de especies electroactivas, mayor rapidez para análisis y menores problemas de envenenamiento de electrodos (Newair et al., 2018).

### **2.8. Nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI)**

Las micro y nanopartículas de hierro cerovalente son formas elementales del hierro metálico a micro y nano tamaño (Mukherjee, Kumar, Sinha, Lama, & Saha, 2016; Raman & Kanmani, 2016). Poseen una gran área superficial, alta reactividad y comportamiento reductor. Se han utilizado ampliamente en la remoción de polutantes en el ambiente (Raman & Kanmani, 2016).

El hierro cerovalente ( $\text{Fe}^0$ ) es una fuente excelente para la reducción de numerosas reacciones químicas, actuando como donador de electrones (Y. Liu & Wang, 2019), de acuerdo con la siguiente reacción de óxido/reducción:



Donde  $E^\circ$  el potencial de reducción estándar. En comparación con otros metales, es menor. Esto le permite actuar como agente reductor en presencia de diferentes metales, como arsénico o cromo (Poguberović et al., 2016; Yan et al., 2010).

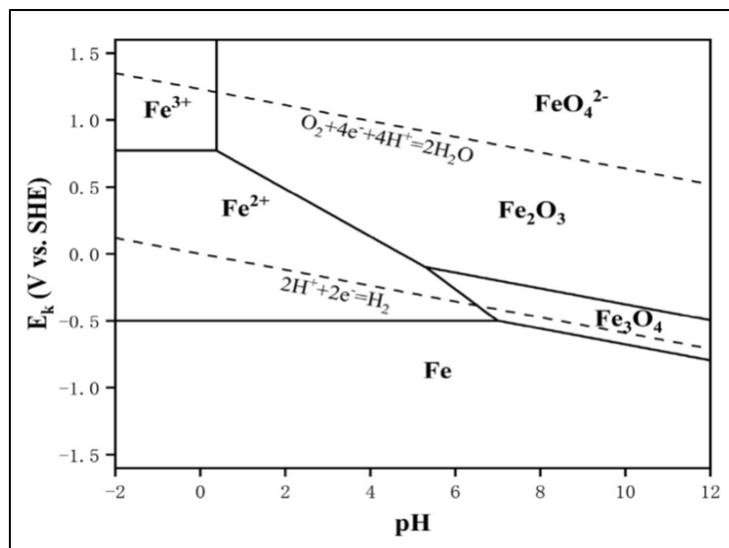
En condiciones ambientales, se oxida a  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , permitiendo la formación de óxidos de hierro como el  $\text{FeO}$  o  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (Y. Liu & Wang, 2019).

### 2.8.1. Efecto del pH

Las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), se ven afectadas por el pH del medio en la que se encuentren debido a la formación de óxidos de hierro, fenómeno conocido como corrosión (Y. Liu & Wang, 2019; Raman & Kanmani, 2016).

Este efecto se puede explicar a través del diagrama de Pourbaix (Figura 10), que correlaciona la especie de hierro con el pH y su potencial de óxido-reducción (Y. Liu & Wang, 2019).

Figura 10. Diagrama de Pourbaix del hierro a condiciones estándar



Fuente: Liu & Wang (2017). *Reduction of nitrate by zero valent iron (ZVI)-based materials: A review.*

### **2.8.2. Características de las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI)**

Las propiedades estructurales de las partículas de nZVI, como su tamaño y área superficial pueden variar dependiendo de las condiciones de síntesis (Raman & Kanmani, 2016). El tamaño típico de las nZVI se encuentra entre 10 y 100 nm. Mientras más pequeñas tendrán una mayor relación área superficial-volumen, y por lo tanto una mayor superficie reactiva (Yirsaw et al., 2016). La morfología superficial de las nano partículas incluye una forma aflorada y esférica, altamente dispersas. Se pueden conseguir formas más cristalinas como cuasiesferas o cadenas (Y. Liu & Wang, 2019). Algunos de los potenciales beneficios que brindan, son:

- Fuertes propiedades de adsorción, reactividad y movilidad
- Capacidad de regeneración y reusabilidad
- Provee mejoras en el tratamiento de contaminantes en agua y suelos
- Compatible con otros enfoques de tratamiento, es decir, puede remover tanto compuestos orgánicos como inorgánicos.
- Altamente efectivos y apropiados para la degradación de patógenos.

Presentan ciertos problemas como aglomeración de algunas partículas que no fueron superficialmente modificadas. Su alta reactividad con el oxígeno ambiental puede provocar corrosión (Ken & Sinha, 2020).

## **2.9. Caracterización de nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI)**

Las técnicas instrumentales más utilizadas para el análisis de la morfología, tamaño y otras características de la nanopartículas metálicas son las del tipo óptico, como la microscopía electrónica (Mukherjee et al., 2016).

### **2.9.1. Microscopía electrónica**

El análisis de la morfología de las nanopartículas de hierro cerovalente, se puede llevar a cabo por medio de Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM). La técnica puede determinar la forma, distribución y tamaño de las partículas (Mukherjee et al., 2016; Taha & Ibrahim, 2014).

Se puede acoplar con un espectrómetro de Energía Dispersiva de Rayos X (EDX), para identificar su composición elemental (Iravani, 2011). Las características superficiales y la textura formada entre las nanopartículas se puede visualizar por medio de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) (Taha & Ibrahim, 2014).

### **2.9.2. Difracción de rayos X**

La difracción de rayos X (XRD), es una técnica muy útil para la evaluación de la estructura cristalina de las nanopartículas (Guo et al., 2020; Meva et al., 2019). Los difractogramas de nanomateriales pueden brindar información acerca de la composición de las fases, el tamaño del cristal, la red cristalina o la orientación cristalográfica (Meva et al., 2019).

La ley de Bragg relaciona la longitud de onda ( $\lambda$ ) incidida y reflectada por los planos atómicos de separación  $d$  y el ángulo de difracción ( $\theta$ ) (Meva et al., 2019).

$$2d \sin \theta = n\lambda$$

Del ángulo obtenido por un análisis de difracción de rayos X permite determinar el tamaño promedio del cristalito, por medio de la ecuación de Scherrer (Meva et al., 2019).

$$D_v = \left( \frac{K\lambda}{\beta} \right) \cos \theta$$

Donde  $D_v$  es el tamaño promedio del cristal,  $K$  es una constante o factor de forma adimensional,  $\lambda$  es la longitud de onda de  $\text{Cu-K}\alpha$  y  $\beta$  es la anchura a media altura (FWHM), de los picos de difracción a un ángulo de Bragg  $\theta$  (Meva et al., 2019).

Cada uno de los picos que se obtienen en el difractograma pueden asociarse a las especies que se forman alrededor de la estructura, antes y después de una reacción. Generalmente se forman especies de  $\text{FeO}$ ,  $\text{FeOOH}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (Guo et al., 2020).

Se pueden detectar cambios en la composición y tamaño de las partículas como resultado de su síntesis. Cuando se alcanza una buena formación de la fase cristalina del hierro metálico se visualizan elongaciones finas y largas (Yuvakkumar, Elango, Rajendran, & Kannan, 2011).

### **2.9.3. Refinamiento de Rietveld**

Al realizar un análisis de difracción de rayos X de polvos se puede aplicar el método de Rietveld. Consiste en un refinamiento paramétrico de las estructuras cristalinas (Pereira, Costa, Souza, Haddad, & Ferreira, 2018). El método permite obtener refinamientos de los picos del difractograma, mejorando los resultados obtenidos por difracción de rayos X (Lal et al., 2019). Permite brindar más información acerca del tamaño de cristal y su estructura cristalina (Pereira et al., 2018).

Con el refinamiento de Rietveld se consiguen no solo mejorar el patrón de difracción, sino también cuantificar las fases presentes en la nanopartícula o cristal (Lal et al., 2019; Pereira et al., 2018).

### **2.9.4. Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier**

A través de un análisis de Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) se identifican las interacciones entre las biomoléculas del extracto asociadas a las nanopartículas de hierro (Rajeshkumar & Rinitha, 2018).

Se puede detectar la presencia de grupos fenoles, carboxilos, carbonilos y especies asociadas directamente con el hierro metálico. Se pueden también identificar los estiramientos de los enlaces Fe-O o FeOOH (Guo et al., 2020).

### **2.9.5. Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X**

Se puede determinar la composición superficial de las nanopartículas de hierro mediante espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS). Alcanza una profundidad de análisis de menos de 10 nm (Mukherjee et al., 2016).

### **2.9.6. Dispersión de luz dinámica**

Uno de los métodos más comunes para analizar la distribución de los tamaños de partícula dentro de una matriz o suspensión es el análisis por dispersión de luz dinámica (DLS) (Meva et al., 2019; Wei et al., 2017).

Se basa en el análisis de la intensidad de las fluctuaciones de luz dispersada por las nanopartículas como resultado de las interferencias entre las cargas superficiales o el movimiento por difusión de las mismas (Wei et al., 2017).

### **2.9.7. Potencial Zeta**

Mediante un espectrómetro electroacústico de potencial zeta ( $\zeta$ ) se puede analizar la carga superficial de las nanopartículas de hierro (Mukherjee et al., 2016; Wei et al., 2017).

La aplicación de un potencial eléctrico sobre la doble capa de cargas que rodea en forma coloidal la nanopartícula permite identificar la movilidad de los electrones e indicar su estabilidad (Wei et al., 2017). Una de sus desventajas es que es muy sensible a los cambios de pH y la fuerza iónica del medio (Mukherjee et al., 2016).

### **2.9.8. Microscopía de fuerza atómica (AFM)**

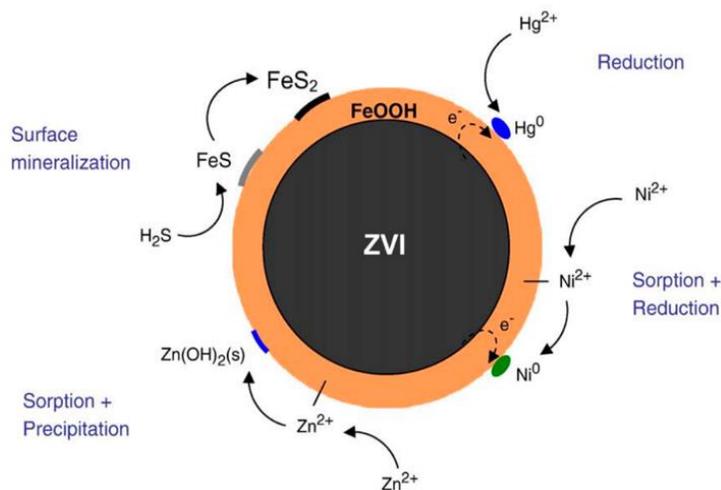
El barrido de la superficie de una muestra de nanopartículas por medio de microscopía de fuerza atómica permite recopilar información de las características topográficas que presentan las nanopartículas metálicas suspendidas en un medio suspendido (Arreche, Montes de Oca-Vásquez, Vega-Baudrit, & Vásquez, 2020). Además de obtener el patrón topográfico, un análisis

de AFM brinda información acerca del tamaño, distribución y forma de las nanopartículas (Arreche et al., 2020; Bagheri, Jafari, & Eikani, 2021).

## 2.10. Mecanismo para la remoción de contaminantes: *Core-Shell*

La aplicación de partículas de nZVI en el tratamiento de diversos polutantes se lleva a cabo por la formación de una estructura conocida como *Core-Shell*. Ocurre tanto en el tratamiento de agua como en suelos (Yan et al., 2010).

Figura 11. Esquema del *Core-Shell* de una nanopartícula nZVI

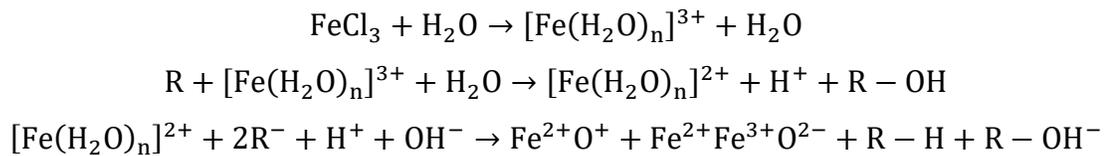


Fuente: Yan, Herzing, Kiely, & Zhang (2010). *Nanoscale zero-valent iron (nZVI): Aspects of the Core-Shell structure and reactions with inorganic species in water.*

Esta estructura es un complejo entre hierro, polifenoles e hidróxido de hierro y puede ser identificada mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) (Desalegn et al., 2019). Puede llegar a tener un diámetro de entre 20 y 45 nm (Saif et al., 2016).

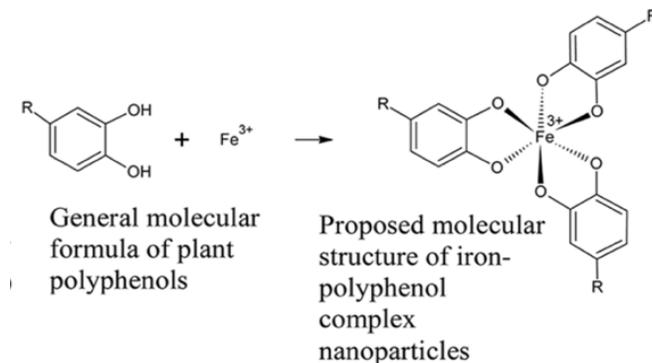
### 2.10.1. Formación de la estructura *Core Shell*

El proceso de biorreducción de la sal de hierro ( $\text{FeCl}_3$ ), para la formación de la estructura cerivalente se puede llevar a cabo mediante la siguiente reacción radicalaria (Saif et al., 2016):



Debido a la variedad de compuestos fenólicos en los extractos vegetales también puede ocurrir la formación de complejos entre el ion férrico y los polifenoles (Figura 12) (Saif et al., 2016).

Figura 12. **Formación de complejo polifenoles-nanopartículas de hierro**



Fuente: Wang (2013). *Iron complex nanoparticles synthesized by eucalyptus leaves.*

La formación de la estructura *Core-Shell* es producida mediante la quelación de los polifenoles y el hierro cerivalente de las nanopartículas (Saif et al., 2016). En interacción con el medio acuoso y diferentes compuestos metálicos

forma una interfase de adsorción y una de intercambio de electrones. Está constituida principalmente por hidróxido de hierro (Saif et al., 2016; Yan et al., 2010). Las reacciones rédox, adsorción o de coprecipitación son los principales mecanismos de remoción de contaminantes que se llevan a cabo con las nanopartículas nZVI (Mukherjee et al., 2016; Raman & Kanmani, 2016; Saif et al., 2016).

Los mecanismos de remoción son muy importantes para la reducción de oxidantes fuertes disponibles en el ambiente. Pueden ser compuestos clorados, pesticidas, bifenilos policlorados, aniones inorgánicos o metales pesados (Yirsaw et al., 2016).

### **2.11. Cromo hexavalente**

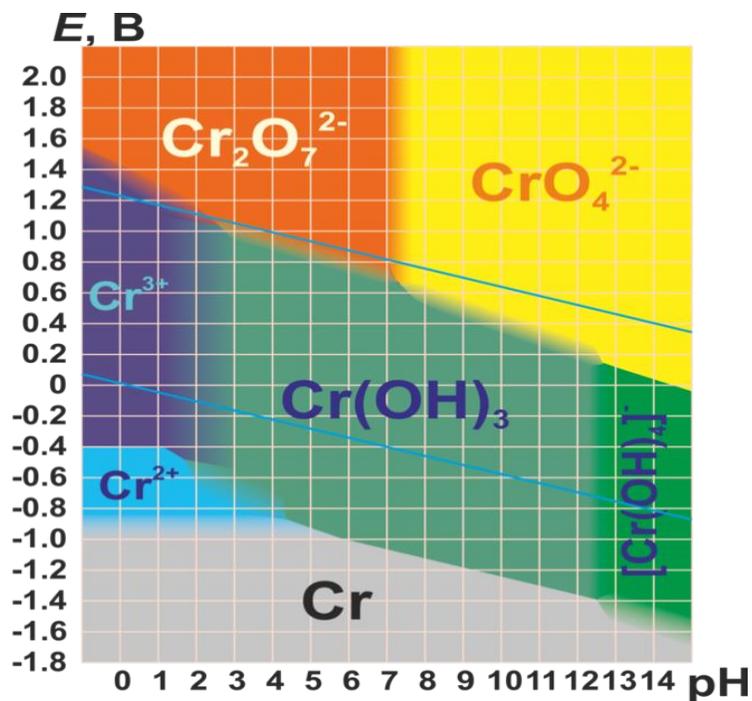
El cromo hexavalente (Cr(VI)), es un contaminante presente en los residuos de una variedad de industrias (Yan et al., 2010). Se puede movilizar a través los ciclos geoquímicos y biológicos de aguas subterráneas, suelos o ríos. Debido a su efecto cancerígeno y mutagénico puede provocar problemas en diversas especies, incluidos los humanos (Yirsaw et al., 2016). Su esparcimiento o liberación ocurre en industrias de siderurgia, cromado de metales, producción de pigmentos y textiles o curtido del cuero, en donde es desechado en grandes cantidades (Yan et al., 2010; Yirsaw et al., 2016).

Su solubilidad en agua es más alta que el cromo trivalente (Cr(III)), el cual es menos peligroso. Se encuentra mayormente en su estado tóxico. La reducción de Cr(VI) a Cr(III), es el enfoque de tratamiento más común en suelos y agua (Saha et al., 2011; Yirsaw et al., 2016). La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, basada en los efectos dermatológicos, definió que el estándar límite permisible de Cr en agua potable debe ser no más de 0.10 mg/L.

Por el contrario, otros países como Canadá, México o la OMS lo han definido como 0.05 mg/L (Barrera-Díaz et al., 2012).

El Cr(VI) puede existir en solución acuosa bajo diferentes formas: iones dicromato ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ), iones cromato ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ), ácido crómico ( $\text{H}_2\text{CrO}_4$ ) e hidrogenocromato ( $\text{HCrO}_4^-$ ). La distribución relativa de estas especies depende del pH, concentración de Cr(VI) y el potencial redox (Barrera-Díaz et al., 2012). La distribución y predominancia de cada especie se puede representar por medio del diagrama de Pourbaix, como el de la Figura 13. Este diagrama demuestra que la solubilidad del cromo es menor en su forma de hidróxido, cuando el pH es alcalino (Barrera-Díaz et al., 2012).

Figura 13. Diagrama de Pourbaix del cromo

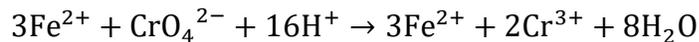
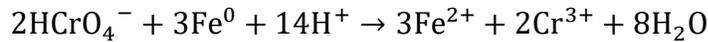


Fuente: Zhilin (2011). *Pourbaix diagram for chromium*. Consultado el 21 de noviembre de 2021.

Recuperado de <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pourbaix-cr.png>.

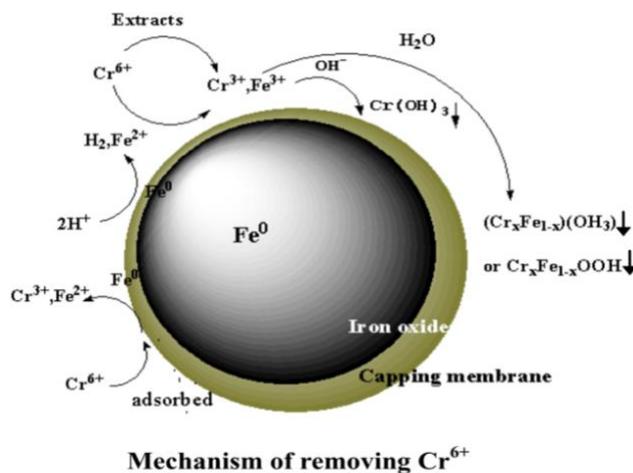
### 2.11.1. Mecanismo de remoción de Cr(VI)

La reducción de Cr(VI) a Cr(III) en presencia de nanopartículas de hierro  $\text{Fe}^0$ , ocurre a través de la oxidación a Fe(II) y Fe(III). Luego el Cr(III) co-precipita en su superficie (Wei et al., 2017; Yirsaw et al., 2016). Si la reacción se lleva a cabo en medio acuoso se genera la forma hidroxidada del hierro. Esta reacción de reducción de cromo genera un efecto efervescente (Yirsaw et al., 2016).



Algunos factores que afectan su remoción son la concentración de las nanopartículas nZVI, tiempo de residencia y cinética de adsorción del cromo(VI) sobre las nanopartículas (Yan et al., 2010; Yirsaw et al., 2016).

Figura 14. Esquema del mecanismo de remoción de Cr(VI) por las nZVI

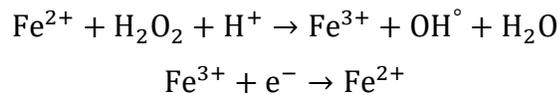


Fuente: Wei, Fang, Zheng, Tsang (2017). *Biosynthesized iron nanoparticles in aqueous extracts of Eichhornia crassipes and its mechanism in the hexavalent chromium removal.*

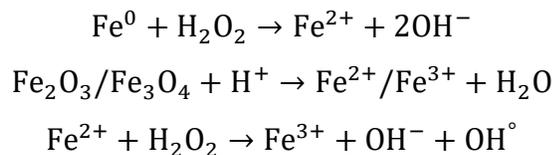
Para la remoción de Cr(VI), existen muchos otros métodos. Los métodos electroquímicos han ganado importancia durante los últimos años, debido a su alta eficiencia y bajo costo (Peng et al., 2019).

### 2.11.2. Proceso Electro-Fenton

El proceso Electro-Fenton consiste en la generación de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en presencia de iones ferrosos (Fe<sup>2+</sup>) (Rahmani et al., 2015). A través de la reacción Fenton se mejora el potencial electroquímico del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Este es el responsable del potencial óxido-reductor en la reacción, por medio de la generación de iones hidroxilo (Rahmani et al., 2015; Saif et al., 2016):

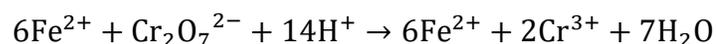


Al aplicar nanopartículas de hierro cerovalente se sigue un mecanismo más complejo, pero mucho más reactivo (Saif et al., 2016).

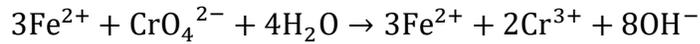


La precipitación del metal es una parte muy importante del proceso. La reacción puede permitir una reducción del Cr(VI) a Cr(III), por la oxidación de los iones ferrosos generados (Rahmani et al., 2015).

A 0.5 < pH < 6.5:



A pH > 6.5:



### 2.11.3. Cinética de la reacción Fenton

Para la degradación de contaminantes orgánicos por la reacción Fenton se han propuesto diferentes modelos cinéticos, en el que la velocidad de reacción depende de la concentración de la especie contaminante y los radicales  $\text{OH}^\bullet$  generados en la reacción (Shokri, 2017):

$$\frac{dC}{dt} = -k[C][\text{OH}^\bullet]$$

No obstante, el proceso Electro-Fenton sigue un modelo de orden cero (Rahmani et al., 2015; Shokri, 2017):

$$\frac{dC}{dt} = -k$$

#### 2.11.3.1. Modelos cinéticos para la reacción Fenton

Para relacionar la concentración de Cr(VI) en función del tiempo se pueden utilizar modelos cinéticos que determinen el tipo de orden que sigue la reacción de remoción de Cr(VI) por el proceso Electro-Fenton (Rahmani et al., 2015).

- Modelo de orden cero

$$\frac{dC}{dt} = -k_0$$

- Modelo de primer orden

$$\frac{dC}{dt} = -k_1 C$$

Al utilizar el método integral, desde una concentración inicial  $C_0$  hasta una concentración final  $C_t$ , se obtiene para el modelo de orden 1:

$$\int_{C_0}^{C_t} \frac{dC}{C} = k_1 dt$$

$$\ln(C_t) - \ln(C_0) = -k_1 t$$

$$\ln(C_t) = -k_1 t + \ln(C_0)$$

Esta linealización se puede utilizar fácilmente para representar los datos cinéticos y obtener la constante cinética de cada experimento.

- Modelo de segundo orden

$$\frac{dC}{dt} = -k_2 C^2$$

Al integrar la ecuación diferencial, desde una concentración inicial  $C_0$  hasta una concentración final  $C_t$ , se obtiene:

$$\int_{C_0}^{C_t} \frac{dC}{C^2} = -k_2 dt$$
$$\frac{1}{C_t} = k_2 t + \frac{1}{C_0}$$

De esta última linealización fueron ajustados los datos cinéticos para obtener su constante cinética, a cada experimento. Al comparar los coeficientes de determinación de cada modelo se logró determinar cuál de los modelos se ajusta mejor a los datos de la reacción.

### 3. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1. Variables

A continuación, se muestran las variables propuestas en la investigación:

Tabla III. **Variables propuestas de la investigación, en fase de extracción, determinación e identificación de compuestos fenólicos del epicarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.)**

Variable	Dimensionales	Factor potencial de diseño	
		Constante	Variable
<b>Extracción y determinación de los compuestos fenólicos del epicarpio de aguacate</b>			
Masa de cáscara de aguacate	g	X	
Frecuencia de sonicado	kHz	X	
Tiempo de extracción	min	X	
Potencia de sonicado	W	X	
Relación de volumen	mL/100 mL	X	
Concentración de epicarpio	g/mL	X	
Velocidad de centrifugado	rpm	X	
Longitud de onda	nm	X	
Absorbancia	Adimensional		X
Rendimiento de extracción	g materia seca/g muestra		X
Contenido Total de Fenoles	mg EAG/g extracto seco		X
Flavonoides Totales	mg EQ/g extracto seco		X
Absorbancia= f(Contenido Total de Fenoles (CTF), Flavonoides Totales)			
Velocidad de fase móvil	mL/min	X	
Temperatura del horno	°C	X	
Tiempo de retención	min		X
Relación <i>m/z</i>	a.u.		X
Abundancia relativa	Adimensional		X
Tiempo de análisis	min	X	
Composición	µg/g extracto seco		X
Relación de volumen de solventes = f(Tiempo de análisis)			
Abundancia relativa = f(Tiempo de retención, <i>m/z</i> )			

Fuente: elaboración propia.

Tabla IV. **Variables propuestas de la investigación, en fase de síntesis y caracterización y aplicación de las nanopartículas de hierro cerovalente**

Variable	Dimensionales	Factor potencial de diseño	
		Constante	Variable
<b>Voltametría cíclica del extracto de epicarpio</b>			
Potencial de electrodo de trabajo	V		X
Corriente	A		X
Velocidad de barrido	mV/s	X	
Potenciales catódico y anódico	V		X
Corriente = f(Potencial de electrodo de trabajo)			
<b>Síntesis y caracterización de las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI)</b>			
Relación de volumen extracto:Fe(III)	mL/mL	X	
Temperatura de trabajo	°C	X	
Escala de medición	nm	X	
Tamaño de partícula	nm		X
Número de onda	cm <sup>-1</sup>		X
Transmitancia	a.u.		X
Intensidad de la señal	kcps		X
Longitud de onda plano incidente	nm	X	
Ángulo 2θ	°		X
Distancia interplanar	Å		X
Parámetros estructurales cristalinos	Å; Adimensional		X
Frecuencia estadística = f(Tamaño de partícula); Transmitancia = f(Número de onda) Intensidad de la señal = f(Ángulo 2θ, Composición elemental)			
<b>Reacción Fenton para remoción de Cr(VI)</b>			
Concentración de Cr(VI)	mg/L		X
pH	Adimensional		X
Tiempo	min		X
Concentración de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	mL/L	X	
Volumen de solución de nZVI	mL		
Longitud de onda	nm	X	
Absorbancia	Adimensional		X
En porcentaje Remoción de Cr(VI)	Adimensional		X
Constante cinética (PZO, PSO, PSO)	mg/ L·min, min <sup>-1</sup> , L/(mg·min)	X	
pH, Concentración de Cr(VI) = f(Tiempo); Absorbancia = f(Concentración de Cr(VI)) En porcentaje Remoción de Cr(VI) = f(pH, Concentración inicial de Cr(VI), Tiempo)			

Fuente: elaboración propia.

### 3.2. Delimitación del campo de estudio

El estudio de la remoción de Cr(VI) utilizando nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) por el proceso Electro-Fenton comprende las áreas de electroquímica, nanotecnología y química de productos naturales. Debido a la interrelación entre varias áreas científicas, la investigación se realizó en los siguientes laboratorios:

- Centro Nacional de Innovaciones Biotecnológicas (CENIBiot), Centro Nacional de Alta Tecnología (CeNAT-CONARE), San José Costa Rica; en donde se obtuvo el extracto de la cáscara del aguacate asistida por ultrasonido, caracterización del extracto y liofilizaciones requeridas.
- Centro de Electroquímica y Energía Química (CELEQ), Escuela de Química, Universidad de Costa Rica (UCR), San José Costa Rica; en él se llevó a cabo el análisis de CV y SWV del extracto.
- Laboratorio Nacional de Nanotecnología (LANOTEC), Centro Nacional de Alta Tecnología (CeNAT-CONARE), San José Costa Rica; en donde se llevó a cabo la síntesis y caracterización (FTIR, AFM y TEM) de las nZVI.
- Unidad de Difracción de Rayos X (UDRX), Escuela de Química, Universidad de Costa Rica (UCR); donde se realizó la caracterización cristalográfica por Difracción de Rayos X de polvos.
- Laboratorio de Fisicoquímica, Escuela de Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (CCQQFar), Universidad de San Carlos de Guatemala; donde se realizó el estudio colorimétrico de remoción de Cr(VI) por el proceso Electro-Fenton utilizando las nZVI.

### 3.3. Recursos humanos disponibles

Investigador:	Br. Brian Fernando López Campos
Asesor:	Dr. Edward Mario Augusto Guerrero Gutiérrez
Director LANOTEC	Dr. José Roberto Vega-Baudrit
Investigador LANOTEC	Dr. Sergio A. Paniagua Barrantes
Director UDRX-UCR	Lic. Leonardo Quesada Román
Director CELEQ-UCR	Dr. Jean Sanabria Chinchilla
Director DFQ-USAC	Lic. Christian Farfán

### 3.4. Recursos materiales disponibles (equipo, cristalería, reactivos)

Los materiales utilizados en la investigación se muestran a continuación:

#### 3.4.1. Reactivos

- Aguacate variedad Hass, Comercial Domínguez, calidad Extra
- Agua destilada desmineralizada tipo III, HARLECO, pura
- Hexano GC grado ACS, J.T. Baker, pureza 99.76 %
- Metanol grado HPLC, J.T. Baker,  $\geq 99.9$  %
- Cloruro férrico en polvo anhidro, Sigma-Aldrich,  $\geq 99$  %
- Peróxido de hidrógeno (estabilizado con estanato de sodio), Fisher Scientific, solución 30 %.
- Dicromato de potasio grado analítico, Merck,  $\geq 99.0$  %.
- 1,5-Dipfenilcarbazida grado reactivo, Sigma-Aldrich,  $\geq 99$  % (TLC).
- Nitrógeno Ultra Alta Pureza (UAP), Praxair, 99.999 %.
- Hidróxido de sodio grado ACS, Merck,  $\geq 97.0$  %.
- Ácido sulfúrico grado ACS, Merck, 95.0-98.0 %.
- Reactivo Folin-Ciocalteu grado reactivo, Sigma-Aldrich, solución 2 M.

- Ácido fórmico grado ACS, J.T. Baker,  $\geq 88$  %.
- Acetona grado HPLC, Sigma-Aldrich,  $\geq 99.8$  %.
- Solución de carbonato de sodio al 20 %, CENIBiot (preparada en el lugar).
- Solución de acetato de sodio 1 M, CENIBiot (preparada en el lugar).
- Solución de cloruro de aluminio al 1 %, CENIBiot (preparada en el lugar).
- Mica de Muscovita (50x75 mm) de 0.15-0.21 mm, EMS, calidad V-1.
- Resina de silicón HP 200, Sepax Technologies.

### 3.4.2. Equipos de medición

- Espectrofotómetro UV-Visible (marca Shimadzu, modelo UV-1800)
- Lector de microplacas (marca BioTek, modelo SYNERGY H1)
- Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución acoplado con Espectrometría de Masas (HPLC-ESI-MS) (marca Agilent, modelo 1200) que consiste en: bomba binaria, desengrasante, autosampler, compartimento de termostato de columna, detector de arreglo de diodos, columna C18 150x2.1 mm (marca Phenomenex, modelo Luna), sistema de análisis MS (marca SCIEX, modelo 4000 QTRAP).
- Potenciostato/Galvanostato Autolab (marca Metrohm, modelo PGSTAT1128N) con una celda de tres electrodos.
- Electrodo de carbón vítreo (marca Metrohm, modelo 6.1204.110).
- Electrodo auxiliar de barra de grafito (marca Metrohm, modelo 6.1247.000).
- Electrodo de referencia de Ag/AgCl (marca Metrohm, modelo 6.0726.100).
- Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM) con Espectrómetro de Energía Dispersiva de Rayos X (EDX) (marca JEOL, modelo 2010/3010).
- Microscopio de Fuerza Atómica (AFM) (marca Asylum Research, modelo MFP-3D) sobre *table stand* (marca Herzan, modelo TS-150).

- Difractómetro de Rayos X (XRD) (marca Bruker, modelo XD8 Advance).
- Espectrómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) (marca Thermo Scientific, modelo Nicolet iS5).
- Potenciómetro (marca Sartorius, modelo PB-11).
- Fuente de poder DC regulada (marca EZ, modelo GP-1505).
- Balanza analítica (marca Boeco, modelo BXX31).
- Balanza de precisión portátil (marca Adam Equipment, modelo HCB 1502).
- Micropipeta de 20-200  $\mu\text{L}$  (marca Eppendorf, modelo M36872F).
- Micropipeta de 10-100  $\mu\text{L}$  (marca Eppendorf, modelo 151342A).

### **3.4.3. Equipo adicional**

- Rotaevaporador (marca Buchi, modelo R-215), con accesorios: baño de agua (B-491), bomba de vacío (V-700), controlador de vacío (V-850) y enfriador recirculante (marca Ecoline Star Edition, RE-104).
- Campana de extracción de gases (LABCONCO, 081195498X).
- Baño ultrasónico (marca Branson, modelo 2510R-DTH).
- Liofilizador (marca Buchi, modelo L-300).
- Centrífuga (marca Fisher Scientific, modelo 15393528).
- Agitador magnético (marca IKA, modelo C-MAG HSIO).
- Agitador magnético (marca Thermo Fisher Scientific, modelo C-MAG HSIO).
- Agitador magnético (marca Scilogex, modelo SCI340-HS).
- Molino de café eléctrico (marca KitchenAid, modelo BCG111ER).
- Tanque de nitrógeno (marca Theodore Branch, modelo L03).
- Refrigerador de doble compartimento (marca Fogel, modelo desconocido).
- Microrejilla de cobre de 400 *mesh* para TEM, 4 mm de diámetro (marca EMS Diasum, modelo FCF 400-Cu).

- Electrodo de barra de grafito (7.5 cm<sup>2</sup>).

#### **3.4.4. Cristalería y materiales**

- Erlenmeyer de 250 mL y 500 mL
- Probetas de 25 mL y 100 mL (marca Premiere)
- *Beaker* de 100 mL, 250 mL, 600 mL (marca KIMAX)
- Balón aforado de 50 mL, 100 mL y 250 mL (marca LMS)
- Balones esmerilados de 500 mL (marca ILMABOR, tamaño NS24)
- Balón esmerilado de 100 mL (marca Schott Duran, tamaño NS14)
- Frascos de boro 3.3 (marca BOECO, modelo 1510)
- Pipeta de 1 mL (marca Superior Marienfeld, modelo AS/DIN, ±0.01 mL)
- Pipeta de 5 mL (marca LMS, modelo AS/DIN, ±0.03 mL)
- Tubos de ensayo de 20 cm (marca Sartorius, modelo 9820)
- Tubos de ensayo de 2 mL (marca Greiner Bio-One, modelo 2015-06)
- Filtro de Nylon 45/33 (tamaño de poro 0.45 µm, diámetro 33 mm), estéril
- Filtro de PTFE 45/33 (tamaño de poro 0.45 µm, diámetro 33 mm), estéril
- Microplacas y gradillas para microplacas
- Celdas de espectrofotómetro de 10 mm (cuarzo y plástico)
- Tamiz *mesh* 40 (marca Home Concept)
- Viales (1 mL, 5 mL y 10 mL)
- Puntas de micropipeta (1 mL y 2 mL)
- Jeringas de 5 mL (marca NIPRO, JD-05L2238-SB)
- Microjeringa de 20 µL (sin información, propiedad de CENIBiot)
- Toallitas Kimwipes (marca Kimberly-Clark, Kimtech Science, 34155)
- Adaptador para balones NS24 a Rotaevaporador (marca Keck, modelo 24)
- Desecador
- Pastilla de agitador magnético pequeña

- Vidrios de reloj, cajas Petri y portaobjetos
- Espátulas y pinzas
- Embudo de filtración
- Gradillas
- Mangos de succión
- Manguera, regulador y aguja de tanque de nitrógeno
- Cables puente con pinzas tipo lagarto, cinta de aislar y *masking tape*

#### **3.4.5. Equipo de protección personal**

- Guantes de nitrilo
- Guantes térmicos
- Mascarilla
- Lentes
- Botas industriales
- Bata de laboratorio

### **3.5. Técnica cualitativa o cuantitativa**

Las técnicas analíticas instrumentales que se utilizaron en la investigación son de enfoque cualitativo y cuantitativo (mixto).

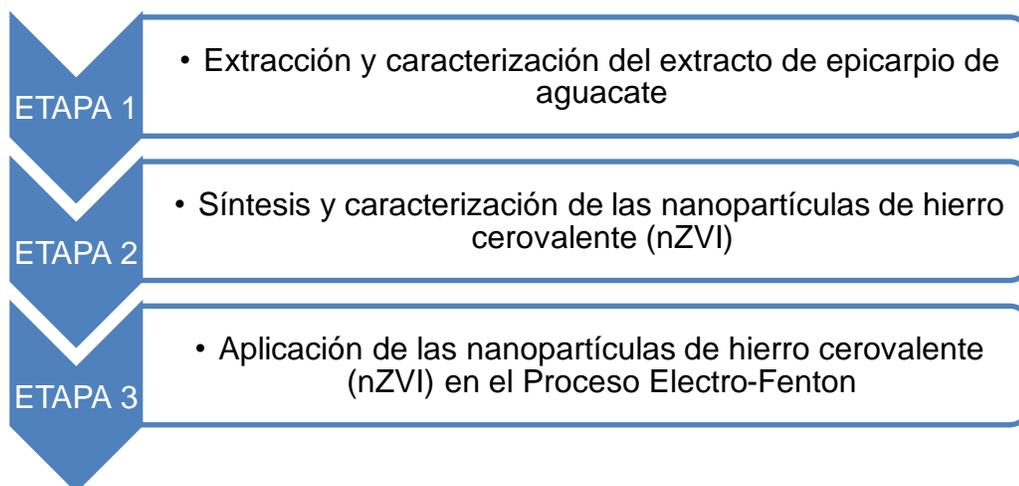
Para la caracterización de los compuestos fenólicos presentes en el extracto de epicarpio de aguacate se utilizó el enfoque cualitativo con la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-DAD-ESI-MS). Para su cuantificación fue utilizada la técnica de espectrofotometría UV-Vis. El potencial redox del extracto de epicarpio de aguacate fue cuantificado por voltametría cíclica (CV), y voltametría de onda cuadrada (SWV).

Para la caracterización de las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI), fueron empleadas las técnicas de microscopía electrónica de transmisión (TEM), microscopía de fuerza atómica (AFM), difracción de rayos X de polvos (XRD) y espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), con enfoque cualitativo. La cuantificación de las fases presentes en la superficie de las nanopartículas fue realizada en el difractómetro de rayos X con el refinamiento de Rietveld. El avance de la reacción Fenton para la remoción de cromo hexavalente fue controlado por medio de espectrofotometría UV-Vis.

### 3.6. Recolección y ordenamiento de la información

La recopilación de datos cualitativos y cuantitativos que relacionan las variables experimentales fue dividida en tres etapas, como se muestra en la Figura 15. Las etapas 1 y 2 consisten principalmente en caracterizaciones. La etapa 3 es la que presenta el estudio de aplicación de las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI).

Figura 15. Esquema las etapas de recolección de información



Fuente: elaboración propia.

### **3.6.1. Extracción y caracterización de compuestos fenólicos del epicarpio de aguacate**

Para llevar a cabo la obtención del extracto de epicarpio de aguacate se siguió la secuencia de pasos descrita a continuación:

#### **3.6.1.1. Preparación de la muestra**

Se retiró el epicarpio de 5 aguacates y se eliminó la pulpa con una cuchara. La cáscara o epicarpio se cortó en trozos pequeños (cuadritos). A esta pulpa se le adicionó hexano para lavar y remover los excesos de pulpa. Luego se colocaron las muestras de epicarpio en un *beaker* de 1 L y se llevó al horno a 30 °C por 2 h hasta alcanzar una humedad de entre 5-7 %. Posteriormente se llevó la muestra al congelador por 1 h y finalmente al liofilizador a -104 °C por 4 días para obtener una muestra totalmente seca. Finalmente, la muestra de epicarpio fue molida y tamizada hasta conseguir un polvo fino (*mesh* 40) (Zaki et al., 2020).

#### **3.6.1.2. Obtención de extracto de epicarpio de aguacate por extracción asistida por ultrasonido (UAE)**

Se emplearon 10 g de epicarpio de aguacate para extraerlos con 100 mL de metanol al 80 % (metanol/agua 80:20 v/v), en un baño ultrasónico a 40 °C por 45 min (42 kHz, 100 W). Luego las muestras fueron centrifugadas por 7 min a 4200 rpm (6 desaceleraciones). El sobrenadante fue filtrado a través de un filtro de PTFE 45/33 y transferido a viales para refrigeración posterior (a 4 °C) (M. K. Khan et al., 2010; Zaki et al., 2020). Para mejorar el rendimiento de extracción de los polifenoles se llevó la muestra al rotaevaporador a 110 bar, 100 rpm y 40 °C para remover el solvente. La fracción resultante se recuperó con acetona y se

eliminó nuevamente el solvente por evaporación. A la muestra final se le agregó agua, se llevó al congelador por 4 h y luego al liofilizador por 5 días. Finalmente se determinó el rendimiento de extracción de polifenoles sobre los 10 g de epicarpio inicial.

#### **3.6.1.3. Determinación de contenido total de fenoles (CTF)**

Para el Contenido Total de Fenoles (CTF) se utilizó el ensayo de Folin-Ciocalteu. Una alícuota de 30  $\mu\text{L}$  del extracto se mezcló con 15  $\mu\text{L}$  del reactivo de Folin-Ciocalteu, seguido de 50  $\mu\text{L}$  de carbonato sódico al 10 % v/v y 200  $\mu\text{L}$  de agua (Rodríguez-Carpena et al., 2011). Se realizaron tres repeticiones con la muestra y cuatro blancos (con agua). La determinación espectrofotométrica consistió en agregar los contenidos a pocillos de microplacas. Se utilizó el protocolo programado en el lector de microplacas del CENIBiot para Folin-Ciocalteu, el cual consistió en los siguientes pasos: agitación lineal por 1 min, lectura inicial de la absorbancia a 755 nm, reposo por 25 min, agitación orbital por 1 min y lectura final de la absorbancia a 755 nm (Rodríguez-Carpena et al., 2011). El contenido fenólico fue calculado a partir de una curva estándar de ácido gálico programada en el equipo, expresando los resultados como miligramos de equivalentes de ácido gálico (EAG), por 100 gramos de extracto seco (Rodríguez-Carpena et al., 2011).

#### **3.6.1.4. Determinación de flavonoides totales (FT)**

El contenido de flavonoides fue medido por medio de un ensayo colorimétrico en microplacas. Una alícuota de 50  $\mu\text{L}$  del extracto fue agregado a 40  $\mu\text{L}$  de metanol, 15  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  al 1 %, 15  $\mu\text{L}$  de acetato de sodio 1 M y 100  $\mu\text{L}$

de agua (Antasionas, Riyanto, & Rohman, 2017). El estudio se realizó en triplicado, utilizando agua como blanco de comparación.

La determinación espectrofotométrica consistió en agregar los contenidos a pocillos de microplacas. Se utilizó el protocolo programado en el lector de microplacas para Flavonoides (CFT), y consistió en los siguientes pasos: agitación lineal por 10 segundos, lectura inicial de la absorbancia de las muestras a 415 nm, reposo por 10 min y lectura final de la absorbancia a 415 nm. Para la cuantificación de flavonoides en la muestra se utilizó una curva estándar de rutina programada en el equipo. El contenido total de flavonoides fue como miligramos equivalentes de rutina por 100 gramos de extracto seco (Antasionas et al., 2017).

#### **3.6.1.5. Elucidación de compuestos fenólicos por HPLC-ESI-DAD-MS/MS**

El extracto fue analizado en un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) para la identificación de los compuestos fenólicos. La separación fue llevada a cabo en una columna de 150x2.1 mm C18 Luna (Phenomex, Torrance, CA, USA) con un tamaño de partícula de 5  $\mu$ m. La fase móvil consistió en (A) formiato de amonio/agua al 0.1 % y (B) metanol. El gradiente se llevó de la siguiente forma: gradiente isocrático los primeros 4 min al 10 % de B; de 4-8 min, incremento lineal de 10 % a 30 % de B; de 8-15 min, incremento lineal de 30 % a 60 % de B; de 15-25 min, incremento lineal de 60 % a 100 % de B; gradiente isocrático de 100 % por 5 min. El flujo fue de 1 mL/min a una temperatura de 35 °C.

El flujo generado por el sistema cromatográfico se introdujo en la fuente Turbo VTM. El análisis se llevó a cabo en un espectrómetro de masas (MS) SCIEX 400 QTRAP controlado por el software Analyst v.1.4.5. La cuantificación

se realizó en modo MRM. La fuente de iones operó en modo negativo con los siguientes parámetros: temperatura de 500 °C, voltaje del atomizador de iones de -4200 V. La configuración del gas fue: nebulizador de gas (GS1) a 50 psi, calentador (GS2) a 50 psi, cortina de gas (CUR) a 25 psi y colisión de gas (CAD), a nivel medio (Esquivel-Alvarado et al., 2020).

Una de las muestras de extracto de aguacate se enriqueció de polifenoles utilizando columna HP 200, con el fin de eliminar los azúcares reductores.

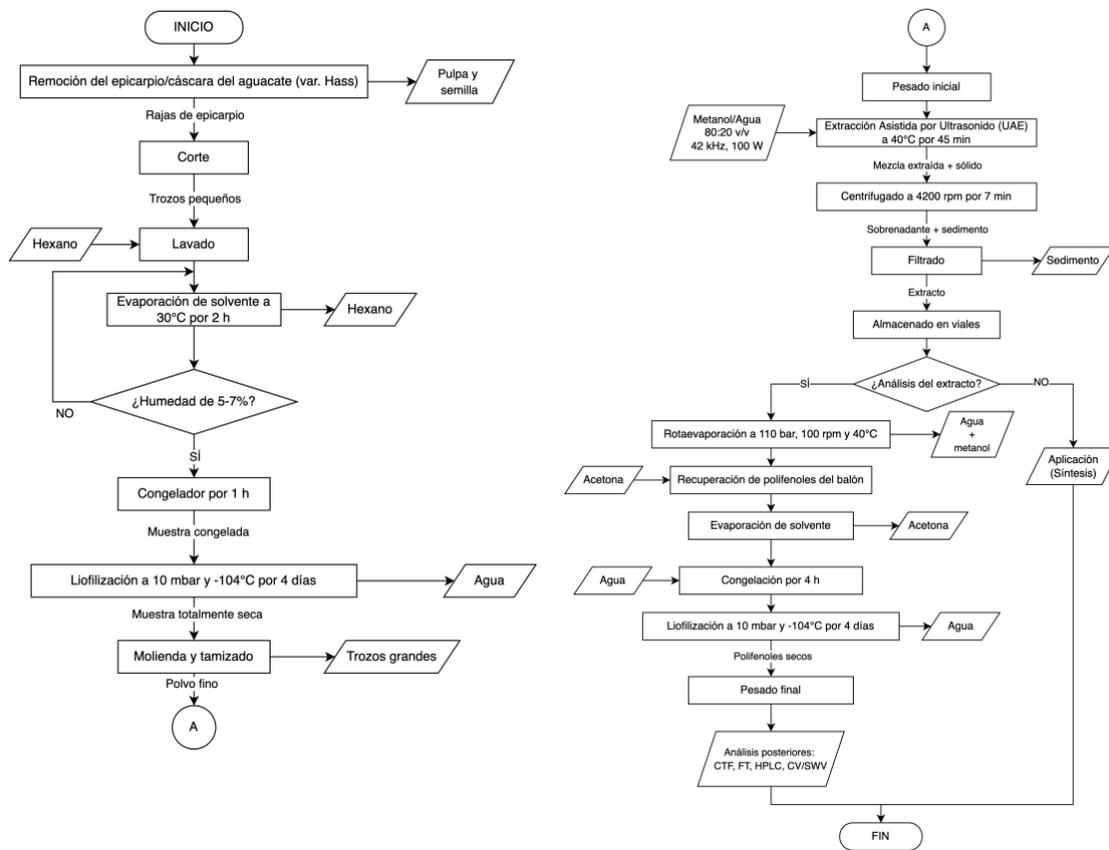
#### **3.6.1.6. Potencial redox del extracto de epicarpio de aguacate por voltametría cíclica (CV) y voltametría de onda cuadrada (SWV)**

El potencial reductor del extracto de epicarpio de aguacate fue analizado por las técnicas de voltametría cíclica (CV) y voltametría de onda cuadrada (SWV). Para ello se utilizó un potencióstato/galvanostato de tres electrodos: un electrodo de referencia de Ag/AgCl, un electrodo de trabajo de carbón vítreo y un electrodo auxiliar de barra de grafito. Las mediciones se realizaron a temperatura ambiente (23 °C) en 50 mL de una solución 0.1 M de KCl (como electrólito soporte) bajo una atmósfera de nitrógeno ultra alta pureza (UAP). Se diluyó un volumen de 300 µL del extracto de epicarpio de aguacate en los 50 mL de solución (para una concentración final de 4 µL de extracto/mL de solución). Los voltamogramas cíclicos fueron obtenidos en un rango de potencial de -0.40 V a 1.1 V a una velocidad de 100 mV/s.

Los voltamogramas de onda cuadrada (catódico y anódico), fueron medidos bajo una amplitud de 25 mV, salto de potencial de 4 mV y frecuencia de 10 Hz. Los blancos fueron medidos utilizando únicamente la solución de KCl a

las mismas condiciones, sin la adición de extracto de epicarpio de aguacate (Elgrishi et al., 2018; Newair et al., 2018; Z. Wang, 2013).

Figura 16. Diagrama de flujo para la obtención de extracto fenólico



Fuente: elaboración propia.

### **3.6.2. Síntesis y aplicación de las nanopartículas de hierro cerovalente**

Para la síntesis de nanopartículas se llevaron a cabo los siguientes pasos:

#### **3.6.2.1. Síntesis de nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI)**

Para síntesis de nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) se preparó inicialmente una solución de cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) 1 M al disolver 1.62 g de  $\text{FeCl}_3$  anhidro en agua destilada. Luego, se agregó gota a gota el extracto de epicarpio de aguacate a la solución de  $\text{FeCl}_3$  en una relación volumétrica 3:1 (30 mL de extracto a 10 mL de solución 0.1 M de cloruro férrico) (Poguberović et al., 2016). Esta mezcla se llevó a cabo bajo agitación constante a 1000 rpm en un balón de 100 mL en atmósfera de nitrógeno UAP por 24 h a temperatura ambiente.

La solución resultante de nZVI se almacenó a 4 °C en tubos de ensayo sellados. Esta muestra fue identificada como solución de nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) (Fazlzadeh et al., 2017; Poguberović et al., 2016). Una fracción de la solución de nanopartículas nZVI se diluyó en agua destilada, luego congelada a -20 °C y finalmente liofilizada a -104 °C bajo una presión de 10 mbar por tres días para obtener un polvo seco para su caracterización por FTIR y XRD (Z. Wang, 2013).

#### **3.6.2.2. Caracterización de las nZVI por AFM**

La superficie topográfica de las nanopartículas nZVI fue determinada en un microscopio de fuerza atómica con puntas de 48 N/m en modo “sin contacto”. La muestra fue preparada en una dilución 1/10 de la solución fresca de nZVI en

agua destilada y depositando una gota de la suspensión en mica. Luego, se dejó secando por 1 día y se realizó su lectura en el microscopio.

### **3.6.2.3. Caracterización de las nZVI por TEM**

La morfología, tamaño y distribución de las nanopartículas de hierro cerovalente fueron determinados por microscopía electrónica de transmisión (TEM) a 120 kV (Machado et al., 2015). El microscopio estaba equipado con un espectrómetro de rayos X de energía dispersiva (EDX), para visualizar la composición elemental. A pesar de ello, no se realizó el análisis elemental debido a la suspensión de funcionamiento del EDX. La muestra de nanopartículas fue diluida 10 veces y una gota de la dilución fue depositada sobre un soporte de capa de carbono sobre una microrejilla de cobre de 300 *mesh*. La muestra se dejó en el desecador por 3 días antes del análisis. La muestra fue visualizadas en el equipo a una escala de 50 nm y 100 nm (Machado et al., 2015).

### **3.6.2.4. Caracterización de las nZVI por XRD con refinamiento de Rietveld**

Para el análisis por difracción de rayos X de polvos se utilizó una muestra previamente liofilizada de nZVI, antes y después del proceso EF. Los patrones de difracción fueron obtenidos utilizando un difractor de Rayos X equipado con una fuente de radiación de Cu  $K\alpha$  ( $\lambda = 0.154$  nm) (Z. Wang, 2013). La muestra fue dispersada con metanol y secada al ambiente sobre un porta muestras. Finalmente, la muestra fue analizada en un rango de  $2\theta$  de 10-70° (el incremento y velocidad por paso serán ajustados experimentalmente) (Z. Wang, 2013). Se aplicó el método de Rietveld (programado en el software del fabricante del equipo) para cuantificar las fases presentes en la superficie de las nanopartículas.

Estos refinamientos dependen de los picos característicos que se presenten en el difractograma, con el fin de obtener los parámetros cristalinos de las nanopartículas (Pereira et al., 2018). Se realizó una caracterización de las nanopartículas frescas, una de las nanopartículas después de 24 h en contacto con aire y una después del proceso EF (a pH 3.0 y 10 mg/L).

#### **3.6.2.5. Caracterización de las nZVI por FTIR**

Para determinar los grupos funcionales en la superficie de las nanopartículas fue utilizada la técnica de espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). El análisis se llevó a cabo sobre la misma muestra preparada para el análisis de XRD. Debido a que la muestra fue previamente liofilizada y el cristal ATR era de diamante, no fue necesario el uso de cápsulas de KBr (Fazlzadeh et al., 2017). La muestra fue ajustada en la célula ATR de diamante y todos los espectros infrarrojos fueron analizados utilizando 64 barridos, con una resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$  y un rango de medición de  $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $600\text{ cm}^{-1}$ . El análisis fue efectuado antes y después del tratamiento de remoción de cromo hexavalente por el proceso Electro-Fenton, a las condiciones establecidas (Taha & Ibrahim, 2014).

#### **3.6.2.6. Proceso Electro-Fenton para remoción de Cr(VI) utilizando las nZVI**

Para estudiar el efecto de las nanopartículas nZVI en la remoción de Cr(VI) por medio del proceso Electro-Fenton, se utilizó un diseño experimental que consistió en tres niveles y dos factores (concentración inicial de Cr(VI) y pH) realizados en triplicado. Los experimentos *batch* fueron llevados a cabo en Erlenmeyer de 100 mL bajo agitación constante a temperatura ambiente. Se prepararon diferentes soluciones de Cr(VI) a 10 mg/L, 30 mg/L y 50 mg/L

utilizando dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ), ajustando el pH a valores de 3.0, 6.0 y 9.0. El pH fue ajustado con hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 M y ácido clorídrico (NaOH) 1 M (Rahmani et al., 2015). Se agregaron dosis de 2 mL de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) al 30 % y 2 mL de solución de solución de nZVI al 0.025 M a las soluciones de Cr(VI), para una mezcla total de 60 mL (concentraciones finales de 10 mL/L de  $H_2O_2$  y 0.047 g/L de nZVI).

El reactor consistió de dos electrodos de barra de grafito con área superficial de  $7.5\text{ cm}^2$  conectados a una fuente de poder DC fija a 10 V reacción (Kumari & Dutta, 2020; Rahmani et al., 2015). Adicionalmente, se añadió cloruro de potasio (KCl) al 0.1 M como electrólito soporte para todos los experimentos.

La absorbancia de Cr(VI) se determinó por medio de un método colorimétrico de 1,5-difenilcarbazida a una longitud de 540 nm, en un espectrofotómetro de doble haz. Adicionalmente, se prepararon soluciones estándar de Cr(VI) a 0.01 mg/L, 0.5 mg/L, 1.25 mg/L, 2.5 mg/L y 3.25 mg/L utilizando dicromato de potasio. Con esta curva de calibración se interpolaron los valores de concentración de Cr(VI).

El porcentaje de remoción de Cr(VI) fue calculado con la siguiente ecuación:

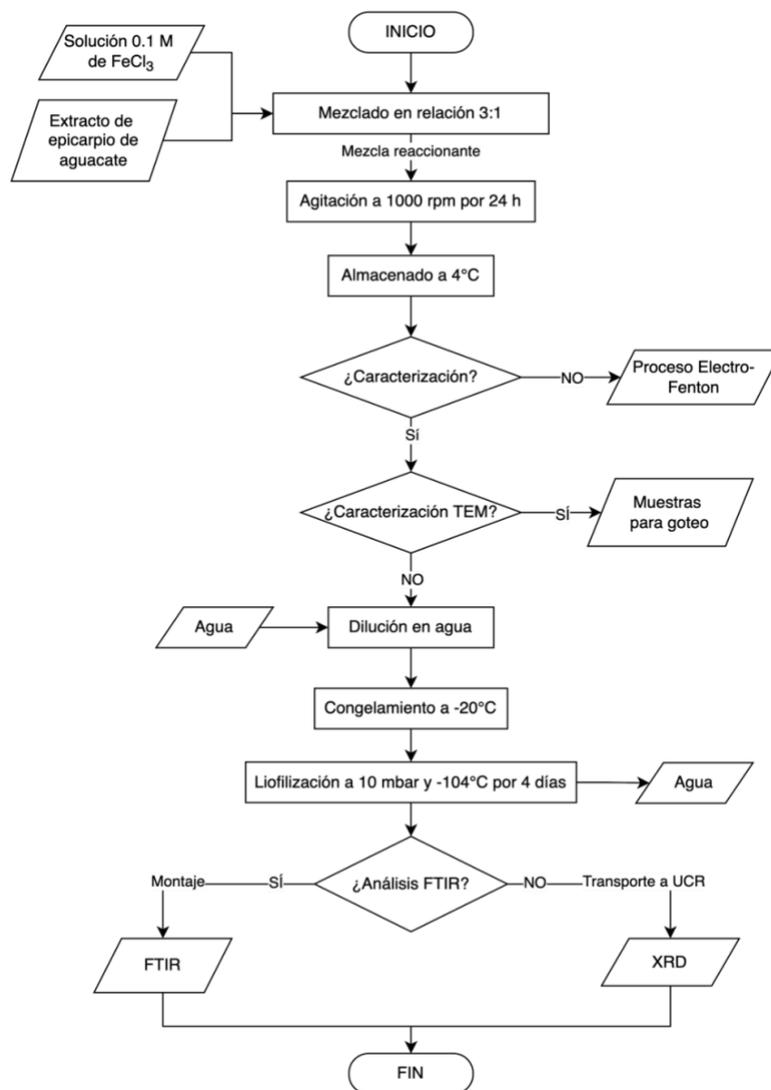
$$\% R = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100 \% \quad (1)$$

Donde  $C_0$  y  $C_t$  son las concentraciones de Cr(VI) al inicio y al final del tratamiento (Rahmani et al., 2015).

Las mediciones de absorbancia se repitieron cada 5 min, hasta los 25 min de reacción. Las muestras fueron centrifugadas a 4000 rpm por 3 min (para evitar

interferencias de sólido) (Rahmani et al., 2015). Las muestras finales de los experimentos a pH 3.0 y 10 mg/L de Cr(VI), fueron liofilizadas para obtener polvos finos y secos, requeridos para su caracterización por FTIR y XRD.

Figura 17. **Diagrama de flujo para el proceso de síntesis de nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) empleando el extracto de epicarpio de aguacate**



Fuente: elaboración propia.

### 3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

A continuación, se presentan los datos recolectados del experimento.

Tabla V. **Contenido Total de Fenoles (CTF) en el extracto de epicarpio de aguacate para seis muestras**

<b>Muestra</b>	<b>CTF (mg/g)</b>	<b>CTF Promedio (mg/g)</b>	<b>Desviación estándar (mg/g)</b>
1	197.28		
2	202.72		
3	213.59		
4	225.54	207.79	10.73
5	198.37		
6	209.24		

Nota. Datos de CTF presentados como miligramos de fenoles por gramo de extracto seco.

Fuente: elaboración propia.

Tabla VI. **Contenido Total de Fenoles (CTF) en el extracto de epicarpio de aguacate enriquecido para cuatro muestras**

<b>Muestra</b>	<b>CTF (mg/g)</b>	<b>Promedio (mg/g)</b>	<b>Desviación estándar (mg/g)</b>
1	245.57		
2	324.48		
3	342.19	290.26	50.28
4	248.79		

Nota. Datos de CTF presentados como miligramos de fenoles por gramo de extracto seco. Se descartaron dos unidades por la prueba de Dixon.

Fuente: elaboración propia.

Tabla VII. **Flavonoides Totales (FT) en el extracto de epicarpio de aguacate para seis muestras**

<b>Muestra</b>	<b>FT (mg/g)</b>	<b>FT Promedio (mg/g)</b>	<b>Desviación estándar (mg/g)</b>
1	9.3494	3.5261	3.3577
2	0.9157		
3	2.1205		
4	5.7349		
5	2.1205		
6	0.9157		

Nota. Datos de FT presentados como miligramos de flavonoides por gramo de extracto seco.

Fuente: elaboración propia.

Tabla VIII. **Flavonoides Totales (FT) en el extracto de epicarpio de aguacate enriquecido para cuatro muestras**

<b>Muestra</b>	<b>FT (mg/g)</b>	<b>FT Promedio (mg/g)</b>	<b>Desviación estándar (mg/g)</b>
1	5.7349	4.5301	1.3912
2	3.3253		
3	3.3253		
4	5.7349		

Nota. Datos de FT presentados como miligramos de flavonoides por gramo de extracto seco. Se descartaron dos unidades por la prueba de Dixon.

Fuente: elaboración propia.

Tabla IX. **Rendimiento de polifenoles en el extracto de epicarpio de aguacate después de proceso de liofilización**

Masa final (g)	Tara del recipiente (g)	Rendimiento de extracción (%)
204.80	202.23	25.70

Nota. Rendimiento obtenido sobre 10.00 g de extracto seco (liofilizado).

Fuente: elaboración propia.

Tabla X. **Identificación de compuestos fenólicos a partir de cromatograma en HPLC-DAD-ESI-MS/MS**

No. de pico	Identificación	$[M - H]^-$	Fórmula molecular	Composición ( $\mu\text{g/g e}^*$ )
1	Quercetina	301.03	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	0.31
2	(Epi)catequina	289.07	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	5.45
3	Ácido vanílico	167.04	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$	0.14
4	Ácido gálico	170.12	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	0.58
5	Ácido ferúlico	193.05	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	1.01
6	Ácido p-cumárico	163.04	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	1.56
7	Ácido clorogénico	354.31	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	2.12
8	Ácido 4-hidroxibenzoico	138.12	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$	0.32

Nota. Datos obtenidos directamente del equipo. La identificación de compuestos se realizó contra una base de datos de los  $[M - H]^-$  teóricos.

Fuente: elaboración propia.

Tabla XI. **Picos de oxidación y reducción del extracto de epicarpio de aguacate obtenido por voltametría de onda cuadrada (SWV)**

<b>No.</b>	<b>Asignación</b>	<b>Potencial (V)</b>	<b>Área (A·V)</b>	<b>Altura (A)</b>
1	Potencial de oxidación	0.13374	4.0201E-07	2.744E-06
2	Potencial de oxidación	0.63728	2.49E-03	5.142E-08
3	Potencial de reducción	0.16342	3.1862E-07	1.7042E-06

Fuente: elaboración propia.

Tabla XII. **Tamaño de partícula de las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) AFM y TEM**

<b>Técnica empleada</b>	<b>Número de partículas identificadas</b>	<b>Diámetro (nm)</b>
AFM	312	14 ± 3
TEM	78	12 ± 2

Nota. Valores expresados como promedio ± desviación estándar. Tamaño de muestra para AFM: n = 312. Tamaño de muestra para TEM: n = 78.

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIII. **Identificación de grupos funcionales superficiales de las nZVI por espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)**

No.	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Asignación o tipo de vibración	Grupo funcional
1	3380	Estiramiento O–H	Compuestos fenólicos
2	3194	Estiramiento O–H	Aldehídos
3	2938	Estiramiento C–H	Alqueno
4	1720	Estiramiento C=O	Ácido carboxílico
5	1610	Estiramiento C=C	Alqueno
6	1404	Estiramiento C–C	Aromáticos
7	1213	Estiramiento C–N	Aminas
8	1055	Estiramiento C–O–C	Carbonílicos
9	887	Flexión C–H	Aromáticos
10	660	Flexión C–H	Alcano

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIV. **Calibración de concentración de Cr(VI), obtenidos por espectrofotometría UV-Vis**

Concentración de Cr(VI) (mg/L)	Absorbancia			Promedio
	1	2	3	
0.00	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.01	0.0100	0.0600	0.0600	0.0433
0.50	0.4900	0.4800	0.4700	0.4800
1.25	0.9800	0.8400	0.8200	0.8800
2.50	1.7000	1.8600	1.8300	1.7967
3.25	2.1300	2.2000	2.0400	2.1233

Nota. Datos de absorbancia obtenidos a una longitud de onda de 765 nm, utilizando método colorimétrico con 1,5-difenilcarbazida.

Fuente: elaboración propia.

Tabla XV. **Concentración de Cr(VI) final después del proceso Electro-Fenton, utilizando las nZVI**

pH	Concentración de Cr(VI)		
	Concentración inicial de Cr(VI) (mg/L)		
	10	30	50
3	0.0174	0.1146	1.5755
	0.0490	0.0779	0.1008
	0.0550	0.1613	0.1613
6	0.0283	0.7255	2.2374
	0.1032	0.7792	1.9334
	0.1976	0.9361	1.1019
9	0.0844	0.2623	0.6323
	0.0698	0.1259	0.2467
	0.1030	0.1452	0.2159

Nota. Medidas de concentración de cromo hexavalente después de 25 min.

Fuente: elaboración propia.

Tabla XVI. **Porcentaje de remoción de Cr(VI) final después del proceso Electro-Fenton, utilizando las nZVI**

pH	En porcentaje		
	Concentración inicial de Cr(VI) (mg/L)		
	10	30	50
3	99.83	99.62	96.85
	99.51	99.74	99.80
	99.45	99.46	99.68
6	99.72	97.58	95.53
	98.97	97.40	96.13
	98.02	96.88	97.80
9	99.16	99.13	98.74
	99.30	99.58	99.51
	98.97	99.52	99.57

Nota. Valores de porcentaje de remoción después de 25 min.

Fuente: elaboración propia, utilizando los datos de la Tabla XV.

Tabla XVII. **Concentración de Cr(VI) en función del tiempo, a pH 3.0**

Tiempo (min)	Concentración de Cr(VI)		
	Concentración inicial de Cr(VI) (mg/L)		
0	10	30	50
5	0.2412	0.1907	0.2673
10	0.1667	0.1660	0.3491
15	0.0136	0.1572	0.6203
20	0.0095	0.0901	0.7526
25	0.0000	0.0825	0.8342

Nota. Datos de concentración de Cr(VI) promedio, sobre tres réplicas por tratamiento.

Fuente: elaboración propia.

Tabla XVIII. **Concentración de Cr(VI) en función del tiempo, a pH 6.0**

Tiempo (min)	Concentración de Cr(VI)		
	Concentración inicial de Cr(VI) (mg/L)		
0	10	30	50
5	0.0931	0.3433	0.3508
10	0.1076	0.4318	0.7622
15	0.1104	0.7973	1.1613
20	0.1102	1.0331	2.0575
25	0.0700	1.1398	2.5744

Nota. Datos de concentración de Cr(VI) promedio, sobre tres réplicas por tratamiento.

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIX. **Concentración de Cr(VI) en función del tiempo, a pH 9.0**

Tiempo (min)	Concentración de Cr(VI)		
	Concentración inicial de Cr(VI) (mg/L)		
	10	30	50
0			
5	0.0187	0.2406	0.4957
10	0.0613	0.2513	0.3751
15	0.0589	0.2544	0.4363
20	0.0453	0.2165	0.3738
25	0.0336	0.1735	0.4579

Nota. Datos de concentración de Cr(VI) promedio, sobre tres réplicas por tratamiento.

Fuente: elaboración propia.

Tabla XX. **Constante cinética de orden cero para el proceso Electro-Fenton con nZVI, en la remoción de Cr(VI) en solución acuosa**

pH	Concentración inicial de Cr(VI) (mg/L)					
	10		30		50	
	$k_0 \left( \frac{mg}{L \cdot min} \right)$	$R^2$	$k_0 \left( \frac{mg}{L \cdot min} \right)$	$R^2$	$k_0 \left( \frac{mg}{L \cdot min} \right)$	$R^2$
<b>3</b>	-0.013	0.83	-0.0059	0.92	0.031	0.96
<b>6</b>	-8.7E-04	0.16	0.044	0.96	0.11	0.98
<b>9</b>	2.8E-05	0.015	-0.0034	0.63	-0.0015	0.052

Nota. Los valores de constante cinética corresponden a los promedios de tres réplicas.

Fuente: elaboración propia, con datos obtenidos de las Tabla XVII, Tabla XVIII y Tabla XIX.

Tabla XXI. **Constante cinética de pseudo primer orden para el proceso Electro-Fenton con nZVI, en la remoción de Cr(VI) en solución acuosa**

pH	Concentración inicial de Cr(VI) (mg/L)					
	10		30		50	
	$k_1$ ( $min^{-1}$ )	$R^2$	$k_1$ ( $min^{-1}$ )	$R^2$	$k_1$ ( $min^{-1}$ )	$R^2$
<b>3</b>	-0.24	0.89	-0.046	0.90	0.061	0.93
<b>6</b>	-0.011	0.20	0.066	0.94	0.010	0.97
<b>9</b>	0.017	0.079	-0.016	0.64	-0.0032	0.042

Nota. Los valores de constante cinética de pseudo primer orden corresponden a los promedios de tres réplicas.

Fuente: elaboración propia, con datos obtenidos de las Tabla XVII, Tabla XVIII y Tabla XIX.

Tabla XXII. **Constante cinética de pseudo segundo orden para el proceso Electro-Fenton con nZVI, en la remoción de Cr(VI) en solución acuosa**

pH	Concentración inicial de Cr(VI) (mg/L)					
	10		30		50	
	$k_2 \left( \frac{L}{mg \cdot min} \right)$	$R^2$	$k_2 \left( \frac{L}{mg \cdot min} \right)$	$R^2$	$k_2 \left( \frac{L}{mg \cdot min} \right)$	$R^2$
<b>3</b>	7.4	0.90	0.38	0.88	-0.13	0.89
<b>6</b>	0.14	0.24	-0.11	0.90	-0.12	0.82
<b>9</b>	-0.84	0.18	0.077	0.63	0.0068	0.52

Nota. Los valores de constante cinética de pseudo segundo orden corresponden a los promedios de tres réplicas.

Fuente: elaboración propia, con datos obtenidos de las Tabla XVII, Tabla XVIII y Tabla XIX.

### 3.8. Análisis estadístico

A continuación, se describe el análisis estadístico de los datos que utilizado para explicar los resultados de cada uno de los objetivos. La mayoría de los datos puntuales, como los potenciales de oxidación y reducción del extracto, se encuentran representados como promedio  $\pm$  desviación estándar.

#### 3.8.1. Análisis de varianza: experimento factorial $3^2$ para el efecto de la concentración inicial de Cr(VI) y pH

Para estudiar el efecto de la concentración inicial de Cr(VI) y pH sobre el porcentaje de remoción de Cr(VI) utilizando el proceso Electro-Fenton con las nZVI sintetizadas, se propuso utilizar un diseño factorial  $3^2$  con una significancia de  $\alpha = 0.05$  y la siguiente información:

$$n = 3 \text{ niveles}$$

$$k = 2 \text{ factores independientes (Concentración de Cr (VI) y pH)}$$

Número de experimentos:

$$N = n^k \rightarrow N = 3^2 = 9 \text{ experimentos}$$

Las variables  $x_1$  y  $x_2$  a trabajar están codificadas en los niveles bajo (-1), medio (0) y alto (1), suponiendo los niveles naturales para la concentración de Cr(VI) y pH:

Tabla XXIII. **Codificación de variables naturales**

<b>Nivel codificado para <math>x_1</math></b>	<b>Concentración de Cr(VI) (mg/L)</b>	<b>Nivel codificado para <math>x_2</math></b>	<b>pH</b>
-1	10	-1	3
0	30	0	6
1	50	1	9

Fuente: elaboración propia.

Para eliminar el error experimental fueron realizadas 3 réplicas en el punto central.

$$N_t = (9 \text{ experimentos}) \cdot (3 \text{ réplicas}) = 27 \text{ corridas}$$

En forma desglosada, aleatorizando el orden estadístico de las corridas para eliminar el error experimental, se obtuvieron los datos que indica la Tabla XXIV.

Tabla XXIV. **Diseño factorial 3<sup>2</sup> desglosado**

No.	Variables codificadas		Variables decodificadas		C <sub>t</sub> (mg/L)	Remoción de Cr(VI) (en porcentaje)
	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	C <sub>0</sub>	pH		
1	-1	-1	10	3	0.00	100.00
2	1	-1	50	3	2.30	95.40
3	0	1	30	9	0.30	98.99
4	0	0	30	6	1.01	96.65
5	-1	0	10	6	0.00	100.00
6	1	0	50	6	3.30	93.39
7	-1	1	10	9	0.03	99.68
8	0	-1	30	3	0.08	99.74
9	1	1	50	9	0.86	98.27
10	-1	-1	10	3	0.00	100.00
11	0	0	30	6	1.09	96.37
12	-1	0	10	6	0.06	99.40
13	0	1	30	9	0.09	99.68
14	0	-1	30	3	0.02	99.93
15	-1	1	10	9	0.01	99.91
16	1	-1	50	3	0.06	99.89
17	1	0	50	6	2.84	94.32
18	1	1	50	9	0.28	99.44
19	1	0	50	6	1.58	96.84
20	0	0	30	6	1.33	95.58
21	-1	1	10	9	0.06	99.40
22	1	1	50	9	0.23	99.54
23	-1	-1	10	3	0.00	100.00
24	0	1	30	9	0.12	99.59
25	-1	0	10	6	0.20	97.96
26	1	-1	50	3	0.15	99.70
27	0	-1	30	3	0.15	99.51

Nota. C<sub>0</sub> = x<sub>1</sub> = Concentración inicial de Cr(VI) (mg/L); pH = x<sub>2</sub>.

Fuente: elaboración propia.

En resumen, el diseño factorial quedaría de la siguiente manera:

Tabla XXV. **Resumen de diseño factorial 3<sup>2</sup>**

Factores:	2	Réplicas:	3
Corridas base:	9	Corridas totales:	27
Bloques base:	1	Bloques totales:	1

Fuente: elaboración propia.

Y al obtener los promedios de las tres réplicas o repeticiones, se obtiene una presentación promedio de los datos:

Tabla XXVI. **Presentación de datos de porcentaje de remoción de Cr(VI) para análisis de varianza, según diseño factorial 3<sup>2</sup>**

		Concentración inicial de Cr(VI) (mg/L)		
		10	30	50
pH	3	100.00	99.73	98.33
	6	99.30	96.20	94.85
	9	99.67	99.42	99.08

Fuente: elaboración propia.

A partir de la Tabla XXVI, se puede obtener el análisis de varianza tomando en cuenta los factores. Siendo para cada observación:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde  $\mu$  es la media del promedio de cada tratamiento o factor (de acuerdo con cada réplica),  $\alpha_i$  es el efecto del factor  $x_1$  (concentración inicial de Cr(VI)),  $\beta_i$  el efecto del factor  $x_2$  (pH),  $(\alpha\beta)_{ij}$  es el efecto de la interacción entre los dos factores  $x_1$ - $x_2$  (concentración inicial de Cr(VI) y pH) y  $\varepsilon_{ijk}$  es el error aleatorio.

Para contrastar este planteamiento, se formulan las hipótesis estadísticas:

$$H_{0A}: \alpha_1 = \dots = \alpha_a = 0 \text{ (la concentración inicial de Cr(VI) no influye)}$$

$$H_{1A}: \text{algún } \alpha_i \neq 0 \text{ (la concentración inicial de Cr(VI) influye)}$$

$$H_{0B}: \beta_1 = \dots = \beta_b = 0 \text{ (el pH no influye)}$$

$$H_{1B}: \text{algún } \beta_i \neq 0 \text{ (el pH influye)}$$

$$H_{0AB}: (\alpha\beta)_{11} = \dots = (\alpha\beta)_{ab} = 0 \text{ (no hay interacción)}$$

$$H_{1AB}: \text{algún } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0 \text{ (existe alguna interacción)}$$

Al plantear un análisis de varianza bifactorial que tome en cuenta todas estas interacciones se obtiene una ecuación para la sumatoria de cuadrados del factor  $x_1$  (A) con  $a$  niveles y el factor  $x_2$  (B) con  $b$  niveles, como se muestra:

$$SST = SS_A + SS_B + SS_{AB} + SS_{AB^2} + SSE$$

Debido a que es un diseño simétrico, en donde el número de observaciones de cada factor es el mismo (3x3x3), se planea una tabla para las sumatorias de los tratamientos del factor  $x_1$  (A). Esta sería similar a la de los tratamientos del factor  $x_2$  (B), y se puede presentar de la siguiente forma:

Tabla XXVII. **Resumen de las sumas totales para cada tratamiento, a un factor dado, con tamaño de muestra simétrico (3 observaciones)**

Tratamiento del factor A, $i$	Tamaño de muestra, $n_i$	Sumatoria de cada muestra, $T_i$	$T_i^2$	$\frac{T_i^2}{n_i}$
10 mg/L	$n_{-1} = 3$	$T_1$	$T_1^2$	$\frac{T_1^2}{n_1}$
30 mg/L	$n_0 = 3$	$T_2$	$T_2^2$	$\frac{T_2^2}{n_2}$
50 mg/L	$n_1 = 3$	$T_3$	$T_3^2$	$\frac{T_3^2}{n_3}$
Total	$\sum_i^a n_i = 9$	$T_o = \sum_{i=1}^a T_i$	-	$\sum_{i=1}^a \frac{T_i^2}{n_i}$

Fuente: elaboración propia.

Donde los totales  $T_i$  representados en la Tabla XXVII se obtuvieron de la siguiente manera:

$$T_i = \sum_i^{n_i} y_i.$$

Las sumas de cuadrados total (SST):

$$SST = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (y_{ijk} - \bar{y})^2 = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y_{ijk}^2 - \frac{T_o^2}{N}$$

La suma de cuadrados debido al factor concentración inicial de Cr(VI) (A):

$$SS_A = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (\bar{y}_i - \bar{y})^2 = \sum_{i=1}^a \frac{T_i^2}{bn} - \frac{T_o^2}{N}$$

La suma de cuadrados debido al factor pH (B):

$$SS_B = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^b (\bar{y}_j - \bar{y})^2 = \sum_{j=1}^b \frac{T_j^2}{an} - \frac{T_o^2}{N}$$

La suma de cuadrados debido a la interacción entre los factores (AB):

$$SS_{AB} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (\bar{y}_{ij} - \bar{y}_i - \bar{y}_j + \bar{y})^2 = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \frac{T_{ij}^2}{n} - \frac{T_o^2}{N} - SS_A - SS_B$$

Y la suma de cuadrados del error (SSE):

$$SSE = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_i - \bar{y}_j + \bar{y})^2 = SST - SS_A - SS_B - SS_{AB}$$

Con estos valores se obtuvieron los cuadrados medios de cada fuente de variación, así como sus valores de F de Fisher, los cuales fueron necesarios para realizar la prueba de hipótesis de comparación de medias entre cada factor. Esta información se resume en la Tabla XXVIII.

Tabla XXVIII. Resumen de cálculo de F de Fisher para análisis de varianza de dos factores, con tres observaciones cada uno

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor F
Concentración inicial de Cr(VI) – C <sub>0</sub>	$SS_A$	$a - 1$	$CM_A = \frac{SS_A}{a - 1}$	$F_A = \frac{CM_A}{CME}$
pH	$SS_B$	$b - 1$	$CM_B = \frac{SS_B}{b - 1}$	$F_B = \frac{CM_B}{CME}$
Interacción C <sub>0</sub> -pH	$SS_{AB}$	$(a - 1)(b - 1)$	$CM_{AB} = \frac{SS_{AB}}{(a - 1)(b - 1)}$	$F_{AB} = \frac{CM_{AB}}{CME}$
Error	$SSE$	$ab(n - 1)$	$CME = \frac{SSE}{ab(n - 1)}$	
Variación total	$SST$	$abn - 1$		

Fuente: elaboración propia.

La regla de decisión para rechazar los parámetros F calculados, a un 95 % de confianza, son:

- Se rechaza  $H_{0A}: \alpha_1 = \dots = \alpha_a = 0$  al nivel  $\alpha = 0.05$  cuando:

$$F_A > F_{a-1, ab(n-1); \alpha} \text{ o bien } p_A < \alpha$$

- Se rechaza  $H_{0B}: \beta_1 = \dots = \beta_b = 0$  al nivel  $\alpha = 0.05$  cuando:

$$F_B > F_{b-1, ab(n-1); \alpha} \text{ o bien } p_B < \alpha$$

- Se rechaza  $H_{0AB}$ :  $(\alpha\beta)_{11} = \dots = (\alpha\beta)_{ab} = 0$  al nivel  $\alpha = 0.05$  cuando:

$$F_{AB} > F_{(a-1)(b-1), ab(n-1); \alpha} \text{ o bien } p_{AB} < \alpha$$

Tabla XXIX. **Resultados del análisis de varianza para el porcentaje de remoción de Cr(VI), utilizando el proceso Electro-Fenton con GAP-nZVI**

Fuente de variación	Grados de libertad	Valor F	Valor $p$
C <sub>0</sub>	2	8.14	0.0030
pH	2	16.04	0.0001
Interacción C <sub>0</sub> -pH	1	2.41	0.0870
Error	18		
Total	26		

Nota. Los valores de  $p < 0.05$  indican que se rechazan las hipótesis de igualdad de medias para los factores de concentración inicial de Cr(VI) y pH.

Fuente: elaboración propia.

### 3.8.2. Ajuste de modelos de regresión múltiple

Para relacionar los dos factores será trabajado un modelo de regresión que busca dar respuesta a la variable  $y$  (porcentaje de remoción de Cr(VI)). El modelo de ajuste corresponde a una regresión lineal múltiple de segundo orden, escrita de la siguiente forma:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \varepsilon$$

Donde los coeficientes  $\beta$  son los coeficientes de regresión,  $\varepsilon$  es el error aleatorio, con media cero. Debido a que un modelo de regresión múltiple se puede escribir la ecuación en términos de la asignación correspondiente:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_4 x_4 + \beta_5 x_5 + \varepsilon$$

Donde los nuevos valores son  $x_1 = C_0$ ,  $x_2 = pH$ ,  $x_3 = C_0 * pH$ ,  $\beta_3 = \beta_{12}$ ,  $x_4 = C_0^2$ ,  $\beta_4 = \beta_{11}$ ,  $x_5 = pH^2$  y  $\beta_5 = \beta_{22}$ . Los resultados obtenidos por el método de mínimos cuadrados (en la Tabla XXX) brindaron el siguiente modelo:

$$\%R = 109.81 - 0.09C_0 - 3.66pH + 4.5 \times 10^{-3}C_0 * pH + 1.5 \times 10^{-3}C_0^2 + 0.29pH^2$$

### 3.8.3. Análisis de correlación del modelo de regresión múltiple

Para el análisis de correlación, se determinaron los estadísticos de prueba para cada parámetro o coeficiente. Se debe contrastar la significancia de los coeficientes individuales  $\beta_{ij}$  contra una prueba de hipótesis:

$$\begin{cases} H_{0A}: \beta_j = 0 \text{ (No existe un cambio en el \%R)} \\ H_{1A}: \beta_j \neq 0 \text{ (Existe algún cambio en el \%R)} \end{cases}$$

$$j = 0, 1, 2, \dots, k$$

- Se rechaza  $H_{0A}: \beta_j = 0$ , al nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  cuando

$$t_0 > t_{\left(\frac{\alpha}{2}, n-1\right)} \text{ o si } p = P(t > |t_0|) < \alpha$$

Los resultados del análisis de correlación se encuentran en la Tabla XXX. De los cuales, al contrastar los valores  $p$  de cada parámetro contra la significancia

$\alpha = 0.05$ , se demuestra que todos los parámetros referidos a la concentración inicial de Cr(VI) no provocan un cambio significativo en el porcentaje de remoción (%R) ( $C_0$  ( $\beta_1$ ),  $C_0 * pH$  ( $\beta_3$ ),  $C_0^2$  ( $\beta_4$ )). Esto denota que solo el pH tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje de remoción.

Tabla XXX. **Análisis de regresión para el modelo de regresión múltiple del porcentaje de remoción de Cr(VI) en función de la concentración inicial de Cr(VI) y pH**

Parámetro	Valor estimado	Error estándar	Estadístico <i>t-student</i>	Valor <i>p</i>
Constante	109.81	2.39	45.90	<0.0001
$C_0$	-0.09	0.09	-1.01	0.3219
<i>pH</i>	-3.66	0.74	-4.96	0.0001
$C_0 * pH$	$4.5 \times 10^{-3}$	0.01	0.73	0.4760
$C_0^2$	$1.5 \times 10^{-4}$	$1.3 \times 10^{-3}$	0.11	0.9125
$pH^2$	0.29	0.06	5.00	0.0001

Fuente: elaboración propia.

Adicional, se presenta el coeficiente de distribución y coeficiente de distribución ajustado del modelo en la Tabla XXXI.

Tabla XXXI. **Coefficiente de determinación para el modelo de regresión múltiple del porcentaje de remoción de Cr(VI) en función de la concentración inicial de Cr(VI) y pH**

Variable	Observaciones	$R^2$	$R^2$ ajustado	C.V.
%R	27	0.76	0.66	1.16

Fuente: elaboración propia.

### 3.8.4. Prueba t para la diferencia de medias del contenido de fenoles totales (CTF) y flavonoides totales (FT) entre el APE fresco y el APE purificado

Para evaluar si existe un cambio estadísticamente significativo del CTF y FT entre el extracto de epicarpio de aguacate fresco y purificado (menor concentración de azúcares), se realizó una prueba t al 95 % de confianza. Se determinó el valor  $p$  y se contrastó la significancia de la diferencia del CTF y FT:

$$\begin{cases} H_{0i}: \bar{D}_{Cj} = 0 & \text{(No existe diferencia en el CTF o FT)} \\ H_{1i}: \bar{D}_{Cj} \neq 0 & \text{(Existe alguna diferencia en el CTF o FT)} \end{cases}$$

$$j = 0, 1, 2, \dots, k$$

- Se rechaza  $H_{0i}: \bar{D}_{Cj} = 0$ , al nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  cuando

$$t_{(1-\frac{\alpha}{2}, n-1)} > t_0 > t_{(\frac{\alpha}{2}, n-1)} \text{ o si } p = P(t > |t_0|) < \alpha$$

Tabla XXXII. Prueba t para la diferencia del CTF y FT entre el extracto fresco y el extracto purificado

Contenido	$\bar{D}_{Cj}$ (mg/g)	Estadístico $t_j$	Valor $p_j$
CTF	82.47 ± 20.62	4.000	0.0039
FT	1.80 ± 1.00	0.558	0.5922

Nota. Los valores de  $p < 0.05$  o  $|t| > 1.860$  indican que se rechazan las hipótesis de diferencia del CTF entre el extracto fresco y el extracto purificado.

Fuente: elaboración propia.

Los resultados de la prueba de hipótesis de la Tabla XXXII, demuestran que los existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en el CTF del extracto fresco y del extracto purificado.

### 3.8.5. Prueba t para la diferencia del porcentaje de remoción de Cr(VI) a 5 min y 25 min

Para determinar si existe una diferencia en el porcentaje de remoción de Cr(VI) después de 5 min y después de 25 min, se realizó una prueba t al 95 % de confianza. Se determinó el valor  $p$  para cada tratamiento. Se debe contrastar la significancia de las diferencias del %R contra una prueba de hipótesis:

$$\begin{cases} H_{0i}: \bar{D}_{\%Rj} = 0 & \text{(No existe diferencia en el \%R)} \\ H_{1i}: \bar{D}_{\%Rj} \neq 0 & \text{(Existe alguna diferencia en el \%R)} \end{cases}$$

$$j = 0, 1, 2, \dots, k$$

- Se rechaza  $H_{0i}: \bar{D}_j = 0$ , al nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  cuando:

$$t_{(1-\frac{\alpha}{2}, n-1)} > t_0 > t_{(\frac{\alpha}{2}, n-1)} \text{ o si } p = P(t > |t_0|) < \alpha$$

Tabla XXXIII. Prueba t para la diferencia del porcentaje de remoción de Cr(VI) después de 5 min y después de 25 min

pH	Concentración inicial de Cr(VI) (mg/L)					
	10		30		50	
	$t_j$	$p_j$	$t_j$	$p_j$	$t_j$	$p_j$
3	35.20	8.00E-04	1.10	0.3854	-0.88	0.4737
6	0.1460	0.8973	-8.502	0.01355	-5.283	0.03401
9	-1.526	0.2665	1.648	0.2411	0.08156	0.9424

Nota. Los valores de  $p < 0.05$  o  $|t| > 4.303$  indican que se rechazan las hipótesis de diferencia en el porcentaje de remoción de Cr(VI).

Fuente: elaboración propia.

Los resultados de la prueba de hipótesis se encuentran en la Tabla XXXIII. De los cuales, al contrastar los valores  $p$  de cada parámetro contra la significancia  $\alpha = 0.05$ , se demuestra que los tratamientos a pH 3.0 y 10 mg/L de Cr(VI), pH 6.0 y 30 mg/L de Cr(VI), y pH 6.0 y 50 mg/L de Cr(VI) presentan una diferencia significativa en el porcentaje de remoción (%R), después de 5 min y 25 min.

## 4. RESULTADOS

Tabla XXXIV. Rendimiento de extracción, contenido total de fenoles (CTF) y flavonoides totales (FT) del extracto de epicarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.) (APE)

Muestra	Rendimiento de extracción (en porcentaje)	CTF (mg EAG/g extracto seco)	FT (mg EQ/g extracto seco)
Extracto	25.70	207.79 ± 10.73	3.53 ± 3.36
Extracto purificado		290.26 ± 50.28	4.53 ± 1.39

Nota. Datos de rendimiento de extracción porcentual expresados como g de materia seca/g de muestra. Datos de CTF expresados como EAG = equivalentes de ácido gálico. Datos de FT expresados como EQ = equivalentes de quercetina. Valores expresados como promedio ± desviación estándar.

Fuente: elaboración propia.

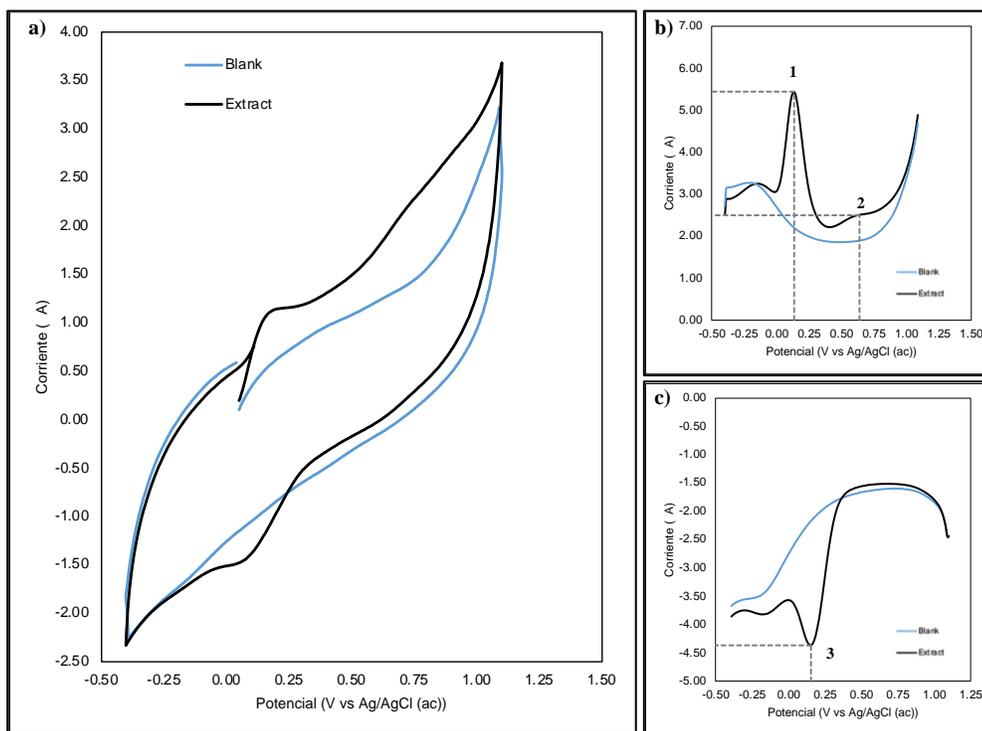
Tabla XXXV. **Perfil de compuestos fenólicos presentes en el APE**

<b>Compuesto</b>	<b>Composición (µg/g extracto)</b>	<b>Familia de polifenoles</b>
Quercetina	0.31	Flavonol
Ácido ferúlico	1.01	Ácido hidroxibenzoico
Ácido vanílico	0.14	Ácido hidroxibenzoico
Ácido gálico	0.58	Ácido hidroxibenzoico
Ácido p-cumárico	1.56	Ácido hidroxibenzoico
Ácido clorogénico	2.12	Éster polifenólico
Ácido 4-hidroxibenzoico	0.32	Ácido hidroxibenzoico
Epicatequina	5.45	Flavonol

Nota. Datos de composición expresados como microgramos de especie fenólica por gramo de extracto seco. Perfil obtenido por HPLC-MS (Sección 3.6.1.5).

Fuente: elaboración propia.

Figura 18. Voltamograma a) cíclico, b) de onda cuadrada anódico y c) de onda cuadrada catódico del APE



Nota. Datos medidos a 100 mV/s utilizando electrodo de carbón vítreo. Asignación: línea azul = Blanco (KCl 0.10 M), línea negra = Extracto + KCl.

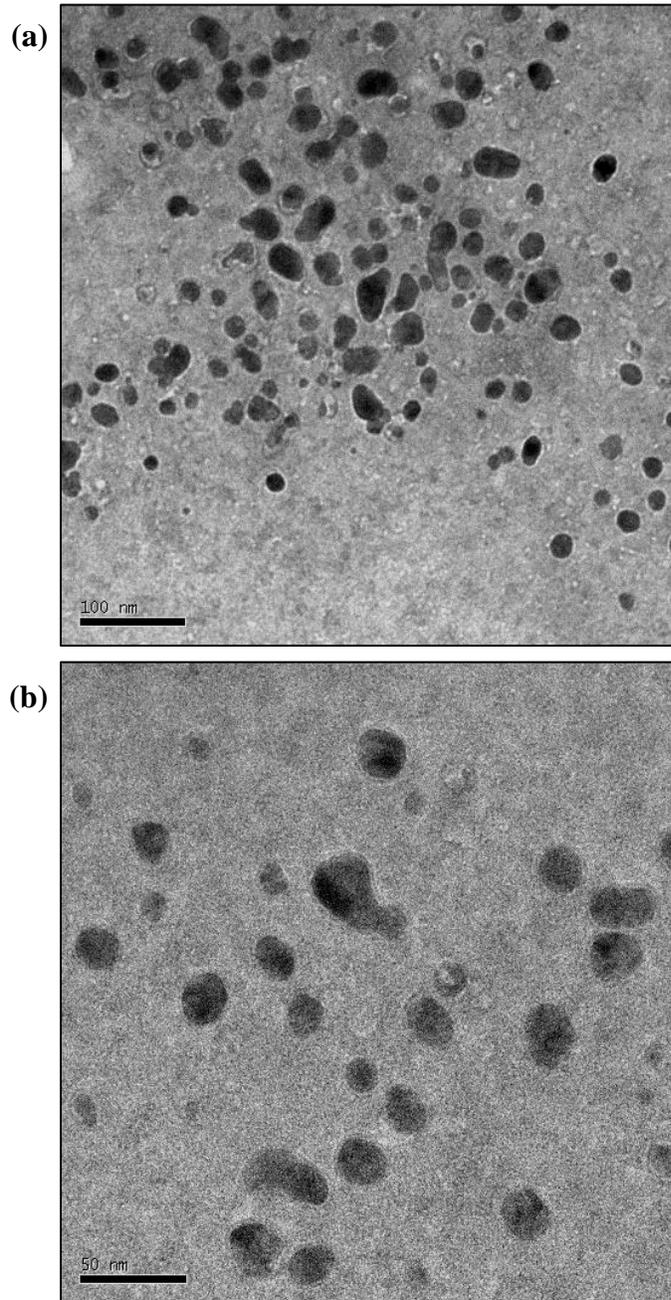
Fuente: elaboración propia.

Tabla XXXVI. Potencial redox del APE obtenidos por SWV

Número	Tipo de señal	Potencial (V)
1	Anódica	0.13
2	Anódica	0.64
3	Catódica	0.15
<b>Potencial redox, <math>\Delta E</math>:</b>		<b>0.62</b>

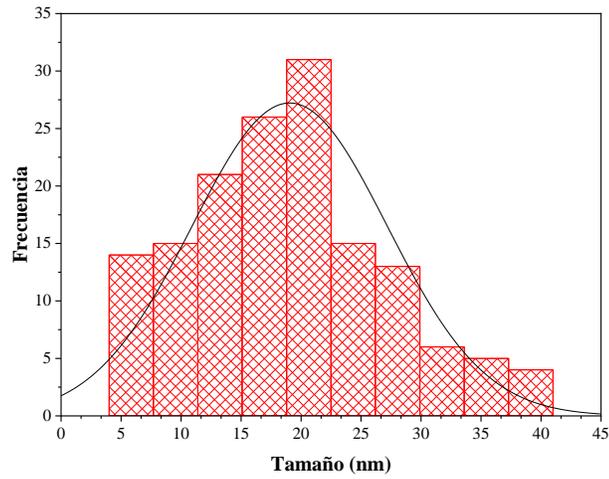
Fuente: elaboración propia.

Figura 19. **Micrografía de las GAP-nZVI, obtenida por TEM a una escala de (a) 100 nm, y (b) 50 nm**



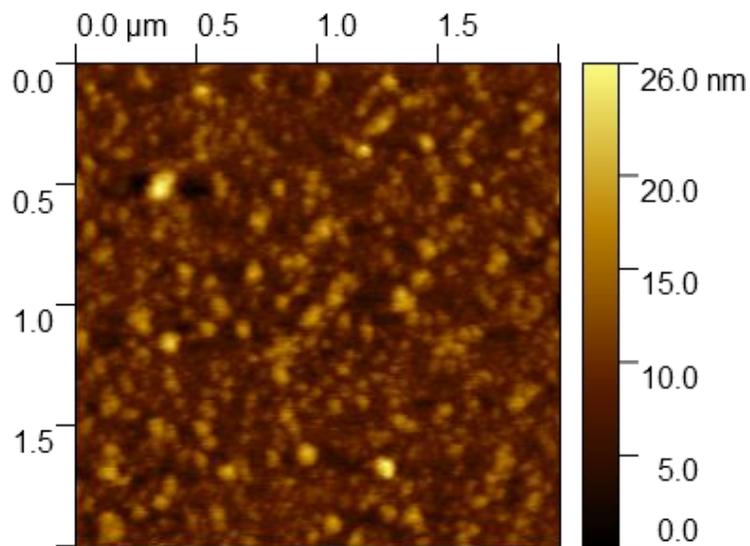
Fuente: [Micrografías de Brian López]. (San José, Costa Rica. 2021). Colección particular. Guatemala.

Figura 20. **Distribución del tamaño de las GAP-nZVI, obtenida por TEM a una escala de 100 nm**



Fuente: elaboración propia, con datos obtenidos de la Figura 19 (a).

Figura 21. **Micrografía de las GAP-nZVI, obtenida por AFM**



Fuente: [Micrografía de Brian López]. (San José, Costa Rica. 2021). Colección particular. Guatemala.

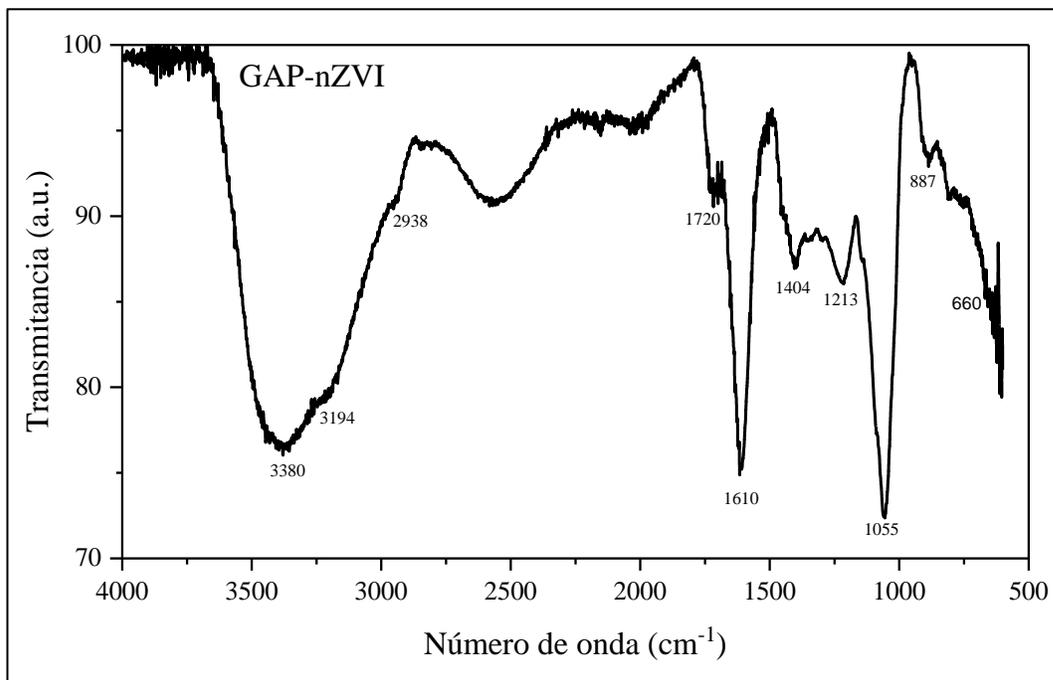
Tabla XXXVII. **Tamaño promedio de las GAP-nZVI, obtenido por AFM y TEM**

Técnica empleada	Diámetro (nm)
AFM	$14 \pm 3$
TEM	$19 \pm 8$

Nota. Valores de tamaño de partícula expresados como promedio  $\pm$  desviación estándar. Tamaño de muestra para AFM:  $n = 312$ . Tamaño de muestra para TEM:  $n = 78$ .

Fuente: elaboración propia.

Figura 22. **Espectro infrarrojo de las GAP-nZVI, obtenido por FTIR**



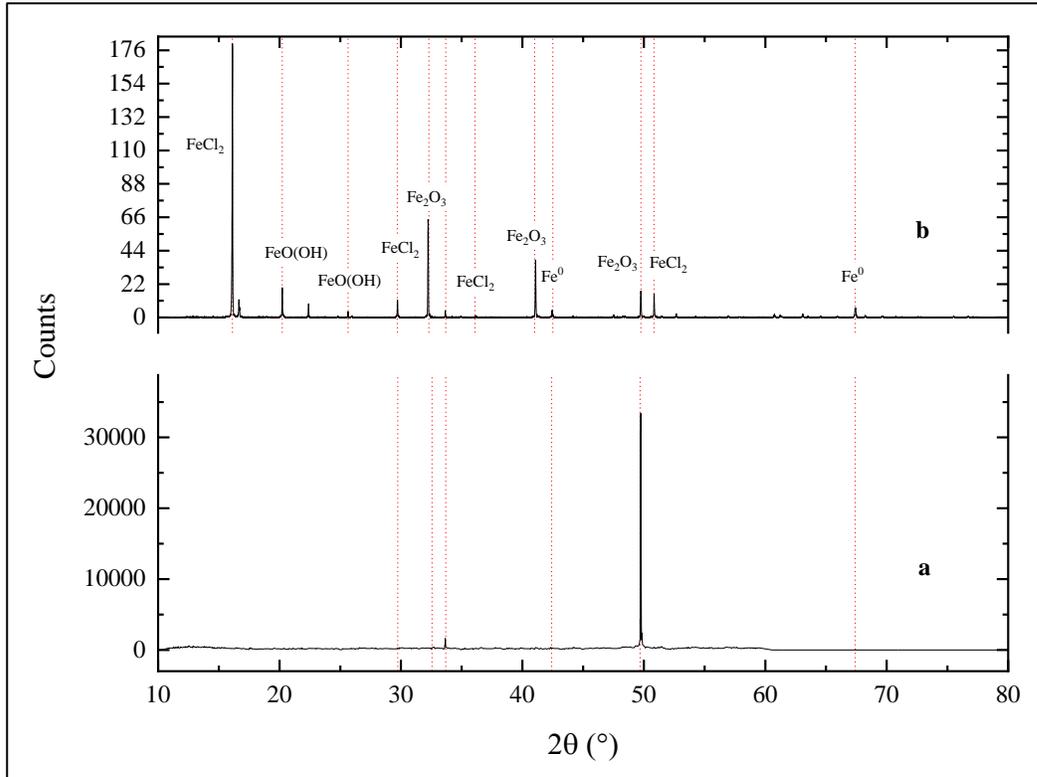
Fuente: elaboración propia.

Tabla XXXVIII. **Identificación de grupos funcionales superficiales en las GAP-nZVI, obtenido por FTIR**

No.	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Asignación o tipo de vibración	Grupo funcional
1	3380	Estiramiento O–H	Compuestos fenólicos
2	3194	Estiramiento O–H	Aldehídos
3	2938	Estiramiento C–H	Alqueno
4	1720	Estiramiento C=O	Ácido carbóxico
5	1610	Estiramiento C=C	Alqueno
6	1404	Estiramiento C–C	Aromáticos
7	1213	Estiramiento C–N	Aminas
8	1055	Estiramiento C–O–C	Compuestos carbonílicos
9	887	Flexión C–H	Aromáticos
10	660	Flexión C–H	Alcano

Fuente: elaboración propia, con datos obtenidos de la Figura 22.

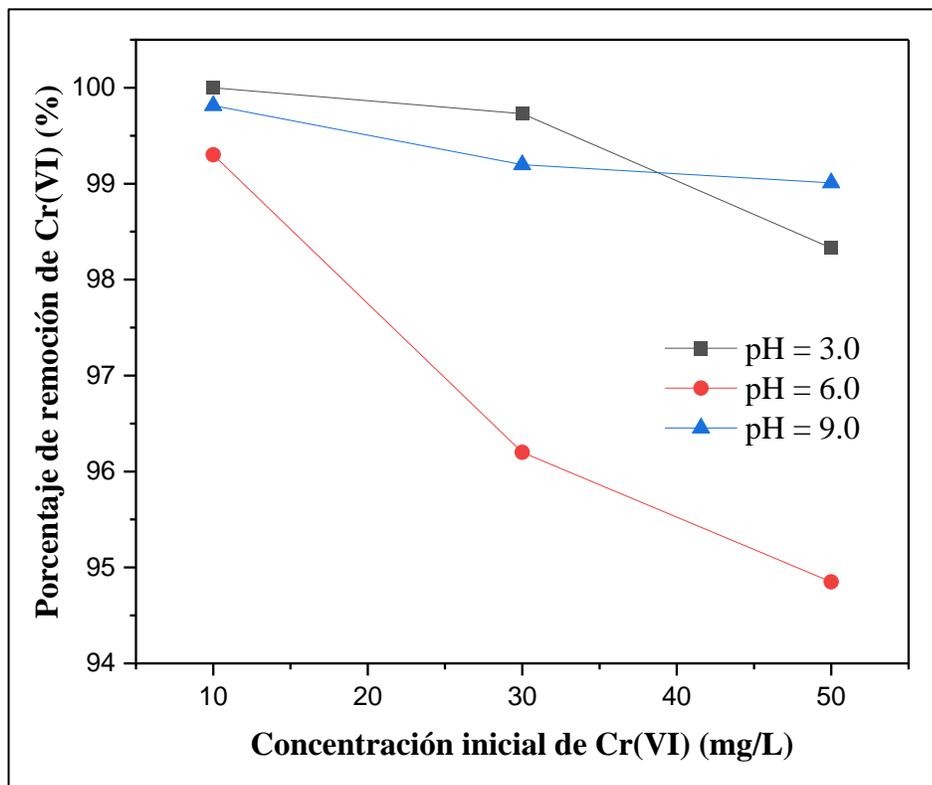
Figura 23. Patrón de difracción de rayos X de las GAP-nZVI, obtenido por XRD con refinamiento de Rietveld



Nota. (a) = GAP-nZVI frescas; (b) = GAP-nZVI después de 24 h en contacto con aire.

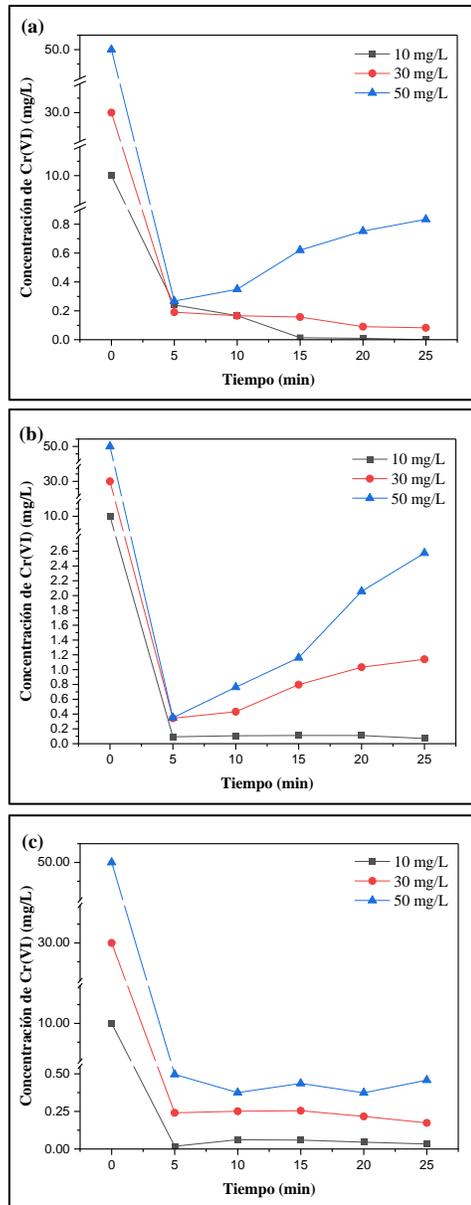
Fuente: elaboración propia.

Figura 24. **Porcentaje de remoción de Cr(VI) en función de la concentración inicial de Cr(VI) y pH por medio del proceso Electro-Fenton, utilizando las GAP-nZVI**



Fuente: elaboración propia.

Figura 25. **Concentración de Cr(VI) en función del tiempo, a diferentes concentraciones iniciales, a pH a) 3.0, b) 6.0 y c) 9.0 por medio del proceso Electro-Fenton utilizando las GAP-nZVI**



Fuente: elaboración propia.

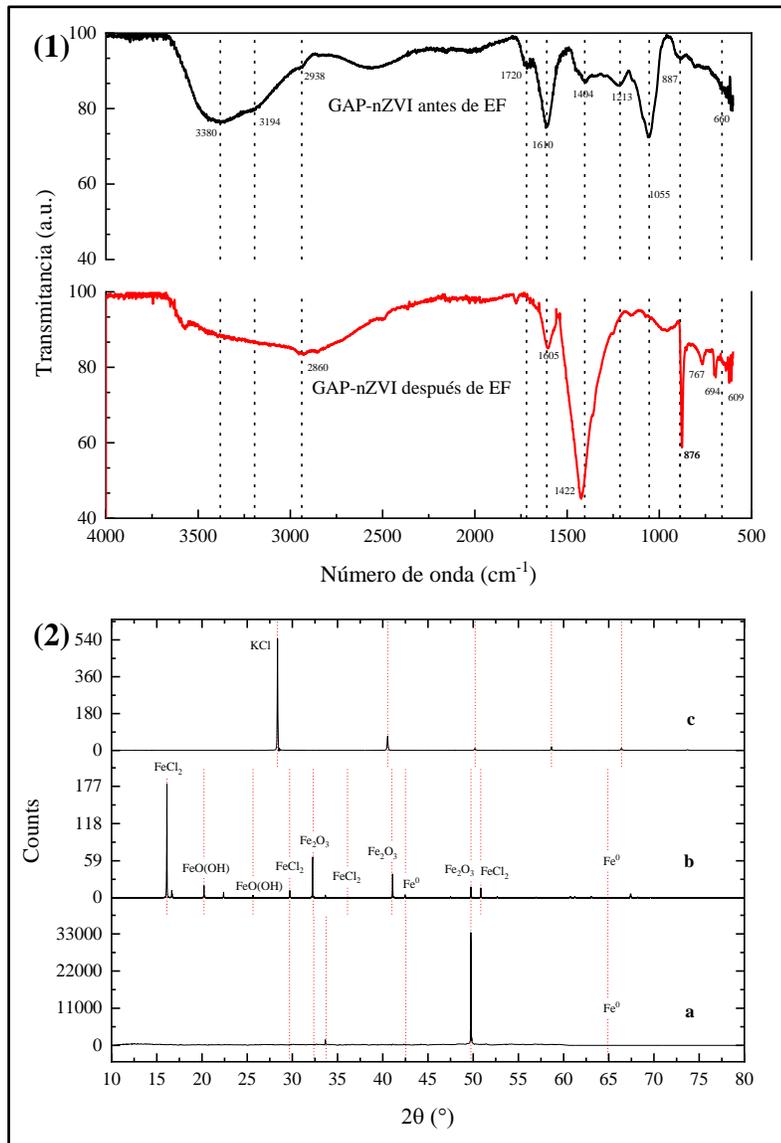
Tabla XXXIX. **Parámetros cinéticos para el proceso EF a diferentes concentraciones iniciales de Cr(VI) y pH**

		Concentración inicial de Cr(VI) (mg/L)					
		10		30		50	
pH	Orden cero						
	$k_0 \left( \frac{mg}{L \cdot min} \right)$	$R^2$	$k_0 \left( \frac{mg}{L \cdot min} \right)$	$R^2$	$k_0 \left( \frac{mg}{L \cdot min} \right)$	$R^2$	
3	-0.013	0.83	-0.0059	0.92	0.031	0.96	
6	-8.7E-04	0.16	0.044	0.96	0.11	0.98	
9	2.8E-05	0.015	-0.0034	0.63	-0.0015	0.052	
		Primer orden					
pH	$k_1 \left( min^{-1} \right)$	$R^2$	$k_1 \left( min^{-1} \right)$	$R^2$	$k_1 \left( min^{-1} \right)$	$R^2$	
	3	-0.24	0.89	-0.046	0.90	0.061	0.93
6	-0.011	0.20	0.066	0.94	0.010	0.97	
9	0.017	0.079	-0.016	0.64	-0.0032	0.042	
		Segundo orden					
pH	$k_2 \left( \frac{L}{mg \cdot min} \right)$	$R^2$	$k_2 \left( \frac{L}{mg \cdot min} \right)$	$R^2$	$k_2 \left( \frac{L}{mg \cdot min} \right)$	$R^2$	
	3	7.4	0.90	0.38	0.88	-0.13	0.89
6	0.14	0.24	-0.11	0.90	-0.12	0.82	
9	-0.84	0.18	0.077	0.63	0.0068	0.52	

Nota. Los valores de concentración de Cr(VI) utilizados, corresponden al intervalo de 5-25 min.

Fuente: elaboración propia, con datos obtenidos de la Figura 25.

Figura 26. Comparación de los (1) espectros FTIR y (2) patrones de XRD de las GAP-nZVI antes y después del proceso EF a una concentración inicial de 10 mg/L y pH 3.0



Nota. (a) = GAP-nZVI frescas; (b) = GAP-nZVI después de 24 h en contacto con aire; (c) = GAP-nZVI después del proceso EF.

Fuente: elaboración propia.

## 5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

### 5.1. Contenido de fenoles totales (CTF) y flavonoides totales (FT) del extracto de epicarpio de aguacate

La Tabla XXXIV muestra el rendimiento de extracción, contenido total de fenoles (CTF) y flavonoides totales (FT) (en base seca) del extracto del epicarpio de aguacate (APE), obtenido por extracción asistida por ultrasonido (UAE). Se obtuvo un 25.70 % de recuperación de materia seca al final del proceso de extracción, que corresponde a los polifenoles. El APE fresco demostró un CTF de  $207.79 \pm 10.73$  mg/g y un FT de  $3.53 \pm 3.36$  mg/g. Estudios previos reportaron un 10.90 % de rendimiento de extracción de polifenoles de la cáscara de la naranja (*Citrus sinensis* L.) y un CTF de 275.8 mg/100 g, utilizando la misma técnica de UAE (M. K. Khan et al., 2010).

Otro estudio obtuvo un CTF de  $200.28 \pm 2.75$  mg/g y un FT de  $54.77 \pm 3.21$  mg/g presentes en el extracto de *Limoniastrum feei* (Keffous et al., 2016). Estos resultados demuestran que el rendimiento de extracción de polifenoles a partir de la cáscara del aguacate por el método de UAE fue dos veces mayor al obtenido a partir de la cáscara de naranja y posee uno de los CTF más altos entre las especies cítricas (generalmente reconocidas por tener altos contenidos polifenólicos) (Keffous et al., 2016; M. K. Khan et al., 2010). Si bien, demostró un bajo FT en comparación con sus análogos. Esto puede asociarse a que los flavonoides tienen ciertas fluctuaciones de concentración en la cáscara del aguacate por la variación de las condiciones ambientales y enzimáticas, que provocan la oxidación de los flavonoides y formación de sus correspondientes ácidos fenólicos (Zaki et al., 2020).

Por otra parte, se obtuvo un incremento del 20-40 % en el CTF y 20-30 % en el FT del APE purificado (sometido a un proceso de eliminación de azúcares reductores) con respecto al APE fresco. Este valor se encuentra entre los más altos reportados en la literatura para CTF en la cáscara del aguacate (Rosales, Pazos, & Sanromán, 2012). Para evaluar si existe una diferencia estadísticamente significativa entre el CTF y FT del extracto fresco y el extracto purificado se realizó una prueba *t-student* al 95 % de confianza, donde se rechazó la hipótesis nula únicamente para el CTF ( $p < 0.05$ ) (ver Tabla XXXII). No obstante, se aceptó la hipótesis nula para la igualdad de FT entre el extracto fresco y el extracto purificado. Estos resultados confirman que el proceso de enriquecimiento de polifenoles incrementó significativamente el CTF del APE purificado con respecto al APE fresco, pero no hubo cambio significativo en el FT.

En la Tabla XXXV se encuentra el perfil cromatográfico de polifenoles presentes en el APE. Destacan los ácidos hidroxibenzoicos (ácido ferúlico, vanílico, gálico, entre otros) y una alta concentración de epicatequina (5 µg/g). Los resultados coinciden con otro estudio que reportó un alto contenido de ácidos hidroxibenzoicos y catequina (de la misma familia que la epicatequina) en la cáscara del aguacate (Zaki et al., 2020).

## **5.2. Voltametría Cíclica (CV) y Voltametría de Onda Cuadrada (SWV) del extracto de epicarpio de aguacate (APE)**

La capacidad reductora del extracto de epicarpio de aguacate (APE) fue determinada por voltametría cíclica (CV) y voltametría de onda cuadrada (SWV). La Figura 18a muestra las señales electroquímicas de los compuestos electroactivos en el APE (línea negra), con respecto al blanco (línea azul). Los resultados muestran un incremento de la corriente generada en la región anódica

inducida por el APE. Este incremento en la corriente con respecto al blanco representa la respuesta electroquímica de las especies reductoras, que se oxidan cerca del electrodo cuando se aplica voltaje (Amidi, Mojab, Moghaddam, Tabib, & Kobarfard, 2012). Las respuestas anódicas que detectan los potenciales de oxidación de las especies reductoras tienden a aparecer en la región superior del voltamograma cíclico. Por otro lado, las señales catódicas que detectan potenciales de reducción de las especies oxidantes tienden a aparecer en la región inferior del voltamograma cíclico (Elgrishi et al., 2018). Por ello, la presencia de señales continuas y la ausencia de picos de voltaje definidos revelan que el APE contiene múltiples especies reductoras con diferentes potenciales de oxidación, como los polifenoles (Zielińska & Turemko, 2020). Adicionalmente, el voltamograma cíclico en la región de oxidación reversible (cambio de voltaje negativo) muestra un pico catódico cerca de 0.10 V.

La Figura 18b muestra el voltamograma de onda cuadrado anódico, que fue obtenido con el propósito de mejorar la detección de respuestas más sensibles en la región anódica. Esta técnica electroquímica mejoró la resolución de los picos característicos en la curva anódica, en comparación con el voltamograma cíclico. Como muestra la figura, el APE exhibe un incremento en la corriente con respecto al blanco. Se identificaron dos picos de oxidación a 0.13 V y 0.64 V. Estos picos corresponden a los componentes de naturaleza reductora presentes en el extracto. El pico a 0.13 V muestra una mayor área ( $0.40 \mu\text{A}\cdot\text{V}$ ) que el pico a 0.64 V ( $0.050 \mu\text{A}\cdot\text{V}$ ). Este resultado indica un mayor contenido de componentes con potencial de oxidación de 0.13 V. Se sabe que el potencial de reducción estándar del  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^0$  es  $-0.04 \text{ V}$  (Z. Wang, 2013). Al hacer una comparación de los picos anódicos y el potencial de reducción del  $\text{Fe(III)}$  a  $\text{Fe}^0$  se confirmó que el APE es capaz de reducir el  $\text{Fe(III)}$  a  $\text{Fe}^0$  para producir nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI). Los compuestos fenólicos presentes en el extracto pueden reducir y acomplejar el hierro simultáneamente

(Poguberović et al., 2016). El mecanismo de reducción del Fe(III) por medio de polifenoles permite una protección de la superficie de las nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) debido a la formación de complejos, esto podría resultar en alta dispersidad (Adusei-Gyamfi & Acha, 2016), como será discutido más adelante en la sección de TEM.

Adicionalmente, el voltamograma de onda cuadrada catódico de la Figura 18c muestra un pico a 0.15 V. El área bajo la curva de este pico (0.33  $\mu\text{A}\cdot\text{V}$ ) corresponde a la reducción de los componentes del APE a la oxidación reversible. El pico catódico demostró una posición similar a la del primer pico anódico, como lo muestra la Figura 18a. La correspondencia entre el pico catódico y el anódico explica la naturaleza reversible de los compuestos fenólicos y su capacidad para ser reducidos de nuevo (Amidi et al., 2012). Algunos extractos de plantas no poseen reversibilidad oxidativa (Keffous et al., 2016; Makhotkina & Kilmartin, 2012); sin embargo, el APE sí exhibió esta propiedad. El potencial redox del APE identificado en el voltamograma de onda cuadrada se encuentra en la Tabla XXXVI.

### 5.3. Caracterización de las GAP-nZVI

La morfología, tamaño y distribución de las nanopartículas de hierro cerovalente sintetizadas a partir del extracto de epicarpio de aguacate (GAP-nZVI, acrónimo corto de *green-synthesized nano zero-valent iron particles using avocado peel extract*) fueron evaluados mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) y Microscopía de Fuerza Atómica (AFM). La Figura 21a y Figura 21b muestran las micrografías TEM de las GAP-nZVI a escalas de 100 nm y 50 nm, respectivamente. Estas figuras indican una morfología cuasi-esférica de las GAP-nZVI, con un tamaño de entre 5-40 nm. A partir de la distribución de tamaño de la Figura 20, se confirma un tamaño de partícula promedio de 19 nm.

Estos resultados demuestran una distribución no aglomerada de las GAP-nZVI. Los componentes del APE son los responsables tanto de la reducción como de la estabilización coloidal de las GAP-nZVI (Desalegn et al., 2019). Asimismo, las imágenes confirman la presencia de la estructura *Core-Shell*. El color negro representa el *core* o interior de la partícula, mientras que la fina capa gris que rodea el interior corresponde al *shell* o caparazón (Taha & Ibrahim, 2014). Estudios previos que han utilizado otros extractos de planta también han reportado una morfología cuasi-esférica similar (Fazlzadeh et al., 2017; Guo et al., 2020; Poguberović et al., 2016).

La Figura 21 muestra la imagen topográfica AFM de las GAP-nZVI que confirma la morfología cuasi-esférica y distribución regular de las nanopartículas observado en las micrografías de TEM. Mediante esta técnica se encontró un tamaño de partícula promedio de 14 nm. La comparación de tamaños de partícula obtenidos mediante las técnicas de AFM y TEM se encuentra en la Tabla XXXVII.

La Figura 22 muestra el espectro infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), de las GAP-nZVI antes del proceso Electro-Fenton (EF). El pico ancho de alta intensidad a  $3380\text{ cm}^{-1}$  puede corresponder a un estiramiento O–H de los compuestos fenólicos. El pico de la banda identificado a  $3194\text{ cm}^{-1}$  podría indicar la vibración del estiramiento O–H proveniente de los grupos aldehído (COH) (Kumari & Dutta, 2020). Un tercer pico fuerte a  $1055\text{ cm}^{-1}$  coincide con la vibración del estiramiento C–O–C de carbonilos presentes en compuestos heterocíclicos, usualmente hallados en proteínas de extractos de plantas (Fazlzadeh et al., 2017). Por otra parte, el pico a  $1213\text{ cm}^{-1}$  podría asociarse con la vibración de un estiramiento C–N de grupos amina presentes en proteínas. El pico a  $1720\text{ cm}^{-1}$  podría asignarse al estiramiento C=O de grupos carbonilos de ácidos alifáticos saturados dimerizados (Z. Wang, 2013), o aldehídos y cetonas (Desalegn et al., 2019). Otros grupos funcionales identificados también se muestran en la

Tabla XXXVIII. De acuerdo con esta tabla, la abundancia de diferentes grupos funcionales sobre la superficie de las GAP-nZVI indica la presencia de grupos como fenoles, alcoholes, terpenoides, aminas (de proteínas), ácidos carboxílicos y grupos carbonílicos (Fazlzadeh et al., 2017; Z. Wang, 2013). La aparición de estas interacciones podría relacionarse con las especies fenólicas que redujeron el Fe(III) a Fe<sup>0</sup>, los cuales también sirvieron como agentes protectores en otros extractos de planta reportados (Fazlzadeh et al., 2017). Las interacciones entre estas funcionalidades superficiales pueden explicar la alta dispersidad observada en las micrografías de TEM (Kumari & Dutta, 2020).

La Figura 23 muestra el patrón de difracción de rayos X (XRD) de (a) las GAP-nZVI y (b) las GAP-nZVI después de estar 24 h en contacto con aire. Los patrones de XRD de las GAP-nZVI mostraron una alta intensidad del pico cercano a  $2\theta = 49.7^\circ$ , el cual corresponde a los polifenoles del extracto en las GAP-nZVI (Shahwan et al., 2011) también confirmados por FTIR. El patrón de difracción sugiere que los polifenoles del APE que cubren la superficie de las nZVI exhiben una alta cristalinidad. Este pico orgánico fue reportado en partículas nZVI sintetizadas con extracto de té (Hoag et al., 2009). Adicionalmente, otros picos orgánicos de XRD han sido reportada en partículas nZVI sintetizadas con extracto de hoja de té verde (Shahwan et al., 2011), extracto de hoja de eucalipto (T. Wang et al., 2014); extractos de hoja de piña, manzana y ciruela (Machado et al., 2015), así como extractos de *Rosa damascene*, *Thymus vulgaris*, y *Urtica dioica* (Fazlzadeh et al., 2017). Esta propiedad representa una notable diferencia del método de síntesis verde de nZVI con respecto a los métodos convencionales (con borohidruro de sodio) (Rončević, Nemet, Ferri, & Matković-Čalogović, 2019).

Para confirmar la presencia de hierro en las nanopartículas, se realizó un análisis de XRD a las GAP-nZVI después de 24 h en contacto con aire, mostrado en la Figura 23(b). El patrón de XRD de las GAP-nZVI después de 24 h en

contacto con aire demostró la desaparición de las reflexiones de los polifenoles y la aparición de varios picos característicos de especies de hierro como  $\text{FeCl}_2$ ,  $\text{FeOOH}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , and  $\text{Fe}^0$ . El análisis indica que el hierro cerovalente y los compuestos orgánicos que protegían las GAP-nZVI fueron oxidadas después de 24 h por contacto con aire y confirmaron una estructura cristalina de los compuestos remanentes (Fazlzadeh et al., 2017). Adicionalmente, la aparición de especies de hierro(II) podrían corresponder a los compuestos del *shell* de las GAP-nZVI. Estas especies se oxidan para preservar el interior de la partícula, produciendo una estructura *Core-Shell* de  $\text{Fe}^0$ - $\text{FeOOH}$ - $\text{Fe}_x\text{O}_y$ -polifenoles (Fazlzadeh et al., 2017; Guo et al., 2020; T. Wang et al., 2014).

#### **5.4. Proceso Electro-Fenton (EF) utilizando las GAP-nZVI para la remoción de Cr(VI)**

La concentración inicial de Cr(VI) es un factor crucial en el proceso electroquímico (Rahmani et al., 2015), y el estudio de diferentes concentraciones de Cr(VI) permiten evaluar el efecto limitante de su remoción. La Figura 24 muestra la remoción de Cr(VI) utilizando las GAP-nZVI bajo el efecto de diferentes concentraciones iniciales de Cr(VI) y pH por el proceso Electro-Fenton (EF).

El diseño experimental consistió en valores constantes de voltaje aplicado (10 V), dosis de peróxido de hidrógeno (10 mL/L) y dosis de GAP-nZVI (0.047g/L). Esta figura muestra el porcentaje de remoción de Cr(VI) a concentraciones iniciales de 10 mg/L, 30 mg/L y 50 mg/L a pH 3.0, 6.0 y 9.0 después de 25 min de reacción. Como se observa en la figura, el porcentaje de remoción fue > 99 % a 10 mg/L de Cr(VI) para todos los tratamientos de pH después de 25 min. A una concentración inicial de 30 mg/L, el porcentaje de remoción presentó un ligero decremento para el tratamiento a pH 3.0 y 9.0, aun manteniendo el porcentaje de

remoción por encima de 99 %. Sin embargo, la eficiencia de remoción disminuyó de 99 % a ~96 % para el tratamiento a pH 6.0 y 30 mg/L de Cr(VI). A 50 mg/L, el porcentaje de remoción solamente disminuyó por debajo del 99 % para los tratamientos a pH 3.0 y 6.0 hasta alcanzar 98 % y 95 % respectivamente.

Por lo tanto, el porcentaje de remoción de Cr(VI) tiende a disminuir ligeramente con el aumento en la concentración inicial de Cr(VI) después de 25 min de reacción. Esta tendencia indica que la dosis de GAP-nZVI se vuelve insuficiente y sugiere la necesidad de un tratamiento adicional (Shokri, 2017). El área superficial de las GAP-nZVI se satura rápidamente de Cr(VI) con el incremento de la concentración inicial de Cr(VI), formando una capa pasivante que previene la transferencia de electrones (Nahuel Montesinos et al., 2014; Zhu et al., 2018).

Este comportamiento inhibe los mecanismos redox entre nanopartícula-contaminante y disminuye la eficiencia de remoción de Cr(VI) (Hu et al., 2011; Zhu et al., 2018). A pesar de este efecto, el porcentaje de remoción de Cr(VI) se mantuvo arriba del 90 % para todas las concentraciones iniciales de Cr(VI) y podría indicar que la dosis de GAP-nZVI provee un ligero efecto limitante en la remoción de Cr(VI).

Estudios previos han obtenido eficiencias de remoción de Cr(VI) menores a altas concentraciones iniciales de Cr(VI) utilizando adsorción (Poguberović et al., 2016) o tratamiento con electrodos de sacrificio de Fe (Rahmani et al., 2015). Por el contrario, los resultados obtenidos con esta investigación utilizando el proceso EF con GAP-nZVI indican mayores eficiencias de remoción de Cr(VI) a altas concentraciones iniciales de Cr(VI) que las mencionadas anteriormente.

Asimismo, el porcentaje de remoción de Cr(VI) requerido para un tratamiento efectivo (concentración final < 0.10 g/L) debe ser 99 % para 10 mg/L de Cr(VI), 99,7 % para 30 mg/L de Cr(VI) y 99.8 % para 50 mg/L de Cr(VI). Por lo cual, los resultados revelan que las GAP-nZVI removieron el Cr(VI) efectivamente por el proceso EF a pH 3.0 y concentraciones iniciales de 10 mg/L y 30 mg/L, dado que su concentración final fue menor al límite estándar (< 0.10 mg/L); este comportamiento también fue obtenido a pH 6.0 y 9.0 para una concentración inicial de 10 mg/L de Cr(VI).

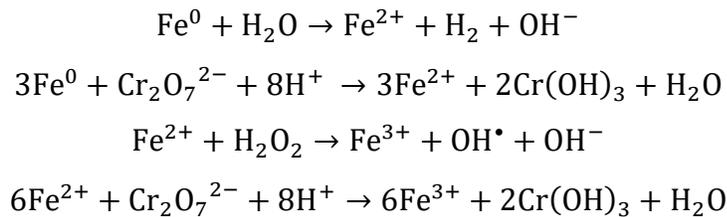
La Figura 24 también muestra el efecto del pH inicial sobre el proceso EF utilizando las GAP-nZVI, a pH de 3.0, 6.0 y 9.0 después de 25 min de reacción. Esta figura muestra que el porcentaje de remoción de Cr(VI) fue 3.5 % más bajo a pH 3.0 que a pH 6.0 a ciertas concentraciones iniciales de Cr(VI) (30 mg/L y 50 mg/L). Mientras que, el porcentaje de remoción de Cr(VI) incrementó desde pH 6.0 a 9.0, resultando en un 4.5 % de incremento en el tratamiento de concentración inicial más alta (50 mg/L).

Este comportamiento podría asociarse a las características de los sistemas de equilibrio Fe-agua y Cr-agua bajo condiciones ácidas y alcalinas en el proceso EF (P. V. Nidheesh & Gandhimathi, 2014). Inicialmente, la remoción de Cr(VI) consistió en dos etapas: una reducción de Cr(VI) a Cr(III) por las especies de hierro (Fe/Fe<sup>2+</sup>) y una coprecipitación subsecuente de los hidróxidos de Fe<sup>3+</sup>/Cr<sup>3+</sup> (Barrera-Díaz et al., 2012).

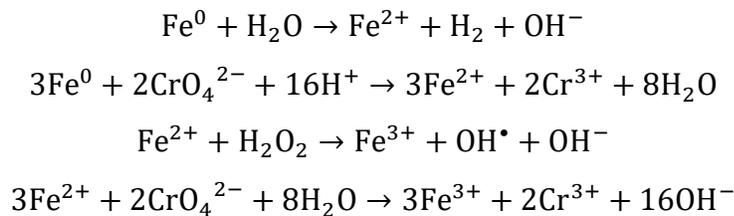
Las partículas de GAP-nZVI presentaron un rol catalítico en el proceso EF y sirvieron como una fuente de iones Fe<sup>2+</sup> para la reacción Fenton (Shokri, 2017). El mecanismo conduce a una rápida generación de iones Fe<sup>2+</sup> sobre el *Core-Shell* de las GAP-nZVI debido a la reacción entre Fe<sup>0</sup> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Rahmani et al., 2015; Shokri, 2017). Este cambio sirvió como “fuerza impulsora” para la

reducción de Cr(VI), como lo indican las siguientes reacciones para condiciones ácidas y alcalinas (Poguberović et al., 2016; Rahmani et al., 2015; Ye et al., 2021):

Para condiciones ácidas:



Para condiciones básicas:



La tendencia del porcentaje de remoción de Cr(VI) en un rango de pH de 3.0 a 6.0 podría atribuirse a la capa de óxido de hierro ( $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$ ) sobre el *Core-Shell* de las GAP-nZVI bajo condiciones ácidas que sirven como donadores de electrones (Yan et al., 2010). A estas condiciones, la capa se puede disolver con mayor facilidad por los iones  $\text{H}^+$  y exponer los sitios activos de superficie de la partícula para la transferencia de electrones (Fazlzadeh et al., 2017; Yan et al., 2010). El pH ácido y el alto voltaje del proceso EF ( $> 0.4$  V) fueron adecuados para la predominancia de las especies dicromato ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) (Fazlzadeh et al., 2017; Rahmani et al., 2015), que promovieron una reducción más efectiva del Cr(VI) a Cr(III).

El voltaje constante del proceso (10 V), también previno la hidrólisis de  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  a  $\text{HCrO}_4^-$  y  $\text{H}_2\text{CrO}_4$  que pudo haber afectado su remoción (Fazlzadeh et al., 2017; Salgado-Gómez, Macedo-Miranda, & Olguín, 2014). Conforme el pH inicial incrementó de 3.0 a 6.0, las especies  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  se volvieron menos atraídas a la superficie de las nZVI (Yan et al., 2010). Esta figura exhibió un máximo de remoción de Cr(VI) de > 99 % a pH 3.0 y una concentración inicial de 10 mg/L.

Por el contrario, el porcentaje de remoción de Cr(VI) fue mínimo a pH 6.0 para todas las concentraciones iniciales de Cr(VI). A pH 6.0, el Cr(VI) se distribuye en especies dicromato ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) y cromato ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ), resultando en una competencia por los sitios activos de la superficie de las GAP-nZVI (Ye et al., 2021). Esta competencia incrementa la fuerza iónica de la solución e inhibe potencialmente la reacción redox (Ye et al., 2021).

Posteriormente, los altos porcentajes de remoción de Cr(VI) resultantes a pH 9.0 podrían asociarse a la predominancia de Cr(VI) como especies  $\text{CrO}_4^{2-}$  sobre las especies hidrolizadas ( $\text{HCrO}_4^-/\text{H}_2\text{CrO}_4$ ) que son más difíciles de remover (Fazlzadeh et al., 2017; Rahmani et al., 2015). El voltaje constante del proceso EF (10 V) también evitó la hidrólisis de  $\text{CrO}_4^{2-}$  a este pH (Salgado-Gómez et al., 2014). De este modo, las partículas de GAP-nZVI pueden reducir efectivamente el  $\text{CrO}_4^{2-}$  por atracciones electrostáticas inducidas entre las nanopartículas y las especies de Cr(VI) (Teymori, Khorsandi, Aghapour, Jafari, & Maleki, 2020). Un punto importante acerca de los polifenoles que recubren las GAP-nZVI es la presencia de iones fenoxi (fenolatos) a estas condiciones (Kumamoto, Sonda, Nagayama, & Tabata, 2001), dado que la mayoría de los polifenoles identificados (Tabla XXXV), exhiben valores de pKa mayores a 8.0 (Numviyimana, Chmiel, Kot-Wasik, & Namieśnik, 2019).

La solubilidad de estos compuestos incrementó en condiciones alcalinas y sirvieron como donadores de electrones en la reducción de Cr(VI) (Chrysochoou & Reeves, 2017). Este efecto adicional mejoró la eficiencia de remoción de Cr(VI) del proceso EF. La obtención de un mejor porcentaje de remoción de Cr(VI) a pH 9.0 que a 6.0 también podría corresponder al descenso en la solubilidad de las especies de Cr(III) generadas por el proceso a condiciones alcalinas (Nahuel Montesinos et al., 2014). A estos pH, el exceso de iones  $\text{OH}^-$  produce la inmovilización de Cr(III) al coagular como  $\text{Cr}(\text{OH})_3$  (Jiang, Niu, Li, Oturan, & Oturan, 2020; Nahuel Montesinos et al., 2014). Esta tendencia es más favorable a condiciones alcalinas que a condiciones ácidas debido a un menor requerimiento de iones  $\text{Fe}^{2+}$  para los mecanismos del proceso EF, como se mostró en las reacciones químicas.

Estos resultados coinciden con otras investigaciones sobre el comportamiento del pH en los mecanismos de reducción de Cr(VI) con nZVI y la distribución de las especies (Fazlzadeh et al., 2017; Kumari & Dutta, 2020; Poguberović et al., 2016; Rahmani et al., 2015; Wu et al., 2020). Trabajos previos han estudiado el efecto de las nZVI sintetizadas por métodos verdes para la remoción de Cr(VI) en solución acuosa utilizando procesos de adsorción (Fazlzadeh et al., 2017; Kumari & Dutta, 2020). Aunque sus resultados mostraron que el porcentaje de remoción de Cr(VI) a condiciones ácidas estuvo por encima del 90 %, el porcentaje de remoción disminuyó 30-40 % a condiciones alcalinas después de 25 min de tratamiento (Fazlzadeh et al., 2017; Kumari & Dutta, 2020; Poguberović et al., 2016).

Los resultados de este trabajo demostraron que el proceso EF utilizando GAP-nZVI bajo condiciones alcalinas mantienen un alto porcentaje de remoción de Cr(VI) (> 90 %) después de 25 min de tratamiento. Los altos valores de eficiencia obtenidos con este proceso podrían relacionarse con la estabilidad de

las GAP-nZVI bajo una reacción inducida por electricidad (Rosales et al., 2012; Wei et al., 2017). La dispersidad de las GAP-nZVI observada en los resultados de TEM también demuestra una mejora en la agregación acuosa a través de fuerzas electro-estéricas (Kumari & Dutta, 2020; Wei et al., 2017), que resulta en mayor área superficial total y transferencia electrónica (Wei et al., 2017).

Los resultados de ANOVA (ver Tabla XXIX) indican que existe un efecto estadísticamente significativo de la concentración inicial de Cr(VI) y el pH sobre el porcentaje de remoción de Cr(VI), considerando que  $p < 0.05$  para estos efectos. A pesar de esto, los resultados sugieren que no existe un efecto significativo de la interacción entre estas dos variables ( $p > 0.05$ ).

El proceso EF utilizando GAP-nZVI demostró alta eficiencia para la remoción de Cr(VI), incluso a pH alcalino y altas concentraciones iniciales de Cr(VI). También fue estudiado el efecto del tiempo de reacción para determinar el orden cinético de la remoción de Cr(VI). Interesantemente, algunos experimentos alcanzaron valores más altos de remoción a los 5 min que a los 25 min. La sección subsecuente discute el efecto del tiempo sobre la remoción de Cr(VI).

### **5.5. Estudio cinético de la remoción de Cr(VI)**

La Figura 25 muestra el perfil de concentración de Cr(VI) como función del tiempo a diferentes pH (3.0, 6.0 y 9.0). La Figura 25(a) muestra el perfil de concentración a pH 3.0. Para las concentraciones iniciales de Cr(VI) de 10 mg/L y 30 mg/L, la concentración disminuyó 98 % y 99 % ( $< 0.30$  mg/L) sobre los 25 min de reacción, respectivamente. A una concentración inicial de 50 mg/L, la concentración disminuyó 98 % sobre los 25 min de reacción. En cambio, este experimento alcanzó un mínimo de  $\sim 0.27$  mg/L ( $> 99$  % de remoción) en tan solo

5 min. Subsecuentemente, la concentración de Cr(VI), incrementó linealmente como función del tiempo hasta alcanzar un 1.1 % de regeneración de Cr(VI), después de 25 min.

Esta fluctuación en la concentración del Cr(VI) se debe a una electro-regeneración de los iones  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ , lo cual tiende a aparecer en procesos EF con metales (P. V. Nidheesh, Gandhimathi, Velmathi, & Sanjini, 2014). Inicialmente, se espera que los iones  $\text{Fe}^{2+}$  se regeneren desde iones  $\text{Fe}^{3+}$  al reaccionar con  $\text{H}_2\text{O}_2$  en el cátodo (Rosales et al., 2012). Sin embargo, dado que la superficie de las GAP-nZVI se encuentra saturada a altas concentraciones iniciales (Nahuel Montesinos et al., 2014), la transferencia de masa de los iones  $\text{Fe}^{2+}$  se encuentra limitada. Tanto este efecto como la mayor capacidad del Cr(III) para regenerarse (Chumakov, Batalova, & Slizhov, 2016), resulta en un ataque oxidativo del Cr(III) por los radicales  $\cdot\text{OH}$  en el cátodo (Jiang et al., 2020; Rosales et al., 2012).

Esta investigación es la primera en demostrar la regeneración de Cr(VI) por medio de un proceso EF/nZVI a pH 3.0 y altas concentraciones iniciales de Cr(VI). Otros estudios solamente han demostrado la regeneración de Cr(VI), utilizando otros procesos de remediación (Chumakov et al., 2016; Rosales et al., 2012) o materiales (Bury, Mumford, & Stevens, 2021; P. V. Nidheesh & Gandhimathi, 2014). Dicho efecto es menos probable que ocurra en procesos EF para la remoción de compuestos orgánicos (Rosales et al., 2012; Shokri, 2017) debido a su naturaleza reversible cuando se oxidan (Keffous et al., 2016).

La Figura 25(b) muestra el perfil de concentración de Cr(VI) a pH 6.0. A una concentración inicial de Cr(VI) de 10 mg/L, la concentración disminuyó ~99 % en 5 min y se mantuvo constante después de 25 min de tratamiento. Al contrario, para una concentración inicial de 30 mg/L y 50 mg/L, la concentración disminuyó 98.9 % y 99.3 %, alcanzando un mínimo de < 0.8 mg/L de Cr(VI), en

tan solo 5 min de reacción. Subsecuentemente, la concentración de Cr(VI) incrementó linealmente como función del tiempo, hasta alcanzar un 2.7 % y 4.5 % de regeneración después de 25 min de tratamiento, respectivamente. Esta figura muestra que las concentraciones iniciales de Cr(VI) de 30 mg/L y 50 mg/L fluctuaron después de 5 min de reacción.

El proceso exhibió electro-regeneración a pH 6.0. Aunque el proceso redujo > 98 % de Cr(VI) a Cr(III), existe una cantidad remanente de Cr(VI) disuelto que puede promover el proceso de regeneración. Debido a la existencia de dos especies aniónicas de Cr(VI) ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  y  $\text{CrO}_4^{2-}$ ) a pH 6.0 (Ye et al., 2021), se incrementó el consumo de radicales  $\cdot\text{OH}$  para la electro-regeneración en el cátodo (Jiang et al., 2020). Como consecuencia de este efecto, existen dos diferentes vías por las cuales se puede regenerar el Cr(VI) (Chumakov et al., 2016; Jiang et al., 2020), y los resultados demostraron esta tendencia positiva. La existencia de las dos especies aniónicas de Cr(VI) a pH 6.0 mejoró la redisolución de los precipitados  $\text{Cr}(\text{OH})_3$  de generados (Tarekegn et al., 2021), lo cual pudo favorecer la regeneración de Cr(VI).

Este efecto fue evidenciado al comparar las velocidades de cambio de los tratamientos de concentración inicial de 30 mg/L (0.044 mg/(L·s)), y 50 mg/L (0.11 mg/(L·s)), esto confirmó que las concentraciones iniciales mayores de Cr(VI) incrementan la velocidad de cambio del proceso de regeneración. En contraste con la Figura 25(a), la tasa incremental a 50 mg/L fue 3.7 veces mayor a pH 6.0 que a 3.0. Por ese motivo, el cambio en el pH de 3.0 a 6.0 afecta significativamente la eficiencia de remoción de Cr(VI) del proceso EF.

Finalmente, la Figura 25(c) muestra el perfil de concentración de Cr(VI) a pH 9.0. Para las concentraciones iniciales de Cr(VI) de 10 mg/L, 30 mg/L y 50 mg/L, la concentración disminuyó 99.6 %, 99.2 % y 99.1 %, respectivamente.

Esta figura muestra que la concentración de Cr(VI), alcanzó un mínimo de < 0.50 mg/L aproximadamente a los 5 min de reacción para todas las concentraciones iniciales. Después de este instante, la concentración mostró una fluctuación despreciable contra el tiempo. La tendencia reflejó que el Cr(VI), es incapaz de regenerarse a condiciones alcalinas. La reacción rápidamente alcanzó el equilibrio en los primeros 5 min y mostró un mejor rendimiento de remoción que a pH más bajos a lo largo de los 25 min de reacción. A condiciones alcalinas, la formación de Cr(OH)<sub>3</sub> y Fe(OH)<sub>3</sub> no solo disminuyen la concentración de Cr<sup>3+</sup> y Fe<sup>3+</sup> disueltos, sino que también inhibe su regeneración (Desalegn et al., 2019; Jiang et al., 2020; Wei et al., 2017).

La formación de estos precipitados facilitó la inmovilización de Cr(III) en fase sólida, y proveyó un porcentaje de remoción constante (Wei et al., 2017). Estos resultados indican que los procesos EF prolongados a pH alcalinos no afectarán la eficiencia de remoción de Cr(VI), como sí sucedió a pH 6.0. Consecuentemente, tanto la reacción de regeneración como la de reducción no se ajustaron a ningún modelo cinético, como se discute más adelante. La tendencia también reveló que la concentración de equilibrio es dependiente de la concentración inicial de Cr(VI). Conforme la concentración inicial de Cr(VI) aumentó de 10 mg/L a 50 mg/L, la concentración de equilibrio incrementó desde 0.044 mg/L a 0.43 mg/L. Por lo tanto, los cambios en el pH de 6.0 a 9.0 afectaron el porcentaje de remoción de Cr(VI) del proceso EF.

Dado que el proceso EF es altamente eficiente, se requiere estudiar la cinética de remoción en los primeros 5 min de reacción para obtener un perfil de concentración de Cr(VI) sobre el proceso de remoción como tal. Otros estudios han analizado la cinética de remoción de Cr(VI) por procesos de adsorción con nZVI obtenidas de extractos de hojas de roble, morera y cereza (Poguberović et al., 2016), así como extractos de *Rosa damascene*, *Thymus vulgaris*, and *Urtica*

*dioica* (Fazlzadeh et al., 2017). Estos estudios también han presentado ligeras variaciones en la eficiencia de remoción de Cr(VI) (< 2 %), entre diferentes tratamientos de concentración inicial de Cr(VI), especialmente a concentraciones iniciales menores a los 300 mg/L (Fazlzadeh et al., 2017; Poguberović et al., 2016).

Por otro lado, incorporar nZVI sintetizadas por medio del extracto del epicarpio del aguacate en el proceso EF demostró que el proceso electroquímico puede reducir el tiempo requerido de contacto para > 95 % de remoción de Cr(VI) desde 15-30 min en procesos de adsorción (Fazlzadeh et al., 2017) hasta ~5 min en el proceso EF. Para comprobar estos efectos, se realizó una prueba *t-student* al 95 % de confianza para la diferencia del porcentaje de remoción de Cr(VI) entre 5 min y 25 min (ver Tabla XXXIII). Los resultados indican que únicamente los tratamientos a pH 3.0 y 10 mg/L, pH 6.0 y 30 mg/L, y a pH 6.0 y 50 mg/L presentan una diferencia estadísticamente distinta en el porcentaje de remoción de Cr(VI) ( $p < 0.05$ ) entre 5 min y 25 min. De estos tratamientos, los de pH 6.0 son los que presentaron electro-regeneración; y se confirma que la electro-regeneración es significativa a estas condiciones. Además, se comprueba que el tiempo requerido para la remoción de Cr(VI) por medio del proceso EF puede ser reducido de 25 min a tan solo 5 min. La dosis adicional de nZVI utilizada en este trabajo (0.047 g/L) fue menos de un cuarto de la dosis utilizada en los estudios de adsorción (0.20 g/L) (Fazlzadeh et al., 2017; Poguberović et al., 2016). Por lo tanto, las GAP-nZVI en el proceso EF representan un tratamiento más eficiente de Cr(VI), en solución acuosa que los procesos de adsorción, potencialmente reduciendo el tiempo de contacto requerido y la dosis de nanopartículas.

Finalmente, la Tabla XXXIX muestra los parámetros cinéticos para cada uno de los tratamientos de pH y concentración inicial realizados, utilizando orden cero, primer orden y segundo orden. Como se muestra, los parámetros cinéticos

muestran un ajuste de orden cero para la mayoría de los tratamientos, así como los de regeneración (30 mg/L y 50 mg/L a pH 6.0). Esto confirma que la concentración de Cr(VI) no afecta significativamente la cinética de la reacción. Como se ha discutido en trabajos previos, la reacción toma lugar en la superficie del electrodo (Rahmani et al., 2015), y los reactivos Fenton ( $\text{Fe}^0/\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ ), son los factores limitantes (Rosales et al., 2012). Además, los tratamientos a condiciones alcalinas (pH 9.0) no se ajustaron a ningún modelo cinético debido a su transformación irreversible como hidróxidos durante los primeros 5 min de reacción ( $R^2 \ll 0.50$ ) (Wei et al., 2017).

## **5.6. Caracterización de las GAP-nZVI después del proceso Electro-Fenton**

La Figura 26-1 muestra la comparación de los espectros FTIR de las GAP-nZVI antes y después del proceso EF. El pico ancho a  $2860\text{ cm}^{-1}$  podría indicar la vibración del estiramiento O–H de ácidos carboxílicos (Kumari & Dutta, 2020). También fue observada una disminución de intensidad de los estiramientos C=C asignado a  $1610\text{ cm}^{-1}$ , del estiramiento C–N de las aminas a  $1213\text{ cm}^{-1}$ , y el estiramiento C–O–C de compuestos heterocíclicos a  $1055\text{ cm}^{-1}$  (Fazlzadeh et al., 2017) debido a la oxidación promovida por el proceso EF.

De forma similar, el espectro mostró un pico de alta intensidad a  $1422\text{ cm}^{-1}$  que puede corresponder al estiramiento C–C (Fazlzadeh et al., 2017; Z. Wang, 2013), y una banda delgada a  $876\text{ cm}^{-1}$  asignado a la vibración del estiramiento C–H (Desalegn et al., 2019; Fazlzadeh et al., 2017), el cual incrementó su intensidad después del tratamiento EF. Por lo cual, estas interacciones explican que las partículas GAP-nZVI han disminuido su contenido de grupos funcionales fenólicos después del proceso EF.

Finalmente, la Figura 26-2(c) muestra una comparación de los patrones de XRD de las GAP-nZVI después del proceso EF. Los picos de difracción identificados después del proceso EF ( $2\theta = 28.3^\circ, 40.5^\circ, 50.2^\circ, 58.7^\circ, 66.4^\circ, 73.7^\circ$ ), corresponden a KCl (PDF 00-041-1476), el cual fue empleado como electrólito soporte en los experimentos EF. Por otra parte, tanto los picos de difracción de los polifenoles de la Figura 26-2(a), y los picos característicos de las especies de Cr o Fe de la Figura 26(b) desaparecieron o no fueron encontrados.

La ausencia de estos picos podría ser atribuida a la oxidación de los polifenoles y la formación de  $\text{Cr}(\text{OH})_3/\text{Fe}(\text{OH})_3$  (Guo et al., 2020; Nahuel Montesinos et al., 2014). Dado que el Cr(III) resultante tiene una estructura amorfa y alta dispersidad cuando se inmoviliza (Guo et al., 2020), los resultados indican una remoción efectiva del Cr(VI) por el proceso EF. Por lo tanto, el análisis sugiere que los componentes remanentes en la solución fueron cloruro de potasio y materia orgánica oxidada, anteriormente observada en FTIR.



## CONCLUSIONES

1. El extracto del epicarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.) obtenido por extracción asistida por ultrasonido (UAE) a 42 kHz utilizando metanol/agua 80:20 v/v como solvente, posee dos picos anódicos a 0.13 V y 0.64 V, y una capacidad reductora de 0.62 V.
2. Nanopartículas de hierro cerovalente (nZVI) se sintetizaron utilizando el extracto del epicarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.) con un tamaño de  $19 \pm 8$  nm.
3. Las nanopartículas de hierro cerovalente sintetizadas a partir del extracto del epicarpio de aguacate (GAP-nZVI) poseen un tamaño promedio de  $19 \pm 8$  nm, morfología amorfa y cuasi-esférica, distribución regular y posee presencia de grupos superficiales polifenólicos.
4. La concentración inicial de Cr(VI) y el pH influyen significativamente en el porcentaje de remoción de Cr(VI) en solución acuosa, siguiendo un modelo cinético de orden cero cuando se utiliza el proceso Electro-Fenton a 10 V y nanopartículas de hierro cerovalente sintetizadas a partir del extracto del epicarpio de aguacate (GAP-nZVI) a una concentración de 0.047 g/L, con posibilidad de reducir el tiempo requerido de contacto de 25 min a ~5 min tras no existir cambios significativos en el porcentaje de remoción ( $p < 0.05$ ).

5. El proceso Electro-Fenton tiene un efecto significativo en la estructura y superficie de las GAP-nZVI a un pH de 3.0 y concentración inicial de 10 mg/L, debido a la oxidación de la materia orgánica y formación de  $\text{Cr(OH)}_3/\text{Fe(OH)}_3$  altamente dispersos y amorfos.

#### Logros de la investigación:

1. Se obtuvo un porcentaje de remoción de Cr(VI) de > 94 % con el proceso Electro-Fenton empleando nanopartículas de hierro cerovalente sintetizadas a partir del extracto del epicarpio de aguacate (GAP-nZVI) a todos los tratamientos de concentración inicial de Cr(VI) (10 mg/L, 30 mg/L y 50 mg/L) y pH (3.0, 6.0 y 9.0) después de 25 min de reacción.
2. Se consiguieron porcentajes de remoción de Cr(VI) > 98 % a condiciones alcalinas con el proceso Electro-Fenton empleando nanopartículas de hierro cerovalente sintetizadas a partir del extracto del epicarpio de aguacate (GAP-nZVI), que es 20-50 % más alto que los tratamientos convencionales de remoción de Cr(VI) (como adsorción).
3. Los resultados cinéticos del proceso Electro-Fenton empleando nanopartículas de hierro cerovalente sintetizadas a partir del extracto del epicarpio de aguacate (GAP-nZVI) demostraron que se puede reducir el tiempo de contacto necesario para > 90 % de remoción de Cr(VI) de 25 min a 5 min, y es 67 % más veloz que los métodos convencionales de remoción (como adsorción) y lo vuelve una opción viable para un escalamiento industrial.



## RECOMENDACIONES

1. Evaluar el efecto y capacidad limitante que presentan las nanopartículas de hierro cerovalente sintetizadas a partir del extracto del epicarpio de aguacate (GAP-nZVI) y el peróxido de hidrógeno en el proceso de remoción de Cr(VI) a través del proceso Electro-Fenton.
2. Analizar el efecto del tiempo y potencial del análisis voltamétrico sobre la estabilidad electroquímica de los compuestos fenólicos activos en el extracto del epicarpio de aguacate (APE).
3. Desarrollar un estudio de la influencia del tiempo de exposición al ambiente de las nanopartículas de hierro cerovalentes sintetizadas a partir del extracto del epicarpio de aguacate (GAP-nZVI) utilizando las técnicas de XPS y XRD, para rastrear la composición y estado de oxidación de las fases de las nanopartículas durante el proceso Electro-Fenton.
4. Estudiar la capacidad catalítica y reutilizable de las nanopartículas de hierro cerovalentes sintetizadas a partir del extracto del epicarpio de aguacate (GAP-nZVI) como material de electrodo en el proceso Electro-Fenton para la remoción de Cr(VI).
5. Realizar un estudio comparativo de las propiedades superficiales y magnéticas de las nanopartículas de hierro cerovalentes sintetizadas a partir del extracto del epicarpio de aguacate (GAP-nZVI).



## REFERENCIAS

1. Adusei-Gyamfi, J., & Acha, V. (2016). Carriers for nano zerovalent iron (nZVI): Synthesis, application, and efficiency. *RSC Advances*, 6(93), 91025-91044. Recuperado de <https://doi.org/10.1039/c6ra16657a>.
2. Agarwal, P., Gupta, R., & Agarwal, N. (2019). Advances in synthesis and applications of microalgal nanoparticles for wastewater treatment. *Journal of Nanotechnology*, 2019, 7392713. Recuperado de <https://doi.org/10.1155/2019/7392713>.
3. Ahmed, M. M., Badawy, M. T., Ahmed, F. K., Kalia, A., & Abd-Elsalam, K. A. (2022). Chapter 10 - Fruit peel waste-to-wealth: Bionanomaterials production and their applications in agroecosystems. En K. A. Abd-Elsalam, R. Periakaruppan, & S. B. T.-A.-W. and M. for P. of S. N. Rajeshkumar (Eds.), *Nanobiotechnology for Plant Protection* (pp. 231-257). Elsevier. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823575-1.00001-9>.
4. Aires, A. (2017). Phenolics in foods: extraction, analysis, and measurements. *Phenolic Compounds - Natural Sources, Importance and Applications*. Recuperado de <https://doi.org/10.5772/66889>.

5. Amidi, S., Mojab, F., Moghaddam, A. B., Tabib, K., & Kobarfard, F. (2012). A simple electrochemical method for the rapid estimation of antioxidant potentials of some selected medicinal plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11(1), 117-121. Recuperado de <https://doi.org/10.22037/ijpr.2012.1068>.
6. Antasionas, I., Riyanto, S., & Rohman, A. (2017). Antioxidant activities and phenolics contents of avocado (*Persea americana* Mill.) peel in vitro. *Research Journal of Medicinal Plants*, 11(2), 55-61. Recuperado de <https://doi.org/10.3923/rjmp.2017.55.61>.
7. Arreche, R. A., Montes de Oca-Vásquez, G., Vega-Baudrit, J. R., & Vázquez, P. G. (2020). Synthesis of silver nanoparticles using extracts from yerba mate (*Ilex paraguariensis*) Wastes. *Waste and Biomass Valorization*, 11(1), 245-253. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0394-7>.
8. Bagheri, M., Jafari, S. M., & Eikani, M. H. (2021). Ultrasonic-assisted production of zero-valent iron-decorated graphene oxide/activated carbon nanocomposites: Chemical transformation and structural evolution. *Materials Science and Engineering C*, 118(July 2020), 111362. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111362>.
9. Barrera-Díaz, C. E., Lugo-Lugo, V., & Bilyeu, B. (2012). A review of chemical, electrochemical and biological methods for aqueous Cr(VI) reduction. *Journal of Hazardous Materials*, 223-224, 1-12. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.04.054>.

10. Bury, N. A., Mumford, K. A., & Stevens, G. W. (2021). The electro-Fenton regeneration of Granular Activated Carbons: Degradation of organic contaminants and the relationship to the carbon surface. *Journal of Hazardous Materials*, 416(April), 125792. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125792>.
11. Chen, Q. Y., Murphy, A., Sun, H., & Costa, M. (2019). Molecular and epigenetic mechanisms of Cr(VI)-induced carcinogenesis. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 377(March), 114636. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.taap.2019.114636>.
12. Chumakov, A., Batalova, V., & Slizhov, Y. (2016). Electro-Fenton-like reactions of transition metal ions with electrogenerated hydrogen peroxide. *AIP Conference Proceedings*, 1772. Recuperado de <https://doi.org/10.1063/1.4964563>.
13. Chrysochoou, M., & Reeves, K. (2017). Reduction of hexavalent chromium by green tea polyphenols and green tea nano zero-valent iron (GT-nZVI). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 98(3), 353–358. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/s00128-016-1901-9>.
14. Corso, M., Perreau, F., Mouille, G., & Lepiniec, L. (2020). Specialized phenolic compounds in seeds: structures, functions, and regulations. *Plant Science*, 296(October 2019), 110-471. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110471>.

15. De Araújo, F. F., de Paulo Farias, D., Neri-Numa, I. A., & Pastore, G. M. (2020). Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. *Food Chemistry*, 127-535. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127535>.
16. Desalegn, B., Megharaj, M., Chen, Z., & Naidu, R. (2019). Green synthesis of zero valent iron nanoparticle using mango peel extract and surface characterization using XPS and GC-MS. *Heliyon*, 5(5). Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01750>.
17. El-sayed, M. E. A. (2020). Nanoadsorbents for water and wastewater remediation. *Science of the Total Environment*, 739, 139903. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139903>.
18. El-sherbiny, I. M., & Salih, E. (2018). Green synthesis of metallic nanoparticles using biopolymers and plant extracts. *Green Metal Nanoparticles*, 293-319. Recuperado de <https://doi.org/10.1002/9781119418900.ch10>.
19. Elgrishi, N., Rountree, K. J., McCarthy, B. D., Rountree, E. S., Eisenhart, T. T., & Dempsey, J. L. (2018). A practical beginner's guide to cyclic voltammetry. *Journal of Chemical Education*, 95(2), 197-206. Recuperado de <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>.

20. Esquivel-Alvarado, D., Muñoz-Arrieta, R., Alfaro-Viquez, E., Madrigal-Carballo, S., Krueger, C. G., & Reed, J. D. (2020). Composition of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Three Tropical Vaccinium Species from Costa Rica. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(10), 2872-2879. Recuperado de <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01451>.
21. Fazlzadeh, M., Rahmani, K., Zarei, A., Abdoallahzadeh, H., Nasiri, F., & Khosravi, R. (2017). A novel green synthesis of zero valent iron nanoparticles (NZVI) using three plant extracts and their efficient application for removal of Cr(VI) from aqueous solutions. *Advanced Powder Technology*, 28(1), 122-130. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.apt.2016.09.003>.
22. Girón-Vázquez, N. G., Gómez-Gutiérrez, C. M., Soto-Robles, C. A., Nava, O., Lugo-Medina, E., Castrejón-Sánchez, V. H., ... Luque, P. A. (2019). Study of the effect of *Persea americana* seed in the green synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial properties. *Results in Physics*, 13(December 2018), 102142. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2019.02.078>.
23. Gómez-López, P., Puente-Santiago, A., Castro-Beltrán, A., Santos do Nascimento, L. A., Balu, A. M., Luque, R., & Alvarado-Beltrán, C. G. (2020). Nanomaterials and catalysis for green chemistry. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 24, 48-55. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2020.03.001>.

24. Granato, D., Santos, J. S., Maciel, L. G., & Nunes, D. S. (2016). Chemical perspective and criticism on selected analytical methods used to estimate the total content of phenolic compounds in food matrices. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 80, 266-279. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.03.010>.
25. Guo, B., Li, M., & Li, S. (2020). The comparative study of a homogeneous and a heterogeneous system with green synthesized iron nanoparticles for removal of Cr(VI). *Scientific Reports*, 10(1), 1-11. Recuperado de <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64476-5>.
26. Hassler, M. (2021). *Persea americana* Mill. World Plants: Synonymic Checklists of the vascular plants of the world (Nov 2018). In: *Species 2000 & IT IS Catalogue of Life*, 2020-09-01 Beta (Roskov Y.; Ower G.; Orrell T.; Nicolson D.; Bailly N.; Kirk P.M.; Bourgoin T.; DeWalt R.E.; Decock W.; Nieukerken E. van; Penev L.; eds.). Recurso digital disponible en [www.catalogueoflife.org/col](http://www.catalogueoflife.org/col). Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. ISSN 2405-8858.
27. Hoag, G. E., Collins, J. B., Holcomb, J. L., Hoag, J. R., Nadagouda, M. N., & Varma, R. S. (2009). Degradation of bromothymol blue by 'greener' nano-scale zero-valent iron synthesized using tea polyphenols. *Journal of Materials Chemistry*, 19(45), 8671-8677. Recuperado de <https://doi.org/10.1039/b909148c>.

28. Hu, X. jiang, Wang, J. song, Liu, Y. guo, Li, X., Zeng, G. ming, Bao, Z. lei, ... Long, F. (2011). Adsorption of chromium (VI) by ethylenediamine-modified cross-linked magnetic chitosan resin: Isotherms, kinetics, and thermodynamics. *Journal of Hazardous Materials*, 185(1), 306-314. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.09.034>.
29. Huaiwei, Z., & Xing, H. (2011). An overview for the utilization of wastes from stainless steel industries. *Resources, Conservation and Recycling*, 55(8), 745-754. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2011.03.005>.
30. Hurtado-Fernández, E., Fernández-Gutiérrez, A., & Carrasco-Pancorbo, A. (2018). Avocado fruit - *Persea americana*. *Exotic Fruits*, 37-48. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803138-4.00001-0>.
31. Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chem.*, 13(10), 2638-2650. Recuperado de <https://doi.org/10.1039/C1GC15386B>.
32. Islam, M. S., Ahmed, M. K., Raknuzzaman, M., Habibullah-Al-Mamun, M., & Kundu, G. K. (2017). Heavy metals in the industrial sludge and their ecological risk: A case study for a developing country. *Journal of Geochemical Exploration*, 172, 41-49. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.09.006>.

33. Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H., & Kalaskar, M. G. (2019). Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 53, 101174. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101174>.
34. Jiang, B., Niu, Q., Li, C., Oturan, N., & Oturan, M. A. (2020). Outstanding performance of electro-Fenton process for efficient decontamination of Cr(III) complexes via alkaline precipitation with no accumulation of Cr(VI): Important roles of iron species. *Applied Catalysis B: Environmental*, 272(April), 119002. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2020.119002>.
35. Jiménez-Velázquez, P., Valle-Guadarrama, S., Alia-Tejacal, I., Salinas-Moreno, Y., García-Cruz, L., Pérez-López, A., & Guerra-Ramírez, D. (2020). Separation of bioactive compounds from epicarp of 'Hass' avocado fruit through aqueous two-phase systems. *Food and Bioprocess Processing*, 123, 238-250. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.07.004>.
36. Johnson, J., Mani, J., Ashwath, N., & Naiker, M. (2020). Potential for Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy toward predicting antioxidant and phenolic contents in powdered plant matrices. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 233, 118-228. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118228>.

37. Kamaraj, M., Kidane, T., Muluken, K. U., & Aravind, J. (2019). Biofabrication of iron oxide nanoparticles as a potential photocatalyst for dye degradation with antimicrobial activity. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(12), 8305-8314. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02402-7>.
38. Keffous, F., Belboukhari, N., Sekkoum, K., Djeradi, H., Cheriti, A., & Aboul-Enein, H. Y. (2016). Determination of the antioxidant activity of *Limoniastrum feei* aqueous extract by chemical and electrochemical methods. *Cogent Chemistry*, 2(1), 1-11. Recuperado de <https://doi.org/10.1080/23312009.2016.1186141>.
39. Ken, D. S., & Sinha, A. (2020). Recent developments in surface modification of nano zero-valent iron (nZVI): Remediation, toxicity, and environmental impacts. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 14(May), 100344. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100344>.
40. Khan, D. A., Mushtaq, S., Khan, F. A., & Khan, M. Q. A. (2013). Toxic effects of chromium on tannery workers at Sialkot (Pakistan). *Toxicology and Industrial Health*, 29(2), 209-215. Recuperado de <https://doi.org/10.1177/0748233711430974>.
41. Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Dangles, O., & Chemat, F. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119(2), 851-858. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.046>.

42. Kozma, G., Rónavári, A., Kónya, Z., & Kukovecz, Á. (2016). Environmentally benign synthesis methods of zero-valent iron nanoparticles. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 4(1), 291-297. Recuperado de <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b01185>.
43. Kumamoto, M., Sonda, T., Nagayama, K., & Tabata, M. (2001). Effects of pH and metal ions on antioxidative activities of catechins. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 65(1), 126–132. Recuperado de <https://doi.org/10.1271/bbb.65.126>.
44. Kumar, B. (2021). Green synthesis of gold, silver, and iron nanoparticles for the degradation of organic pollutants in wastewater. *Journal of Composites Science*, 5(8). Recuperado de <https://doi.org/10.3390/jcs5080219>.
45. Kumari, B., & Dutta, S. (2020). Integrating starch encapsulated nanoscale zero-valent iron for better chromium removal performance. *Journal of Water Process Engineering*, 37(March), 101370. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101370>.
46. Lal, G., Punia, K., Dolia, S. N., Alvi, P. A., Dalela, S., & Kumar, S. (2019). Rietveld refinement, Raman, optical, dielectric, Mössbauer and magnetic characterization of superparamagnetic fcc-CaFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. *Ceramics International*, 45(5), 5837-5847. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.12.050>.

47. Liu, G., Zhou, Y., Liu, Z., Zhang, J., Tang, B., Yang, S., & Sun, C. (2016). Efficient nitrate removal using micro-electrolysis with zero valent iron/activated carbon nanocomposite. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 91(12), 2942-2949. Recuperado de <https://doi.org/10.1002/jctb.4910>.
48. Liu, S., Yu, B., Wang, S., Shen, Y., & Cong, H. (2020). Preparation, surface functionalization and application of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 281, 102165. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102165>.
49. Liu, Y., & Wang, J. (2019). Reduction of nitrate by zero valent iron (ZVI)-based materials: A review. *Science of the Total Environment*, 671, 388-403. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.317>.
50. López-Cobo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Pasini, F., Caboni, M. F., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2016). HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS and HPLC-FLD-MS as valuable tools for the determination of phenolic and other polar compounds in the edible part and by-products of avocado. *LWT - Food Science and Technology*, 73, 505-513. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.049>.
51. Lu, F., & Astruc, D. (2020). Nanocatalysts and other nanomaterials for water remediation from organic pollutants. *Coordination Chemistry Reviews*, 408, 213180. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213180>.

52. Ma, X., Rao, T., Zhao, M., Jia, Z., Ren, G., Liu, J., ... Xie, H. (2022). A novel induced zero-valent iron electrode for in-situ slow release of Fe<sup>2+</sup> to effectively trigger electro-Fenton oxidation under neutral pH condition: Advantages and mechanisms. *Separation and Purification Technology*, 283, 120160. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.120160>.
53. Machado, S., Grosso, J. P., Nouws, H. P. A., Albergaria, J. T., & Delerue-Matos, C. (2014). Utilization of food industry wastes for the production of zero-valent iron nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 496, 233-240. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.058>
54. Machado, S., Pacheco, J. G., Nouws, H. P. A., Albergaria, J. T., & Delerue-Matos, C. (2015). Characterization of green zero-valent iron nanoparticles produced with tree leaf extracts. *Science of the Total Environment*, 533, 76-81. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.091>.
55. Magiera, S., & Zaręba, M. (2015). Chromatographic determination of phenolic acids and flavonoids in *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity. *Food Analytical Methods*, 8(10), 2665-2674. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0166-y>.
56. Makhado, Khathutshelo A. (2018) Application of avocado peels for the removal of selected toxic metals from water. M.A. in Nanoscience. [Unpublished]: University of Johannesburg. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10210/279501>.

57. Makhotkina, O., & Kilmartin, P. A. (2012). The phenolic composition of *Sauvignon blanc* juice profiled by cyclic voltammetry. *Electrochimica Acta*, 83, 188-195. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.07.101>.
58. Martín-Gordo, D. A. (2018). Los compuestos fenólicos: un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(1), 81-104. Recuperado de <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>.
59. Melgar, B., Dias, M. I., Ciric, A., Sokovic, M., Garcia-Castello, E. M., Rodriguez-Lopez, A. D., ... Ferreira, I. C. R. F. (2018). Bioactive characterization of *Persea americana* Mill. by-products: A rich source of inherent antioxidants. *Industrial Crops and Products*, 111(June 2017), 212-218. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.024>.
60. Meva, F. E. A., Ntomba, A. A., Kedi, P. B. E., Tchoumbi, E., Schmitz, A., Schmolke, L., ... Janiak, C. (2019). Silver and palladium nanoparticles produced using a plant extract as reducing agent, stabilized with an ionic liquid: Sizing by X-ray powder diffraction and dynamic light scattering. *Journal of Materials Research and Technology*, 8(2), 1991-2000. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2018.12.017>.
61. Mubayi, A., Chatterji, S., Rai, P., & Watal, G. (2012). Evidence based green synthesis of nanoparticles. *Advanced Materials Letters*, 3(6), 519-525. Recuperado de <https://doi.org/10.5185/amlett.2012.icnano.353>.

62. Mukherjee, R., Kumar, R., Sinha, A., Lama, Y., & Saha, A. K. (2016). A review on synthesis, characterization, and applications of nano zero valent iron (nZVI) for environmental remediation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 46(5), 443-466. Recuperado de <https://doi.org/10.1080/10643389.2015.1103832>.
63. Muñoz-Bernal, Ó. A., Torres-Aguirre, G. A., Núñez-Gastélum, J. A., de la Rosa, L. A., Rodrigo-García, J., Ayala-Zavala, J. F., & Álvarez-Parrilla, E. (2017). Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de Folin-Ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. *Tip*, 20(2), 23-28. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2017.04.003>.
64. Nahuel Montesinos, V., Quici, N., Beatriz Halac, E., Leyva, A. G., Custo, G., Bengio, S., ... Litter, M. I. (2014). Highly efficient removal of Cr(VI) from water with nanoparticulated zerovalent iron: Understanding the Fe(III)-Cr(III) passive outer layer structure. *Chemical Engineering Journal*, 244, 569-575. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.01.093>.
65. Nasrollahzadeh, M., Sajjadi, M., Irvani, S., & Varma, R. S. (2021). Green-synthesized nanocatalysts and nanomaterials for water treatment: Current challenges and future perspectives. *Journal of Hazardous Materials*, 401(June 2020), 123401. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123401>.

66. Navarro, M., Arnaez, E., Moreira, I., Quesada, S., Azofeifa, G., Wilhelm, K., ... Chen, P. (2019). Polyphenolic characterization, antioxidant, and cytotoxic activities of *Mangifera indica* cultivars from Costa Rica. *Foods*, 8(9). Recuperado de <https://doi.org/10.3390/foods8090384>.
67. Newair, E. F., Kilmartin, P. A., & Garcia, F. (2018). Square wave voltametric analysis of polyphenol content and antioxidant capacity of red wines using glassy carbon and disposable carbon nanotubes modified screen-printed electrodes. *European Food Research and Technology*, 244(7), 1225-1237. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3038-z>.
68. Nidheesh, P. V., & Gandhimathi, R. (2014). Comparative Removal of Rhodamine B from Aqueous Solution by Electro-Fenton and Electro-Fenton-Like Processes. *Clean - Soil, Air, Water*, 42(6), 779-784. Recuperado de <https://doi.org/10.1002/clen.201300093>.
69. Nidheesh, P. V., Gandhimathi, R., Velmathi, S., & Sanjini, N. S. (2014). Magnetite as a heterogeneous electro Fenton catalyst for the removal of Rhodamine B from aqueous solution. *RSC Advances*, 4(11), 5698-5708. Recuperado de <https://doi.org/10.1039/c3ra46969g>.
70. Numviyimana, C., Chmiel, T., Kot-Wasik, A., & Namieśnik, J. (2019). Study of pH and temperature effect on lipophilicity of catechol-containing antioxidants by reversed phase liquid chromatography. *Microchemical Journal*, 145, 380–387. Recuperado de <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.10.048>.

71. Pasinszki, T., & Krebsz, M. (2020). Synthesis and application of zero-valent iron nanoparticles in water treatment, environmental remediation, catalysis, and their biological effects. *Nanomaterials*, 10(5). Recuperado de <https://doi.org/10.3390/nano10050917>.
72. Patle, T. K., Shrivastava, K., Kurrey, R., Upadhyay, S., Jangde, R., & Chauhan, R. (2020). Phytochemical screening and determination of phenolics and flavonoids in *Dillenia pentagyna* using UV-vis and FTIR spectroscopy. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 242, 118-127. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118717>.
73. Peng, H., Leng, Y., & Guo, J. (2019). Electrochemical removal of chromium (VI) from wastewater. *Applied Sciences (Switzerland)*, 9(6). Recuperado de <https://doi.org/10.3390/app9061156>.
74. Pereira, G. F. L., Costa, F. N., Souza, J. A., Haddad, P. S., & Ferreira, F. F. (2018). Parametric Rietveld refinement and magnetic characterization of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 456, 108-117. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2018.02.020>.
75. Poguberović, S. S., Krčmar, D. M., Maletić, S. P., Kónya, Z., Pilipović, D. D. T., Kerkez, D. V., & Rončević, S. D. (2016). Removal of As(III) and Cr(VI) from aqueous solutions using 'green' zero-valent iron nanoparticles produced by oak, mulberry and cherry leaf extracts. *Ecological Engineering*, 90, 42-49. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.083>.

76. Rahmani, A. R., Hossieni, E., & Poormohammadi, A. (2015). Removal of Chromium (VI) from aqueous solution using Electro-Fenton process. *Environmental Processes*, 2(2), 419-428. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s40710-015-0068-4>.
77. Rajeshkumar, S., & Rinitha, G. (2018). Nanostructural characterization of antimicrobial and antioxidant copper nanoparticles synthesized using novel *Persea americana* seeds. *OpenNano*, 3(December 2017), 18-27. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.onano.2018.03.001>.
78. Raman, C. D., & Kanmani, S. (2016). Textile dye degradation using nano zero valent iron: A review. *Journal of Environmental Management*, 177, 341-355. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.04.034>.
79. Rodríguez-Carpena, J.-G., Morcuende, D., Andrade, M.-J., Kylli, P., & Estévez, M. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5625-5635. Recuperado de <https://doi.org/10.1021/jf1048832>.
80. Rončević, S., Nemet, I., Ferri, T. Z., & Matković-Čalogović, D. (2019). Characterization of nZVI nanoparticles functionalized by EDTA and dipicolinic acid: A comparative study of metal ion removal from aqueous solutions. *RSC Advances*, 9(53), 31043-31051. Recuperado de <https://doi.org/10.1039/c9ra04831f>.

81. Rosales, E., Pazos, M., & Sanromán, M. A. (2012). Advances in the Electro-Fenton Process for remediation of recalcitrant organic compounds. *Chemical Engineering and Technology*, 35(4), 609-617. Recuperado de <https://doi.org/10.1002/ceat.201100321>.
82. Rosero, J. C., Cruz, S., Osorio, C., & Hurtado, N. (2019). Analysis of phenolic composition of byproducts (seeds and peels) of avocado (*Persea americana* Mill.) cultivated in Colombia. *Molecules*, 24(17). Recuperado de <https://doi.org/10.3390/molecules24173209>.
83. Saha, R., Nandi, R., & Saha, B. (2011). Sources and toxicity of hexavalent chromium. *Journal of Coordination Chemistry*, 64(10), 1782-1806. Recuperado de <https://doi.org/10.1080/00958972.2011.583646>,
84. Saif, S., Tahir, A., & Chen, Y. (2016). Green synthesis of iron nanoparticles and their environmental applications and implications. *Nanomaterials*, 6(11), 1-26. Recuperado de <https://doi.org/10.3390/nano6110209>.
85. Saleh, T. A. (2020). Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. *Environmental Technology & Innovation*, 101067. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101067>.
86. Salgado-Gómez, N., Macedo-Miranda, M. G., & Olguín, M. T. (2014). Chromium VI adsorption from sodium chromate and potassium dichromate aqueous systems by hexadecyltrimethylammonium-modified zeolite-rich tuff. *Applied Clay Science*, 95, 197-204. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.clay.2014.04.013>.

87. San, N. O., & Dönmez, G. (2012). Biosorption of chromium (VI), nickel (II) and remazol blue by *Rhodotorula muciliginosa* biomass. *Water Science & Technology*, 65(3), 471-477. Recuperado de <https://doi.org/10.2166/wst.2012.872>.
88. Shahwan, T., Abu Sirriah, S., Nairat, M., Boyaci, E., Eroğlu, A. E., Scott, T. B., & Hallam, K. R. (2011). Green synthesis of iron nanoparticles and their application as a Fenton-like catalyst for the degradation of aqueous cationic and anionic dyes. *Chemical Engineering Journal*, 172(1), 258-266. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.05.103>.
89. Shokri, A. (2017). A kinetic study and application of Electro-Fenton process for the remediation of aqueous environment containing toluene in a batch reactor. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 90(3), 452-457. Recuperado de <https://doi.org/10.1134/S1070427217030193>.
90. Stefaniuk, M., Oleszczuk, P., & Ok, Y. S. (2016). Review on nano zerovalent iron (nZVI): From synthesis to environmental applications. *Chemical Engineering Journal*, 287, 618-632. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.11.046>.
91. Taha, M. R., & Ibrahim, A. H. (2014). Characterization of nano zero-valent iron (nZVI) and its application in sono-Fenton process to remove COD in palm oil mill effluent. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(1), 1-8. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jece.2013.11.021>.

92. Tarekegn, M. M., Hiruy, A. M., & Dekebo, A. H. (2021). Nano zero valent iron (nZVI) particles for the removal of heavy metals (Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup>) from aqueous solutions. *RSC Advances*, 11(30), 18539-18551. Recuperado de <https://doi.org/10.1039/d1ra01427g>.
93. Tesh, S. J., & Scott, T. B. (2016). Iron nanoparticles for water treatment: Is the future free or fixed? In *Iron Oxides: From Nature to Applications* (pp. 473-522). Recuperado de <https://doi.org/10.1002/9783527691395.ch19>.
94. Teymori, M., Khorsandi, H., Aghapour, A. A., Jafari, S. J., & Maleki, R. (2020). Electro-Fenton method for the removal of Malachite Green: effect of operational parameters. *Applied Water Science*, 10(1), 1-14. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s13201-019-1123-5>.
95. Verma, C., Ebenso, E. E., & Quraishi, M. A. (2019). Transition metal nanoparticles in ionic liquids: Synthesis and stabilization. *Journal of Molecular Liquids*, 276, 826-849. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.12.063>.
96. Vinatoru, M., Mason, T. J., & Calinescu, I. (2017). Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 97, 159-178. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.002>.

97. Wang, T., Jin, X., Chen, Z., Megharaj, M., & Naidu, R. (2014). Green synthesis of Fe nanoparticles using eucalyptus leaf extracts for treatment of eutrophic wastewater. *Science of The Total Environment*, 466–467(2014), 210-213. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.022>.
98. Wang, X., Du, Y., & Ma, J. (2016). Novel synthesis of carbon spheres supported nanoscale zero-valent iron for removal of metronidazole. *Applied Surface Science*, 390, 50-59. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.08.027>.
99. Wang, Z. (2013). Iron complex nanoparticles synthesized by eucalyptus leaves. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 1(12), 1551-1554. Recuperado de <https://doi.org/10.1021/sc400174a>.
100. Wei, Y., Fang, Z., Zheng, L., & Tsang, E. P. (2017). Biosynthesized iron nanoparticles in aqueous extracts of *Eichhornia crassipes* and its mechanism in the hexavalent chromium removal. *Applied Surface Science*, 399, 322-329. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.12.090>.
101. Weng, X., Jin, X., Lin, J., Naidu, R., & Chen, Z. (2016). Removal of mixed contaminants Cr(VI) and Cu(II) by green synthesized iron-based nanoparticles. *Ecological Engineering*, 97, 32-39. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.08.003>.

102. Wu, Y., Guan, C.-Y., Griswold, N., Hou, L., Fang, X., Hu, A., ... Yu, C.-P. (2020). Zero-valent iron-based technologies for removal of heavy metal(loid)s and organic pollutants from the aquatic environment: Recent advances and perspectives. *Journal of Cleaner Production*, 123-478. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123478>.
103. Xu, C. C., Wang, B., Pu, Y. Q., Tao, J. S., & Zhang, T. (2017). Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 15(10), 721-731. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(17\)30103-6](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(17)30103-6).
104. Yan, W., Herzing, A. A., Kiely, C. J., & Zhang, W. (2010). Nanoscale zero-valent iron (nZVI): Aspects of the *Core-Shell* structure and reactions with inorganic species in water. *Journal of Contaminant Hydrology*, 118(3), 96-104. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2010.09.003>.
105. Yang, Y., Zhang, C., & Hu, Z. (2013). Impact of metallic and metal oxide nanoparticles on wastewater treatment and anaerobic digestion. *Environ. Sci.: Processes Impacts*, 15(1), 39-48. Recuperado de <https://doi.org/10.1039/C2EM30655G>.
106. Ye, J., Wang, Y., Xu, Q., Wu, H., Tong, J., & Shi, J. (2021). Removal of hexavalent chromium from wastewater by Cu/Fe bimetallic nanoparticles. *Scientific Reports*, 11(1), 1-11. Recuperado de <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90414-0>.

107. Yirsaw, B. D., Megharaj, M., Chen, Z., & Naidu, R. (2016). Environmental application and ecological significance of nano-zero valent iron. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 44, 88-98. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.07.016>.
108. Yuvakkumar, R., Elango, V., Rajendran, V., & Kannan, N. (2011). Preparation and characterization of zero valent Iron nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 6(4), 1771-1776. Recuperado de <https://doi.org/10.1002/vjch.201800018>.
109. Zaki, S. A. E. H., Ismail, F. A. E. A., Abdelatif, S. H., El-Mohsen, N. R. A., & Helmy, S. A. (2020). Bioactive compounds and antioxidant activities of avocado peels and seeds. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 23(3), 345-350. Recuperado de <https://doi.org/10.3923/pjbs.2020.345.350>.
110. Zhang, H. F., Yang, X. H., & Wang, Y. (2011). Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants: Current status and future directions. *Trends in Food Science and Technology*, 22(12), 672-688. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.07.003>.
111. Zhang, W., Gao, H., He, J., Yang, P., Wang, D., Ma, T., ... Xu, X. (2017). Removal of norfloxacin using coupled synthesized nanoscale zero-valent iron (nZVI) with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system: Optimization of operating conditions and degradation pathway. *Separation and Purification Technology*, 172, 158-167. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.08.008>.

112. Zhang, X., Zhou, X., Liu, X., Li, X., & Whang, W. (2016). Development and application of an HPLC-UV procedure to determine multiple flavonoids and phenolics in *Acanthopanax leaf* extracts. *Journal of Chromatographic Science*, 54(4), 574-582. Recuperado de <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmv189>.
113. Zhilin, D. (2011). Pourbaix diagram for Chromium [Wikimedia Commons]. Recuperado de: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pourbaix-cr.png>.
114. Zhu, F., He, S., & Liu, T. (2018). Effect of pH, temperature, and co-existing anions on the Removal of Cr(VI) in groundwater by green synthesized nZVI/Ni. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 163(April), 544-550. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.082>.
115. Zielińska, D., & Turemko, M. (2020). Electroactive phenolic contributors and antioxidant capacity of flesh and peel of 11 apple cultivars measured by cyclic voltammetry and HPLC–DAD–MS/MS. *Antioxidants*, 9(11), 1-18. Recuperado de <https://doi.org/10.3390/antiox9111054>.

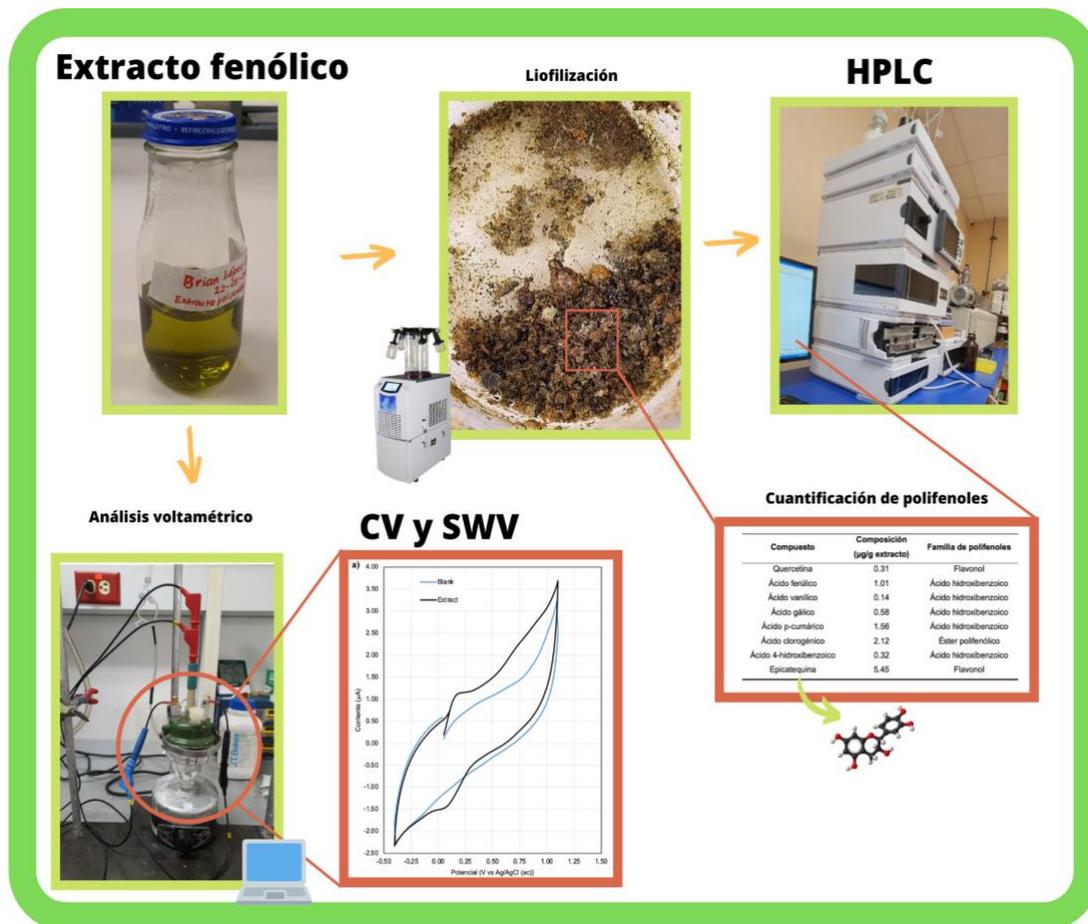
## APÉNDICES

### Apéndice 1. Esquema del proceso de extracción de compuestos fenólicos del epicarpio de aguacate



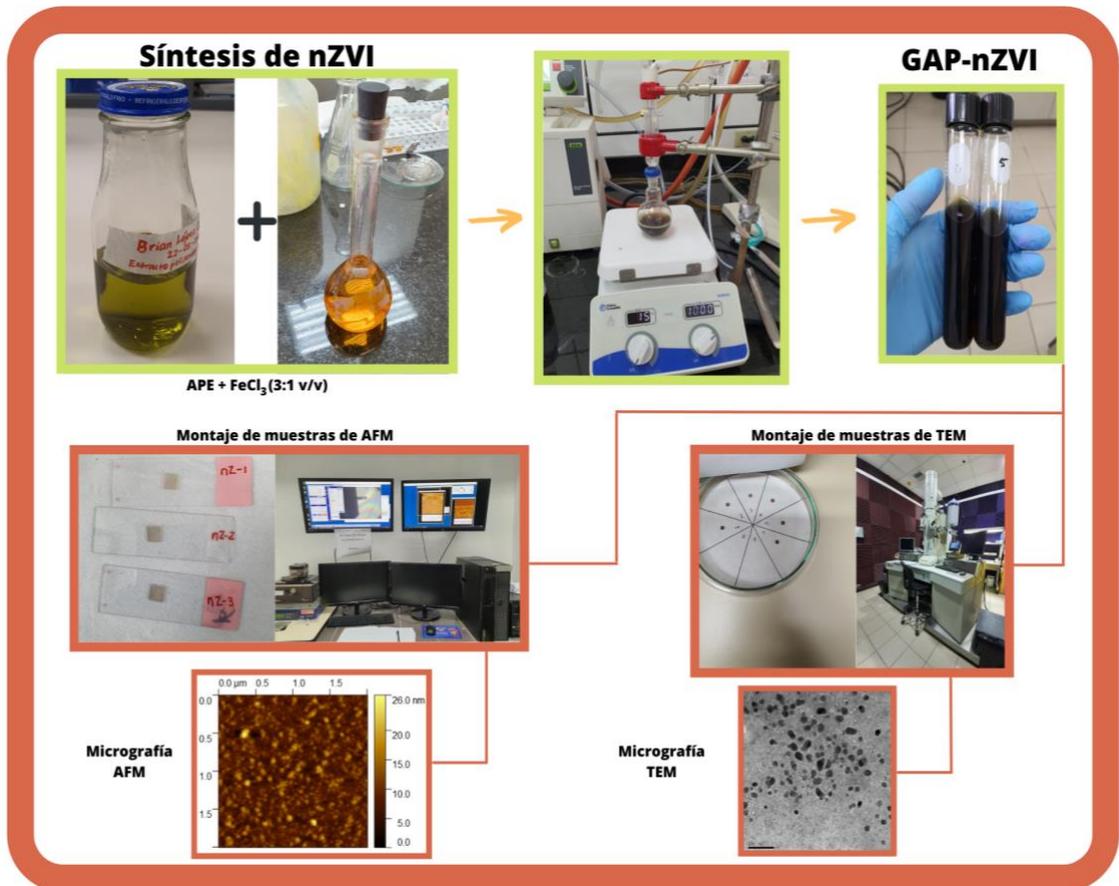
Fuente: elaboración propia. [Fotografías de Brian López Campos]. (Pavas, San José, 2021) Colección particular. Costa Rica.

## Apéndice 2. Esquema del proceso de análisis del extracto del epicarpio de aguacate



Fuente: elaboración propia. [Fotografías de Brian López Campos]. (Pavas, San José, 2021) Colección particular. Costa Rica.

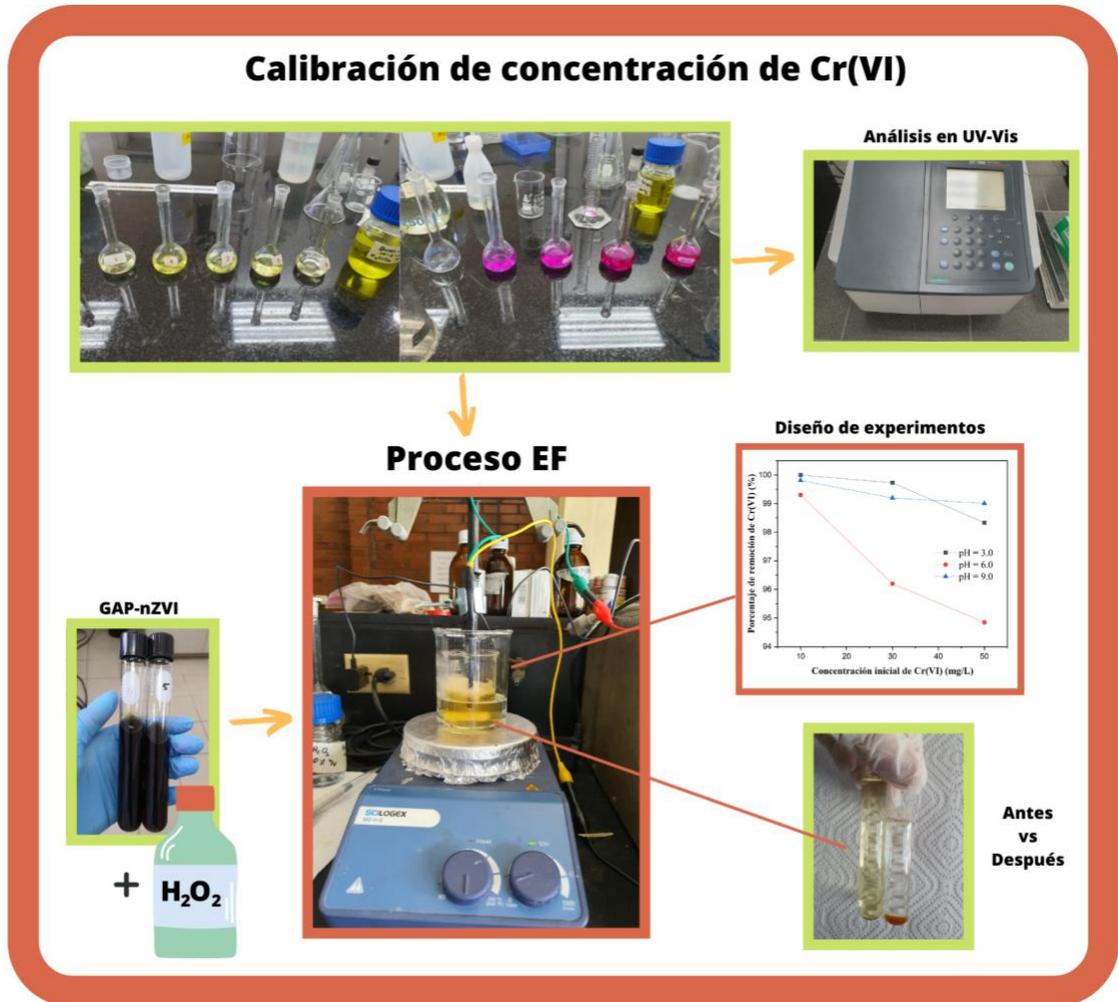
### Apéndice 3. Esquema de la síntesis y caracterización de las GAP-nZVI



Fuente: elaboración propia. [Fotografías de Brian López Campos]. (Pavas, San José, 2021) Colección particular. Costa Rica.

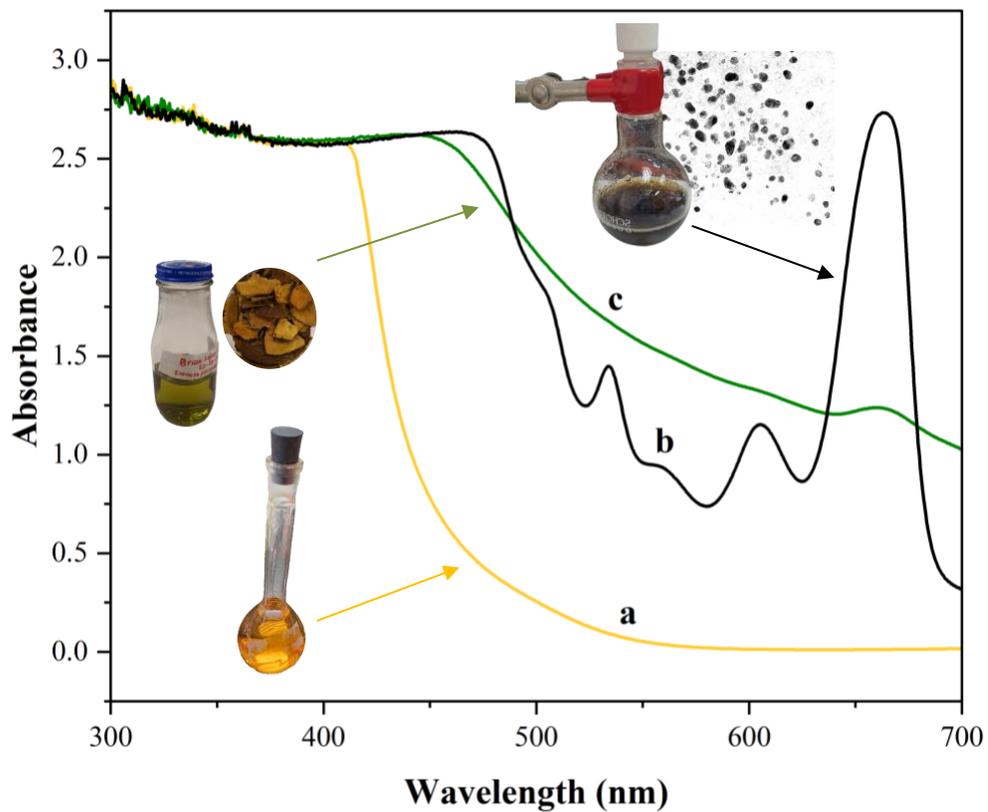


Apéndice 5. Esquema del proceso EF utilizando las GAP-nZVI



Fuente: elaboración propia. [Fotografías de Brian López Campos]. (Pavas, San José y Ciudad de Guatemala, 2021) Colección particular. Guatemala y Costa Rica.

Apéndice 6. Espectro UV/Vis de (a) cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), (b) APE y (c) GAP-nZVI



Fuente: elaboración propia.

**Apéndice 7. Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks para los residuos de porcentaje de remoción de Cr(VI)**

Variable	n	Media	Desviación estándar	Valor $p$ (unilateral)	Conclusión
Residuo de Porcentaje R	27	0.00	0.95	0.3562	Como $p > 0.05$ , no se rechaza $H_0$ . Los residuos provienen de subpoblaciones con distribución normal.

Nota.  $H_0$  supone que las observaciones de cada tratamiento proceden de una población con distribución normal. N = Número de observaciones.

Fuente: elaboración propia.

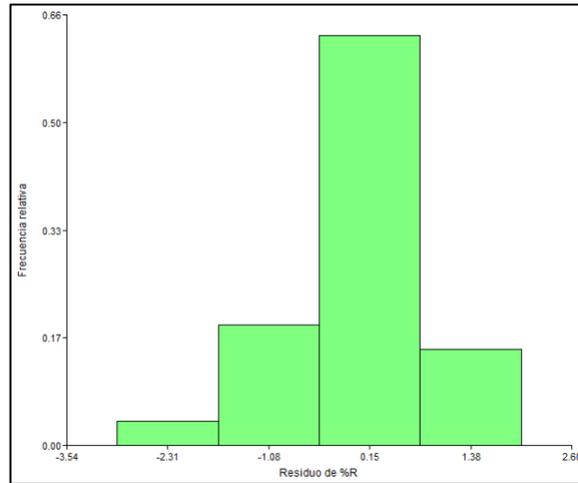
**Apéndice 8. Análisis de varianza para los residuos de porcentaje de remoción de Cr(VI)**

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor $p$ (unilateral)	Conclusión
Modelo	9.79	8	1.73	0.0017	Como $p > 0.05$ , no se rechaza $H_0$ para el factor pH. Las varianzas de las subpoblaciones de pH son homogéneas. Sin embargo, los residuos de $C_0$ son heterogéneos
$C_0$	5.71	2	2.86	0.0007	
pH	1.21	2	0.60	0.1382	
Error	3.26	22	0.28		
Total	13.05	26			

Nota.  $H_0$  supone que las observaciones de cada tratamiento poseen varianzas homogéneas.

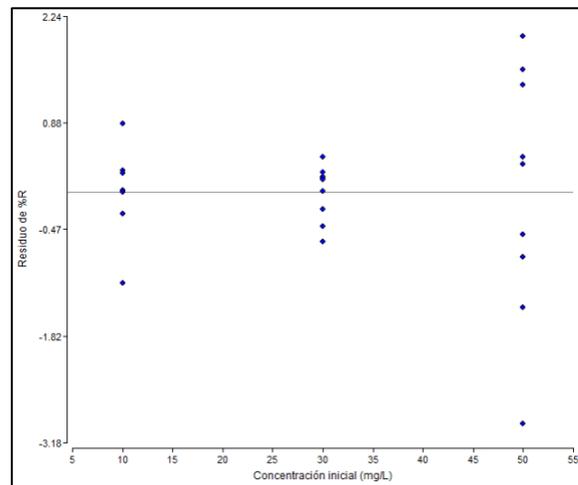
Fuente: elaboración propia.

Apéndice 9. **Histograma de la distribución de residuos para el porcentaje de remoción de Cr(VI)**



Fuente: elaboración propia.

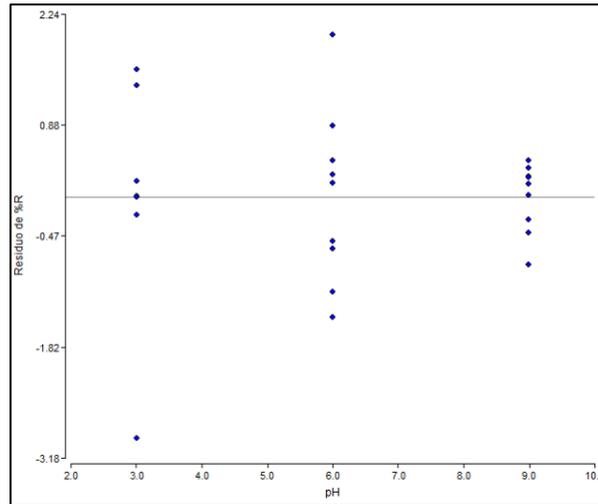
Apéndice 10. **Gráfico de dispersión para los residuos del porcentaje de remoción de Cr(VI)**



Nota. Existe independencia de los residuos con respecto a la concentración inicial de Cr(VI).

Fuente: elaboración propia.

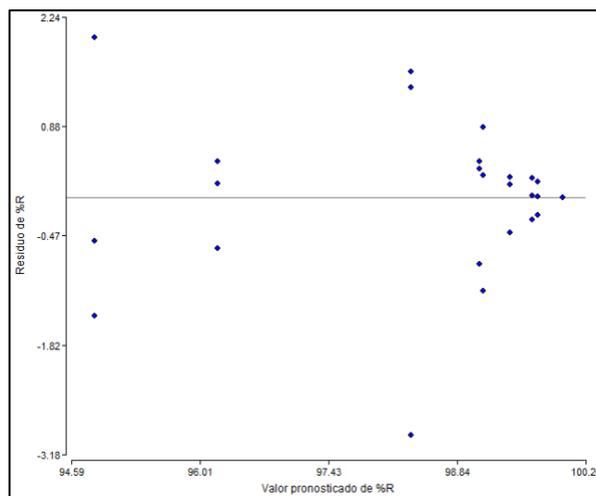
Apéndice 11. **Gráfico de dispersión para los residuos del porcentaje de remoción de Cr(VI) con respecto al pH**



Nota. Existe independencia de los residuos con respecto al pH.

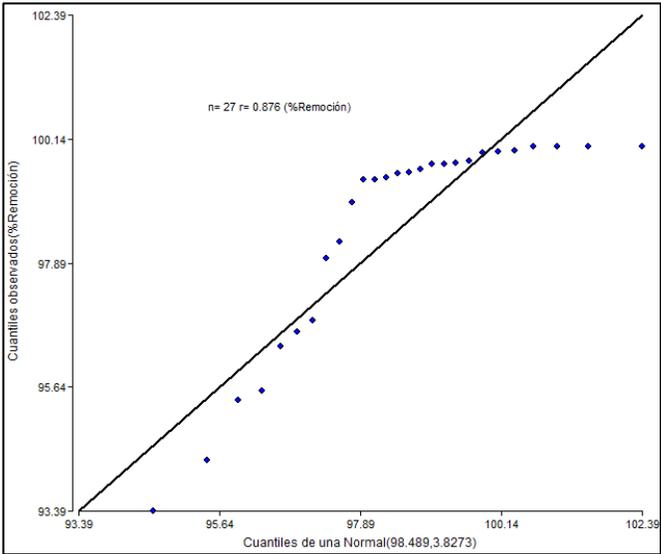
Fuente: elaboración propia.

Apéndice 12. **Gráfico de dispersión para residuos del porcentaje R en función de los residuos pronosticados**



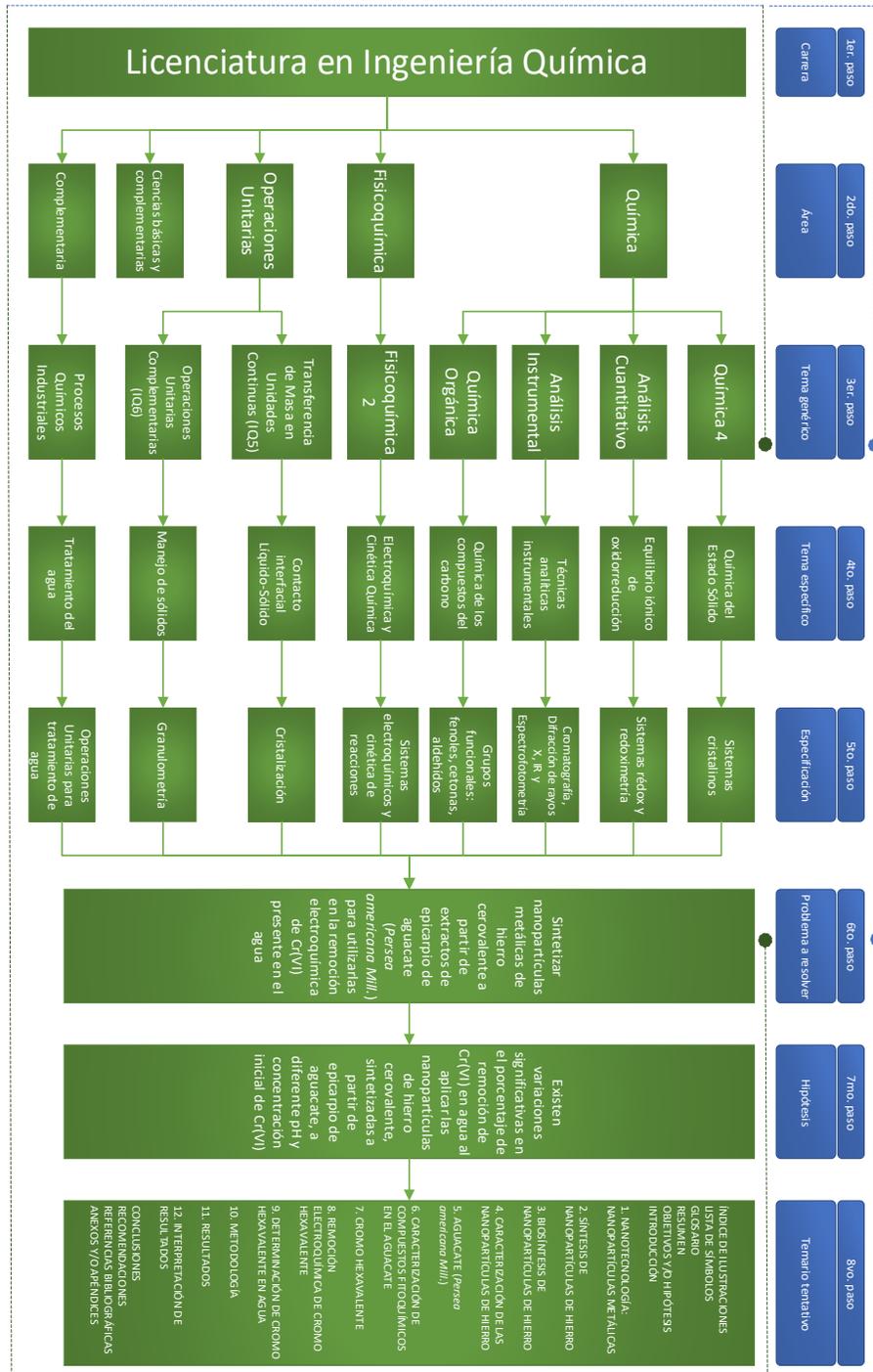
Fuente: elaboración propia.

Apéndice 13. **Gráfico Q-Q Normal para los residuos del porcentaje de remoción de Cr(VI)**



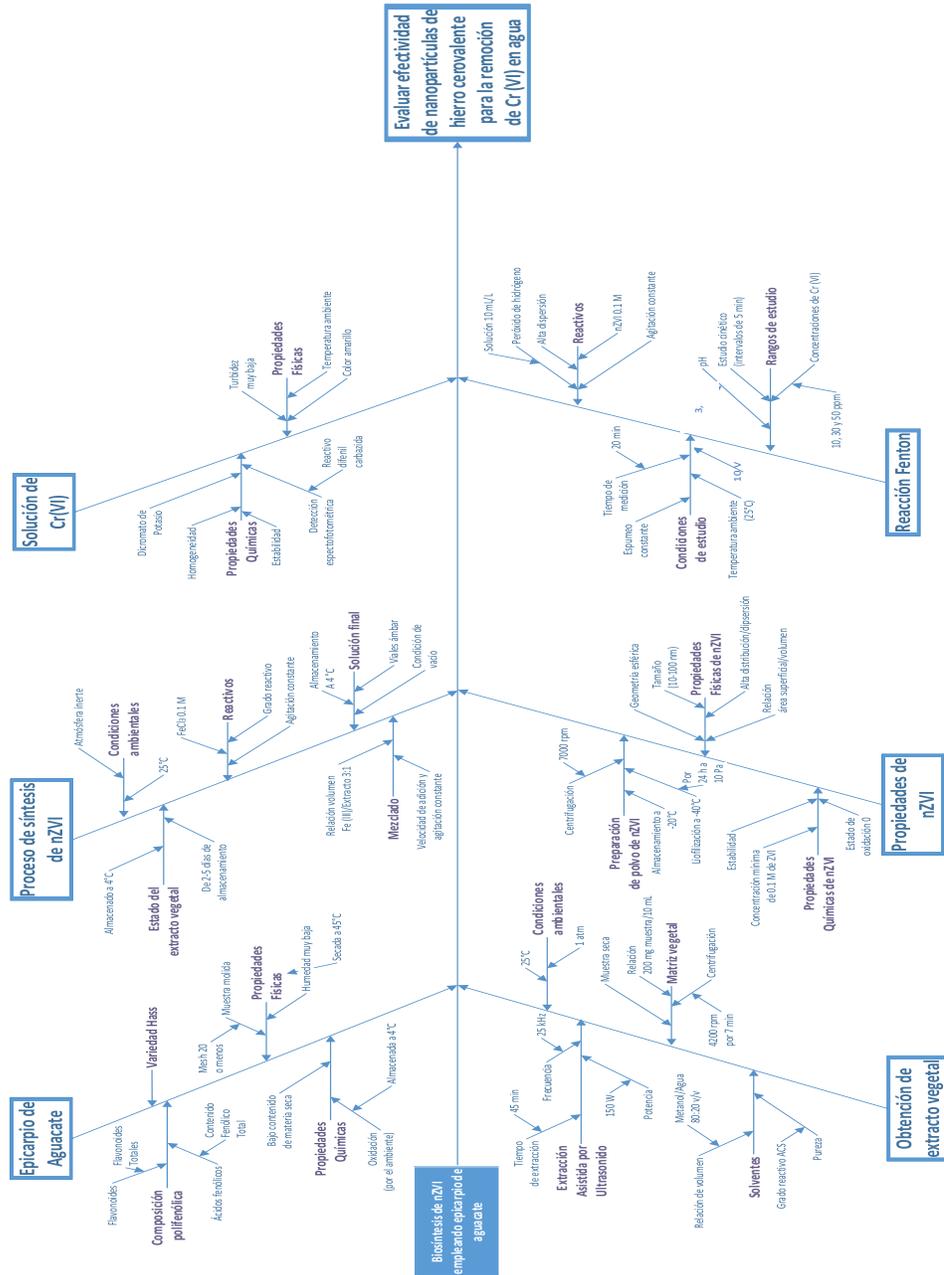
Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 14. Requisitos académicos de la investigación



Fuente: elaboración propia, realizado con Microsoft Visio, 2021.

## Apéndice 15. Diagrama de Ishikawa de la investigación



Fuente: elaboración propia, realizado con Microsoft Visio 2021.

